

lek. Kacper Christo Dziedziec

**OCENA ROLI DIAGNOSTYCZNEJ I PROGNOSTYCZNEJ
WYBRANYCH BIOMARKERÓW U PACJENTÓW
Z COVID-19**

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne**

STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM

Promotor: prof. dr hab. Łukasz Szarpak

Promotor pomocniczy: dr n. o zdr. Monika Tomaszewska

Miejsce wykonywania pracy: Dział Badań Naukowych i Rozwoju, Grupa LUX MED



**Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego**

Warszawa 2024 r.

Kacper Dziedziec
[Signature]

Wstęp

COVID-19, wywołany przez wirusa SARS-CoV-2, stał się globalnym wyzwaniem powodującym nie tylko masowe zachorowania, ale także znaczne obciążenie systemów opieki zdrowotnej na całym świecie. Pandemia ta, rozpoczęta na przełomie 2019 i 2020 roku, w krótkim czasie rozprzestrzeniając się na wszystkie kontynenty i prowadząc do wprowadzenia bezprecedensowych środków zapobiegawczych, takich jak lockdowny, ograniczenia w podróżowaniu oraz masowe kampanie szczepień. Wpływ COVID-19 na społeczeństwo był wszechstronny i wielopłaszczyznowy. Życie społeczne zostało zredukowane do minimum, a interakcje międzyludzkie przeniosły się w dużej mierze do świata wirtualnego. Gospodarki państw zostały dotknięte recesją, a wiele sektorów, takich jak turystyka, gastronomia czy handel detaliczny, musiało stawić czoła dramatycznym spadkom dochodów. Na poziomie politycznym pandemia COVID-19 wywołała również szereg wyzwań, takich jak konieczność szybkiego reagowania na zmieniającą się sytuację epidemiologiczną, zarządzanie kryzysowe oraz zabezpieczenie dostaw niezbędnych produktów, w tym środków ochrony osobistej i szczepień. W szczególności pandemia uwidoczniała potrzebę szybkiej i dokładnej diagnostyki, która umożliwiłaby wczesne wykrycie zakażenia, co jest kluczowe w ograniczaniu rozprzestrzeniania się wirusa. Diagnostyka COVID-19 obejmuje różnorodne metody, w tym testy genetyczne, antygenowe oraz serologiczne, które odgrywają kluczową rolę w zarządzaniu pandemią. Jednak sama diagnostyka nie jest wystarczająca. Skuteczne narzędzia prognostyczne, które pozwalają na przewidywanie przebiegu choroby oraz identyfikację pacjentów narażonych na ciężki przebieg COVID-19, okazały się równie niezbędne. Zrozumienie i monitorowanie biomarkerów, stało się kluczowe w walce z pandemią. Biomarkery te, w tym markery zapalne, koagulacyjne oraz związane z uszkodzeniem narządów, mogą dostarczyć cennych informacji na temat stanu zdrowia pacjenta, umożliwiając wczesne wykrycie zakażenia, ocenę ryzyka powikłań oraz monitorowanie odpowiedzi na leczenie. W ten sposób, biomarkery odgrywają kluczową rolę zarówno w diagnostyce, jak i w prognozowaniu przebiegu COVID-19, co ma bezpośrednie znaczenie dla optymalizacji strategii leczenia i zarządzania pacjentami. Przyczyniają się one do poprawy wyników leczenia, redukcji śmiertelności oraz zmniejszenia obciążenia systemów opieki zdrowotnej na całym świecie, co jest bardzo istotne w kontekście długotrwałej walki z pandemią i jej skutkami zdrowotnymi oraz społecznymi.

Cel pracy

Wspólnym celem serii badań wchodzących w skład cyklu publikacji spójnych tematycznie była ocena zdolności diagnostycznych i prognostycznych wybranych biomarkerów w odniesieniu do pacjentów z COVID-19.

Materiał i metoda

Spośród sześciu badań wchodzących w skład monotematycznego cyklu publikacji, dwie były badaniami retrospektywnymi, zaś pozostałe cztery przygotowano jako przeglądy systematyczne z meta-analizami.

