

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1. Νικολέτα Ροβίνα
2. Ευάγγελος Ι. Γιαμαρέλλος- Μπουρμπούλης
3. Πέτρος Μπακάκος

ΤΙΤΛΟΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Πρωτεομικά χαρακτηριστικά στον ασθενή με πνευμονία κοινότητας

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Οι λοιμώξεις του κατώτερου αναπνευστικού είναι από τις πιο συχνές λοιμώξεις και ενέχει μεγάλη θνητότητα και θνησιμότητα παγκοσμίως. Η ολική επίπτωση της πνευμονίας κοινότητας είναι 16-23 περιπτώσεις ανά 1000 άτομα ετησίως και περίπου το 30% των ασθενών αυτών χρήζει νοσηλείας. Έχει με την μεγαλύτερη θνητότητα από τις λοιμώξεις και με βάση τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας αποτελεί την τρίτη πιο συχνή αιτία θανάτου παγκοσμίως(1,2). Αναλόγως με τον τόπο που εκδηλώνεται διακρίνεται σε πνευμονία κοινότητας και σε νοσοκομειακή πνευμονία (hospital acquired ή ventilator acquired). Η μελέτη αυτή επικεντρώνεται στην πνευμονία κοινότητας, η οποία εκδηλώνεται σε ασθενείς εξωνοσοκομειακούς και μπορεί να οφείλεται σε βακτήρια ή ιούς.

Η αδυναμία ανοσοαπόκρισης σε ένα συγκεκριμένο παθογόνο του αναπνευστικού συστήματος οδηγεί σε λοίμωξη και κατ' επέκταση στην λεγόμενη πνευμονία κοινότητας. Η εκτίμηση της ανοσοποιητικής ικανότητας του κάθε ασθενούς συντελεί στην καλύτερη εκτίμηση της βαρύτητας της λοίμωξης και μπορεί να αποτελέσει και προγνωστικό δείκτη (3). Τα λεμφοκύτταρα αποτελούν λυδία λίθο στο ανοσοποιητικό του αναπνευστικού συστήματος και η λεμφοπενία ενέχει μεγαλύτερο κίνδυνο θνητότητας για τον νοσηλευόμενο ασθενή με πνευμονία κοινότητας (3).

Η χυμική ανοσία είναι αυτή που ενεργοποιείται στην λοίμωξη αναπνευστικού με την παραγωγή αντισωμάτων και την ενεργοποίηση του συμπληρώματος. Δύο μελέτες έχουν ακόμη δείξει ότι υπάρχουν δύο παρόμοια μονοπάτια γονιδιακής έκφρασης που σχετίζονται με ανοσοπαράλυση στην πνευμονία κοινότητας: τα SRS1, MARS1. Η παρουσία αυτών έχει μελετηθεί ότι συνδέεται με δυσμενή πρόγνωση και το SRS1 έχει συσχετιστεί με ανοχή σε ενδοτοξίνες, εξάντληση των T- κυττάρων και downregulation του HLA class II (4). Επιπροσθέτως, η IL7 σηματοδοτεί έναν καταρράκτη έκφρασης αντιμικροβιακών πρωτεϊνών, κυτταροκινών και χυμοκινών (3).

Στη συνήθη κλινική πράξη, δεν γίνονται διαγνωστικές εξετάσεις για την ταυτοποίηση του μικροβίου σε ασθενείς οι οποίοι δεν χρήζουν νοσηλείας, με εξαίρεση την χρήση PCR για SarsCoV2 και για τον ιό της γρίπης. Για τους ασθενείς με πνευμονία κοινότητας που χρήζουν νοσηλείας στέλνονται οι εξής διαγνωστικές εξετάσεις: αιμοκαλλιέργειες, καλλιέργεια πτυέλων και Gram χρώση, Ag ούρων για πνευμονιόκοκκο και legionella, PCR για SarsCoV2 και

