ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΧΗΜΕΙΟΚΙΝΕΣ ΣΤΙΣ ΠΕΡΙΓΕΝΝΗΤΙΚΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ

Διδακτορική Διατριβή

Μανουρά Αντωνίας

Παιδιάτρου- Νεογνολόγου

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελ.
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	**5**
ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ ΣΤΑ ΕΛΛΗΝΙΚΑ	**7**
ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ ΣΤΑ ΑΓΓΛΙΚΑ	**12**
Ι. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	**17**
1. Η Νεογνική σηψαιμία	**19**
1.1 Σήψη- ορισμοί	**19**
1.2 Η φλεγμονώδης αντίδραση και η αντιφλεγμονώδης αντίδραση (SIRS και CARS)	**22**
1.3 Πρώιμη και όψιμη νεογνική σηψαιμία	**24**
2. Το ανοσοποιητικό σύστημα	**29**
2.1 Το ανοσοποιητικό σύστημα στη νεογνική ηλικία	**29**
2.1.Α. Η προσαρμοζόμενη, ειδική ανοσία στη νεογνική ηλικία	**30**
2.2.Β. Το έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα στη νεογνική ηλικία	**33**
3. Τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνα	**43**
3.1. Η παραγωγή και κυκλοφορία των ουδετερόφιλων πολυμορφοπυρήνων	**43**
3.2. Οι λειτουργίες των ουδετερόφιλων πολυμορφοπυρήνων	**44**
4. Οι χημειοκίνες	**51**

4.1 Δομή και λειτουργία των χημειοκινών **51**

4.2 Οι υποδοχείς των χημειοκινών **58**

4.3 Ο ρόλος των χημειοκινών και των υποδοχέων τους στις λοιμώξεις **59**

4.4 Ο ρόλος των χημειοκινών σε άλλες παθοφυσιολογικές διεργασίες **63**

4.5 Χημειοταξία και χημειοκίνες στη νεογνική ηλικία **65**

II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Υπόθεση **71**

2. Μεθοδολογία **77**

2.1 Υλικό και μέθοδος **77**

2.2 Ορισμοί **78**

2.3 Καθορισμός χημειοκινών **79**

2.4 Στατιστική ανάλυση **80**

3. **Αποτελέσματα** **81**

4. Συζήτηση **93**

III. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ **103**

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Τελειώνοντας τη μελέτη αυτή, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους συνέβαλαν στην ολοκλήρωσή της. Ιδιαίτερα ευχαριστώ την αναπληρώτρια καθηγήτρια Νεογνολογίας κα Χριστίνα Γιαννακοπούλου, επιβλέπουσα καθηγήτρια, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε αναθέτοντας μου το ενδιαφέρον αυτό θέμα, και στη συνέχεια, για την επίβλεψη, την ενθάρρυνση και την καθοδήγησή της καθ΄ όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της διατριβής αυτής. Η κατανόηση και η συνεχής υποστήριξή της συνέβαλαν αποφασιστικά στην ολοκλήρωση της εργασίας. Θερμά ευχαριστώ και τον αναπληρωτή καθηγητή παιδιατρικής κ. Εμμανουήλ Γαλανάκη για τις πολύτιμες συμβουλές του σε όλα τα στάδια της εργασίας και για τον χρόνο που αφιέρωσε από το ξεκίνημα της δουλειάς αυτής μέχρι και τη συγγραφή της. Επίσης ευχαριστώ και τον καθηγητή κ. Δημήτριο Μπούμπα, μέλος της τριμελούς επιτροπής, για την υποστήριξή του.

Ευχαριστώ επίσης και τα υπόλοιπα μέλη της επταμελούς επιτροπής, καθηγητές κ.κ. Γ. Γεωργόπουλο και Α. Γκίκα, τον αναπληρωτή καθηγητή κ.Ι. Ματαλλιωτάκη και τον λέκτορα και καλό φίλο κ. Ι. Σουγκλάκο που πρόθυμα δέχτηκαν να συμμετάσχουν στην εξεταστική επιτροπή και να σχολιάσουν τη δουλειά αυτή.

Για τη συνεργασία του στις μετρήσεις των χημειοκινών θέλω να ευχαριστήσω τον αναπληρωτή καθηγητή της Β’ Παιδιατρικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, κ. Δ. Γουργιώτη. Ιδιαίτερα ευχαριστώ τον κ. Εμ. Μαυρομανωλάκη, φυσικό, καλό φίλο από τα φοιτητικά χρόνια, για τις συμβουλές, την καθοδήγηση και τη βοήθεια στη στατιστική ανάλυση.

Θα ήταν παράλειψη να μην ευχαριστήσω τους συναδέλφους στη Νεογνολογική Κλινική που με βοήθησαν ποικιλοτρόπως στην ολοκλήρωση της εργασίας αυτής, καθώς και τα παιδιά που έλαβαν μέρος.

Τέλος οφείλω ένα ευχαριστώ στην οικογένειά μου που με ενθαρρύνει και μου συμπαρίσταται σε κάθε μου προσπάθεια.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η νεογνική σηψαιμία είναι μια απειλητική για τη ζωή νόσος. Προσβάλλει 3-5 ανά 1000 ζώντα νεογνά. Παρά την πρόοδο που έχει σημειωθεί τα τελευταία χρόνια στην νεογνολογία, η νοσηρότητα και θνησιμότητα της νεογνικής σηψαιμίας, κυρίως για τα πρόωρα νεογνά, εξακολουθεί να παραμένει υψηλή. Η ευπάθεια των νεογνών στις λοιμώξεις σχετίζεται με την ανωριμότητα των ανοσολογικών τους μηχανισμών. Καθοριστικής σημασίας συνιστώσα στη διαδικασία της φλεγμονής και στην αντίδραση του ξενιστή στη λοίμωξη αποτελεί η χημειοταξία, η προσέλκυση, δηλαδή, των λευκών αιμοσφαιρίων στους ιστούς. Την διαδικασία αυτή διέπει μια σειρά από χημιοτακτικές κυτταροκίνες, οι χημειοκίνες, η σημασία και ο ρόλος των οποίων ερευνώνται εντατικά τα τελευταία χρόνια. Οι χημειοκίνες είναι μικρά πρωτεϊνικά μόρια και διακρίνονται σε 4 οικογένειες, από τις οποίες οι α- και οι β-χημειοκίνες έχουν τα περισσότερα μέλη. Οι α-χημειοκίνες κυρίως προσελκύουν τα ουδετερόφιλα ενώ οι β-χημειοκίνες δεν δρουν στα ουδετερόφιλα αλλά προσελκύουν μονοκύτταρα, ηωσινόφιλα, βασεόφιλα και λεμφοκύτταρα.

Η χημειοταξία είναι ελλειμματική στα νεογέννητα, και μάλιστα στα πρόωρα, και αυτή η ανεπάρκεια ενδεχομένως συμβάλλει στην αυξημένη ευαισθησία τους στις λοιμώξεις. Τρεις οικογένειες μορίων, οι ιντεγκρίνες, οι σελεκτίνες και οι χημειοκίνες ελέγχουν τα διάφορα βήματα της διαδικασίας αυτής. Η μελέτη επομένως των χημειοκινών σε περιπτώσεις νεογνικών λοιμώξεων είναι ιδιαίτερης σημασίας. Η συγκέντρωση των διαφόρων χημειοκινών στον ορό των πρόωρων και τελειόμηνων νεογνών δεν έχει μελετηθεί επαρκώς. Με εξαίρεση την ιντερλευκίνη-8,

ελάχιστα είναι γνωστά για την συγκέντρωση των χημειοκινών στα υγιή νεογνά καθώς και την επίδραση των λοιμογόνων παραγόντων στις συγκεντρώσεις τους. Μειωμένες συγκεντρώσεις κατά την ηρεμία ή και μειωμένη επαγωγή έκκρισης κατά τη διάρκεια της λοίμωξης είναι πιθανοί παράγοντες που συμβάλλουν στην αυξημένη ευαισθησία των νεογνών στις λοιμώξεις. Μέχρι σήμερα, σε ελάχιστες εργασίες έχουν μετρηθεί οι συγκεντρώσεις ορισμένων χημειοκινών στον ορό νεογνών. Οι μέχρι σήμερα γνώσεις μας είναι πολύ περιορισμένες και απαιτούνται περισσότερες μελέτες σε υγιή νεογνά και σε νεογνά με λοίμωξη για να διευκρινιστεί η σημασία των χημειοκινών στις νεογνικές βακτηριακές λοιμώξεις.

Σκοπός της μελέτης

Σκοπός της μελέτης αυτής ήταν να διερευνήσει την μεταβολή των επιπέδων δύο α-χημειοκινών (GRO-a και ENA-78) και δύο β-χημειοκινών (RANTES και MIP-1a) σε πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά σαν αντίδραση σε ένα σηπτικό επεισόδιο.

Υλικό και μέθοδος

Μελετήθηκαν 129 νεογνά, πρόωρα και τελειόμηνα, τα οποία είχαν νοσηλευτεί στην Κλινική μας από τον Ιανουάριο 2003 έως και τον Δεκέμβριο 2006. Την ομάδα μελέτης αποτέλεσαν 71 νεογνά, με συμπτώματα και σημεία ενδεικτικά συστηματικής λοίμωξης ή νεκρωτικής εντεροκολίτιδας, τα οποία χρειάστηκαν πλήρη έλεγχο λοίμωξης και χορήγηση αντιβιοτικής αγωγής. Πενήντα οκτώ νεογνά που νοσηλεύτηκαν στην κλινική μας για ποικίλους άλλους λόγους, αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου. Για τη διερεύνηση διαφορών στην ανταπόκριση προώρων και τελειομήνων νεογνών στη λοίμωξη, ως προς την έκλυση χημειοκινών,

σχηματίστηκαν επιπλέον τέσσερις υποομάδες: ομάδα μελέτης Ι (42 τελειόμηνα νεογνά με λοίμωξη), ομάδα μελέτης ΙΙ (29 πρόωρα νεογνά με λοίμωξη), ομάδα ελέγχου Ι (38 τελειόμηνα νεογνά χωρίς λοίμωξη), ομάδα ελέγχου ΙΙ (20 πρόωρα νεογνά χωρίς λοίμωξη). Νεογνά με μείζονες συγγενείς ανωμαλίες, χρωμοσωμιακές ανωμαλίες και ενδογενείς διαταραχές μεταβολισμού αποκλείστηκαν από τη μελέτη.

Ως σηψαιμία ορίστηκε η διαπίστωση θετικής καλλιέργειας αίματος ή εγκεφαλονωτιαίου υγρού, σε συνδυασμό με συμβατά κλινικά ευρήματα. Σε περίπτωση αρνητικής καλλιέργειας αίματος, σηψαιμία διαγνώστηκε σε περίπτωση εργαστηριακών ευρημάτων ενδεικτικών λοίμωξης σε συνδυασμό με τουλάχιστον τρία κλινικά συμπτώματα, συμβατά με εικόνα σηψαιμίας.

Από τα νεογνά της μελέτης λήφθηκαν δύο δείγματα αίματος: το πρώτο κατά τον αρχικό εργαστηριακό έλεγχο, πριν την έναρξη της αντιβιοτικής αγωγής, και το δεύτερο, 3-5 ημέρες μετά την έναρξη της θεραπείας. Στα νεογνά της ομάδας ελέγχου, πάρθηκε ένα δείγμα, κατά την ένταξη τους στη μελέτη. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν άμεσα και ο ορός καταψύχθηκε στους -20 ^{o} C. Οι χημειοκίνες μετρήθηκαν με ανοσολογική μέθοδο.

Αποτελέσματα

Στη μελέτη εντάχθηκαν συνολικά 129 νεογνά . Τα 71 νεογνά (42 τελειόμηνα και 29 πρόωρα) αποτέλεσαν την ομάδα μελέτης και 58 νεογνά (38 τελειόμηνα και 20 πρόωρα) αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου. Οι ομάδες μελέτης και ελέγχου, τόσο των τελειομήνων όσο και των προώρων νεογνών ήταν ομοιογενείς ως προς το

βάρος γέννησης, την ηλικία κύησης, το φύλο και την ηλικία κατά την ένταξη στην μελέτη.

Τα επίπεδα της χημειοκίνης GRO-α βρέθηκαν σημαντικά υψηλότερα κατά την ημέρα εμφάνισης της σηψαιμίας στην ομάδα μελέτης, σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (433,8pg/ml έναντι 277pg/ml, p<0,001). Τα επίπεδα της χημειοκίνης RANTES ήταν σημαντικά χαμηλότερα στην ομάδα μελέτης την ημέρα 0, σε σχέση με τα αντίστοιχα επίπεδα των μαρτύρων (22445pg/ml έναντι 39490 pg/ml, p<0,001). Τα επίπεδα των χημειοκινών MIP-1a και ENA-78 δεν διέφεραν σημαντικά στις δύο ομάδες.

Τα επίπεδα των χημειοκινών GRO-α και RANTES στον ορό των νεογνών με σηψαιμία, την ημέρα 0, διέφεραν σημαντικά από τα αντίστοιχα επίπεδα την ημέρα 3-5, μετά την έναρξη της αντιβιοτικής αγωγής. Συγκεκριμένα, τα επίπεδα της GRO-α ήταν σημαντικά υψηλότερα (433,8pg/ml έναντι 218,2 pg/ml) και της RANTES σημαντικά χαμηλότερα την ημέρα 0 σε σχέση με την ημέρα 3-5 (22445pg/ml έναντι 46325pg/ml). Τα επίπεδα των χημειοκινών αυτών, την ημέρα 3-5, στα νεογνά με λοίμωξη, δεν διέφεραν σημαντικά από τα αντίστοιχα επίπεδα των μαρτύρων.

Οι συγκεντρώσεις των χημειοκινών GRO-α και RANTES και στις δύο υποομάδες μελέτης, των τελειομήνων και των προώρων, διέφεραν σημαντικά από τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις των αντίστοιχων μαρτύρων. Τα επίπεδα της χημειοκίνης RANTES στα πρόωρα νεογνά της ομάδας μελέτης ήταν σημαντικά χαμηλότερα από τα αντίστοιχα επίπεδα στα τελειόμηνα νεογνά με λοίμωξη, τόσο κατά την ημέρα 0 όσο και κατά την ημέρα 3-5. Τα επίπεδα των χημειοκινών GRO-a,

MIP-1a και ENA-78 δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ τελειομήνων και προώρων νεογνών.

Συμπέρασμα

Τα επίπεδα των χημειοκινών GRO-a και RANTES διαφέρουν σημαντικά, τόσο στα τελειόμηνα όσο και στα πρόωρα νεογνά με λοίμωξη, κατά την έναρξη ενός σηπτικού επισοδίου σε σχέση με τα υγιή νεογνά. Τόσο τα τελειόμηνα όσο και τα πρόωρα νεογνά έχουν την ικανότητα να εκλύουν μια χημειοτακτική αντίδραση στη λοίμωξη.

ABSTRACT

Neonatal sepsis is a life-threatening event affecting 3-5 neonates per 1000 live births. [1] Despite advances in neonatology, the threat of infection has not been eliminated, especially in preterm infants, leading to a substantial morbidity and mortality. [2,3] Neonatal susceptibility to infections is related to immature immunologic defense. [4] Recruitment of leucocytes to the site of pathogen invasion is an essential part of host's response to infection. [5] Chemotactic cytokines, collectively known as chemokines, appear to have the capacity to control the movement of leukocytes and are crucial elements in this process [5,6] Chemokines are members of a family of homologous proteins with molecular weights in the range of 8-12 kD [5,6], subdivided into four families on the basis of the relative position of their cysteine residues. [5]. The α- (CXC) and β- (CC) chemokines, which contain four cysteines, appear to be the largest families. α-Chemokines predominantly recruit neutrophils and β-chemokines attract lymphocytes, monocytes, eosinophils, basophils and natural killer cells. [6]

Chemotaxis is deficient in neonates, particularly those delivered prematurely, and this may contribute to their increased vulnerability to sepsis. [7] However the role of chemokines in neonatal infections, has not been extensively investigated, with the exception of IL-8. [8] Few studies have reported the neonatal chemokine response to infections. [9,10,11] Some chemokines (GRO-a, MCP-1, IP-10, and MIG) have been reported to be higher in infected than healthy neonates, while RANTES has been reported lower [9,10,11]. High levels of MIP-1α have been documented in

adults. [12] Other chemokines, including ENA-78, have not been measured in infected neonates.

Aim of the study

The aim of this study was to investigate the magnitude of two a- (GRO-a, ENA-78) and two β- chemokines (RANTES, MIP-1a) serum concentration in term and preterm septic neonates.

Materials and methods

From January 2003 through December 2006, one hundred and twenty nine neonates admitted to the Neonatology Department at Heraklion University Hospital were included in the study. Seventy-one term and preterm neonates with signs and symptoms suggestive of systemic infection or necrotizing enterocolitis (NEC), requiring full sepsis evaluation and antibiotic treatment formed the study group. Fifty eight neonates, admitted at our Department for miscellaneous reasons other than infection were the control group. In order to evaluate differences in chemokines concentrations between term and preterm neonates, four subgroups were further formed: study group I (42 term infected neonates), study group II (29 infected preterm neonates), control group I (38 non-infected term neonates) and control group II (20 non-infected premature neonates). Neonates with evidence of major congenital malformations, inborn errors of metabolism or chromosomal anomalies were excluded from the study.

Sepsis was defined when blood and/or cerebrospinal fluid cultures were positive along with supporting clinical findings. In case of negative blood culture,

sepsis was defined when laboratory findings suggestive infection were present in combination with at least three symptoms or signs, compatible with infection.

In the study group, two blood samples were obtained; the first, during sepsis evaluation, before initiation of antibiotic treatment and the second, after three to five days of initiation of treatment. In the control group, blood samples were obtained at the time of inclusion in the study. The blood samples were centrifugated and serum was separated and stored at -20°C until assay. Chemokine concentrations were determined by use of a commercially available immunoassay kit.

Results

Serum levels of Gro-a in the study group during infection were higher (433,8pg/ml vs 277pg/ml, p<0,001). Serum levels of RANTES in the study group were lower as compared to those of the control group (22445pg/ml vs 39490pg/ml, p<0,001). No significant difference was found in serum levels of MIP1-a and ENA-78.

Furthermore, levels of Gro-a and RANTES were significantly different at day 0 as compared to levels at day 3-5. Levels of Gro-a were higher (433,8pg/ml vs 218,2 pg/ml) and levels of RANTES were lower (22445pg/ml vs 46325pg/ml) at day 0 as compared to those of day 3-5. Chemokine serum concentrations on day 3-5 in the study group did not differ significantly as compared to those of the control group. (433,8pg/ml έναντι 277pg/ml, p<0,001).

Concentrations of GRO-1a and RANTES levels in subgroups of term and preterm stydy neonates were significantly different, as compared to their controls, while serum concentrations of ENA-78 and MIP-1a did not differ significantly between subgroups. RANTES serum levels of premature infants were significantly

lower, both on day 0 and day 3-5, in the study group, as compared to those of term neonates. GRO-a, ENA-78 and MIP1-a did not differ significantly between the two groups.

Conclusion

Our findings suggest up-regulation of GRO-1a and down-regulation of RANTES at the onset of a septic episode, similar to the response pattern observed in septic adults. Both term and preterm neonates seem to have the potential to elicit a chemotactic response to infection.

Ι. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΝΕΟΓΝΙΚΗ ΣΗΨΑΙΜΙΑ

Οι νεογνικές λοιμώξεις, παρά την βελτίωση στην μαιευτική και νεογνική φροντίδα, τα αυστηρά μέτρα για τον έλεγχο των λοιμώξεων στις νεογνικές μονάδες και την χρήση νέων αντιμικροβιακών φαρμάκων, εξακολουθούν να έχουν υπολογίσιμη συχνότητα και αυξημένη θνητότητα. Υπολογίζεται ότι ευθύνονται για περισσότερο από 1 εκατομμύριο θανάτους ετησίως και συμπεριλαμβάνονται στην πρώτη δεκάδα αιτιών νεογνικών θανάτων στις Ηνωμένες Πολιτείες.[1] Η επίπτωση των νεογνικών λοιμώξεων εξαρτάται από την ηλικία κύησης· τα πρόωρα νεογνά αποτελούν την πλέον ευάλωτη ομάδα, με την υψηλότερη νοσηρότητα και θνητότητα από λοιμώξεις, ανάμεσα στους παιδιατρικούς ασθενείς. [2]

1.1. Σήψη- Ορισμοί

Η εισβολή παθογόνων έχει σαν αποτέλεσμα την έκλυση μιας φλεγμονώδους αντίδρασης από μέρους του οργανισμού σε μια προσπάθεια εξουδετέρωσης του εισβολέα. Η φλεγμονώδης αντίδραση είναι μια εξαιρετικά σύνθετη αντίδραση στην οποία εμπλέκονται πληθώρα κυττάρων και ποικίλων προϊόντων γονιδίων (κυταρροκίνες, χημειοκίνες, παράγοντες πήξης, ανοσοενεργείς πρωτεΐνες) που λληλεπιδρούν μεταξύ τους και αλληλορυθμίζονται με πολύπλοκους μηχανισμούς. Παρόλο που ο κύριος εκλυτικός παράγοντας της αντίδρασης αυτής είναι η λοίμωξη, ωστόσο ενεργοποιείται και από ποικίλα άλλα αίτια, όπως το έγκαυμα και ο τραυματισμός.

Το 2002, το *International Consensus Conference on Pediatric Sepsis and Organ Dysfunction* καθόρισε ορισμούς και κριτήρια για το Σύνδρομο Συστηματικής Φλεγμονώδους Αντίδρασης (Systemic Inflammatory Response Syndrome, SIRS), τη σήψη, την σοβαρή σήψη και τη σηπτική καταπληξία.[3] Σύμφωνα με αυτό, ως **σύνδρομο συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης (SIRS)** ορίστηκε η παρουσία δύο τουλάχιστον από τα εξής: υποθερμία ή υπερθερμία, λευκοκυττάρωση ή λευκοπενία, ταχυκαρδία ή, για τα βρέφη κάτω του έτους, βραδυκαρδία, και ταχύπνοια, με απαραίτητη την παρουσία τουλάχιστον ενός από τα δύο πρώτα. Η κατάσταση αυτή είναι αποδεκτό ότι συνήθως προκαλείται από λοίμωξη, ωστόσο και άλλες καταστάσεις, όπως το τραύμα και το έγκαυμα, μπορούν επίσης να πυροδοτήσουν το σύνδρομο.

Σηψη: Ορίστηκε σαν αντίδραση SIRS που σχετίζεται με λοίμωξη, με βάση είτε μικροβιακές καλλιέργειες είτε ισχυρή κλινική ένδειξη.

