



ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΘΡΟΜΒΩΣΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ



Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία
"ΑΝΟΣΟΘΡΟΜΒΩΣΗ ΚΑΙ COVID19"

υπό

ΜΑΡΙΑΣ Δ. ΠΑΛΑΣΟΠΟΥΛΟΥ

ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΟΥ

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των
απαιτήσεων για την απόκτηση του
Διπλώματος Μεταπτυχιακών Σπουδών
«Θρόμβωση και Αντιθρομβωτική Αγωγή»

Λάρισα, 2021

Επιβλέπων:

Αλέξανδρος Τσελέπης

Καθηγητής Βιοχημείας –Κλινικής Χημείας

Πανεπιστήμιο ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Α. Τσελέπης

Σ. Τσιάρα

Ε.Λευκού

Αναπληρωματικό μέλος

Μ. Ματσάγκας

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ: Ο ιός του σοβαρού οξέος αναπνευστικού συνδρόμου coronavirus SARS-CoV2, ανήκει στην οικογένεια των β coronavirus- μονής έλικας RNA ιών και εμφανίστηκε στην διάσημη πλέον πόλη της Wuhan τον Δεκέμβριο του 2019 . Η νόσος που προκάλεσε, ονομάστηκε COVID-19, αναφέρθηκε αρχικά σαν μία επιδημία πνευμονίας ωστόσο η ταχύτατη εξάπλωση του ιού και η σημαντική νοσηρότητα του υποχρέωσε τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας να ανακηρύξει πανδημία στις 11 Μαρτίου του 2020. Πολύ σύντομα κατέστη σαφές πως η COVID-19 έχει εξαιρετικά ετερογενή κλινική εικόνα, από ασυμπτωματική φορεία έως σοβαρή νόσο με πολυοργανική ανεπάρκεια . Η δυσλειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος και η παθολογική αλληλεπίδραση του με το σύστημα πήξης, μία διαταραχή της ανοσοθρόμβωσης ενός μηχανισμού σημαντικού για την ομοιόσταση του οργανισμού αποτελούν τη βάση της παθογένειας της νόσου.

ΣΚΟΠΟΣ: Η καταγραφή του ρόλου που έχουν οι οδοί του συμπληρώματος, βασικού μηχανισμού του συστήματος φυσικής ανοσίας, και των τελικών προϊόντων του και ιδιαίτερα του C5a στην παθογένεια της σχετιζόμενης με COVID διαταραχή της πήξης ή COVID–related coagulopathy (CAC) όπως διεθνώς καταγράφεται αυτή η ιδιαίτερη διαταραχή κάνοντας συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας.

ΜΕΘΟΔΟΙ: Η ανασκόπηση έγινε σε 2 στάδια. Στο πρώτο στάδιο αναζητήθηκαν οι μελέτες που αποδεικνύουν την παρουσία των μικροθρομβώσεων σε διάφορα όργανα. Στο 2ο στάδιο αναζητήθηκαν οι μελέτες που διερευνούν την συνεχή ενεργοποίηση του συμπληρώματος στην επιβεβαιωμένη μικροαγγεοπάθεια της λοίμωξης από SARS-CoV2. Η ανασκόπηση και για τα δύο στάδια πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας τη βάση δεδομένων PubMed, αναζητώντας άρθρα από την 1η Ιανουαρίου 2020 έως τις 1 Νοεμβρίου 2021, γραμμένα στα αγγλικά.

Στην αναζήτηση του 1ου σταδίου χρησιμοποιήθηκαν οι όροι "COVID-19" ή "SARS-CoV-2" ή "nCoV" σε συνδυασμό με τους όρους "AUTOPSY" ή " thrombotic micrangioropathy", ενώ στην αναζήτηση του 2ου σταδίου χρησιμοποιήθηκαν οι όροι: "COVID-19" ή "SARS-CoV-2" ή "nCoV" σε συνδυασμό με τους όρους "C3" ή "C5";"Complement"

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: Για το 1ο στάδιο, από την αναζήτηση προέκυψαν 226 τίτλοι εκ των οποίων τελικά 9 μόνο δημοσιεύσεις συμπεριλήφθησαν στην παρούσα

συστηματική ανασκόπηση. Από τη μελέτη των δημοσιεύσεων αυτών, φαίνεται ότι η παρουσία μικροαγγειοπάθειας καταγράφεται στην πλειονότητα των μελετών σε ιστολογικό επίπεδο και αποτελεί χαρακτηριστικό της COVID-19. Έχει διαφορετική παθογένεια και εργαστηριακά ευρήματα από την διάχυτη ενδαγγειακή πήξη και την θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα και δεν δύναται να αναστραφεί πλήρως από την αντιπηκτική προφύλαξη.

Για το 2ο στάδιο, η αναζήτηση ανέδειξε 1400 τίτλους από τους οποίους μόλις 9 χρησιμοποιήθηκαν στην συστηματική ανασκόπηση. Οι μελέτες αυτές αποδεικνύουν την *in vitro* και *in vivo* ενεργοποίηση των μονοπατιών συμπληρώματος με ιστοπαθολογικά ευρήματα την θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια σε ένα σημαντικό ποσοστό των ασθενών, ενώ η μελέτη σε παιδιατρικό πληθυσμό καταδεικνύει ότι η ενεργοποίηση του συμπληρώματος ήταν εμφανής σε όλο τον υπό μελέτη πληθυσμό ανεξάρτητα από την βαρύτητα της νόσου, σε αντίθεση με τις μελέτες σε ενήλικο πληθυσμό όπου η ενεργοποίηση είναι εμφανής σε ασθενείς με μέτρια και σοβαρή νόσο. Και στους 2 πληθυσμούς φαίνεται η παρατεταμένη και παθολογική ενεργοποίηση του συμπληρώματος τόσο στα παιδιά όσο και στους ενήλικες με COVID-19.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ: Η αγγειοπάθεια στην COVID-19 μπορεί να χαρακτηριστεί εν μέρει ως ένα σύνδρομο καταστροφικής μικροαγγειακής βλάβης που προκαλείται από την ενεργοποίηση των οδών του συμπληρώματος προκαλώντας μία προπηκτική κατάσταση. Τα δεδομένα αυτά όπως φαίνονται από την παρούσα ανασκόπηση θέτουν τη βάση για περαιτέρω διερεύνηση της παθοφυσιολογικής σημασίας του συμπληρώματος στην COVID-19 και θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε στοχευμένες θεραπευτικές παρεμβάσεις

Λέξεις- Κλειδιά:

Συμπλήρωμα, Ανοσοθρόμβωση, κυτταροκίνες, C3, C5a, θρομβωτική μικροαγγειοπαθεια, COVID-19, SARS-Cov2

ABSTRACT

BACKGROUND: The virus of severe acute respiratory syndrome SARS-CoV2 is a member of the single stranded- RNA corona virus family. It was first described in the famous city of Wuhan as the cause of many unexplained pneumonias in December 2019. The wide spread of the virus and the morbidity of the disease forced the WHO to declare pandemic in March 2020. Since the first descriptions it became obvious that the disease is extremely heterogeneous. From asymptomatic carriers to patients with severe pneumonia, and multiorgan damage. The dysfunction of the immune system and the pathological interplay with the coagulation pathways highlights a dysregulated immunothrombosis process as the basis of the coagulopathy of the COVID -19.

AIM: Description of the role of the complement, a system fundamental to innate host immunity and evaluation of the association of its final products, especially C5b in the COVID-19 coagulopathy (CAC), a term used to describe the prothrombotic state in the infection of the new corona-virus.

METHODS: The systematic review was performed in 2 stages. In the first stage, a search for studies reporting the presence of thrombotic microangiopathy (TMA), in various organs was performed. In the second stage, the studies investigating the continuous activation of the complement in the confirmed microangiopathy of the SARS-CoV2 infection were retrieved. The literature search was made in the PubMed database, looking for articles from January 1, 2020 till November 1, 2021 in English language. In the search of the 1st stage, the terms "COVID-19" or "SARS-CoV-2" or "nCoV" were used in combination with the terms "AUTOPSY" or "thrombotic microangiopathy", while in the search of the 2nd stage the terms "COVID-19 "or "SARS-CoV-2 "or" nCoV "in combination with the terms" C3 "or "C5"; "Complement" were applied.

RESULTS: In the 1st stage, the search identified 226 titles. Only 9 publications were finally included in this systematic analysis. From the review of these publications, the presence of microangiopathy is recorded in the majority of the studies histologically and is also confirmed from the hematology and coagulation tests. It is a prominent feature of the COVID-19 coagulopathy. It has a different pathogenesis and different laboratory findings from both disseminated intravascular coagulation and thrombotic thrombocytopenic purpura and it cannot be completely reversed by anticoagulant prophylaxis.

In the 2nd stage, the search revealed 1400 titles of which only 9 were used in the systematic review. Although the studies used different methods and examined different type of materials and populations, they all report in vitro and in vivo pathological activation of the complement system. The histopathological findings reveal the presence of thrombotic microangiopathy in the majority of the cases especially in the pediatric population where the activation is unanimous in all cases either severe or not, while in the adult population it correlates with the severity of the disease and it is prominent in the patientes who requiered mechanical support.

CONCLUSION: Coagulopathy in COVID-19 can be characterized in part as a syndrome of catastrophic microvascular damage caused by complement activation. Complement inhibition may become a new target in treating critically ill patients in whom significant complement activation has occurred.

Key words: Covid 19, immunothrombosis, complement C3, C5, cytokines, thrombotic micrangiopathy

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για την εξαιρετική επίβλεψη τον καθηγητή κο Τσελέπη που ακόμα χαρακτηρίζει τους φοιτητές ανεξαρτήτως ηλικίας “αγαπητά παιδιά”.

Την τριμελή επιτροπή και ιδιαίτερος τον κο Ματσάγκα για το άρτιο αυτό μεταπτυχιακό. Παρέμεινε ενδιαφέρον έστω και απομακρυσμένα και κάποιες φορές έδωσε άλλο νόημα στην καραντίνα.

Την εξαιρετική συνάδελφο και βαθιά γνώστη της πήξης κα Ελμίνα Λευκού για την καθοδήγηση.

Την εξαιρετική συνάδελφο αιματολόγο κα Χρύσα Δοξάνη για τις γνώσεις και τη βοήθεια της με τους πίνακες και την ταξινόμηση των μελετών.

Και τέλος την αγαπημένη μου φίλη, συνειδικευόμενη Δήμητρα Παυλοπούλου στην οποία χρωστάω την παρότρυνση να κάνουμε αυτό το εξαιρετικό μεταπτυχιακό. Δεν εκπληρώθηκαν οι προσδοκίες μας να είμαστε παρέα αλλά η διάθεση μας παραμένει ίδια. Μας ενώνουν πολλά άλλωστε!

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	1
ABSTRACT.....	3
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	7
1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	7
1.2 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΙΟΥ- ΞΕΝΙΣΤΗ: Η ΒΑΣΗ ΤΗΣ COVID- 19.....	8
1.3. ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ.....	10
ΛΕΥΚΑ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΑ.....	10
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ.....	10
1.4. ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΠΝΕΥΣ - ΘΡΟΜΒΩΣΕΙΣ στην COVID-19: ΑΠΟ ΤΑ	
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ.....	11
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ.....	11
ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ.....	13
1.5. Ο ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΑΙΜΟΣΤΑΤΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ.....	15
1.6. ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΠΝΕΥΣ ΑΠΟ ΤΟ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ:	
ΑΝΟΣΟΘΡΟΜΒΩΣΗ.....	16
1.7. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΘΡΟΜΒΩΣΗΣ ΣΤΗΝ COVID-19.....	19
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	26
2.1 ΣΤΑΔΙΟ 1º: ΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗ ΜΙΚΡΟΑΓΓΕΙΟΠΑΘΕΙΑ στην COVID-19.....	26
ΥΛΙΚΑ και ΜΕΘΟΔΟΙ.....	26
Στρατηγική αναζήτησης, κριτήρια καταλληλότητας & Επιλογή Μελέτης.....	26
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	27
2.2 ΣΤΑΔΙΟ 2º: ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ	
ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΜΕΝΗ ΜΙΚΡΟΑΓΓΕΟΠΑΘΕΙΑ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΣΗΣ ΑΠΟ SARS-	
COV2.....	36
ΥΛΙΚΑ και ΜΕΘΟΔΟΙ.....	36
Στρατηγική αναζήτησης, κριτήρια καταλληλότητας & Επιλογή Μελέτης.....	36
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	36
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	44
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	48

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο ιός του σοβαρού οξέος αναπνευστικού συνδρόμου coronavirus SARS- COV2, ανήκει στην οικογένεια των β coronavirus- μονής έλικας RNA ιών και εμφανίστηκε στην διάσημη πλέον πόλη της Wuhan τον Δεκέμβριο του 2019¹. Η νόσος που προκάλεσε, ονομάστηκε COVID-19^{2,3} αναφέρθηκε αρχικά σαν μία επιδημία πνευμονίας ωστόσο η ταχύτατη εξάπλωση του ιού και η σημαντική νοσηρότητα του υποχρέωσε τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας να ανακηρύξει πανδημία στις 11 Μαρτίου του 2020. Ήταν η πολλοστή φορά που η ανθρωπότητα βρέθηκε αντιμέτωπη με μία πανδημία.

Από ιστορικής άποψης η βουβωνική πανώλη (1347-1351) και η ευλογιά (1520) προκάλεσαν τον θάνατο σε 200 εκατομμύρια και 56 εκατομμύρια ανθρώπους, αντίστοιχα. Στους νεότερους χρόνους η γνωστή σε όλους μας Ισπανική γρίπη το 1918 μόλυνε 500 εκατομμύρια άτομα προκαλώντας το θάνατο σε 50 εκατομμύρια μεσούντος του 1^{ου} παγκοσμίου πολέμου.

Παρά τα διδάγματα του παρελθόντος, η ιατρική κοινότητα πλημελώς προετοιμασμένη, βρέθηκε αντιμέτωπη με μια τεράστια υγειονομική καταρχάς κρίση, ενώ η επιστημονική κοινότητα κλήθηκε να διεξάγει συστηματική έρευνα προκειμένου να μελετήσει τον παθογενετικό μηχανισμό και να ανακαλύψει υπό ασφυκτική πίεση νέες θεραπείες και εμβόλια.^{4,5}

Πολύ σύντομα κατέστη σαφές πως ο SARS- CoV2 είναι υπεύθυνος για μία συστηματική νόσο, την COVID-19, με εξαιρετικά ετερογενή κλινική εικόνα, από ασυμπτωματική φορεία έως σοβαρή νόσο με πολυοργανική ανεπάρκεια⁶. Ηλικιωμένοι άνθρωποι καθώς και ασθενείς με ανοσοκαταστολή και υποκείμενα νοσήματα διατρέχουν τον μεγαλύτερο κίνδυνο να αναπτύξουν σοβαρή νόσο. Η θνητότητα τον Απρίλιο του 2020 ήταν 7%, πολλαπλάσια της ισπανικής γρίπης (2%), ενώ η υποστήριξη σε μονάδες αυξημένης φροντίδας κρίνεται αναγκαία σε ένα ποσοστό 5-25% των ασθενών^{7,8}. Οι βαρέως πάσχοντες παρουσιάζουν οξεία αναπνευστική ανεπάρκεια, κυκλοφορική καταπληξία, νεφρική ανεπάρκεια, ενώ η θρομβωτικές επιπλοκές είναι συχνές και αφορούν πολλαπλά ζωτικά όργανα, σε έδαφος μίας υπερφλεγμονώδους αντίδρασης. Η ταχύτητα με την οποία εγκαθίσταται η αναπνευστική ανεπάρκεια υποδηλώνει μία καταγίδα κυτταροκινών (σύνδρομο

έκκρισης κυτταροκινών- cytokine release syndrome) και η σοβαρή διαταραχή του πηκτικού μηχανισμού, COVID coagulopathy (CAC) αποτελούν μοναδικά χαρακτηριστικά της συστηματικής αυτής λοίμωξης. Η δυσλειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος και η παθολογική αλληλεπίδραση του με το σύστημα πήξης, μία διαταραχή της ανοσοθρόμβωσης ενός μηχανισμού σημαντικού για την ομοιόσταση του οργανισμού αποτελούν τη βάση της παθογένειας της νόσου⁹.

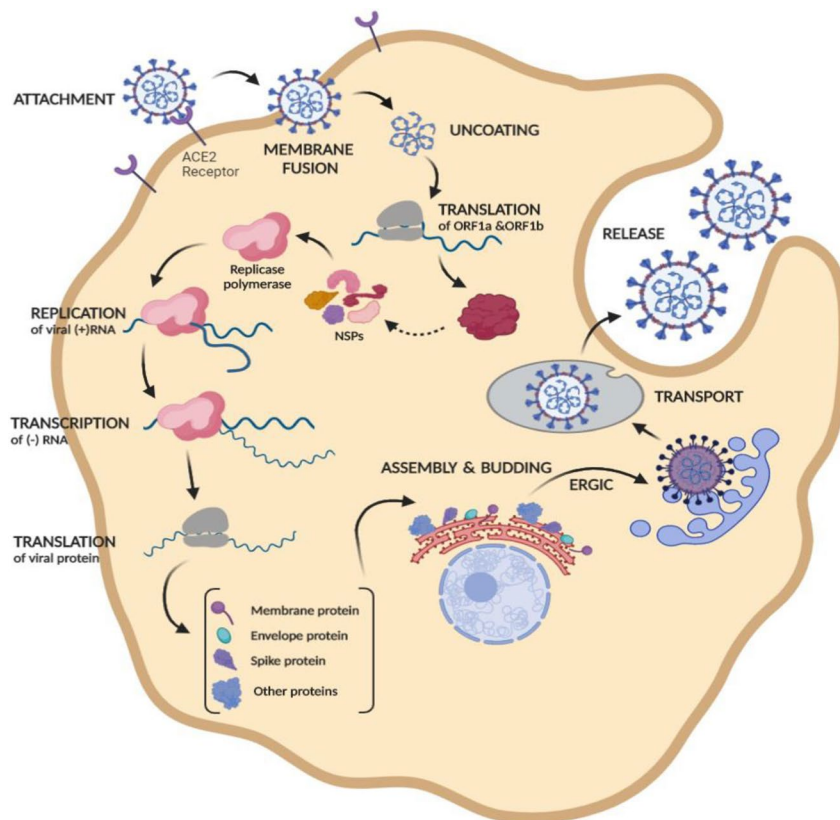
Παρά τον καταγισμό της νέας πληροφορίας που αφορά την COVID 19 αναπάντητα ερωτήματα παραμένουν. Η στόχευση διαφορετικών μονοπατιών είναι αναγκαία για την καλή έκβαση και προϋποθέτουν την αποσαφήνιση της φυσιοπαθολογίας του νεοεμφανιζόμενου αυτού νοσήματος¹⁰.

1.2 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΙΟΥ- ΞΕΝΙΣΤΗ: Η ΒΑΣΗ ΤΗΣ COVID- 19

Το γονιδίωμα του SARS-Cov-2, όπως ονομάστηκε ο νέος κορονοϊός έχει 88% αναλογία με τον ιό SARS, προερχόμενου από τις νυχτερίδες με αποτέλεσμα η μετάδοση από τα θηλαστικά στον άνθρωπο να θεωρείται προφανής¹¹. Η μετάδοση από άνθρωπο σε άνθρωπο γίνεται από το αναπνευστικό μέσω σταγονιδίων ή μέσω άμεσης επαφής με τον νοσούντα. Η ικανότητα μετάδοσης είναι μεγάλη και παραμένει ίδια τόσο από τον ασυμπτωματικό φορέα όσο και τον συμπτωματικό ασθενή.