Badanie pierwsze było badaniem retrospektywnym jednośrodkowym analizującym dokumentację medyczną 400 pacjentów przyjętych z powodu COVID-19 do Ziv Medical Center (Safed, Izrael). Pacjenci ci byli zabezpieczeni medycznie w szpitalu w okresie od kwietnia 2020 roku do grudnia 2021 roku i mieli potwierdzone zachowanie na COVID-19 za pomocą testy RT-PCR. U każdego pacjenta przeprowadzono dwa badania laboratoryjne pełnej morfologii krwi. Pierwsze badanie przeprowadzono przy przyjęciu do szpitala, a drugie przed wypisaniem pacjenta ze szpitala lub na kilka dni przed jego śmiercią. Badanie miało za cel określenie predykcyjnego znaczenia współczynnika neutrofilii do limfocytów w określeniu ciężkości, długości pobytu w szpitalu oraz śmiertelności wśród dorosłych pacjentów z COVID-19.

Badanie drugie również zaprojektowane jako badanie retrospektywne, przeprowadzono w odniesieniu do dokumentacji medycznej pacjentów, u których zdiagnozowano COVID-19. W tym celu przeanalizowano dokumentację medyczną pacjentów Szpitalnego Oddziału Ratunkowego Szpitala „Kartal Dr. Lütfi Kırdar City Hospital” w Stambule (Turcja). Analizie poddano pacjentów, którzy zgłosili się do Szpitalnego Oddziału Ratunkowego w okresie pomiędzy 1 stycznia a 31 maja 2022 roku. W celu zweryfikowania zdolności predykcyjnej NLR przeprowadzono analizę danych, której celem było opisanie korelacji między stosunkiem neutrofilii do limfocytów a różnicami w odpowiedzi zapalnej na COVID-19 zależnymi od płci i płci.

Trzecia praca została zaprojektowana i przeprowadzona jako przegląd systematyczny z meta-analizą. Celem niniejszej pracy było określenie wartości diagnostycznej i predykcyjnej tkankowego aktywatora plazminogenu u pacjentów z COVID-19. W tym celu za pomocą uprzednio zdefiniowanych słów kluczowych dokonano

przeszukania elektronicznych baz piśmienniczych (PubMed Central, Scopus, EMBASE, Cochrane). Finalne przeszukania powyższych baz danych miało miejsce 4 maja 2023 roku. W wyniku przeszukania ujawniono 1548 publikacji, spośród których w następstwie usunięcia duplikatów, oraz w pierwszej kolejności tytułów i abstraktów a następnie spośród wyłonionych prac pełnej analizie wybranych prac do meta-analazy włączono 13 badań z łączną liczbą 1221 pacjentów.

Czwarte badanie zostało również zaprojektowane i przeprowadzone jako przegląd systematyczny z meta—analizą i miała za cel ocenę wartości predykcyjnej i diagnostycznej Galektyny-3 u pacjentów z COVID-19. Na potrzeby badania dokonano przeszukania baz piśmienniczych: PubMed/MEDLINE, EMBASE, SCOPUS i Cochrane celem wytypowania artykułów wskazujących na poziomy Galektyny-3 u pacjentów z COVID-19. Ostatnie przeszukanie miało miejsce 10 listopada 2023 r. i ujawniło 351 badań, spośród których finalnie włączono 18 badań (2530 pacjentów) do meta-analizy.

Piąte badanie również miało charakter przeglądu systematycznego z meta-analizą i odnosiło się do określenia na podstawie dostępnej literatury zdolności diagnostycznych i prognostycznych białka ST-2. Cztery bazy piśmiennicze (PubMed/MEDLINE, EMBASE, SCOPUS, Cochrane) zostały poddane przeszukaniu, zaś ostatnie przeszukanie miało miejsce 11 października 2023 roku. Spośród 275 badań, które wskazano podczas przeszukania, do badania włączono 9 badań obejmujących 1732 pacjentów.

Szóste badanie przeprowadzone jako przegląd systematyczny z meta-analizą miało na celu analizę zdolności diagnostycznych i predykcyjnych ciężkości przebiegu COVID-19 za pomocą poziomów białka powierzchniowo czynnego D. W tym celu dokonano przeszukania PubMed, Embase, Web of Science i Scopus w poszukiwaniu artykułów opublikowanych w języku angielskim opublikowanych do 21 stycznia 2024 roku. Zastosowano podejście przeglądu systematycznego i metaanalizy, przeszukując wiele baz danych pod kątem badań, w których mierzono poziomy SP-D u pacjentów z COVID-19 i zdrowych osób z grupy kontrolnej. Kryteria włączenia zostały ściśle określone, aby zapewnić wybór badań z danymi wysokiej jakości, a analizy statystyczne zostały przeprowadzone w celu oceny wartości diagnostycznej i prognostycznej SP-D w kontekście COVID-19. W trakcie przeszukania baz danych ujawniono 716 artykułów na podstawie predefiniowanych słów kluczowych. Następnie w trakcie weryfikacji artykułów, 12 badań obejmujących 892 pacjentów włączono do meta-analizy.