Σοβαρή σήψη: Ορίστηκε η σήψη σε συνδυασμό με δυσλειτουργία οργάνων

Σηπτική καταπληξία: Ορίστηκε ως η σοβαρή σήψη σε συνδυασμό με δυσλειτουργία του καρδιοαγγειακού συστήματος

Παρόλο που στο *International Consensus Conference on Pediatric Sepsis and Organ Dysfunction* συμπεριλαμβάνονται κριτήρια για νεογνά, τα πρόωρα νεογνά εξαιρέθηκαν, καθότι η διάγνωση της σήψης στους μικρούς αυτούς ασθενείς είναι δύσκολη αφού τα συμπτώματα και τα σημεία πολλές φορές μπορεί να είναι ήπια και μη ειδικά και να συγχέονται ενίοτε, με φυσιολογικά σημεία ανωριμότητας, κατά την περίοδο προσαρμογής τους μετά τη γέννηση. Άλλοτε η κλινική εικόνα της

σήψης είναι προφανής με εμφάνιση σοβαρής αναπνευστικής δυσχέρειας, άπνοιας, κυάνωσης, υπότασης, βραδυκαρδίας, οξέωσης και λήθαργου. Ωστόσο, σε πολλές περιπτώσεις, η εμφάνιση μη ανοχής της σίτισης, η αυτόματα ανατασσόμενη βραδυκαρδία ή άπνοια, η υπεργλυκαιμία ή η ήπια ταχύπνοια ή ταχυκαρδία μπορεί να είναι η μόνη προειδοποίηση πριν εκδηλωθεί η ταχεία κλινική επιδείνωση του πρόωρου νεογνού στα πλαίσια της σήψης. [4,5,6] Για τον λόγο αυτό, σε περιπτώσεις αποδεδειγμένων περιπτώσεων σήψης, η κλινική υποψία φαίνεται ότι έχει σημαντική θετική προγνωστική αξία (>70%), υψηλότερη από πολλές εργαστηριακές εξετάσεις. [7,8]

1.2. Η φλεγμονώδης αντίδραση και η αντιφλεγμονώδης αντίδραση (SIRS και CARS)

Όταν ένας παθογόνος μικροοργανισμός διασπάσει τους αρχικούς φραγμούς του δέρματος και των βλεννογόνων, έρχεται σε επαφή με τα τοπικά κύτταρα-φρουρούς (μονοκύτταρα, μακροφάγα). Η αναγνώριση των μικροβίων από τους υποδοχείς των κυττάρων αυτών είναι το πρώτο βήμα στην ανάπτυξη της φλεγμονώδους αντίδρασης στην εισβολή παθογόνων. Η σύνδεση των υποδοχέων με μικροβιακά προϊόντα οδηγεί στην ενεργοποίηση των κυττάρων-φρουρών, με αποτέλεσμα την έκκριση διαφόρων μεσολαβητών της φλεγμονής που μεγεθύνουν την άνοση απάντηση. [9,10] Παράλληλα ενεργοποιούνται και τα ενδοθηλιακά κύτταρα στην περιοχή της φλεγμονής, κατάσταση που επίσης οδηγεί σε έκκριση κυτταροκινών, και άλλων μεσολαβητών, και διευκολύνει έτσι την εξαγγείωση και τη μετανάστευση λευκοκυττάρων στη θέση της φλεγμονής. Χωρίς ικανοποιητική συσσώρευση λευκοκυττάρων, αυξάνεται ο κίνδυνος μια τοπική λοίμωξη να εξελιχθεί σε συστηματική. [9] Τα ενεργοποιημένα μακροφάγα συνθέτουν και εκκρίνουν επίσης μια ακολουθία προφλεγμονωδών κυτταροκινών, χημειοκινών και άλλων μεσολαβητών που ενεργοποιούν τα ουδετερόφιλα να απελευθερώσουν πρωτεολυτικά ένζυμα και ενεργούς μεταβολίτες οξυγόνου και αζώτου. Οι ουσίες αυτές μπορούν να θανατώσουν τα παθογόνα αλλά και να προκαλέσουν βλάβη στους ιστούς και στο ενδοθήλιο και να προάγουν την διαφυγή μέσω τριχοειδών [11] Η αλληλουχία αυτή της φλεγμονώδους αντίδρασης περιορίζεται από την έναρξη αντίθετων, ρυθμιστικών μηχανισμών, οι οποίοι εκλύονται από τα ίδια προφλεγμονώδη μόρια που ξεκινούν και τη φλεγμονώδη αλληλουχία

αντιδράσεων.[12,13] Οι βασικοί μεσολαβητές της αντι-φλεγμονώδους αντίδρασης είναι η ιντερλευκίνη-10 και ο transforming-growth-factor-β (TGF-β). Οι μηχανισμοί αυτοί είναι εξίσου σημαντικοί καθότι ελέγχουν και μειώνουν την ένταση της φλεγμονώδους αντίδρασης και εξασφαλίζουν ότι τα αποτελέσματα της δεν θα είναι καταστρεπτικά για τον ίδιο τον οργανισμό. Διαταραχή της λεπτής ισορροπίας των δύο αυτών μηχανισμών οδηγεί σε μια ανεξέλεγκτης έντασης φλεγμονώδη αντίδραση με αποτέλεσμα τη σοβαρή δυσλειτουργία οργάνων.[9] Φαίνεται ότι στα νεογνά, τόσο η λειτουργία των πολυμορφοπυρήνων ρυθμίζεται ελλιπώς, σε σχέση με τους ενήλικες, όσο και η αντιρροπιστική αυτή αντίδραση (CARS) είναι μειωμένης έντασης. [9,14] Συγκεκριμένα, τα πολυμορφοπύρηνα παρουσιάζουν καθυστερημένη απόπτωση και παρατεταμένη ενεργοποίηση και κυτταροτοξική λειτουργία. [15,16,17] Από την άλλη, τόσο στα πρόωρα όσο και στα τελειόμηνα, έχει διαπιστωθεί μειωμένη παραγωγή IL-10 και TGF-β, που είναι οι βασικοί μεσολαβητές της αντι-φλεγμονώδους αντίδρασης. [14] Η ανωριμότητα αυτή των μηχανισμών ρύθμισης της έντασης της φλεγμονώδους αντίδρασης ευθύνεται πιθανόν για την εμφάνιση καταστρεπτικών αποτελέσματων των προφλεγμονωδών κυτταροκινών στον οργανισμό τους κατά τη διάρκεια της σήψης, και για την αύξηση της νοσηρότητας και της θνησιμότητας της νόσου, σε σχέση με τους ενήλικες και τα μεγαλύτερα παιδιά. [14]

1.3. Πρώϊμη και όψιμη νεογνική σηψαιμία

Νεογνική σηψαιμία (*Sepsis neonatorum*) ορίζεται η βακτηριαιμία που συνοδεύεται από αιμοδυναμική διαταραχή (compromise) και συστηματικά σημεία λοίμωξης. Ο όρος **κλινική σήψη** χρησιμοποιείται για να δηλώσει την ισχυρή υποψία σήψης με βάση σοβαρά κλινικά συμπτώματα ή παθολογικά εργαστηριακά ευρήματα, με αρνητική καλλιέργεια αίματος.[18]

Η νεογνική σηψαιμία ταξινομείται σε τρεις σχετικά διακριτές οντότητες, ανάλογα με τον χρόνο εμφάνισης της νόσου σε σχέση με τη γέννηση:

Πρώιμη νεογνική σηψαιμία (early onset) που εκδηλώνεται μέσα στην πρώτη εβδομάδα της ζωής (κατ' άλλους τις πρώτες 72 ώρες) και είναι μια κεραυνοβόλος πολυσυστηματική λοίμωξη, με υψηλότερη θνητότητα από την όψιμη σηψαιμία. Το όριο των τριών ημερών χρησιμοποιείται συνήθως σε επιδημιολογικές μελέτες.

Όψιμη νεογνική σηψαιμία (late onset) που εκδηλώνεται μετά την πρώτη εβδομάδα ζωής (ή μετά τις πρώτες 72 ώρες) και είναι μια αργά εξελισσόμενη νόσος με εστιακή εντόπιση, συνήθως μηνιγγίτιδα.

Η επιβίωση πολύ μικρών προώρων νεογνών δημιούργησε μια ακόμα κατηγορία νεογνικής σηψαιμίας, την **απώτερη όψιμη σηψαιμία (late late onset)** που εκδηλώνεται μετά τον τρίτο μήνα σε πολύ ανώριμα νεογνά που νοσηλεύονται ακόμα σε Μονάδες Εντατικής Νοσηλείας και σχετίζεται με παρατεταμένη διασωλήνωση ή παραμονή αγγειακών γραμμών.[19]

Η διάκριση είναι σημαντική καθότι οι τρεις οντότητες έχουν διαφορετική κλινική εικόνα και οφείλονται σε διαφορετικούς παθογόνους μικροοργανισμούς, με αποτέλεσμα να διαφέρει η εμπειρική αντιμικροβιακή αγωγή. Η πρώιμη σηψαιμία σχετίζεται με μητρικούς παράγοντες κινδύνου και μόλυνση από τον γεννητικό σωλήνα, ενώ η όψιμη σηψαιμία σχετίζεται με λοίμωξη από παθογόνα του περιβάλλοντος (νοσοκομειακού ή της κοινότητας). Η απώτερη όψιμη σηψαιμία οφείλεται συχνά σε είδη Candida ή σε κοαγκουλάση-αρνητικούς σταφυλοκόκκους. [18] (Πίνακας Ι)

	Πρώιμη σηψαιμία	**Όψιμη σηψαιμία**	**Απώτερη όψιμη σηψαιμία**
Επιπλοκές τοκετού	Συχνά παρούσες	Συνήθως απούσες	Ποικίλει
Μετάδοση	Κάθετη- Μικροοργα-νισμοί συνήθως από τον γεννητικό σωλήνα	Κάθετη ή από το περιβάλλον	Από το περιβάλλον
Κλινικές εκδηλώσεις	Βαρειά κεραυνοβόλος πορεία, πολυσυστημα-τική, συχνά πνευμονία	Έρπουσα (insidious),εστιακή λοίμωξη, συχνά μηνιγγίτιδα	Έρπουσα
Θνητότητα	5-20%	5%	Χαμηλή

Πίνακας Ι: Χαρακτηριστικά της νεογνικής σηψαιμίας (Τροποποιημένο από [19])

Η επίπτωση της νεογνικής σηψαιμίας κυμαίνεται από 1 έως 5 περιπτώσεις ανά 1000 γεννήσεις ζώντων νεογνών. Ειδικότερα για την πρώιμη σηψαιμία, η επίπτωση στα τελειόμηνα νεογνά είναι 1-2 ανά 1000 ζώντα νεογνά, ενώ στα πρόωρα, είναι 10 φορές υψηλότερη. [10] Αν περιοριστούμε στα νοσηλευόμενα σε μονάδα εντατικής νοσηλείας νεογνά, η συχνότητα της νεογνικής σηψαιμίας κυμαίνεται από 25% έως 50%. [5,20]

Στην προ των αντιβιοτικών εποχή η νεογνική σηψαιμία ήταν θανατηφόρος νόσος. Σήμερα, με την ανάπτυξη αντιμικροβιακών φαρμάκων και την εξέλιξη στην υποστηρικτική νεογνική φροντίδα, η θνητότητα υπολογίζεται σε 5-20% για την πρώιμη και σε 5% για την όψιμη σηψαιμία.[19]

Παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση σηψαιμίας αποτελούν, από την πλευρά της μητέρας, η ρήξη εμβρυικών υμένων περισσότερο από 24 ώρες πριν την γέννηση, η χοριοαμνιονίτιδα, ο αποικισμός του κόλπου με στρεπτόκοκκο ομάδας Β και ο πυρετός κατά τον τοκετό. Από την πλευρά του νεογνού, παράγοντες κινδύνου είναι το άρρεν φύλο, το πολύ χαμηλό (<1000 γρ.) βάρος γέννησης, η προωρότητα καθώς και συνήθεις ιατρικές παρεμβάσεις που σχετίζονται με αυτήν, όπως η διασωλήνωση, ο μηχανικός αερισμός και η παραμονή κεντρικών αγγειακών καθετήρων. [19]

Τα κυριότερα παθογόνα της πρώιμης σηψαιμίας είναι ο στρεπτόκοκκος της ομάδας Β και η Escherichia coli. Στην όψιμη σηψαιμία κυριαρχούν οι gram θετικοί κόκκοι (Staphylococcus aureus και epidermidis) που ευθύνονται για το 60-70% των περιπτώσεων όψιμης σηψαιμίας σε νοσηλευόμενα νεογνά, ενώ μικρότερο ποσοστό

σηψαιμιών οφείλεται σε gram αρνητικούς βάκιλους και μύκητες, συνήθως Candida. [21]

Καθοριστικό παράγοντα τόσο για την αποτροπή εισβολής παθογόνων στον οργανισμό, όσο και για την αντιμετώπισή τους σε περίπτωση εισβολής, αποτελεί το ανοσοποιητικό σύστημα. Τα νεογνά και ιδιαίτερα τα πρόωρα, παρουσιάζουν ανωριμότητα στην λειτουργία του ανοσοποιητικού τους συστήματος, γεγονός που ευθύνεται για την αυξημένη επίπτωση της νεογνικής σηψαιμίας καθώς και την αυξημένη θνητότητα. [20,22,23] Για τις συνιστώσες του ανοσοποιητικού συστήματος ιδιαίτερα στη νεογνική ηλικία, θα αναφερθούμε με λεπτομέρειες στη συνέχεια.

2. ΤΟ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Η ανοσοποιητική αντίδραση είναι γνωστό ότι διακρίνεται σε δύο κατηγορίες:

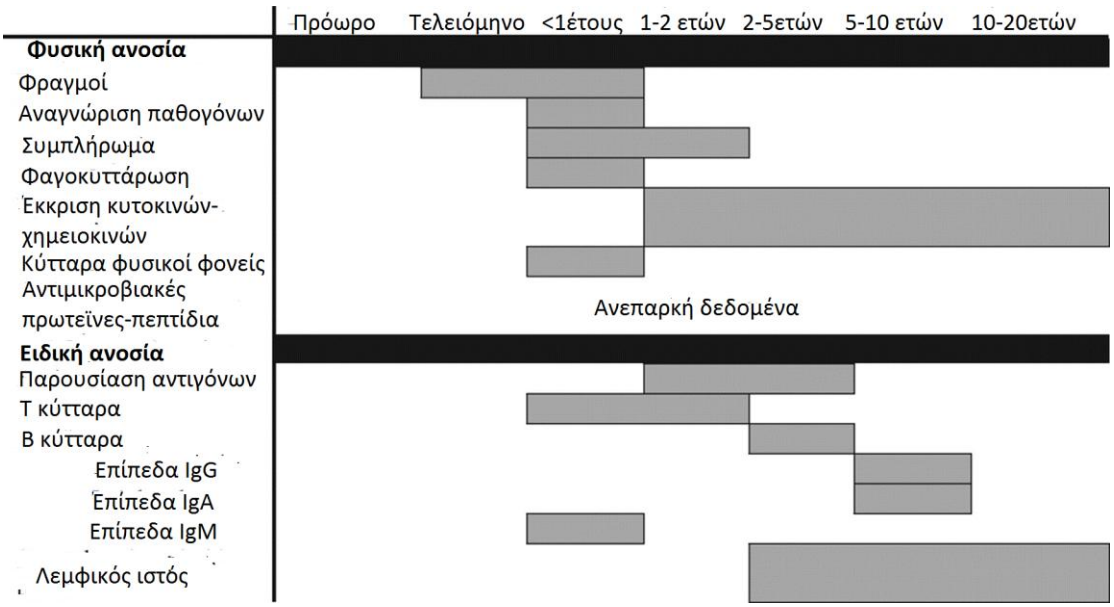
Α) **την έμφυτη, μη ειδική ανοσία** (innate immunity) που αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας στη λοίμωξη και περιλαμβάνει όλους τους αμυντικούς μηχανισμούς που λειτουργούν αποτελεσματικά χωρίς να έχει προηγηθεί έκθεση σε ένα μικροοργανισμό ή τα αντιγόνα του. Περιλαμβάνει τους φυσικούς φραγμούς (δέρμα και βλεννογόνοι), τους χημικούς φραγμούς (γαστρικό οξύ, πεπτικά ένζυμα), τα φαγοκύτταρα, που αποτελούν την πρώτη γραμμή άμυνας στους μικροοργανισμούς που υπερπηδούν τους αρχικούς φραγμούς, καθώς και τις διαλυτές πρωτεΐνες του πλάσματος και των ιστών που ενισχύουν τη λειτουργία των φαγοκυττάρων. [10,11]

Β) **την προσαρμοζόμενη, ειδική ανοσία** (adaptive immunity) που περιλαμβάνει το σύστημα της κυτταρικής ανοσίας (Τ λεμφοκύτταρα) και το σύστημα της χυμικής ανοσίας (Β λεμφοκύτταρα και ανοσοσφαιρίνες).[10,11]

Τόσο η έμφυτη όσο και η ειδική ανοσία είναι απαραίτητες σε ένα οργανισμό ώστε να είναι ανοσοεπαρκής, και είναι αλληλένδετες και αλληλοεξαρτώμενες. Για παράδειγμα, τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα είναι βασικά κύτταρα της έμφυτης ανοσίας αλλά έχουν και σημαντικό ρόλο στην επεξεργασία και παρουσίαση των μικροβιακών αντιγόνων στα Τ λεμφοκύτταρα της ειδικής ανοσίας.[11] Στη νεογνική ηλικία, έχουν διαπιστωθεί σημαντικά ελλείμματα σε σχέση με τα ανοσοεπαρκή ώριμα άτομα, που αφορούν τόσο την φυσική όσο και την προσαρμοζόμενη ανοσία. Τα ελλείμματα αυτά είναι μεγαλύτερα στα πρόωρα νεογνά που είναι και τα πλέον ευάλωτα στη σήψη. Το ανοσοποιητικό σύστημα στη νεογνική ηλικία θα περιγραφεί αναλυτικά παρακάτω.

2.1. Το ανοσοποιητικό σύστημα στη νεογνική ηλικία

Είναι γνωστό ότι η επίτευξη ανοσίας, προστασίας δηλαδή από επαναλοίμωξη, προϋποθέτει μια απάντηση σε ένα αντιγονικό ερεθισμό κατά τη διάρκεια της αρχικής λοίμωξης. Η ώριμη ανοσολογική απάντηση επιτυγχάνεται τελικά μέσω συσσωρευτικών προσαρμογών που προκαλούνται από την συνεχή έκθεση σε μια μεγάλη δεξαμενή ξένου αντιγονικού υλικού. Καθώς το ενδομήτριο εμβρυικό περιβάλλον είναι ελεύθερο παθογόνων μικροοργανισμών, το αμυντικό σύστημα των νεογνών είναι εντελώς άπειρο και ανέτοιμο, γεγονός που ευθύνεται εν μέρει για την μεγάλη ευαισθησία τους στις λοιμώξεις κατά τις πρώτες εβδομάδες της ζωής. [11] Επιπρόσθετα, παρόλο που πολλές συνιστώσες του ανοσολογικού συστήματος είναι παρούσες νωρίς στην εμβρυική ζωή, ωστόσο είναι ανώριμες και γίνονται πλήρως λειτουργικές αργότερα, κάποιο διάστημα μετά τη γέννηση.[10,11,22] (Πίνακας ΙΙ)



Πίνακας ΙΙ: Χρόνος απόκτησης ώριμης λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος. (Τροποποιημένο από [4])

Οι βασικές συνιστώσες της αντίδρασης του νεογνού σε βακτηριδιακή λοίμωξη και το επίπεδο λειτουργικότητάς τους φαίνονται συνοπτικά στο πίνακα ΙΙΙ και στη συνέχεια περιγράφονται αναλυτικότερα.

ΣΥΝΙΣΤΩΣΑ	ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ	ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΣΤΟ ΝΕΟΓΝΟ	ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ
Συμπλήρωμα	Οψωνινοποίηση Χημειτακτική λειτουργία	Μειωμένα επίπεδα συμπληρώματος ιδιαίτερα στα πρόωρα	Μειωμένη παραγωγή χημειοτακτικών παραγόντων, μειωμένη οψωνινοποίηση βακτηριδίων
Αντισώματα	Οψωνινοποίηση, ενεργοποίηση συμπληρώματος	Μειωμένες συγκεντρώσεις IgG στα πρόωρα Απουσία IgA από τις εκκρίσεις	Έλλειψη αντισωμάτων σε ειδικά παθογόνα και ↑ κίνδυνος λοίμωξης ↑ κίνδυνος αποικισμού βλεννογόνων με δυνητικά παθογόνα
Ουδετερόφιλα	Χημειοταξία Φαγοκυττάρωση Θανάτωση βακτηριδίων	Διαταραχή μετανάστευσης, διαταραχή σύνδεσης σε χημειοτακτικούς παράγοντες Φυσιολογική Φυσιολογική στα υγιή νεογνά, μειωμένη σε νεογνά με stress	↓φλεγμονώδης αντίδραση αδυναμία περιορισμού λοίμωξης
Μονοκύτταρα	Χημειοταξία Φαγοκυττάρωση Θανάτωση βακτηριδίων	Μειωμένη Αντιφατική Αντιφατική	↓φλεγμονώδης αντίδραση Αβέβαιη Αβέβαιη

Πίνακας ΙΙΙ. Ανοσολογική απάντηση του νεογνού σε βακτηριακές λοιμώξεις (Τροποποιημένο από [19])

2.1.Α. Η προσαρμοζόμενη, ειδική ανοσία στη νεογνική ηλικία

Η ειδική ανοσία στα νεογνά και ιδιαίτερα στα πρόωρα είναι ιδιαίτερα μειονεκτική. Η λειτουργία των Τ λεμφοκυττάρων είναι ελλειμματική· τα βοηθητικά Τ2-λεμφοκύτταρα δεν παράγουν επαρκείς ποσότητες κυταρροκινών, το απαιτούμενο ερέθισμα που απαιτείται για τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίησή τους είναι σημαντικά μεγαλύτερο, η κυτταροτοξική λειτουργία των CD-8 Τ λεμφοκυττάρων είναι μειωμένη. Τα Β-λεμφοκύτταρα παρουσιάζουν επίσης μειονεκτική λειτουργία· η παραγωγή ανοσοσφαιρινών δεν είναι επαρκής, τα Β λεμφοκύτταρα εκκρίνουν κυρίως IgM ανοσοσφαιρίνες, η αντισωματική απάντηση σε πολυσακχαριδικά αντιγόνα είναι πτωχή, η ενεργοποίηση των Β λεμφοκυττάρων από Τ- λεμφοκύτταρα είναι ανεπαρκής. Τα επίπεδα της IgG ανοσοσφαιρίνης φτάνουν αυτά του ενήλικα περίπου 3 με 4 μήνες από τη γέννηση· τα επίπεδα της ανοσοσφαιρίνης Μ είναι ανάλογα με αυτά του ενήλικα, ένα με δύο χρόνια από τη γέννηση, ενώ της ανοσοσφαιρίνης Α, κοντά στην εφηβεία.[11] Κατά τη γέννηση, το μεγαλύτερο μέρος των αντισωμάτων στον ορό του νεογνού αποτελούν IgG αντισώματα που έχουν περάσει από την κυκλοφορία της μητέρας δια μέσου του πλακούντα. Η διαπλακουντιακή αυτή μεταφορά αρχίζει μετά την 20^{η} εβδομάδα κύησης και παρουσιάζει σταδιακή αύξηση όσο πλησιάζει το τέλος της κύησης. Κατά συνέπεια τα πρόωρα νεογνά έχουν χαμηλότερα επίπεδα ανοσοσφαιρίνης G σε σχέση με τα τελειόμηνα. Η ελλιπής παθητική ανοσία που αποκτούν στην εμβρυική ζωή τα πρόωρα νεογνά φαίνεται να σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης όψιμης σηψαιμίας. Σημαντικό παράγοντα εξάλλου στην μη ικανοποιητική

λειτουργία της προσαρμοζόμενης ανοσίας στη νεογνική ηλικία αποτελεί η περιορισμένη προηγηθείσα έκθεση σε αντιγόνα πριν τη γέννηση. [10,11,19]

Παρόλο που η συμβολή της προσαρμοζόμενης ανοσίας στην αντιμετώπιση της νεογνικής σηψαιμίας δεν έχει πλήρως καθοριστεί, τα αποτελέσματα σε πειραματόζωα δείχνουν ότι, στη νεογνική ηλικία, βαρύνουσα σημασία για την καταπολέμηση των λοιμώξεων έχει η φυσική ανοσία. Συγκεκριμένα, νεογέννητα διαγονιδιακά ποντίκια χωρίς προσαρμοζόμενη ανοσία δεν είχαν διαφορά στην επιβίωση μετά από σήψη, σε σχέση με τα άγρια νεογέννητα ποντίκια, αντίθετα με ό,τι διαπιστώνεται σε ενήλικα πειραματόζωα. [24]

Κατά συνέπεια η άμυνα του νεογνού, και ιδιαίτερα του προώρου, βασίζεται κυρίως στο έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα, το οποίο θα αναφερθεί λεπτομερέστερα.

2.1.Β. Το έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα στη νεογνική ηλικία

1. **Οι μηχανικοί φραγμοί** (βλεννογόνοι και δέρμα): Η λειτουργία του δέρματος ως φραγμού βελτιώνεται από το σμήγμα που καλύπτει το δέρμα των τελειόμηνων και όψιμων πρόωρων νεογνών (late preterm). Ωστόσο, το σμήγμα αυτό απουσιάζει στα πρόωρα νεογνά, ιδιαίτερα σε αυτά με ηλικία κύησης κάτω των 28 εβδομάδων. Επιπλέον, η κεράτινη στοιβάδα του δέρματος είναι ανώριμη και ατελώς ανεπτυγμένη στα πρόωρα και απαιτείται χρονικό διάστημα 1 με 2 εβδομάδων μετά τη γέννηση για να γίνει πλήρως λειτουργική, με αποτέλεσμα την επίταση της δυσλειτουργίας του δέρματος ως φραγμού. [25,26] Η παρουσία ενδοφλέβιων

καθετήρων, στην μονάδα εντατικής νοσηλείας, αυξάνει περαιτέρω τον κίνδυνο μικροβιακής εισβολής μέσω του δέρματος.

Η λειτουργία των βλεννογόνων του αναπνευστικού και του γαστρεντερικού συστήματος στα νεογνά διαταράσσεται συχνά από παράγοντες όπως η έλλειψη επιφανειοδραστικού παράγοντα, ο μηχανικός αερισμός, η διαταραχή στην παραγωγή βλέννης, η χορήγηση αντιβιοτικών, η υποξία. Επιπρόσθετα υπάρχει λειτουργική ανωριμότητα των αντιμικροβιακών πεπτιδίων και πρωτεϊνών στο αναπνευστικό επιθήλιο, ιδιαίτερα στα πρόωρα νεογνά. [10,25]

2. **Συστήματα αναγνώρισης παθογόνων μικροοργανισμών**: Για να αναπτυχθεί η άνοση απάντηση από τα κύτταρα-φρουρούς (μακροφάγα, ενδοθηλιακά και επιθηλιακά κύτταρα, πολυμορφοπύρηνα, δενδριτικά κύτταρα) είναι απαραίτητη προϋπόθεση η αναγνώριση των παθογόνων μικροοργανισμών ή της παρουσίας ιστικής βλάβης. Ειδικευμένοι υποδοχείς (PRRs: Pattern Recognition Receptors) στην επιφάνεια και το κυτταρόπλασμα των κυττάρων του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος αναγνωρίζουν **τα μοριακά πρότυπα των παθογόνων** (PAMPs: Pathogen-associated molecular patterns), όπως στοιχεία του κυτταρικού τους τοιχώματος, φλαγγελίνη, νουκλεϊνικά οξέα, καθώς και τα **μοριακά πρότυπα ιστικής βλάβης/κινδύνου** (DAMPs: Damage/danger-associated moleculat patterns), όπως κυττοκίνες, ενδοκυττάριες πρωτεΐνες ή μεσολαβητές που απελευθερώνονται από νεκρά ή κατεστραμμένα κύτταρα. Παραδείγματα τέτοιων υποδοχέων είναι οι Toll-like υποδοχείς (TLRs), οι nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like υποδοχείς και οι ιντεγκρίνες. [26,27]

Η ενεργοποίηση των Toll-like υποδοχέων έχει σαν αποτέλεσμα την παραγωγή κυττοκινών, χημειοκινών και πρωτεϊνών του συστήματος πήξης και του συμπληρώματος καθώς και την έναρξη των αντιμικροβιακών μηχανισμών συμπεριλαμβανομένης και της διαδικασίας της φαγοκυττάρωσης. Υπάρχουν περισσότεροι από 10 Toll-like υποδοχείς στον άνθρωπο και έχουν κύριο ρόλο στην αναγνώριση και απάντηση στα παθογόνα. Κάθε Toll-like υποδοχέας (TLR) συνδέεται με συγκεκριμένα μόρια. Ο λιποσακχαρίτης των gram-αρνητικών μικροβίων αναγνωρίζεται κυρίως από τον TLR4. Ο TLR2 αναγνωρίζει το λιποτειχοϊκό οξύ των gram-θετικών μικροβίων, ενώ το δίκλωνο RNA των ιών αναγνωρίζεται κυρίως από τον TLR3. [9] Η βασική έκφραση των υποδοχέων αυτών φαίνεται ανάλογη στα μονοκύτταρα ομφαλίου λώρου τελειόμηνων νεογνών και σε ενήλικες και αυξάνεται ανάλογα με την ηλικία κύησης. [10,28]

Άλλος σημαντικός υποδοχέας στα νεογνά είναι ο υποδοχέας β2-ιντεγκρινών τύπου 3 (CR3) που λειτουργεί σαν αισθητήρας παθογόνων στην επιφάνεια των φαγοκυττάρων παράλληλα με τον ρόλο του στη σύνδεση του συμπληρώματος. Η δέσμευση του CR3 στα πολυμορφοπύρηνα ενεργοποιεί την παραγωγή ενεργών μεταβολιτών οξυγόνου και τη φαγοκυττάρωση. Έχει διαπιστωθεί μειωμένη έκφραση της L-σελεκτίνης και του CR3 στα διεγερμένα νεογνικά πολυμορφοπύρηνα, γεγονός που δυσχεραίνει την ενεργοποίηση των πολυμορφοπυρήνων και μονοκυττάρων και την συσσώρευσή τους στην περιοχή της φλεγμονής. [29,30] Η μειωμένη αυτή έκφραση παραμένει τουλάχιστον τον πρώτο μήνα ζωής στα τελειόμηνα νεογνά συμβάλλοντας πιθανόν σε αύξηση του κινδύνου λοίμωξης.[31] Η ανεπάρκεια αυτή είναι σημαντικότερη στα πρόωρα νεογνά. [32]

3. **Κυτταρικά στοιχεία της έμφυτης ανοσίας**: Ο πλέον αρχέγονος μηχανισμός άμυνας περιλαμβάνει την φαγοκυττάρωση και θανάτωση των μικροοργανισμών από τα φαγοκύτταρα (μονοκύτταρα, μακροφάγα και πολυμορφοπύρηνα). Τα κύτταρα φυσικοί φονείς (natural killer cells) αποτελούν επίσης σημαντικές συνιστώσες της έμφυτης ανοσίας με μη φαγοκυτταρικούς μηχανισμούς.

