

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΛΟΙΜΩΞΙΟΛΟΓΙΑ»

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Ε. Ι. ΓΙΑΜΑΡΕΛΛΟΣ-ΜΠΟΥΡΜΠΟΥΛΗΣ

ΛΑΜΠΡΙΝΗ ΣΚΟΡΔΑ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ ΣΤΗ ΝΟΣΟ COVID-19»

ΑΘΗΝΑ 2021

Τριμελής Επιτροπή:

- ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: Ε. Ι. ΓΙΑΜΑΡΕΛΛΟΣ-ΜΠΟΥΡΜΠΟΥΛΗΣ,
Επιβλέπων
- ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: Ε. ΧΑΤΖΗΑΓΓΕΛΑΚΗ
- ΑΝΑΠΛ. ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: Σ. ΠΑΠΑΔΟΔΗΜΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Οφείλω να ευχαριστήσω θερμά τον Διευθυντή του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών «ΛΟΙΜΩΞΙΟΛΟΓΙΑ», Καθηγητή κ. **Ε. Ι. Γιαμαρέλλο-Μπουρμπούλη**, για την αμέριστη βοήθεια και συμπαράστασή του σε κάθε βήμα της εκπόνησης της Διπλωματικής μου εργασίας. Υπήρξε καθοδηγητής μου στη δύσκολη περίοδο της πανδημίας SARS COVID-19, να οραματισθώ μαζί του νέες θεραπείες και πρωτοποριακές μεθόδους προσέγγισης της νόσου.

Επίσης, ευχαριστώ θερμά την Καθηγήτρια κ. **Ε. Χατζηαγγελάκη** και Αναπλ. Καθηγήτρια κ. **Σ. Παπαδόδημα**, για την υποστήριξή τους, καθώς και την εμπιστοσύνη που μου έδειξαν έως ότου ολοκληρωθεί η Διπλωματική μου εργασία.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω ολόψυχα τον Γραμματέα του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών κ. **Σ. Καλλιόφα**, για την άψογη οργάνωση του Προγράμματος Σπουδών, αλλά και για την υποστήριξή του, ώστε να διεκπεραιώσω με επιτυχία το Π.Μ.Σ. «ΛΟΙΜΩΞΙΟΛΟΓΙΑ».

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Γενετικοί επίκτητοι παράγοντες κινδύνου σχετίζονται με τη λοίμωξη από Covid-19. Σε αυτούς περιλαμβάνονται παράγοντες σχετικά με την επιρρέπεια προσβολής από τον ιό, την βαρύτητα της νόσου, την εξέλιξη σε αναπνευστική ανεπάρκεια και την παρακολούθηση ανταπόκρισης στην θεραπεία. Σε αυτό το πλαίσιο η μελέτη SAVE έδειξε στην πρώτη περίοδο της μελέτης την προστατευτική ικανότητα του της χορήγηση ανακίπρα όσον αφορά την εξέλιξη σε σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια (HR 0.28, 95% CI, 0,18-0,44,P<0.0001). Ακόμη, σημαντική διαφορά στο χρόνο εξέλιξης των ασθενών με λοίμωξη από Covid- 19 σε σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια διαπιστώθηκε στην δεύτερη περίοδο της μελέτης στους ασθενείς που έλαβαν ανακίπρα μαζί με Standard –of –care (SOC) (HR 0.38, P< 0.0001). Τέλος, από την ανάλυση επιβίωσης διαπιστώθηκε βελτίωση της επιβίωσης ασθενών στις 30 ημέρες που έλαβαν ανακίπρα μαζί με SOC σε σχέση με αυτούς που έλαβαν μόνο SOC θεραπεία ενώ η παλίνδρομη ανάλυση κατά Cox ανέδειξε παράγοντες κινδύνου που συνδέονται με αυξημένη θνητότητα και την εξέλιξη σε σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια.

ABSTRACT

The Covid -19 infection is associated with genetic polymorphisms. These include factors related to susceptibility to the virus, the severity of the disease, the development of respiratory failure, and monitoring response to treatment. In this context, the SAVE study showed in the first period of the study its protective ability of anakinra in the development of severe respiratory failure (HR 0.28, 95% CI, 0.18-0.44, P <0.0001). Also, a significant difference in the progression time of patients with Covid-19 infection to severe respiratory failure was found in the second period of the study in patients receiving anakinra with Standard-of-care (SOC) (HR 0.38, P <0.0001). Finally, the survival analysis showed improved survival of patients in 30 days receiving anakinra with SOC compared with those receiving SOC treatment alone, while the Cox regression analysis revealed risk factors associated with increased mortality and progression to severe respiratory failure.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Ευχαριστίες	3
Περίληψη	4
Abstract	5

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ ΚΑΙ ΙΟΓΕΝΕΙΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ

1Α. Σημασία	7
1Β. Πως αξιολογείται	7
2. Σημασία γονιδιακών πολυμορφισμών στην εξέλιξη της νόσου Covid-19	8
2Α. Εξέλιξη σε αναπνευστική ανεπάρκεια	8
2Β. Μεταλλάξεις του γονιδίου <i>ACE-2</i>	10
2Γ. Γονίδια ως δείκτες παρακολούθησης και θεραπείας	12
2Δ. Γονίδια και βαρύτητα νόσου	14

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΔΕΥΤΕΡΟ ΣΤΑΔΙΟ ΤΗΣ ΑΝΟΙΚΤΟΥ-ΤΥΠΟΥ ΜΗ ΤΥΧΑΙΟΠΟΙΗΜΕΝΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ SAVE

- Ασθενείς και Μέθοδοι	15
- Παρέμβαση	21
- Ενδιάμεση ανάλυση	21
- Στατιστική ανάλυση	21
- Ανεπιθύμητα συμβάματα	21
- Αποτελέσματα	22
Post-hoc ανάλυση WHO-CPS	31
- Συζήτηση	33
- Βιβλιογραφία	34

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ ΚΑΙ ΙΟΓΕΝΕΙΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ

1Α. Σημασία

Οι λοιμώξεις του αναπνευστικού έχουν συσχετιστεί με γενετικούς και επίκτητους παράγοντες κινδύνου.^{1,2} Στην τωρινή περίοδο της πανδημίας από τον κορονοϊό Sars Cov-2 είναι γεγονός ότι η πιθανή συσχέτιση των ιογενών λοιμώξεων με γενετικά προδιαθεσικούς παράγοντες αποτελεί ένα νέο ερευνητικό πεδίο. Με την ανεύρεση προδιαθεσικών γενετικών παραγόντων τόσο όσον αφορά την προσβολή από τον ιό όσο και την ανταπόκριση στη θεραπεία ή την εκδήλωση βαριάς νόσου θα μπορεί να γίνει διαχωρισμών των πληθυσμιακών ομάδων και καλύτερη αντιμετώπιση των νοσούντων. Ακόμη, η επιλογή συγκεκριμένων γενετικών παραγόντων ως βιοδείκτες για την επιρρέπεια σοβαρής νόσου αποκτά μεγαλύτερο ενδιαφέρον με την εξέλιξη της πανδημίας Sars Cov-2 ενώ τα ήδη υπάρχοντα δεδομένα διαθέσιμα στη βιβλιογραφία είναι περιορισμένα και δεν έχουν επιβεβαιωθεί σε μελέτες επικύρωσης (validation studies). Σε αυτό το πλαίσιο είναι καίριας σημασίας ο σχεδιασμός μελετών που να συνδυάζουν τη γενετική πληροφορία με τα επιδημιολογικά δεδομένα για τον SARS - COV 2. Με αυτόν τον τρόπο θα μπορέσουν να αναχθούν δεδομένα βασισμένα σε αποδεικτικά στοιχεία (evidence based) και ανάπτυξη θεραπευτικών επιλογών στο πλαίσιο εξατομικευμένης ιατρικής. Έτσι, γενετικοί πολυμορφισμοί που συσχετίζονται με τις ιογενείς λοιμώξεις ενδέχεται να γίνουν οι ίδιοι ή να εκφράζουν πρωτεΐνες οι οποίες θα γίνουν στόχοι θεραπειών.^{1,2}

1Β. Πως αξιολογείται

Είναι γεγονός ότι κοροναϊοί που είναι υπεύθυνοι για λοιμώξεις του ανωτέρου αναπνευστικού υφίστανται μεταλλάξεις και εξελίσσονται συνεχώς. Η αξιολόγηση αυτών γίνεται με την πλήρη ανάλυση του γενετικού τους υλικού με στόχο τον περιορισμό εξάπλωσης μέσα από την ανάπτυξη εμβολίων και στοχευμένων θεραπειών. Προς αυτή την κατεύθυνση διεξάγονται μελέτες διερεύνησης των μεταλλάξεων και πολυμορφισμών των κοροναϊών με πλήρη

ανάλυση των νουκλεοτιδικών αλληλουχιών συγκεκριμένων πρωτεϊνών των ιών.⁶

Τα αντιγόνα HLA (Human Leukocyte Antigens) συμμετέχουν στη ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος στον άνθρωπο και παίζει σημαντικό ρόλο στην εκδήλωση και ανάπτυξη λοιμώξεων. Μάλιστα, φαίνεται ότι ανοσολογική απάντηση του ξενιστή στην προσβολή από τον SARS-COV-2 μπορεί να σχετίζεται με συγκεκριμένα αλληλία HLA όπως επίσης και με γενετικούς παράγοντες του ξενιστή. Σ' αυτούς περιλαμβάνονται οι υποδοχείς του ιού, οι πρωτεΐνες επιφανείας και λυσοσωμιακές πρωτεάσες. Έχει παρατηρηθεί ότι η εκδήλωση της λοίμωξης από Covid 19 σχετίζεται με συγκεκριμένα HLA. ΤοHLA –B*15:03 φαίνεται να έχει προστατευτικό ρόλο ενώ το HLA-B *46:01 σχετίζεται με ανάπτυξη σοβαρών συμπτωμάτων από τη λοίμωξη SARS COV 2.⁵ Επίσης, βρέθηκε ότι ομόζυγοι ή ετερόζυγοι για το HLA-C* 08:01 παρουσιάζουν αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης λοίμωξης από SARS - COV. Έτσι, γίνεται κατανοητό ότι τα γενετικά χαρακτηριστικά του ξενιστή μπορεί να σχετίζονται με διαφορετική εκδήλωση της λοίμωξης από Covid-19.⁷