Wyniki

W pierwszym badaniu pierwszym mającym za cel ocenę wartości predykcyjnej wskaźnik neutrofili do limfocytów (NLR) w kontekście przeżywalności pacjentów z COVID-19. Do badania włączono czterystu pacjentów z COVID-19, spośród których mężczyźni stanowi 51,5%. Średnia wieku wynosiła $64,5 \pm 17,1$ lat. W grupie przypadków odnotowano 102 zgony i 296 osób, które przeżyły. Wskaźnik śmiertelności wynosił 25,5%. Średnia wartość NLR wśród pacjentów, którzy przeżyli do wypisu ze szpitala wynosiła $8,4 \pm 20,4$ i była istotnie statystycznie niższa aniżeli w przypadku pacjentów, którzy zmarli w szpitali ($34,0 \pm 49,9$; $p < 0,001$). Analiza statystyczna wykazała istotne statystycznie różnice pomiędzy pacjentami, którzy przeżyli a osobami, które zmarły w zakresie poziomów: neutrofili ($6,5 \pm 4,5$ vs. $13,6 \pm 9,3$; $p < 0,001$), limfocytów ($2,6 \pm 12,1$ vs. $1,0 \pm 1,3$; $p < 0,001$), białych krwinek ($9,6 \pm 11,6$ vs. $15,5 \pm 1,0$; $p < 0,001$), hemoglobiny ($12,2 \pm 2,0$ vs. $10,0 \pm 2,5$ g/dL; $p < 0,001$), płytek krwi (269 ± 129 vs. 183 ± 103 ; $p < 0,001$), granulocytów kwasochłonnych ($0,57 \pm 0,88$ vs. $0,30 \pm 0,71$; $p < 0,001$) oraz monocytów ($5,1 \pm 4,4$ vs. $4,1 \pm 3,0$; $p = 0,001$).

W badaniu drugim oceniającym wpływ płci na poziom wskaźnika neutrofili do limfocytów u pacjentów z COVID-19 włączono 513 pacjentów. Badana populacja składała się z 47% kobiet i 53% mężczyzn w średnim wieku 72,42 lat. Kobiety były średnio znacznie starsze od mężczyzn. Przy przyjęciu 73% pacjentów sklasyfikowano jako łagodny przebieg COVID-19, a 27% jako ciężkich. Ogółem 63% pacjentów przeżyło zakażenie. Wartości NLR były istotnie statystycznie wyższe u mężczyzn aniżeli kobiet ($11,24$ vs. $8,42$; $p < 0,0001$). Wyższe wartości NLR odnotowano również w przypadku pacjentów z ciężkim przebiegiem COVID-19 w porównaniu z pacjentami z przebiegiem nieciężkim ($14,81$ vs. $8,06$), podobnie jak w przypadku osób, które przeżyły do wypisu ze szpitala względem tych które zmarły ($12,64$ vs. $8,21$).

Trzecie badanie mające na celu ocenę roli tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA) jako markera diagnostycznego i predykcyjnego w przypadku pacjentów z COVID-19 wykazało iż poziomy t-PA wśród pacjentów z dodatnim i ujemnym wynikiem COVID-19 różniły się i wynosiły odpowiednio $26,67 \pm 40,65$ vs. $4,68 \pm 3,83$ (SMD = 2,49; 95% CI: 1,85 do 3,14; $p < 0,001$). Średni poziom t-PA wśród pacjentów wymagających przyjęcia na OIT wynosił $24,06 \pm 12,44$ w porównaniu do $16,55 \pm 10,01$ u pacjentów nieleczonych na OIT (SMD = 0,69; 95% CI: -0,68 do 2,05; $p = 0,32$). Co więcej, poziomy t-PA wśród pacjentów z ciężkim COVID-19 w porównaniu do pacjentów bez ciężkiego COVID-19 wynosiły

odpowiednio $11,89 \pm 9,05$ i $16,87 \pm 20,39$ (SMD = 2,74; 95% CI: -0,71 do 6,19; p = 0,12). Wartości t-PA wynosiły odpowiednio: $15,33 \pm 8,01$ dla pacjentów, którzy przeżyli wypis ze szpitala oraz $19,04 \pm 11,88$ dla pacjentów, którzy zmarli w szpitalu z powodu COVID-19 (SMD = -0,50; 95% CI: -2,45 do 1,44; p = 0,61).

