

# Povezanost upalnih biljega i težine kliničke slike u bolesnika sa SARS-COV2 infekcijom

---

**Krvavica Ilić, Petra**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2021**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:961890>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-04**



*Repository / Repozitorij:*

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Petra Krvavica Ilić**

**POVEZANOST UPALNIH BILJEGA I TEŽINE KLINIČKE SLIKE U BOLESNIKA  
SA SARS-COV2 INFEKCIJOM**

**Diplomski rad**

**Akademska godina:  
2020./2021.**

**Mentor:  
Izv. prof. dr. sc. Tina Tičinović Kurir**

**Split, srpanj 2021.**

**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Petra Krvavica Ilić**

**POVEZANOST UPALNIH BILJEGA I TEŽINE KLINIČKE SLIKE U BOLESNIKA  
SA SARS-COV-2 INFEKCIJOM**

**Diplomski rad**

**Akademska godina:  
2020./2021.**

**Mentor:  
Izv. prof. dr. sc. Tina Tičinović Kurir**

**Split, srpanj 2021.**

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1. Koronavirusi i SARS-CoV-2 .....	2
1.1.2. Epidemiologija SARS-CoV-2 infekcije .....	4
1.1.3. Virologija SARS-CoV-2 .....	6
1.1.4. Imunopatogenza SARS-CoV-2 infekcije .....	8
1.1.5. Kliničke manifestacije SARS-CoV-2 infekcije.....	11
1.1.6. Dijagnostika SARS-CoV-2 infekcije .....	14
1.1.7. Liječenje SARS-CoV-2 infekcije.....	17
1.1.8. Prevencija SARS-CoV-2 infekcije.....	19
1.2. Upalni biljezi u SARS-CoV-2 infekciji .....	21
2. CILJ ISTRAŽIVANJA .....	24
3. ISPITANICI I METODE .....	26
3.1. Ustroj istraživanja .....	27
3.2. Ispitanici.....	27
3.3. Metoda prikupljanja podataka .....	27
3.4. Statistička obrada podataka .....	27
4. REZULTATI.....	29
4.1. Osnovna obilježja ispitanika .....	30
4.2. Laboratorijski parametri.....	32
4.3. Rendgenski nalazi i uporaba invazivne mehaničke ventilacije.....	34
5. RASPRAVA.....	35
6. ZAKLJUČCI .....	40
7. POPIS CITIRANE LITERATURE.....	42
8. SAŽETAK.....	51
9. SUMMARY .....	53
10. ŽIVOTOPIS .....	55

*Zahvaljujem se dragoj mentorici, izv. prof. dr. sc. Tini Tičinović Kurir, na pomoći,  
savjetovanju i strpljenju tijekom pisanja ovog diplomskog rada.  
Hvala i dr. sc. Maji Mizdrak na nesebičnoj pomoći s prikupljanjem podataka i izradom  
diplomskog rada.*

*Hvala mami i tati, bez kojih ovo ne bi bilo moguće, Tei i Marinu, na velikoj ljubavi, podršci i  
razumijevanju koje su pokazali u svim trenucima mog školovanja, ali i života.  
Hvala Neri, Luni i Roku koji su uvijek bili veliki izvor sreće.*

*Hvala mojim prijateljima koji su unijeli veselje i dijelili brige u studentskim danima.*

*A ništa ne bi tako značilo, da nije Mislava i Helene i njihove beskrajne ljubavi koja je  
uljepšala sve.*

*Hvala Ti!*

## **1. UVOD**

## 1.1. Koronavirusi i SARS-CoV-2

Teški akutni respiratorni sindrom koronavirus 2 (engl. *Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2* - SARS-CoV-2) izazvao je zarazu i patogen koronavirus koji se pojavio krajem 2019. godine te izazvao pandemiju akutne respiratorne bolesti zvane koronavirusna bolest 2019 (engl. *coronavirus disease 2019* - COVID-19) koja može voditi u akutni respiratorni distres sindrom (engl. – ARDS) i multiorgansko zatajenje (1).

Koronavirusi raznolika su skupina virusa koja uzrokuje različite bolesti respiratornog sustava, od obične prehlade do težih oblika bolesti poput Srednjeistočnog respiratornog sindroma (engl. *Middle East respiratory syndrome* – MERS), teškog akutnog respiracijskog sindroma (engl. *Severe acute respiratory syndrome* – SARS) i COVID-19. Infekcije koronavirusima uzrokuju zoonoze te se prenose sa životinja na ljude (1). Koronavirusi pripadaju porodici *Coronaviridae*, koju čine omotani virusi, kuglasta oblika, promjerom od 80 do 100 nm, s jednolančanom pozitivnom RNA, veličine 26-32 kilobaza što predstavlja najveći poznati genom RNA virusa. Promatrani pod elektronskim mikroskopom, šiljasti izdanci membrane virusne ovojnice nalikuju kruni (lat. *corona*) po čemu su dobili ime. Porodicu *Coronaviridae* čine dvije potporodice *Letovirinae* i *Orthocoronavirinae*, a u potonju pripadaju koronavirusi, koji se dalje klasificiraju u četiri roda *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Deltacoronavirus* i *Gammacoronavirus* (2). *Alphacoronavirus* i *Betacoronavirus* primarno inficiraju sisavce, uključujući ljude, a šišmiši i glodavci prirodni su im rezervoar, te svi trenutno poznati humani koronavirusi (skraćeno HCoV) pripadaju navedenim rodovima (3). *Gammacoronavirus* i *Deltacoronavirus* većinom inficiraju ptice, koje su ujedno i njihov prirodni rezervoar (4).