2. Σημασία γονιδιακών πολυμορφισμών στην εξέλιξη της νόσου Covid-19

2A. Εξέλιξη σε αναπνευστική ανεπάρκεια

Το σοβαρό οξύ αναπνευστικό σύνδρομο (SARS: Severe Acute Respiratory Syndrome) αποτελεί νέα οντότητα που συνδέεται με την λοίμωξη αναπνευστικού από Covid-19. Η παθογένεση του συνδρόμου είναι περίπλοκη και το γενετικό προφίλ του ξενιστή θεωρείται ότι συνδέεται με την επιρρέπεια στην προσβολή από τον νέο αυτό κοροναϊό. Ακόμη, γενετικοί πολυμορφισμοί σε σημαντικά γονίδια μπορεί να επηρεάζουν τη πιθανότητα προσβολής από τον ιό. Πιο αναλυτικά, αυξημένη πιθανότητας προσβολής από τη λοίμωξη Covid-19 παρουσιάζουν ασθενείς που φέρουν τον γονιδιακό πολυμορφισμό του κωδικωνίου 54 στο εξώνιο 1 της μαννόζης που συνδέεται με την λεκτίνη (MBL: Mannose-Binding Lectin) και κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη της οικογένειας των κολλεκτινών με σημαντικό ρόλο στην ενδογενή ανοσιακή απάντηση.⁴

Ακόμη, διάφορες χημειοκίνες έχουν συνδεθεί με την λοίμωξη Covid -19. Πιο αναλυτικά, η μικρή επαγωγίμη πρωτεΐνη A2 (CCL2: C-C motif ligand 2) επίσης γνωστή και ως χημειοτακτική πρωτεΐνη-1 των μονοκυττάρων (MCP-1) παρουσιάζει αυξημένη έκφραση τόσο στα επιθηλιακά κύτταρα του πνεύμονα όσο και στα μολυσμένα μονοκύτταρα με SARS-CoV-2. Η συγκεκριμένη πρωτεΐνη αποτελεί χημειοτακτικό παράγοντα των μακροφάγων και των μονοκυττάρων ενώ θεωρείται ότι συμμετέχει σε πολλές παθολογικές καταστάσεις σχετιζόμενες με διήθηση από μακροφάγα. Η πρωτεΐνη CCL2 διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ενδογενή ανοσία μέσω της αλληλεπίδρασης με τα μακροφάγα και μονοκύτταρα όπως επίσης και με την παθητική ανοσία μέσω της ρύθμισης των βοηθητικών T- λεμφοκυττάρων. Σε πολλές ανεξάρτητες μελέτες έχει παρατηρηθεί μια διακύμανση των επιπέδων που σχετίζεται με την κορτικοθεραπεία. Αναλυτικότερα, υπάρχει υπερέκφραση της CCL2 στο πλάσμα ασθενών με SARS COV λοίμωξη ενώ 5-8 ημέρες μετά από την έναρξη της κορτικοθεραπείας παρατηρείται σημαντική μείωση των επιπέδων. Μάλιστα, έχει αναφερθεί ότι υψηλότερα επίπεδα CCL2 συνδέονται με πιο βαριά νόσο Covid-19. Σε μελέτη που διεξάχθηκε σε 932 ασθενείς με λοίμωξη από SARS-COV-2 βρέθηκε ότι υπάρχει αυξημένος κίνδυνος λοίμωξης σε άτομα που είναι γενετικά προδιατεθειμένα να παράγουν μεγαλύτερες ποσότητες CCL2 όπως και χαμηλά επίπεδα έκφρασης του β αλληλίου του γονιδίου της MBL ενώ συνδυασμοί πολυμορφισμών του CCL2 και MBL έχουν ισχυρή γενετική προδιάθεση για προσβολή από τον SARS-COV -2.⁴

Η παθογένεση της σοβαρής νόσου από τη λοίμωξη Covid-19 και η επικείμενη αναπνευστική ανεπάρκεια δεν έχει ακόμη επαρκώς διευκρινιστεί. Ωστόσο, θα μπορούσαμε να θεωρήσουμε ότι αυξημένη θνητότητα παρατηρείται σε ηλικιωμένους ασθενείς και πιο συχνά άνδρες. Κλινικές συσχετίσεις ακόμη αναφέρουν την αρτηριακή υπέρταση, τον σακχαρώδη διαβήτη και άλλα νοσήματα σχετιζόμενα με την παχυσαρκία και τα καρδιαγγειακά νοσήματα. Επίσης, ο σχετικός ρόλος των παραγόντων κινδύνου στην αναγνώριση της σοβαρής νόσου από SARS-COV 2 δεν έχει ενδελεχώς διερευνηθεί και ενταχθεί στην κλινική πράξη. Δεδομένα παρατήρησης από τις μελέτες θρομβοεμβολικής επίπτωσης της λοίμωξης από Covid-19 αναφέρουν ότι πρόκειται για

συστηματική νόσο που περιλαμβάνει βλάβη στο ενδοθήλιο χωρίς να μπορεί να γίνεται σαφές το παθογενετικό υπόβαθρο. Για αυτό τον λόγο, διενεργήθηκε η μελέτη από την ομάδα γονιδιώματος (GWAS) σε ασθενείς με αναπνευστική ανεπάρκεια και λοίμωξη από SARS-COV 2 ως μία προσπάθεια ανεύρεσης των γενετικών παραγόντων ξενιστή που σχετίζονται με τη σοβαρή νόσο από Covid-19. Έτσι, βρέθηκε ένας νέος γονιδιακός τόπος στο χρωμόσωμα 3p21.31 ο οποίος συνδέεται με την ευπάθεια προσβολής από τον ιό όπως επίσης επιβεβαιώθηκε η συσχέτιση της βαριάς νόσου με τον τύπο της ομάδας αίματος (κατά ABO) του ξενιστή. Ο γονιδιακός τόπος 3p21.31 φέρει 6 γονίδια, οι λειτουργίες των οποίων μπορεί να σχετίζονται με τον SARS COV 2. Στην συγκεκριμένη μελέτη δεν βρέθηκε ο αιτιολογικός παράγοντας συσχέτισης των γονιδίων αυτών με τη λοίμωξη από SARS- COV-2. Από τα γονίδια αυτά πιο πιθανό είναι να σχετίζεται το γονίδιο *SLC6A20* το οποίο κωδικοποιεί την πρωτεΐνη μεταφορέα νατρίου-ιμινικού οξέος (προλίνης) 1 (SIT1) η οποία αλληλεπιδρά με το μετατρεπτικό ένζυμο αγγειοτενσίνης-2 (ACE- 2) που αποτελεί υποδοχέα του SARS COV 2.³

2B. Μεταλλάξεις του γονιδίου ACE -2

Το ACE- 2 σε αντίθεση με το ACE εντοπίζεται στα επιθηλιακά κύτταρα των νεφρικών σωληναρίων, στους όρχεις, στα πνευμονοκύτταρα τύπου 2, στα ενδοθηλιακά κύτταρα των στεφανιαίων αρτηριών και στα ενδονεφρικά αγγεία ενώ αποτελείται από μια ενεργό περιοχή μεταλλοπρωτεάσης ψευδαργύρου που είναι ομόλογη του ACE σε ποσοστό 42 % και μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη. Έχει τη δυνατότητα μεταφοράς στον ορό μετά από τον διαχωρισμό του από τη διαμεμβρανική πρωτεΐνη. Μάλιστα, η σύνδεση στον ορό, σε κυτταροδιαλυτή μορφή, με το Fc τμήμα του αντισώματος του ιού μπορεί να προκαλέσει εξουδετέρωση του ιού.

Το γονίδιο που κωδικοποιεί το ACE-2 βρίσκεται στον βραχύ άξονα του χρωμοσώματος X(Χρ22.2) και αποτελείται από 19 εξώνια. Γενετικοί πολυμορφισμοί του ACE 2 σχετίζεται με καρδιαγγειακές παθήσεις όπως και με πολλές άλλες κοινές παθήσεις ενώ σε κάποιες μελέτες η συσχέτιση του ACE 2 με νοσήματα που σχετίζονται με τη αρτηριακή πίεση ήταν ανεπιτυχής. Έχει

βρεθεί ότι η λοίμωξη Covid-19 σχετίζεται με την παρουσία καρδιαγγειακών παθήσεων και με την παχυσαρκία οπότε ήταν εύλογο αν η παρουσία των μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (SNPs) του ACE-2 με θα μπορούσαν να αποτελούν παράγοντα κινδύνου για τη νόσο Covid-19. Στη βιβλιογραφία έχει περιγραφεί ότι το ACE 2 μειώνει τον κίνδυνο της αναπνευστικής ανεπάρκειας. Ο Chiu και συν. δεν βρήκε συσχέτιση μεταξύ των παραλλαγών του ACE 2 και του SAR- COV-2. Ο Goulter και συν. παρατήρησαν συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας καρδιακής ανεπάρκειας και του SARS-COV-2 Σε αυτή τη μελέτη ως πιθανό μηχανισμό αναφέρουν την ενίσχυση του ACE 2 λόγω της ιδιοπαθούς ισχαιμικής καρδιοπάθειας αναφέροντας φυσικά ότι τα αποτελέσματα τους θα πρέπει να επαληθευθούν σε μελέτες επικύρωσης.⁸

Ο Stawiski και συν. κατόπιν ανάλυσης γενετικού κώδικα εντόπισαν πολλές παραλλαγές του ACE-2 οι οποίες μπορεί να σχετίζονται με της επιρρέπεια προσβολής από SARS. Ωστόσο, από τα SNPs που αναφέρθηκαν ότι σχετίζονται με τον SARS COV 2 δεν είναι κοινό στον γενικό πληθυσμό. Έτσι, θα μπορούσαν να εντοπιστούν οι άνθρωποι που είναι λιγότερο πιθανό να μολυνθούν από την λοίμωξη Covid-19. Ο Cao και συν. στη μελέτη τους των γενετικών πολυμορφισμών του ACE 2 αναφέρουν διαφορές στην έκφραση μεταξύ των πληθυσμών του ACE 2. Πιο συγκεκριμένα, παρατήρησαν ότι το ACE 2 εκφράζεται περισσότερο σε πληθυσμούς από την Ανατολική Ασία που μπορεί να υποδεικνύει επιρρέπεια στην προσβολή από τη λοίμωξη.⁸ Επίσης, φαίνεται ότι η πρωτεΐνη SPIKE του ιού μπορεί μέσω του ACE 2 να ενεργοποιήσει το μονοπάτι MAP κινασών και να προκαλέσει καταγισμό ανοσολογικής απάντησης. Άλλα δεδομένα προτείνουν ότι το μονοπάτι MAPK ρυθμίζει το ACE2. Γι αυτό το λόγο διερευνήθηκε η επίδραση των αναστολέων MEK στο ACE2. Παρατηρήθηκε, λοιπόν, ότι πολλοί αναστολείς MEK μιας πρωτεΐνης που συμμετέχει στη διέγερση της κυτταρικής διαίρεσης, καταστέλει την έκφραση ACE 2 σε μη τοξικές δόσεις είτε χορηγούμενοι μόνοι τους ή σε συνδυασμό με την ρεμδεσιβίρη. Η ρεμδεσιβίρη αν και αυξάνει την ενεργότητα του ACE 2 κάτω από ειδικές πειραματικές συνθήκες, όταν συνδυάζεται με αναστολέα MEK όπως τον VS6766 παρουσιάζει μειωμένη ενεργότητα.⁹