Α) Κύτταρα αντιγονοπαρουσιαστές: Αφού διαπεράσουν τους φραγμούς, οι εισβάλοντες παθογόνοι μικροοργανισμοί έρχονται σε επαφή με τα κύτταρα φρουρούς του ανοσοποιητικού συστήματος, μονοκύτταρα, μακροφάγα, δενδριτικά κύτταρα. Τα κύτταρα αυτά, αφού ανιχνεύσουν τους μικροοργανισμούς με τη βοήθεια των υποδοχέων τους, ενισχύουν την τοπική συσσώρευση κυττάρων μέσω παραγωγής μεσολαβητών της φλεγμονής (κυττοκίνες, χημειοκίνες, συμπλήρωμα, παράγοντες πήξης), φαγοκυτταρώνουν και θανατώνουν τα παθογόνα και παρουσιάζουν τα ξένα αντιγόνα στα κύτταρα του ειδικού ανοσοποιητικού συστήματος. Η αρχική ανίχνευση των παθογόνων και η έμφυτη αντίδραση των κυττάρων-αντιγονοπαρουσιαστών είναι καθοριστική για την ανάπτυξη μιας αποτελεσματικής άνοσης απάντησης. [10,11]

Στα νεογνά οι αντιδράσεις μετά τη διέγερση των υποδοχέων των μονοκυττάρων είναι γενικά μειωμένες σε σχέση με τους ενήλικες.[10,33] Η παρουσίαση, στα κύτταρα του ειδικού ανοσοποιητικού συστήματος, των ξένων επιτόπων από τα κύτταρα- αντιγονοπαρουσιαστές είναι λιγότερο αποτελεσματική. Επιπρόσθετα, η φαγοκυτταρική και χημειοτακτική λειτουργία των μονοκυττάρων είναι επίσης

μειωμένη κατά τη διάρκεια της νεογνικής σηψαιμίας σε σχέση με τους ενήλικες και σε σχέση με την αντίστοιχη λειτουργία σε υγιή νεογνά. [34,35] Τα νεογνικά μακροφάγα εξάλλου, που παίζουν σημαντικό ρόλο στην ενίσχυση της άνοσης απάντησης με την παραγωγή κυττοκινών, χημειοκινών, τη φαγοκυττάρωση και την παρουσίαση των αντιγόνων στα Τ λεμφοκύτταρα, παρουσιάζουν μειωμένη ανταπόκριση στην σύνδεση των υποδοχέων TLR και στην ιντερφερόνη-γ ενώ, κατά τη λοίμωξη, παρουσιάζουν μειωμένη παραγωγή ενεργών μεταβολιτών αζώτου. [9,10,15]

Β) Ουδετερόφιλα Πολυμορφοπύρηνα: είναι τα πιο αποτελεσματικά φαγοκύτταρα στην άμυνα του ξενιστή. Τα νεογνικά ουδετερόφιλα παρουσιάζουν τόσο ποσοτικές όσο και ποιοτικές μειονεξίες σε σχέση με τους ενήλικες. [10,11] Ενεργοποιούνται και αυξάνουν σε αριθμό κατά τη σηψαιμία και στα πρόωρα και στα τελειόμηνα νεογνά, ωστόσο τα αποθέματα ώριμων ουδετεροφίλων στον μυελό των οστών εξαντλούνται γρήγορα με αποτέλεσμα την απελευθέρωση στην κυκλοφορία άωρων μορφών.[36,37,38] Παράλληλα η διαδικασία της συσσώρευσης ουδετεροφίλων και η εξαγγείωση τους στην περιοχή της φλεγμονής είναι λιγότερο αποτελεσματική στη νεογνική ηλικία και συμβάλλει πιθανόν στην αυξημένη ευαισθησία των νεογνών στις λοιμώξεις. Τα νεογνά παρουσιάζουν μειωμένη βασική χημειοταξία και τυχαία μετανάστευση που επιτείνεται σε νεογνά με σήψη. Παρουσιάζουν επίσης μειωμένη έκφραση ή μειωμένη αύξηση (up-regulation) των επιφανειακών μορίων προσκόλλησης κατά τη σήψη με αποτέλεσμα τον περιορισμό της κίνησής τους και της διαπίδυσης και μειωμένη συγκέντρωση ικανού αριθμού ουδετεροφίλων στην περιοχή μικροβιακής εισβολής. Η ικανότητα φαγοκυττάρωσης καθώς και η

μικροβιοκτόνος ικανότητά τους σε συνθήκες stress είναι μειωμένη, τόσο στα πρόωρα όσο και στα τελειόμηνα νεογνά. [39,40] Η αποκοκκίωση τους είναι μειωμένη σε σχέση με τους ενήλικες.

Καθότι σχετίζονται με το αντικείμενο της παρούσας μελέτης, η παραγωγή και η κυκλοφορία τους σε ηρεμία και σε περιπτώσεις λοίμωξης, οι λειτουργίες και οι μικροβιοκτόνοι μηχανισμοί τους καθώς και οι ιδιαιτερότητες που εμφανίζουν στη νεογνική ηλικία θα αναπτυχθούν με λεπτομέρειες παρακάτω.

Γ) Μαστοκύτταρα: Συμμετέχουν στην άνοση απάντηση με παραγωγή αγγειοδραστικών ουσιών και κυτοκινών, φαγοκυττάρωση και παρουσίαση αντιγόνων.

4. Μη κυτταρικά στοιχεία της έμφυτης ανοσοαπάντησης

Α) Συμπλήρωμα: οι λειτουργίες του συμπληρώματος είναι η οψωνινοποίηση και εξουδετέρωση (neutralization) των παθογόνων μικροοργανισμών, η τροποποίηση του αγγειακού τόνου για να διευκολυνθεί η συσσώρευση και η ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων, η έναρξη του μηχανισμού της πήξης και η παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών. [41] Η εναλλακτική οδός είναι η κύρια οδός ενεργοποίησης του συμπληρώματος στα πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά και παρουσιάζει μειονεκτική λειτουργικότητα σε σχέση με τους ενήλικες. [42,43]

Β) Κυτοκίνες και χημειοκίνες: Η ενεργοποίηση και η μεγέθυνση της ανοσολογικής κυτταρικής απάντησης εξαρτάται και από την παραγωγή κυτοκινών και χημειοκινών

μετά την ενεργοποίηση των υποδοχέων. Η IL-1β, η IL -6, η IL-12, η IL-18, η ιντερφερόνη-γ και ο παράγοντας νέκρωσης όγκων α (TNF-α) είναι οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες που αυξάνονται κατά την νεογνική σηψαιμία. [8,10] Ωστόσο η παραγωγή κυτταροκινών είναι μειωμένη σε σύγκριση με τους ενήλικες. Οι χημειοκίνες και ο ρόλος τους στη νεογνική σηψαιμία αναφέρονται λεπτομερέστερα παρακάτω.

Γ) Πρωτεΐνες (reactants) οξείας φάσης: Η παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών στην αρχική φάση της λοίμωξης οδηγεί στην αυξημένη ηπατική παραγωγή των πρωτεϊνών οξείας φάσης. Η κύρια λειτουργία τους είναι να μειώσουν το μικροβιακό φορτίο μέσω αύξησης της συσσώρευσης των κυτταρικών στοιχείων της έμφυτης ανοσίας, με την οψωνινοποίηση και μέσω άμεσης αντιμικροβιακής δράσης. [10] Τέτοιες πρωτεΐνες είναι η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, το αμυλοειδές Α, η φιμπρονεκτίνη, η πρωτεϊνη που δεσμεύει λιποπολυσακχαρίτη (Lipopolysaccharide-binding protein, LBP). Οι πρωτεΐνες αυτές έχουν κυρίως μελετηθεί στα νεογνά ως διαγνωστικά εργαλεία για τη σήψη και έχει διαπιστωθεί αύξηση των συγκεντρώσεων της CRP και της LBP, κατά την πρώιμη νεογνική σηψαιμία. [10,44] Ωστόσο, παρά την αύξηση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών αυτών και την παρουσία μητρικών αντισωμάτων στον ορό των νεογνών, η ικανότητα τους για οψωνινοποίηση είναι μειωμένη σε σύγκριση με τους ενήλικες. [10,45]

Ε) Αντιμικροβιακές πρωτεϊνες και πεπτίδια: Αποτελούν το αρχαιότερο φυλογενετικά μέσο έμφυτης άνοσης απάντησης και υπάρχουν σε σχεδόν όλους τους οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένων των μικροβίων, των φυτών και των εντόμων. Έχουν την ικανότητα να θανατώνουν διαφόρων ειδών παθογόνα, όπως

ιούς, βακτηρίδια, παράσιτα και μύκητες, κυρίως καταστρέφοντας βασικά συστατικά του κυτταρικού τους τοιχώματος. [46] Οι πρωτεΐνες και τα πεπτίδια αυτά εκφράζονται στον άνθρωπο στις περιοχές-φραγμούς που βρίσκονται σε συνεχή έκθεση σε μικρόβια, όπως το δέρμα και οι βλεννογόνοι. Στην ομάδα αυτή ανήκουν η λυσοζύμη, η λακτοφερρίνη, οι α- και β-ντεφενσίνες και η καθελισιδίνη. Παράλληλα με την μικροβιοκτόνο δράση τους, έχουν και ανοσοτροποποιητικές λειτουργίες σε πολλά κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Η δράση τους αυτή στα μακροφάγα, τα δενδριτικά κύτταρα, τα μονοκύτταρα, τα ουδετερόφιλα, τα μαστοκύτταρα και τα επιθηλιακά κύτταρα τροποποιούν την παραγωγή κυτοκινών και χημειοκινών, βελτιώνουν την χημειοταξία και τη φαγοκυττάρωση. [10]

Οι αντιμικροβιακές πρωτεΐνες και τα πεπτίδια βρίσκονται στα κυτοσόλια των πολυμορφοπυρήνων και απελευθερώνονται στο φαγόσωμα ή στους γύρω ιστούς και στο αίμα. Τα πολυμορφοπύρηνα των τελειόμηνων νεογνών φαίνεται ότι ανταποκρίνονται σχετικά καλά σε σηπτικά ερεθίσματα ως προς την συγκέντρωση ορισμένων πρωτεϊνών, αντίθετα με ό,τι συμβαίνει στα πρόωρα. [47] Βρίσκονται επίσης στο δέρμα και μάλιστα σε υψηλότερες συγκεντρώσεις από τα μεγαλύτερα παιδιά και τους ενήλικες, πιθανά για να εμποδίσει την είσοδο μικροβίων από τον ευαίσθητο δερματικό φραγμό. [48,49] Αντιμικροβιακά πεπτίδια και πρωτεΐνες βρίσκονται και στο αμνιακό υγρό και το μητρικό γάλα. Εκκρίνονται από τον επιθήλιο του γαστρεντερικού σωλήνα και η έκκριση αυτή αυξάνεται κατά τον μικροβιακό αποικισμό του. [50] Το πρόωρο νεογνό έχει μειωμένη ικανότητα έκκρισης αυτών των πρωτεϊνών πράγμα που πιθανά αυξάνει τον κίνδυνο διάσπασης του φραγμού

του εντερικού βλεννογόνου και ανάπτυξης νεκρωτικής εντεροκολίτιδας.[51] Η παρουσία τους έχει δειχθεί και στον αναπνευστικό βλεννογόνο και ενισχύεται σε περίπτωση μηχανικού αερισμού, πνευμονίας ή συστηματικής λοίμωξης.[51,52,53] Τα χαμηλά επίπεδα αυτών των πρωτεϊνών σε τραχειακές εκκρίσεις νεογνών με βρογχοπνευμονική δυσπλασία πιθανά συμβάλλουν στη χρόνια φλεγμονή που παρατηρείται στην κατάσταση αυτή. [54]

3. ΤΑ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΑ ΠΟΛΥΜΟΡΦΟΠΥΡΗΝΑ

Τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνα έχουν καθοριστικό ρόλο στην εξολόθρευση των παθογόνων μικροοργανισμών. Συγκεντρώνονται γρήγορα στην περιοχή της φλεγμονής, όπου ο κύριος ρόλος τους είναι η θανάτωση των εισβολέων-βακτηριδίων και ορισμένων μυκήτων μέσω της φαγοκυττάρωσης, απελευθερώνοντας προσχηματισμένα ένζυμα και πρωτεΐνες, και παράγοντας ενεργούς μεταβολίτες οξυγόνου.

3.1. Η παραγωγή και κυκλοφορία των ουδετερόφιλων πολυμορφοπυρήνων

Τα ουδετερόφιλα παράγονται στον νωτιαίο μυελό από δεσμευμένα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα της κοκκιώδους σειράς (committed granulocyte-macrophage colony-forming units, GM-CFU). Στο μυελό των οστών υπάρχει μια δεξαμενή από ώριμα και από διαφοροποιημένα αλλά ανώριμα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνα, τα οποία μπορούν να κινητοποιηθούν γρήγορα προς την κυκλοφορία σαν αντίδραση στη φλεγμονή. Αφού τα ώριμα ουδετερόφιλα εγκαταλείψουν τον μυελό των οστών, κυκλοφορούν περίπου 6 με 8 ώρες πριν μεταναστεύσουν στους ιστούς όπου ζουν για ακόμα 24 ώρες. Από τα ουδετερόφιλα που απελευθερώνονται στην κυκλοφορία, περίπου τα μισά βρίσκονται σε μια περιφερειακή δεξαμενή (κυρίως στα πνευμονικά τριχοειδή) και τα άλλα μισά κυκλοφορούν στο περιφερικό αίμα. Σαν αντίδραση στη λοίμωξη, παρατηρείται λευκοκυττάρωση, με την απελευθέρωση στην κυκλοφορία ώριμων ουδετεροφίλων, από τις αποθήκες του μυελού των οστών, και με την κινητοποίηση των αρχέγονων πρόδρομων κυττάρων στο μυελό για αύξηση της παραγωγής πολυμορφοπυρήνων. Τα νεογνά, ακόμα και τα πρόωρα έχουν αριθμό ουδετεροφίλων στο περιφερικό

αίμα ανάλογο με αυτόν των μεγαλύτερων παιδιών και των ενηλίκων. [20] Ωστόσο, κατά τη σηψαιμία, τα νεογνά, ιδίως τα πρόωρα, αδυνατούν να αυξήσουν τον αριθμό των κυκλοφορούντων πολυμορφοπυρήνων, με αποτέλεσμα συχνά να είναι ουδετεροπενικά. [20,55]

3.2. Οι λειτουργίες των ουδετερόφιλων πολυμορφοπυρήνων

Όταν οι μικροοργανισμοί διαπερνούν τους φραγμούς του δέρματος ή των βλεννογόνων, τα μακροφάγα και τα ουδετερόφιλα που βρίσκονται στους ιστούς, μαζί με το συμπλήρωμα, το σύστημα πήξης και άλλους μεσολαβητές, ξεκινούν μια σειρά γεγονότων που έχουν σαν αποτέλεσμα την τροποποίηση της μορφολογίας και της λειτουργίας των αγγειακών ενδοθηλιακών κυττάρων. Η τροποποίηση αυτή, σε συνδυασμό με την παρουσία διαλυτών μεσολαβητών της φλεγμονής, έχουν σαν αποτέλεσμα την προσκόλληση ουδετεροφίλων από την κυκλοφορία στο ενδοθήλιο. [11] Στη συνέχεια, ξεκινά μια διαδικασία διαπίδυσης μέσω των παρακείμενων ενδοθηλιακών κυττάρων και της βασικής μεμβράνης και με τον τρόπο αυτό, το ουδετερόφιλο μεταναστεύει από το αιμοφόρο αγγείο στην περιοχή της φλεγμονής. Η τυχαία μετανάστευση (χημειοκίνηση) γίνεται αυστηρά κατευθυνόμενη (χημειοταξία) με τη βοήθεια χημειοτακτικών παραγόντων που εκκρίνουν τα ενεργοποιημένα μονοκύτταρα/ μακροφάγα. [11,20] Χημειοτακτικές ουσίες είναι κυρίως οι χημειοκίνες αλλά και προϊόντα ενεργοποίησης του συμπληρώματος και προϊόντα των μικροοργανισμών. [11] Στη θέση εισβολής των βακτηριδίων, το ουδετερόφιλο πολυμορφοπύρηνο φαγοκυτταρώνει το βακτηρίδιο και αρχίζει μια

διαδικασία βιοχημικής ενεργοποίησής του, με αποτέλεσμα την δημιουργία ενεργών μεταβολιτών οξυγόνου και άλλων μεταβολιτών που θανατώνουν τα βακτηρίδια.

Ορισμένα από αυτά τα βήματα θα αναφερθούν με μεγαλύτερη λεπτομέρεια στη συνέχεια.

Α. Προσκόλληση (Adhesion)

Η προσκόλληση των ουδετερόφιλων στα ενδοθηλιακά κύτταρα είναι ένα βασικό βήμα στη συγκέντρωσή τους στην περιοχή της φλεγμονής. Τα ουδετερόφιλα μπορούν να προσκολληθούν τόσο στο φυσιολογικό όσο και στο ενεργοποιημένο αγγειακό ενδοθήλιο, ωστόσο η φλεγμονή επάγει αιμοδυναμικές και βιοχημικές μεταβολές στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων που διευκολύνουν αυτή την προσκόλληση των λευκοκυττάρων. Τα ουδετερόφιλα μετακινούνται κατά μήκος των ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων με παροδικές αλληλεπιδράσεις μορίων της επιφάνειάς τους με αντίστοιχους υποδοχείς των ενδοθηλιακών κυττάρων. Τα μόρια αυτά ανήκουν στην οικογένεια των σελεκτίνων, οι οποίες ρυθμίζουν τη σύλληψή των λευκοκυτάρων από το αίμα στην επιφάνεια του ενδοθηλίου και αποτελούν τους μεσολαβητές για τη δημιουργία χαλαρών δεσμών προσκόλλησης με τα ενδοθηλιακά κύτταρα. [20,56] Έχει αποδειχθεί ότι τα πολυμορφοπύρηνα των τελειόμηνων νεογνών εκφράζουν στην επιφάνειά τους λιγότερο από το 50% του αριθμού των αντίστοιχων μορίων L-σελεκτίνης των ενηλίκων, με αποτέλεσμα τη μειονεκτική ικανότητα χαλαρής προσκόλλησής τους στα ενδοθηλιακά κύτταρα. [20,57,58]

Όταν τα ενδοθηλιακά κύτταρα ενεργοποιηθούν κατά τη φλεγμονή, εκφράζουν στην επιφάνειά τους μεγαλύτερο αριθμό υποδοχέων για τις σελεκτίνες, ενώ παράλληλα εκφράζουν και άλλες πρωτεΐνες-υποδοχείς για μόρια προσκόλλησης της επιφάνειας των λευκοκυττάρων, που ανήκουν στην οικογένεια των ιντεγκρινών. Οι β2-ιντεγκρίνες είναι υπεύθυνες για τη δημιουργία δεσμών υψηλής συνάφειας των πολυμορφοπύρηνων προς το ενδοθήλιο, διαδικασία απαραίτητη για την εξαγγείωση των κυττάρων προς τους φλεγμαίνοντες ιστούς, διαμέσου των ενδοθηλιακών κυττάρων και της υποκείμενης βασικής στιβάδας. [20,56] Μελέτες σε νεογνά έχουν δείξει ότι τα πολυμορφοπύρηνα εκφράζουν σε ηρεμία πολύ μικρότερο αριθμό μορίων β2-ιντεγκρίνων σε σχέση με τους ενήλικες και ότι ο αριθμός αυτός δεν αυξάνεται σημαντικά σε περίπτωση διέγερσης. [20] Η μετατροπή των δεσμών χαμηλής συνάφειας των λευκοκυττάρων με τα ενδοθηλιακά κύτταρα, σε δεσμούς υψηλής συνάφειας, με μεσολαβητές τις ιντεγκρίνες φαίνεται ότι ενεργοποιείται από χημειοκίνες. [56,59] Όταν τα λευκοκύτταρα που κινούνται πάνω στο αγγειακό τοίχωμα με τους δεσμούς χαμηλής συνάφειας των σελεκτινών, συναντήσουν υψηλή συγκέντρωση χημειοκινών, αυξάνεται η συνάφεια με τις ιντεγκρίνες, με αποτέλεσμα τη σταθερή προσκόλληση των λευκοκυττάρων στα ενδοθηλιακά κύτταρα και τελικά την εξαγγείωσή τους στην περιοχή αυτή. [56,60] Στα περισσότερα όργανα, στους νεφρούς, τα αγγεία, τις αρθρώσεις, τους πνεύμονες, το δέρμα, τον εγκέφαλο, τις μήνιγγες, και τον γαστρεντερικό σωλήνα, έχουν ανιχνευτεί χημειοκίνες, όταν φλεγμαίνουν.