Do danas je poznato sedam humanih koronavirusa od kojih dva pripadaju *Alpha*, dok ostatak, uključujući teški akutni respiratorni sindrom koronavirus SARS-CoV, bliskoistočni respiratorni sindrom koronavirus MERS-CoV te novootkriveni SARS-CoV-2, pripadaju *Beta* koronavirusima (2). Blage simptome, poput obične prehlade s ili bez gastrointestinalnih tegoba poput proljeva, uzrokuju HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-HKU. Za razliku od navedenih, SARS-CoV, MERS-CoV i SARS-CoV-2 visoko su patogeni te mogu dovesti do razvoja akutnog respiratornog distres sindroma i do mnogobrojnih izvanplućnih komplikacija (5).

Koronavirus prvi puta se spominje 1920.-tih, kada je u Sjedinjenim Američkim Državama, u Sjevernoj Dakoti opisana nova akutna respiratorna bolest domaćih kokoši (6). Godine 1933. koronavirus biva prvi puta identificiran i naziva se infektivnim bronhitis virusom – IBV koji je danas poznat kao ptičji koronavirus (7). Nakon ptičjih, otkriveni su koronavirusi koji uzrokuju bolest u različitim životinja poput purica, miševa, krava, svinja mačaka i pasa (4).

Prvi humani soj koronavirusa HCoV-229E izoliran je 1966. iz nosnog iscjetka pacijenata koji su bolovali od obične prehlade. Nedugo nakon otkriven je i drugi soj HCoV-OC43. Karakterizira ih prisutnost blagih simptoma poput glavobolje, kihanja, malaksalosti, grlobolje, temperature i kašlja. Simptomatski se teško razlikuju od virusa gripe i rinovirusa (4).

Treći otkriveni humani soj koronavirusa jest SARS-CoV. Prvi slučaj infekcije SARS-CoV zabilježen je u Kini, u Guangdong provinciji, 16. studenog 2002. U epidemiji SARS-a zabilježeno je 8096 slučajeva zaraze, od toga 774 smrtna slučaja, s engl. *Case fatality rate* – CFR od 9,6% (4). Infekcija SARS-om proširila se na 29 zemalja diljem svijeta od 2002. do 2004. Nakon 2004. godine nijedan novi slučaj nije potvrđen te je SARS-CoV suzbijen. Zanimljivost SARS infekcije jest postojanje takozvanih super-širitelja koji su samostalno zarazili više od 10 osoba (3). Prirodni domaćin SARS-CoV-a jest šišmiš, a u ljudsku populaciju dolazi preko intermedijarih domaćina, azijske cibetke palmašice, ali ni druge životinje nisu isključene (3). SARS-Cov prenosi se kapljično i fekooralno. Inkubacijski period jest 2-14 dana nakon kojeg slijede opći simptomi, poput mialgije, glavobolje, temperature i malaksalost, potom dolazi do razvitka respiratornih simptoma dispneje, neproduktivnog kašlja i mogući razvitak respiratornog distresa. U teškim infekcijama, osim dišnog sustava, mogu biti zahvaćeni probavni sustav, jetra, bubrezi i mozak. Otprilike 20-30% bolesnika imalo je potrebu za intenzivnom njegom i mehaničkom ventilacijom (8).

Krajem 2004. godine izoliran je novi soj humanog koronavirusa NL63. Ustanovljeno je da se češće javlja u male djece, starijih osoba te imunokompromitiranih pacijenata s respiratornim bolestima. Iste godine izoliran je humani koronavirus HKU1. Infekcije ovim virusima obilježene su blagom respiratornom bolesti sa simptomima kašlja, rinoreje, tahipneje, temperature. (9, 10).

MERS-CoV je izoliran 2012. godine iz pluća šezdesetogodišnjeg pacijenta iz Saudijske Arabije koji je razvio akutnu pneumoniju i bubrežno zatajenje. Većina slučajeva zaraze bila je na području Srednjeg istoka te je 2015. godine zabilježeno drugo izbijanje virusa u Južnoj



Koreji. Od prosinca 2020. laboratorijski je zabilježeno preko 2500 slučajeva zaraze, sa 886 smrtnih slučajeva, CFR-a od 34.4% što ovaj virus čini iznimno smrtonosnim. Smatra se da su izvor virusa šišmiši, a intermedijarni domaćin jednogrbne deve koje izravno ili neizravno sudjeluju u procesu prijenosa na ljude, ali točan put širenja nije siguran. Inkubacijski period je od 2 do 13 dana, a širenje kapljično. Klinička slika infekcije MERS-om varira od asimptomatske do teške pneumonije s akutnim respiratornim distresom, septičkim šokom i bubrežnim zatajenjem. Uobičajeni početak infekcije obilježen je temperaturom, zimicom, kašljem, grloboljom, mijalgijom, artralgijom te dispnejom s brzim napredovanjem u pneumoniju. Trećina pacijenata razvije gastrointestinalne tegobe poput proljeva i povraćanja. Za razliku od SARS-a, ali i ostalih humanih koronavirusa, akutno bubrežno zatajenje svojstveno je za infekciju MERS-om (2, 11).