Με δεδομένο ότι το ACE 2 εκφράζεται διαφορετικά σε διάφορους ιστούς, η διαφοροποίηση των επιπέδων έκφρασης μπορεί να έχει επίδραση στην επιρρέπεια την συμπτωματολογία και την έκβαση της λοίμωξης από COVID-19. Πιο αναλυτικά, η παρουσία δομικών ή στην αλληλουχία των βάσεων στο ACE 2 γονίδιο μπορεί να επηρεάσει την έκφραση του γονιδίου σε διαφορετικούς ιστούς όπως και την ανταπόκριση στην λοίμωξη Covid 19. Σε αυτό το πλαίσιο διενεργήθηκε σε μία Ιταλική μελέτη με δείγμα 268 ατόμων, μελέτη γενετικής μεταβλητότητας. Στη συγκεκριμένη μελέτη βρέθηκαν πέντε παραλλαγές ενός νουκλεοτιδίου του γονιδίου ACE 2 (*rs35803318*, *rs41303171*, *rs774469453*, *rs773676270*, and *rs2285666*) εκ των οποίων η *rs35803318* και η *rs2285666* παρουσίαζαν στατιστικά σημαντική διαφορά κατανομής στον Ιταλικό πληθυσμό. Ακόμη, από τις παραλλαγές των γενετικών τόπων ποσοτικής έκφρασης του ACE 2 διαπιστώθηκε ότι υπάρχει αυξημένη κατανομή αυτών στα εγκεφαλικά κύτταρα, προτείνοντας ότι μπορεί αυτό να συνδέεται με τις νευρολογικές επιπλοκές της Covid-19 λοίμωξης. Επομένως, είναι αναγκαία περαιτέρω διερεύνηση προκειμένου να εξακριβωθεί η παραπάνω συσχέτιση. Η αναγνώριση ασθενών που παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης νευρολογικών επιπλοκών θα αποτρέψει την προσωρινή ή μόνιμη εγκεφαλική καταστροφή.¹⁰

2Γ. Γονίδια ως δείκτες παρακολούθησης και θεραπείας

Η αναγνώριση ασθενών που θα ανταποκριθούν στη θεραπεία αποτελεί πεδίο διερεύνησης στην παρούσα φάση της πανδημίας. Κυρίαρχο ερώτημα αποτελεί αν μπορούν να εντοπιστούν βιοδείκτες με προγνωστική αξία για την ανταπόκριση των ασθενών στη θεραπεία. Από την ανεύρεση αυτών των βιοδεικτών θα μπορέσει να γίνει και καλύτερη οικονομικότερη διαχείριση ιδιαίτερος αυτή τη περίοδο που βλέπουμε να αυξάνεται το ιικό φορτίο σε φτωχότερες χώρες. Ακόμη, η αναγνώριση αυτών θα μας βοηθήσει να κατανοήσουμε καλύτερα τους παθογενετικούς μηχανισμούς της νόσου. Εώς τώρα οι μελέτες ελέγχου προγνωστικών παραγόντων στην τοσουλιζουμάμπη έχει επικεντρωθεί σε ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα (RA) οι οποίοι έχουν λάβει το συγκεκριμένο παράγοντα στα πλαίσια του νοσήματός τους. Έχουν

αναγνωριστεί πολλοί SNPs που αποτελούν προγνωστικοί παράγοντες ανταπόκρισης θεραπείας στην τοσιλιζουμάμπη. Φαίνεται ότι η ανταπόκριση σχετίζεται ισχυρά με τους πολυμορφισμούς CD69 (*rs11052877*), GALNT18 (*rs4910008*), CLEC2D (*rs1560011*), KCNMB1 (*rs703505*), ENOX1 (*rs9594987*) και *rs10108210*, *rs703297*. Ο πολυμορφισμός GALNT18 και CD69 επιβεβαιώθηκε ότι σχετίζεται με τα κριτήρια ανταπόκρισης κατά EULAR, την χαμηλή ενεργότητα νόσου (LDA) και DAS28. Ένα άλλο γονίδιο που σχετίζεται με την ανταπόκριση στην τοσιλιζουμάμπη είναι το FCGR3A. Ακόμη, αποτελέσματα μελετών δείχνουν ότι ασθενείς που φέρουν τον γονότυπο *rs12083537* AA και CC του γονότυπου *rs11265618* του γονιδίου *IL-6R* έχουν καλύτερη ανταπόκριση στη θεραπεία, ωστόσο αυτό δεν έχει επιβεβαιωθεί από άλλες μελέτες. Σε πρώιμα αποτελέσματα ανάλυσης μικρού αριθμού ασθενών με PA έχει βρεθεί ότι πολυμορφισμοί εσωνίων *rs33980500* του TRAF3IP2 φαίνεται ότι σχετίζονται με καλή ή μέτρια ανταπόκριση των ασθενών κατά EULAR ($p=0.041$).¹³

Παρόμοιες μελέτες θα πρέπει να επιβεβαιώσουν τα παραπάνω αποτελέσματα σε ασθενείς με SARS COV 2 όχι μόνο όσον αφορά την ανταπόκριση στην θεραπεία αλλά και στην ανάπτυξη ανεπιθύμητων ενεργειών.¹³ Μελέτες σχετικά με τον πολυμορφισμό *TMPRSS2* έχουν διεξαχθεί σε πολλές παθήσεις, κυρίως όμως κακοήθειες (προστάτη, μαστός) με διαφορές να εντοπίζονται σε άνδρες και γυναίκες όπως και μεταξύ Ασίας και Ευρώπης. Αυτές οι διαφορές πιθανότατα θα μπορούσαν αν εξηγήσουν τα επιδημιολογικά δεδομένα του SARS-CoV-2 στην Ιταλία όπου η λοίμωξη παρουσιάζει αυξημένη θνητότητα και διαφορές μεταξύ των δύο φίλων όσον αφορά στη βαρύτητα της νόσου. Έχει βρεθεί ότι ο συνδυασμός *TMPRSS2:ERG* μπορεί να ενισχύει γονίδια που σχετίζονται με το μονοπάτι του πυρηνικού υποδοχέα (nuclear factor, NF- kB) συμπεριλαμβανομένου τον υποδοχέα Toll-like - 4 και το μονοπάτι Notch στις κακοήθειες του προστάτη. Αυτό απομένει να διαπιστωθεί σε μη προστατικό ιστό όπως επίσης αν το συγκεκριμένο γονίδιο μπορεί να ενεργοποιήσει τον καταρράκτη σήματος Notch στα μακροφάγα κύτταρα και την απελευθέρωση προφλεγμονοδών κυτταροκινών όπως την IL1, TNF α, IL 6. Η έλλειψη *TMPRSS2* σε επίμυς έδρασε προστατευτικά εναντίον της Covid-19

λοίμωξης ενώ στην ίδια μελέτη διαπιστώθηκαν χαμηλά επίπεδα κυτταροκινών όπως και χημειοκινών. Ακόμη, σε μελέτες αυτοψίας ασθενών με Covid-19 λοίμωξη βρέθηκε ότι το πνευμονικό παρέγχυμα είχε υποστεί βλάβες της «καταιγίδας» κυτταροκινών πρωτοπαθούς τύπου (κυρίως παραγόμενη από τα μακροφάγα στην περιοχή των κυψελίδων, επιθηλιακά κύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα) παρά δευτεροπαθούς τύπου επαγόμενη από διαφορετικούς υπότυπους T- λεμφοκυττάρων που εμφανίζεται κυρίως κατά το τελικό στάδιο μιας ιογενούς λοίμωξης ή σαν επιπλοκή σε θεραπείες δέσμευσης T-κυττάρων. Ακόμη, δεδομένα από μελέτες σε επίμυς δείχνουν ότι ο πολυμορφισμός TMRSS2 συμμετέχει στην διάδοση και την ανοσοπαθολογία του ιού στις πρωτοπαθείς εστίες λοίμωξης. Τα στοιχεία ακόμη δείχνουν έναν υποκείμενο μηχανισμό που περιλαμβάνει ενδοθηλιακή δυσλειτουργία που μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία θρόμβων όπως έχει παρατηρηθεί σε πολλές περιπτώσεις Covid-19 λοίμωξης. Έχει βρεθεί ότι αντιανδρογονικοί παράγοντες μειώνουν την έκφραση του TMRSS2 σε κακοήγη προστατικά κύτταρα ενώ η επίδραση της μείωσης της έκφρασης του συγκεκριμένου γονιδίου με αναστολείς ανδρογόνων στη λοίμωξη Sars Cov 2 μένει να διευκρινιστεί.¹²

2Δ. Γονίδια και βαρύτητα νόσου

Διαπιστώθηκε ότι το γονίδιο της διαμεμβρανικής πρωτεΐνης επαγόμενης από ιντερφερόνη (*IFITM3*) σχετίζεται με τη βαρύτητα της λοίμωξης από Covid - 19 και ιδιαίτερα ο πολυμορφισμός *rs12252*. Ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός είναι συχνός σε Ασιατικούς πληθυσμούς ενώ ομοζυγώτες του αλληλίου C έχουν συσχετιστεί με την βαρύτητα της λοίμωξης από ιό της γρίπης. Το γονίδιο *IFITM3* κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη σημαντική στον περιορισμό του ιού αφού εμποδίζει την σύντηξη του ιού στην κυτταρική μεμβράνη. Σε μελέτη 80 ασθενών με ήπια ή σοβαρή νόσο έγινε γονιδιακός έλεγχος αλληλουχίας ο οποίος ανέδειξε συσχέτιση μεταξύ της ηλικίας και της σοβαρότητας της νόσου ενώ οι ομοζυγώτες του γονιδιακού πολυμορφισμού προσαρμοσμένοι ανάλογα με την ηλικία (διάμεση ηλικία 49.5 έτη) παρουσίαζαν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης σοβαρής νόσου σε σχέση με τους ετεροζυγώτες.¹⁴

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΔΕΥΤΕΡΟ ΣΤΑΔΙΟ ΤΗΣ ΑΝΟΙΚΤΟΥ-ΤΥΠΟΥ ΜΗ ΤΥΧΑΙΟΠΟΙΗΜΕΝΗΣ ΜΕΛΕΤΗ SAVE

ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Η Μελέτη SAVE (πλήρης τίτλος: ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΟΥ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΑΠΟ ΤΟΝ ΒΙΟΔΕΙΚΤΗ SUPAR ΚΑΙ ΠΡΩΙΜΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΣΟΒΑΡΗΣ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΗΣ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑΣ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ COVID-19 ΜΕ ΤΗΝ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΑΝΑΚΙΝΡΑ) διεξάχθηκε σε 3 στάδια τα οποία εγκρίθηκαν από την επιτροπή Δεοντολογίας και τον Εθνικό Οργανισμό Φαρμάκων (ΕΟΦ). Οι διαφορές μεταξύ αυτών των τριών σταδίων παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.