Β. Χημειοταξία

Αφού διαπεράσουν το ενδοθήλιο των αγγείων, τα λευκοκύτταρα κινούνται ακολουθώντας μια συνεχώς αυξανόμενη συγκέντρωση χημειοκινών και καταλήγουν στη θέση της μέγιστης συγκέντρωσής τους. [56,59] Στη διαδικασία αυτή συμβάλλουν πολλές αλληλοεμπλεκόμενες διαδικασίες μεταξύ των οποίων η σύνδεση των χημειοκινών σε υποδοχείς των πολυμορφοπυρήνων και η αναμόρφωση της κυτταρικής πλασματικής μεμβράνης και του κυτταροσκελετού ώστε να τροποποιηθεί το σχήμα τους και να αποκτήσουν τον κατάλληλο προσανατολισμό για να επιτευχθεί η κίνηση προς την περιοχή της μέγιστης συγκέντρωσης χημειοτακτικών ουσιών. Παράλληλα απαιτείται η περιοδική ανακατανομή των υποδοχέων προσκόλλησης στην κυτταρική μεμβράνη, ώστε να επιτυγχάνεται η προώθηση του κυττάρου προς τα εμπρός. [11,20]

Η χημειοταξία των πολυμορφοπύρηνων ουδετερόφιλων απαιτεί την αναγνώριση της κλίσης (gradient) συγκέντρωσης της χημειοτακτικής ουσίας, μέσω ειδικών υποδοχέων. Ο αριθμός των υποδοχέων αυτών στα νεογνά φαίνεται να είναι μικρότερος του αντίστοιχου αριθμού στους ενήλικες, τουλάχιστον για ορισμένες χημειοτακτικές ουσίες. Επιπρόσθετα, τα κύτταρα εμφανίζουν μειωμένη ικανότητα ανταπόκρισης στην σύνδεση υποδοχέα-χημειοτακτικής ουσίας, με ανάλογη μείωση στις επακόλουθες ενδοκυττάριες και εξωκυττάριες μεταβολές. [10,11]

Παράλληλα, η κίνηση των πολυμορφοπυρήνων στα νεογνά μειονεκτεί καθότι φαίνεται ότι η έκθεση σε χημειοτακτικούς παράγοντες δεν επάγει την αύξηση της F-ακτίνης, γεγονός που δυσχεραίνει την κίνηση και τον προσανατολισμό του

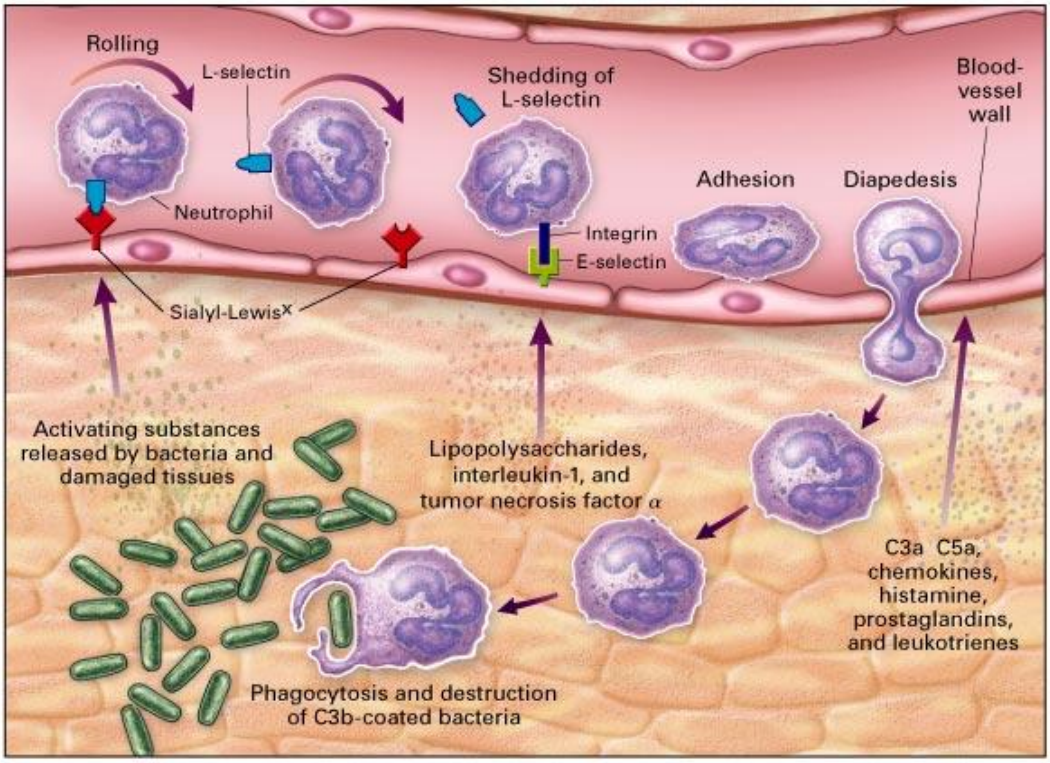
κυττάρου. Μειονεκτική είναι και η παραμόρφωσή τους, διαδικασία που διευκολύνει την ικανότητα μετανάστευσης μέσω των ενδοθηλιακών κυττάρων στην περιοχή της φλεγμονής. [10,57] Η μειονεξία αυτή επιτείνεται στις άωρες μορφές ουδετεροφίλων που απελευθερώνονται στην κυκλοφορία κατά τη σήψη. [10,61]

Γ. Φαγοκυττάρωση- Μικροβιοκτόνος ικανότητα

Στα πολυμορφοπύρηνα ουδετερόφιλα, που φτάνουν στη θέση της φλεγμονής, αυξάνονται οι υποδοχείς που συμμετέχουν στην φαγοκυττάρωση και την ενεργοποίηση των μικροβιοκτόνων μηχανισμών τους. Τις περισσότερες φορές απαιτείται η οψωνινοποίηση των μικροβίων με ανοσοσφαιρίνη G και τμήματα συμπληρώματος, για να αναγνωριστούν από τα πολυμορφοπύρηνα. Φαίνεται ωστόσο, ότι ο αριθμός των υποδοχέων του συμπληρώματος CR3, ενώ είναι παρόμοιος με αυτόν των ενηλίκων σε διάφορες πειραματικές συνθήκες, δεν αυξάνεται σε αριθμό, όπως συμβαίνει στους ενήλικες, όταν τα πολυμορφοπύρηνα διεγείρονται με χημειοτακτικές ουσίες. [11] Επιπρόσθετα, όταν η αναλογία μικροβίων/πολυμορφοπυρήνων είναι μεγάλη, η φαγοκυττάρωση των gram αρνητικών μικροβίων στα νεογνά είναι ελλειμματική. [11] Ελλειμματική επίσης είναι η φαγοκυττάρωση νεογνών που βρίσκονται σε κατάσταση stress, ενώ τα πολυμορφοπύρηνα των υγιών νεογνών επιδεικνύουν φυσιολογική φαγοκυτταρική ικανότητα. Τα πολυμορφοπύρηνα στη συνέχεια, με δραστηριοποίηση της σύνθεσης ενεργών μεταβολιτών οξυγόνου καθώς και με μη οξυγονοεξαρτώμενους μηχανισμούς, εξουδετερώνουν τα βακτηρίδια. Μελέτες έχουν δείξει ότι τα μεν

πρόωρα νεογνά παρουσιάζουν μειονεκτική αποτελεσματικότητα του μηχανισμού αυτού, τα δε τελειόμηνα νεογνά, όταν είναι υγιή, παρουσιάζουν φυσιολογική βακτηριοκτόνο δραστηριότητα των πολυμορφοπυρήνων, όταν όμως βρίσκονται σε κατάσταση stress (σήψη ή άλλου τύπου), η δραστηριότητα αυτή μειώνεται. [62,63]

Συνοπτικά η συμμετοχή των ουδετερόφιλων πολυμορφοπυρήνων στη φλεγμονώδη αντίδραση φαίνεται στην εικόνα Α.



Εικόνα Α: Το πολυμορφοπύρηνο ουδετερόφιλο στη φλεγμονώδη αντίδραση. Καθώς τα κύτταρα αυτά κινούνται κατά μήκος του αγγειακού τοιχώματος, συνδέονται χαλαρά με αυτό, με τη βοήθεια μορίων προσκόλλησης. Η σύνδεση αυτή γίνεται σταθερή, όταν το κύτταρο ενεργοποιηθεί, διαπερνά τον αγγειακό αυλό και έλκεται στην περιοχή της φλεγμονής, από χημειοτακτικούς παράγοντες. Εκεί φαγοκυτταρώνει τους οψωνινοποιημένους μικροοργανισμούς. (Τροποποιημένο από [64])

4. ΟΙ ΧΗΜΕΙΟΚΙΝΕΣ

4.1. Δομή και λειτουργία των χημειοκινών

Οι χημειοκίνες είναι μικρά πρωτεϊνικά μόρια με μοριακό βάρος 8-12 kD. [56,60] Οι μέχρι σήμερα γνωστές χημειοκίνες έχουν παρόμοια δομή περιέχοντας τουλάχιστον 4 αμινοξέα κυστεΐνης σε καθορισμένες περιοχές του μορίου τους. [60] Ανάλογα με τη θέση των δύο πρώτων αμινοτελικών αμινοξέων κυστεΐνης στο μόριο, διακρίνονται 4 οικογένειες, από τις οποίες οι α- και οι β- χημειοκίνες έχουν τα περισσότερα μέλη. [56] (Πίνακας IV) Η ονοματολογία των χημειοκινών είναι αρκετά συγκεχυμένη αν και πρόσφατα έχει προταθεί η αντικατάσταση των ποικίλων ονομάτων τους από μια συστηματική ονοματολογία, που παρουσιάζεται στον Πίνακα IV. [65,66] Η προτεινόμενη ονοματολογία στηρίζεται σους κωδικούς CC, CXC, CX3C και XC, που συνοδεύονται από το γράμμα L (ligand) για τα μόρια των χημειοκινών ή το γράμμα R (receptor) για τους υποδοχείς τους, σε συνδυασμό με ένα αύξοντα αριθμό για κάθε μέλος της οικογένειας. [66,67] Πολλά από τα γονίδια που κωδικοποιούν τις χημειοκίνες έχουν εντοπισθεί. Τα γονίδια των CC χημειοκινών βρίσκονται στο 17q11.2-12 και των χημειοκινών CXC στο 4q. [60]

Παράλληλα με την ταξινόμηση αυτή σε 4 ομάδες, οι χημειοκίνες έχουν διαχωριστεί επίσης και με βάση την λειτουργικότητά τους, σε δύο κατηγορίες: τις **φλεγμονώδεις** (inflammatory) χημειοκίνες και τις **ομοιοστατικές** χημειοκίνες (homeostatic). [59] Οι φλεγμονώδεις χημειοκίνες ελέγχουν την συσσώρευση των λευκοκυττάρων σε περιπτώσεις λοίμωξης, φλεγμονής, ιστικής βλάβης και όγκων. Πολλές από τις χημειοκίνες αυτής της ομάδας έχουν ευρεία εκλεκτικότητα όσον αφορά τα κύτταρα-στόχους και δρουν σε κύτταρα τόσο της έμφυτης όσο και της

προσαρμοζόμενης ανοσίας. [59] Οι ομοιοστατικές χημειοκίνες, αντίθετα, κατευθύνουν τα λευκοκύτταρα στον μυελό των οστών και στον σπλήνα, κατά την αιμοποίηση, στον σπλήνα και στους λεμφαδένες, κατά την έναρξη της προσαρμοζόμενης ανοσοποιητικής απάντησης, και στην ανοσολογική «επίβλεψη» των υγιών ιστών. [59] Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι αρκετές χημειοκίνες δεν μπορούν να ενταχθούν αμιγώς στην μία ή στην άλλη ομάδα και αναφέρονται ως «χημειοκίνες διπλής λειτουργικότητας». [59,68]

Η αλληλουχία των αμινοξέων στο αμινοτελικό άκρο, τα οποία προηγούνται της κυστεΐνης αποτελεί τον καθοριστικό παράγοντα της βιολογικής τους δράσης και της χημικής τους συγγένειας. [56] Έτσι, οι α-χημειοκίνες μπορούν να διαχωριστούν σε όσες περιλαμβάνουν την αλληλουχία γλουταμικό οξύ-λευκίνη-αργινίνη κοντά στο αμινοτελικό άκρο τους και ασκούν δράση στα πολυμορφοπύρηνα (ELR-CXC χημειοκίνες) και σε όσες δεν την περιλαμβάνουν και δρουν στα λεμφοκύτταρα. [56] Πρότυπο για την οικογένεια των α-χημειοκινών (CXC) αποτελεί η ιντερλευκίνη-8, που παράγεται από μεγάλη ποικιλία κυττάρων (μονοκύτταρα, μακροφάγα, ενδοθηλιακά και επιθηλιακά κύτταρα, ινοβλάστες), συμμετέχει στη διαδικασία προσκόλλησής των ουδετερόφιλων στο ενδοθήλιο, παρουσιάζει αγγειογενετική δράση και εμπλέκεται στην έκλυση ισταμίνης από τα βασεόφιλα και την προσέλκυση Τ λεμφοκυττάρων. [60,69] Άλλα μέλη της οικογένειας των α-χημειοκινών καθώς και τα κύτταρα-στόχοι τους αναφέρονται στον Πίνακα V.

Οι β-χημειοκίνες δεν δρουν στα ουδετερόφιλα αλλά προσελκύουν μονοκύτταρα, ηωσινόφιλα, βασεόφιλα και λεμφοκύτταρα. [56] Χωρίζονται σε δύο υποομάδες, η πρώτη από τις οποίες περιλαμβάνει πέντε χημειοτακτικές πρωτεΐνες

για τα μονοκύτταρα (MCP-1 έως MCP-5) και την ηωταξίνη, ενώ όλες οι υπόλοιπες αποτελούν τη δεύτερη υποομάδα. [56] (Πίνακας VI) Η πρωτείνη MCP-1 είναι το πρώτο μέλος που απομονώθηκε, έχει χημειοτακτική δράση στα μονοκύτταρα, επάγει την έκφραση των ιντεγκρινών, προσελκύει τα ενεργοποιημένα CD4 και CD8 T λεμφοκύτταρα και επάγει την έκλυση ισταμίνης από τα βασεόφιλα. [60,70,71,72]

Πίνακας IV: Οι οικογένειες των χημειοκινών

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ	Δομή	ΚΥΡΙΑ ΔΡΑΣΗ	ΠΡΟΤΥΠΟ ΜΕΛΟΣ
α-Χημειοκίνες (CXC)	Τα δυο πρώτα αμινοξέα κυστεϊνης χωρίζονται από ένα διαφορετικό αμινοξύ	Ουδετερόφιλα Λεμφοκύτταρα	Ιντερλευκίνη-8
β-Χημειοκίνες (CC)	Τα δυο πρώτα αμινοξέα κυστεΐνης συνδέονται μεταξύ τους	Μονοκύτταρα Ηωσινόφιλα Βασεόφιλα Λεμφοκύτταρα	MCP-1
XC	Δυο μόνο αμινοξέα κυστεϊνης	Τ λεμφοκύτταρα	Λεμφοτακτίνη (lymphotactin)
CXXXC ή CX3C	Τα δύο πρώτα αμινοξέα κυστεΐνης χωρίζονται από τρία αμινοξέα	Φυσικά κύτταρα-φονείς Μονοκύτταρα	Φρακταλκίνη (fractalkine)

Πίνακας V: Γνωστά μέλη της οικογένειας των α-χημειοκινών (τροποποιημένο από 56,60,66)

ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΟ ΟΝΟΜΑ	ΕΜΠΕΙΡΙΚΟ ΟΝΟΜΑ	ΚΥΤΤΑΡΑ-ΣΤΟΧΟΙ
CXCL1	GRO-α (MGSA)	Ουδετερόφιλα, κύτταρα μελανώματος (? ενδοθηλιακά κύτταρα)
CXCL2	GRO-β (MIP-2a)	Ουδετερόφιλα (? ενδοθηλιακά κύτταρα)
CXCL3	GRO-γ (MIP-2b)	Ουδετερόφιλα (? ενδοθηλιακά κύτταρα)
CXCL4	Platelet factor-4	Ινοβλάστες, ενδοθηλιακά κύτταρα
CXCL5	ENA-78	Ουδετερόφιλα
CXCL6	GCP-2	Ουδετερόφιλα
CXCL7	NAP-2	Ουδετερόφιλα, βασεόφιλα
CXCL8	IL-8	Ουδετερόφιλα, Τ-λεμφοκύτταρα, βασεόφιλα (?ενδοθηλιακά κύτταρα)
CXCL9	MIG	Διεγερμένα Τ λεμφοκύτταρα
CXCL10	IP-10	Διεγερμένα Τ-λεμφοκύτταρα, ?ενδοθηλιακά κύτταρα
CXCL11	SCYB9B (IP-9)	
CXCL12	SDF-1	Τ λεμφοκύτταρα, CD34+ προδρομικά κύτταρα, Β λεμφοκύτταρα?
CXCL13	BLC (BCA-1)	Β λεμφοκύτταρα
CXCL14	BRAK	

Πίνακας VI: Γνωστά μέλη της οικογένειας των β-χημειοκινών (τροποποιημένο από βιβλιογραφίες 56,60,66)

ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΟ ΟΝΟΜΑ	ΕΜΠΕΙΡΙΚΟ ΟΝΟΜΑ	ΚΥΤΤΑΡΑ-ΣΤΟΧΟΙ
CCL1	I-309	Μονοκύτταρα
CCL2	MCP-1	Μονοκύτταρα, Τ λεμφοκύτταρα μνήμης, βασεόφιλα, αιμοποιητικά προδρομικά κύτταρα
CCL3	MIP-1$^{\alpha}$	Μονοκύτταρα, Τ λεμφοκύτταρα, κύτταρα-φονείς, βασεόφιλα, ηωσινόφιλα, δενδριτικά κύτταρα, αιμοποιητικά προδρομικά κύτταρα
CCL4	MIP-1β	Μονοκύτταρα, Τ λεμφοκύτταρα, δενδριτικά κύτταρα, κύτταρα-φονείς, αιμοποιητικά προδρομικά κύτταρα
CCL5	RANTES	Τ λεμφοκύτταρα μνήμης, ηωσινόφιλα, βασεόφιλα, κύτταρα-φονείς, δενδριτικά κύτταρα
CCL7	MCP-3	Μονοκύτταρα, ηωσινόφιλα, Τ λεμφοκύτταρα μνήμης, δενδριτικά κύτταρα, κύτταρα-φονείς
CCL8	MCP-2	Μονοκύτταρα, Τ λεμφοκύτταρα, ηωσινόφιλα, βασεόφιλα, κύτταρα-φονείς
CCL11	Eotaxin	Ηωσινόφιλα
CCL13	MCP-4	Μονοκύτταρα, Τ λεμφοκύτταρα, ηωσινόφιλα
CCL14	HCC-1	Μονοκύτταρα, αιμοποιητικά προδρομικά κύτταρα
CCL15	HCC-2/MIP-1δ	
CCL16	HCC-4/LEC	
CCL17	TARC	Τ λεμφοκύτταρα
CCL18	DK-CK1 / PARC/AMAC-1	Διεγερμένα Τ λεμφοκύτταρα
CCL19	MIP-3β/ELC /	Διεγερμένα Τ λεμφοκύτταρα

	Exodus 3	
CCL20	MIP-3α /LARC/ Exodus-1	Δενδριτικά κύτταρα
CCL21	SLC/Exodus-2	Διεγερμένα Τ λεμφοκύτταρα
CCL22	MDC/STCP-1	Δενδριτικά κύτταρα
CCL23	MPIF-1	
CCL24	MPIF-2/Eotaxin-2	Ηωσινόφιλα
CCL25	TECK	
CCL26	Eotaxin-3	
CCL27	CTACK/ILC	

4.2. Οι υποδοχείς των χημειοκινών

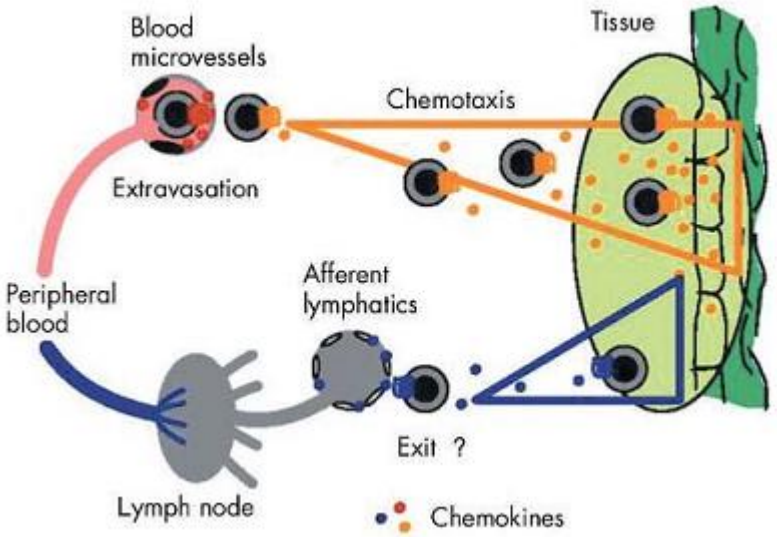
Οι χημειοκίνες ασκούν τη δράση τους στα κύτταρα-στόχους μέσω υποδοχέων. [56] Ο δεσμός χημειοκίνης και υποδοχέα οδηγεί σε μια σειρά κυτταρικών αντιδράσεων που περιλαμβάνουν την δημιουργία τριφωσφορικής ινοσιτόλης, την έξοδο ενδοκυττάριου ασβεστίου, την ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης C και την ενεργοποίηση των Rho-πρωτεϊνών που συμμετέχουν στην κινητικότητα των κυττάρων. [56]

Έως σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί έξι υποδοχείς για τις α-χημειοκίνες (CXCR1-CXCR6), εννέα υποδοχείς για τις β-χημειοκίνες (CCR1-CCR9) και από ένας υποδοχέας για τις CXXXC- και XC- χημειοκίνες (CX3CR1, XCR1). [56,65,67] Οι υποδοχείς αυτοί εκφράζονται σε διάφορους τύπους λευκοκυττάρων· άλλοι εκφράζονται σε ένα μόνο τύπο λευκοκυττάρου, ενώ άλλοι έχουν πιο ευρεία κατανομή. [56] Πολλοί τύποι κυττάρων εκφράζουν τους υποδοχείς μόνο μετά από επαγωγή από κάποιο ερέθισμα, ενώ σε άλλα κύτταρα κάποιοι μεσολαβητές μειώνουν την έκφραση των υποδοχέων αυτών και τα κύτταρα χάνουν την ευαισθησία τους στην αντίστοιχη χημειοκίνη. [56] Εκτός των λευκοκυττάρων, υποδοχείς χημειοκινών έχουν βρεθεί και σε πλείστα άλλα κύτταρα, όπως σε νευρώνες, αστροκύτταρα, επιθηλιακά και ενδοθηλιακά κύτταρα, εύρημα που υποδεικνύει ότι οι χημειοκίνες έχουν και ποικίλους άλλους ρόλους, παράλληλα με τη χημειοτακτική τους δράση στα λευκοκύτταρα. [56] Οι υποδοχείς των χημειοκινών δεν είναι ειδικοί για μία μόνο χημειοκίνη, ωστόσο μπορούν να δεσμεύουν μόνο μέλη της ίδιας οικογένειας. [56,60]

4.3. Ο ρόλος των χημειοκινών και των υποδοχέων τους στις λοιμώξεις

Ο σημαντικός ρόλος των ουδετερόφιλων στην οξεία λοίμωξη έχει αναφερθεί ήδη λεπτομερώς. Με την φαγοκυττάρωση και την απελευθέρωση ποικίλων ειδικών και μη ειδικών βακτηριοκτόνων ουσιών, τα ουδετερόφιλα αμύνονται ενάντια στους παθογόνους μικροοργανισμούς.[73,74] Παράλληλα και άλλα λευκοκύτταρα συμμετέχουν στη φλεγμονώδη αντίδραση. Τη συγκέντρωση και την ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων στην περιοχή της φλεγμονής ελέγχουν σε σημαντικό βαθμό οι χημειοκίνες. [60] Η συσσώρευση των λευκοκυττάρων περιλαμβάνει δύο διαφορετικές διαδικασίες, την εξαγγείωση και την χημειοταξία. [59] Η προσκόλληση στα ενδοθηλιακά κύτταρα του αυλού των αιμοφόρων αγγείων, η μετακίνηση διαμέσου των ενδοθηλιακών αυτών κυττάρων και η χημειοταξία των λευκοκυττάρων είναι εξαιρετικά πολύπλοκες διεργασίες που ελέγχονται με σήματα (signaling events) που εκλύονται κατά τις κυτταρικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ λευκοκυττάρων, χημειοκινών και συνδετικών μορίων Η ενεργοποίηση των υποδοχέων των χημειοκινών στα λευκοκύτταρα από χημειοκίνες που εκκρίνονται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την εξαγγείωση. Με την διαδικασία αυτή, δίνεται το σήμα για μετατροπή των δεσμών χαμηλής συνάφειας των λευκοκυττάρων με τα ενδοθηλιακά κύτταρα, σε δεσμούς υψηλής συνάφειας, με μεσολαβητές τις ιντεγκρίνες, με αποτέλεσμα τη σταθερή αλλά παροδική προσκόλληση τους στα ενδοθηλιακά κύτταρα και τελικά την εξαγγείωσή τους στην περιοχή αυτή. [56,60] Στη συνέχεια, τα εξαγγειωμένα λευκοκκύτταρα, ανταποκρινόμενα σε μια κλίση συγκέντρωσης χημειοκινών, θα κινηθούν μέσα στον ιστό προς την περιοχή της μέγιστης συγκέντρωσης, επιτυγχάνοντας με τον τρόπο

αυτό την συσσώρευση ακριβώς στην περιοχή της φλεγμονής. (Εικόνα Β) Είναι ενδιαφέρον ότι οι χημειοκίνες που καθοδηγούν τα λευκοκύτταρα μέσα στον ιστό μετά την εξαγγείωσή τους, δεν είναι απαραίτητα ταυτόσημες με αυτές που ελέγχουν την προσκόλληση τους στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων.