### **1.1.2. Epidemiologija SARS-CoV-2 infekcije**

Krajem prosinca 2019.godine, u gradu Wuhanu, u Hubei provinciji, u Kini, nekoliko zdravstvenih ustanova prijavilo je sveukupno 27 slučajeva pneumonije nepoznatog uzroka. Većina tih prvih slučajeva epidemiološki je povezana uz Huanan tržnicu morskih plodova, gdje se uz morske plodove prodaju i žive životinje, poput peradi i raznih divljih životinja. Daljnjim epidemiološkim istraživanjem utvrđen je početak prvog slučaja 8. prosinca 2019.godine. 9.siječnja 2020.godine u Kini je, genetskim sekvencioniranjem, identificiran novi koronavirus kao uzrok navedenih pneumonija. U razdoblju od mjesec dana infekcija se proširila na 34 kineske provincije, broj potvrđenih slučajeva naglo je porastao te je do kraja siječnja dnevno bilo preko tisuću novozaraženih. Vlasti u Kini krajem siječnja uvode stroge epidemiološke mjere. Sva okupljanja i vanjske aktivnosti bile su zabranjene kao i rad javnih objekata te je epidemija u veljači doživjela vrhunac, kako bi krajem mjeseca došlo do pada broja novozaraženih (1).

Međunarodni Odbor za taksonomiju virusa 11.veljače 2020. imenovao je novi koronavirus SARS-CoV-2, a Svjetska Zdravstvena Organizacija bolest koju uzrokuje COVID-19 (12).

Dok je u Kini, krajem veljače, epidemija bila u padajućem trendu, međunarodno širenje COVID-19 naglo se povećavalo. Naglom širenju pridonijeli su visoka zaraznost virusa i mnoštvo međunarodnih putovanja. Krajem siječnja je prijavljen prvi slučaj infekcije

koronavirusom u Europi, točnije u Francuskoj. Potom Italija bilježi svoje prve slučajeve, kako bi se do ožujka infekcija proširila na sve talijanske pokrajine (13).

Prvi slučaj infekcije SARS-CoV-2 u Hrvatskoj dijagnosticiran je u veljači 2020. Pristizanje infekcije novim koronavirusom u Hrvatsku nije bilo neočekivano s obzirom na blizinu područja sa zabilježenim povećanim brojem slučajeva u Europi (14).

Svjetska Zdravstvena Organizacija 11. ožujka 2020. službeno je proglasila COVID-19 pandemiju jer se do tada bolest proširila na najmanje 114 država i usmrtila preko 4000 osoba. Samo tjedan dana kasnije, s Italijom kao glavnim epicentrom pandemije koja je dnevno bilježila i do 7000 novozaraženih, broj umrlih osoba diljem svijeta narastao je na 27000. Unatoč ionako visokim brojkama, stvarni razmjer pandemije smatrao se većim (3).

Šišmiši se smatraju prirodnim rezervoarom SARS-CoV-2 budući da je analizom genske sekvence utvrđena preko 90%-tna sličnost sa koronavirusom šišmiša. Intermedijarni domaćin, preko kojeg SARS-CoV-2 stječe određene mutacije koje su mu nužne za učinkovit prijenos na ljude, još uvijek nije točno utvrđen. Najvjerojatnijim smatra se ljuskavac. Znanje o životinjskom podrijetlu SARS-CoV-2 i dalje je nepotpuno, domaćin virusa nije stopostotno dokazan niti je jasna uloga intermedijarnog domaćina (1, 15).

Primarni način širenja SARS-CoV-2 jest čovjeka na čovjeka, horizontalan, izloženošću inficiranim respiratornim tekućinama, koje se oslobađaju za vrijeme disanja, govora, pjevanja, vježbanja, kašlja i kihanja, u obliku kapljica različitih veličina. Velike kapljice (>5 mikrometara) u zraku ispare brzo, u roku nekoliko sekunda do minuta, a za sobom ostavljaju male, fine kapljice odnosno čestice aerosola (<5 mikrometara) koje su dovoljno malene da se zadrže u zraku satima, stoga do zaraze može doći na tri načina:

- udisanjem malih, finih kapljica i aerosolnih čestica, prilikom čega je rizik zaraze najveći na udaljenosti jedan do dva metra od inficirane osobe. Ipak, prijenos virusa zrakom nije tako učestao
- kapljice koje sadržavaju virus dospiju na izložene mukozne membrane primjerice na oči, nos i usta. Rizik zaraze također je najveći u neposrednoj blizini inficirane osobe.
- Dodirivanje mukoznih membrana rukama koje su zaprljane izdahnutim respiratornim tekućinama ili su dodirivale predmete i površine kontaminirane virusom.

SARS-CoV-2 izoliran je i u nerespiratornim uzorcima poput stolice, krvi, oralnih sekreta i sjemene tekućine, ali još nije poznato koliki je njihov značaj u prijenosu virusa (16, 17).