Η μελέτη των κορονοϊών χρονολογείται από το 2002 με αφορμή την επιδημία του SARS. Ήδη από το 2003 έχει εκτενώς περιγραφεί η είσοδος των κορονοϊών στον οργανισμό μέσω του υποδοχέα ACE-2 της αγγειοτενσίνης (angiotensin converting enzyme 2)¹². Η συγγένεια του SARS- Cov-2 με τον υποδοχέα είναι πολλαπλάσια, κατά τουλάχιστον 10-20 φορές σε σχέση με άλλους κορονοϊούς εξηγώντας περαιτέρω, σε μοριακό επίπεδο την μεγάλη μεταδοτικότητα της νόσου. Ο υποδοχέας ACE-2 της αγγειοτενσίνης 2 απαντάται στον πνεύμονα και σε μη πνευμονικούς ιστούς. Εκφράζεται στα τύπου 2 κυψελιδικά επιθηλιακά κύτταρα, στους βρόγχους, στον βλεννογόνο του ανώτερου αναπνευστικού, στο μυοκάρδιο, στο στομάχι, στους νεφρούς, στον οισοφάγο, στην κύστη και στον ειλέο καθιστώντας τους παραπάνω ιστούς πιθανές πύλες εισόδου¹³. Η έκφραση του ACE-2 διαφέρει σε διαφορετικά κύτταρα του ίδιου οργάνου, όπως για παράδειγμα συμβαίνει στο ήπαρ που ενώ εκφράζεται στα χολαγγειοκύτταρα δεν εκφράζεται στα ηπατοκύτταρα και στα κύτταρα Kupffer. Μετά την πρόσδεση με τον υποδοχέα, και με τη βοήθεια της πρωτεάσης

TMPRSS2 (transmembrane protease 2), ο ιός αποκολλάται από τον υποδοχέα ACE-2 ενδοκυτταρώνεται, πολλαπλασιάζεται στο κυτταρόπλασμα και ακολουθεί μετάδοση από κύτταρο σε κύτταρο [Εικόνα 1]. Τα σωματίδια του ιού αλληλεπιδρούν με το ανοσοποιητικό σύστημα το οποίο προσπαθεί να ελέγξει την λοίμωξη και να εξουδετερώσει τον ιό. Τόσο ο έλεγχος της λοίμωξης όσο η εξουδετέρωση του ιού δεν είναι πάντα εφικτές. Αυτό οφείλεται στην ικανότητά του να διαφεύγει της ανοσιακής απάντησης. Επιπλέον, η επίθεση του ανοσοποιητικού στα κύτταρα που έχουν μολυνθεί από τον ιό είναι υπεύθυνη για την ιστική βλάβη. Το σύστημα φυσικής ανοσίας, μη αντιγόνο –εξαρτώμενο χρησιμοποιεί τα λευκά αιμοσφαίρια, τα μακροφάγα, τα NK, τα οποία με την μη ελεγχόμενη παραγωγή κυτταροκινών οδηγούν σε έναν φαύλο κύκλο μίας υπερφλεγμονώδους αντίδρασης η οποία ενισχύει περαιτέρω την ιστική βλάβη¹⁴.



Εικόνα 1 Ο κύκλος του SARS-CoV2: Η αλληλεπίδραση με τον ξενιστή

1.3.ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ

ΛΕΥΚΑ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΑ

Στα αρχικά στάδια της νόσου οι ασθενείς παρουσιάζουν φυσιολογικό αριθμό λευκών αιμοσφαιρίων. Ακολούθως, λευκοπενία ή λευκοκυττάρωση είναι οι πιο συχνά αναφερόμενες διαταραχές^{15,16}. Σε μετανάλυση 8 μελετών επί συνόλου 511 ασθενών ο Rodríguez και συνεργάτες συμπεραίνουν ότι η λεμφοπενία εμφανίζεται σε ποσοστό 43% των ασθενών¹⁷, ενώ το αναφερόμενο ποσοστό σε μελέτη 1099 ασθενών από 522 νοσοκομεία στην Κίνα η διαταραχή των λεμφοκυττάρων ανέρχεται σε ποσοστό 82%, και η λευκοκυττάρωση σε ποσοστό 33%¹⁸. Σε αντιδιαστολή, φαίνεται από μικρές μελέτες πως στους ασθενείς που νοσηλεύονται σε μονάδες εντατικής θεραπείας η πιο συχνή διαταραχή των λευκών αιμοσφαιρίων είναι η λευκοκυττάρωση (WBC 11.6×10^9 /L) σε σύγκριση με τους εκτός ΜΕΘ ασθενείς (WBC 3.5×10^9 /L) (*P value* < 0.001)¹⁸.

Τα αίτια της λεμφοπενίας είναι ποικίλα. Η συχνότητά της υποδεικνύει άμεση προσβολή στον λεμφοκυτταρικό πληθυσμό από τον ιό SARS- Cov2 και ειδικά στα T λεμφοκύτταρα με μείωση των CD4 και των CD8 υποπληθυσμών. Η προσβολή των λεμφοκυττάρων γίνεται μέσω του ACE-2 υποδοχέα ενώ οι αυξημένες κυτταροκίνες δύναται να προκαλούν την απόπτωση τους. Επιπλέον η παραγωγή τους μειώνεται περαιτέρω λόγω της βλάβης που υφίστανται τα λεμφικά όργανα όπως ο θύμος και ο σπλήνας^{19,20}.

Η λεμφοπενία και η λευκοκυττάρωση σχετίζονται σαφώς με την πρόγνωση στους νοσηλευόμενους ασθενείς με COVID-19^{13,21,22}. Από μετα-ανάλυση φαίνεται ότι αυξημένος λόγος ουδετεροφιλών προς λεμφοκύτταρα και μειωμένος λόγος λεμφοκυττάρων/ CRP παρατηρούνται σε σοβαρή νόσο²³.

ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ

Η θρομβοπενία που παρατηρείται σε ασθενείς με COVID είναι ήπια (PLT 100-150/mm³)¹³. Οι τιμές ελαττώνονται με την επιδείνωση της κλινικής εικόνας των ασθενών όπως καταγράφεται σε πολυήμερες νοσηλείες.

Ο SARS-CoV2 προκαλώντας ενδοθηλιακή βλάβη οδηγεί σε ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Τόσο η μυελική καταστολή όσο και η κατανάλωση τους σε θρόμβους εξηγούν τις μειωμένες τιμές ενώ δεν αποκλείονται και ανοσολογικά αίτια επαγόμενα

από τον ιό. Η θρομβοπενία είναι δυσμενής προγνωστικός παράγοντας και στους ασθενείς με COVID-19 κάτι που είναι σαφώς καταγεγραμμένο σε ασθενείς με άλλα νοσήματα που νοσηλεύονται σε μονάδες εντατικής θεραπείας. Η θνητότητα είναι τουλάχιστον 5πλάσια όπως έδειξε μετανάλυση σε 1799 ασθενείς²⁴ ενώ σε μαθηματικά μοντέλα ο λόγος αιμοπεταλίων/λεμφοκυττάρων είναι επίσης δείκτης κακής πρόγνωσης²⁵.

1.4.ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΠΗΞΗΣ – ΘΡΟΜΒΩΣΕΙΣ στην COVID-19: ΑΠΟ ΤΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ

Το αιματολογικό προφίλ των ασθενών με COVID 19 καταγράφει μία κατάσταση υπερπηκτικότητας με αύξηση των δ-διμερών (D-Dimers), των προϊόντων αποδόμησης του ινωδογόνου. Επιπλέον παρατηρείται παράταση των χρόνων πήξης PT και PTT²⁶.

Τα αίτια της προπηκτικότητας θα αναλυθούν εκτενώς σε επόμενες παραγράφους και σχετίζονται εν μέρη με την αυξημένη παραγωγή προπηκτικών παραγόντων όπως ο ιστικός παράγοντας (tissue factor-TF) και ο παράγοντας Von Willebrand (vWF) που προκαλεί η φλεγμονώδης κατάσταση, ενώ αυξημένα επίπεδα D- Dimers σχετίζονται με μικρο- ή μακρο-θρομβώσεις που αποτελούν χαρακτηριστικό της νόσου.

Οι εξαιρετικά αυξημένες τιμές των D- Dimers είναι άλλο ένα εργαστηριακό εύρημα που επίσης σχετίζεται με κακή έκβαση της νόσου, ανάπτυξη οξέος αναπνευστικού συνδρόμου και νοσηλεία σε μονάδα αυξημένης φροντίδας. Η συσχέτιση με την κακή έκβαση καταγράφηκε πρώιμα, από τον Δεκέμβριο του 2019 σε μικρή μελέτη 41 ασθενών στη Wuhan τα επίπεδα των D- Dimers και η παράταση των χρόνων πήξης ήταν στατιστικά σημαντικά αυξημένα σε ασθενείς που χρειάστηκαν νοσηλεία σε ΜΕΘ (median D- Dimers 2.4mg/L vs 0.5mg/L $p= 0.0042$; median PT 12.2s vs 10.7s $p= 0.012$ ²⁷. Σε άλλη αναδρομική μελέτη 183 ασθενών από τους Tang N et al ²⁸ οι ασθενείς με πνευμονία που απεβίωσαν είχαν στατιστικά σημαντική αύξηση στα D-Dimers και παρατεταμένο PT- PTT. Οι τιμές του ινωδογόνου ήταν αυξημένες αρχικά και ακολούθως παρουσίαζαν σημαντική ελάττωση ενώ τα D-Dimers αυξάνονταν από την 2^η ημέρα νοσηλείας και παρέμειναν εξαιρετικά αυξημένα μέχρι την ημέρα 14. Η ελάττωση των τιμών του ινωδογόνου σχετίστηκε με κλινική και εργαστηριακή εικόνα ΔΕΠ²⁸. Στην μελέτη των Guan et al ¹⁸ φάνηκε επιπλέον ότι επίπεδα D- Dimers > 0.5/L

παρατηρούνται στο 46% των ασθενών οι μισοί εκ των οποίων ανέπτυξαν σοβαρή νόσο, ενώ το 69,4% των ασθενών με υψηλά D- Dimers χρειάστηκαν μηχανική αναπνευστική υποστήριξη, καταλήγοντας ότι ασθενείς με 3πλάσια -4πλάσια επίπεδα από τα φυσιολογικά πρέπει να νοσηλεύονται^{16,29}. Τέλος η μέτρηση των επιπέδων των D- Dimers πέρα από προγνωστικό ρόλο έχει και θεραπευτικό ρόλο. Μεγάλη αναδρομική μελέτη από τη Ισπανία³⁰ σε σύνολο 9.000 ασθενών- η μεγαλύτερη μελέτη που έχει δημοσιευθεί έως τώρα- επιβεβαίωσε ότι τιμές D- Dimers > 1 mg/L έχουν ευαισθησία 50%, ειδικότητα 72% και αρνητική προγνωστική αξία NPV 99%. Αυξάνοντας το cut-off σε επίπεδα >3 mg/L βελτιώθηκε η ειδικότητα και η θετική προγνωστική αξία PPV ενώ η αρνητική προγνωστική αξία παρέμεινε εξαιρετικά υψηλή 98%³⁰. Το ενδιαφέρον είναι ότι τιμές D- Dimers >3mg/L μπορούν να οδηγήσουν σε θεραπευτική απόφαση χορήγησης θεραπευτικών δόσεων αντιπηκτικών π.χ LMWH. Το εύρημα αυτό έρχεται σε πλήρη συμφωνία με άλλη μελέτη των Maatman et al ³¹ που αναφέρει ότι προφυλακτική χορήγηση LMWH σε ασθενείς με επίπεδα D- Dimers >3mg/L είχαν θεραπευτικά αποτυχία σε ποσοστό 26%. Αν και πρόκειται για αναδρομική μελέτη τα ευρήματά της θα μπορούσαν να τροποποιήσουν το θεραπευτικό αλγόριθμο. Συνοπτικά τα αιματολογικά ευρήματα στην νόσο COVID- 19 περιγράφονται στην Εικόνα 2.

Λεμφοπενία	Θρομβοπενία	D-Dimers
<ul style="list-style-type: none"> •Σοβαρή νόσος , νοσηλεία σε ΜΕΘ, μηχανικός αερισμός , θνητότητα (13) •Αυξημένα ΠΜΝ/ Λεμφο προβλεπτικός παράγοντας βαρύτητας (21) • Ανάπτυξη ARDS (22) 	<ul style="list-style-type: none"> •Νοσηλεία σε ΜΕΘ, μηχανική υποστήριξη (13) •5πλάσια αύξηση θνητότητας , ενδονοσοκομειακού θανάτου (22) •Μεγάλη διαφορά PLT/ lympho χειρότερη πρόγνωση (22) 	<ul style="list-style-type: none"> •Αυξημένα επίπεδα κακή πρόγνωση, ARDS (22) •D-Dim > 1.5mg/L 85% ευαισθησιά και 88% ειδικότητα για COVID-19 σχετιζόμενη DVT (25) •Ασθενείς που καταλήγουν πολύ υψηλά επίπεδα D-Dim(25)

Εικόνα 2 Αιματολογικά ευρήματα και Προγνωστική Συσχέτιση στην COVID19

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

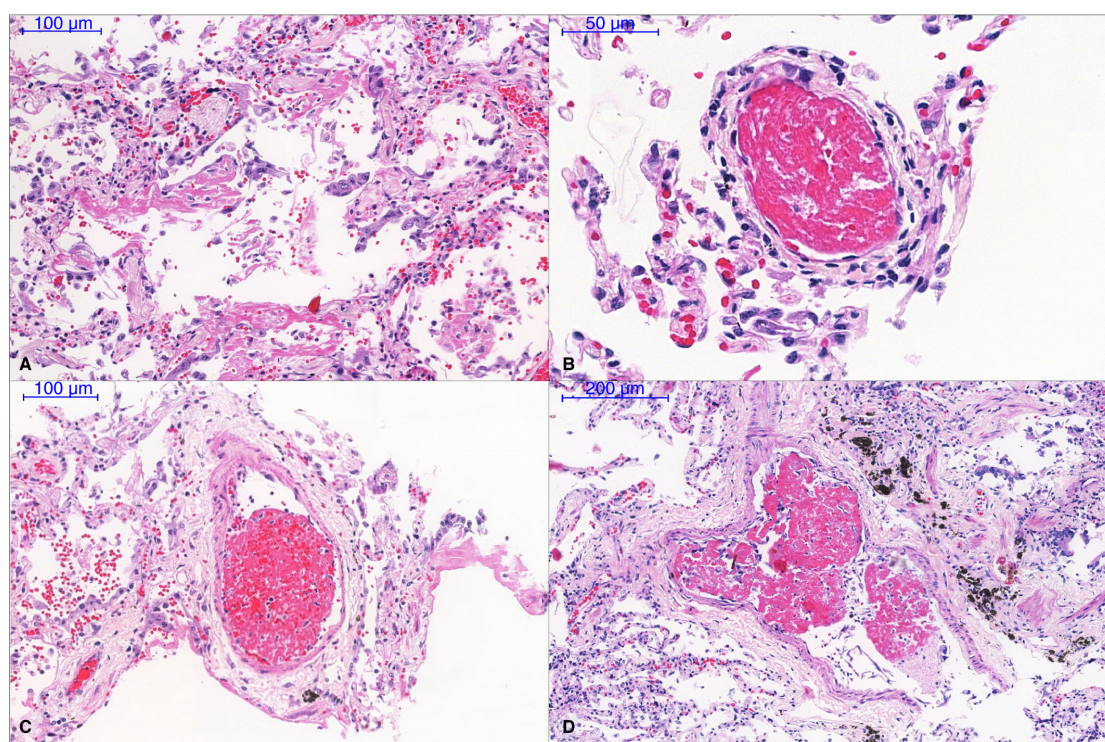
Τα αυξημένα θρομβοεμβολικά επεισόδια καταγράφονται σε ποσοστό εξαιρετικά υψηλότερο στους ασθενείς με COVID-19 σε σχέση με νοσηλευόμενους ασθενείς με μη- COVID λοιμώξεις.

Θρομβοεμβολική νοσος (VTE)

Οι ασθενείς συνηθέστερα παρουσιάζουν φλεβοθρόμβωση κάτω άκρων και πνευμονική εμβολή. Αν και οι κλασσικοί παράγοντες κινδύνου για VTE ανευρίσκονται στους νοσηλευόμενους, τα εξαιρετικά υψηλά ποσοστά αποκαλύπτουν την διαταραχή της πήξης που συνοδεύει τη λοίμωξη. Το ενδιαφέρον είναι πως η διαφορά αυτή αφορά την πνευμονική εμβολή (ΠΕ) και όχι την εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση (ΕΦΘ)³². Η ΠΕ σε ασθενείς με ARDS διαγιγνώσκεται σε πολύ υψηλότερα ποσοστά σε σχέση με μη-COVID ασθενείς³³ (11,7% vs 2%) προσδίδοντας δυσμενέστερη πρόγνωση³⁴. Η επίπτωση της σε διαφορετικές μελέτες φτάνει έως και το 46% σε ασθενείς που νοσηλεύονται σε μονάδες εντατικής θεραπείας³⁵,³⁶ παρά τη χορήγηση θρομβοπροφύλαξης. Η διάγνωσή της παραμένει θεραπευτική πρόκληση. Η κλινική εικόνα έχει κοινά χαρακτηριστικά με την COVID 19-πνευμονία και η απεικονιστική διάγνωση με αξονική πνευμονικών αγγείων δεν είναι πάντα εφικτή στους βαρέως πάσχοντες ασθενείς με συνοσηρότητες όπως η νεφρική ανεπάρκεια, ενώ οι τιμές D-Dimers που χρησιμοποιούνται σε άλλους ασθενείς για να αποκλείσουν την νόσο (D-Dimer<0,5 mg/L) δεν εφαρμόζονται³⁷. Ο χρόνος μέχρι την διάγνωση παραμένει μεγάλος, 5-7 ημέρες. Η φυσιοπαθολογία της ΠΕ στην COVID-19 ήταν δύσκολο να αποσαφηνιστεί. Λίγα κέντρα είχαν τη δυνατότητα να ελέγξουν βιοπτικά – νεκροτομικά υλικά με ειδικευμένους παθολογοανατόμους. Η αυτοψία είναι μία διαδικασία που στην καθημερινή κλινική πράξη δεν εφαρμόζεται ωστόσο μπορεί να δώσει απαντήσεις σε νοσήματα που δεν είναι επαρκώς μελετημένα όπως η νεοεμφανιζόμενη νόσος COVID-19.

Σε παθολογοανατομικό επίπεδο σε μικρές σειρές παρατηρήθηκαν, εκτός των άλλων βλαβών, μικροθρόμβοι ινικής σε μικρά και μεσαία αγγεία στην πλειονότητα των περιπτώσεων. Οι διάχυτες μικροθρομβώσεις που ανευρίσκονται στον πνεύμονα απαντώνται σπανιότερα σε όργανα όπως οι νεφροί, ενώ θρομβώσεις σε μεγάλα αγγεία είναι σπάνιες. Σε αντιδιαστολή με αυτό που συμβαίνει σε ARDS από άλλα αίτια, όπως η γρίπη, το βασικό εύρημα είναι οι διάχυτες μικροθρομβώσεις ακόμα και σε περιοχές

με διατηρημένη αρχιτεκτονική του πνεύμονα^{38, 39, 40, 41, 42}, καθώς και η διάχυτη ενδοθηλιακή βλάβη και η φλεγμονώδης εικόνα. Τα παθολογοανατομικά ευρήματα είναι κατεξοχήν συμβατά με εικόνα θρομβωτικής μικροαγγειοπάθειας (TMA) [Εικόνα 3] και υπογραμίζουν την προθρομβωτική κατάσταση την οποία προκαλεί ο SARS-CoV2.