Εικόνα Β: Συσσώρευση των λευκών αιμοσφαιρίων στους φλεγμαίνοντες ιστούς. Η συσσώρευση αυτή στην φλεγμαίνουσα περιοχή εμπεριέχει δύο διάκριτες και διαδοχικές διαδικασίες, την εξαγγείωση και την χημειοταξία. Κατά την διάρκεια της πρώτης, τα λευκά αιμοσφαίρια αντιδρούν με μόρια προσκόλλησης στην εσωτερική πλευρά των αγγείων και, υπό την επίδραση χημειοκινών, συνδέονται σταθερά εκεί και εξαγγειώνονται. Στη συνέχεια, η χημειοταξία καθοδηγεί τα λευκοκύτταρα που βρίσκονται τώρα γύρω από τα αγγεία στην «πηγή» των χημειοκινών. Τα λευκοκύτταρα απομακρύνονται από τον ιστό μέσω απαγωγών λεμφαγγείων. (Τροποποιημένο από [59])

Η έκκριση χημειοκινών στην περιοχή της φλεγμονής επάγεται από προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, όπως η ιντερλευκίνη 1 (IL-1) και ο παράγοντας νέκρωσης όγκων άλφα (TNF-α), προϊόντα βακτηριδίων, όπως οι πολυσακχαρίτες, και ιούς.[56,60] Επιπλέον, οι χημειοκίνες επάγονται από την ιντερφερόνη-γ και την ιντερλευκίνη-4, προϊόντα των T1 και T2 βοηθητικών λεμφοκυττάρων αντίστοιχα.[60] Η συσχέτιση της έκφρασης των χημειοκινών με τις παθοφυσιολογικές διεργασίες έχει επιτευχθεί με μελέτες σε πειραματόζωα. [56,75] Με την πειραματική αδρανοποίηση, για παράδειγμα, της χημειοκίνης MIP-2 έχει δειχθεί ότι η χημειοκίνη αυτή είναι σημαντική για τη συγκέντρωση ουδετερόφιλων και την απομάκρυνση των βακτηριδίων σε πειραματικό μοντέλο πνευμονίας από Klebsiella. [76]

Φαίνεται ότι οι χημειοκίνες συμμετέχουν στο σχηματισμό κοκκιώματος και τον περιορισμό του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης και έχει δειχθεί ότι η μόλυνση μακροφάγων με το μυκοβακτηρίδιο επάγει την άμεση έκκριση χημειοκινών που μπορούν να ανιχνευθούν μόλις 2 ώρες μετά. [77,78] Εκτός από τα μακροφάγα, και άλλα κύτταρα, όπως τα ανθρώπινα επιθηλιακά κυψελιδικά κύτταρα, παράγουν χημειοκίνες σαν απάντηση στη λοίμωξη από το μυκοβακτηρίδιο και συμμετέχουν έτσι στην συσσώρευση κυττάρων στη θέση της φλεγμονής.[77] Η ευαισθησία σε ορισμένες λοιμώξεις έχει βρεθεί ότι σχετίζεται άμεσα με τις χημειοκίνες. Οι παθογόνοι μικροοργανισμοί συνδέονται με υποδοχείς των λευκοκυττάρων για να βρουν δίοδο προς το κυτταρόπλασμα και τον πυρήνα των κυττάρων. [56] Οι χημειοκίνες έχουν κοινούς υποδοχείς με δύο τουλάχιστον, σημαντικούς παθογόνους για τον άνθρωπο μικροοργανισμούς, τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας και το πλασμώδιο της ελονοσίας. [56] Οι χημειοκίνες που

συνδέονται με τους συγκεκριμένους υποδοχείς (RANTES, MIP-1α, MIP-1β) καταλαμβάνουν τις θέσεις σύνδεσης του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας και εμποδίζουν έτσι την προσκόλληση και την είσοδό του στα κύτταρα. [79,80] Άτομα με υψηλές συγκεντρώσεις αυτών των παραγόντων δεν μολύνονται από τον ιό, παρά την επανειλημμένη έκθεσή τους σ΄αυτόν. [81] Και άλλοι ιοί, όπως ορισμένοι ερπητοϊοί εκφράζουν υποδοχείς ομόλογους με τους υποδοχείς των χημειοκινών. Ο ερπητοϊός-8 έχει βρεθεί ότι κωδικοποιεί ένα ενεργό υποδοχέα χημειοκινών που διεγείρει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. [82]

Η κατανόηση της συμμετοχής των χημειοκινών στις λοιμώξεις έχει ως δυνητικό αποτέλεσμα τη πιθανή θεραπευτική τους χρήση. Είναι γνωστό ότι οι μη ειδικοί μηχανισμοί άμυνας κατά των παθογόνων μικροοργανισμών, όπως για παράδειγμα η απελευθέρωση ελεύθερων ριζών, προκαλούν βλάβη και στον ξενιστή, βλάβη που μπορεί να είναι σημαντική. [83] Η ενεργοποίηση των πολυμορφοπύρηνων είναι ουσιώδης για την αντιμετώπιση μιας λοίμωξης, αλλά παράλληλα συνδέεται με την εμφάνιση ανεπιθύμητων επιπτώσεων, όπως το σύνδρομο πολυοργανικής έκπτωσης και το σύνδρομο οξείας αναπνευστικής ανεπάρκειας. [84,85] Στον ορό ασθενών με σηψαιμία έχει διαπιστωθεί αυξημένη συγκέντρωση χημειοκινών, όπως της IL-8, του GRO-α και του MIP-1α, ενώ σημαντικότερη αύξηση στη συγκέντρωση του MIP-1α βρέθηκε σε ορό ασθενών με σήψη που κατέληξαν. [86,87,88] Οπωσδήποτε, η διαδοχική έκκριση και ενεργοποίηση ποικίλων μεσολαβητών δυσχεραίνει τόσο την πλήρη κατανόηση της διαδικασίας όσο και τη θεραπευτική παρέμβαση. [89] Ωστόσο, μελέτες σε ενήλικες δείχνουν ότι ο έλεγχος της χημειοταξίας των πολυμορφοπύρηνων επιτελείται μέσω

δύο κυρίως υποδοχέων των χημειοκινών, του CXCR1 και του CXCR2. [67,90,91] Η κυριαρχία του ενός μόνο υποδοχέα, του CXCR1, κατά τη σηψαιμία υποδεικνύει ότι πιθανόν μια θεραπευτική δέσμευση του υποδοχέα αυτού, θα έχει ως αποτέλεσμα τη μειωμένη χημειοταξία των πολυμορφοπυρήνων προς τα διάφορα όργανα και, κατά συνέπεια, τον περιορισμό της βλάβης τους. [92]

4.4 Ο ρόλος των χημειοκινών σε άλλες παθοφυσιολογικές διεργασίες

Εκτός από τις λοιμώξεις, οι χημειοκίνες συμμετέχουν σε ποικίλες άλλες φυσιολογικές και παθολογικές διεργασίες. Οι CXC χημειοκίνες έχουν σημαντικό ρόλο στην αγγειογένεση, και η δράση τους, ανασταλτική ή προαγωγική, εξαρτάται από την ύπαρξη της αλληλουχίας ELR. [65] Οι ELR-CXC χημειοκίνες είναι ισχυροί αγγειογενετικοί παράγοντες ενώ οι υπόλοιπες CXC χημειοκίνες έχουν ανασταλτική δράση στην αγγειογένεση. [60,65] Υπενθυμίζεται ότι οι νεοπλασίες και ορισμένες χρόνιες φλεγμονώδεις νόσοι έχουν συσχετιστεί με την διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ προαγωγής και αναστολής της αγγειογένεσης. [93,94,95]

Σε χρόνιες φλεγμονώδεις νόσους, η συσσώρευση διαφόρων τύπων κυττάρων στους ιστούς καθορίζεται από την έκκριση συγκεκριμένων χημειοκινών. [56] Στη σαρκοείδωση έχει διαπιστωθεί αυξημένη συγκέντρωση της χημειοκίνης IP-10, τόσο στον ορό όσο και σε βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα, όπου η αύξηση συσχετίζεται με τον αριθμό των ενεργοποιημένων Τ λεμφοκυττάρων. [56] Στην αλλεργική δερματίτιδα, την αλλεργική ρινίτιδα και το άσθμα όπου υπάρχει εκλεκτική συγκέντρωση και ενεργοποίηση ηωσινοφίλων και μαστοκυττάρων, η

ηωταξίνη και οι χημειοτακτικές πρωτεΐνες των μονοκυττάρων (MCP-1 έως MCP-4) φαίνεται ότι έχουν καθοριστικό ρόλο και αποτελούν πιθανόν τον μοριακό σύνδεσμο μεταξύ της άνοσης αντίδρασης στο αντιγόνο και της μετανάστευσης των ηωσινοφίλων στους ιστούς.[96,97,98] Στην ελκώδη κολίτιδα και τη νόσο Crohn, την ψωρίαση, την ρευματοειδή αρθρίτιδα, και την αθηροσκλήρυνση, έχουν διαπιστωθεί αυξημένα επίπεδα διαφόρων χημειοκινών που φαίνεται ότι καθορίζουν τον τύπο των κυττάρων που διηθούν τους ιστούς σε κάθε περίπτωση. [56,99,100] Η εξέλιξη των διαφόρων αυτών παθήσεων μπορεί, θεωρητικά τουλάχιστον, να τροποποιηθεί με τη βοήθεια ανταγωνιστών των αντίστοιχων χημειοκινών ή των υποδοχέων τους. [65]

Έχει δειχθεί πρόσφατα ότι οι χημειοκίνες και οι υποδοχείς τους συμμετέχουν σε όλα τα στάδια ανάπτυξης και εξέλιξης των νεοπλασιών, από την καρκινική μετατροπή των κυττάρων, μέχρι την διήθηση αιμοφόρων και λεμφοφόρων αγγείων από νεοπλασματικά κύτταρα και τη μετάσταση σε άλλα όργανα. [65,101] Ήδη έχει αναφερθεί ότι ο ερπητοϊός-8 που σχετίζεται με το σάρκωμα Caposi κωδικοποιεί ένα ενεργό υποδοχέα χημειοκινών. Ορισμένες CXC χημειοκίνες φαίνεται ότι διεγείρουν συνεχώς την έκφραση του υποδοχέα CXCR2, οδηγώντας τελικά σε καρκινική κυτταρική μετατροπή. Οι χημειοκίνες CXCL8 (IL-8) και GRO-α,-β,-γ φαίνεται ότι δρουν ως αυξητικοί παράγοντες για ορισμένα κακοήθη κύτταρα. [101,102,103,104] Η ανάπτυξη των συμπαγών όγκων σε διάμετρο μεγαλύτερη από 2 χιλιοστά και η περαιτέρω ταχεία τους αύξηση εξαρτάται από την επαρκή αιμάτωσή τους, που ρυθμίζεται από τη σχετική έκκριση CXC ανασταλτικών και διεγερτικών της αγγειογένεσης χημειοκινών από τα κύτταρα του όγκου και του στρώματός τους.

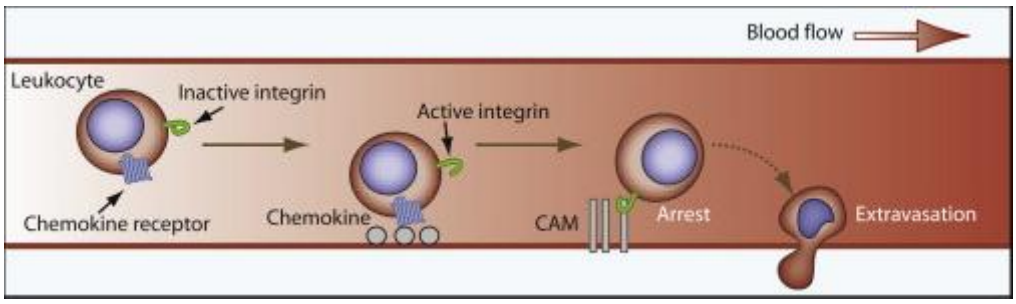
(stroma) [101,105] Η διηθητικότητα των όγκων εξαρτάται και από την ικανότητα των καρκινικών κυττάρων να παράγουν πρωτεολυτικά ένζυμα, την παραγωγή και έκκριση των οποίων φαίνεται ότι επάγουν οι χημειοκίνες. [101]

Η συμμετοχή των χημειοκινών στη δημιουργία και εξάπλωση των νεοπλασιών δημιουργεί δυνατότητες θεραπευτικής παρέμβασης αφ' ενός με τη χρησιμοποίηση των πρωτεϊνών αυτών για ενίσχυση της αντικαρκινικής ανοσολογικής αντίδρασης του ξενιστή ή για τροποποίηση της νεοαγγείωσης στο μικροπεριβάλλον του όγκου και αφ' ετέρου με τη βοήθεια ανταγωνιστών των υποδοχέων τους, με σκοπό την παρέμβαση στους χημειοτακτικούς μηχανισμούς που καθορίζουν τη μετάσταση των καρκινικών κυττάρων. [101]

4.5. Χημειοταξία και χημειοκίνες στη νεογνική ηλικία

Τα νεογνά, όπως ήδη αναφέρθηκε, παρουσιάζουν μειονεκτική αντίδραση στις λοιμώξεις σε σχέση με τα μεγαλύτερα παιδιά και τους ενήλικες. [20] Η ελαττωμένη χημειοταξία των νεογνικών λευκοκυττάρων στους φλεγμαίνοντες ιστούς αποτελεί τη σημαντικότερη ίσως λειτουργική ανωμαλία τους. [20] Η διαπίδυση των λευκοκυττάρων από το αίμα προς τους ιστούς και η συσσώρευσή τους στην περιοχή εισβολής του παθογόνου μικροοργανισμού είναι μια σύνθετη διαδικασία που απαιτεί συγχρονισμένη αλληλεπίδραση λευκοκυττάρων και ενδοθηλιακών κυττάρων και που ρυθμίζεται από τρεις οικογένειες μορίων, τις ιντεγκρίνες, τις σελεκτίνες και τις χημειοκίνες. [56] Και οι τρεις αυτές οικογένειες έχει δειχθεί ότι ανεπαρκούν στη νεογνική ηλικία.

Η λειτουργία της οικογένειας των σελεκτινών και των ιντεγκρινών καθώς και η σχετική ανωριμότητά τους στην νεογνική ηλικία αναφέρθηκαν ήδη. Οι χημειοκίνες αποτελούν σημαντικό παράγοντα στην χημειοταξία. Δίνουν το σήμα για μετατροπή των δεσμών χαμηλής συνάφειας των λευκοκυττάρων με τα ενδοθηλιακά κύτταρα, σε δεσμούς υψηλής συνάφειας, με μεσολαβητές τις ιντεγκρίνες, με αποτέλεσμα τη σταθερή προσκόλληση τους στα ενδοθηλιακά κύτταρα και τελικά την εξαγγείωσή τους στην περιοχή αυτή. [56,60] Κατευθύνουν, στη συνέχεια, τα εξαγγειωμένα λευκοκύτταρα, που κινούνται ακολουθώντας μια συνεχώς αυξανόμενη συγκέντρωση χημειοκινών και καταλήγουν στη θέση της μέγιστης συγκέντρωσής τους. [56] (Εικόνα Γ)



Εικόνα Γ: Η σύνδεση των χημειοκινών στους υποδοχείς τους σηματοδοτεί την μετατροπή των χαλαρών δεσμών λευκοκυττάρων-ενδοθηλίου σε σταθερούς δεσμούς, ώστε να επιτευχθεί στη συνέχεια η εξαγγείωση. (Τροποποιημένο από [106])

Η ιντερλευκίνη 8 είναι η μοναδική χημειοκίνη που έχει μελετηθεί ικανοποιητικά, στη νεογνική ηλικία. Τόσο τα τελειόμηνα όσο και τα πρόωρα νεογνά έχουν την ικανότητα να εκκρίνουν την χημειοκίνη αυτή σε περίπτωση λοίμωξης και έχει ήδη μελετηθεί σαν πρώιμος δείκτης λοίμωξης. [107,108,109,110,111] Αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους χημειοτακτικούς παράγοντες ουδετεροφίλων στον πνεύμονα και συμμετέχει στην παθοφυσιολογία της βρογχοπνευμονικής

δυσπλασίας. [112,113] Με την εξαίρεση της ιντερλευκίνης 8, η συγκέντρωση των διαφόρων χημειοκινών στον ορό των πρόωρων και τελειόμηνων νεογνών δεν έχει μελετηθεί επαρκώς ούτε σε υγιή νεογνά ούτε σε καταστάσεις λοίμωξης. [114,115,116] Οι μειωμένες συγκεντρώσεις κατά την ηρεμία και η μειωμένη επαγωγή έκκρισης κατά τη λοίμωξη συμβάλλουν ευλόγως στην αυξημένη ευαισθησία των νεογνών στις λοιμώξεις. Σε μια μελέτη δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές στη συγκέντρωση των ENA-78, GRO-a, RANTES, MIP-1α και την ηωταξίνη, μεταξύ των υγιών πρόωρων και τελειόμηνων νεογνών και των ενηλίκων ενώ σε άλλη μελέτη διαπιστώθηκαν μειωμένες συγκεντρώσεις ηωταξίνης και ENA-78. [114,115] Μειωμένη έκκριση ορισμένων χημειοκινών έχει διαπιστωθεί και σε μονοκύτταρα του ομφαλίου λώρου. [115]

Ειδικότερα για τη λοίμωξη από τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας, είναι γνωστό ότι τα νεογνά με περιγεννητική λοίμωξη έχουν πιο γρήγορη εξέλιξη της νόσου και χειρότερη πρόγνωση από τα μεγαλύτερα παιδιά και τους ενήλικες. [117,118] Αναφέρθηκε ήδη ότι άτομα με υψηλές συγκεντρώσεις των χημειοκινών RANTES, MIP-1α, MIP-1β δεν μολύνονται από τον ιό, παρά την επανειλημμένη έκθεσή τους σ΄αυτόν. [81] Σε μελέτη της έκκρισης των χημειοκινών αυτών από μονοπύρηνα κύτταρα ομφαλίου λώρου, βρέθηκε μειωμένη έκκριση κυρίως της χημειοκίνης RANTES. [116] Η μειονεξία αυτή των μονοπύρηνων μακροφάγων μπορεί να εξηγήσει την αυξημένη ευαισθησία των νεογνών στη λοίμωξη με τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας. [115] Στον ορό νεογνών με περιγεννητική έκθεση στον ιό που δεν μολύνθηκαν, βρέθηκαν σημαντικά αυξημένα επίπεδα των χημειοκινών RANTES, MIP-1α και MIP-1β σε σχέση με τα νεογνά με περιγεννητική

λοίμωξη, που υποδηλώνει την πιθανή σημασία της έκκρισης των χημειοκινών αυτών στην αποτροπή της περιγεννητικής μετάδοσης της νόσου. [119]

Ο ρόλος των χημειοκινών στη νεογνική σηψαιμία δεν έχει παρά ελάχιστα μελετηθεί. Η σημασία των πολυμορφοπύρηνων και των ποικίλων μεσολαβητών είναι οπωσδήποτε ουσιαστική. [89] Μελέτες με πειραματόζωα νεογνικής ηλικίας σε σήψη δείχνουν αυξημένη συγκέντρωση χημειοκινών στους πνεύμονες, ανάλογη με αυτήν που παρατηρείται στους ενήλικες και ανάλογη συσσώρευση πολυμορφοπύρηνων. [86] Η παθοφυσιολογία της σηψαιμίας δεν έχει γίνει ακόμα κατανοητή, ωστόσο φαίνεται ότι οι χημειοκίνες αποτελούν και στα νεογνά, όπως και στους ενήλικες, βασική συνιστώσα της παθολογικής διεργασίας.

ΙΙ. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.ΥΠΟΘΕΣΗ

Η νεογνική σηψαιμία είναι μια απειλητική για τη ζωή νόσος που προσβάλλει περίπου 3 με 5 νεογνά ανά 1000 γεννήσεις. [120] Παρά την πρόοδο που έχει επιτευχθεί στην νεογνολογία τα τελευταία χρόνια, ο κίνδυνος σηψαιμίας παραμένει υψηλός, ιδιαίτερα για τα μικρά πρόωρα νεογνά, και οι λοιμώξεις αποτελούν σημαντικό αίτιο νοσηρότητας και θνησιμότητας. [121,122] Η ευπάθεια των νεογνών στις λοιμώξεις σχετίζεται με την ανωριμότητα των ανοσολογικών τους μηχανισμών. [123] Καθοριστικής σημασίας συνιστώσα στη διαδικασία της φλεγμονής και στην αντίδραση του ξενιστή στη λοίμωξη αποτελεί η χημειοταξία, η προσέλκυση, δηλαδή, των λευκών αιμοσφαιρίων στους ιστούς. Την διαδικασία αυτή διέπει μια σειρά από χημιοτακτικές κυτταροκίνες, οι χημειοκίνες, η σημασία και ο ρόλος των οποίων ερευνώνται εντατικά τα τελευταία χρόνια. Οι χημειοκίνες είναι μικρά πρωτεϊνικά μόρια και διακρίνονται σε 4 οικογένειες, από τις οποίες οι α- και οι β-χημειοκίνες έχουν τα περισσότερα μέλη. Οι α-χημειοκίνες κυρίως προσελκύουν τα ουδετερόφιλα ενώ οι β-χημειοκίνες δεν δρουν στα ουδετερόφιλα αλλά προσελκύουν μονοκύτταρα, ηωσινόφιλα, βασεόφιλα, λεμφοκύτταρα και κύτταρα-φυσικούς φονείς (natural killer cells).

Η χημειοταξία είναι ελλειμματική στα νεογέννητα, και μάλιστα στα πρόωρα, και αυτή η ανεπάρκεια ενδεχομένως συμβάλλει στην αυξημένη ευαισθησία τους στις λοιμώξεις. Τρεις οικογένειες μορίων, οι ιντεγκρίνες, οι σελεκτίνες και οι χημειοκίνες ελέγχουν τα διάφορα βήματα της διαδικασίας αυτής. Η μελέτη επομένως των χημειοκινών σε περιπτώσεις νεογνικών λοιμώξεων είναι ιδιαίτερης σημασίας. Η συγκέντρωση των διαφόρων χημειοκινών στον ορό των πρόωρων και

τελειόμηνων νεογνών δεν έχει μελετηθεί επαρκώς. Με εξαίρεση την ιντερλευκίνη-8 [111], ελάχιστα είναι γνωστά για την συγκέντρωση των χημειοκινών στα υγιή νεογνά καθώς και την επίδραση των λοιμογόνων παραγόντων στις συγκεντρώσεις τους. Μειωμένες συγκεντρώσεις κατά την ηρεμία ή και μειωμένη επαγωγή έκκρισης κατά τη διάρκεια της λοίμωξης είναι πιθανοί παράγοντες που συμβάλλουν στην αυξημένη ευαισθησία των νεογνών στις λοιμώξεις. Μέχρι σήμερα, σε ελάχιστες εργασίες έχουν μετρηθεί οι συγκεντρώσεις ορισμένων χημειοκινών στον ορό υγιών νεογνών (Πίνακας VII) και νεογνών με λοίμωξη. Οι μέχρι σήμερα γνώσεις μας είναι πολύ περιορισμένες και απαιτούνται περισσότερες μελέτες σε υγιή νεογνά και σε νεογνά με λοίμωξη για να διευκρινιστεί η σημασία των χημειοκινών στις νεογνικές βακτηριακές λοιμώξεις.

Με δεδομένη τη σημασία της χημειοταξίας στην αντιμετώπιση της λοίμωξης και την καθοριστική σημασία των χημειοκινών στη φλεγμονώδη αντίδραση σε παθογόνους μικροοργανισμούς, θεωρήσαμε ότι είναι πιθανό η αυξημένη ευαισθησία κυρίως των προώρων νεογνών στη λοίμωξη να συσχετίζεται με διαταραχή στη μεταβολή της συγκέντρωσης χημειοκινών σε περιπτώσεις σηψαιμίας. Για τη διερεύνηση της υπόθεσης αυτής μελετήσαμε τα επίπεδα δύο α- και δύο β-χημειοκινών σε υγιή πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά και την μεταβολή τους σαν αντίδραση σε ένα σηπτικό επεισόδιο. Επιλέξαμε χημειοκίνες που έχουν μελετηθεί σε ενήλικες ή σε μεγαλύτερα παιδιά αλλά όχι επαρκώς στην νεογνική ηλικία. (Πίνακας VIII) Συγκεκριμένα, από την οικογένεια των α-χημειοκινών, επιλέξαμε τις χημειοκίνες Gro-a και ENA-78 και από την οικογένεια των β-χημειοκινών, τις χημειοκίνες RANTES και MIP-1a. Η χημειοκίνη Gro-a είναι ισχυρός

χημειοτακτικός παράγοντας των ουδετετεροφίλων [124] και αυξάνει σημαντικά σε σοβαρές περιπτώσεις μηνιγγιτιδοκοκκικής σηψαιμίας [125]. Ο ρόλος της στη σηψαιμία της νεογνικής ηλικίας, ωστόσο, έχει μελετηθεί ελάχιστα. [128,129] Η χημειοκίνη ENA-78 συμμετέχει στην φλεγμονώδη διεργασία στους πνεύμονες ενηλίκων με οξύ σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS) και έχει σημαντικό ρόλο στις φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου. [126,127] Κατά τον σχεδιασμό της μελέτης μας, δεν είχε μελετηθεί σε νεογνά με σηψαιμία. Η χημειοκίνη RANTES έχει μελετηθεί σε ενήλικες και παιδιά με μηνιγγιτιδοκοκκική νόσο [125,134], σε ενήλικες με σήψη [133], σε παιδιά με ελονοσία [131]· σε νεογνά με λοίμωξη καθώς και σε αίμα ομφαλίου λώρου από σηπτικά νεογνά έχουν διαπιστωθεί μειωμένες συγκεντρώσεις της χημειοκίνης αυτής.[129,130,138] Η χημειοκίνη MIP-1α είναι ισχυρός χημειοτακτικός παράγοντας των μονοκυττάρων, αλλά προσελκύει και Τ λεμφοκύτταρα, πολυμορφοπύρηνα ουδετερόφιλα, ηωσινόφιλα, βασεόφιλα και κύτταρα- φυσικούς φονείς. [136] Η σημασία της στην αντιμετώπιση της σήψης έχει δειχθεί σε πειραματόζωα καθώς και σε in vitro μελέτες [136], ενώ αυξημένα επίπεδα της χημειοκίνης αυτής έχουν διαπιστωθεί στον ορό ενηλίκων με σήψη και μηνιγγιτιδοκοκκική σηψαιμία [87,134] Σε νεογνά, ωστόσο, μία μόνο μελέτη αναφέρεται στη βιβλιογραφία. [130]

ΠΙΝΑΚΑΣ VII: Συνοπτικός πίνακας μελετών των χημειοκινών σε υγιή νεογνά

	Αίμα ομφαλίου λώρου		Νεογνικό αίμα	
	Πρόωρα νεογνά	Τελειόμηνα νεογνά	Πρόωρα νεογνά	Τελειόμηνα νεογνά
GRO-a	↑ [114]*[a] ↔ [114][b]		↑ [114][a] ↔ [114][b]	↔ [114][a]
ENA-78	↑ [114][a]	↑ [114][a]	↔ [114][a,b]	↔ [114][a]
RANTES	↓ [114][b] ↑ [142][b]	↓ [115][a]	↔ [114][a,b] ↑ [142][b]	↔ [114][a]
MIP-1a	↑ [114][a] ↑ [142][b]	↑ [114][a] ↔[115][a]	↑ [114][a] ↑ [142][b]	↑ [114][a]
MIP-1b		↔ [115][a]		
Eotaxin	↓ [114][a]	↓ [114][a]	↔ [114][b]	↓ [114][a]

* βιβλιογραφική αναφορά

↑: αυξημένη τιμή σε σχέση με τους μάρτυρες, ↓: μειωμένη τιμή σε σχέση με τους μάρτυρες, ↔ : τιμή ανάλογη με τους μάρτυρες

[a] : σύγκριση με ενήλικες [b]: σύγκριση με τελειόμηνα

ΠΙΝΑΚΑΣ VIII: Συνοπτικά οι δημοσιευμένες μελέτες για τις συγκεντρώσεις των χημειοκινών σε νεογνά με σήψη.