Dosadašnja istraživanja o vertikalnom prijenosu virusa s majke na dijete iznose da je prijenos moguć u trećem tromjesječju, ali u vrlo niskim postotcima (otprilike 3,2%) te je bez značajnih posljedica za novorođenčad. Još uvijek je potrebno detaljnije istražiti prolazi li virus placentu *in utero* i izaziva li infekciju u fetalnim tkivima, postoji li veća ili manja osjetljivost na virus ovisno o gestacijskoj dobi te postoji li gestacijska dob u kojoj je veća mogućnost prelaska placente i inficiranja fetusa (18).

Prema najnovijim sustavnim pregledima i meta-analizama period inkubacije za SARS-CoV-2 2 do 14 dana. Medijan perioda inkubacije iznosio je 5,6 dana (19).

Serijski interval odnosi se na vremensko razdoblje između pojave simptoma u primarnom i sekundarnom slučaju. Meta-analizom iz ožujka 2021.godine dobiven je združeni serijski interval od 5,2 dana (20).

Osnovni reprodukcijski broj ( $R_0$ ) je očekivani broj sekundarnih slučajeva koji bi mogli nastati iz jednog slučaja u osjetljivoj populaciji.  $R_0$  je vrlo bitan parametar u epidemiologiji zaraznih bolesti i ukazuje na rizik širenja epidemije te što je  $R_0$  veći teže je kontrolirati epidemiju (21). Ukupni globalni  $R_0$  za SARS-CoV-2 iznosi 4,08 (22).

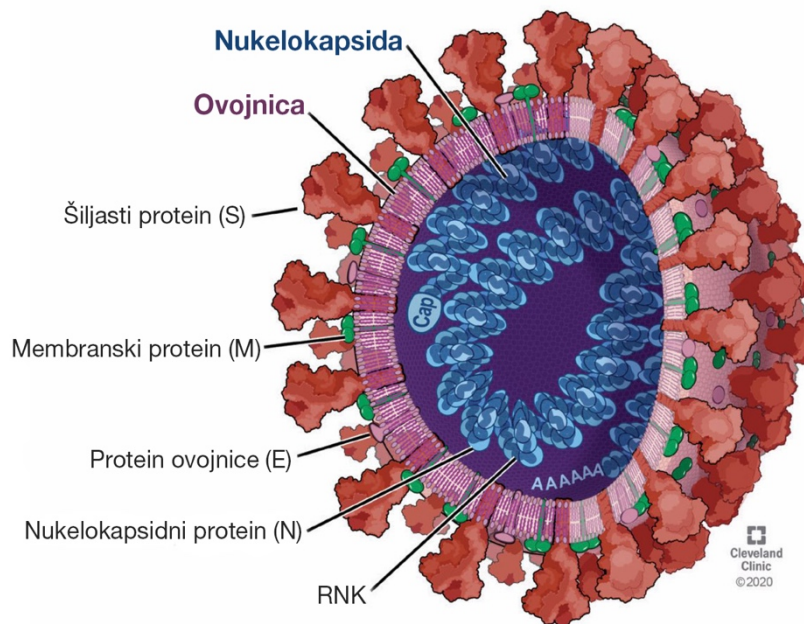
Rizični čimbenici za koje je uočena veća mogućnost razvijanja teškog oblika bolesti, ARDS-a i primitka u jedinicu intenzivnog liječenja su starija dob, muški spol, hipertenzija, šećerna bolest, debljina, pušenje, malignomi, kardiovaskularne bolesti s koronarnom bolesti srca, kronična opstruktivna bolest, bolesti respiratornog sustava i kronična bubrežna bolest (23).

### 1.1.3. Virologija SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 je omotani, pozitivni, jednolančani RNK virus, genoma veličine oko 29.9 kB. Virusni genom sastoji se od 5' i 3' kraja. 5'kraj čini glavni dio genoma i sadrži otvorene okvire za čitanje (engl. *Open reading frame* - ORF) koji kodiraju 16 nestrukturnih proteina koji sudjeluju u procesu replikacije virusa. 3'kraj čini pet strukturalnih proteina: šiljasti protein (*Spike protein* – S), membranski protein (M), nukleokapsidni protein (N), protein ovojnice (*Envelope protein* - E) i hemaglutininerazni protein (HE). Organizacija virusnog genoma tipična je za betakoronaviruse te su sekvence nukleotida identične 79 % sa SARS-CoV te 50% sa MERS-CoV (1, 24).

SARS-CoV-2 kuglaste je strukture, promjera otprilike 80 do 120 nm. Čini ga dvoslojna lipidna ovojnica unutar koje se nalazi pozitivna RNK zajedno s nukleokapsidnim proteinima

(N) koji pomažu u transkripciji i sastavljanju virusa. U samu ovojnici uklopljeni su transmembranski šiljasti proteini (S) preko kojih se odvija ulazak koronavirusa u stanice domaćina. S proteini sastoje se od dvije funkcionalne podjedinice, S1 i S2 podjedinica. S1 podjedinica sastoji se od receptor-vezajuće domene te je njena funkcija vezanje za receptor na stanici domaćina. S2 podjedinica ima ulogu fuzije membrana virusne stanice i stanice domaćina. Također, preko S proteina odvija se vezivanje i spajanje između zaraženih i susjednih, nezaraženih stanica. M protein najrasprostranjeniji je strukturni protein i također sudjeluje u oblikovanju virusne ovojnice i u procesu pupanja virusa. E protein najmanji je od strukturnih proteina koji ima visoku ekspresiju unutar zaražene stanice za vrijeme virusne replikacije. HE protein ima acetilesteraznu aktivnost te služi kao receptor-uništavajući enzim. S proteini i HE proteini funkcionalno su međusobno ovisni te donose ravnotežu između pričvršćivanja i otpuštanja s receptora (3, 24, 25). Slika 1. prikazuje strukturu SARS-CoV-2.