Εικόνα 3 Διάχυτη κυψελιδική βλάβη- Μικροθρομβώσεις- Συσσώρευση Αιμοπεταλίων

Αρτηριακές Θρομβώσεις

Αρτηριακές θρομβώσεις παρατηρούνται και σε άλλα ζωικά όργανα με σαφώς μικρότερη επίπτωση και έχουν περιγραφεί λιγότερο συστηματικά. Αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια καταγράφονται σε ποσοστά έως 2,5% σε περιβάλλον ΜΕΘ ακόμα και σε νέους ασθενείς κάτω των 50 ετών⁴³. Πιο σπάνιες θρομβοεμβολικές εκδηλώσεις αφορούν περιφερικά και σπλαχνικά αγγεία, θρομβώσεις φλεβωδών κόλπων, ισχαιμία κάτω άκρων. Ειδικότερα, η ισχαιμία των κάτω άκρων δεν συσχετίστηκε με κυκλοφορική καταπληξία αλλά με διαταραχή στην μικροκυκλοφορία⁴⁴. Στεφανιαία συμβάματα έχουν καταγραφεί σε μικρές σειρές ασθενών. Τα συμβάματα αυτά αφορούν έμφραγμα μυοκαρδίου, in stent thrombosis και δυσλειτουργία αριστερής κοιλίας. Αυξημένα επίπεδα τροπονίνης I (TNI) ως δείκτης μυοκαρδιακής βλάβης σχετίστηκαν με εργαστηρικά ευρήματα υπερπηκτικότητας όπως

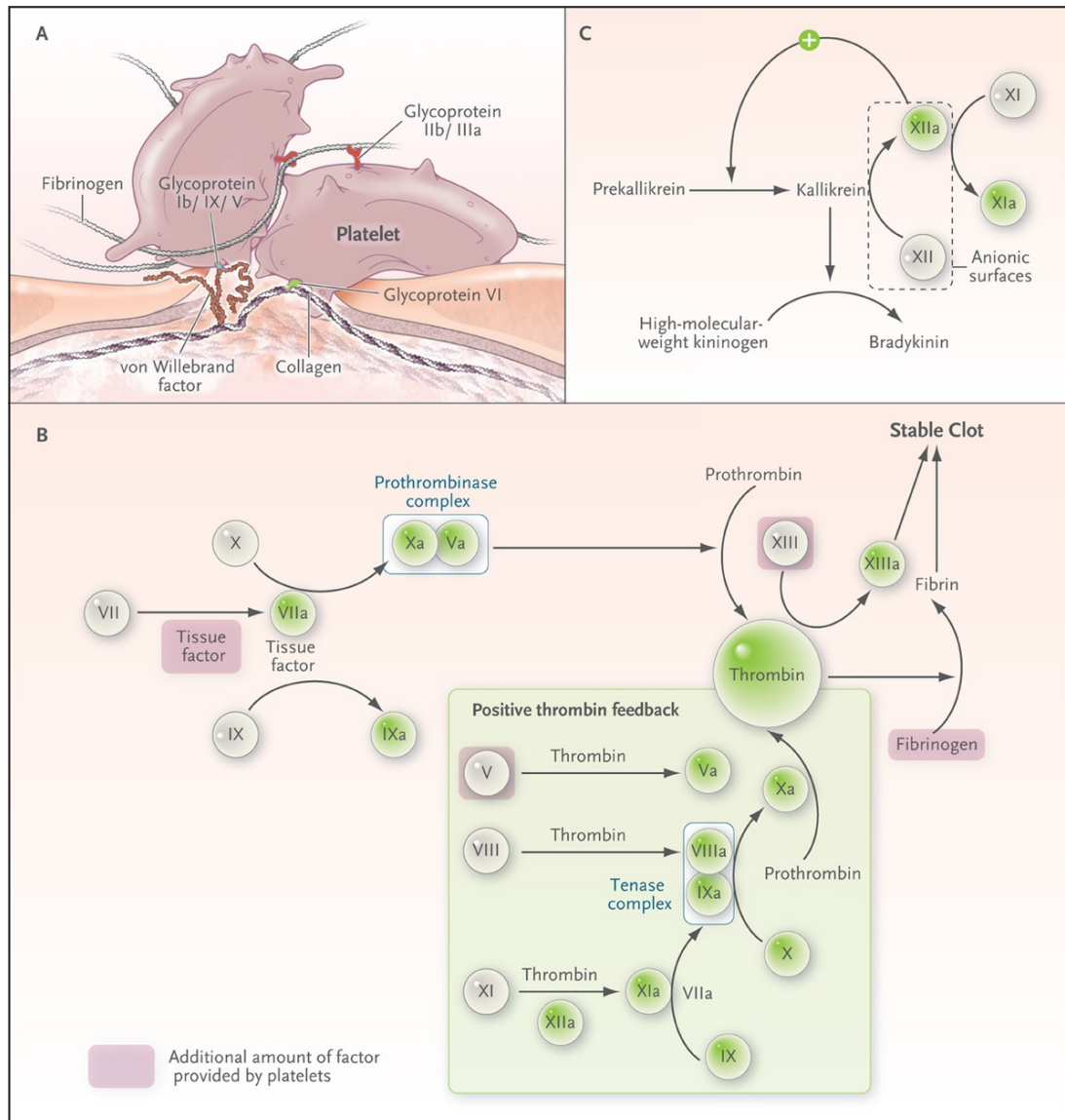
αυξημένα D- Dimers κάτι που δεν απαντάται σε μη – COVID σθενείς με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου και ανάρσταση ST (STEMI), ενώ φαίνεται ότι υπάρχει συσχέτιση των επιπέδων TNI με θνητότητα 51% vs 4% $p < 0.001$ ⁴⁵. Παραμένει το ερώτημα πώς σχετίζεται η υπερπηκτικότητα με την καρδιακή βλάβη, αν είναι η μία απότοκος της άλλης ή αν απλά αντικατοπτρίζουν μία βαριά κλινική κατάσταση. Η παθογένεια της καρδιακής βλάβης, σχεδόν 2 έτη από την έναρξη της πανδημίας δεν έχει πλήρως αποσαφηνιστεί.

1.5.0 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΑΙΜΟΣΤΑΤΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ

Η διαδικασία της αιμόστασης ξεκινά όταν υπάρξει βλάβη στην ακεραιότητα του ενδοθηλίου του αγγείου. Το κολλαγόνο και ο ιστικός παράγοντας που βρίσκονται στο υπενδοθήλιο εκτίθενται και πυροδοτούν την δημιουργία θρόμβου. Τα αιμοπετάλια προσκολλώνται μέσω της γλυκοπρωτεΐνης V στο εκτεθειμένο κολλαγόνο και της γλυκοπρωτεΐνης Ib-V-IX στον παράγοντα Von Willebrand (vWF)⁴⁶. Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων μέσω αυτού του μηχανισμού απαιτεί ενδοθηλιακή βλάβη ενώ εναλλακτικά, αν δεν προηγηθεί προηγηθεί ενδοθηλιακή βλάβη ενεργοποιούνται μέσω του ιστικού παράγοντα (TF)^{46,47}. Η ενεργοποίηση σημαίνει αλλαγή στο σχήμα τους, και ταυτόχρονα έκκριση από τα κοκκία παραγόντων όπως το ADP και το Ca, οι οποίοι ενισχύουν την περαιτέρω ενεργοποίηση τους και τη συγκόλληση κι άλλων αιμοπεταλίων. Η διαδικασία αυτή παράλληλα με την προσκόλληση και συγκόλληση τους, οδηγεί σε ταχεία ανάπτυξη του θρόμβου.

Παράλληλα με την ενεργοποίηση του TF ενεργοποιείται ο καταρράκτης της πήξης. Το τελικό προϊόν είναι η θρομβίνη, το βασικό ένζυμο της πήξης απαραίτητο για την δημιουργία της ινικής, σταθεροποιεί τον σχετικά ασταθή αιμοπεταλικό θρόμβο. Ο TF σε κανονικές συνθήκες βρίσκεται σε ανενεργή μορφή στο εσωτερικό τμήμα του τοιχώματος του αγγείου (adventitia, media) και σε μικροσωματίδια στο αίμα⁴⁶. Ενεργοποιείται από το αιμοπετάλια και το ενδοθήλιο, δημιουργεί σύμπλοκο με τον παραγοντα VII (εξωγενής οδός-extrinsic pathway), ενεργοποιούν τους παράγοντες fIX και fXa. Η ελάχιστη θρομβίνη που δημιουργείται ενεργοποιεί τον FXI, fVIII, και fV. Ο fIX + fVIII (σύμπλοκο τενάσης- tenase complex) οδηγούν στην ενεργοποίηση του fX (αρχή του κοινού μονοπατιού). Εν τέλει, ο fXa + fV (σύμπλοκο προθρομβινάσης - prothrombinase complex) θα μετατρέψουν την προθρομβίνη σε θρομβίνη, η οποία θα

μετατρέψει το ινωδογόνο στην αδιάλυτη ινική⁴⁶. Η αρχική μικρή παραγωγή θρομβίνης πυροδοτεί περαιτέρω τον καταρράκτη της πήξης ενώ ταυτόχρονα η ισορροπία επέρχεται από το ινωδολυτικό σύστημα που εμποδίζει τη ραγδαία εξάπλωση του θρόμβου⁴⁸[Εικόνα 4]



Εικόνα 4 Ο μηχανισμός της αιμόστασης

1.6.ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΠΗΞΗΣ ΑΠΟ ΤΟ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ: ΑΝΟΣΟΘΡΟΜΒΩΣΗ

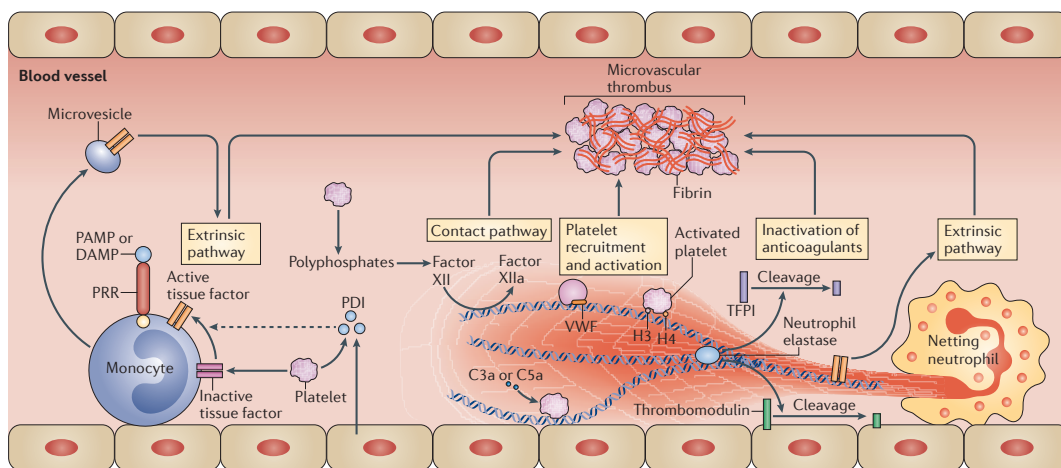
Ο όρος ανοσοθρόμβωση ανήκει στους Engelman και Massberg, τον οποίο χρησιμοποίησαν πρίν λίγα χρόνια για να χαρακτηρίσουν την αλληλεπίδραση μεταξύ του συστήματος πήξης και του συστήματος φυσικής ανοσίας⁴⁹. Αυτή η θεωρία ορίζει την αρμονική συμβίωση μεταξύ των δύο συστημάτων ειδικά σε καταστάσεις οξείας

λοίμωξης. Η ανοσοθρόμβωση προσδιορίζει τον ενεργό ρόλο του πρωτογενούς ανοσοποιητικού συστήματος στη δημιουργία θρόμβου, επάγεται από τους παθογόνους μικροοργανισμούς και χαρακτηρίζεται από αλληλεπίδραση κυττάρων του ανοσοποιητικού και παραγόντων πήξης. Στόχος είναι η διατήρηση της ομοιόστασης του οργανισμού αναστέλοντας την διασπορά της λοίμωξης. Μεταξύ των κυττάρων που συμμετέχουν στη διαδικασία της δημιουργίας του θρόμβου είναι τα κύτταρα του συστήματος φυσικής ανοσίας. Τα ουδετερόφιλα και τα μονοκύτταρα κατευθύνονται ταχύτατα στο σημείο της αγγειακής βλάβης και ενσωματώνονται. Τα αιμοπετάλια και οι παράγοντες πήξης ενεργοποιούν τα κύτταρα του ανοσοποιητικού. Ειδικότερα, τα κύτταρα του ανοσοποιητικού έχουν αναπτύξει ειδικούς προθρομβωτικούς μηχανισμούς οι οποίοι δρουν σε ακέραια αγγεία για να προστατεύσουν τον οργανισμό από εξωγενείς εισβολές. Ενεργοποιούμενα από μόρια των παθογόνων μικροοργανισμών, τα PAMPs (pathogen associated molecular patterns) και DAMPS (damage associated molecular patterns), τα μονοκύτταρα διανέμουν τον ιστικό παράγοντα από τα μικροσωματίδια τους στο σημείο εισβολής του παθογόνου ξεκινώντας την εξωγενή οδό της πήξης. Οι εξωκυττάρια παγίδες των ουδετεροφίλων, (NETs- neutrophil extracellular traps) αποτελούμενες από ιστόνες και DNA ενισχύουν την ανοσοθρόμβωση μέσω διαφορετικών μηχανισμών:

- 1) Ενεργοποιούν άμεσα τον παράγοντα XII (σύστημα επαφής) μέσω της αρνητικά φορτισμένης επιφάνειας τους
- 2) Ενώνονται στον vWF και ενισχύουν την προσκόλληση και συγκόλληση και των αιμοπεταλίων
- 3) Οι ιστόνες H3, H4 ενεργοποιούνται και αιμοπετάλια
- 4) Προκαλούν τοπική συγκέντρωση ενζύμων των ουδετεροφίλων όπως η ελαστάση και μυελοπεροξειδάση τα οποία διασπούν τα φυσικά αντιπηκτικά θρομβομοντουλίνη και τον αναστολέα της οδού του ιστικού παράγοντα (Tissue factor pathway inhibitor-TFPI), ενισχύοντας τη διαδικασία της θρομβωσης
- 5) Ενεργοποιούν τον ιστικό παράγοντα (TF) συνεπώς και την εξωγενή οδό της πήξης

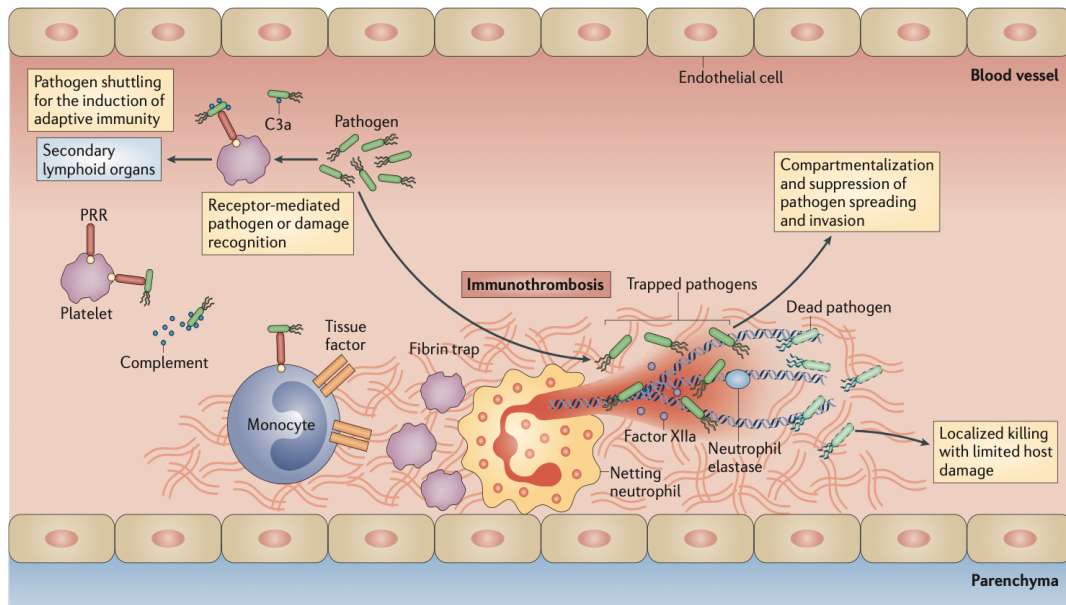
Επιπλέον, φαίνεται πως και τα αιμοπετάλια, πέραν της συμμετοχής τους στην πήξη ενεργοποιώντας άμεσα τον FXII και αυξάνοντας την έκφραση του TF από τα μονοκύτταρα, υποστηρίζουν τη διαδικασία της ανοσοθρόμβωσης ενεργοποιώντας τα

κύτταρα του ανοσοποιητικού μέσω των διαβιβαστών –χυμοκινών που εκκρίνουν CXc, CXCL4, CXCL5, CXCL7, CD40 ligand. Τέλος το σύστημα του συμπληρώματος και ειδικά οι παράγοντες C3a και C5a έχουν σημαντικό ρόλο στην ανοσοθρόμβωση ενεργοποιώντας πρωτίστως τα αιμοπετάλια. Οι αρχές της ανοσοθρόμβωσης με τους βασικούς πρωταγωνιστές της συνοψίζονται στην Εικόνα 5.



Εικόνα 5 Βασικές Αρχές της Ανοσοθρόμβωσης

Αν και ο ρόλος της θρόμβωσης ως φυσικό εμπόδιο στην διασπορά της λοίμωξης έχει αμφισβητηθεί, ο όρος ανοσοθρόμβωση υποδηλώνει πόσο σημαντική είναι η αλληλεπίδραση των δύο συστημάτων. Πρακτικά είναι ένας νέος ενδαγγειακός ανοσολογικός μηχανισμός. Η δημιουργία μικροθρόμβων στην μικροκυκλοφορία είναι ένα είδος ενδαγγειακής ανοσίας με στόχο τη διατήρηση της ομοιόστασης. Η ινική ουσιαστικά εμποδίζει την εξάπλωση της λοίμωξης. Πειράματα σε ζωικά μοντέλα, έδειξαν πως ποντίκια που δεν εκφράζουν ινωδογόνο καταλήγουν από λοιμώξεις. Επιπλέον η συγκέντρωση των μονοκυττάρων λευκών αιμοσφαιρίων στο σημείο του θρόμβου ενισχύει την τοπική άμυνα του οργανισμού [Εικόνα 6].



Εικόνα 6 Η Ανοσοθρομβώση ως άμυνα ενάντια στα παθογόνα

Η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ των δύο με συνεχή ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού οδηγεί σε μία παθολογική υπερπηκτική κατάσταση, έναν φαύλο κύκλο με ανεξέλεγκτη ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού και δημιουργία θρόμβων, απειλητική για την ζωή. Η κλινική έκφραση αυτού του φαύλου κύκλου είναι ποικίλη: ενδαγγειακή πήξη, θρομβοεμβολική νόσος, έμφραγμα του μυοκαρδίου. Η κατανόηση της παθογένειας της ανοσοθρόμβωσης θα οδηγήσει και στην καλύτερη αντιμετώπιση των θρομβώσεων που αποτελούν την πιο συχνή αιτία θανάτου στο δυτικό κόσμο.

1.7.ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΘΡΟΜΒΩΣΗΣ ΣΤΗΝ COVID-19

ΔΙΑΧΥΤΗ ΕΝΔΑΓΓΕΙΑΚΗ ΠΗΞΗ ή ΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗ ΜΙΚΡΟΑΓΓΕΙΟΠΑΘΕΙΑ;

Η διάχυτη ενδαγγειακή πήξη είναι συχνή σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς με σήψη. Χαρακτηρίζεται από ενεργοποίηση ιστικού παράγοντα (TF), συνεχή ενεργοποίηση της εξωγενούς οδού και τελικά κατανάλωση των παραγόντων πήξης, των αιμοπεταλίων του ινωδογόνου με κατεξοχήν κλινική εκδήλωση την αιμορραγία. Η εναπόθεση ινικής στην μικροκυκλοφορία είναι η παθολογοανατομική έκφραση του φαινομένου. Στην COVID-19, αν και η παρουσία θρομβωτικής μικροαγγειοπάθειας είναι συχνή και το κυρίαρχο φαινόμενο είναι η υπερπηκτικότητα, εργαστηριακά δεν παρατηρείται παράταση των χρόνων πήξης και κατανάλωση του ινωδογόνου, υποδεικνύοντας έναν

διαφορετικό μηχανισμό μικροαγγειοπάθειας από την ΔΕΠ ⁵⁰.

ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ και ΘΡΟΜΒΩΣΗ

Το σύνδρομο απελευθέρωσης κυτοκίνης (CRS) είναι μια συστηματική φλεγμονώδης απόκριση που οφείλεται στην απελευθέρωση προ-φλεγμονωδών διαλυτών μεσολαβητών που ονομάζονται κυτοκίνες που προκαλούνται από παράγοντες όπως λοιμώξεις και φάρμακα. Ο όρος «καταιγίδα κυτοκινών» χρησιμοποιείται για να περιγράψει μια κατάσταση όταν υπάρχει μια ασυνήθιστα υψηλή παραγωγή κυτταροκινών. Το CRS μπορεί να παρουσιαστεί με μια ποικιλία συμπτωμάτων από ήπια συμπτώματα όπως πυρετό ή μυαλγίες έως απειλητικές για τη ζωή καρδιαγγειακές, πνευμονικές και νεφρικές εκδηλώσεις σε σοβαρές περιπτώσεις.