W badaniu czwartym badającym zdolności diagnostyczne i predykcyjne Galektyny-3, wykazano, iż poziomy tego markera wśród pacjentów z COVID-19 i bez COVID-19 różniły się następującymi wartościami: $15,73 \pm 13,03$ vs. $8,72 \pm 5,82$ pg/ml, odpowiednio (SMD = 2,59; 95%CI: 1,52 do 3,67; p<0,001). Poziomy galektyny-3 również różniły się statystycznie między pacjentami z COVID-19, którzy mieli ciężki przebieg, a tymi, którzy go nie mieli ($18,83 \pm 15,5$ pg/mL vs. $12,43 \pm 10,29$ pg/mL; SMD = 2,64; 95%CI: 1,45 do 3,83; p<0,001), a także między pacjentami z COVID-19, którzy przeżyli, a tymi, którzy zmarli ($6,24 \pm 6,74$ pg/mL vs. $13,72 \pm 15,92$ pg/mL; SMD = -1,79; 95%CI: -2,78 do -0,80; p<0,001).

W badaniu piątym odnoszącym się do oceny wartości diagnostycznej i prognostycznej białka ST2, analiza zbiorcza wszystkich badań wykazała, że poziomy sST2 są znacznie podwyższone u pacjentów z COVID-19 w porównaniu z osobami bez COVID-19 ($39,3 \pm 44,23$ vs. $6,74 \pm 6,25$; SMD= 3,52; 95%CI: 1,72 do 5,32), znacznie wyższe w ciężkich niż nieciężkich przypadkach ($94,07 \pm 74,71$ vs. $25,53 \pm 7,36$; SMD=3,87; 95%CI: 2,69 do 5,05) i różnią się między osobami, które przeżyły i nie przeżyły ($43,18 \pm 21,54$ vs. $119,11 \pm 113,98$; SMD= -2,84; 95%CI: -4,49 do -1,19), ze znacznymi różnicami w średnich i przedziałach ufności zgłoszonych w tych grupach (p<0,001).

Analiza danych w badaniu szóstym, oceniającym możliwości diagnostyczne i prognostyczne białka powierzchniowo czynnego D (SP-D), wykazała, że poziomy SP-D w tych grupach pacjentów różniły się i wynosiły odpowiednio $44,38 \pm 74,71$ oraz $21,29 \pm 31,8$ (SMD = 1,39; 95%CI: 0,35 do 2,43; p=0,009). Zbiorcza analiza wartości SP-D wśród pacjentów z ciężkim i nieciężkim COVID-19 wyniosła odpowiednio $58,28 \pm 101,8$ i $94,69 \pm 114,22$ (SMD = 0,44; 95%CI: -0,78 do 1,66; p=0,48). Poziomy SP-D również nie wykryły statystycznie istotnych różnic u pacjentów z COVID-19, którzy przeżyli i zmarli w szpitalu ($27,18 \pm 16,4$ vs. $29,12 \pm 14,14$; SMD = 0,07; 95%CI: -0,28 do 0,42; p=0,70).

Wnioski

Przeprowadzone badania pozwalają na sformułowanie następujących wniosków:

- biomarkery takie jak stosunek neutrofilów do limfocytów (NLR) są prostym i łatwo dostępnym wskaźnikiem, który można wyliczyć z podstawowego rozmazu krwi, co czyni go wyjątkowo użytecznym w praktyce klinicznej. Jego wartość prognostyczna w ocenie ciężkości choroby, długości hospitalizacji oraz śmiertelności u pacjentów z COVID-19 została szeroko potwierdzona;
- wyniki przeprowadzonych badań wskazują również na rosnący potencjał nowoczesnych biomarkerów, takich jak Galektyna-3 (Gal-3), tkankowy aktywator plazminogenu (tPA) czy też białko ST2, w diagnostyce i stratyfikacji ryzyka COVID-19;
- wobec ewoluujących mutacji SARS-CoV-2, konieczne są dalsze badania w celu wytypowania i walidacji najnowszych i najbardziej skutecznych biomarkerów, które będą skutecznie służyć diagnostyce i stratyfikacji ryzyka w kontekście nowych wariantów wirusa, które przy tak szerokiej zakaźności i mutagenności mogą wciąż stanowić globalne zagrożenie.