**Slika 1.** Struktura SARS-CoV-2 virusa. Preuzeto i prilagođeno prema: Bergmann CC, Silverman RH. COVID-19: Coronavirus replication, pathogenesis, and therapeutic strategies. Cleve Clin J Med. 2020;87:321-7.

Vežanje SARS-CoV-2 za receptore na površini stanice domaćina i proces fuzije membrane virusne i domaćinske stanice posredovani su šiljastim (S) proteinom kojeg čine dvije podjedinice, S1 i S2. Receptor na površini stanice domaćina jest angiotenzin konvertirajući enzim 2 (engl. *angiotensin-converting enzyme* – ACE). S1 podjedinica odgovorna je za vežanje na ACE2 receptor preko receptor-vežajuće domene, a S2 podjedinica, koju čine fuzijski protein,

transmembranska i citoplazmatska domena, omogućava fuziju virusne i membrane stanice domaćina. Vežanje S proteina na ACE2 receptor dovodi aktivacije stanične transmembranske proteaze serin 2 preko koje se odvija cijepanje S proteina i razotkrivanje fuzijskog proteina. Nakon fuzije, virus endocitozom ulazi u stanicu te se virusna RNK otkriva u citoplazmi, potom nastaje replikacijski transkripcijski kompleks koji proizvodi negativnu RNK. Transkripcijom nastaju manje skupine subgenomskih RNK koja kodira sve strukturne proteine. U ER-Golgijevom međudjeljku translirani proteini i genomska RNK sastavljaju se u virusnu nukleokapsidu i ovojnici, potom se oslobađaju iz stanice domaćina egzocitozom (26, 27).

#### **1.1.4. Imunopatogenza SARS-CoV-2 infekcije**

Vežanjem virusa za epitelne stanice u gornjem dišnom sustavu započinje njegova replikacija, transkripcija i sastavljanje novih virusnih čestica što se očituje nespecifičnim simptomima poput vrućice, mijalgije, glavobolje i respiratornim simptomima, a u težim slučajevima virusne čestice migriraju u donje dišne putove i ulaze u alveolarne stanice. Mjesta infekcije i simptomi djelomično se mogu objasniti raspodjelom ACE2 receptora. SARS-CoV-2 brzo se širi na druge organe te organi s visokom ekspresijom ACE2 receptora, poput stanica alveolarnog epitela tipa II, epitel dišnih putova, parenhim pluća, epitelne stanice jednjaka, enterociti, stanice miokarda, kolangiociti u jetri i proksimalne stanice bubrežnih tubula, podložni su infekciji (1, 28).

Glavni patofiziološki mehanizmi SARS-CoV-2 infekcije uključuju direktnu virusnu toksičnost, oštećenje endotela i mikrovaskularnu ozljedu, disfunkcionalan imunološki sustav i poticanje hiperinflamatornog stanja, hiprekoagulabilnost s posljedičnim mikrotrombozama i makrotrombozama te promjenu ACE2 kaskadnog puta (29).

Brza replikacija SARS-CoV-2, oštećenje stanica u plućima te oslobađanje virusa potiče akutnu upalu i aktivira prirodni imunološki odgovor. Većina imunokompetentnih bolesnika naposljetku razvije i stečeni imunološki odgovor, uključujući B i T stanično posredovanu imunost zbog antivirusnog humoralnog i staničnog imunološkog odgovora. Još uvijek nije u potpunosti poznat točan mehanizam imunološkog odgovora na SARS-CoV-2 infekciju. Rezultat odgovora je lokalna upala s povećanom ekspresijom brojnih upalnih čimbenika, proupalnih citokina i kemokina poput interleukina-6 i interferona  $\gamma$ , sazrijevanje dendritičkih stanica i sintezu interferona 1 što ograničava širenje virusa i ubrzava fagocitozu virusnih antigena putem makrofaga. Različite stanice prirodnog imunološkog odgovora imaju

ulogu u patogenezi SARS-CoV-2, poput neutrofila i s neutrofilima povezani citokini koji su povišeni u krvi bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom (30).