Στο πλάσμα ασθενών με COVID-19 που νοσηλεύονται σε μονάδες εντατικής θεραπείας (ΜΕΘ), σε σύγκριση με ασθενείς με COVID-19 εκτός ΜΕΘ ανευρίσκονται εξαιρετικά υψηλά επίπεδα κυτταροκινών που επηρεάζει αρνητικά την έκβαση της νόσου. Οι μετρήσεις αφορούν IL-2R, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α. Συγκεκριμένα, τα επίπεδα ιντερλευκίνης IL-6 έχουν σαφή συσχέτιση με την πρόγνωση στην νόσο όπως και στα οξέα στεφανιαία σύνδρομα και σε κλασσικές φλεγμονώδεις ασθένειες του ανοσοποιητικού όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα. Η φυσιολογική βάση είναι η συνεχής μη ελεγχόμενη ενεργοποίηση μίας ανοσολογικής απάντησης μετά από την είσοδο του SARS-CoV2 στα κυψελιδικά τριχοειδή. Η υπερέκκριση κυτοκινών αυξάνει την τριχοειδική διαπερατότητα και τελικά προκαλεί διάχυτη κυψελιδική βλάβη και οίδημα. Σε σοβαρές περιπτώσεις η καταιγίδα κυτοκινών θυμίζει αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο και οδηγεί σε πολυοργανική ανεπάρκεια και θάνατο. Επιπλέον η αύξηση κυτταροκινών όπως η IL-6 σχετίζεται με προφητική κατάσταση όπως φαίνεται από την συσχέτιση της με αυξημένα επίπεδα ινωδογόνου. Ο ρόλος της καταιγίδας κυτταροκινών στην έκβαση της νόσου οδήγησε στην μαζική χρήση ανταγωνιστών τους όπως το anti-IL-6 μονοκλωνικό αντίσωμα tocilizumab το οποίο χρησιμοποιήθηκε εκτενώς με ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Άλλα φάρμακα που στοχεύουν το φαινόμενο απελευθέρωσης κυτοκίνης και επί του παρόντος υποβάλλονται σε κλινικές δοκιμές περιλαμβάνουν 1) αναστολέα Janus Kinase (JAK) – Baricitinib, 2) Ανασυνδυασμένο ανταγωνιστή υποδοχέα ανθρώπινης ιντερλευκίνης-1 (IL-1) - Anakinra: IL-1, 3) Ερευνητικό εξανθρωπισμένο μονοκλωνικό αντίσωμα στον υποδοχέα χημειοκίνης CCR5-Leronlimab. Με βάση τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες των κορτικοστεροειδών η χρήση τους έχει σαφή θέση στον θεραπευτικό αλγόριθμο του νοσήματος.

ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑ: Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ ΚΑΙ Η ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥ ΜΕ ΤΟΝ ΠΗΚΤΙΚΟ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟ

Το σύστημα του συμπληρώματος έλκει την καταγωγή του δισεκατομμύρια χρόνια πριν όταν οι πρωτόγονες πρωτεΐνες εξελίχθηκαν για να προστατεύσουν τα κύτταρα από τα παθογόνα και να ενεργοποιήσουν ενδοκυττάρειες μεταβολικές οδούς^{51,52}. Το σημερινό σύστημα ανήκει στο σύστημα φυσικής ανοσίας, ουσιαστικά βρίσκεται μεταξύ αυτού και του συστήματος προσαρμοσμένης ανοσίας. Οι βιολογικές του λειτουργίες είναι ποικίλες:

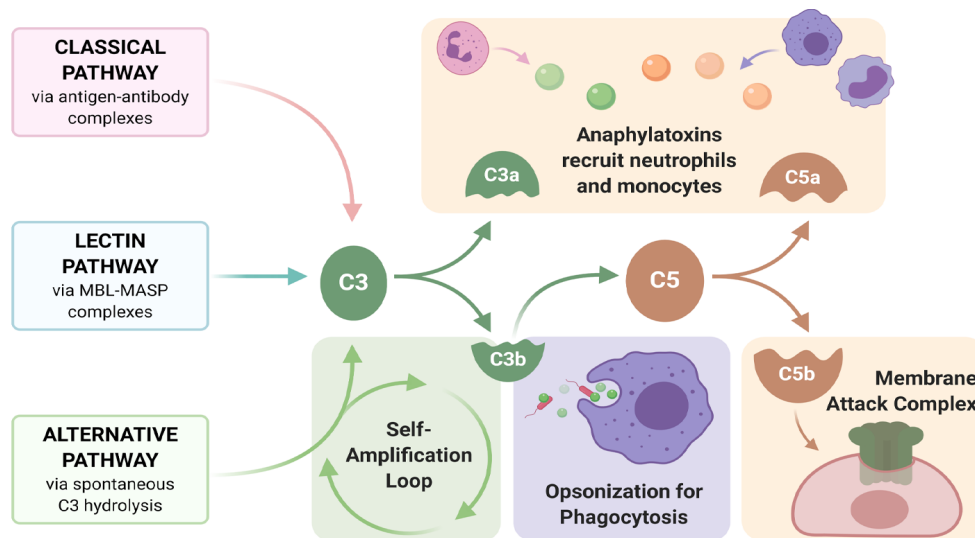
- 1) ενίσχυση της φαγοκυττάρωσης και λύση μετά από αλληλεπίδραση ν C3b/iC3b που συνδέονται στα παθογόνα με υποδοχείς συμπληρώματος (Complement Receptors- CR) CR1, CR3 και CR4 που υπάρχουν στην επιφάνεια των ουδετερόφιλων και μακροφάγων
- 2) Χημειοταξία των ουδετεροφίλων στην περιοχή της λοίμωξης από τα C3a και C5a
- 3) Οι C3a και C5a μπορούν να προκαλέσουν αποκοκκίωση ιστιοκυττάρων και βασεόφιλων και απελευθέρωση φλεγμονωδών μεσολαβητών που αυξάνουν την τοπική αγγειοδιαστολή και την αγγειακή διαπερατότητα
- 4) λύση πολλών μικροοργανισμών, μέσω του συμπλέγματος επίθεσης μεμβράνης (MAC, C5b-9n) στην επιφάνεια τους
- 5) αύξηση της παραγωγής αντισωμάτων από τα B λεμφοκύτταρα μέσω του υποδοχέα CR2
- 6) απομάκρυνση ανοσοσυμπλεγμάτων από την κυκλοφορία μέσω της πρόσδεσης των C3b, C3d με τον υποδοχέα CR1.

Το συμπλήρωμα ενεργοποιείται από 3 διαφορετικά μονοπάτια που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους (λεκτίνης, εναλλακτικό και κλασσικό). Και τα 3 οδηγούν στην παραγωγή της οσονίνης C3 και τελικά στην αναφυλοτοξίνη C5b που δημιουργεί το σύμπλοκο επίθεσης μεμβράνης (MAC membrane attack complex) που είναι και τα τελικά προϊόντα. Το C5a είναι ένα ισχυρό μόριο σηματοδότησης (πρωτεΐνη), ενεργοποιεί τα T λεμφοκύτταρα μέσω του υποδοχέα C5R [Εικόνα 7]. Πρακτικά το C5a ενεργοποιεί το σύστημα προσαρμοσμένης ανοσίας B και T λεμφοκύτταρα καθώς και άλλα προφλεγμονώδη κύτταρα όπως τα μακροφάγα να παράξουν κυτταροκίνες TNF, IL-1b, IL-6 και IL-8. Αυτή η προφλεγμονώδης κατάσταση – η καταιγίδα κυτταροκινών λαμβάνει χώρα σε ώρες μετά τη λοίμωξη από SARS- CoV2. Παρόμοια παθολογική παραγωγή απαντάται και σε άλλες παθολογικές καταστάσεις όπως το αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο και το σύνδρομο ενεργοποίησης των μακροφάγων

MAS. Η παραγωγή κυτταροκινών όπως η IL-12 ενεργοποιεί περαιτέρω τα CD8 λεμφοκύτταρα. Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος αυξάνει την παραγωγή των NETs, από τα ουδετερόφιλα τα οποία είναι μεν σημαντικά για το σύστημα φυσικής ανοσίας ωστόσο δρουν προάγοντας την πήξη, όπως αναφέρθηκε και πριν. Επιπλέον, τα αιμοπετάλια ενεργοποιούνται από το συμπλήρωμα εκφράζοντας μόρια προσκολλητικότητας στην επιφάνειά τους όπως selectins, integrins, ICAMs. Ο ρόλος των αιμοπεταλίων στο φυσιολογικό μηχανισμό της ανοσοθρόμβωσης έχει ήδη περιγραφεί. Η αλληλεπίδραση των μονοπατιών της πήξης με τις πρωτεΐνες του συμπληρώματος γίνεται σε πολλά επίπεδα. Οι παράγοντες C3, C4 του συμπληρώματος διασπώνται από τους παράγοντες πήξης IXa, Xa, XIa με αποτέλεσμα την παραγωγή των ενεργοποιημένων C3a και C5a, οι οποίοι με τη σειρά τους αυξάνουν την παραγωγή του ιστικού παράγοντα TF. Η αυξημένη παραγωγή του ιστικού παράγοντα ιδιαίτερα από την C5a γίνεται από διάφορες πηγές όπως ενδοθήλιο και ουδετερόφιλα. Τα μεγάλα πολυμερή του vWF επίσης ενεργοποιούν το συμπλήρωμα σε αντίθεση με τα μικρά πολυμερή που το αναστέλλουν.

Η πρωτεΐνη MASP-1 επιπλέον διασπά το ινωδογόνο και τον παράγοντα XIII. Πέρα από την ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού, το συμπλήρωμα αναστέλλει τον ινωδολυτικό μηχανισμό εμποδίζοντας την μετατροπή του πλασμινογόνου σε πλασμίνη αλλά και αυξάνοντας τον PAI-1. Διαφαίνεται σαφώς πως η εμπλοκή του μηχανισμού του συμπληρώματος με το σύστημα της πήξης και της ινωδολύσης είναι πολυεπίπεδη με το ένα σύστημα να ενεργοποιεί το άλλο. Η θρομβίνη, το βασικό ένζυμο της πήξης, ενεργοποιεί την μετατροπή του C5 σε C5a.

Το σύστημα του συμπληρώματος παραμένει ηπίως ενεργοποιημένο σε συνθήκες διατήρησης της ομοιόστασης του μηχανισμού και ενισχύεται σε ιογενείς λοιμώξεις, αιμορραγία και τραύμα.⁵³ Το έναυσμα για την ενεργοποίηση είναι είτε άμεσο είτε μέσω των ανοσοσυμπλεγμάτων ή των Toll-like υποδοχέων.



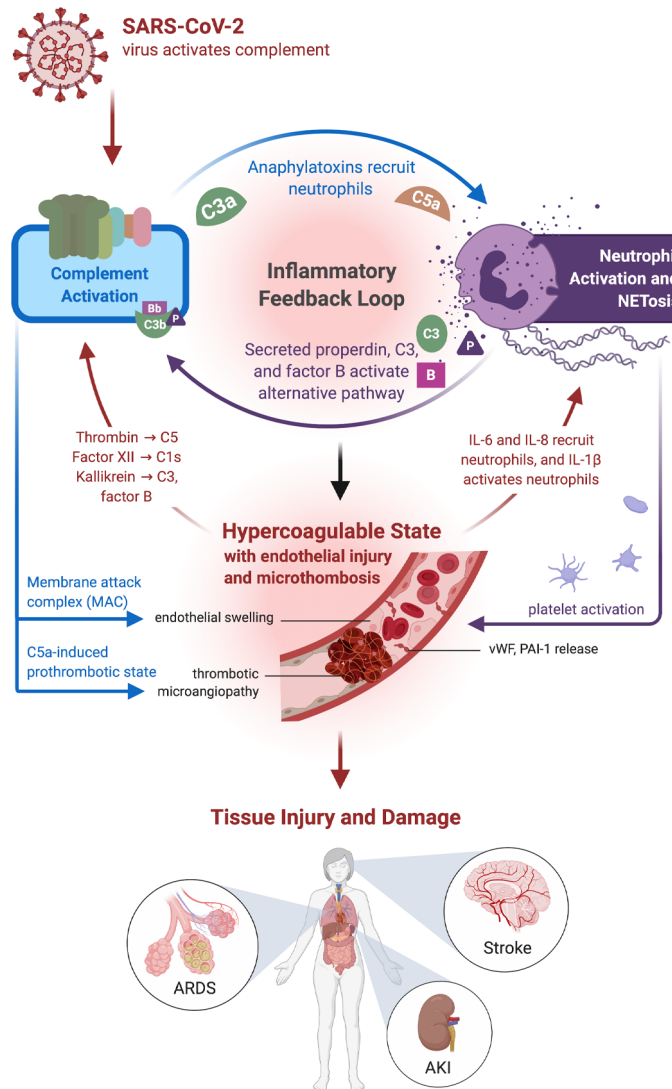
Εικόνα 7 Το σύστημα του συμπληρώματος

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΙΟΥ στην ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΟΣ – ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΠΡΟΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗ ΔΙΑΘΕΣΗ

Ο μηχανισμός της συστηματικής ενεργοποίησης του συμπληρώματος από τον SARS-CoV2 εμπλέκει το μονοπάτι της λεκτίνης μέσω του MBL (mannose – binding lectin)⁵⁴ η οποία ενεργοποιείται από την spike πρωτεΐνη ή ακίδα του ιού. Μία έμμεση απόδειξη είναι η ανεύρεση της Spike πρωτεΐνης και του προϊόντος του συμπληρώματος MASP σε βιοψτικό υλικό πνεύμονα⁵⁵. Η ανεξέλεγκτη ενεργοποίηση του συμπληρώματος με την αυξημένη παραγωγή της αναφυλοτοξίνης C5a τελικά προκαλεί εξάντληση των λεμφοκυττάρων, ελάττωση της λειτουργικότητάς τους, μία κατάσταση ανοσοκαταστολής που τελικά οδηγεί σε αυξημένη θνητότητα. Η λεμφοπενία που απαντάται στη νόσο COVID-19 είναι συχνή και σχετίζεται με αυξημένη θνητότητα όπως έχει ήδη περιγραφεί⁵⁶.

Η συνεχής ενεργοποίηση του συμπληρώματος απαντάται σε παθολογικές καταστάσεις όπως το άτυπο ουραιμικό αιμολυτικό σύνδρομο (aHUS) και οδηγεί σε μικροθρομβώσεις διάχυτες όπως φαίνεται στα ιστοπαθολογικά ευρήματα που ανευρίσκονται στην λοίμωξη από SARS – CoV 2 και που όπως έχει ήδη τονιστεί διαφέρουν από το τυπικό ARDS (Magro et al). Η προσβολή στη νόσο COVID-19 αφορά ωστόσο πλειάδα οργάνων σε αντίθεση με αυτό που απαντάται στο aHUS. Επιπλέον, η εναπόθεση των πρωτεϊνών του συμπληρώματος MASP-3, C3, C5b(-MAC) σε διάφορα κύτταρα προσβεβλημένα από τον ιό όπως τα ενδοθηλιακά και τα

κύτταρα των κυψελίδων ενισχύει περαιτέρω την υπόθεση ⁵⁷. Ιδιαίτερως η βλάβη του ενδοθηλίου που επάγεται από το συμπλήρωμα είναι ένας ακόμα προθρομβωτικός μηχανισμός [Εικόνα 8].



Εικόνα 8 Περίληψη της προφλεγμονώδους και υπερπηκτικής κατάστασης που προκαλεί η ενεργοποίηση του συμπληρώματος από τον SARS-CoV2

Η εναπόθεση σε ιστικό επίπεδο σχετίστηκε σε συστηματική αύξηση του C5a. Πειράματα με Knock-out στο C3 ποντίκια έδειξε πως η κλινική έκβαση μετά από λοίμωξη με τον SARS-CoV2 ήταν καλύτερη. Θα μπορούσε επιπλέον να υπάρχει και γενετική προδιάθεση. Μελέτη γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτείνες που ελέγχουν το συμπλήρωμα έδειξε κλινική συσχέτιση με την ανάπτυξη σοβαρής νόσου^{58,59}.

Στην περίπτωση της νόσου COVID-19 η εφαρμογή ανοσοτροποποιητικών θεραπειών μελετήθηκε εκτενώς και αποτελεί μία διαφορετική αντιμετώπιση από την κλασσική

αντιμικροβιακή θεραπεία που εφαρμόζεται στις περισσότερες λοιμώξεις. Σε ζωικά μοντέλα ο αναστολλέας του C5a και του λευκοτριενίου LTB4 σε λοίμωξη από γρίπη και ARDS φάνηκε ότι ελάττωσε τα επίπεδα των κυτταροκινών IL-1α, IL-1β, IL-2, IFN-γ, IL-6, IL-10, IL-17, TNF βελτιώνοντας την πρόγνωση⁶⁰. Σε πραγματικό επίπεδο οι θεραπείες που έχουν εφαρμοστεί με επιτυχία στο άτυπο HUS και στην Παροξυσμική Νυχτερινή αιμοσφαιρινουρία (PNH) έχουν δοκιμαστεί και στην COVID-19 Αναστολείς του C5 Eculizumab⁶¹ (Soliris®, Alexion Pharmaceuticals, USA) και nomacoran (Akari Therapeutics, UK) με δράση στην HUS, PNH και στην πέμφιγα αντίστοιχα φαίνονται υποσχόμενες. Το Eculizumab επιπλέον αναστέλλει το LTB4. Θεραπεία με eculizumab και IFX-1 (InflaRx, Germany), ένα διαφορετικό anti-C5a μονοκλωνικό αντισώμα⁶², έχει χορηγηθεί σε μικρές σειρές ασθενών μέσω κλινικών μελετών και προγραμμάτων πρόωμης πρόσβασης.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Ο σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η αναζήτηση της σχέσης της θρομβωτικής μικραγγειοπάθειας που αποτελεί μοναδικό χαρακτηριστικό της νόσου COVID-19 με την συνεχή ενεργοποίηση του συμπληρώματος κάνοντας συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας. Η ανασκόπηση έγινε σε 2 στάδια. Στο πρώτο στάδιο αναζητήθηκαν οι μελέτες που αποδεικνύουν την παρουσία των μικροθρομβώσεων σε διάφορα όργανα. Στο 2^ο στάδιο αναζητήθηκαν οι μελέτες που διερευνούν την συνεχή ενεργοποίηση του συμπληρώματος στην επιβεβαιωμένη μικροαγγεοπάθεια της λοίμωξης από SARS- CoV2.

2.1 ΣΤΑΔΙΟ 1^ο: ΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗ ΜΙΚΡΟΑΓΓΕΙΟΠΑΘΕΙΑ στην COVID-19