ιούς του αναπνευστικού, καλλιέργεια ρινικού επιχρίσματος για MRSA και πιθανά screening έλεγχο για HIV. Η πνευμονία της κοινότητας μπορεί να πυροδοτηθεί από μικρόβια τυπικά ή άτυπα, παράσιτα, μύκητες και ιούς. Στην πλειονότητα των λοιμώξεων η ταυτοποίηση του παθογόνου δεν καθίσταται δυνατή, αλλά η χρήση μοριακών μεθόδων έχει αυξήσει το ποσοστό αυτό. Με την χρήση PCR η ικανότητα απομόνωσης παθογόνου ανέρχεται σε ποσοστό στο 87% για την πνευμονία κοινότητας, ενώ με την μέθοδο των καλλιιεργειών μικροβίων το ποσοστό αυτό μειώνεται στο 39% (6). Στην κλινική πράξη ωστόσο, το ποσοστό ανίχνευσης παθογόνου είναι ακόμα χαμηλότερο. Από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας για την μικροβιολογική αιτιολογία της πνευμονίας κοινότητας φαίνεται ότι το συχνότερο παθογόνο είναι ο *Streptococcus pneumoniae* και οι ιοί του αναπνευστικού ανάμεσα στους οποίους εντάσσεται και ο SARS-CoV-2. Τα άτυπα μικρόβια δεν συναντώνται τόσο συχνά, πιθανότητα και λόγω έλλειψης ειδικών rapid τεστ ανίχνευσής τους. Σε συγκεκριμένες υποομάδες ασθενών μπορεί να συναντήσουμε και παθογόνα, όπως ο *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* και *Enterobacteriaceae* (7-8).

Υπάρχουν διάφορες κλίμακες βαρύτητας για τον υπολογισμό της βαρύτητας της πνευμονίας κοινότητας, ανάμεσα στα οποία είναι τα PSI, CURB-65, CRB-65, CURB, ATS 2001, ATS/IDSA 2007, SCAP score, and SMART-COP. Στόχος τους είναι ο έγκαιρος εντοπισμός των βαρέως πασχόντων και την πιθανή ανάγκη νοσηλείας τους με Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, για την μείωση της θνητότητας (9). Η εξατομικευμένη ιατρική (personalized medicine) σχετίζεται με την δημιουργία ενός συγκεκριμένου προφίλ για κάθε ασθενή, περιλαμβάνοντας γονιδιακές πληροφορίες, κλινικά και κοινωνικοοικονομικά χαρακτηριστικά. Με το τρόπο αυτό εκτιμάται ο ατομικός κίνδυνος και σχεδιάζεται κατάλληλη στρατηγική πρόληψης και θεραπείας. Στόχος της μελέτης είναι η πλήρης ανάλυση του πρωτεώματος σε ασθενείς με πνευμονία κοινότητας, ώστε να βρεθούν πρωτεϊνικοί δείκτες που να σχετίζονται με την τελική έκβαση και με την αιτιολογία της πνευμονίας. Η ανάλυση πρωτεώματος και μεταβολώματος έχει αναδείξει σημαντικές μεταβολές που συντελούνται στον ορό σε ασθενείς με πνευμονία κοινότητας, οι οποίες σχετίζονται και με τον βαθμό σοβαρότητας της λοίμωξης (10, 11). Οι πρωτεΐνες αυτές σχετίζονται περισσότερο με τον μεταβολισμό λιπιδίων στην ανοσολογική απόκριση, την φάση οξείας απόκρισης, την πήξη, την ενεργοποίηση συμπληρώματος και την φλεγμονή. Ο σκοπός της συγκεκριμένης μελέτης είναι να αναλύσει τα συνολικά πρωτεομικά χαρακτηριστικά των ασθενών με πνευμονία της κοινότητας και να τα συσχετίσει α) με το μικροβιακό αίτιο, και β) με την τελική έκβαση.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. WUNDERINK RG, WATERER GW, Community-Acquired Pneumonia, N Engl J Med 2014, 370:543-51
2. BARTLETT JG, MUNDY LM, Community- acquired pneumonia, N Engl J Med 1995, 333(24):1618-24
3. BERMEJO-MARTIN JF, ALMANSA R, MARTIN-FERNANDEZ M, MENENDEZ R, TORRES A, Immunological profiling to assess disease severity and prognosis in community-acquired pneumonia, The Lancet Respiratory Medicine 2017, Vol5, Issue 12, E35-E36,