Stečena imunost, u kojoj glavnu ulogu imaju limfociti, aktivira se nakon 6-8 dana te pruža dugotrajniju zaštitu. Pritom CD4+ T limfociti stimuliraju B limfocite na proizvodnju protutijela specifičnih za virus i luče mnogobrojne citokine te dodatno aktiviraju CD8+ limfocite T koji mogu izravno uništiti stanice zaražene virusom. Kako bi se stvorila neutralizirajuća protutijela, bitno je da antigen prezentirajuće stanice prepoznaju virusne antigene koje potom stimuliraju virus specifične B limfocite i plazma stanice na proizvodnju protutijela. Proizvedena neutralizirajuća protutijela usmjerena su protiv S i N proteina, točnije glavna meta jest S1 podjedinica koja sadrži receptor-vezujuću domenu. Navedena protutijela čine IgM, IgG i IgA te ih je moguće detektirati u krvi 1-3 tjedna od infekcije. Klinički značaj IgA u SARS-CoV-2 infekciji još nije utvrđen (31). Protutijela pružaju relativno brzu imunost, dok B limfociti imaju sposobnost pamćenja uzročnika te mogu reagirati stvaranjem novih protutijela na SARS-CoV-2 ukoliko se infekcija ponovi u daljoj budućnosti. Ovakav upalni odgovor rezultira eliminacijom zaraženih stanica sa sprječavanjem širenja virusa te u konačnici kliničkog oporavka kod većine ljudi (26, 32, 33).

U bolesnika koji razviju teški oblik bolesti, SARS-CoV-2 izaziva disfunkcionalni imunološki odgovor koji potiče razvoj takozvane citokinske oluje, pluća postaju upalno infiltrirana i razvija se ARDS (32). Patohistološki vidljivo je obostrano difuzno oštećenje alveola, stvaranje hijalnih membrana, deskvamacija pneumocita i naslage fibrina u plućima. Kao posljedica ARDS-a, razvija se hipoksemija koja ima učinak na čitav organizam te vodi u višestrukoorgansko zatajenje (1).

Naime, SARS-CoV-2, uz pomoć N proteina, može izbjeći odgovor imunološkog sustava. Također je dokazano da protein S uzrokuje regulaciju naniže ACE2 receptora i uklanja njegovu izvanstaničnu regiju. Uklanjanjem ACE2 receptora s površine stanice, ometa fiziološku funkciju receptora i uzrokuje disfunkciju renin-angiotenzin-aldosteronskog sustava što dovodi do pojačavanja upalnog odgovora (26).

SARS-CoV-2 može izazvati prioptozu makrofaga i limfocita te posljedično limfopeniju, a limfopeniju pogoršava i činjenica da se T limfociti masovno iz krvi preseljavaju na mjesto infekcije. Smanjen broj T limfocita u snažnoj je korelaciji s ozbiljnošću akutne faze SARS-CoV-2 infekcije (32).

Povećava se broj interleukina-6, interleukina-10 i  $\text{TNF}\alpha$ , a smanjuje se broj  $\text{CD4}^+$  i  $\text{CD8}^+$  T limfocita što čini organizam podložnim sekundarnim bakterijskim infekcijama i povećava težinu SARS-CoV-2 infekcije (26).

Prirođeni imunološki odgovor uvelike ovisi o tip I interferonskom odgovoru, no mnogobrojni virusni strukturni i nestrukturni proteini antagoniziraju taj odgovor čime se potiče virusna replikacija, povećavaju se razgradni produkti piroptoze te se dodatno povećava imunološki odgovor (26, 32, 33).

Navedenim mehanizmima i mehanizmima koji se još trebaju otkriti i istražiti, povećava se broj cirkulirajućih citokina, kemokina i slobodnih radikala koji lokalno uzrokuju oštećenje pluća i ostalih organa, a sistemskim prelijevanjem uzrokuju citokinsku oluju što može rezultirati septičkim šokom i višestrukim organskim zatajenjem. Vjerojatniji za razviti takav disfunkcionalan imunološki odgovor su bolesnici stariji od šezdeset godina i bolesnici s popratnim bolestima (32).

Zaštitni imunitet pri infekcijama sezonskim koronavirusima traje 6-12 mjeseci te nakon tog perioda može doći do reinfekcije. Zbog pada titra protutijela nekoliko mjeseci nakon SARS-CoV-2 infekcije, sve više studija ukazuje na jednaku kratkotrajnost zaštitnog imuniteta. Najnovija istraživanja kako IgG protutijela protiv S proteina u osoba koje su preboljele blagi oblik SARS-CoV-2 infekcije prisutna su u serumu i 11 mjeseci u malim količinama. Pad protutijela u prva četiri mjeseca bio je brz, kako bi u idućih sedam mjeseci taj pad znatno usporio (34). Koliko dugo traje imunitet na SARS-CoV-2 infekciju i dalje je nepoznato, iako IgG protutijela, uključujući ona na S i N proteine, u većine osoba traju najmanje nekoliko mjeseci. Pokazalo se da osobe s težom bolešću razvijaju snažniji odgovor IgM, IgG i IgA protutijela, postižu veće titrove i dulju postojanost (31).

Točan mehanizam hiperkoagulabilnog stanja u bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom još uvijek nije poznat. SARS-CoV-2 ne posjeduje intrinzičnu prokoagulantnu aktivnost. Trombogeni potencijal virusa uglavnom se objašnjava kombiniranim učinkom snažnog upalnog odgovora zajedno s oštećenjem endotela. Neki od mehanizama preko kojih se potiče hiperkoagulabilnost obuhvaćaju endotelnu disfunkciju putem ACE2 posredovanog puta s pretjeranim upalnim odgovorom, hiperviskoznost, inhibiciju plazminogena, disfunkciju trombocita, aktivaciju komplementa, proizvodnju antifosfolipidnih protutijela (35).