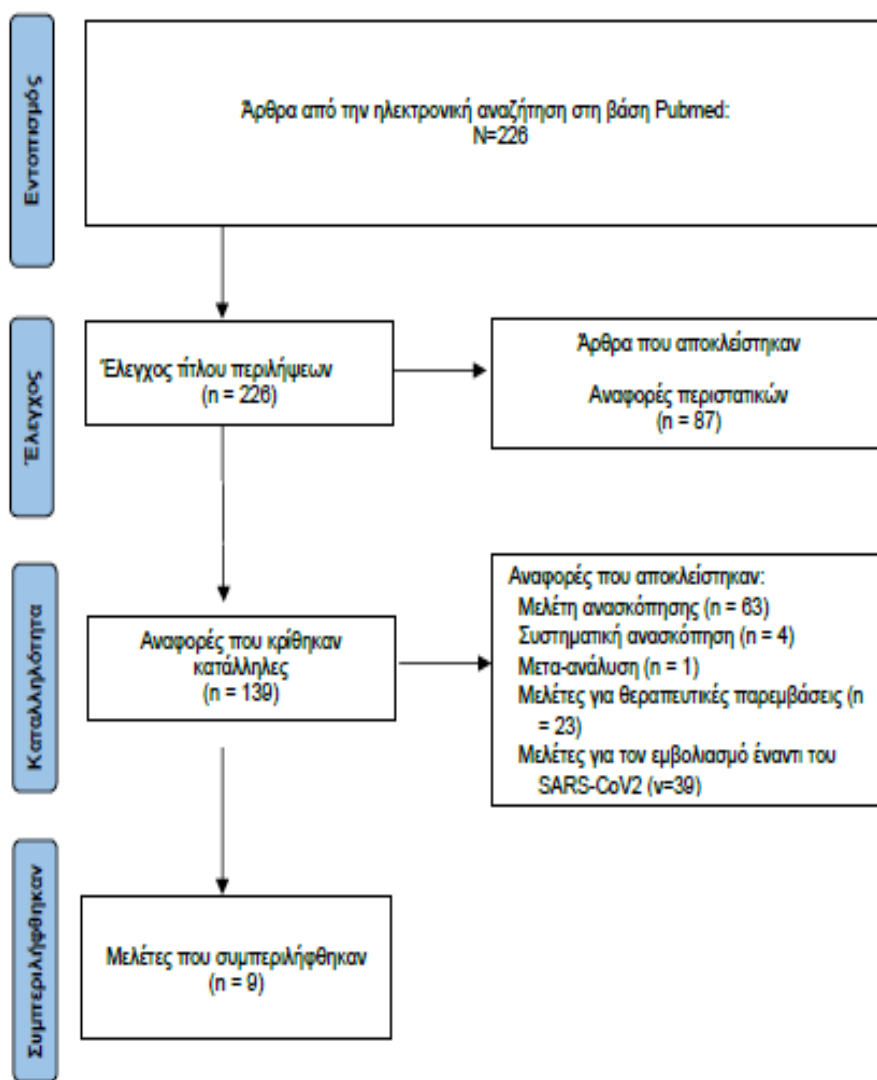
ΥΛΙΚΑ και ΜΕΘΟΔΟΙ

Στρατηγική αναζήτησης, κριτήρια καταλληλότητας & Επιλογή Μελέτης

Η ανασκόπηση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας τη βάση δεδομένων PubMed, αναζητώντας άρθρα από την 1η Ιανουαρίου 2020 έως τις 1 Νοεμβρίου 2021, γραμμένα στα αγγλικά. Οι βασικοί όροι που χρησιμοποιήθηκαν ήταν "COVID-19" ή "SARS-CoV-2" ή "nCoV" σε συνδυασμό με τους όρους "AUTOPSY" ή "thrombotic micrangiorathy". Ο κύριος κανόνας για την επιλογή του άρθρου ήταν ο προσδιορισμός στους τίτλους ή/και στις περιλήψεις λέξεων/εννοιών που υποδεικνύουν την ανάλυση των μορφολογικών/παθολογικών βλαβών των ιστών που σχετίζονται με τη νόσο SARS-CoV-2. Η επιλογή του άρθρου επικεντρώθηκε σε εκείνα που περιγράφουν ευρήματα αυτοψίας και, επομένως, στα μικροσκοπικά, ιστολογικά και ανοσοϊστοχημικά δεδομένα αλλά και σε άρθρα που μετρούν δείκτες σχετιζόμενους με θρομβωτική μικραγγεοπάθεια. Τα άρθρα διαβάστηκαν πλήρως εάν η περίληψη έδειχνε ότι το περιεχόμενο της εργασίας πληρούσε πιθανώς τα κριτήρια ένταξης. Τα άρθρα εξαιρέθηκαν με τίτλο, περίληψη ή πλήρες κείμενο, εάν δεν ασχολούνταν με το θέμα. Εξαιρέθηκαν επίσης οι ανασκοπήσεις των άρθρων. Τα άρθρα που θεωρήθηκαν σχετικά αναλύθηκαν σε βάθος, εστιάζοντας στα συνολικά δεδομένα της εξέτασης, στα ιστολογικά ευρήματα, στα ανοσοϊστοχημικά αποτελέσματα, στην μέτρηση παραγόντων όπως η δραστηριότητα της ADAMTS 13, το αντιγόνο vWF και άλλους εργαστηριακούς δείκτες που καταδεικνύουν TMA και τέλος στη μοριακή διάγνωση της λοίμωξης SARS-CoV-2.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Από την αναζήτηση προέκυψαν 226 τίτλοι. Η πλειονότητα των άρθρων (87) αφορούσε μελέτη μεμονωμένων περιστατικών (Case reports) τα οποία εξαιρέθηκαν λόγω χαμηλού επιπέδου αποδεικτικότητας. Επιπλέον, εξαιρέθηκαν τα άρθρα ανασκόπησης, 63 τίτλοι, οι συστηματικές ανασκοπήσεις, 4 τίτλοι, οι μεταanalύσεις 1 τίτλος. Δεν προέκυψαν κλινικές μελέτες οποιαδήποτε φάσης (Phase I- III), όπως και τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες όπως και ήταν αναμενόμενο. Από τα υπόλοιπα άρθρα τα οποία ανασκοπήθηκαν, υπήρχε πληθώρα άρθρων που αφορούσε ποικίλες θεραπευτικές παρεμβάσεις και αρκετές βιβλιογραφικές αναφορές στον εμβολιασμό έναντι του SARS- CoV2. Τα άρθρα που περιλήφθησαν στην συστηματική ανασκόπηση αφορούν 9 βιβλιογραφίες στην πλειονότητα τους μελέτες παρατήρησης (Observational studies) η μεγαλύτερη των οποίων περιελάμβανε 102 ασθενείς. Οι μελέτες πλήν μίας είχαν αναδρομική ισχύ. Στην Εικόνα 9 φαίνεται το διάγραμμα ροής της επιλογής των μελετών για το 1^ο στάδιο της παρούσας ανασκόπησης.



Εικόνα 9 Διάγραμμα ροής της συστηματικής ανασκόπησης για την θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια

Από την ανασκόπηση των άρθρων προκύπτει η σημασία του βιοπτικού υλικού και ειδικότερα του υλικού αυτοψίας στην αποσαφήνιση της παθογένειας του νοσήματος. Ειδικότερα τα όργανα στόχος μελετήθηκαν μακροσκοπικά και μικροσκοπικά ενώ χρησιμοποιήθηκαν ειδικοί ανοσοϊστοχημικοί δείκτες. Σε κάποιες μελέτες χρησιμοποιήθηκε και ηλεκτρονικό μικροσκόπιο και έτσι καταγράφηκαν λεπτομερέστερα οι βλάβες που αποτέλεσαν το αίτιο θανάτου. Η παρουσία ιστικής βλάβης ήταν δεδομένη αλλά το πρότυπο άγνωστο. Αν και ο πνεύμονας που αποτελεί το βασικό όργανο στόχο του νέου κορονοϊού μπορεί να μελετηθεί σχετικά καλά χρησιμοποιώντας απεικονιστικές μεθόδους όπως την αξονική τομογραφία, ακόμα και την απλή ακτινογραφία, όργανα που δευτερευόντως προσβάλλονται όπως η νεφροί και

η καρδιά είναι αδύνατον να μελετηθούν μορφολογικά με τις διαθέσιμες μεθόδους. Ειδικότερα, η καρδιακή βλάβη, που φάνηκε από τις πρώτες μελέτες που δημοσιεύθηκαν ότι είναι σημαντικό αίτιο νοσηρότητας και θνητότητας, είναι δύσκολο να χαρτογραφηθεί. Αρκεί ο υπέρηχος να καταγράψει την μυοκαρδική προσβολή; Θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί η μαγνητική καρδιάς σε αυτό τον πληθυσμό των βαρέως πασχόντων; Είναι ερωτήματα που χρήζουν απάντησης ώστε να βελτιωθεί η καθημερινή κλινική πρακτική.

Οι μελέτες που χρησιμοποιήθηκαν στην ανασκόπηση και αφορούσαν βιοπτικά υλικά περιέλαβαν ενήλικες ασθενείς.

Στην ανασκόπηση αυτή μόνο μία μελέτη σε παιδιατρικό πληθυσμό περιλήφθηκε. Η εν λόγω μελέτη συσχέτισε κλινικά και εργαστηριακά δεδομένα θρομβωτικής μικροαγγειοπάθειας (αναιμία, θρομβοπενία, νεφρική βλάβη, παρουσία σχιστοκυττάρων στο επίχρισμα του περιφερικού αίματος) με τη βαρύτητα της νόσου. Η παθολογοανατομική εξέταση των πνευμόνων που αποτελούν και το βασικό όργανο-στόχο απέδωσε ενδιαφέροντα ευρήματα. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων υπήρχε διάχυτη κυψελιδική βλάβη και αιμορραγία. Τα πνευμονοκύτταρα παρουσίαζαν εξοίδηση, και είχαν αυξημένο μέγεθος^{63,66,67}. Σε όλες τις περιπτώσεις, πλὴν ελαχίστων, συνυπήρχε ενδοκυψελιδική αιμορραγία. Το εύρημα ωστόσο που ήταν σχεδόν καθολικό και απουσιάζει σε ARDS ωφειλόμενο σε άλλους ιούς όπως της γρίπης ήταν οι θρομβώσεις στα μικρού και μεσαίου μεγέθους αγγεία. Αυτό που ποικίλει είναι τα ποσοστά της θρομβωτικής μικροαγγειοπάθειας στις διάφορες μελέτες τα οποία κυμαίνονται από 30-100%. Οι μικροί θρόμβοι περιείχαν αιμοπετάλια και ινική. Το πλήθος των αιμοπεταλίων και των εναποθέσεων ινικής ήταν συμβατά με ενδοθηλιακή βλάβη, και αιμοπεταλιακή διαταραχή, πέραν της αναμενόμενης⁶⁴. Σε όλα τα υπό μελέτη περιστατικά υπήρχαν παθολογικές δοκιμασίες πήξης με πολύ αξιόμενες τιμές D- Dimers ενώ δεν υπήρχε παράταση PT, PTT και κατανάλωση ινωδογόνου που δείχνουν πως ο θρομβωτικός μηχανισμός ήταν διαφορετικός από την Διάχυτη ενδαγγειακή πήξη που απαντάται σε άλλες λοιμώξεις και σχετίζεται με αυξημένη θνητότητα σε νοσηλευόμενους ασθενείς. Επιπλέον, δεν συνυπήρχε θρομβοπενία στην πλειονότητα των περιστατικών. Ένα άλλο εύρημα ήταν η παρουσία ενεργοποιημένων μεγακαρυοκυττάρων που εξέφραζαν CD61 τα οποία υπάρχουν στα κυψελιδικά τριχοειδή και παράγαν αιμοπετάλια. Το αν ο ιός προσβάλλει μεγακαρυοκύτταρα και αιμοπετάλια δεν έχει διευκρινισθεί αν και υπάρχουν μεμονωμένες αναφορές που αφορούν λοιμώξη από άλλους ιούς όπως της γρίπης όπου υπάρχει υπερέκφραση

IFITM3 στα αιμοπετάλια και στα μεγακαρυοκύτταρα⁶³. Τα αιμοπετάλια όπως και τα μεγακαρυοκύτταρα πιθανά έχουν υποδοχείς τους οποίους χρησιμοποιούν οι ιοί. Η παρουσία διήθησης από κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος αφορούσε κυρίως πολυμορφοπύρρηνα τόσο στις κυψελίδες όσο και στα μικρά αγγεία προκαλώντας ενδοθηλιακή βλάβη. Το λεμφοκυτταρικό διήθημα ήταν CD4+ και ήταν αυξημένο παρά την λεμφοπενία στο περιφερικό αίμα. Η ενδοθηλιακή βλάβη, που οδηγούσε σε απόπτωση του ενδοθηλίου και τελικά στην θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια, σχετίζεται με την ουδετεροφιλική διήθηση την δημιουργία NETs και στα υψηλά ποσοστά κυτταροκινών όπως φάνηκε από το mRNA κυτταροκινών, IL-1b, IL-6, IL 2, IL7, IL8, IFN γ που καταγράφηκε. Τόσο η ενδοθηλιακή βλάβη όσο και το φλεγμονώδες υπόστρωμα είναι μοναδικά χαρακτηριστικά του νέου κορονοϊού. Σε πολλές περιπτώσεις υπήρχε μικρή συσχέτιση μεταξύ της κυψελιδικής βλάβης και της θρομβωτικής μικροαγγειοπάθειας υποδεικνύοντας την αγγειοπάθεια σαν αίτιο θανάτου⁶⁵. Το παζλ της προθρομβωτικής κατάστασης που επάγεται από την λοίμωξη συμπληρώνει και το υψηλό ποσοστό θρομβώσεων στα μεγάλα αγγεία, πνευμονική αρτηρία και στους κλάδους της. Οι θρομβώσεις στα μεγάλα αγγεία, πνευμονική εμβολή και η θρόμβωση στις πνευμονικές αρτηρίες ωστόσο σχετίζονται με τον βαθμό ενδοκυψελιδικής βλάβης σε αντίθεση με την TMA.

Το συμπέρασμα είναι ότι η μακροαγγειοπάθεια καταγράφεται σε σοβαρή πνευμονία ενώ η μικροαγγειοπάθεια μπορεί να υπάρχει ανεξάρτητα από τον βαθμό ενδοκυψελιδικής βλάβης και να αποτελέσει το κύριο αίτιο θνητότητας. Εμβαθύνοντας περαιτέρω το αίτιο της μικροαγγειοπάθειας η Magro και συνεργάτες περιέγραψαν σε αυτοπτικό υλικού⁵³, το οποίο μελέτησαν με τη χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου, ανοσοϊστοχημείας, (12 βιοπτικά υλικά) μεταξύ των άλλων εναποθέσεις των τελικών προϊόντων του συμπληρώματος C4d και C5b σε διάφορα όργανα όπως οι πνεύμονες αλλά και το δέρμα, ο εγκέφαλος, οι νεφροί και η καρδιά. Οι εναποθέσεις ήταν στο ενδοθήλιο και στο υπενδοθήλιο της μικροκυκλοφορίας όλων των οργάνων, ενισχύοντας την υπόθεση της θρομβωτικής μικροαγγειοπάθειας μέσω ενεργοποίησης του συμπληρώματος⁷⁰.

Σε συστηματικό επίπεδο η καταγραφή των δεικτών ενεργοποίησης του ενδοθηλίου, Von Willebrand factor (vWF), ADAMTS-13, ενδαγγειακής αιμόλυσης και τελικής οργανικής βλάβης εξετάστηκαν σε 2 μελέτες παρατήρησης. Στη μεγαλύτερη από αυτές οι ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν ανάλογα με την κλινική τους έκβαση⁶⁹. Τα δημογραφικά στοιχεία και το ατομικό αναμνηστικό μεταξύ αυτών που κατέληξαν και αυτών που

έλαβαν εξιτήριο ήταν ισοσκελισμένα. Μελετήθηκαν δοκιμασίες πήξης: von Willebrand Ag, VWF ristocetin cofactor activity, επίπεδα fVIII, D-Dimers, μονομερή ινικής, δραστικότητα ADAMTS-13, Ag ADAMTS-13, γενικές αίματος και επιχρίσματα περιφερικού αίματος για την παρουσία σχιστοκυττάρων όπως πλήρης βιοχημικός έλεγχος, και προσδιορισμός αντισωμάτων anti-ADAMTS 13 με ELISA, σε διαφορετικά χρονικά σημεία κατά τη διάρκεια της νοσηλείας των ασθενών. Επιπλέον καταγράφηκαν κλινικά δεδομένα κατά τη διάρκεια της νοσηλείας όπως η παρουσία θρομβωτικών φαινομένων σε μεγάλα αγγεία (ΠΕ, ΑΕΕ, ΟΕΜ). Τέλος, μελετήθηκε και η θεραπευτική παρέμβαση με αντιπηκτική αγωγή.

Από την ανάλυση προέκυψε πως τα υψηλά επίπεδα του παράγοντα von Willebrand, LDH, παρουσία σχιστοκυττάρων και τα χαμηλά επίπεδα ADAMTS-13, σε 181 ασθενείς στην πιο μεγάλη αναδρομική μελέτη που έχει δημοσιευθεί, ευρήματα συμβατά με θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια σχετίστηκαν με αυξημένη θνητότητα. Η ADAMTS-13 είναι μία μία μεταλλοπρωτεάση που διασπά τον vWF σε μονομερή. Η σχετική της έλλειψη σχετίζεται με παρουσία μεγάλων πολυμερών του παράγοντα και η μελέτη της είναι σημαντική στη εξήγηση της αγγειοπάθειας. Η παρουσία σχιστοκυττάρων και υψηλής LDH όπως επίσης και η θρομβοπενία σχετίστηκαν με υψηλά επίπεδα παράγοντα Von Willebrand και χαμηλότερα επίπεδα ADAMTS όπως ήταν αναμενόμενο. Αυτά τα ευρήματα είναι συμβατά με την παρουσία μικροαγγειοπάθειας. Επιπλέον τα αυξημένα επίπεδα του vWD σχετίστηκαν άμεσα με υψηλά επίπεδα D-Dimers. Τόσο τα υψηλά D-Dimers όσο και η θρομβοπενία δεν σχετίστηκαν με παράταση των χρόνων πήξης PT-PTT ή ελάττωση του ινωδογόνου, αποσαφηνίζοντας πως η αγγειοπάθεια δεν έχει χαρακτηριστικά διάχυτης ενδαγγειακής πήξης.

Από το σύνολο των υπό μελέτη δειγμάτων το 12 % των ασθενών είχαν εξαιρετικά χαμηλά επίπεδα ADAMTS-13 <30%, και από αυτούς μόνο 30% επιβίωσαν σχετίζοντας την ελάττωσή της με κακή έκβαση. Φάνηκε μάλιστα πως τα επίπεδα της ADAMTS-13⁷⁰ κατά την εισαγωγή στο νοσοκομείο, η αρχικής τους δηλαδή μέτρηση, αποτελεί προγνωστικό παράγοντα για την έκβαση της νόσου. Επιπλέον σε άλλη προοπτική μελέτη παρατήρησης 52 ασθενών τα χαμηλά επίπεδα ADAMTS-13 και τα υψηλά επίπεδα Von Willebrand f σχετίστηκαν επίσης με παρουσία μικροαγγειοπάθειας, υψηλότερη θνητότητα, και μεγαλύτερα ποσοστά οξείας νεφρικής βλάβης επιβεβαιώνοντας τα ευρήματα της προηγούμενης δημοσίευσης⁷¹. Ιδιαίτερος ενδιαφέρον είναι το εύρημα ότι ο λόγος ADAMTS-13/von WD Ag σχετίζεται με την

ηλικία. Τα επίπεδα του von Willebrand F αυξάνονται ενώ της πρωτεάσης που διασπά τα μεγάλα πολυμερή του μειώνονται εξηγώντας εν μέρη την δυσμενέστερη πρόγνωση που έχουν οι ασθενείς μεγαλύτερης ηλικίας στην COVID-19. Ο ελαττωμένος λόγος ADAMTS-13/von WD Ag στην πολυπαραγοντική μελέτη σχετίστηκε σαφώς με οξεία νεφρική βλάβη. Ωστόσο η παρουσία οξείας νεφρικής βλάβης μπορεί να μην οφείλεται μόνο στην TMA η οποία περιγραφηκε σαφώς, συνήθως είναι πολυπαραγοντική. Άλλωστε σε προηγούμενες μελέτες έχει φανεί ότι ο SARS-CoV2 προσβάλλει άμεσα τους νεφρούς. Η προοπτική αυτή μελέτη ωστόσο αν και ανέδειξε την συσχέτιση της μικροαγγειοπάθειας με την νεφρική βλάβη και την έκβαση δεν είχε κλινικά δεδομένα και δεν είχε παρακολούθηση των εργαστηριακών παραμέτρων κατά την διάρκεια της νοσηλείας.

Τα χαμηλά επίπεδα της μεταλλοπρωτεάσης ADAMTS 13 σχετίζονται σαφώς με TMA στην νόσο COVID-19, εύρημα που δεν οφείλετο σε ηπατική βλάβη. Το αναμενόμενο σε μία λοίμωξη είναι η ανεύρεση υψηλών επιπέδων αφού ο παράγοντας έχει χαρακτηριστικά πρωτεϊνής οξείας φάσης ωστόσο στην πλειονότητα των περιπτώσεων στις 2 μελέτες από τις οποίες η μία είχε προοπτικό χαρακτήρα, ήταν ελαττωμένος καταδεικνύοντας εκτεταμένη ενδοθηλιακή βλάβη. Επιπλέον εξήγηση για την ελάττωση της ADAMTS 13 εκτός της κατανάλωσης στα πλαίσια TMA, είναι η ελαττωμένη παραγωγή της. Σε κλινικό επίπεδο η παρουσία θρομβώσεων σχετίστηκε με αυξημένα επίπεδα vWD όχι όμως με όμως τα επίπεδα της ADAMTS -13. Το ερώτημα που προκύπτει είναι εάν θα μπορούσε η αγγειοπάθεια να είναι δευτεροπαθής θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα. Η απάντηση δώθηκε από την μελέτη των Sweeny και συνεργατών⁷⁰ αφού μόνο 2 ασθενείς είχαν επίπεδα ADAMTS -13 < 10% ποσοστά που συνήθως απαντώνται σε TTP, ενώ σε κανέναν από τους ασθενείς δεν ανευρέθησαν εξουδετερωτικά αντισώματα έναντι της ADAMTS -13, βασικό εύρημα στην δευτεροπαθή TTP. Επίσης η χορήγηση αντιπηκτικής αγωγής δεν βελτίωσε την έκβαση της μικροαγγειοπάθειας.

Συμπερασματικά, η παρουσία μικροαγγειοπάθειας καταγράφεται στην πλειονότητα των μελετών σε ιστολογικό επίπεδο και αποτελεί χαρακτηριστικό της COVID-19. Έχει διαφορετική παθογένεια και εργαστηριακά ευρήματα από την διάχυτη ενδαγγειακή πήξη και την θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα και δεν δύναται να αναστραφεί πλήρως από την αντιπηκτική προφύλαξη. Σε εργαστηριακό επίπεδο η μικροαγγειοπάθεια επιβεβαιώνεται χρησιμοποιώντας απλές εξετάσεις όπως η γενική αίματος, το επίχρισμα του περιφερικού αίματος και ο βιοχημικός έλεγχος,

επιβεβαιώνεται από τα υψηλά επίπεδα του Von Willebrand factor και την ελάττωση ADAMTS-13 με την τελευταία να σχετίζεται σαφώς με την πρόγνωση.