Το πλάνο ανάλυσης της μελέτης SAVE παρουσιάζεται στην εικόνα 1. Οι ασθενείς συμμετείχαν στη μελέτη σε δύο χρονικές περιόδους και πραγματοποιήθηκαν οι ακόλουθες τρεις αναλύσεις :

- Η πρώτη περίοδος ήταν μεταξύ Απριλίου και Σεπτεμβρίου 2020. Οι συμμετέχοντες ασθενείς συμπεριλήφθησαν στην ενδιάμεση ανάλυση η οποία έχει ήδη δημοσιευθεί. Η μελέτη SAVE έχει σχεδιαστεί ως ανοικτή μη τυχαιοποιημένη μελέτη. Σύμφωνα με το αρχικό πρωτόκολλο της μελέτης και τις 2 τροποποιήσεις, συγκρίσιμοι μάρτυρες μελετήθηκαν. Σε αυτή την πρώτη περίοδο, ο διαθέσιμος συνολικός αριθμός παράλληλων μαρτύρων ήταν 179: 130 είχαν επιλεγεί για ανάλυση μετά από έλεγχο καταλληλότητας propensity με ασθενείς που συμμετείχαν στη SAVE.
- Η δεύτερη περίοδος περιελάμβανε 587 ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη SAVE από τον Οκτώβριο ως το Δεκέμβριο 2020. Έγινε ανάλυση όλων ως προς το πρωτεύον καταληκτικό σημείο και ως προς τη θνητότητα στις 28-ημέρες. Σύμφωνα με το αρχικό πρωτόκολλο και τις 2 τροποποιήσεις, αναλύθηκαν ασθενείς που ελάμβαναν παράλληλα θεραπεία ως ομάδα. Σε αυτή την περίοδο, ο συνολικός διαθέσιμος αριθμός των παράλληλων μαρτύρων ήταν 141: 117 επιλέχθηκαν για σύγκριση με 525 συμμετέχοντες της μελέτης SAVE. Η επιλογή των 117 συγκρίσιμων μαρτύρων και 525 συμμετεχόντων για ανάλυση έγινε με βάση τη συμμόρφωση ως προς την

καθιερωμένη θεραπεία την οποία προτείνει η WHO για τους ασθενείς με λοίμωξη από Covid 19.

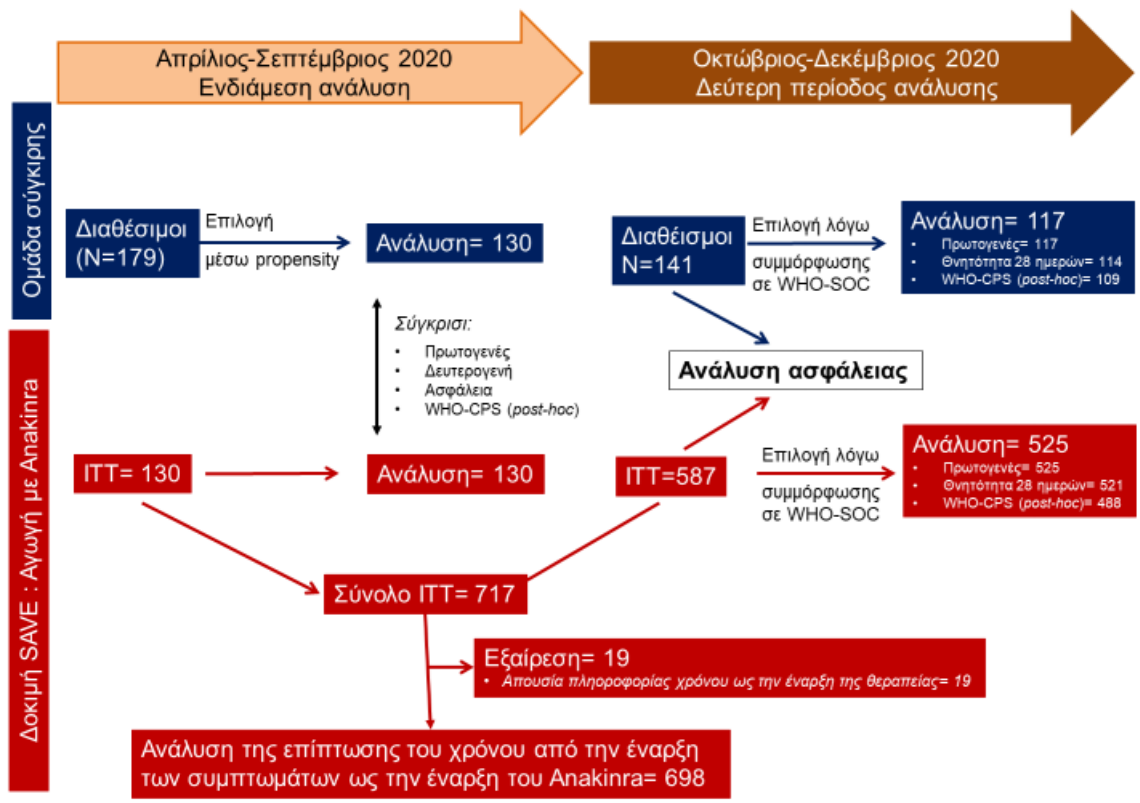
- Ο συνολικός αριθμός των συμμετεχόντων της μελέτης SAVE και τις 2 περιόδους ήταν συνολικά 717. Όλοι μελετήθηκαν ως προς την επίπτωση της καθυστέρησης από την έναρξη των συμπτωμάτων ως την έναρξη του ανακίντα ως προς το πρωταρχικό καταληκτικό σημείο την θνητότητα μετά τις 28 και τις 90 ημέρες.

Πίνακας 1 Οι τρεις εκδόσεις της δοκιμής SAVE

	Έκδοση 1.0/ 27 Μάρτιος 2020	Έκδοση 2.0/ 2 Σεπτέμβριος 2020	Έκδοση 3.0/ 5 Οκτώβριος 2020
Αριθμός Ασθενών	100	400	1000
Φάρμακο Μελέτης	Anakinra + τριμεθοπρίμη/σουλφαμεθοξαζόλη	Anakinra + τριμεθοπρίμη/σουλφαμεθοξαζόλη	Anakinra + τριμεθοπρίμη/σουλφαμεθοξαζόλη με βάση την κρίση του θεράποντα.
Πρωταρχικό τελικό σημείο	SRF την ημέρα 14	SRF την ημέρα 14	SRF την ημέρα 14
Δευτερεύον τελικό σημείο	<ul style="list-style-type: none"> • Σύγκριση του πρωτεύοντος τελικού σημείου με ιστορικούς μάρτυρες. • Μεταβολή βαθμολογίας για αναπνευστικά συμπτώματα μεταξύ των ημερών 1 και 7 • Μεταβολή βαθμολογίας για αναπνευστικά συμπτώματα μεταξύ των ημερών 1 και 14 • Μεταβολή της βαθμολογίας SOFA μεταξύ των ημερών 1 και 7 • Μεταβολή της βαθμολογίας 	<ul style="list-style-type: none"> • Σύγκριση του πρωτεύοντος τελικού σημείου με ιστορικούς συγκριτές • Μεταβολή βαθμολογίας για αναπνευστικά συμπτώματα μεταξύ των ημερών 1 και 7 • Μεταβολή βαθμολογίας για αναπνευστικά συμπτώματα μεταξύ των ημερών 1 και 14 • Μεταβολή της βαθμολογίας SOFA μεταξύ των ημερών 1 και 7 • Μεταβολή της βαθμολογίας 	<ul style="list-style-type: none"> • Σύγκριση του πρωτεύοντος τελικού σημείου με συγκριτές που λαμβάνουν τυπική θεραπεία περίθαλψης • Μεταβολή βαθμολογίας για αναπνευστικά συμπτώματα μεταξύ των ημερών 1 και 7 • Μεταβολή της βαθμολογίας για αναπνευστικά συμπτώματα μεταξύ των ημερών 1 και 14 • Μεταβολή της βαθμολογίας SOFA μεταξύ των ημερών 1 και 7 • Μεταβολή της βαθμολογίας SOFA

	<p>SOFA μεταξύ των ημερών 1 και 14</p> <ul style="list-style-type: none"> • Μεταβολή της διέγερσης κυτοκίνης μεταξύ των ημερών 1 και 7 • Μεταβολή φλεγμονωδών διαμεσολαβητών στο πλάσμα μεταξύ των ημερών 1 και 7 	<p>SOFA μεταξύ των ημερών 1 και 14</p> <ul style="list-style-type: none"> • Μεταβολή της διέγερσης της κυτοκίνης μεταξύ των ημερών 1 και 7 • Μεταβολή φλεγμονωδών μεσολαβητών στο πλάσμα μεταξύ των ημερών 1 και 7 	<p>μεταξύ των ημερών 1 και 14</p> <ul style="list-style-type: none"> • Μεταβολή της λειτουργίας των μονοκυττάρων του περιφερικού αίματος (PBMC) μεταξύ των ημερών 1 και 7 • Μεταβολή της γονιδιακής έκφρασης μεταξύ των ημερών 1 και 7 (μεταγραφική, πρωτεωμική και μεταβολική ανάλυση) • Μεταβολή μεσολαβητών φλεγμονωδών στο πλάσμα μεταξύ των ημερών 1 και 7 θνησιμότητα 30 ημερών Θνησιμότητα 90 ημερών • Ασφάλεια του anakinra • Συσχέτιση μεταξύ του χρονικού διαστήματος από την εισαγωγή στο νοσοκομείο έως την έναρξη του anakinra και της συχνότητας εμφάνισης SRF • Συσχέτιση μεταξύ ιικού φορτίου και
--	---	--	---

			<p>συχνότητας εμφάνισης SRF υπό θεραπεία με ανακίπρα</p> <ul style="list-style-type: none">• Συσχέτιση μεταξύ ακτινολογικής αδιαφάνειας στην υπολογιστική τομογραφία στο στήθος και της συχνότητας εμφάνισης SRF υπό θεραπεία με ανακίπρα• Σύνδεση της αποτελεσματικότητας του ανακίπρα για υποομάδες ασθενών. Οι μελετημένες υποομάδες θα είναι τα τεταρτημόρια του αναπνευστικού λόγου (pO_2 / FiO_2) κατά την εισαγωγή · οι κύριες συννοσηρότητες · την ταξινόμηση του ΠΟΥ
--	--	--	---



Εικόνα 1 Τύποι αναλύσεων των δύο περιόδων της δοκιμής SAVE
 Συντομογραφίες CPS: κλίμακα κλινικής εξέλιξης 11 σημείων. SOC: πρότυπο φροντίδας. ITT: πρόθεση για θεραπεία; WHO: Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας

ΠΑΡΕΜΒΑΣΗ

Κατά τη διάρκεια της μελέτης οι ασθενείς ελάμβαναν άπαξ ημερησίως 100mg ανακίπρα υποδόρια για 10 ημέρες, καθημερινά την ίδια χρονική στιγμή \pm 2 ώρες. Οι ασθενείς στη μελέτη μπορούσαν επίσης να λάβουν ένα δισκίο τριμεθοπρίμης/σουλφαμεθοξαζόλης 80mg/400mg ως προφύλαξη παράλληλα με τη χορήγηση του ανακίπρα με βάση την κρίση του θεράποντα.

ΕΝΔΙΑΜΕΣΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η ενδιάμεση ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη συμπλήρωση της παρακολούθησης των πρώτων 130 ασθενών δηλαδή 50% του πληθυσμού που απαιτείται σύμφωνα με τον υπολογισμό ισχύος της μελέτης. Ως πληθυσμός σύγκρισης χρησιμοποιήθηκαν, για την ενδιάμεση ανάλυση, ασθενείς που νοσηλεύονται με πνευμονία από τον ιό SARS-CoV-2 σε άλλες κλινικές της Ελλάδας.

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Στη μελέτη έγινε έκφραση του πρωτογενούς καταληκτικού σημείου της μελέτης ως ποσοστό και 95% όρια αξιοπιστίας. Ακόμη, έγινε σύγκριση του πρωτογενούς καταληκτικού σημείου με ομάδα ιστορικών μαρτύρων με την χρήση της δοκιμασίας Fisher. Οποιαδήποτε τιμή p κάτω από 0,05 θα θεωρηθεί στατιστικά σημαντική.

ΑΝΕΠΙΘΥΜΗΤΑ ΣΥΜΒΑΜΑΤΑ

Τα ανεπιθύμητα συμβάματα και τα σοβαρά ανεπιθύμητα συμβάματα συλλέγονται από την αρχή μέχρι την αξιολόγηση του τελευταίου ασθενούς. Οι ερευνητές θα πρέπει να παρακολουθούν τους συμμετέχοντες στην μελέτη για ανεπιθύμητα συμβάματα και είναι υπεύθυνοι για την καταγραφή όλων των ανεπιθύμητων συμβάντων και των σοβαρών ανεπιθύμητων ενεργειών που εμφανίζονται σε έναν ασθενή κατά τη διάρκεια της μελέτης.

Ένα ανεπιθύμητο σύμβαμα είναι οποιοδήποτε μη επιθυμητό ιατρικό σύμβαμα σε έναν ασθενή που λαμβάνει ένα φαρμακευτικό προϊόν και το οποίο δεν έχει απαραίτητως αιτιώδη συνάφεια με αυτή τη θεραπεία. Το ανεπιθύμητο

συμβάν μπορεί να είναι ένα σημείο, ένα σύμπτωμα ή ένα μη φυσιολογικό εργαστηριακό εύρημα.

Ως ανεπιθύμητη ενέργεια σχετιζόμενη με οποιαδήποτε χορηγηθείσα δόση ορίζεται κάθε δυσάρεστη και μη επιδιωκόμενη αντίδραση στο υπό έρευνα φαρμακευτικό προϊόν. Η χρονική σχέση ορίζεται από τη στιγμή που λαμβάνει χώρα η ανεπιθύμητη ενέργεια κατά τη διάρκεια της θεραπευτικής αγωγής μέχρι και 30 ημέρες ή 5 ημιζωές του σκευάσματος μετά τη διακοπή της θεραπείας

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Συνολικά 587 ασθενείς εγγράφηκαν κατά τη διάρκεια της δεύτερης χρονικής περιόδου. Η συχνότητα εμφάνισης σοβαρής αναπνευστικής ανεπάρκειας (SRF) την 14η ημέρα ήταν 16,9% (n = 99; 95% CIs 14,1-20,1%). Αυτή η επίπτωση δεν διέφερε από τη συχνότητα εμφάνισης SRF την 14η ημέρα από τους 130 ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με anakinra που συμμετείχαν στην ενδιάμεση ανάλυση της δοκιμής SAVE¹⁵ (p. 0,163 με την ακριβή εξέταση του Fisher).

Η θνητότητα μετά 30 ημέρες ήταν διαθέσιμη για 582 ασθενείς, καθώς πέντε ασθενείς χάθηκαν στην παρακολούθηση. Η θνητότητα την ημέρα 30 ήταν 9,1% (n = 53, 95% CIs 7,0-11,7%). Η θνητότητα αυτή των 30 ημερών δεν διέφερε από τη θνησιμότητα των 30 ημερών των 130 ασθενών που έλαβαν anakinra που συμμετείχαν στην ενδιάμεση ανάλυση του SAVE (p. 0,409 με την ακριβή δοκιμασία κατά Fisher).

Από τα μέσα Σεπτεμβρίου 2020, διαμορφώθηκε μια καθιερωμένη θεραπεία (Standard of care, SOC) στο πλαίσιο που συνιστάται από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ) για ασθενείς με COVID-19. Αυτή περιλαμβάνει για ασθενείς που έχουν ταξινομηθεί με μέτρια νόσο, αντιπηκτική αγωγή και ρεμντεσεβίρη (η τελευταία εφόσον κριθεί απαραίτητη από τον θεράποντα) ενώ για ασθενείς που έχουν ταξινομηθεί με σοβαρή νόσο, αντιπηκτική αγωγή, οξυγονοθεραπεία, δεξαμεθαζόνη και ρεμντεσεβίρη (η τελευταία εφόσον κριθεί απαραίτητη από τον θεράποντα)¹⁶.

Όταν ανακοινώθηκαν τα αποτελέσματα της ενδιάμεσης ανάλυσης της δοκιμής SAVE, τα περισσότερα ιατρικά τμήματα που διαχειρίζονται ασθενείς με

COVID-19 αποφάσισαν να συμμετάσχουν στη δοκιμή SAVE, γεγονός που οδήγησε στην τροποποίηση του πρωτοκόλλου (έκδοση 3.0). Αυτό οδήγησε παράλληλα σε σημαντική μείωση των διαθέσιμων ασθενών για την ομάδα σύγκρισης σε μόνο 141. Δεν παρατηρήθηκαν βασικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων (Πίνακας 1). Η συχνότητα εμφάνισης SRF μεταξύ των διαθέσιμων ασθενών προς σύγκριση που έλαβαν SOC ήταν σημαντικά μεγαλύτερη σε σύγκριση με τους ασθενείς που έλαβαν anakinra (Εικόνα 2). Έγινε μονοπαραγοντική και η πολυπαραγοντική ανάλυση παλινδρόμησης κατά Cox για να επιβεβαιώσει αυτές τις διαφορές. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 3. Η μονοπαραγοντική ανάλυση περιελάμβανε τις μεταβλητές που ήταν διαφορετικές μεταξύ των ασθενών της ομάδας σύγκρισης SOC και των ασθενών που έλαβαν SOC και anakinra. Η ανάλυση πολλαπλών παραλλαγών πραγματοποιήθηκε μόνο μεταξύ μεταβλητών που βρέθηκαν να είναι στατιστικά σημαντικές στην μονοπαραγοντική ανάλυση. Η ανάλυση έδειξε ότι η μόνη μεταβλητή που παρείχε προστασία από SRF ήταν η θεραπεία με anakinra. Οι ακόλουθες πέντε μεταβλητές ήταν παράγοντες κινδύνου για εξέλιξη σε SRF: σοβαρή COVID-19 σύμφωνα με την ταξινόμηση της ΠΟΥ, η ηλικία, η θεραπεία με κεφαρολίνη, η θεραπεία με πιπερακιλλίνη / ταζομπακτάμη και η θεραπεία με καρβαπενέμες. Η ερμηνεία μας για τη συσχέτιση της συνταγογράφησης αντιβιοτικών με τη συχνότητα εμφάνισης SRF είναι ότι τα συνταγογραφούμενα αντιβιοτικά αντικατοπτρίζουν τη στάση των θεράποντων ιατρών για τη σοβαρότητα του COVID-19, δηλαδή η κεφαρολίνη, η πιπερακιλλίνη / ταζομπακτάμη και η καρβαπενέμη συνταγογραφήθηκαν στους πιο σοβαρούς ασθενείς σύμφωνα με την κρίση του ιατρού.

Τρεις ασθενείς της ομάδας σύγκρισης που έλαβαν SOC χάθηκαν στην παρακολούθηση. Τέσσερις συμμετέχοντες στη δοκιμή SAVE που έλαβαν SOC και anakinra δεν προσήλθαν στην προγραμματισμένη παρακολούθηση. Η σύγκριση επιβίωσης μεταξύ των δύο ομάδων πραγματοποιήθηκε σε 114 και 521 ασθενείς αντίστοιχα. Η επιβίωση παρατάθηκε μεταξύ των ασθενών που έλαβαν anakinra (Εικόνα 4). Έγινε μονοπαραγοντική και η πολυπαραγοντική ανάλυση παλινδρόμησης κατά Cox για να επιβεβαιώσει αυτές τις διαφορές. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 4. Η μονοπαραγοντική ανάλυση

περιελάμβανε τις μεταβλητές που ήταν διαφορετικές μεταξύ των ασθενών της ομάδας σύγκρισης SOC και των ασθενών που έλαβαν SOC και anakinra. Η ανάλυση πολλαπλών παραλλαγών πραγματοποιήθηκε μόνο μεταξύ μεταβλητών που βρέθηκαν να είναι στατιστικά σημαντικές στην μονοπαραγοντική ανάλυση. Η ανάλυση έδειξε ότι από τις έξι μεταβλητές μόνο η θεραπεία με anakinra ήταν προστατευτική από το θάνατο. Οι ακόλουθες πέντε μεταβλητές ήταν παράγοντες κινδύνου για θνητότητα μετά από 30 ημέρες: σοβαρή COVID-19 σύμφωνα με την ταξινόμηση της ΠΟΥ, η ηλικία, ιστορικό στεφανιαίας νόσου, κολπική μαρμαρυγή, θεραπεία με κεφαρολίνη, θεραπεία με πιπερακιλλίνη / ταζομπακτάμη και θεραπεία με καρβαπενέμες. Η ερμηνεία μας για τη συσχέτιση της συνταγογράφησης αντιβιοτικών με τη συχνότητα εμφάνισης SRF είναι ότι τα συνταγογραφούμενα αντιβιοτικά αντικατοπτρίζουν τη στάση των θεραπόντων ιατρών για τη σοβαρότητα του COVID-19, δηλαδή η κεφαρολίνη, η πιπερακιλλίνη / ταζομπακτάμη και η καρβαπενέμη συνταγογραφήθηκαν στους πιο σοβαρούς ασθενείς σύμφωνα με την κρίση του θεράποντα.