### **1.1.5. Kliničke manifestacije SARS-CoV-2 infekcije**

Jedan od glavnih problema SARS-CoV-2 infekcije su raznoliki simptomi koji mogu imati različite manifestacije među bolesnicima. Klinička slika može biti asimptomatska, blaga, srednje teška, teška i kritična. Bolesnici s blagom bolesti mogu pokazivati znakove oporavka nakon prvog tjedna, ali neki mogu imati trajne simptome ili se nakon tog perioda mogu naglo pogoršati (3).

Asimptomatska infekcija događa se u čak 33% slučajeva prema najnovijim istraživanjima te je češća u mladih osoba i osoba srednje životne dobi koje su bez priležećih bolesti (36, 37).

Simptomatske infekcije najčešće se očituju 2-14 dana nakon izlaganja virusu te imaju uobičajen tijek gdje u prvom tjednu infekcije dolazi do temperature, respiratornih simptoma (rinoreja, kihanje, suhi kašalj, grlobolja), glavobolje, malaksalosti s mogućim smanjenim ili izgubljenim osjetom okusa i njuha. U tom stadiju otprilike 80% bolesnika se oporavi. Pojava dispneje, kašlja i sekrecije sputuma, između jednog tjedna do deset dana, upozorava na pogoršanje kliničke slike zbog plućne infiltracije i moguće pneumonije te zahtijeva hospitalizaciju (38). Daljnjim razvitkom upale dolazi do karakterističnog kliničkog tijeka teškog oblika SARS-CoV-2 infekcije kojeg čini razvoj ARDS-a. Unatoč intenzivnom liječenju, čak 40% bolesnika s razvijenim ARDS-om ne preživi (3). Detaljan pregled simptoma različitih organskih sustava prikazuje tablica 1.



**Tablica 1.** Kliničke manifestacije SARS-CoV-2 infekcije

<b>Organski sustav</b>	<b>Blaga bolest</b>	<b>Srednje teška bolest</b>	<b>Teška i kritična bolest</b>	<b>Dijagnostički znakovi</b>
Respiratorni	Rinoreja, kihanje Upala grla Kašalj	Dispneja Pneumonija Blaga hipoksemija	Teška hipoksemija ARDS Zatajenje disanja i smrt	Smanjena saturacija kisikom RTG infiltrati poput mliječnog stakla
Gastrointestinalni	Mučnina i povraćanje Proljev Žgaravica	Gubitak apetita Abdominalna bol i napuhnutost	GI krvarenje GI virusna diseminacija	Povećani jetreni enzimi i bilirubin Detekcija SARS-CoV-2 u stolici
Neurološki	Hiposmija/anosmija Hipogeuzija/ageuzija Poremećaji vida Umor, somnolencija	Glavobolja Vrtoglavica Mučnina i povraćanje Mijalgija Ataksija Encefalopatija	CV bolest Epi napadaji Meningoencefalitis Neuropatija Guillain Barre sindrom Neurogeni ARDS Koma	Povećana CK uz mijalgiju MR hiperintenziteti Detekcija SARS-CoV-2 u CSL
Kardiološki	Bol u prsima Sinus tahikardija	Srčana upala s imunocitnom infiltracijom	Kardiomiopatija Akutno srčano zatajenje	Povišeni srčani enzimi QT prolongacija ST elevacija Povišen troponin i BNP
Bubrežni	Proteinurija Hematurija	Akutna renalna ozljeda	Akutno bubrežno zatajenje	Tubularna nekroza i detekcija SARS-CoV-2 u bubrežima
Krvožilni	Koagulacija krvi	Arterijska i venska troboembolija	Plućna embolija DIK	Povišeni D-dimeri Povišeni citokini, feritin i LDH Produljeno PV/APTV
Psihijatrijski	Depresivno raspoloženje Anksioznost Nesanica Ljutnja Strah	Depresija PTSP	Egzarcebacija neuroloških i psihijatrijskih poremećaja	

**Kratice:** ARDS – akutni respiratorni distress sindrom, GI – gastrointestinalno, DIK – diseminirana intravaskularna koagulacija, PTSP – posttraumatski stresni poremećaj

**Preuzeto i prilagođeno prema:** Machhi J, Herskovitz J, Senan AM, Dutta D, Nath B, Oleynikov MD, et al. The natural history, pathobiology, and clinical manifestations of SARS-CoV-2 infections. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2020;15:359-86.

Odnedavno su opisani i dermatološke manifestacije SARS-CoV-2 infekcije s obrascem poput urtikarija, konfluirajućeg eritematoznog/ makulopapuloznog/ morbiliformnog osipa, papulovezikularnog egzantema, akralnog crvenila izgleda ozeblina, *livedo reticularis*, purpurnog vaskulitisa. U teškim oblicima infekcije opisana je akralna ishemija u obliku cijanoze prstiju, kožnih mjehura i suhe gangrene (39, 40).