	Πρώιμη σηψαιμία		Όψιμη σηψαιμία
	Αίμα ομφαλίου λώρου	Νεογνικό αίμα	
GRO-a	↑ [129]*		↑ [128]
ENA-78			↔ [143]
RANTES	↔ [129]	↓ [130]	↓[128] [138] ↔ [130]
MIP-1a		↔ [130]	↑ [130]

* βιβλιογραφική αναφορά

↑: αυξημένη τιμή σε σχέση με τους μάρτυρες, ↓: μειωμένη τιμή σε σχέση με τους μάρτυρες, ↔ : τιμή ανάλογη με τους μάρτυρες

2.ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

2.1. Υλικό και μέθοδος

Τα νεογνά που συμπεριελήφθησαν στη μελέτη, νοσηλεύτηκαν στην Νεογνολογική κλινική από τον Ιανουάριο του 2003 έως και τον Δεκέμβριο του 2006. Όλα τα νεογνά που εισήχθησαν με εικόνα σηψαιμίας και στα οποία έγινε πλήρης εργαστηριακός έλεγχος λοίμωξης, ήταν υποψήφια για συμμετοχή στην ομάδα μελέτης. Εφ΄όσον διαπιστωνόταν θετική καλλιέργεια αίματος ή εγκεφαλονωτιαίου υγρού, για ένα νεογνό με πιθανή λοίμωξη, ή όταν οι καλλιέργειες ήταν αρνητικές αλλά το νεογνό πληρούσε τα κριτήρια κλινικής σήψης που αναφέρονται με λεπτομέρειες στην παράγραφο των Ορισμών στη συνέχεια, εντασσόταν στην ομάδα μελέτης. Παράλληλα, νεογνά που νοσηλεύτηκαν το ίδιο διάστημα στην Κλινική για άλλους ποικίλους λόγους εκτός από λοίμωξη, στα οποία δεν είχε χορηγηθεί αντιβιοτική αγωγή, και τα οποία είχαν ανάλογη ηλικία κύησης και βάρος γέννησης και παρεμφερή ηλικία από τη γέννηση, με τα νεογνά της ομάδας μελέτης, εντάχθηκαν στην ομάδα ελέγχου. Συνολικά, μελετήθηκαν 129 νεογνά, πρόωρα και τελειόμηνα, ηλικίας έως 28 ημερών. Καταγράφηκαν η ηλικία κύησης, το βάρος γέννησης, το φύλο, η ηλικία ένταξης στη μελέτη, η διάγνωση και η έκβαση. Την ομάδα μελέτης αποτέλεσαν 71 νεογνά, με συμπτώματα και σημεία ενδεικτικά συστηματικής λοίμωξης ή νεκρωτικής εντεροκολίτιδας, τα οποία χρειάστηκαν πλήρη έλεγχο λοίμωξης και χορήγηση αντιβιοτικής αγωγής. Πενήντα οκτώ νεογνά χωρίς εικόνα λοιμωξης αποτέλεσαν την ομάδα μελέτης. Για τη διερεύνηση διαφορών στην ανταπόκριση προώρων και τελειομήνων νεογνών στη λοίμωξη, ως προς την έκλυση

χημειοκινών, σχηματίστηκαν επιπλέον τέσσερις υποομάδες: ομάδα μελέτης Ι (42 τελειόμηνα νεογνά με λοίμωξη), ομάδα μελέτης ΙΙ (29 πρόωρα νεογνά με λοίμωξη), ομάδα ελέγχου Ι (38 τελειόμηνα νεογνά χωρίς λοίμωξη), ομάδα ελέγχου ΙΙ (20 πρόωρα νεογνά χωρίς λοίμωξη). Νεογνά με μείζονες συγγενείς ανωμαλίες, χρωμοσωμιακές ανωμαλίες και ενδογενείς διαταραχές μεταβολισμού αποκλείστηκαν από τη μελέτη.

2.2. Ορισμοί

Ως σηψαιμία ορίστηκε η διαπίστωση θετικής καλλιέργειας αίματος ή εγκεφαλονωτιαίου υγρού, σε συνδυασμό με συμβατά κλινικά ευρήματα. Σε περίπτωση αρνητικής καλλιέργειας αίματος, σηψαιμία διαγνώστηκε σε περίπτωση εργαστηριακών ευρημάτων ενδεικτικών λοίμωξης (θετική C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, ουδετεροπενία/ουδετεροφιλία, θρομβοκυτοπενία, αυξημένη ταχύτητα καθίζησης ερυθρών) σε συνδυασμό με συμπτώματα και σημεία από τουλάχιστον τρείς από τις ακόλουθες ομάδες: (α) ωχρότητα ή ίκτερος, (β) επίμονη ταχύπνοια (>60 αναπνοές/λεπτό), (γ) λήθαργος, άπνοια, επίμονη βραδυκαρδία (<100 σφύξεις/λεπτό), σπασμοί ή ευερεθιστότητα, (δ) κακή περιφερική κυκλοφορία, επίμονη ταχυκαρδία (>160 σφύξεις/λεπτό) ή υπόταση, (ε) διάταση κοιλίας ή έμετοι, (στ) πυρετός ή υποθερμία (<36,5 ^{o}C ή >37,5 ^{o}C). [140]

Ως πάσχοντα από νεκρωτική εντεροκολίτιδα (ΝΕΚ) ορίστηκαν τα νεογνά που παρουσίαζαν αιμορραγικές κενώσεις και παθογνωμονική ακτινογραφία κοιλίας με πνευμάτωση εντέρου ή ελεύθερο αέρα στην περιτοναϊκή κοιλότητα.

Ως πρόωρα ορίστηκαν νεογνά με ηλικία κύησης μικρότερη από 37 εβδομάδες.

2.3. Καθορισμός χημειοκινών

Από τα νεογνά που ήταν υποψήφια για ένταξη στη μελέτη ελήφθησαν δύο δείγματα αίματος: το πρώτο κατά τον αρχικό εργαστηριακό έλεγχο λοίμωξης, πριν την έναρξη της αντιβιοτικής αγωγής, και το δεύτερο, 3-5 ημέρες μετά την έναρξη της θεραπείας. Στα νεογνά της ομάδας ελέγχου, πάρθηκε ένα δείγμα, κατά την ένταξη τους στη μελέτη. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν μέσα σε μία ώρα από τη λήψη (1000xg για 10 λεπτά) και ο ορός καταψύχθηκε στους -20 ^{o} C. Οι χημειοκίνες μετρήθηκαν με τη χρήση εμπορικής ανοσολογικής μεθόδου (R&D systems, Human CCL3/MIP-1a:Catalog Number DMA00B, Human ENA-78: Catalog Number DX000, Human CXCL1/GROa: Catalog Number DGR00, Human RANTES: Catalog Number DRN00B). Τα δείγματα αίματος που χρησιμοποιήθηκαν για τις αναλύσεις ήταν υπολείμματα από εξετάσεις ρουτίνας των νεογνών.

2.4. Στατιστική ανάλυση

Τα αποτελέσματα των χημειοκινών δίνονται ως διάμεσες τιμές και εύρος τιμών. Οι τιμές των χημειοκινών μεταξύ της ομάδας μελέτης και της ομάδας ελέγχου συγκρίθηκαν με το Mann-Whitney U test. Οι συγκρίσεις μεταξύ των τιμών των χημειοκινών της ημέρας 0 και της 3-5ης ημέρας έγιναν με το Wilcoxon Signed Ranks test. Οι συγκρίσεις όσον αφορά τα κλινικά χαρακτηριστικά μεταξύ της ομάδας μελέτης και της ομάδας ελέγχου έγιναν με το T-test, και εκφράζονται σαν μέση τιμή και σταθερή απόκλιση. Όλες οι στατιστικές δοκιμασίες έγιναν με το πρόγραμμα SPSS για Windows. Ως επίπεδο σημαντικότητας τέθηκε η τιμή $p<0,05$ σε όλες τις συγκρίσεις.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στη μελέτη εντάχθηκαν συνολικά 129 νεογνά˙ 71 νεογνά (42 τελειόμηνα και 29 πρόωρα) αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου και 58 νεογνά (38 τελειόμηνα και 20 πρόωρα) αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου. Οι ομάδες μελέτης και ελέγχου, τόσο των τελειομήνων όσο και των προώρων νεογνών ήταν ομοιογενείς ως προς το βάρος γέννησης, την ηλικία κύησης, το φύλο και την ηλικία κατά την ένταξη στην μελέτη. Τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των δύο ομάδων φαίνονται αναλυτικά στον Πίνακα 1.

	Ομάδα μελέτης Τελειόμηνα	Ομάδα μελέτης Πρόωρα	Ομάδα ελέγχου Τελειιόμηνα	Ομάδα ελέγχου Πρόωρα
Αριθμός νεογνών	42	29	38	20
Βάρος γέννησης (g)	3135 (± 537)	1305 (± 483,2)	3245 (± 498,3)	1590 (± 366,2)
Ηλικία κύησης (εβδομάδες)	38,4 (± 1,1)	31,1 (± 3,4)	38,1 (± 1,1)	32,8 (± 2,2)
Σχέση άρρενων νεογνών/σύνολο(%)	28/42 (67)	12/29 (41)	26/38 (68)	6/20 (30)
Ηλικία κατά την ένταξη στη μελέτη (ημέρες ζωής)	10 (± 6,3)	11,1 (± 10,3)	9,37 (± 7,6)	9,25 (+ 7,18)

Πίνακας 1. Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά νεογνών μελέτης. Οι τιμές δίνονται σαν μέση τιμή και τυπική απόκλιση.

Από τα νεογνά της ομάδας μελέτης, 16 είχαν πρώιμη σηψαιμία και τα 55 είχαν όψιμη σηψαιμία. Σαράντα-δύο νεογνά είχαν σηψαιμία επιβεβαιωμένη με θετική καλλιέργεια αίματος, 4 νεογνά παρουσίαζαν νεκρωτική εντεροκολίτιδα ενώ τα υπόλοιπα 25 είχαν κλινική διάγνωση σήψης. Από τις 42 θετικές αιμοκαλλιέργειες, σε δεκατέσσερις αναπτύχθηκαν gram θετικά βακτηρίδια, σε είκοσι-τέσσερις αναπτύχθηκαν gram αρνητικά βακτηρίδια και σε τέσσερις περιπτώσεις αναπτύχθηκαν μύκητες. Οι μικροοργανισμοί που απομονώθηκαν αναφέρονται στον πίνακα 2.

Πίνακας 2: Οι μικροοργανισμοί που απομονώθηκαν από τις αιμοκαλλιέργειες των νεογνών της μελέτης.

Μικροοργανισμός	Περιστατικά (ν=42)
Staphylococci Co(-)	11
Escherichia coli	10
Enterobacter cloacae	6
Klebsiella pneumonia	5
Candida albicans	4
group B Streptococcus	2
Pseudomonas aeruginosa	1
Enterococcus faecalis	1
Salmonella	1
Listeria monocytogenes	1

Κατά τη χρονική στιγμή εμφάνισης της λοίμωξης, 10 πρόωρα νεογνά ήταν σε μηχανική υποστήριξη της αναπνοής, ένα είχε παρουσιάσει εγκεφαλική αιμορραγία και δύο είχαν περικοιλιακή λευκαμαλάκυνση. Στην ομάδα ελέγχου, κατά την ένταξη στην μελέτη, δύο νεογνά ήταν σε μηχανική υποστήριξη της αναπνοής, τρία παρουσίαζαν αναπνευστική δυσχέρεια με ανάγκη χορήγησης οξυγόνου και δύο είχαν περικοιλιακή λευκομαλάκυνση.

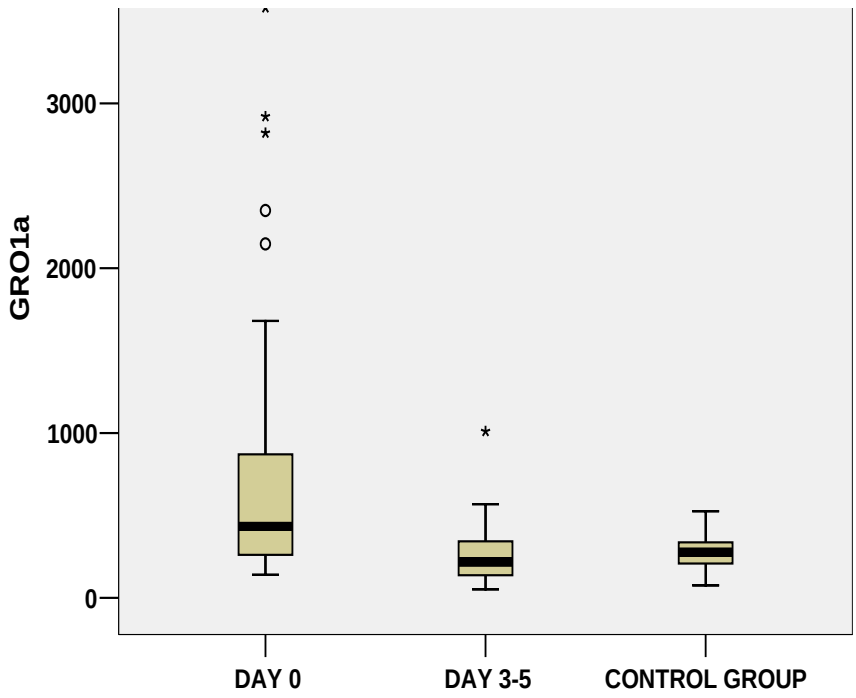
Τα επίπεδα της χημειοκίνης Gro-α βρέθηκαν σημαντικά υψηλότερα κατά την ημέρα εμφάνισης της σηψαιμίας στην ομάδα μελέτης, σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (697pg/ml έναντι 277pg/ml, $p<0,001$). Τα επίπεδα της χημειοκίνης Rantes ήταν σημαντικά χαμηλότερα στην ομάδα μελέτης την ημέρα 0, σε σχέση με τα αντίστοιχα επίπεδα των μαρτύρων (27870pg/ml έναντι 42225pg/ml, $p<0,001$). Τα επίπεδα των χημειοκινών MIP-1a και ENA-78 δεν διέφεραν σημαντικά στις δύο ομάδες. (Πίνακας 3)

Πίνακας 3: Οι τιμές των χημειοκινών Gro-α, RANTES, MIP-1a, and ENA-78 στα νεογνά της ομάδας μελέτης και της ομάδας ελέγχου.

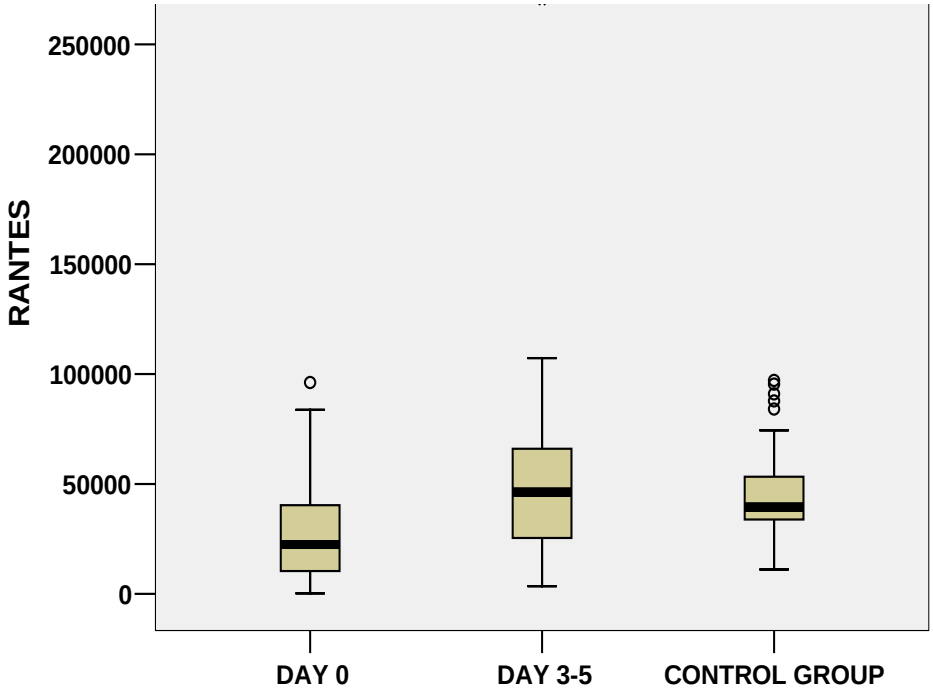
Χημειοκίνες (pg/ml)	**Ομάδα μελέτης** N=71	**Ομάδα ελέγχου** N= 58	p-value
GRO-a	697; 434 140-3580	277; 277 75.9-526	<0.001
RANTES	27870; 22445 225-96160	45225; 39490 11110-97110	<0.001
MIP-1a	75.5; 40.7 3.31-1144	42.5; 43.4 10.2-77.8	0.947
ENA-78	1871; 1436 78.5-9300	2081; 1754 365-5393	0.069

Οι τιμές των χημειοκινών εκφράζονται σαν μέση τιμή, διάμεση τιμή και εύρος τιμών.

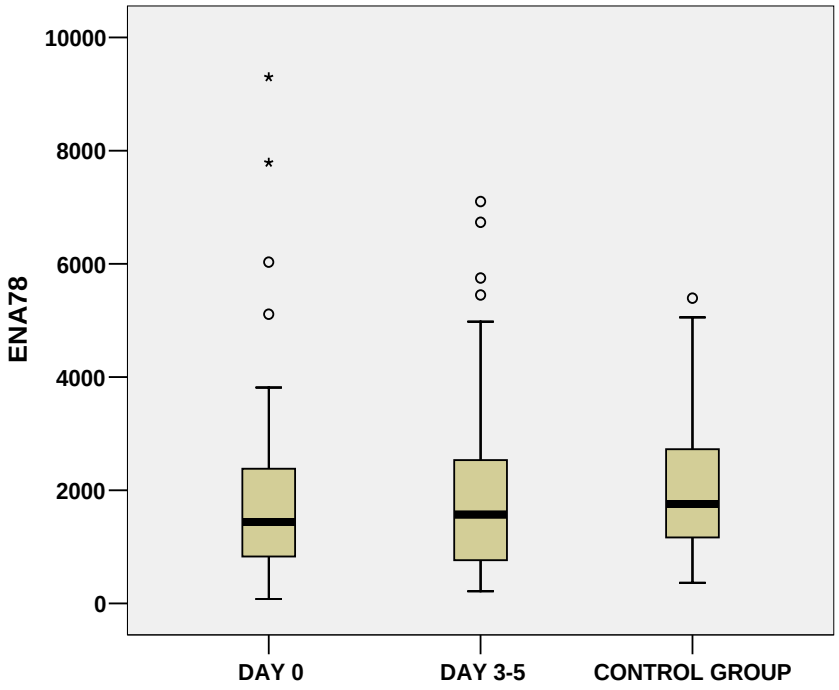
Τα επίπεδα των χημειοκινών Gro-α και Rantes στον ορό των νεογνών με σηψαιμία, την ημέρα 0, διέφεραν σημαντικά από τα αντίστοιχα επίπεδα την ημέρα 3-5, μετά την έναρξη της αντιβιοτικής αγωγής. Συγκεκριμένα, τα επίπεδα της Gro-α ήταν σημαντικά υψηλότερα την ημέρα 0 σε σχέση με την ημέρα 3-5 (433,79pg/ml έναντι 218,24 pg/ml) και της Rantes σημαντικά χαμηλότερα, την ημέρα 0 σε σχέση με την ημέρα 3-5 (22445pg/ml έναντι 46325pg/ml). Τα επίπεδα των χημειοκινών αυτών, την ημέρα 3-5, στα νεογνά με λοίμωξη, δεν διέφεραν σημαντικά από τα αντίστοιχα επίπεδα των μαρτύρων. Οι τιμές όλων των χημειοκινών που μετρήθηκαν τις ημέρες 0 και 3-5, στους ασθενείς και την ημέρα 0 στους μάρτυρες παρουσιάζονται στα διαγράμματα 1-4.



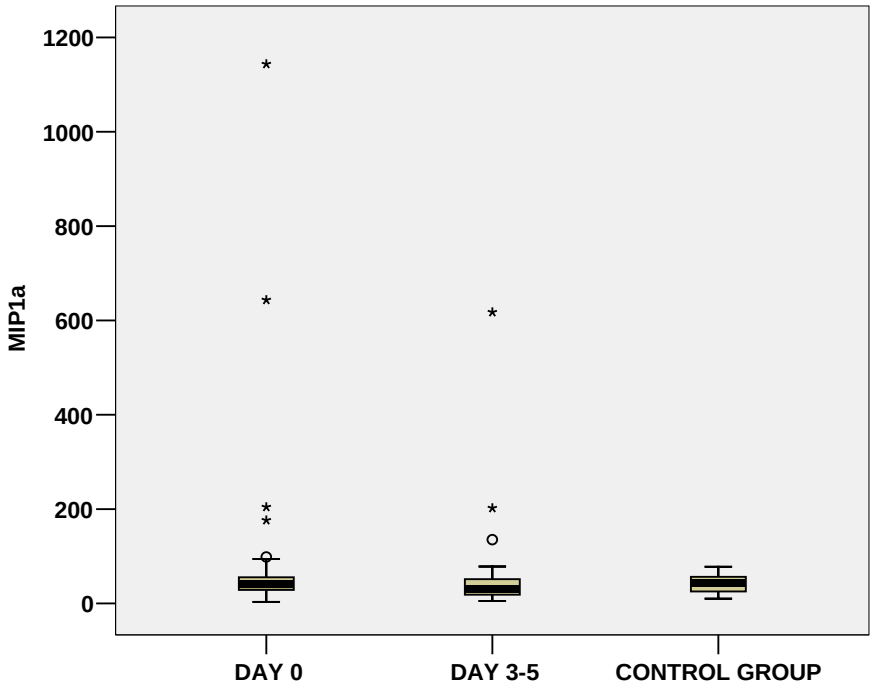
Διάγραμμα 1: Οι συγκεντρώσεις της χημειοκίνης GRO1a στα νεογνά της μελέτης, τις ημέρες 0 και 3-5 και στα νεογνά-μάρτυρες.



Διάγραμμα 2: Οι συγκεντρώσεις της χημειοκίνης RANTES στα νεογνά της μελέτης, τις ημέρες 0 και 3-5 και στα νεογνά-μάρτυρες.



Διάγραμμα 3: Οι συγκεντρώσεις της χημειοκίνης ENA78 στα νεογνά της μελέτης, τις ημέρες 0 και 3-5 και στα νεογνά-μάρτυρες.



Διάγραμμα 4: Οι συγκεντρώσεις της χημειοκίνης MIP1a στα νεογνά της μελέτης, τις ημέρες 0 και 3-5 και στα νεογνά-μάρτυρες.

Όσον αφορά τις υποομάδες προώρων και τελειομήνων νεογνών, διαπιστώθηκε ότι οι συγκεντρώσεις των χημειοκινών Gro-α και Rantes και στις δύο υποομάδες διέφεραν σημαντικά από τις συγκεντρώσεις των αντίστοιχων μαρτύρων. (Πίνακας 4) Τα επίπεδα της χημειοκίνης RANTES στα πρόωρα νεογνά της ομάδας μελέτης ήταν σημαντικά χαμηλότερα από τα αντίστοιχα επίπεδα στα τελειόμηνα νεογνά με λοίμωξη, τόσο κατά την ημέρα 0 όσο και κατά την ημέρα 3-5. Τα επίπεδα των χημειοκινών GRO-a, MIP-1a και ENA-78 δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ τελειομήνων και προώρων νεογνών. (Πίνακας 5)

Πίνακας 4**:** Οι τιμές των χημειοκινών GRO1a, RANTES, MIP-1a και ENA78, στις υποομάδες των τελειομήνων και των προώρων νεογνών της ομάδας μελέτης και της ομάδας ελέγχου.

	Τελειόμηνα νεογνά			Πρόωρα νεογνά		
Χημειοκίνες (pg/ml)	Μελέτης N=42	Ελέγχου N=38	Τιμή-p	Μελέτης N=29	Ελέγχου N=20	Τιμή-p
GRO-a						
Μέση; διάμεση	759; 421	281; 277	<0.05	603; 559	269; 279	<0.05
Εύρος	147-3580	75.9-526		140-1460	124-417	
RANTES						
Μέση; διάμεση	34808; 34100	45694; 38680	<0.05	17334; 11650	44334; 40220	<0.001
Εύρος	2422-96160	16420-97110		225-77830	11110-87790	
MIP-1a						
Μέση; διάμεση	93.8; 42.1	42.7; 40.8	0.969	49.7; 37.8	42.2; 43.4	0.947
Εύρος	3.31-1144	10.20-77.8		19.3-204	20.4-70.1	
ENA-78						
Μέση;διάμεση	1874; 1578	2213; 1970	0.095	1867; 1196	1817; 1486	0.448
Εύρος	78.5-9300	742-5393		217-7790	365-4843	

Πίνακας 5: Οι τιμές των χημειοκινών Gro-a, RANTES, MIP-1a και ENA-78 στις δύο υποομάδες των τελειομήνων και των προώρων νεογνών, την ημέρα 0 και την ημέρα 3-5 από την έναρξη του σηπτικού επισοδείου.

	Ημέρα 0			Ημέρα 3-5		
Χημειοκίνες (pg/ml)	Τελειόμηνα μελέτης	Πρόωρα μελέτης	Τιμή-p	Τελειόμηνα μελέτης	Πρόωρα μελέτης	Τιμή-p
GRO-a						
Μέση;διάμεση	759; 421	603; 559	0.698	286; 277	221; 203	0.052
Εύρος	147-3580	140-1460		52-569	63-1010	
RANTES						
Μέση;διάμεση	34808; 34100	17334; 1650	<0.001	62061; 57155	31879; 26875	<0.001
Εύρος	2422-96160	225-77830		11190-270000	3509-92470	
MIP-1a						
Μέση;διάμεση	93.8; 42.1	49.7; 37.8	0.831	34.7; 29.4	77.9; 32.7	0.631
Εύρος	3.31-1144	19.3-204		5.20-70.1	8.33-618	
ENA-78						
Μέση;διάμεση	1874; 1578	1867; 1196	0.638	2088; 1626	1635; 1261	0.222
Εύρος	78.5-9300	217-7790		215-7100	250-6734	

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι χημειοκίνες αποτελούν μια ομάδα χημειοτακτικών κυτταροκινών, που πέρα από τις ποικίλες άλλες δράσεις τους, έχουν καθοριστική σημασία στη φλεγμονώδη αντίδραση. Η συμβολή τους αφορά τόσο τη διαδικασία της προσκόλλησης των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο των αγγείων στην περιοχή του φλεγμαίνοντος ιστού, όσο και τη διαδικασία μετακίνησής τους μέσα στον ιστό και συσσώρευσης στην περιοχή της φλεγμονής. [56,59] Οι χημειοκίνες, σαν σύνολο, δρουν σε όλα τα λευκά αιμοσφαίρια συμπεριλαμβανομένων και των πρόδρομων μορφών τους, ωστόσο οι οικογένειες στις οποίες ταξινομούνται εμφανίζουν εκλεκτικότητα, με αποτέλεσμα να καθορίζουν τον τύπο των κυττάρων που συσσωρεύονται στις διάφορες παθολογικές καταστάσεις. Οι χημειοκίνες της ομάδας α (CXC) και β (CC) αποτελούν την πλειονότητα των μέχρι σήμερα γνωστών χημειοκινών και αποτελούν χημειοτακτικούς παράγοντες των ουδετερόφιλων (κυρίως η πρώτη ομάδα), των ενεργοποιημένων Τ- λεμφοκυττάρων (μέλη και των δυο ομάδων) καθώς και μονοκυττάρων, ηωσινοφίλων, κυττάρων φυσικών φονέων (κυρίως η δεύτερη ομάδα). [59] Και οι δύο ομάδες, σε συνδυασμό με πλείστα άλλα μόρια, έχουν καθοριστική σημασία στην αντιμετώπιση της εισβολής παθογόνων μικροοργανισμών.