Σε επίπεδο παθογένειας η ενδοθηλιακή βλάβη που προκαλεί η συνεχής ενεργοποίηση του συμπληρώματος ενεργοποιεί τον μηχανισμό της πήξης προκαλώντας θρόμβωση σε μικρού και μεσαίου μεγέθους αγγεία σε διάφορα όργανα οδηγώντας σε δυσλειτουργία και εν τέλει σε πολυοργανική ανεπάρκεια.

Στον Πίνακα 1 φαίνονται αναλυτικά όλες οι μελέτες που συμπεριλήφθησαν στην παρούσα ανασκόπηση και αποδεικνύουν την παρουσία των μικροθρομβώσεων σε διάφορα όργανα. Στον πίνακα δίνονται αναλυτικά ο κύριος συγγραφέας του άρθρου, το είδος της μελέτης, το υλικό που χρησιμοποιήθηκε και αριθμός των ασθενών, το πρωτεύον καταληκτικό σημείο της μελέτης και το αποτέλεσμα αυτής.

Συγγραφέας/ Βιβλιογραφία	Τύπος	Υλικό	Αριθμός ασθενών	Πρωτεύον καταληκτικό σημείο	Αποτέλεσμα
Magro C et al ⁵³	Σειρά περιστατικών	Βιοψίες πνεύμονα , δέρματος	5	Παθολογοανατομικά ευρήματα	Θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια, εναπόθεση C4d, C5b, MASP [^]
Fox S et al ⁶⁴	Σειρά περιστατικών/ αναδρομική	Νεκροψίες/ Βιοψίες πνεύμονα	10	Παθολογοανατομικά ευρήματα	Διάχυτη κυψελιδική βλάβη , Θρόμβωση και μικραγγειοπάθεια σε μικρά αγγεία
Bnsmuller et al ⁶⁵	Σειρά περιστατικών/ αναδρομική	Νεκροψίες / Βιοψίες πνεύμονα	4	Παθολογοανατομικά ευρήματα σε ΜΕΘ	Διάχυτη κυψελιδική βλάβη , Θρόμβωση και μικραγγειοπάθεια αύξηση IL6 ,
Sharma et al ⁶⁶	Σειρά περιστατικών/ αναδρομική	Βιοψίες νεφρού	10	Παθολογοανατομικά ευρήματα	Σωληναρική νέκρωση, 2 /10 θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια
Beigee f at al ⁶⁷	Σειρά περιστατικών / αναδρομική	Νεκροψίες/ Βιοψίες πνεύμονα- ήπατος	31	Παθολογοανατομικά ευρήματα/ κλινική συσχέτιση	Διάχυτη κυψελιδική βλάβη, θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια(60%) στον πνεύμοανα
Romanova ES et al ⁶⁸	Σειρά περιστατικών/ αναδρομική	Ιατροδικαστική εξέταση/ Νεκροψίες / Βιοψίες πνεύμονα	102	Παθολογοανατομικά ευρήματα- συσχέτιση με κλινικά δεδομένα-αιτία θανάτου	Αιτία θανάτου οι θρομβώσεις σε ποσοστό 38%, θρόμβωση πνευμονικής αρτηρίας/μικροαγγειοπάθεια

Sweeney JM et al ⁶⁹	Παρατήρησης Αναδρομική μελέτη σύγκρισης (έκβαση θάνατος-βελτίωση)	TMA ^{^^} δείκτες= ADAMTS -13, LDH, σχιστοκύτταρα , επίπεδα vWF [#]	181	Συσχέτιση TMA – βαρύτητα νόσου	Συσχέτιση επίπεδα ADAMTs 13 < 43% => θνητότητα Ενδοθηλιακή βλάβη
Henry BM ⁷⁰	Παρατήρησης /προοπτική μελέτη	TMA markers =ADAMTS-13 activity/VWf ratio	52	Συσχέτιση οξεία νεφρική βλάβη/ βαρύτητα νόσου	Χαμηλά επίπεδα ADAMTS-13 activity/vWF ratio συσχέτιση με οξεία νεφρική βλάβη- βαρύτητα νόσου

Πίνακας 1 Θρομβωτική Μικροαγγειοπάθεια

[^]MASP: *Mannose- binding lectin serine protease*

^{^^}TMA: *θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια*

[#]vWF: *παράγοντας von Willebrand*

2.2 ΣΤΑΔΙΟ 2^ο: ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΜΕΝΗ ΜΙΚΡΟΑΓΓΕΟΠΑΘΕΙΑ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ SARS- COV2

ΥΛΙΚΑ και ΜΕΘΟΔΟΙ

Στρατηγική αναζήτησης, κριτήρια καταλληλότητας & Επιλογή Μελέτης

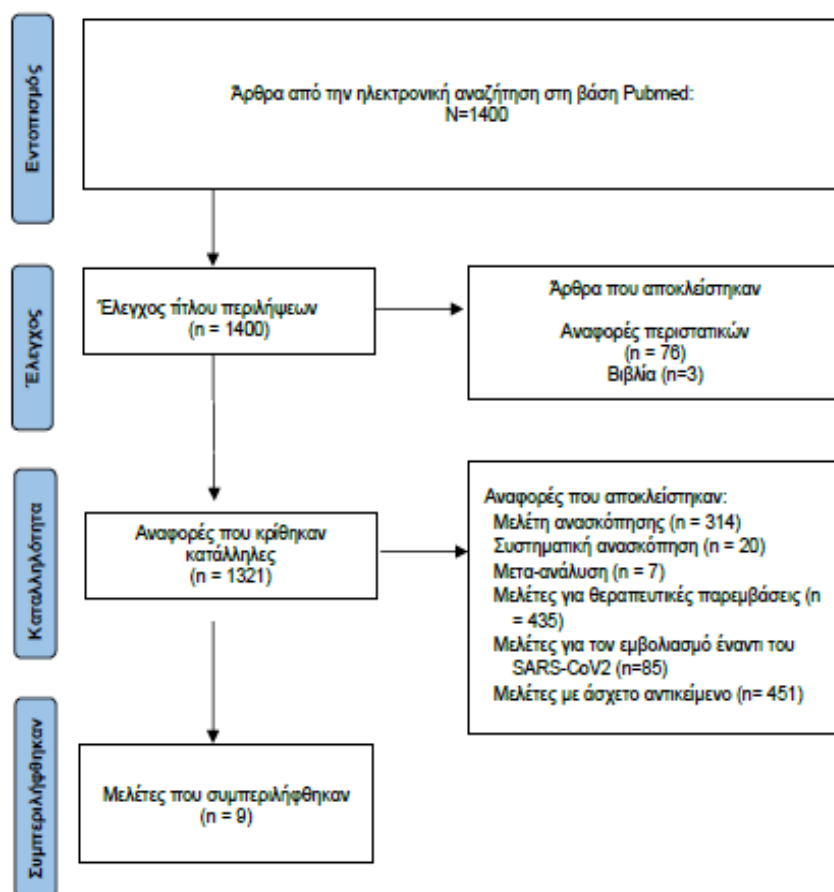
Η ανασκόπηση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας τη βάση δεδομένων PubMed, αναζητώντας άρθρα από την 1η Ιανουαρίου 2020 έως τις 1 Νοεμβρίου 2021, γραμμένα στα αγγλικά. Οι βασικοί όροι που χρησιμοποιήθηκαν ήταν "COVID-19" ή "SARS-CoV-2" ή "nCoV" σε συνδυασμό με τους όρους "C3" ή "C5"; "Complement". Ο κύριος κανόνας για την επιλογή του άρθρου ήταν ο προσδιορισμός στους τίτλους ή/και στις περιλήψεις λέξεων/εννοιών που υποδεικνύουν την ανάλυση των επιπέδων του συμπληρώματος σαν δείκτης ενεργοποίησης του στην SARS-CoV-2. Η συσχέτιση με κλινικά δεδομένα θρομβώσεων και η ύπαρξη TMA ήταν επιθυμητή αλλά όχι απαραίτητη. Τα άρθρα διαβάστηκαν πλήρως εάν η περίληψη έδειχνε ότι το περιεχόμενο της εργασίας πληρούσε πιθανώς τα κριτήρια ένταξης. Τα άρθρα εξαιρέθηκαν με τίτλο, περίληψη ή πλήρες κείμενο, εάν δεν ασχολούνταν με το θέμα. Εξαιρέθηκαν επίσης οι ανασκοπήσεις των άρθρων. Τα άρθρα που θεωρήθηκαν σχετικά αναλύθηκαν σε βάθος, εστιάζοντας στα συνολικά κλινικά δεδομένα, στον προσδιορισμό δεικτών όπως C3, C5, και τέλος στη μοριακή διάγνωση της λοίμωξης SARS-CoV-2.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Από την αναζήτηση προέκυψαν 1400 τίτλοι, γεγονός που από μόνο του δείχνει τη σημασία του αντικειμένου στην COVID -19. Εξαιρέθηκαν 76 αναφορές περιστατικών (case reports), 314 άρθρα ανασκόπησης, 20 συστηματικές ανασκοπήσεις, 7 μεταanalύσεις και 3 βιβλία. Τελικά, συμπεριλήφθησαν κλινικές μελέτες, κλινικές δοκιμές φάσεις I-III και τυχαιοποιημένες μελέτες. Από τα άρθρα τα οποία ανασκοπήθηκαν, υπήρχε πληθώρα άρθρων που αφορούσε ποικίλες θεραπευτικές παρεμβάσεις με αναστολείς τους συμπληρώματος. Τα άρθρα που περιλήφθησαν στην συστηματική ανασκόπηση αφορούν 9 βιβλιογραφίες στην πλειονότητα τους μελέτες

παρατήρησης (Observational studies) την μεγαλύτερη των οποίων περιελάμβανε 236 ασθενείς. Μόλις δύο (2) από τις μελέτες ήταν προοπτικές.

Στην Εικόνα 10 φαίνεται το διάγραμμα ροής της επιλογής των μελετών για το 1ο στάδιο της παρούσας ανασκόπησης



Εικόνα 10 Διάγραμμα ροής της συστηματικής ανασκόπησης για την ενεργοποίηση του συμπληρώματος στην Covid19

Η COVID-19 αρχικά θεωρήθηκε μία νόσος του αναπνευστικού συστήματος, ωστόσο πολύ σύντομα κατέστη σαφές ότι πρόκειται για μία συστηματική νόσο στην οποία μία υπερφλεγμονώδης αντίδραση στον ιό σε συνδυασμό με αγγειοπάθεια οδηγούν σε ιστική βλάβη. Παράλληλα με τις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες η ενεργοποίηση του συμπληρώματος διευρύνει την φλεγμονώδη διαδικασία και ενεργοποιεί το ενδοθήλιο. Αυτό οδηγεί σε αύξηση της διαπερατότητας του με αποτέλεσμα διάχυτη ενδοκυψελιδική βλάβη αλλά και ταυτόχρονα παθολογική ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού.

Ήδη από τις πρώτες μελέτες που δημοσιεύθηκαν το 2020 από την Wuhan καταγράφηκε η διαταραχή του συμπληρώματος σε σχέση με την κλινική έκβαση της νόσου. Στην πρώτη μεγάλη αναδρομική μελέτη που δημοσιεύθηκε σε σύνολο 236 ασθενών, ⁷¹ φάνηκε ότι οι ασθενείς που κατέληξαν σε σχέση με τους ασθενείς που πήραν εξιτήριο είχαν χαμηλότερα επίπεδα C3 κατά την εισαγωγή τους υποδηλώνοντας ενεργοποίηση της κλασσικής οδού. Παράλληλα κατά την διάρκεια της νοσηλείας τους οι ασθενείς που τελικά κατέληξαν είχαν περαιτέρω μείωση των επιπέδων του C3 σε αντίθεση με τους ασθενείς που πήραν εξιτήριο⁷³. Τα επίπεδα C4 δεν σχετίστηκαν με την πρόγνωση ενώ η ηλικία και τα υψηλά επίπεδα D-Dimers κατά την εισαγωγή αποτελούν σημαντικούς αρνητικούς προγνωστικούς παράγοντες σύμφωνα με αυτή τη μελέτη. Τα ευρήματα επαναλαμβάνονται σε άλλη αναδρομική μελέτη από το πανεπιστημιακό νοσοκομείο Remnin της Wuhan ⁷². Οι 125 ασθενείς που κατέληξαν από τον ιό SARS-CoV2 είχαν χαμηλά επίπεδα C3 και επιπλέον διαταραχές στην φυσική ανοσία με ελαττωμένα CD4 και στην χυμική ανοσία με αύξηση των IgG, IgA και IgE. Τα τελικά προϊόντα του συμπληρώματος C5b και C5a εκτιμήθηκαν σε προοπτική μελέτη από την Ιταλία την πρώτη Ευρωπαϊκή χώρα που επλήγη σφοδρά από την COVID ⁷³. Οι μετρήσεις έγιναν τόσο στην εισαγωγή όσο και κατά τη διάρκεια της νοσηλείας τους. Οι ασθενείς με σοβαρή νόσο και σε αυτή τη μελέτη είχαν υψηλότερα επίπεδα C5b και C5a τελικών προϊόντων ενεργοποίησης του συμπληρώματος. Το C5a και το membrane attack complex C5b-MAC γνωρίζουμε ότι ενεργοποιούν τα πολυμορφοπύρρηνα σε μία φλεγμονώδη απάντηση που τελικά προκαλεί ενδοθηλιακή βλάβη. Το ενδιαφέρον είναι ότι υπάρχει συσχέτιση των επιπέδων του C5b και C5a με τους δείκτες ενεργοποίησης του ενδοθηλίου που αξιολογήθηκαν, vWF, t-PA, PAI-1, διαλυτη θρομβομοντουλίνη sTM, και E-selectin⁷⁵. Τα επίπεδα των C5b και C5a ήταν αυξημένα σε σχέση με τα υγιή controls, και υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά (αύξηση) μεταξύ των ασθενών με ήπια, μέτρια ή σοβαρή νόσο COVID-19 ενώ δεν υπήρχε συσχέτιση με την ηλικία. Από τους βιοδείκτες ενδοθηλιακής ενεργοποίησης, ο vWF ήταν αυξημένος σε όλους τους ασθενείς με τα υψηλότερα επίπεδα να παρατηρούνται στους βαρέως πάσχοντες. Οι λοιποί δείκτες ενεργοποίησης ήταν αυξημένοι χωρίς ωστόσο να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των 3 κατηγοριών. Στην επανεκτίμηση των ευρημάτων κατά την ανάρρωση 30 ημέρες μετά την εισαγωγή οι τιμές των C5b και C5a, και vWF είχαν ελαττωθεί αλλά δεν είχαν αποκατασταθεί. Το ενδιαφέρον είναι πως η θεραπεία με χαμηλού μοριακού βάρους ηπαρίνη, και κορτικοστεροειδή δεν βελτίωσε τα εργαστηριακά ευρήματα. Η συσχέτιση των δεικτών ενεργοποίησης του

συμπληρώματος και του vWF επιβεβαιώνει το ρόλο του συμπληρώματος στην παθοφυσιολογία της ενδοθηλιακής βλάβης και ενδεχομένως και της αγγειοπάθειας. Τα επίπεδα των C3, C4, C5b και των επιπέδων του συστήματος καλλικρεΐνης/κινίνης εξετάστηκαν σε άλλη προοπτική μονοκεντρική μελέτη⁷⁴ που περιέλαβε ασθενείς με βαριά νόσο που νοσηλεύθηκαν σε μονάδα εντατικής θεραπείας. Φάνηκε πως ο λόγος C3a/C3 και η ενεργοποίηση του συστήματος καλλικρεΐνης/κινίνης σχετίζονται με ιστική/οργανική βλάβη, νεφρική ανεπάρκεια, μυοκαρδιακή βλάβη (αύξηση τροπονίνης) και αυξημένο κίνδυνο θανάτου⁷⁵. Οι οδοί ενεργοποίησης του συμπληρώματος είναι αντικείμενο διαφορετικών μελετών, το κοινό συμπέρασμα ωστόσο είναι πως ωφείλεται στην spike –protein του ιού.

Το ερώτημα που προκύπτει είναι εάν η ενεργοποίηση του συμπληρώματος είναι συστηματική ή γίνεται και *in situ* στα προσβεβλημένα όργανα. Σε μία μικρή μονοκεντρική μελέτη⁷⁵ που εξετάστηκε βρογχοκυψελιδικό έκλυμα από δασωληνωμένους ασθενείς, τα προϊόντα ενεργοποίησης του συμπληρώματος C3b και C4d ήταν αυξημένα παράλληλα με δείκτες ενεργοποίησης της πήξης D-Dimers, συμπλέγματα θρομβίνης-αντιθρομβίνης, TF, όπως και δείκτες ενεργοποίησης της ινωδολύσης. Σε αντίθεση με άλλες μελέτες η αύξηση των δεικτών αφορούσε τους πνεύμονες και όχι την συστηματική κυκλοφορία.

Ο τρόπος με τον οποίο η ενεργοποίηση του συμπληρώματος ενεργοποιεί τον μηχανισμό της πήξης μελέτηθηκε και από Ελληνική ομάδα⁷⁶ η οποία χρησιμοποίησε πλάσμα, ουδετερόφιλα, PRPs ασθενών με COVID-19 σε κυτταρικές καλλιέργειες ενδοθηλιακών κυττάρων και αιμοπεταλίων. Στο πλάσμα των 29 ασθενών ανευρέθησαν υψηλά επίπεδα NETs , και τελικών προϊόντων πήξης (σύμπλοκα θρομβίνης-αντιθρομβίνης). Η προσθήκη του πλάσματος των ασθενών σε υγιή πολυμορφοπύρηνα αύξησε την παραγωγή NETs τα οποία στη επιφάνεια τους εξέφραζαν ιστικό παράγοντα. Η *in vitro* μελέτη της θρομβωτικής μικροαγγειοπάθειας έγινε προσθέτοντας τα NETs που είχαν αυξημένη έκφραση TF σε ενδοθηλιακά κύτταρα τα οποία αύξησαν στην επιφάνεια τους την έκφραση ιστικού παράγοντα. Με δεδομένο ότι η παραγωγή των NETs επάγεται από το συμπλήρωμα, η παραγωγή τους αναστάλλη όταν χρησιμοποιήθηκε αναστολέας του C5a επιβεβαιώνοντας *in vitro* το ρόλο του συμπληρώματος στην παθολογική ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού στην COVID-19.

Η ιστοπαθολογική απόδειξη ότι η θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια που παρατηρείται στην COVID-19 έχει πυροδοτηθεί από παθολογική ενεργοποίηση του συμπληρώματος επιβεβαιώνεται από τις μελέτες των Pfister και Magro^{78,80}. Στην πρώτη παρατηρήθηκε ιστοπαθολογικά η εναπόθεση C3d, C5b σε μικρές αρτηρίες και τριχοειδή σε νεφρούς ασθενών ενώ στη δεύτερη η εξέταση πολλαπλών οργάνων όπως η καρδιά, οι πνεύμονες, οι νεφροί, το δέρμα και ο εγκέφαλος σε 24 υλικά αυτοψίας με τη μεθόδους όπως η ανοσοϊστοχημεία, ο *in situ* ιβριδισμός σε βιοπτικά υλικά επίσης έδειξε εναπόθεση C3d, C4d και C5b-9 στο ενδοθήλιο και υπενδοθήλιο αρτηριδίων και τριχοειδών με χαρακτηριστικά θρομβωτικής μικροαγγειοπάθειας.

Τέλος σε πρόσφατη μελέτη που αφορά παιδιατρικό πληθυσμό⁷⁸ αναδείχθηκε η ενεργοποίηση του συμπληρώματος μέσω των δεικτών C5b9 και η συσχέτιση του με θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια TMA. Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος ήταν εμφανής και σε όλο τον υπό μελέτη πληθυσμό ανεξάρτητα από την βαρύτητα της νόσου σε αντίθεση με τις μελέτες σε ενήλικο πληθυσμό υποδηλώνοντας την παρατεταμένη και παθολογική ενεργοποίηση του στα παιδιά με COVID-19. Επιπλέον ένα σημαντικό ποσοστό, το 40% ανέπτυξε κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα θρομβωτικής μικροαγγειοπάθειας. Αν και δεν υπήρχε συσχέτιση των επιπέδων του C5b με τη βαρύτητα της νόσου, υπήρχε σαφής συσχέτιση με την παρουσία θρομβωτικής μικροαγγειοπάθειας και νεφρικής βλάβης

Συμπερασματικά αν και οι μελέτες χρησιμοποιούν διαφορετικές μεθόδους, εξετάζουν διαφορετικά υλικά και αφορούν διαφορετικούς πληθυσμούς συσχετίζουν την παθολογική ενεργοποίηση του συμπληρώματος με ιστική/οργανική βλάβη, βαρύτητα της νόσου, θνητότητα και παράλληλα αποδεικνύουν και *in vitro* και *in vivo* την ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού με ιστοπαθολογικά ευρήματα την θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια σε ένα σημαντικό ποσοστό των ασθενών.