Πίνακας 2 Βασικά χαρακτηριστικά των ασθενών που συμμετέχουν στην ομάδα σύγκρισης που έλαβαν καθιερωμένη θεραπεία (SOC) και των συμμετεχόντων στη δοκιμή SAVE που έλαβαν θεραπεία με SOC και anakinra

	SOC ομάδα σύγκρισης (n=117)	SOC + anakinra (n= 525)	p
Άρρεν φύλο, n (%)	70 (59,8)	336 (64,1)	0,397
Ηλικία (έτη), μέση± SD	64,3 ± 14,6	61,8 ± 13,2	0,064
Σοβαρή COVID-19 κατά WHO, n (%)	80 (68,4)	434 (82,7)	0,0001
suPAR (ng/ml), μέση ± SD	10,14 ± 3,37	10,22 ± 4,08	0,833
Συνολικός αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων (/mm ³), μέση ± SD	7044,7 ± 3678,3	7032,9 ± 3224,1	0,973
Απόλυτος αριθμός ουδετεροφίλων (/mm ³), μέση ± SD	5399,8 ± 3547,5	5525,9 ± 3114,2	0,710
Απόλυτος αριθμός λεμφοκυττάρων (/mm ³), μέση ± SD	1060,9 ± 527,9	989,6 ± 610,5	0,263

Ασπαραγινική αμινοτρανσφεράση (U/l), μέση ± SD	47,7 ± 40,6	43,6 ± 44,5	0,376
Αλανινική αμινοτρανσφεράση (U/l), μέση ± SD	40,9 ± 32,3	43,3 ± 42,9	0,570
Φερριτίνη (ng/ml), μέση ± SD	943,2 ± 1606,6	809,1 ± 1407,5	0,520
C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (mg/l), μέση ± SD	70,5 ± 100,1	77,1 ± 67,1	0,398
PaO ₂ /FiO ₂ (mmHg), μέση ± SD	283,6 ± 137,6	277,9 ± 231,5	0,806
Συνοσυρότητες , n (%)			
Διαβήτης τύπου 2	15 (12,8)	119 (22,7)	0,017
Χρόνια Καρδιακή Ανεπάρκεια	9 (7,7)	26 (5,0)	0,259
Χρόνια Νεφρική Νόσος	8 (6,8)	17 (3,2)	0,106
Στεφανιαία Νόσος	21 (17,9)	58 (11,0)	0,044
Υπέρταση	53 (45,3)	209 (38,7)	0,210
Κόλπικη Μαρμαρυγή	14 (12,0)	39 (7,4)	0,135
Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια	9 (7,7)	31 (5,9)	0,524
Συγχορηγούμενα φάρμακα, n (%)			
Κεφαλοσπορίνες γ' γενιάς , n (%)	80 (68,4)	308 (58,7)	0,060
Κεφταρολίνη , n (%)	17 (14,5)	121 (23,0)	0,046
Αναπνευστική Κινολόνη, n (%)	8 (6,8)	65 (12,4)	0,107
Πιπερακιλλίνη/Ταζομπακτάμη, n (%)	25 (21,4)	81 (15,4)	0,130
Καρβαπενέμη, n (%)	13 (11,1)	44 (8,4)	0,369
Βανκομυκίνη, n (%)	5 (4,3)	19 (3,6)	0,787

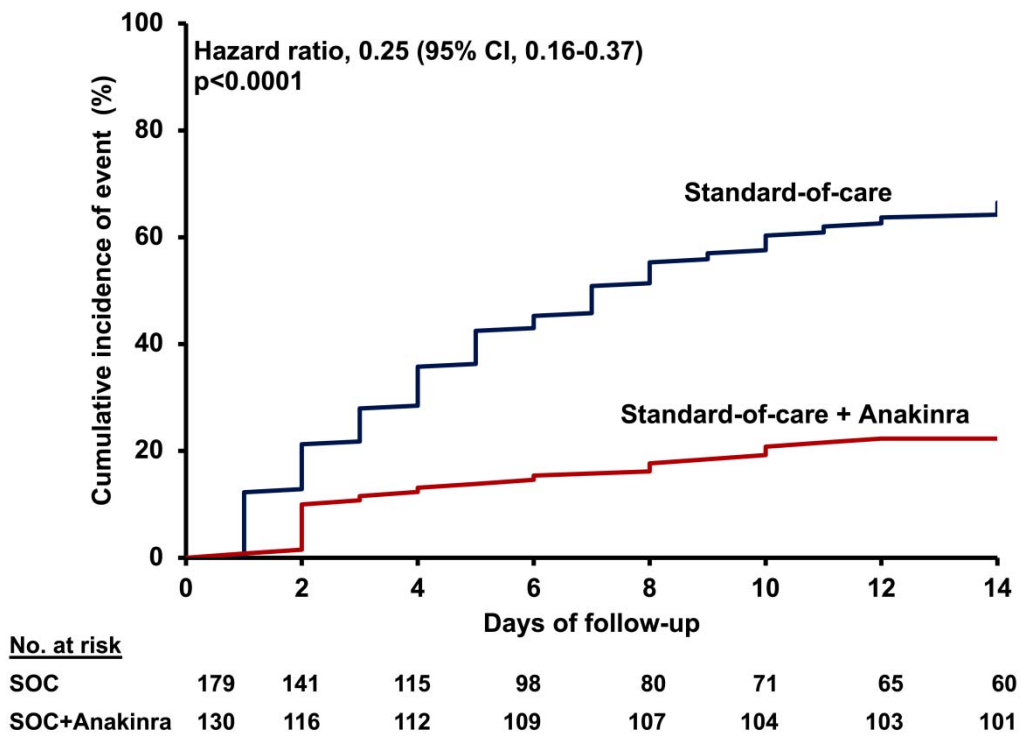
Πίνακας 3 Μοναπαραγοντική και πολυπαραγοντική ανάλυση παλινδρόμησης Cox για μεταβλητές που σχετίζονται με την πρόοδο σε σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια (SRF). Όλοι οι ασθενείς που περιλήφθηκαν στην ανάλυση έλαβαν SOC θεραπεία σύμφωνα με τις συστάσεις της ΠΟΥ που περιέχουν δεξαμεθαζόνη για τις σοβαρές περιπτώσεις

Παράμετρος	Χωρίς εξέλιξη	Εξέλιξη	Μονοπαραγοντική		Πολυπαραγοντική	
	σε SRF (n=504)	σε SRF (n=138)	HR (95% CIs)	p	HR (95% CIs)	p
Θεραπεία με anakinra, n (%)	434 (86,1)	91 (65,9)	0,38 (0,27-0,54)	<0,0001	0,33 (0,32-0,49)	<0,0001
Σοβαρή νόσος COVID-19 (WHO), n (%)	389 (77,2)	125 (90,6)	2,63 (1,48-4,65)	<0,0001	3,34 (1,84-6,04)	<0,0001
Ηλικία (Έτη), Μέση± SD	60,5 ± 13,4	68,7 ± 11,9	1,04 (1,04-1,05)	<0,0001	1,02 (10,01-1,04)	0,001
Στεφανιαία Νόσος, n (%)	54 (10,7)	25 (18,1)	1,67 (1,08-2,58)	0,020	*	
Αρτηριακή Υπέρταση, n (%)	184 (36,5)	72 (52,2)	1,75 (1,26-2,45)	0,001	*	
Κολπική Μαρμαρυγή, n (%)	32 (6,3)	21 (15,2)	2,18 (1,38-3,48)	0,001	*	
Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, n (%)	15 (3,0)	19 (9,4)	2,62 (1,48-4,64)	0,001	*	
Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, n (%)	25 (5,0)	15 (10,9)	2,09 (1,23-3,58)	0,007	*	
suPAR (ng/ml), μέση ± SD	9,92 ± 4,13	11,25 ± 3,06	1,04 (1,01-1,05)	0,001	*	
Κεφαλοσπορίνες 3 ^{ης} γενιάς, n (%)	319 (63,3)	69 (50,0)	0,63 (0,46-0,89)	0,008	*	
Κεφταρολίμη, n (%)	98 (19,4)	40 (29,0)	1,56 (1,08-2,26)	0,017	1,61 (1,11-2,34)	0,012
Πιπερακιλλίνη/Ταζομπακτάμη, n (%)	55 (10,9)	51 (37,0)	3,48 (2,46-4,92)	<0,0001	2,59 (1,79-3,76)	<0,0001
Καρβαπενέμες, n (%)	23 (4,6)	34 (24,6)	4,17 (2,83-6,15)	<0,0001	2,39 (1,58-3,61)	<0,0001
Ρεμντεσεβίρη, n (%)	203 (40,3)	51 (37,0)	0,89 (0,63-1,27)	0,536	**	