Από την μακρά κατάσταση των μέχρι σήμερα γνωστών χημειοκινών επιλέξαμε δύο α- και δύο β- χημειοκίνες για να διερευνήσουμε αν τα πρόωρα αλλά και τα τελειόμηνα νεογνά έχουν την ικανότητα να ανταποκρίνονται σε ένα σηπτικό ερέθισμα με μεταβολή της συγκέντρωσής τους. Η χημειοκίνη GRO-α (CXCL1) έχει

ταυτοποιηθεί ως χημειοτακτικός παράγοντας των ουδετεροφίλων και παράγεται από ποικιλία κυττάρων, όπως μακροφάγα, ινοβλάστες, ενδοθηλιακά και επιθηλιακά κύτταρα, κερατινοκύτταρα. [60] Στην ίδια ομάδα χημειοκινών ανήκει και η χημειοκίνη ENA-78 (CXCL5), που δρα επίσης κυρίως στα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνα. [60] Η χημειοκίνη MIP-1a (CCL3) εκκρίνεται από ιστικά μακροφάγα και δενδριτικά κύτταρα μετά από διέγερση των TLR2 και TLR4 υποδοχέων τους από προϊόντα του μικροβιακού κυτταρικού τοιχώματος (όπως λιποσακχαρίτη των gram αρνητικών μικροβίων, λιποτειχοϊκού οξέος από τα gram θετικά). [146] Η χημειοκίνη αυτή επάγει τη συσσώρευση και ενεργοποίηση μονοκυττάρων, των οποίων αποτελεί τον κύριο χημειοτακτικό παράγοντα κατά την φλεγμονώδη αντίδραση, καθώς επίσης και κυττάρων φυσικών φονέων, μακροφάγων και άωρων δενδριτικών κυττάρων. [60] Η χημειοκίνη RANTES (CCL5) παράγεται από ποικίλα κύτταρα, όπως ιστικά μακροφάγα, Τ λεμφοκύτταρα, επιθηλιακά κύτταρα και αιμοπετάλια. Κατευθύνει τη μετανάστευση μονοκυττάρων, Τ λεμφοκυττάρων μνήμης, ηωσινοφίλων, βασεόφιλων και κυττάρων φυσικών φονέων και συμμετέχει στην ενεργοποίηση των Τ κυττάρων. [147,149]

Τα ευρήματα της μελέτης δείχνουν ότι οι συγκεντρώσεις των χημειοκινών GRO-α και RANTES διαφέρουν σημαντικά στον ορό των νεογνών με λοίμωξη, τόσο των τελειομήνων όσο και των προώρων, κατά την έναρξη ενός σηπτικού επεισοδίου, σε σχέση με τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις στα υγιή νεογνά. Συγκεκριμένα διαπιστώθηκε ότι η συγκέντρωση της χημειοκίνης GRO-α παρουσιάζει σημαντική αύξηση στα σηπτικά νεογνά. Ανάλογα αποτελέσματα έχουν ανακοινωθεί για πρόωρα νεογνά με σήψη [128], σηπτικούς ενήλικες [92] καθώς και στον

ομφάλιο λώρο πρόωρων νεογνών με πρώιμη σηψαιμία [129]. Η συγκέντρωση της χημειοκίνης RANTES βρέθηκε σημαντικά χαμηλότερη στον ορό των νεογνών με λοίμωξη, κατά τα πρώιμα στάδια του σηπτικού επεισοδίου, σε σχέση με τα νεογνά χωρίς λοίμωξη. Ορισμένες μελέτες σε σηπτικά νεογνά έδειξαν ανάλογη μείωση στη συγκέντρωση των χημειοκινών σε πρόωρα νεογνάμε πρώιμη και όψιμη σηψαιμία [128,138], ενώ σε άλλη μελέτη δεν φάνηκε διαφορά μεταξύ σηπτικών νεογνών με όψιμη σηψαιμία και μαρτύρων.[130] Μελέτες σε ζώα [132,148] καθώς και σε ενήλικες [133,134,135] έχουν δείξει ανάλογη μεταβολή της συγκέντρωσης αυτής της χημειοκίνης κατά τη σήψη.

Είναι ενδιαφέρον ότι τα αυξημένα επίπεδα της χημειοκίνης GRO-a μειώθηκαν γρήγορα κατά τις επόμενες ημέρες, προσεγγίζοντας τα επίπεδα των μαρτύρων την $3^{η}$-$5^{η}$ ημέρα από την έναρξη της αντιβιοτικής θεραπείας. Ανάλογη μεταβολή παρατηρήθηκε και για τα επίπεδα της χημειοκίνης RANTES, με τα επίπεδα της να αυξάνονται γρήγορα και να πλησιάζουν τα επίπεδα των υγιών νεογνών, την ημέρα 3-5 μετά την έναρξη του επεισοδίου. Ανάλογα αποτελέσματα έχει δείξει πρόσφατα δημοσιευμένη μελέτη σε πρόωρα νεογνά [128], ενώ σε άλλη εργασία διαπιστώνονται επίμονα χαμηλές τιμές της χημειοκίνης RANTES, την $4^{η}$ ημέρα μετά τη γέννηση, σε νεογνά με περιγεννητική λοίμωξη, σε σχέση με τους μάρτυρες. [130] Στη δική μας μελέτη, το ποσοστό των νεογνών με περιγεννητική λοίμωξη ήταν πολύ μικρό (16/71) και δικαιολογεί πιθανόν, τη διαφορά αυτή στα αποτελέσματα.

Οι συγκεντρώσεις των χημειοκινών ENA-78 και MIP-1a δεν διέφεραν μεταξύ των νεογνών με λοίμωξη και των μαρτύρων. Ελάχιστες άλλες μελέτες έχουν επικεντρωθεί στη μελέτη των χημειοκινών αυτών σε ασθενείς με λοίμωξη και τα

αποτελέσματά τους είναι αντιφατικά. Σε ενήλικες με βαριά μηνιγγιτιδοκοκκική σηψαιμία καθώς και σε βαρέως πάσχοντα παιδιά, έχει αναφερθεί αύξηση στη συγκέντρωση της χημειοκίνης MIP-1α, σε σχέση με υγιείς μάρτυρες και ασθενείς με ήπια νόσο. [125,134] Στη πρώτη μελέτη που αφορά ενήλικες ασθενείς, διαπιστώνεται θετική συσχέτιση των επιπέδων της χημειοκίνης MIP-1α με τα επίπεδα κυκλοφορούντος λιποπολυσακχαρίτη, που αντανακλά το μικροβιακό φορτίο και επομένως και τη σοβαρότητα της νόσου. [134] Στη βιβλιογραφία αναφέρεται μόνο μία μελέτη σε νεογνά με λοίμωξη, στην οποία διαπιστώθηκε αύξηση της συγκέντρωσης της χημειοκίνης MIP-1a σε νεογνά με περιγεννητική λοίμωξη σε σχέση με τους μάρτυρες ενώ δεν διαπιστώθηκε ανάλογη αύξηση στην περίπτωση των νεογνών με νοσοκομειακές λοιμώξεις. [130] Στην μελέτη αυτή δεν σχολιάζεται η βαρύτητα της λοίμωξης στις δύο ομάδες. Στη δική μας εργασία, ο αριθμός των νεογνών με περιγεννητική λοίμωξη ήταν μικρός (16/71) με αποτέλεσμα να μην μελετήσουμε χωριστά τις περιγεννητικές λοιμώξεις. Είναι ενδιαφέρον να αναφέρουμε ότι σε ενήλικες με σηψαιμία από ουρολοίμωξη δεν διαπιστώθηκε αύξηση της συγκέντρωσης της MIP-1α, ούτε στα ούρα ούτε και στο αίμα των ασθενών, ενώ αντίθετα, η πειραματική χορήγηση ενδοτοξίνης οδήγησε σε μεγάλη, αλλά μικρής διάρκειας, αύξηση της συγκέντρωσής της. [141] Η διαφορά αυτή αποδόθηκε στη σχετικά ήπια συστηματική λοίμωξη των ασθενών που έλαβαν μέρος στη μελέτη. Και στη δική μας μελέτη υπήρχε ένας σημαντικός αριθμός τελειομήνων νεογνών (20/71) με ουρολοίμωξη, με καλή έκβαση, με αποτέλεσμα, ίσως, να τροποποιούνται τα συνολικά αποτελέσματά μας, όσον αφορά την χημειοκίνη αυτή. Ωστόσο, όταν μελετήθηκαν οι υπο-ομάδες τελειομήνων και προώρων νεογνών

χωριστά, δεν διαπιστώθηκε αύξηση των επιπέδων της χημειοκίνης MIP-1α, ούτε στην ομάδα των τελειομήνων νεογνών που περιελάμβανε πολλά νεογνά με ουρολοίμωξη και σηψαιμία, με καλή έκβαση, ούτε όμως και στην υπο-ομάδα των σηπτικών πρόωρων νεογνών, που είχαν βαρύτερη νόσο (5/29 πρόωρα νεογνά κατέληξαν). Αυτό το εύρημα μπορεί ίσως να αποδοθεί στον μικρό αριθμό των βαρέως πασχόντων νεογνών της μελέτης μας ή και να υποδηλώνει μια μειονεκτική απάντηση στη σήψη, στα νεογνά, όσον αφορά την συγκεκριμένη χημειοκίνη. Μελέτες σε ποντίκια και μελέτες in vitro υποστηρίζουν ότι η χημειοκίνη MIP-1α έχει σημαντικό ρόλο στην προαγωγή της έμφυτης άνοσης απάντησης στη σήψη, με ενεργοποίηση μακροφάγων ικανών να θανατώνουν ποικίλους μικροοργαγισμούς (Escherichia coli, Trypanosoma cruzi, Klebsiella pneumonia). [136,144,145] Η μη μεταβολή της συγκέντρωσης της χημειοκίνης MIP1-α, του κύριου χημειοτακτικού παράγοντα των μονοκυττάρων, κατά τη λοίμωξη, πιθανά αποτελεί μια συνιστώσα της ανοσολογικής απάντησης των νεογνών που επηρεάζει σημαντικά την αποτελεσματικότητά της και χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

Η συγκέντρωση στον ορό της χημειοκίνης ENA-78 έχει μετρηθεί σε σηπτικούς ενήλικες και δεν διέφερε σημαντικά από την συγκέντρωσή της σε υγιείς. [92] Ανάλογα αποτελέσματα αναφέρονται και σε μία μελέτη νεογνών με σήψη, όπου επίσης δεν βρέθηκε αυξημένη συγκέντρωση σε σχέση με τους μάρτυρες.[143] Η δική μας μελέτη συμφωνεί με τα παραπάνω ευρήματα, όσον αφορά τα σηπτικά νεογνά, καθώς και τους σηπτικούς ενήλικες. Στην προαναφερθείσα μελέτη νεογνών, ωστόσο, διαπιστώθηκαν υψηλότερα επίπεδα ENA-78, στον ορό νεογνών με νεκρωτική εντεροκολίτιδα, σε σχέση με τα νεογνά με σηψαιμία και με τα νεογνά

χωρίς λοίμωξη. [143] Καθότι στους ασθενείς της δικής μας μελέτης υπήρχαν μόνο 5 νεογνά με νεκρωτική εντεροκολίτιδα, δεν ήταν δυνατόν να μελετηθεί η χημειοκίνη ENA-78 στην συγκεκριμένη αυτή νοσολογική οντότητα.

Τα αποτελέσματα της μελέτης υποδεικνύουν ότι η ανταπόκριση στη λοίμωξη των τελειομήνων και των προώρων νεογνών, ως προς την έκκριση χημειοκινών, είναι ανάλογη. Σε δύο προηγούμενες μελέτες [108,114] στις οποίες μετρήθηκε η συγκέντρωση ορισμένων χημειοκινών (ENA-78, GRO-a, RANTES, MIP-1a, ηωταξίνη, IL-8) σε πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά χωρίς λοίμωξη, δεν διαπιστώθηκε διαφορά στα επίπεδα τους, στις δύο ομάδες. Το εύρημα αυτό επιβεβαιώθηκε και στη δική μας μελέτη, όσον αφορά τις συγκεντρώσεις των χημειοκινών που μετρήθηκαν στα πρόωρα και στα τελειόμηνα νεογνά χωρίς λοίμωξη. Ανάλογα επίπεδα χημειοκινών στον ορό μετρήθηκαν και στις υποομάδες πρόωρων και τελειόμηνων νεογνών με λοίμωξη, όσον αφορά τις χημειοκίνες GRO-a, ENA-78 και MIP-1a. Ωστόσο, διαπιστώνεται σημαντική διαφορά στη συγκέντρωση της χημειοκίνης RANTES στον ορό πρόωρων και τελειόμηνων νεογνών με λοίμωξη. Συγκεκριμένα, διαπιστώθηκαν σημαντικά μειωμένα επίπεδα της χημειοκίνης αυτής στον ορό των προώρων νεογνών με σήψη, τόσο κατά την έναρξη του σηπτικού επεισοδίου, όσο και τρεις με πέντε ημέρες αργότερα. Είναι πιθανό ότι η διαφορά αυτή αντανακλά τη διαφορά στη βαρύτητα της λοίμωξης και στην έκβασή της, μεταξύ των δύο ομάδων της μελέτης μας ˙ 5 από τα 29 πρόωρα νεογνά με σηψαιμία απεβίωσαν, 4 από αυτά λόγω νεκρωτικής εντεροκολίτιδας, ενώ μόνο σε 1 από τα 42 τελειόμηνα νεογνά με λοίμωξη, η έκβαση της νόσου ήταν άσχημη. Τα αποτελέσματα μας αυτά βρίσκονται σε συμφωνία με αποτελέσματα μελετών σε ενήλικες, στις οποίες διαπιστώθηκε ότι

η συγκέντρωση της χημειοκίνης RANTES ήταν αντίστροφα ανάλογη με το APACHE II score [133] και με την δυσμενή έκβαση [133,135]. Μία πρόσφατη μελέτη σε πρόωρα νεογνά έδειξε επίσης ότι η συγκέντρωση της χημειοκίνης αυτής ήταν σημαντικά χαμηλότερη σε νεογνά με σοβαρή σηψαιμία και διάχυτη ενδαγγειακή πήξη, σε σύγκριση με λιγότερο σοβαρά προσβεβλημένα νεογνά [138]. Το εύρημα αυτό αποδόθηκε στη θρομβοπενία των νεογνών με σοβαρή λοίμωξη, καθότι είναι γνωστό ότι μόρια που εκφράζονται στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων, αντιδρούν με υποδοχείς των Τ λεμφοκυττάρων και επάγουν την έκλυση RANTES. [150] Σε παιδιά με μηνιγγιτιδοκοκκική σηψαιμία έχουν επίσης διαπιστωθεί χαμηλότερα επίπεδα RANTES, αντιστρόφως ανάλογα με τη βαρύτητα της νόσου. [139]

Συμπερασματικά μπορούμε να υποστηρίξουμε ότι και στα νεογνά, όπως συμβαίνει και στους ενήλικες, μέλη και των α- και των β- χημειοκινών συμμετέχουν στην αντίδραση του ξενιστή στη σήψη. Ο τρόπος που οι συγκεντρώσεις τους μεταβάλλονται σαν αντίδραση στο σηπτικό επεισόδιο είναι παρόμοιος με αυτόν που παρατηρείται στους ενήλικες. Η χημειοκίνη Gro-a παρουσιάζει αύξηση ενώ η χημειοκίνη RANTES, μείωση στα επίπεδα της, κατά την εμφάνιση της λοίμωξης. Οι συγκεντρώσεις τους έχουν επανέλθει στα επίπεδα των μαρτύρων, λίγες ημέρες μετά την έναρξη της αντιβιοτικής αγωγής. Ανάλογη ανταπόκριση στην χορήγηση αντιβιοτικής αγωγής αναφέρεται και σε ενήλικες. [134,151] Ο τρόπος μεταβολής της συγκέντρωσης των χημειοκινών στον ορό, καθώς και τα επίπεδά τους, δεν διαφέρουν στα πρόωρα από τα τελειόμηνα νεογνά, υποδεικνύοντας ότι και τα ανώριμα πρόωρα έχουν ανάλογη δυνατότητα να εκλύουν μια χημειοτακτική αντίδραση σαν απάντηση σε ένα σηπτικό ερέθισμα. Η βαρύτητα της νόσου

αντανακλάται πιθανά στα επίπεδα της χημειοκίνης RANTES, όπως έχει περιγραφεί και σε ενήλικες.

Περιορισμοί της μελέτης μας αποτελούν κατ΄αρχάς ο μικρός αριθμός των νεογνών με πρώιμη σηψαιμία (16/71), με αποτέλεσμα να μην είναι δυνατή η διερεύνηση της πιθανής μεταβολής της έκλυσης χημειοκινών στην πρώιμη σε σχέση με την όψιμη σηψαιμία. Είναι γνωστό ότι η πρώιμη σηψαιμία οφείλεται κυρίως σε παθογόνα που σχετίζονται με τον γεννητικό σωλήνα ενώ η όψιμη, οφείλεται σε παθογόνα του περιβάλλοντος. Παράλληλα, είναι αποδεκτό ότι οι ανοσολογικοί μηχανισμοί στα νεογνά, στα τελειόμηνα αλλά ιδιαίτερα στα πρόωρα, είναι ανώριμοι κατά τη γέννηση, και ωριμάζουν σταδιακά σε ποικίλο χρονικό διάστημα που μπορεί να κυμαίνεται από εβδομάδες έως και μήνες ή χρόνια. Είναι πιθανή επομένως η διαφοροποίηση της έκλυσης χημειοκινών ως ανταπόκριση σε μικροβιακά ερεθίσματα κατά την πρώιμη και όψιμη σηψαιμία, πράγμα που δεν ήταν δυνατόν να μελετηθεί στην παρούσα μελέτη. Ένας δεύτερος περιορισμός της μελέτης αφορά τον αριθμό των χημειοκινών που μελετήθηκαν. Επελέγησαν δύο αντιπροσωπευτικά μέλη από τις δύο κυριότερες οικογένειες των χημειοκινών, ωστόσο δεν καλύπτουν τη μεγάλη ποικιλότητα των χημειοκινών που συμμετέχουν στην φλεγμονώδη αντίδραση του ξενιστή στη λοίμωξη.

Παρόλο που μελετήθηκαν μόνο τέσσερεις χημειοκίνες ως αντιπροσωπευτικά δείγματα των δύο κυριότερων οικογενειών, η υπόθεση ότι η ελλειμματική χημειοταξία και η μεγαλύτερη ευαισθησία των προώρων νεογνών στις λοιμώξεις, αντανακλούν μια διαφορετική, μειονεκτική έκλυση χημειοκινών σε σχέση με τα τελειόμηνα, δεν υποστηρίζεται από τα αποτελέσματα της μελέτης. Ωστόσο, κάποια

αποτελέσματα της μελέτης μας, δημιουργούν ερωτήματα που χρήζουν διερεύνησης. Η διαφοροποίηση από τους ενήλικες, ως προς την έκλυση της χημειοκίνης MIP-1α τόσο στα πρόωρα όσο και στα τελειόμηνα νεογνά με σήψη, θέτει το ερώτημα αν η διαφορά αυτή σχετίζεται με τη βαρύτητα των λοιμώξεων που μελετήθηκαν ή μήπως οφείλεται σε κάποια μειονεξία της νεογνικής ηλικίας με επακόλουθο την μεγαλύτερη ευπάθεια στις λοιμώξεις στην ηλικιακή αυτή ομάδα. Η πιθανή συσχέτιση της βαρύτητας της λοίμωξης με την χημειοκίνη RANTES που διαπιστώνεται στη μελέτη μας καθώς και σε άλλες μελέτες σε ενήλικες και νεογνά, δημιουργεί το ερώτημα αν η χημειοκίνη αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν δείκτης έκβασης στο αρχικό στάδιο της νόσου και να συμβάλλει στην βέλτιστη αντιμετώπιση του μικρού ασθενούς. Σε ενήλικες έχει δειχθεί η συσχέτιση του μεγέθους έκλυσης και άλλων χημειοκινών (Gro-a, MIP-1a) με τη βαρύτητα της λοίμωξης. Ανάλογη συσχέτιση θα μπορούσε να διερευνηθεί και στα νεογνά, συγκεντρώνοντας μεγαλύτερο αριθμό βαρέως σηπτικών νεογνών, και πιθανά να οδηγήσει επίσης σε ένα δείκτη έκβασης της νόσου. Η μη διαφοροποίηση, τέλος, της έκλυσης των χημειοκινών που μελετήθηκαν μεταξύ προώρων και τελειομήνων νεογνών, με δεδομένη την μειονεκτική χημειοταξία των δεύτερων, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι άλλοι παράγοντες ευθύνονται για το ανοσολογικό αυτό έλλειμμα. Η ανοσολογική απάντηση σε ένα παθογόνο μικροοργανισμό είναι εξαιρετικά σύνθετη και οι χημειοκίνες αποτελούν μια μόνο συνιστώσα της. Επομένως είναι απαραίτητη περαιτέρω μελέτη τόσο όσον αφορά τις χημειοκίνες όσο και άλλες παραμέτρους της φλεγμονώδους αντίδρασης ώστε να προαχθεί η κατανόηση και

κατ΄επέκταση η βελτιωμένη και στοχευμένη αντιμετώπιση των νεογνικών λοιμώξεων.

III.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Mathews TJ, Mac Dorman MF. Infant mortality statistics from 2005 period linked birth/infant death data set. Nat Vital Stat Rep. 2008;57(2):1-32)

2. Martinof A, Leclerc F, Cremer R, Leteurtre S, Fourier C, Hue V. Sepsis in neonates and children: definitions, epidemiology, and outcome. Pediatr Emerg Care 1997;13(4):277-81

3. Goldstein B, Giroir B, Randolph A. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. Pediatr Crit Care Med 2005;6(1):2-8

4. Wynn J, Cornell TT, Wong HP, Shanley TP, Wheeler DS. The Host Response to sepsis and developmental impact. Pediatrics 2010;125;1031-1041

5. Fanaroff AA, Korones SB, Wright LL, Verter J, Poland RL, Bauer CR, Tyson JE, Philips JB 3rd, Edwards W, Lucey JF, Catz CS, Shankaran CS, Oh W. Incidence, presenting features, risk factors and significance of late onset septicemia in very low birth weight infants. The National Institute of Child Health an Human Development Neonatal Research Network. Pediatr Infect Dis J 1998;17(7):593-598

6. Sankar MJ, Agarwal R, Deorari AK, Paul VK. Sepsis in the newborn. Indian J Pediatr 2008;75(3):261-266

7. Fischer JE, Harbath S, Agthe AG, Benn A, Ringer SA, Goldman DA, Fanconi S. Quantifying uncertainty: physicians' estimates of infection in critically ill neonates and children. Clin Infect Dis 2004;38(10):1383-1390

8. Ng PC. Diagnostic markers of infection in neonates. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2004;89(3):F229-F235

9. Wynn JL, Wong HR. Pathophysiology and treatment of septic shock in neonates. Clin Perinatol 2010;37(2):439-479

10. Wynn JL, Levy O. Role of innate host defense in susceptibility to early-onset neonatal sepsis. Clin Perinatol 2010;37(2):307-337

11. Kapur R, Yoder MC, Polin RA. Developmental Immunology. In: Fanaroff AA, Martin RJ. Editors. NEONATAL –PERINATAL MEDICINE. Diseases of the Fetus and Infant, 7th edition. Philadelphia: Elsevier Mosby; 2002. p 676-706

12. Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. Chest 1997;112:235-243

13. Powell KR. Sepsis and shock. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, editors. Nelson Textbook of Pediatrics. Philadelphia: WB Saunders Company 2000 p 747-751

14. Schultz C, Temming P, Bucsky P, Göpel W, Strunk T, Härtel C. Immature anti-inflammatory response in neonates. Clin immunol 2004;13

15. Allgaier B, Shi M, Luo D, Koenig JM. Spontaneous and Fas-mediated apoptosis are diminished in umbilical cord blood neutrophils compared with adult neutrophils. J Leukoc Bio 1998;64(3):331-336

16. Hanna N, Vasquez P, Pham P, Heck DE, Laskin JD, Laskin DL, Weinberger B. Mechanisms underlying reduced apoptosis in neonatal neutrophils. Pediatr Res 2005;57(1):56-62

17. Koenig JM, Stegner JJ, Schmeck AC, Schmeck AC, Saxonhouse MA, Kenigsberg LE. Neonatal neutrophils with prolonged survival exhibit enhanced inflammatory and cytotoxic responsiveness. Pediatr Res 2005;57(3):424-429

18. Ganatra HA, Stoll BJ, Zaidi AKM. International perspective on early-onset neonatal sepsis Clin Perinatol 2010;37(2):501-523

19. Edwards MS. Postnatal Bacterial Infections. In: Fanaroff AA, Martin RJ. Editors. NEONATAL –PERINATAL MEDICINE. Diseases of the Fetus and Infant, 7th edition. Philadelphia: Elsevier Mosby; 2002. p 706-745

20. Carr R. Neutrophil production and function in newborn infants. Br J Haematol 2000;110:18-28
21. Patel SJ, Saiman L. Antibiotic resistance in neonatal intensive care unit pathogens: Mechanisms, clinical impact and prevention including antibiotic stewardship. Clin Perinatol 2010;37(3):547-563
22. Adkins B, Leclerc C, Marshall-Clarke S. Neonatal adaptive immunity comes of age. Nat Rev Immunol 2004;4(7):553-564
23. Levy O. Innate immunity of the newborn: basic mechanisms and clinical correlates. Nat Rev Immunol 2007;7(5):379-390
24. Wynn JL, Scumpia PO, Winfield RD, Delano MJ, Kelly-Scumpia K,Barker T, Ungaro R, Levy O, Mpldawer LL. Defective innate immunity predisposes murine neonates to poor sepsis outcome but is reversed by TLR agonists. Blood 2008;112(5):1750-1758
25. Starner TD, Agerberh B, Gudmundsson GH, Mc Cray PB Jr. Expression and activity of beta-defensins and LL-37 in the developing human lung. J Immunol 2005;174(3):1608-1615
26. Brown DG. Dectin-1: a signaling non-TLR pattern recognition receptor. Nat Rev Immunol 2006;6(1):33-43
27. Kawai T, Akira S. The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition. Int Immunol 2009;21(4):317-337
28. Föster-Waldl E, Sadeghi D, Tamandi D, Gerhold B, Hallwirth U, Rohrmeister K, Hayde M, Prusa AR, Herkner K, Boltz-Nitulescu G, Pollak A, Spittler A. Monocyte toll-like receptor 4 expression and LPS-induced cytokine production increase during gestational aging. Pediatr Res 2005;58(1):121-124
29. Mc Evoy LT, Zakem-Cloud H, Tosi MF. Total cell content of CR3 (CD11b/CD18) and LFA-1 (CD11a/CD18) in neonatal neutrophils: relationship to gestational age. Blood 1996;87(9): 3929-3933
30. Buhrer C, Graulich J, Stibenz D, Dudenhausen JW, Obladen M. L-selectin is down regulated in umbilical cord blood granulocytes and monocytes of newborn infants with acute bacterial infection. Pediatr Res 1994;36(6):799-804