Στον Πίνακα 2 φαίνονται αναλυτικά όλες οι μελέτες που συμπεριλήφθησαν στην παρούσα ανασκόπηση και αποδεικνύουν την ενεργοποίηση του συμπληρώματος στην μικροαγγειοπάθεια της νόσου Covid19. Στον πίνακα δίνονται αναλυτικά ο κύριος συγγραφέας του άρθρου, το είδος της μελέτης, το υλικό που χρησιμοποιήθηκε και αριθμός των ασθενών, το πρωτεύον καταληκτικό σημείο της μελέτης και τα αποτελέσματα αυτής.

Συγγραφέας-Βιβλιογραφία	Τύπος	Υλικό	Αριθμός ασθενών	Πρωτεύον καταληκτικό σημείο	Αποτέλεσμα
Fang et al ⁷¹	Αναδρομική μελέτη παρατήρησης	Επίπεδα IgG, IgM, IgA, IgE, συμπλήρωμα (C3, C4) ορού	236	Συσχέτιση με θνητότητα	Χαμηλά επίπεδα C3 σχετίζονται με αυξημένη θνητότητα.
Yang Zhao et al ⁷²	Αναδρομική μελέτη παρατήρησης (cohort study)	Κλινικά και εργαστηρικά δεδομένα / θνητότητα	125 ασθενείς που κατέληξαν vs 400 ιαθέντες	Συσχέτιση με θνητότητα	ηλικία, κακοήθεια, ουδετεροφιλία, η λεμφοπενία, τα χαμηλά CD4+, η μειωμένη C3, χαμηλός κορεσμός ήταν οι παράγοντες κινδύνου θανάτου σε ασθενείς με επιβεβαιωμένο COVID-19.
Cugno et al ⁷³	Προοπτική μελέτη παρατήρησης (cohort study)	C5b, C5, vWF, t-PAPAI-1sTM, sE-selectin	148	Συσχέτιση με θνητότητα	Αύξηση C5b, C5a, vWF σε σοβαρή νόσο, συσχέτιση μεταξύ τους (ενδοθηλιακή βλάβη- ενεργοποίηση C) αποκατάσταση κατά την έξοδο
Lipcsey M et al ⁷⁴	Προοπτική μελέτη παρατήρησης (cohort study)	Κλινικά δεδομένα, FXII, προκαλλικρεΐνη, υψηλού μοριακού βάρους κινινογόνο αυξημένα επίπεδα ενεργοποιημένων προϊόντων, π.χ., C4d, C3a, C3d, sC5b-9, TAT, και D-dimer. Θνητότητα	66 νοσηλευόμενοι σε ΜΕΘ/ 19 πολλαπλές μετρήσεις - παρακολούθηση	Συσχέτιση με θνητότητα	Ενεργοποίηση συμπληρώματος/ συσχέτιση πρόγνωση

Nossent E et al ⁷⁵	Αναδρομική μελέτη παρατήρησης-ασθενείς σε ΜΕΘ	Βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα και πλάσμα	17	D- dimers, συμπλέγμα θρομβίνης - αντιθρομβομβίνης, διαλυτός ιστικός παράγοντας, C1-αναστολέα αντιγόνο και επίπεδα δραστικότητας, ενεργοποιητής ιστικού τύπου πλασμινογόνου, αναστολές τύπου 1 ενεργοποιητή πλασμινογόνου, διαλυτός CD40 συνδέτης και διαλυτή P-σελεκτίνη (πήξη), νεοενεργοποίηση του C3bc και C4bc (συμπλήρωμα), πολλαπλές κυτταροκίνες, χημειοκίνες και αυξητικούς παράγοντες	Αύξηση στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα προπηκτικών παραγόντων /συμπληρώματος/ κυτταροκινών/ αυξητικών παραγόντων
Skendros P et al ⁷⁶	Αναδρομική μελέτη σύγκρισης	Ουδετερόφιλα, ορό, πλάσμα και PRP από ασθενείς με COVID-19 και υγιείς μάρτυρες.	25	Συσχέτιση με αιμοπετάλια /neutrophil extracellular traps (NETs)/thrombin axis	Αυξημένα επίπεδα sC5b-9 προκαλούν αύξηση έκφρασης ιστικού παράγοντα
Pfister F et al ⁷⁷	Αναδρομική μελέτη σύγκρισης(βιοψίες ασθενων με HUS*, ATI**, DIC***)	Βιοψίες νεφρού ανοσοιστοχημεία: C1q, MASP ^s , C3c, C4d, C5b	6	Εναπόθεση συμπληρώματος και μικροαγγειοπάθεια	Εναπόθεση C3, C5b σε αρτηρίδια , τριχοειδή σε ασθενείς= Ενεργοποίηση συμπληρώματος και νεφρική βλάβη

Diorio et al ⁷⁸	Προοπτική μελέτη σύγκρισης (ήπια νόσος, σοβαρή, υγιείς) Παιδιατρικοί ασθενείς με TMA [^]	Μέτρηση επιπέδων C3b	51	Συσχετιση επιπέδων c3b – TMA [^] και βαρύτητα νοσου	Υψηλότερα επίπεδα C3b σε ασθενείς με σοβαρή TMA [^] , σοβαρή νοσο
Magro C et al ⁷⁹	Αναδρομική μελέτη Παρατήρησης/ υλικά αυτοψίας	Ανοσοϊστοχημεία , Δείκτες ενεργοποίησης C	26	Καταγραφή ιστοπαθολογονατομικών ευρημάτων	Spike glycoprotein προσδεση με Ace-2 ενδοθηλιο , ενεργοποίηση C, TMA [^] Ace -2 [#] σε διάφορα όργανα

Πίνακας 2 Ενεργοποίηση Συμπληρώματος

[^]TMA: Θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια

[#]ACE-2: μεταπρεπτικό ένζυμο αγγειοτενσίνης-2

^{*}HUS: Αιμολυτικό Ουραιμικό Σύνδρομο

^{**}ATI: οξεία σωληναριακή νέκρωση

^{***}DIC: Διάχυτη Εναγγειακή Πήξη

[§]MASP: Mannose- binding lectin serine protease

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Από το Δεκέμβριο του 2019 η παγκόσμια ιατρική και επιστημονική κοινότητα αντιμετωπίζει μία πρωτοφανή υγειονομική κρίση. Η νόσος η οποία ονομάζεται πλέον COVID-19 ωφείλεται στον ιό του σοβαρού οξέος αναπνευστικού συνδρόμου κορονοϊού SARS- CoV-2. Αυτό ωστόσο που φάνηκε από τις πρώτες αναφορές είναι πως ο ιός προκαλεί συστηματική νόσο με προσβολή τόσο του πνεύμονα όσο και άλλων οργάνων προκαλώντας μία πολυοργανική βλάβη. Η βάση της πολυοργανικής αυτής νόσου είναι μία απώλεια της ισορροπίας βασικών μηχανισμών όπως του ανοσοποιητικού συστήματος και του πηκτικού μηχανισμού. Ειδικότερα η ενεργοποίηση της πήξης με τελικό προϊόν την παραγωγή θρομβίνης ωφείλεται στην υπέρμετρη ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού από τον ξενιστή στην προσπάθεια του να ελέγξει τη λοίμωξη. Τα δύο συστήματα αλληλεπιδρούν φυσιολογικά σε λοιμώδεις καταστάσεις σε πολλαπλά επίπεδα. Τα προσβελημένα μονοκύτταρα και υπενδοθηλιακά κύτταρα διεγείρονται, απελευθερώνουν ιστικό παράγοντα TF και ενεργοποιούν την πήξη. Επλέον προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες και προπηκτικά σωματίδια ελευθερώνονται από τα λευκά αιμοσφαίρια, τα αιμοπετάλια, τα ενδοθηλιακά κύτταρα αυξάνοντας την έκφραση μορίως προσκολλητικότητας στην επιφάνεια τους. Τα επίπεδα των κυτταροκινών στην νεοεμφανιζόμενη COVID-19 είναι ιδιαίτερος αυξημένα. Ιδιαίτερα η IL-6 επάγει ισχυρά την έκφραση του TF, ενώ TNF α , IL-1 αναστέλλουν τα φυσικά αντιπηκτικά του οργανισμού. Η προσκόλληση των ουδετερόφιλων και των αιμοπεταλίων στο ενδοθήλιο αυξάνεται, δημιουργούνται εξωκυττάρειες παγίδες ουδετεροφίλων NETs και το φαινόμενο διευρύνεται περαιτέρω. Το ενδοθήλιο το βασικό όργανο υπεύθυνο για την διατήρησης του αγγειακού τόνου και της αγγειακής ομοιόστασης προσβάλλεται τόσο άμεσα από τον ιό, όσο από την συστηματική φλεγμονώδη απάντηση ενισχύοντας την υπερπηκτική κατάσταση και οδηγώντας σε μικροαγγειοπάθεια. Για την αρχική ανοσολογική απάντηση είναι υπεύθυνο το σύστημα φυσικής ανοσίας με το συμπλήρωμα να αποτελεί μία από τις πρωιμότερες απαντήσεις στην λοίμωξη τόσο τοπικά όσο και συστηματικά. Το συμπλήρωμα πέραν της οπσονοποίησης των παθογόνων επάγει το σύστημα της προσαρμοσμένης / ειδικής ανοσίας,. Η παθολογική του ωστόσο ενεργοποίηση ενισχύει την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών βλάπτοντας περαιτέρω το ενδοθήλιο, εξαντλεί την δευτερόγενή ανοσιακή απάντηση μέσω της αριθμητικής και λειτουργικής

καταστολής των T λεμφοκυττάρων και επιπλέον ενεργοποιεί το μηχανισμό της πήξης μέσω αύξησης του ιστικού παράγοντα αλλά και αναστολής της ινωδολύσης .

Το τεράστιο κλινικό και ερευνητικό έργο που έγινε τα τελευταία 2 χρόνια αντικατοπτρίζεται στην αναζήτηση τίτλων με θέμα την νόσο. Μέχρι τον Δεκέμβριο του 2021 χρησιμοποιώντας τον όρο COVID 19 εμφανίζεται στη μηχανή αναζήτησης pub-med το εντυπωσιακό νούμερο των 211.000 αναφορών. Στην παρούσα ανασκόπηση που είχε στόχο να αναδείξει τον ρόλο της ενεργοποίησης του συμπληρώματος στην θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια που είναι μοναδικό χαρακτηριστικό αυτής την νόσου περιλήφθηκαν μελέτες που στην πλειονότητα τους ήταν αναδρομικές μελέτες παρατήρησης και μελέτες κοορτής (cohort studies). Το νούμερο των ασθενών που συμπεριλήφθησαν ήταν μικρό σε σχέση με την συχνότητα της νόσου και των νοσηλευόμενων ασθενών. Ελάχιστες μελέτες είχαν προοπτικό χαρακτήρα. Ωστόσο είναι αναμενόμενο υπό αυτές τις συνθήκες η δημοσίευση μελετών που περιλαμβάνουν ακόμα και ελάχιστο αριθμό ασθενών. Οποιαδήποτε νέα πληροφορία είναι χρήσιμη. Επιπλέον η τυχαιοποίηση και η προοπτική παρατήρηση απαιτεί χρόνο και καλό σχεδιασμό μίας νόσου που είναι ήδη γνωστή. Κάτι τέτοιο δεν ισχύει στην COVID-19 στην οποία η αποσαφήνιση της παθογένειας της νόσου έπρεπε να γίνει παράλληλα με την ανάπτυξη φαρμάκων, θεραπευτικών και διαγνωστικών αλγορίθμων , όπως και εμβολίων.

Από την ανασκόπηση είναι σαφής η συσχέτιση της μικροαγγειοπάθειας με διαταραχή της ανοσοθρόμβωσης και ειδικότερα με την παθολογική ενεργοποίηση του συμπληρώματος. Βιοπτικά υλικά ανέδειξαν ανοσοϊστοχημικά σε πολλαπλά όργανα αλλά κυρίως στους πνεύμονες, τους νεφρούς αλλά και το μυοκάρδιο μικροθρομβώσεις με εναπόθεση παραγόντων του συμπληρώματος. Παράλληλα εργαστηριακά ευρήματα θρομβωτικής μικροαγγειοπάθειας όπως αύξηση LDH, κατανάλωση απτοσφαιρίνης και παρουσία σχιστοκυττάρων ενισχύουν την παρουσία θρομβωτικής μικροαγγειοπάθειας. Επιπλέον συνυπάρχει αύξηση του παράγοντα von Willebrand και σχετική έλλειψη ADAMTS -13 υπογραμμίζοντας περαιτέρω τον ρόλο της θρομβωτικής μικροαγγειοπάθειας στην παθογένεια του νοσήματος. Η θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια δεν έχει εργαστηριακά χαρακτηριστικά διάχυτης ενδαγγειακής πήξης αφού δεν παρατηρείται κατανάλωση ινωδογόνου, αιμοπεταλίων και παράταση των χρόνων πήξης. Αποτελεί έναν μοναδικό παθογενετικό μηχανισμό, μία πτυχή της COVID coagulopathy CAC , σε αντίθεση με λοιμώξεις από άλλους ιούς όπως της γρίπης. Στην COVID-19 η γενικευμένη ενδοθηλιακή βλάβη φαίνεται να προκαλεί

θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια και μοιράζεται ομοιότητες με νοσήματα όπως η θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια μετά από μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων αλλά και αιμοποιητικών κυττάρων.

Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος όπως φαίνεται από από τις υπό ανασκόπηση μελέτες είναι ιδιαίτερα εμφανής τόσο σε τοπικό όσο σε συστηματικό επίπεδο σε ασθενείς με σοβαρή νόσο, σε ασθενείς που χρειάζονται νοσηλεία σε μονάδες εντατικής θεραπείας και σε ασθενείς που καταλήγουν. Είναι παρούσα καθ'όλη την διάρκεια της νοσηλείας του όπως φάνηκε από τις 2 προοπτικές μελέτες και αναστρέφεται αργά. Στην μοναδική δε μελέτη που περιέλαβε παιδιατρικό πληθυσμό σχετίστηκε εργαστηριακά σαφώς με θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια και νεφρική βλάβη. Ενεργοποίηση του συμπληρώματος και θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια αποτελούν το παθογενετικό υπόβαθρο του σπάνιου ουραιμικού αιμολυτικού συνδρόμου HUS. Έμμεση απόδειξη ότι η ενεργοποίηση του συμπληρώματος αποτελεί τη βάση της σοβαρής COVID-19 φαίνεται από πρόσφατη μελέτη των Ramlall και συνεργατών όπου ασθενείς με εκφύλιση ωχράς κήλιδας, ένα από τα κατεξοχήν νοσήματα όπου υπάρχει παθολογική ενεργοποίηση του συμπληρώματος είχαν αυξημένη πιθανότητα βαριάς νόσησης, νοσηλείας σε ΜΕΘ και θνητότητας, ενώ σε 4 ασθενείς με ανεπάρκεια του συμπληρώματος δεν παρατηρήθηκε κακή έκβαση της νόσου. Τα αποτελέσματα καταγράφηκαν σε μεγάλη αναδρομική μελέτη παρατήρησης που περιέλαβε 11.116 ασθενείς⁸⁰.

Θα μπορούσε η αναστολή του συμπληρώματος να βελτιώσει την έκβαση της νόσου; Η χρήση του αναστολέα του C5, eculizumab που χρησιμοποιείται σε ασθενείς με παροξυσμική νυχτεριμή αιμοσφαιρινουρία PNH έχει δώσει ενθαρρυντικά αποτελέσματα με μικρές μελέτες παρατήρησης. Επιπλέον ο αναστολέας του πρώιμου παράγοντα του συμπληρώματος C3 AMY-101 έχει χρησιμοποιηθεί σε μικρές σειρές και είναι υπό μελέτη. Απαιτούνται ωστόσο τυχαιοποιημένες προοπτικές μελέτες ώστε να διευκρινισθεί αν η θεραπεία με αναστολείς του συμπληρώματος έχει θέση και σε ποιά χρονική στιγμή στο θεραπευτικό αλγόριθμο των ασθενών με COVID-19. Επί του παρόντος δεν υπάρχει τέτοια μελέτη όπως φαίνεται από την αναζήτηση στη βάση clinicaltrials.gov.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Η αγγειοπάθεια στην COVID-19 μπορεί να χαρακτηριστεί εν μέρει ως ένα σύνδρομο καταστροφικής μικροαγγειακής βλάβης που προκαλείται από την ενεργοποίηση των οδών του συμπληρώματος προκαλώντας μία προπηκτική κατάσταση. Τα παραπάνω χαρακτηρίζουν μία παθολογική έκφραση ενός σημαντικού ομοιοστατικού μηχανισμού, της ανοσοθρόμβωσης. Τα δεδομένα θέτουν τη βάση για περαιτέρω διερεύνηση της παθοφυσιολογικής σημασίας του συμπληρώματος στην COVID-19 και θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε στοχευμένες θεραπευτικές παρεμβάσεις.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

¹ Max Boser HRortiz – Ospina Esteban Haselx Joe Coronavirue disease Published online at Our WorldInData.org

² Jin Y, Yang H, Ji W, Wu W, Chen S, Zhang W, Duan G Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19 Viruses. 2020 Mar 27;12(4):372. doi: 10.3390/v12040372.

³ Acter T, Uddin N, Das J, Akhter A, Choudhury TR, Kim S. Evolution of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) as coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic: A global health emergency Sci Total Environ. 2020 Aug 15;730:138996. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.138996. Epub 2020 Apr 30.

⁴ Vabret N, et al. Immunology of COVID-19: Current State of the Science. *Immunity*. 2020;52(6):910–941. doi: 10.1016/j.immuni.2020.05.002.

⁵ Bloch EM, et al. Deployment of convalescent plasma for the prevention and treatment of COVID-19. *J Clin Invest*. 2020;130(6):2757–2765. doi: 10.1172/JCI138745

⁶ Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, Zhao X, Huang B, Shi W, Lu R, Niu P, Zhan F, Ma X, Wang D, Xu W, Wu G, Gao GF, Tan W; A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019 N Engl J Med. 2020 Feb 20;382(8):727-733. doi: 10.1056/NEJMoa2001017. Epub 2020 Jan 24.PMID: 31978945

⁷ Angus DC, et al. The REMAP-CAP (Randomized Embedded Multifactorial Adaptive Platform for Community-acquired Pneumonia) Study. Rationale and Design. *Ann Am Thorac Soc*. 2020;17(7):879–891. doi: 10.1513/AnnalsATS.202003-192SD.

⁸ Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol*. 2020;5(4):536–544. doi: 10.1038/s41564-020-0695-z.

⁹ Jayarangaiah A, Kariyanna PT, Chen X, Jayarangaiah A, Kumar COVID-19-Associated Coagulopathy: An Exacerbated Immunothrombosis Response A.Clin Appl Thromb Hemost. 2020 Jan-Dec;26:1076029620943293. doi: 10.1177/1076029620943293.