4. DAVENPORT EE, BURNHAM KL, RADHAKRISHNAN J, HUMBURG P, HUTTON P, MILLS TC et al, Genomic landscape of the individual host response and outcomes in sepsis: a prospective cohort study. *Lancet Respir Med* 2016; 4: 259–71
5. NAMBU A, OZAWA K, KOBAYASHI N, TAGO M, Imaging of community-acquired pneumonia: Roles of imaging examinations, imaging diagnosis of specific pathogens and discrimination from noninfectious diseases, *World J Radiol* 2014, 6(10): 779–793
6. GADSBY NJ, RUSSELL CD, McHUGH MP, MARK H, CONWAY MORRIS A, LAURENSEN IF et al, Comprehensive Molecular Testing for Respiratory Pathogens in Community-Acquired Pneumonia, *Clin Infect Dis* 2016, 62(7):817-823
7. JOHANSSON N, KALIN M, TIVELJUNG-LINDELL A Johansson N, Kalin M, Tiveljung-Lindell A, GISKE CG, HEDLUND J, Etiology of community-acquired pneumonia: increased microbiological yield with new diagnostic methods, *Clin Infect Dis* 2010, 50(2):202-209.
8. JAIN S, SELF WH, WUNDERINK RG, FAKHRAN S, BRAMEY AM, BALK R et al, Community-Acquired Pneumonia Requiring Hospitalization among U.S. Adults, *N Engl J Med* 2015, 373(5):415
9. MARTI C, GARIN N, GROSGURIN O, PONCET A, COMBRESURE C, CARBALLO S et al, Prediction of severe community-acquired pneumonia: a systematic review and meta-analysis, *Crit Care* 2012, 16(4):R141
10. GESELL SALAZAR M, NEUGEBAUER S, KACPROWSKI T, MICHALIK S, AHNERT P, CREUTZ P, et al, Association of proteome and metabolome signatures with severity in patients with community-acquired pneumonia, , *Journal of Proteomics* 2020 , 214:103627
11. KUMAR SHARMA N, TASHIMA AK, BRUNI ALTI MK, FERREIRA ER, TORQUATO RJS, MORTARA RA et al, Proteomic study revealed cellular assembly and lipid metabolism dysregulation in sepsis secondary to community-acquired pneumonia, *Nature, scientific reports*, 15606

PhD Candidate

Chachali Stavroula-Porfyria

Three Member Committee

1. Nikoleta Rovina
2. Evangelos J. Giamarellos-Bourboulis
3. Petros Bakakos

PhD title

Proteomic characteristics in patients with community-acquired pneumonia

PhD Summary

Lower respiratory tract infections are among the most common infections and are related with high mortality and morbidity worldwide. The overall incidence of community-acquired pneumonia is 16-23 cases per 1000 people per year and approximately 30% of these patients require hospitalization. It has the highest mortality from infections and according to the World Health Organization it is the third most common cause of death worldwide(1,2). Depending on the characteristics of the patients and the circumstances under which it is provoked, it is distinguished into community-acquired pneumonia and hospital-acquired pneumonia (hospital acquired or ventilator acquired). This study focuses on community-acquired pneumonia, which occurs in outpatients and can be caused by bacteria or viruses.

The inability of the immune response to respond to a specific pathogen of the respiratory system leads to infection and, by extension, to the so-called community-acquired pneumonia. The assessment of the immune capacity of each patient contributes to a better assessment of the severity of the infection and can also be used as a prognostic indicator (3). Lymphocytes are the cornerstone of the immune system of the respiratory tract, and lymphopenia carries a greater risk of mortality for the hospitalized patient with community-acquired pneumonia (3).

Humoral immunity is the one activated in respiratory tract infection by producing antibodies and activating the complement. Two studies have further shown that there are two similar gene expression pathways associated with immunoparalysis in community-acquired pneumonia: SRS1, MARS1. Their presence has been studied to be associated with a poor prognosis and SRS1 has been associated with endotoxin resistance, T-cell exhaustion and downregulation of HLA class II (4). Additionally, IL7 signals a cascade of expression of antimicrobial proteins, cytokines, and chemokines (3)

In routine clinical practice, no diagnostic tests are performed to identify the microbe in patients who do not require hospitalization, with the exception of the use of PCR for SarsCoV2 and the influenza virus. For patients with community-acquired pneumonia who require hospitalization, the following diagnostic tests are used: blood cultures, sputum culture and Gram stain, urine Ag for pneumococcus and legionella, PCR for SarsCoV2 and respiratory viruses, nasal swab culture for MRSA and possible screening test for HIV. Community-acquired pneumonia can be triggered by typical or atypical microbes, parasites, fungi, and viruses. In

the majority of infections the identification of the pathogen is not possible, but the use of molecular methods has increased this percentage. With the use of PCR, the ability to isolate a pathogen reaches a percentage of 87% for community-acquired pneumonia, while with the method of microbe cultures, this percentage is reduced to 39% (6). In clinical practice, however, the pathogen detection rate is even lower. From the review of the literature on the microbiological etiology of community-acquired pneumonia, it appears that the most common pathogen is *Streptococcus pneumoniae* and respiratory viruses, including SARS-CoV-2. Atypical microbes are not found that often, possibly due to the lack of specific rapid tests for their detection. Pathogens such as *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacteriaceae* may also be found in specific subgroups of patients (7-8).