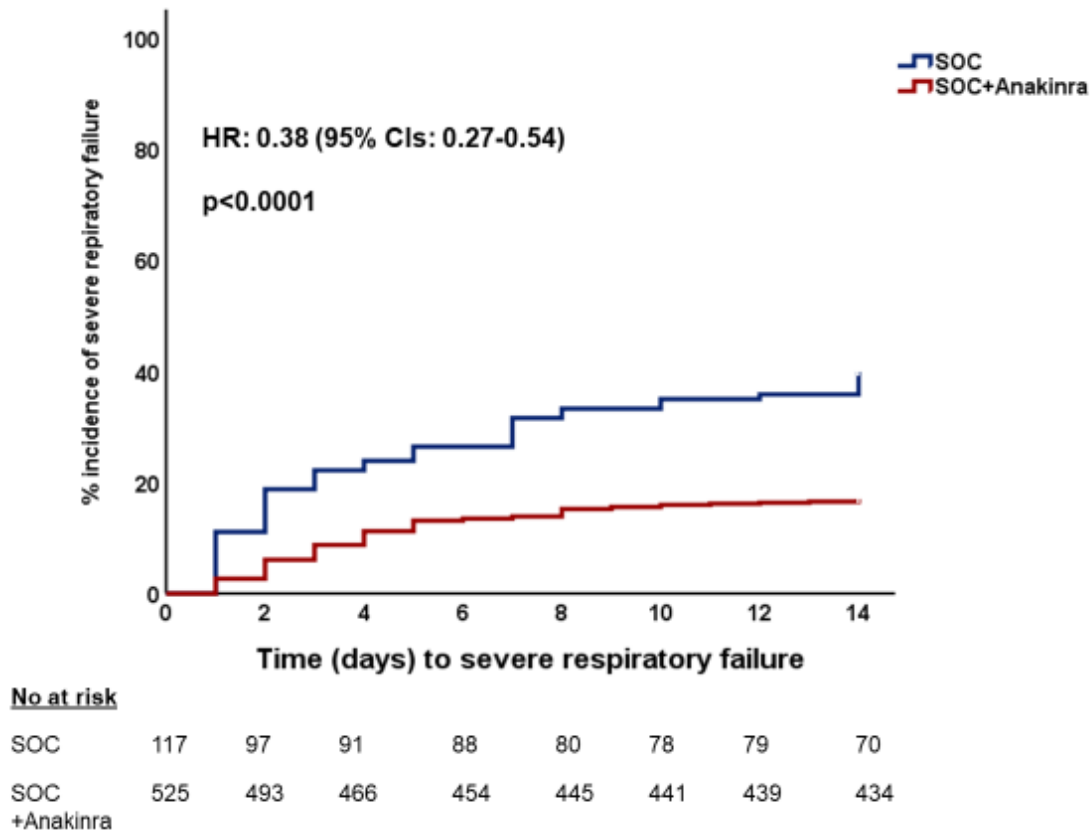
* Μεταβλητές που εισήλθαν στην εξίσωση αλλά καταργήθηκαν μετά από έξι στάδια ανάλυσης

** Μεταβλητή που δεν εισήγαγε την εξίσωση καθώς δεν ήταν στατιστικά σημαντική στην ανάλυση univariate

Συντομογραφίες CI: διάστημα εμπιστοσύνης; HR: σχετικός κίνδυνος, SD: τυπική απόκλιση; SOFA: διαδοχική αξιολόγηση ανεπάρκειας οργάνων, ΠΟΥ: Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας



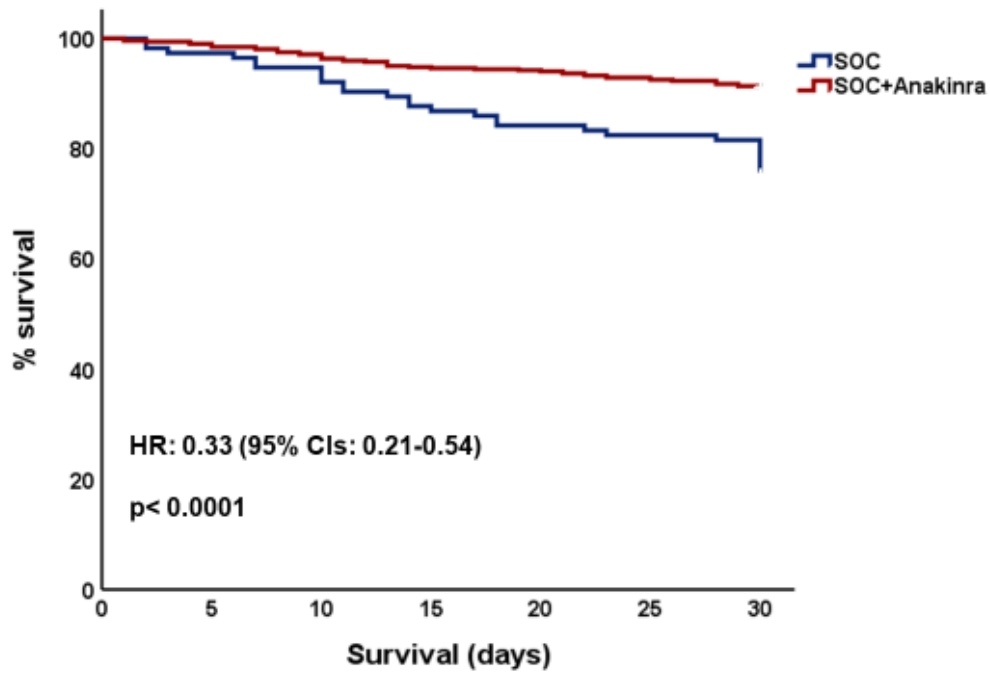
Εικόνα 2 Ξεχωριστή ανάλυση για τη συχνότητα σοβαρής αναπνευστικής ανεπάρκειας (SRF) μεταξύ των συνολικών διαθέσιμων 179 ατόμων της ομάδας σύγκρισης και των 130 συμμετεχόντων στη δοκιμή SAVE



Εικόνα 3 Εξέλιξη σε σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια (SRF)

Ο χρόνος για το SRF συγκρίνεται μεταξύ 117 ασθενών που συμμετείχαν στην ομάδα σύγκρισης που έλαβαν θεραπεία βασικής φροντίδας (SOC) σύμφωνα με τις συστάσεις της ΠΟΥ και 525 συμμετέχοντες στη δοκιμή SAVE που έλαβαν θεραπεία με SOC και anakinra.

Συνομογραφίες CI: διάστημα εμπιστοσύνης; HR: σχετικός κίνδυνος



No at risk

SOC	114	111	106	100	97	95	77
SOC + Anakinra	521	513	502	493	490	482	475

Εικόνα 4 Θνητότητα μετά 30 ημέρες

Η θνητότητα συγκρίνεται μεταξύ 114 ασθενών που συμμετείχαν στην ομάδα σύγκρισης που έλαβαν θεραπεία βασικής φροντίδας (SOC) σύμφωνα με τις συστάσεις της ΠΟΥ και 521 συμμετέχοντες στη δοκιμή SAVE που έλαβαν θεραπεία με SOC και anakinra.

Συνομογραφίες CI: διάστημα εμπιστοσύνης; HR: σχετικός κίνδυνος

Πίνακας 4 Μονοπαραγοντική και πολυπαραγοντική βαθμιδωτή ανάλυση παλινδρόμησης Cox των μεταβλητών που συνδέονται με τη θνησιμότητα 30 ημερών Όλοι οι ασθενείς που συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση έλαβαν SOC θεραπεία σύμφωνα με τις συστάσεις του ΠΟΥ

Παράμετρος	Επιβίωση (n=561)	Θάνατος (n=74)	Μονοπαραγοντική		Πολυπαραγοντική	
			HR (95% CIs)	p	HR (95% CIs)	p
Θεραπεία με anakinra, n (%)	475 (84,7)	46 (62,2)	0,33 (0,21-0,54)	<0,0001	0,38 (0,23-0,62)	<0,0001
Σοβαρή νόσος COVID-19 (WHO), n (%)	444 (79,1)	66 (89,2)	2,12 (1,02-4,40)	0,045	3,59 (1,65-7,84)	0,001
Ηλικία (Έτη), Μέση± SD	60,5 ± 13,0	74,9 ± 9,77	1,10 (1,08-1,23)	<0,0001	1,08 (1,05-1,10)	<0,0001
Διαβήτης τύπου 2, n (%)	109 (19,4)	22 (29,7)	1,70 (1,03-2,79)	0,037	*	
Χρόνια Νεφρική Νόσος, n (%)	18 (3,2)	6 (8,1)	2,56 (1,11-5,91)	0,027	*	
Στεφανιαία Νόσος, n (%)	60 (10,7)	18 (24,3)	2,49 (1,47-4,25)	0,001	1,73 (1,00-2,98)	0,048
Αρτηριακή Πίεση, n (%)	212 (37,8)	43 (58,1)	2,14 (1,35-3,40)	0,001	*	
Κολπική Μαρμαρυγή, n (%)	32 (5,7)	20 (27,0)	5,00 (2,99-8,36)	<0,0001	2,08 (1,21-3,59)	0,008
Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, n (%)	15 (2,7)	12 (16,2)	5,23 (2,82-9,72)	<0,0001	*	
SuPAR ng-ml μέση +/- SD	28 (5,0)	11 (14,9)	2,94 (1,55-5,59)	0,001	*	
Κεφαρολίνη, n (%)	10,00 ± 4,02	11,82 ± 3,17	1,04 (1,02-1,06)	0,001	*	
Πιπερακιλλίνη/Ταζομπακτάμη, n (%)	111 (20,5)	23 (31,1)	1,65 (1,00-2,69)	0,047	1,98 (1,19-3,27)	0,008
Καρβαπενέμες, n(%)	74 (13,2)	31 (41,9)	4,14 (2,61-6,57)	<0,0001	2,34 (1,43-3,83)	0,001
Ρεμντεσεβίρη, n (%)	30 (5,3)	26 (35,1)	6,72 (4,16-10,86)	<0,0001	2,92 (1,74-4,88)	<0,0001
Therapy with remdesivir, n (%)	231 (41,2)	21 (28,4)	0,58 (0,32-0,97)	0,037	*	