-
- ¹⁰ Thomas C Hanff Amir M Mohareb , Jay Giri , Jordana B Cohen , Julio A Chirinos Thrombosis in COVID-19 *Hematol* 2020 Dec;95(12):1578-1589. doi: 10.1002/ajh.25982
- ¹¹ Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, Wang W, Song H, Huang B, Zhu N, Bi Y, Ma X, Zhan F, Wang L, Hu T, Zhou H, Hu Z, Zhou W, Zhao L, Chen J, Meng Y, Wang J, Lin Y, Yuan J, Xie Z, Ma J, Liu WJ, Wang D, Xu W, Holmes EC, Gao GF, Wu G, Chen W, Shi W, Tan Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *W. Lancet*. 2020 Feb 22;395(10224):565-574. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8. Epub 2020 Jan 30.
- ¹² Li W, Moore MJ, Vasilieva N, Sui J, Wong SK, Berne MA, Somasundaran M, Sullivan JL, Luzuriaga K, Greenough TC, Choe H, Farzan M. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus *Nature*. 2003 Nov 27;426(6965):450-4. doi: 10.1038
- ¹³ Zou X, Chen K, Zou J, Han P, Hao J, Han Z Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection *Front Med*. 2020 Apr;14(2):185-192. doi: 10.1007/s11684-020-0754-0. Epub 2020 Mar 12.
- ¹⁴ Rogosnitzky M, Okediji P, Koman I (2020) Cepharanthine: a review of the antiviral potential of a Japanese-approved alopecia drug in COVID-19
- ¹⁵ Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *Jama*. 2020;323:1061–9. [\[SEP\]](#)
- ¹⁶ Terpos E, Ntanasis-Stathopoulos I, Elalamy I, et al. Hematological findings and complications of COVID-19 [published online ahead of print, Apr 13, 2020]. *Am J Hematol*. 2020. doi: 10.1002/ajh.25829
- ¹⁷ Rodriguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Gutierrez-Ocampo E, Villamizar-Peña R, Holguin-Rivera Y, Escalera-Antezana JP, et al. Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Travel Med Infect Dis* 2020:101623. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101623>. [\[SEP\]](#)
- ¹⁸ W-j Guan, Ni Z-y, Hu Y, Liang W-H, Ou CQ, He J-x, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med* 2020;382(18):1708–20. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2002032>. [\[SEP\]](#)
- ¹⁹ Tan L, Wang Q, Zhang D, Ding J, Huang Q, Tang Y-Q, et al. Lymphopenia predicts

disease severity of COVID-19: a descriptive and predictive study. *Signal Transduct Target Ther* 2020;5:1–3. [\[L\]](#)
[\[SEP\]](#)

²⁰ Fischer K, Hoffmann P, Voelkl S, Meidenbauer N, Ammer J, Edinger M, et al. Inhibitory effect of tumor cell–derived lactic acid on human T cells. *Blood*. 2007; 109:3812–9. [\[L\]](#)
[\[SEP\]](#)

²¹ Tan L, Wang Q, Zhang D, et al. Lymphopenia predicts disease severity of COVID-19: a descriptive and predictive study. *Signal Transduct Target Ther*. 2020;5(1):33. doi:10.1038/s41392-020- 0148-4

²² Wu C, Chen X, Cai Y, Zhou X, Xu S, Huang H, et al. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med* 2020;e200994. doi:https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.0994. [\[L\]](#)
[\[SEP\]](#)

²³ Lagunas-Rangel FA. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and lymphocyte-to-C-reactive protein ratio in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): A meta-analysis. *J. Med. Virol.* 2020. <https://doi.org/10.1002/jmv.25819>. [\[L\]](#)
[\[SEP\]](#)

²⁴ Lippi G, Plebani M, Henry BM. Thrombocytopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: a meta-analysis. *Clin Chim Acta* 2020;506:145–8. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.03.022>. [\[L\]](#)
[\[SEP\]](#)

²⁵ Qu R, Ling Y, Zhang YH, Wei Ly, Chen X, Li X, et al. Platelet-to-lymphocyte ratio is associated with prognosis in patients with Corona Virus Disease-19. *J. Med. Virol.* 2020. 2020; <https://doi.org/10.1002/jmv.25767>. [\[L\]](#)
[\[SEP\]](#)

²⁶ COVID-19 and coagulopathy American Society of Hematology. Available from, <https://www.hematology.org/covid-19/covid-19-and-coagulopathy>; 2020. [\[L\]](#)
[\[SEP\]](#)

²⁷ Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;395: 497–506. [\[L\]](#)
[\[SEP\]](#)

²⁸ Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Hemost* 2020;18(4):844–7. [\[L\]](#)
[\[SEP\]](#)

²⁹ Cui S, Chen S, Li X, Liu S, Wang F. Prevalence of venous thromboembolism in [\[L\]](#)
[\[SEP\]](#)patients with severe novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost* 2020; [\[L\]](#)
[\[SEP\]](#)1421–4. <https://doi.org/10.1111/jth.14830>. [\[L\]](#)
[\[SEP\]](#)

-
- ³⁰ García-Cervera C, Giner-Galvañ V, et al ; SEMI-COVID-19 Network. Estimation of Admission D-dimer Cut-off Value to Predict Venous Thrombotic Events in Hospitalized COVID-19 Patients: Analysis of the SEMI-COVID-19 Registry *J Gen Intern Med.* 2021 Jul 21;1-9. doi: 10.1007/s11606-021-07017-8.
- ³¹ Maatman TK, Jalali F, Feizpour C, et al. Routine venous thromboembolism prophylaxis may be inadequate in the hypercoagulable state of severe coronavirus disease 2019. *Crit Care Med.* 2020;48(9):e783-e790. doi.org/10.1097
- ³² Demelo-Rodríguez P, Cervilla-Muñoz E, Ordieres-Ortega L, et al. Incidence of asymptomatic deep vein thrombosis in patients with COVID-19 pneumonia and elevated D-dimer levels. *Thromb Res.* 2020;192:23-26. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2020.05.018> ^[L]_{SEP}
- ³³ Ciuti G, Grifoni E, Pavellini A, et al. Incidence and characteristics of asymptomatic distal deep vein thrombosis unexpectedly found at admission in an internal medicine setting. *Thromb Res.* 2012;130(4):591-595. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2012.05.018>
- ³⁴ Middeldorp S, Coppens M, van Haaps TF, et al. Incidence of venous thromboembolism in hospitalized patients with COVID-19. *J Thromb Haemost.* 2020;18(8):1995-2002. <https://doi.org/10.1111/jth.14888> ^[L]_{SEP}
- ³⁵ Gómez-Mesa JE, Galindo-Coral S, Montes MC, Muñoz Martín AJ. Thrombosis and Coagulopathy in COVID-19 *Curr Probl Cardiol.* 2021 Mar;46(3):100742. doi: 10.1016/j.cpcardiol.2020.100742. Epub 2020 Nov 2. PMID: 33243440
- ³⁶ Hanff TC, Mohareb AM, Giri J, Cohen JB, Chirinos JA. Thrombosis in COVID-19 *Am J Hematol* 2020 Dec;95(12):1578-1589.
- ³⁷ Konstantinides SV, Meyer G, Becattini C, et al. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European Respiratory Society (ERS). *Eur Heart J.* 2020;41(4):543-603. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz405>
- ³⁸ Grimes Z, Bryce C, Sordillo EM, et al. Fatal pulmonary thromboembolism in SARS-CoV-2-infection. *Cardiovasc Pathol.* 2020;48:107227.
- ³⁹ Lax SF, Skok K, Zechner P, Kessler HH, Kaufmann N, Koelblinger C, et al. Pulmonary arterial thrombosis in COVID-19 with fatal outcome: results from a prospective, single-center, clinicopathologic case series. *Ann Intern Med* 2020: M20-2566. <https://doi.org/10.7326/M20-2566>. ^[L]_{SEP}
- ⁴⁰ Dolhnikoff M, Duarte-Neto AN, de Almeida Monteiro RA, da Silva LFF, de Oliveira EP, Saldiva PHN, Mauad T, Negri EM.

Pathological evidence of pulmonary thrombotic phenomena in severe COVID-19. *J Thromb Haemost.* 2020 Jun;18(6):1517-1519. doi: 10.1111/jth.14844.

⁴¹ Menter T, Haslbauer JD, Nienhold R, et al. Post-mortem examination of COVID19 patients reveals diffuse alveolar damage with severe capillary congestion and variegated findings of lungs and other organs suggesting vascular dysfunction. *Histopathology.* 2020; 77: 198- 209.

⁴² Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, et al. Pulmonary vascular endothelialitis, thrombosis, and angiogenesis in Covid-19. *N Engl J Med.* 2020;383:120-128.

⁴³ Lodigiani C, Iapichino G, Carenzo L, et al. Venous and arterial thromboembolic complications in COVID-19 patients admitted to an academic hospital in Milan, Italy. *Thromb Res.* 2020;191:9-14.

⁴⁴ Fernandez-Nieto D, Jimenez-Cauhe J, Suarez-Valle A, et al. Characterization of acute acro-ischemic lesions in non-hospitalized patients: a case series of 132 patients during the COVID-19 outbreak. *J Am Acad Dermatol.* 2020;83(1):e61-e63. [SEP]

⁴⁵ Shi S, Qin M, Shen B, et al. Association of cardiac injury with mortality in hospitalized patients with COVID-19 in Wuhan, China. *JAMA Cardiol.* 2020;5(7):802-810. [SEP]

⁴⁶ Furie B, Furie BC. Mechanisms of thrombus formation. *N Engl J Med.* 2008;359(9):938-949. doi:10.1056/NEJMra0801082

⁴⁷ Dubois C, Panicot-Dubois L, Merrill-Skoloff G, Furie B, Furie BC. Glycoprotein VI-dependent and -independent pathways of thrombus formation in vivo. *Blood.* 2006;107(10):3902-3906. doi:10.1182/blood-2005-09-3687

⁴⁸ Weisel JW. Fibrinogen and fibrin. *Adv Protein Chem.* 2005;70:247-299. doi:10.1016/S0065-3233(05)70008-5 [

⁴⁹ Engelmann B, Massberg S. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. *Nat Rev Immunol.* 2012;13(1):34-45. doi:10.1038/nri3345

⁵⁰ Pavoni V, Giancesello L, Pazzi M, Stera C, Meconi T, Frigieri FC. Evaluation of coagulation function by rotation thromboelastometry in critically ill patients with severe COVID-19 pneumonia. *J Thromb Thrombolysis.* 2020;50:281-286.

⁵¹ Nonaka M, Kimura A. Genomic view of the evolution of the complement system. *Immunogenetics.* 2006;58(9):701–713. doi: 10.1007/s00251-006-0142-1

⁵² Liszewski MK, Elvington M, Kulkarni HS, Atkinson JP. Complement's hidden arsenal: New insights and novel functions inside the cell. *Mol Immunol.* 2017;84:2–9.

doi: 10.1016/j.molimm.2017.01.004.

⁵³ Tom van der Poll ^{1,2}, Frank L van de Veerdonk ^{3,4}, Brendon P Scicluna ^{1,5}, Mihai G Netea The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets *ev* *Immuno* 2017 Jul;17(7):407-420.

⁵⁴ Lisa E Gralinski ¹, Timothy P Sheahan ¹, Thomas E Morrison ², Vineet D Menachery ^{1,3}, Kara Jensen ¹, Sarah R Leist ¹, Alan Whitmore ⁴, Mark T Heise ⁴, Ralph S Baric Complement Activation Contributes to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Pathogenesis *mBio* 2018 Oct 9;9(5):e01753-18. doi: 10.1128/mBio.01753-18.

⁵⁵ Magro C, Mulvey JJ, Berlin D, et al. Complement associated microvascular injury and thrombosis in the pathogenesis of severe COVID-19 infection: a report of five cases. *Translational Research*. Epub ahead of print April 2020. DOI: 10.1016/j.trsl.2020.04.007.

⁵⁶ Anuja Java, Anthony J. Apicelli M. Kathryn Liszewski Ariella Coler-Reilly, John P. Atkinson, Alfred H.J. Kim, and Hrishikesh S. Kulkarni The complement system in COVID-19: friend and foe? *JCI Insight*. 2020 Aug 6; 5(15): e140711. ^[1]_{SEP}

⁵⁷ Gao T, Hu M, Zhang X, et al. Highly pathogenic coronavirus N protein aggravates lung injury by MASP-2-mediated complement over-activation. *medRxiv* 2020; 2020.03.29.20041962.

⁵⁸ Ramlall V, Thangaraj P, Tatonetti NP, Shapira SD. Identification of Immune complement function as a determinant of adverse SARS-CoV-2 infection outcome. *medRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.05.05.20092452>. Published June 6, 2020.

⁵⁹ Eleni Gavriilaki · Panagiotis G Asteris et al Genetic justification of severe COVID-19 using a rigorous algorithm in *Immunol* 2021 May;226:108726. doi: 10.1016/j.clim.2021.108726. Epub 2021 Apr 13.

⁶⁰ Proctor LM, Strachan AJ, Woodruff TM, et al. Complement inhibitors selectively attenuate injury following administration of cobra venom factor to rats. *International Immunopharmacology* 2006; 6: 1224–1232.

⁶¹ Diurno F, Numis FG, Porta G, et al. Eculizumab treatment in patients with COVID-19: preliminary results from real life ASL Napoli 2 Nord experience. *European review for medical and pharmacological sciences* 2020; 24: 4040–4047.

⁶² A Vlaar MUA. Open-label, randomized Study of IFX-1 in patients with severe COVID-19 pneumonia (PANAMO). *Clinicaltrials.gov*.

⁶³ Campbell RA, Schwertz H, Hottz ED. Human megakaryocytes possess intrinsic antiviral immunity through regulated induction of IFITM3. *Blood*. 2019;133:2013–2026.

⁶⁴ Fox S. E., Akmatbekov A., Harbert J. L., Li G., Quincy Brown J., Vander Heide R. S. (2020). Pulmonary and cardiac pathology in African American patients with COVID-19: an autopsy series from New Orleans. *Lancet Respir. Med.* 8 (7), 681–686. 10.1016/S2213-600(20)30243-5

⁶⁵ Bösmüller H, Traxler S, Bitzer M, Häberle H, Raiser W, Nann D, Frauenfeld L, Vogelsberg A, Klingel K, Fend F. The evolution of pulmonary pathology in fatal COVID-19 disease: an autopsy study with clinical correlation *Virchows Arch.* 2020 Sep;477(3):349-357. doi: 10.1007/s00428-020-02881-x. Epub 2020 Jun 30. PMID: 32607684

⁶⁶ Sharma P, Uppal NN, Wanchoo R, Shah HH, Yang Y, Parikh R, Khanin Y, Madireddy V, Larsen CP, Jhaveri KD, Bijol V; Northwell Nephrology COVID-19 Research Consortium. J COVID-19-Associated Kidney Injury: A Case Series of Kidney Biopsy Findings *Am Soc Nephrol.* 2020 Sep;31(9):1948-1958. doi: 10.1681/ASN.2020050699. Epub 2020 Jul 13. PMID: 32660970

⁶⁷ Sadegh Beigee F, Pourabdollah Toutkaboni M, Khalili N, Nadji SA, Dorudinia A, Rezaei M, Askari E, Farzanegan B, Marjani M, Rafiezadeh A Diffuse alveolar damage and thrombotic microangiopathy are the main histopathological findings in lung tissue biopsy samples of COVID-19 patients *Pathol Res Pract.* 2020 Oct;216(10):153228. doi: 10.1016/j.prp.2020.153228. Epub 2020 Sep 19. PMID: 32979740

⁶⁸ Romanova ES, Vasilyev VV, Startseva G, Karev V, Rybakova MG, Platonov PG. J Cause of death based on systematic post-mortem studies in patients with positive SARS-CoV-2 tissue PCR during the COVID-19 pandemic *Intern Med.* 2021 Apr 19;10.1111/joim.13300. doi: 10.1111/joim.13300.

⁶⁹ Sweeney JM, Barouqa M, Krause GJ, Gonzalez-Lugo JD, Rahman S, Gil MR Evidence for secondary thrombotic microangiopathy in COVID-19 *medRxiv* 2020 Oct 23;2020.10.20.20215608. doi: 10.1101/2020.10.20.20215608.

⁷⁰ Brandon Michael Henry, Stefanie W. Benoit, Maria Helena Santos de Oliveira, Giuseppe Lippi, Emmanuel J. Falavaro, Justin L. Benoit ADAMTS13 activity to von Willebrand factor antigen ratio predicts acute kidney injury in patients with COVID-19: Evidence of SARS-CoV-2 induced secondary thrombotic microangiopathy *Int J Lab Hematol.* 2020 Dec 3 : 10.1111/ijlh.13415. doi: 10.1111/ijlh.13415

⁷¹ Shilin Fang, Haizhou Wang, Li Lu, Yifan Jia, Zhongyuan Xia Decreased complement C3 levels are associated with poor prognosis in patients with COVID-19: A retrospective cohort study *Int Immunopharmacol* 2020 Dec;89(Pt A):107070. doi: 10.1016/j.intimp.2020.107070. Epub 2020 Oct 5.

⁷² Yang Zhao , Han-Xiang Nie, Ke Hu, Xiao-Jun Wu, Yun-Ting Zhang, Meng-Mei Wang, Tao Wang, Zhi-Shui Zheng, Xiao-Chen Li and Shao-Lin Zeng Abnormal immunity of non-survivors with COVID-19: predictors for mortality *Infectious Diseases of Poverty* (2020) 9:108 <https://doi.org/10.1186/s40249-020-00723-1>

⁷³ Cugno M, Meroni PL, Gualtierotti R, Griffini S, Grovetti E, Torri A, Lonati P, Grossi C, Borghi MO, Novembrino C, Boscolo M, Uceda Renteria SC, Valenti L, Lamorte G, Manunta M, Prati D, Pesenti A, Blasi F, Costantino G, Gori A, Bandera A, Tedesco F, Peyvandi F Complement activation and endothelial perturbation parallel COVID-19 severity and activity *J Autoimmun.* 2021 Jan;116:102560. doi: 10.1016/j.jaut.2020.102560. Epub 2020 Oct 29. PMID: 33139116

⁷⁴ Miklos Lipcsey , Barbro Persson , Oskar Eriksson , Anna M. Blom , Karin Fromell , Michael Hultström , Markus Huber-Lang , Kristina N. Ekdahl , Robert Frithiof^[1] and Bo Nilsson. The Outcome of Critically Ill COVID-19 Patients Is Linked to Thromboinflammation Dominated by the Kallikrein/Kinin System *Front. Immunol.*, 22 February 20 <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.627579>

⁷⁵ Esther J. Nossent, Alex R. Schuurman, Tom D.Y. Reijnders, Anno Saris, Ilse Jongerius, Siebe G. Blok, Heder de Vries, Jan Willem Duitman, Anton Vonk Noordegraaf, Lilian J. Meijboom, René Lutter, Leo Heunks, Harm Jan Bogaard and Tom van der Poll on behalf of the ArtDECO consortium and the Amsterdam UMC COVID study group Pulmonary Procoagulant and Innate Immune Responses in Critically Ill COVID-19 Patients *Front. Immunol.*, 14 May 2021 | <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.664209>

⁷⁶ Panagiotis Skendros, Alexandros Mitsios, Akrivi Chrysanthopoulou, Dimitrios C. Mastellos, Simeon Metallidis, Petros Rafailidis, Maria Ntinopoulou, Eleni Sertaridou, Victoria Tsironidou, Christina Tsigalou, Maria Tektonidou, Theocharis Konstantinidis, Charalampos Papagoras, Ioannis Mitroulis, Georgios Germanidis, John D. Lambris, and Konstantinos Ritis Complement and tissue factor-enriched neutrophil extracellular traps are key drivers in COVID-19 immunothrombosis *Clin Invest* 2020 Nov 2;130(11):6151-6157. doi: 10.1172/JCI141374

⁷⁷Pfister F, Vonbrunn E, Ries T, Jäck HM, Überla K, Lochnit G, Sheriff A, Herrmann M, Büttner-Herold M, Amann K, Daniel C Complement Activation in Kidneys of Patients With COVID-19 *Front Immuno*2021 Jan 29;11:594849.doi:10.3389/fimmu.2020.594849. eCollection 2020.

⁷⁸ Diorio C, McNerney KO, Lambert M, Paessler M, Anderson EM, Henrickson SE, Chase J, Liebling EJ, Burudpakdee C, Lee JH, Balamuth FB, Blatz AM, Chiotos K, Fitzgerald JC, Giglia TM, Gollomp K, Odom John AR, Jasen C, Leng T, Petrosa W, Vella LA, Witmer C, Sullivan KE, Laskin BL, Hensley SE, Bassiri H, Behrens EM, Teachey DT. Evidence of thrombotic microangiopathy in children with SARS-CoV-2 across the spectrum of clinical presentations *Blood Adv.* 2020 Dec 8;4(23):6051-6063. doi: 10.1182/bloodadvances.2020003471.

⁷⁹ Cynthia M. Magro, Justin Mulvey, Jeffrey Kubiak, Sheridan Mikhail, David Suster A. Neil Crowson, Jeffrey Laurence, Gerard Nuovo Severe COVID-19: A multifaceted viral vasculopathy syndrome *Annals of Diagnostic Pathology* 50 (2021) 151645
oi.org/10.1016/j.anndiagpath.2020.151645

⁸⁰Vijendra Ramlall, Phyllis M. Thangaraj, Cem Meydan, Jonathan Foox, Daniel Butler, Jacob Kim, Ben May, Jessica K. De Freitas, Benjamin S. Glicksberg, Christopher E. Mason, Nicholas P. Tatonetti, Sagi D. Shapir^[SEP] Immune complement and coagulation dysfunction in adverse outcomes of SARS-CoV-2 infection *Nat Med.* 2020 October; 26(10): 1609–1615. doi:10.1038/s41591-020-1021-2.