31. Kim SK, Keeney SE, Alpard SK, Schmalstieq FC. Comparison of L-selectin and CD11b on neutrophils of adults and neonates during the first month of life. Pediatr Res 2003;53(1):132-136

32. Nupponen I, Pesonen E, Andersson S, Mäkelä A, Turunen R, Kautiainen H, Repo H. Neutrophil activation in preterm infants who have respiratory distress syndrome. Pediatrics 2002;110(1 Pt 1):36-41

33. Willems F, Vollstedt S, Suter M. Phenotype and function of neonatal DC. Eur J Immunol 2009;39(1):26-35

34. Klein RB, Fischer TJ, Gard SE, Biberstein M, Rich KC, Stiehm ER. Decreased mononuclear and polymorphonuclear chemotaxis in human newborns, infants, and young children. Pediatrics 1977;60(4):467-472

35. Hallwirth U, Pomberger G, Zaknun D, Szepfalusi Z, Horcher E, Pollak A, Roth E, Spittler A. Monocyte phagocytosis as a reliable parameter for predicting early-onset sepsis in very low birthweight infants. Early Hum Dev 2002;67(1-2):1-9

36. Weinschenk NR, Farina A, Bianchi DW. Premature infants respond to early-onset and late-onset sepsis with leucocyte activation. J Pediatr 2000;137(3):345-350

37. Engle WA, McGuire WA, Schreiner RL, Yu Pl. Neutrophil storage pool depletion in neonates with sepsis and neutropenia. J Pediatr 1988;113(4):747-749

38. Christensen RD, Bradley PP, Rothstein G. The leucocyte left shift in clinician and experimental neonatal sepsis. J Pediatr 1981;98(1):101-105

39. Shigeoka AO, Charette RP, Wyman ML, Hill HR. Defective oxidative metabolic responses of neutrophils from stressed neonates. J Pediatr 1981;98:392-398

40. Schuit K, De Biasio R. Kinetics of phagocyte response to group B streptococcal infections in newborn rats. Infect Immunol 1980;28:319-324

41. Rittirsch D, Flierl MA, Ward PA. Harmful molecular mechanisms in sepsis. Nat Rev Immunol 2008;8(10):776-787

42. Zilow EP, Hauck W, Linderkamp O, Zilow G. Alternative pathway activation of the complement system in preterm infants with early onset infection. Pediatr Res 1997;41(3):334-339

43. Zilow G, Zilow EP, Burger R, Linderkamp O. Complement activation in newborn infants with early onset infection. Pediatr Res 1993;34(2):199-203

44. Benitz WE, Han MY, Madan A, Ramachandra P. Serial serum C-reactive protein levels in the diagnosis of neonatal infection. Pediatrics 1998;102(4):E41

45. Madden NP, Levinsky RJ, Bayston R, Harvey B, Turner MW, Spitz L. Surgery, sepsis, and non specific immune function in neonates. J Pediatr Surg 1989;24(6):562-566

46. Ganz T. Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. Nat Rev Immunol 2003;3(9):710-720

47. Nupponen I, Turunen R, Nevalainen T, Peuravuori H, Pohjavuori M, Repo H, Andersson S. Extracellular release of bactericidal/ permeability-increading protein in newborn infants. Pediatr Res 2002;51(6):670-674

48. Dorschner RA, Lin KH, Murakami M, Gallo RL. Neonatal skin in mice and humans expresses increased levels of antimicrobial peptides: innate immunity during development of the adaptive response. Pedoatr Res 2003;53(4):566-572

49. Walker VP, Akinbi HT, Meinzen-Derr J, Narendran V, Visscher M, Hoath SB. Host defense proteins on the surface of neonatal skin: implications for innate immunity. J Pediatr 2008;152(6):777-781

50. Kai-Larsen Y, Bergsson G, Gudmundsson GH, Printz G, Jönvall H, Marchini G, Agerberth B. Antimicrobial components of the neonatal gut affected upon colonization. Pediatr Res 2007;61(Pt1):530-536

51. Yoshio H, Lagercrantz H, Gudmundsson GH, Agerberth B. First line of defense in early human life. Semin Perinatol 2004;28(4):304-311

52. Schaller-Bals S, Schulze A, Bals R. Increased levels of antimicrobial peptides in tracheal aspirates of newborn infants during infection. Am J Resp Crit Care Med 2002;165(7): 992-995

53. Nathe KE, Parad R, Van Marter LJ, Lund CA, Suter EE, Hernandez-ziaz S, Boush EB, Ikonomu E Gallington L, Morey JA, Zerman AM, Mcnamara M, Levy O. Endotoxin-directed innate immunity in tracheal aspirates of mechanically ventilated human neonates. Pediatr Res 2009;66(2):191-196

54. Revenis ME, Kaliner MA. Lactoferrin and lysozyme deficiency in airway secretions: association with the development of bronchopulmonary dysplasia. J Pediatr 1992;121(2):262-270

55. Christensesn RD. Neutrophil kinetics in the fetus and neonate. Am J Pediatr Hematol Oncol 1989;11:215-223

56. Luster AD. Chemokines - chemotactic cytokines that mediate inflammation. New Eng J Med 1998;338:436-45

57. Mariscalco MM, Tcharmtchi MH, Smith CW. P-Selectin support of neonatal neutrophil adherence under flow: contribution of L-selectin, LPA-1, and ligand(s) for P-selectin. Blood 1998;91:4776-85

58. Koenig JM, Simon J, Anderson DC, Smith E, Smith CW. Diminished soluble and total cellular L-selectin in cord blood is associated with its impaired shedding from activated neutrophils. Pediatr Res 1996;39:616-21

59. Moser B, Willimann K. Chemokines: role in inflammation and immune surveillance. Ann Reum Dis 2004;63(Suppl II):ii84-ii89

60. Rollins BJ. Chemokines. Blood 1997;90:909-28

61. Linderkamp O, Ruef P, Brenner B, et al. Passive deformability of mature, immature, and active neutrophils in healthy and septicemic neonates. Pediatr Res 1998;44(6):946-950

62. Wright Jr WC, Ank BJ, Herbert J, Stiehm ER. Decreased bactericidal activity of leucocytes of stressed newborn infants. Pediatrics 1975;56:579-584

63. Falconer AE, Carr R, Edwards SW. Impaired neutrophil phagocytosis in preterm neonates: lack of correlation with expression of immunoglobulin or complement receptors. Biol Neonate 1995;68:264-269

64. Delves PJ, Roitt IM. The immune system: First of two parts. N Engl J Med 2000;343:37-49

65. Rossi D, Zlotnik A. The biology of chemokines and their receptors. Annu Rev Immunol 2000;18:217-42

66. Zlotnik A, Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. Immunity 2000;12:121-7

67. Murphy PM. International Union of Pharmacology. XXX. Update on chemokine receptor nomenclature. Pharmacol Rev 2002;54:227-9

68. Moser B, Wolf M, Waltz A, Loetcher P. Chemokines: Multiple levels of leucocyte migration control. Trends Immunol 2004;25:75-84

69. Huber AR, Kunkel SL, Todd RF 3rd, Weiss SJ. Regulation of transendothelial neutrophil migration by endogenous interleukin-8. Science 1991;254:99-102

70. Jiang Y, Beller DI, Frendl G, Graves DT. Monocyte chemoattractant protein-1 regulates adhesion molecule expression and cytokine production in human monocytes. J Immunol 1992;148:2423-8

71. Vaddi K, Newton RC. Regulation of monocyte integrin expression by beta-family chemokines. J Immunol 1994;153:4721-32

72. Bischoff SC, Krieger M, Brunner T, Dahinden CA. Monocyte chemotactic protein 1 is a potent activator of human basophils. J Exp Med 1992;175:1271-5

73. Clark RA. Activation of the neutrophil respiratory burst oxidase. J Infect Dis 1999;179 Suppl 2:S309-17

74. Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. N Engl J Med 1989;320:365-376

75. Strieter RM, Standiford TJ, Huffnagle GB, Colletti LM, Lukacs NW, Kunkel SL. “The good, the bad and the ugly”. The role of chemokines in models of human disease. J Immunol 1996;156:3583-6

76. Greenberger MJ, Strieter RM, Kunkel SL, Danforth JM, Laichalk LL, McGillicuddy DC, Standiford TJ. Neutralization of macrophage inflammatory protein-2 attenuates

neutrophil recruitment and bacterial clearence in murine Klebsiella pneumonia. J Infect Dis 1996;173:159-65

77. Algood HM, Chan J, Flynn JL. Chemokines and tuberculosis. Cytokine Growth Factor Rev 2003;14:467-77

78. Rhoades ER, Cooper AM, Orme IM. Chemokine response in mice infected with Mycobacterium tuberculosis. Infect Immun 1995;63:3871-7

79. Cocchi F, DeVico AL, Garzino-Demo A, Arya SK, Gallo RC, Lusso P. Identification of RANTES, MIP-1 alpha , and MIP-1 beta as the major HIV-suppressive factors produced by CD8+ T cells. Science 1995;270:1811-1815

80. Bleul CC, Farzan M, Choc H, Parolin C, Clark-Lewis I, Sodroski J, Springer TA. The lymphocyte chemoattractant SDF-1 is the SDF-1 is a ligand for LESTR/fusin and blocks HIV-1 entry. Nature 1996;382:829-33

81. Paxton WA, Martin SR, Tse D, O'Brien TR, Skurnick J, Van Devanter NL, Padian N, Braun JF, Kotler DP, Wolinsky SM, Koup RA. Relative resistance to HIV-1 infection of CD4 lymphocytes from persons who remain uninfected despite multiple high-risk sexual exposure. Nature Med 1996;2:412-417

82. Arvanitakis L, Geras-Raaka E, Varma A, Gershengorn MC, Cesarman F. Human herpesvirus KSHV encodes a constitutively active G-protein-coupled receptor linked to cell proliferation. Nature 1997;385:347-350

83. Call DR, Nemzek JA, Ebong SJ, Bolgos GL, Newcomb DE, Remick DG. Ratio of local to systemic chemokine concentrations regulates neutrophil recruitment. Am J Pathol 2001;158:715-721

84. Repine JE, Beehler CJ. Neutrophils and adult respiratory distress syndrome: two interlocking perspectives in 1991. Am Rev Respir Dis 1991;144:251-2

85. Steinberg KP, Milberg JA, Martin TR, Maunder RJ, Cockrill BA, Hudson LD. Evolution of bronchoalveolar cell populations in the adult respiratory distress syndrome. Am J Respir Crit Care Med 1994;150:113-22

86. Calkins CM, Bensard DD, Patrick DA, Karrer FM, McIntyre RC. Altered neutrophil function in the neonate protects against sepsis-induced lung injury. J Pediatr Surg 2002;37:1042-1047

87. Knapp S, Thalhammer F, Locker GJ, Laczika K, Hollenstein U, Frass M, Winkler S, Stoiser B, Wilfing A, Burgmann H. Prognostic value of MIP-1alpha, TGF-beta2, sELAM-1, and sVCAM-1 in patients with gram-positive sepsis. Clin Immunol Immunopathol 1998;87:139-44

88. Hageman JR, Caplan MS. An introduction to the structure and function of inflammatory mediators for clinicians. Clin Perinatol 1995;22:251-261

89. Meadow W, Rudinsky B. Inflammatory mediators and neonatal sepsis. Rarely has so little been known by so many about so much. Clin Perinatol 1995;22:519-36

90. Grob PM, David E, Warren TC, DeLeon RP, Farina PR, Homon CA. Characterization of a receptor for human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor/interleucin-8. J Biol Chem 1990;265:8311-6

91. Holmes WE, Lee J, Kuang WJ, Rice GC, Wood WI. Structure and functional expression of the human interleukin-8 receptor. Science 1991;253:1278-80

92. Cummings CJ, Martin TR, Frevert CW, Quan JM, Wong VA, Mongovin SM, Hagen TR, Steinberg KP, Goodman RB. Expression and function of the chemokine receptors CXCR1 and CXCR2 in sepsis. J Immunol 1999;162:2341-2346

93. Strieter RM, Polverini PJ, Kunkel SL, Arenberg DA, Burdick MD, Kasper J, Dzuiba J, Van Damme J, Waltz A, Marriott D, Kunkel S. The functional role of the ELR motif in CXC chemokine-mediated angiogenesis. J Biol Chem 1995;270:27348-57

94. Arenberg DA, Polverini PJ, Kunkel SL, Shanafelt A, Hesselgesser J, Horuk R, Strieter RM. The role of CXC chemokines in the regulation of angiogenesis in non-small cell lung cancer. J Leucocyte Biol 1997;62:554-62

95. Keane MP, Arenberg DA, Lynch JP, Whyte RI, Iannettoni MD, Burdick MD, Wilke CA, Morris SB, Glass MC, DiGiovine B, Kunkel SL, Strieter RM. The CXC chemokines, IL-8

and IP-10, regulate angiogenic activity in idiopathic pulmonary fibrosis. J Immunol 1997;159:1437-43

96. Garcia-Zepeda EA, Combadiere C, Rothenberg ME, Sarafi MN, Lavigne F, Hamid O, Murphy PM, Lusler AD. Human monocyte chemoattractant protein (MCP)-4 is a novel CC chemokine with activities on monocytes,eosinophils, and basophils induced in allergic and nonallergic inflammation that signals through the CC chemokine receptors (CCR)-2 and –3. J Immunol 1996;157:5613-26

97. Minshall EM, Cameron L, Lavigne F, Leung DY, Hamilos D, Garcia-Zepeda EA, Rothenberg M, Luler AD, Hamid O. Eotaxin mRNA and protein expression in chronic sinusitis and allergen induced nasal responses in seasonal allergic rhinitis. Am J Respir Cell Mol Biol 1997;17:638-90

98. Luster AD, Rothenberg ME. Role of the monocyte chemoattractant protein and eotaxin subfamily of chemokines in allergic inflammation. J Leucoc Biol 1997;62:620-33

99. Gillitzer R, Wolff K, Tong D, Muller C, Yoshimura T, Hartmann AA, Stingl G, Berger R. MCP-1 mRNA expression in basal keratinocytes of psoriatic lesions. J Invest Dermatol 1993;101:127-31

100. Nelken NA, Coughlin SR, Gordon D, Wilcox JN. Monocyte chemoattractant protein-1 in human atheromatous plaques. J Clin Invest 1991;88:1121-7

101. Arya M, Patel HR, Williamson M. Chemokines: key players in cancer. Cur Med Res Opin 2003;19:557-64

102. Brew R, Erikson JS, West DC, Kinsella AR, Slavin J, Christmas SE. Interleucin-8 as an autocrine growth factor for human colon carcinoma cells in vitro. Cytokine 2000;12:78-85

103. Miyamoto M, Shimizu Y, Okada K, Kashii Y, Higuchi K, Watanabe A. Effect of interleukin-8 on production of tumor-associated substances and autocrine growth of human liver and pancreatic cancer cells. Cancer Immunol Immunother 1998;47:47-57

104. Fujisawa N, Sakao Y, Hayashi S, Hadden WA 3rd, Harmon CL, Miller EJ. alpha-Chemokine growth factors for adenocarcinomas; a synthetic peptide inhibitor for alpha-chemokines inhibits the growth of adenocarcinoma cell lines. J Cancer Res Clin Oncol 2000;126;19-26

105. Moore BB, Keane MP, Addison CL, Arenberg DA, Strieter RM. CXC chemokine modulation of angiogenesis: the importance of balance between angiogenic and angiostatic members of the family. J Investig Med 1998;46:113-120

106. Ransohoff RM. Chemokines and chemokine receptors: Standing at the crossroads of immunobiology and neurobiology. Immunity 2009;31(5):711-721

107. Franz AR, Steinbach G, Kron M, Pohlandt F. Interleukin-8: a valuable tool to restrict antibiotic therapy in newborn infants. Acta Paediatr 2001;90(9):1025-1032

108. Schultz C, Rott C, Temming P, Schlenke P, Möller JC, Bucsky P. Enhanced interleukin-6 and interleukin-8 synthesis in term and preterm infants. Ped Res 2002;51:317-322

109. Martin H, Olander B, Norman M. Reactive hyperemia and interleukin 6, interleukin 8, and tumor necrosis factor-alpha in the diagnosis of early-onset neonatal sepsis. Pediatrics 2001;108:E61

110. Mehr SS, Doyle LW, Rice GE, Vervaart P, Henschke P. Interleukin-6 and interleukin-8 in newborn bacterial infection. Am J Perinatol 2001;18:313-324

111. Lam H, Ng P. Biochemical markers of neonatal sepsis. Pathology 2008;40:141-148

112. Speer CP. Inflammatory mechanisms in neonatal chronic lung disease. Eur J Pediatr 1999;158(Suppl 1):S18-S22

113. De Dooy JJ, Mahieu LM, Van Bever HP. The role of inflammation in the development of chronic lung disease in neonates. Eur J Pediatr 2001;160:457-463

114. Sullivan SE, Staba SL, Gersting JA, Hutson AD, Theriaque D, Christensen RD, Calhoun DA. Circulating concentrations of chemokines in cord blood, neonates and adults. Pediatr Res 2002;51:653-7

115. Hariharan D, Ho W, Cutilli J, Campbell DE, Douglas SD. C-C chemokine profile of cord blood mononuclear cells: selective defect in RANTES production. Blood 2000;95:715-8

116. Dollner H, Vatten L, Linnebo I, Zanussi GF, Laerdal A, Austgulen R. Inflammatory mediators in umbilical plasma from neonates who develop early-onset sepsis. Biol Neonate 2001;80:41-7

117. Ho WZ, Lioy J, Song L, Cutilli JR, Polin RA, Douglas SD. Infection of cord blood monocyte-derived macrophages with human immunodeficiency virus type 1. J Virol 1992;66:573-9

118. Sperduto AR, Bryson YJ, Chen IS. Increased susceptibility of neonatal monocyte/macrophages to HIV-1 infection. AIDS Res Hum Retroviruses 1993;9:1277-85

119. Wasik TJ, Bratosiewicz J, Whiteman VE, Trinchieri G, Lischner HW, Kozbor D. Protective role of beta-chemokines associated with HIV-specific Th responses against perinatal HIV transmission. J Immunol 1999;162(7):4355-4364

120. Kaushik SL, Parmar VR, Grover N, Grover PS, Kaushik R. Neonatal sepsis in hospital born babies. J Commun Dis 1998;30:147-152

121. Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, et al. Late onset sepsis in very low birth weight neonates: the experience of the NICHD Neonatal Research Network. Pediatrics 2002;110:285-291

122. Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA et al. Changes in pathogens causing early-onset sepsis in very-low-birth-weight infants. N Engl J Med 2002;347:240-247

123. Schultz C, Temming P, Bucsky P, Göpel W, Strunk T, Härtal C. Immature anti-inflammatory response in neonates. Clin Exp Immunol 2004;135:130-136

124. Fox SE, Lu W, Maheshwari A, Christensen RD, Calhoun DA. The effects and comparative differences of neutrophil specific chemokines on neutrophil chemotaxis of the neonate. Cytokine 2005;29:135-140

125. Vermont CL, Hazelset JA, de Kleijn ED, van den Dobbelsteen GPJM, de Groot R. CC and CXC chemokine levels in children with meningococcal sepsis accurately predict mortality and disease severity. Crit Care 2006;10(1):R33

126. Z'Graggen K, Waltz A, Mazzuchelli L, Streter RM, Mueller C. The C-X-C chemokine ENA-78 is preferentially expressed in intestinal epithelium in inflammatory bowel disease. Gastroenterology 1997;113:808-816

127. Martin TR. Lung cytokines and ARDS. Chest 1999;116(1Suppl):2S-8S

128. Ng P, Li K, Chui K, Leung T, Wong R, Chu W, Wong E, Fok T. IP-10 is an early diagnostic marker for identification of late-onset bacterial infection in preterm infants. Pediatr Res 2007;61:93-98

129. Królak-Olejnik B, Beck B, Olejnik I. Umbilical serum concentrations of chemokines (RANTES and MGSA/GRO-a) in preterm and term neonates. Pediatr Int 2006;48;586-590

130. Fotopoulos S, Mouchtouri A, Xanthou G, Lipsou N, Petrakou E, Xanthou M. Inflammatory chemokine expression in the peripheral blood of neonates with perinatal asphyxia and perinatal or nosocomial infections. Acta Paediatr 2005;94:800-806

131. John CC, Opika-Opoka R, Byarugaba J, Idro R, Boivin MJ. Low levels of RANTES are associated with mortality in children with cerebral malaria. JID 2006;194:837-845

132. Frangogiannis NG, Mendoza LH, Smith CW, Michael LH, Entman ML. Induction of the synthesis of the C-X-C interferon-[gamma]-inducible protein-10 in experimental canine endotoxemia. Cell Tissue Res 2000;302:365-376

133. Cavaillon JM, Adib-Conquy M, Fitting C, Adrie C, Payen D. Cytokine cascade in sepsis. Scand J Infect Dis 2003;35:535-544

134. Møller ASW, Bjerre A, Brusletto B, Joø GB, Brandtzaeg P, Kierulf P. Chemokine patterns in meningococcal disease. J Infect Dis 2005;191,768-775

135. Appay V, Rowland-Jones SL. RANTES: a versatile and controversial chemokine. Trends Immunol 2001;22:83-87

136. Takahashi H, Tashiro T, Miyazaki M, Kobayashi M, Pollard RB, Suzuki F. An essential role of macrophage inflammatory protein 1(/CCL3 on the expression of host's innate immunities against infectious complications. J Leukoc Biol 2002;72:1190-7

137. Goodman RB, Strieter RM, Martin DP, Steinberg KP, Milberg JA, Maunder RJ, Kunkel SL, Walz A, Hudson LD, Martin TR. Inflammatory cytokines in patients with persistence of the acute respiratory distress syndrome Am J Respir Crit Care Med 1996; 154(3): 602-611.

138. Ng P, Li K, Leung T, Wong R, Li G, Chui K, Wong E, Cheng F, Fok T. Early prediction of sepsis-induced disseminated intravascular coagulation with interleukin-10, interleukin-6, and RANTES in preterm infants. Clin Chem 2006;52:1181-1189

139. Carrol ED, Thomson APJ, Mobbs KJ, Hart CA. The Role of RANTES in Meningococcal Disease. J Infect Dis 2000;182(1):363-366

140. Ng P, Cheng SH, Chui KM, Fok TF, Wong MY, Wong W, Wong RP, Cheung KL. Diagnosis of late onset neonatal sepsis with cytokines, adhesion molecules, and C-reactive protein in preterm very low birthweight infants. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 1997; 77: F221-F227

141. Olszyna DP, Prinks JM, Dekkers PEP, De Jonge E, Speelman P, Van Deventer SJH, Van Der Poll T. Sequential Measurements of Chemokines in Urosepsis and Experimental Endotoxemia J Clin Immunol 1999;19(6):399-505

142. Dammann O, Phillips TM, Allred EN, O'Shea TM, Paneth N, Van Marter LJ, Bose C, Ehrenkranz RA, Bednarek FJ, Naples M, Leviton A. Mediators of fetal inflammation in extremely low gestational age newborns. Cytokine 2001;13(4):234-239

143. Harris MC, D' Ango CT, Gallher PR, Kaufman D, Evans J, Kilpatrick L. Cytokine elaboration in critically ill infants with bacterial sepsis, necrotizing enterocolitis, of sepsis syndrome: Correlation with clinical parameters of inflammation and mortality. J Pediatr 2005;147:462-468

144. Villalta, F, Zhang, Y, Bibb, KE., Kappes, JC, Lima, MF. The cystein-cystein family of chemokines RANTES, MIP-1α, and MIP-1ß induce trypanocidal activity in human macrophages via nitric oxide Infect. Immun. 1998;66,4690-4695

145. Kobayashi M, Takahashi H, Wolf SE, Herndon DN, Pollard RB, Suzuki F. (2001) The regulation of CLP-induced infections complications by MIP-1α in SCID mice inoculated with burned patient's PBMC J. Allergy Clin. Immunol.2001;107:,S82

146. Luster A.D. The role of chemokines in linking innate and adaptive immunity. Curr Opin Immunol 2002;14:129-135

147. Oppenheim JJ, Zachariae CO, Mukaida N, Matsushima K. Properties of the novel proinflammatory supergene "intercrine" cytokine family. Annu Rev Immunol 1991;9:617-48

148. Kopydlowski KM, Salkowski CA, Cody MJ, van Rooijen N, Major J, Hamilton TA, Vogel SN. Regulation of macrophage chemokine expression by lipopolysaccharide in vitro and in vivo. J Immunol 1999;168:3195-3204

149. Schall TJ, Bacon K, Toy KJ, Goeddel DV Selective attraction of monocytes and T lymphocytes of the memory phenotype by cytokine RANTES. Nature 1990;347:669-71.

150. Waage A, Brandtzaeg P, Halstensen A, Kierulf P, Espevik T. The complex pattern of cytokines in serum from patients with meningococcal septic shock: association between interleukin 6, interleukin 1 and fatal outcome. J Exp Med 1989;169:333-338

151. Danese S, de la Motte C, Reyes BM, Sans M, Levine AD, Fiocchi C. Cutting edge: T cells trigger CD40-dependent platelet activation and granular RANTES release: a novel pathway for immune response amplification J Immunol 2004;172:2011-2015