There are several severity scales for calculating community-acquired pneumonia severity, including PSI, CURB-65, CRB-65, CURB, ATS 2001, ATS/IDSA 2007, SCAP score, and SMART-COP. Their goal is the early identification of the seriously ill patients and the possible need for their hospitalization in an Intensive Care Unit, in order to reduce mortality (9). Personalized medicine is related to the creation of a specific profile for each patient, including genetic information, clinical and socioeconomic characteristics. In this way, the individual risk is assessed and an appropriate prevention and treatment strategy is designed. The aim of the study is the complete analysis of the proteome in patients with community-acquired pneumonia, in order to find protein markers related to the final outcome and to the etiology of pneumonia. Proteome and metabolome analysis has revealed significant changes occurring in the serum of patients with community-acquired pneumonia, which are also related to the severity of the infection (10, 11). These proteins are most associated with lipid metabolism in the immune response, the acute response phase, coagulation, complement activation and inflammation. The purpose of this study is to analyze the overall proteomic characteristics of patients with community-acquired pneumonia and correlate them a) with the microbial cause, and b) with the final outcome.

BIBLIOGRAPHY

1. WUNDERINK RG, WATERER GW, Community-Acquired Pneumonia, *N Engl J Med* 2014, 370:543-51
2. BARTLETT JG, MUNDY LM, Community- acquired pneumonia, *N Engl J Med* 1995, 333(24):1618-24
3. BERMEJO-MARTIN JF, ALMANSA R, MARTIN-FERNANDEZ M, MENENDEZ R, TORRES A, Immunological profiling to assess disease severity and prognosis in community-acquired pneumonia, *The Lancet Respiratory Medicine* 2017, Vol5, Issue 12, E35-E36,
4. DAVENPORT EE, BURNHAM KL, RADHAKRISHNAN J, HUMBURG P, HUTTON P, MILLS TC et al, Genomic landscape of the individual host response and outcomes in sepsis: a prospective cohort study. *Lancet Respir Med* 2016; 4: 259–71
5. NAMBU A, OZAWA K, KOBAYASHI N, TAGO M, Imaging of community-acquired pneumonia: Roles of imaging examinations, imaging diagnosis of specific pathogens and discrimination from noninfectious diseases, *World J Radiol* 2014, 6(10): 779–793

6. GADSBY NJ, RUSSELL CD, McHUGH MP, MARK H, CONWAY MORRIS A, LAURENSEN IF et al, Comprehensive Molecular Testing for Respiratory Pathogens in Community-Acquired Pneumonia, Clin Infect Dis 2016, 62(7):817-823
7. JOHANSSON N, KALIN M, TIVELJUNG-LINDELL A Johansson N, Kalin M, Tiveljung-Lindell A, GISKE CG, HEDLUND J, Etiology of community-acquired pneumonia: increased microbiological yield with new diagnostic methods, Clin Infect Dis 2010, 50(2):202-209.
8. JAIN S, SELF WH, WUNDERINK RG, FAKHRAN S, BRAMEY AM, BALK R et al, Community-Acquired Pneumonia Requiring Hospitalization among U.S. Adults, N Engl J Med 2015, 373(5):415
9. MARTI C, GARIN N, GROSGURIN O, PONCET A, COMBRESURE C, CARBALLO S et al, Prediction of severe community-acquired pneumonia: a systematic review and meta-analysis, Crit Care 2012, 16(4):R141
10. GESELL SALAZAR M, NEUGEBAUER S, KACPROWSKI T, MICHALIK S, AHNERT P, CREUTZ P, et al, Association of proteome and metabolome signatures with severity in patients with community-acquired pneumonia, Journal of Proteomics 2020, 214:103627
11. KUMAR SHARMA N, TASHIMA AK, BRUNIALTI MK, FERREIRA ER, TORQUATO RJS, MORTARA RA et al, Proteomic study revealed cellular assembly and lipid metabolism dysregulation in sepsis secondary to community-acquired pneumonia, Nature, scientific reports, 15606