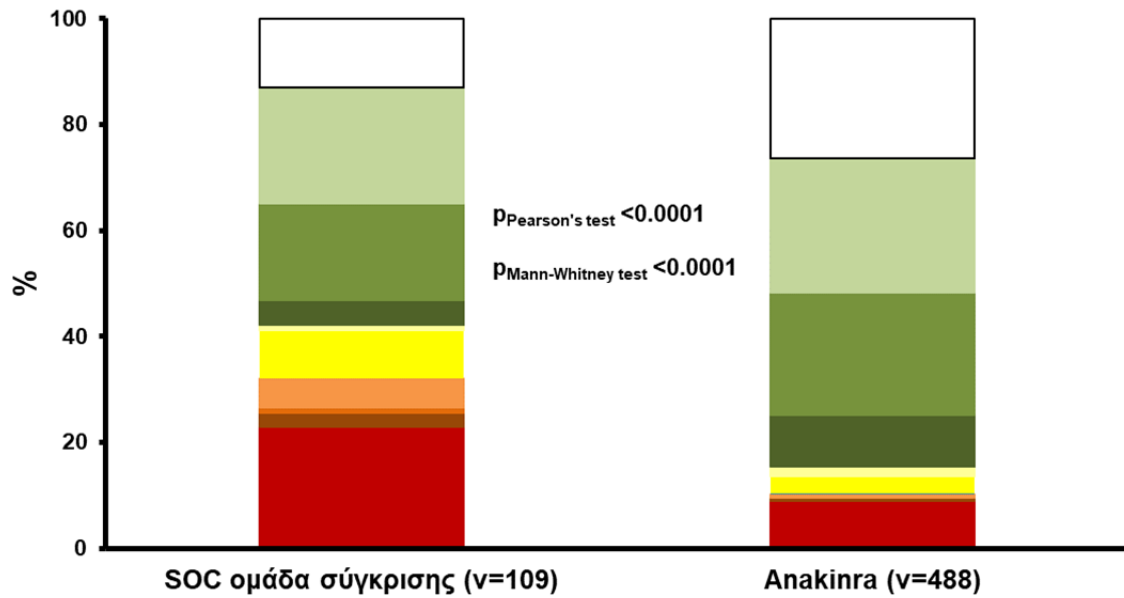
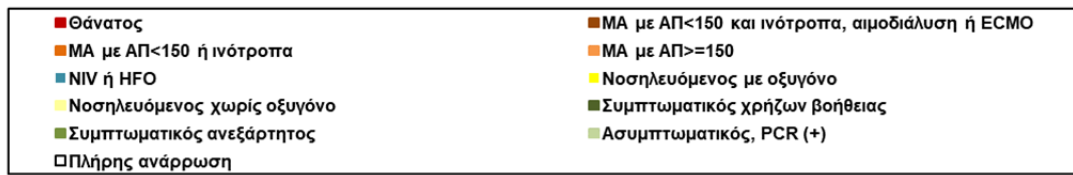
* Μεταβλητές που εισήλθαν στην εξίσωση, αλλά αφαιρέθηκαν μετά από οκτώ βήματα ανάλυσης

** Μεταβλητή που δεν εισήγαγε την εξίσωση καθώς δεν ήταν στατιστικά σημαντική στην ανάλυση univariate

Συντομογραφίες CI: διάστημα εμπιστοσύνης; HR: σχετικός κίνδυνος, SD: τυπική απόκλιση; SOFA: διαδοχική αξιολόγηση ανεπάρκειας οργάνων ΠΟΥ: Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας

Post-hoc ανάλυση WHO-CPS

Η ακριβής ταξινόμηση των ασθενών κατά την ημέρα 28 ήταν διαθέσιμη για 109 συγκριτές και 488 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με anakinra. Η έλλειψη πληροφοριών για 8 και 37 ασθενείς αντιστοίχως οφείλεται στο γεγονός ότι η λήψη αυτών των πληροφοριών έγινε εκ των υστέρων και δεν είχε προγραμματιστεί στο δοκιμαστικό πρωτόκολλο. Η κατάταξη των ασθενών την 28η ημέρα σύμφωνα με την κλίμακα WHO-CPS 11 σημείων φαίνεται στην Εικόνα 5. Οι ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με anakinra κατανεμήθηκαν σε κλίμακες χαμηλότερης βαρύτητας.



Εικόνα 5 Ταξινόμηση κατά WHO-CPS

Δίνεται η ταξινόμηση των ασθενών μετά 28 ημέρες σύμφωνα με την κλίμακα των 11 σημείων του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας

Συνομογραφίες ΑΠ: αναπνευστικό πηλίκιο, HFO: οξυγόνο σε υψηλή ροή, MA: μηχανικός αερισμός, NIV: μη παρεμβατικός αερισμός, SOC: καθιερωμένη αγωγή

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η μελέτη SAVE περιελάμβανε δύο περιόδους αναλύσεων. Τα αποτελέσματα της δεύτερης φάσης της μελέτης SAVE επιβεβαιώνουν τα αποτελέσματα της πρώτης ενδιάμεσης ανάλυσης. Από τα αποτελέσματα της πρώτης περιόδου διαπιστώθηκε υπεροχή θεραπείας με anakinra (HR : 0.25, $P < 0.0001$) ενώ από την μονοπαραγοντική μελέτη η θεραπεία με anakinra αναδείχθηκε ως ανεξάρτητη μεταβλητή προστατευτική για εξέλιξη σε σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια (HR 0.28, 95% CI, 0,18-0,44, $P < 0.0001$). Στην δεύτερη περίοδο ανάλυσης έγινε σύγκριση της standard of care (SOC) θεραπείας και της προσθήκης σε αυτή του anakinra. ($p = 0.001$). Διαπιστώθηκε σημαντική διαφορά στον χρόνο εμφάνισης SRF στους ασθενείς που έλαβαν SOC σε σχέση με SOC και Anakinra. (HR 0.38, $P < 0.0001$)

Από την ανάλυση επιβίωσης προκύπτει η υπεροχή του anakinra σε σχέση με την ομάδα σύγκρισης μαρτύρων. Ακόμη, περαιτέρω ανάλυση με παλίνδρομη ανάλυση Cox ανέδειξε παράγοντες που σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης σοβαρής αναπνευστικής ανεπάρκειας, Σ' αυτούς περιλαμβάνονται η σοβαρή λοίμωξη Covid-19, η ηλικία, η θεραπεία με κεφαρολίνη, πιπερακιλλίνη/ταζομπακτάμη και καρβαπενέμες. Ακόμη, από την ίδια ανάλυση παράγοντες που σχετίζονταν αυξημένο κίνδυνο θνητότητας στις 30 ημέρες ήταν η σοβαρή λοίμωξη Covid-19, η ηλικία, το ιστορικό στεφανιαίας νόσου, η κοιλιακή μαρμαρυγή, η θεραπεία με κεφαρολίνη, πιπερακιλλίνη/ταζομπακτάμη και καρβαπενέμες. Τέλος, όσον αφορά την χρονική στιγμή έναρξης του φαρμάκου της μελέτης σε σχέση με την έναρξη της συμπτωματολογίας από τη λοίμωξη Covid-19, η μελέτη έδειξε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της έναρξης του φαρμάκου 8^η -13^η ημέρα σε σχέση με την έναρξη χορήγησης σε λιγότερο από 8 ημέρες ή περισσότερο από 13 ημέρες από την έναρξη των συμπτωμάτων.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. von Brunn A, Ciesek S, von Brunn B, Carbajo-Lozoya J. Genetic deficiency and polymorphisms of cyclophilin A reveal its essential role for Human Coronavirus 229E replication. *Curr Opin Virol* 2015, 14:56–61
2. Ghafouri-Fard S, Noroozi R, Vafae R, Branicki W, Pośpiech E, Pyrc K, et al. Effects of host genetic variations on response to, susceptibility and severity of respiratory infections. *Biomed Pharmacothe* 2020, 128: 110296.
3. Severe Covid-19 GWAS Group et al. Genomewide association study of severe Covid-19 with respiratory failure. *N Engl J Med* 2020, 383:1522-1534.
4. Tu X, Chong W P, Zhai Y, Zhang H, Zhang F, Wang S, et al. Functional polymorphisms of the CCL2 and MBL genes cumulatively increase susceptibility to severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. *J infection* 2015, 71: 101-109.
5. Ovsyannikova IG, Haralambieva IH, Crooke SN, Poland GA, Kennedy RB. The role of host genetics in the immune response to SARS-CoV-2 and COVID-19 susceptibility and severity. *Immunol Rev* 2020, 296: 205-219.
6. Abolnik C. Genomic and single nucleotide polymorphism analysis of infectious bronchitis coronavirus. *Infection Genetics Evolution* 2015, 32: 416-424.
7. Wang W, Zhang W, Zhang J, He J, Zhu F. Distribution of HLA allele frequencies in 82 Chinese individuals with coronavirus disease-2019 (COVID-19) *HLA*. 2020, 96: 194-196.
8. Sieńko J, Kotowski M, Bogacz A, Lechowicz K, Drożdżał S, Rosik J, et al. COVID-19: The influence of ACE Genotype and ACE-I and ARBs on the course of SARS-CoV-2 infection in elderly patients. *Clin Interv Aging* 2020, 15:1231-1240.
9. Zhou L, Huntington K, Zhang S, Carlsen L, So EY, Parker C, et al. MEK inhibitors reduce cellular expression of ACE2, pERK, pRb while stimulating NK-mediated cytotoxicity and attenuating inflammatory cytokines relevant to SARS-CoV-2 infection. *Oncotarget* 2020, 11: 4201-4223.

10. Strafella C, Caputo V, Termine A, Barati S, Gambardella S, Borgiani P, et al. Analysis of *ACE2* genetic variability among populations highlights a possible link with COVID-19-related neurological complications. *Genes* 2020, 11: 741.
11. Devaux C, Rolain J-M, Raoult D, ACE2 receptor polymorphism: Susceptibility to SARS-CoV-2, hypertension, multi-organ failure, and COVID-19 disease outcome. *J Microbiol Immunol Infection* 2020, 53: 425-435.
12. Strobe JD, PharmD CHC, Figg WD. TMPRSS2: potential biomarker for COVID-19 outcomes. *J Clin Pharmacol* 2020, 60: 801-807.
13. Perricone C, Conigliaro P, Ciccacci C, Marcucci E, Cafaro G, Bartoloni E, et al. The differential response to anti IL-6 treatment in COVID-19: the genetic counterpart. *Clin Exp Rheumatol* 2020, 38: 580
14. Zhang Y, Qin L, Zhao Y, Zhang P, Xu B, Li K, et al. Interferon-induced transmembrane protein 3 genetic variant rs12252-C associated with disease severity in coronavirus disease 2019. *J Infect Dis* 2020, 222: 34-37.
15. Kyriazopoulou E, Panagopoulos P, Metallidis S, Dalekos GN, Poulakou G, Gatselis N, et al. An open label trial of anakinra to prevent respiratory failure in COVID-19. *eLife* 2021; 10: e66125
16. <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/concomitant-medications>

ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΔΗΛΩΣΗ

Η Σκορδά Λαμπρινή του Θεοδώρου, με Αριθμό Μητρώου 20190617, γνωρίζοντας τις συνέπειες της λογοκλοπής, δηλώνω υπεύθυνα ότι η παρούσα εργασία με τίτλο ««ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ ΣΤΗ ΝΟΣΟ COVID-19», αποτελεί προϊόν αυστηρά προσωπικής εργασίας και όλες οι πηγές που έχω χρησιμοποιήσει έχουν δηλωθεί κατάλληλα στις βιβλιογραφικές παραπομπές και αναφορές. Τα σημεία όπου έχω χρησιμοποιήσει ιδέες, κείμενο ή / και πηγές άλλων συγγραφέων, αναφέρονται ευδιάκριτα στο κείμενο με την κατάλληλη παραπομπή και η σχετική αναφορά περιλαμβάνεται στο τμήμα των βιβλιογραφικών αναφορών με πλήρη περιγραφή.