Prema sustavnom pregledu u kojem je uključena 21 000 muškaraca i 19 000 žena najčešći simptom koji se navodi jest vrućica (58,66%), zatim kašalj (54,52%), dispneja (30,82%), umor (28,16%), sputum (25,33%), dermatološke manifestacije (20,45%), anoreksija (20,26%), neurološke manifestacije uključujući anosmiju i ageuziju (20,82%), mijalgija (16,90%), rinitis (14,29%), grlobolja (14,41%), glavobolja (12,17%), bol u prsima (11,49%), proljev (9,59%) i u manjim postotcima rinoreja, palpitacije, mučnina s ili bez povraćanja, vrtoglavica, trnci, konfuzija, nazalna kongestija, abdominalna bol, hemoptiza (39).

Postakutni COVID-19 definiran je kao postojanje trajnih simptoma i/ili odgođenih ili dugotrajnih komplikacija SARS-CoV-2 infekcije dulje od 4 tjedna od početka simptoma. Na temelju nedavnih spoznaja, dijeli se u dvije kategorije. Subakutni ili trajni simptomatski COVID-19 uključuje simptome i abnormalnosti prisutne 4 do 12 tjedana nakon akutnog COVID-19. Kronični ili post-COVID-19 sindrom uključuje simptome i abnormalnosti koji traju ili su prisutni nakon 12 tjedana od početka akutnog COVID-19, a ne mogu se prepisati ostalim dijagnozama (29).

Pojavljuje se u bolesnika s blagim, umjerenim i teškim oblikom COVID-19, bez obzira na težinu kliničkih simptoma u akutnoj fazi infekcije (29). Najnovija američka studija navodi da gotovo svaki četvrti bolesnik ima barem jedan post-COVID simptom, a među hospitaliziranim bolesnicima svako drugi bolesnik. Čak 19% asimptomatskih bolesnika također su imali neke od simptoma post-COVID sindroma (41). Kod bolesnika s kliničkom slikom blage do umjerene težine, post-COVID simptomi prisutni su nakon 12 tjedana ili duže. Težina bolesti tijekom akutnog COVID-19 koja uključuje prijem na jedinicu intenzivnog liječenja, potreba za neinvazivnom i/ili invazivnom mehaničkom ventilacijom značajno je povezana s prisutnošću dugotrajnih simptoma poput dispneje, umora, mišićne slabosti i PTSP-a, smanjenjem kvalitete života i abnormalnostima plućnih funkcija i radiografskih nalaza (29). Također značajna povezanost za razvijanje post-COVID sindroma uočena je kod osoba s postojećim plućnim bolestima, većim indeksom tjelesne mase, starije dobi, žena, crnaca i

Azijata, kao i one osobe koje su razvile manje količine IgG SARS-CoV-2 protutijela, imale anosmiju i proljev (42).

Patofiziološki mehanizmi koji pridonose razvoju post-COVID sindroma uključuju patofiziološke promjene specifične za virus, upalna oštećenja kao odgovor na akutnu infekciju i očekivane posljedice nakon kritične bolesti odnosno post-intenzivnog sindroma (29).

Umor, smanjena kvaliteta života, mišićna slabost, bol u zglobovima, gubitak kose dio su mnogobrojnih simptoma post-COVID sindroma. Među plućnim posljedicama najčešća je dispneja, potom kašalj i potreba za korištenjem kisika zbog dugotrajne hipoksemije. Hiposmija/anosmija i hipogeuzija/ageuzija, anksioznost i depresija, poremećaji spavanja, posttraumatski stresni poremećaj - PTSP, kognitivne smetnje i glavobolje dio su neuropsihijatrijskih posljedica post-COVID sindroma. Među srčanim i krvožilnim posljedicama najčešće se opisuju palpitacije, bol u prsima i tromboembolije. Kronična bubrežna bolest također je uočena kao dio post-COVID sindroma (29).

### **1.1.6. Dijagnostika SARS-CoV-2 infekcije**

Dijagnostički pristup SARS-CoV-2 infekciji sastoji se od kliničke sumnje, testiranja i prikupljanja uzoraka te interpretacije testa, a nakon potvrde dijagnoze specifičnih laboratorijskih i slikovnih nalaza za procjenu težine kliničke slike. Serološka testiranja koriste se u detekciji nedavne ili preboljene infekcije (43).

Dijagnoza trenutne SARS-CoV-2 infekcije postavlja se izravnim otkrivanjem RNK SARS-CoV-2 uz pomoć lančane reakcije polimeraze nakon obrnutog prepisivanja (engl. *Reverse-transcription Polymerase Chain Reaction* – RT-PCR) i testa amplifikacije nukleinskih kiselina. Širom svijeta koriste se različiti RT-PCR eseji koji umnažaju i detektiraju različita područja genoma SARS-CoV-2. Obično umnažaju dva ili više gena, gene nukleokapside (N), gene ovojnice (E) i gene šiljastog proteina (S), te regije ORF-1 u kojoj je i gen RNK ovisne RNK polimeraze (43).

Uzorak za testiranje uglavnom je obrisak sluznice nazofarinksa i nosa te za test nije potrebna posebna priprema (43, 44). Pozitivan rezultat označava prisutnost virusnog genoma, ali ne određuje zaraznost bolesnika budući da su dokumentirani slučajevi s prolongiranom i rekurirajućom RNK detekcijom, ali izolati virusa nakon 10 dana od početka simptoma rijetko su prisutni (43).

Osjetljivost i specifičnost RT-PCR testa redom iznose 84,2% i 98,9% te se za sada smatra zlatnim standardom u postavljanju dijagnoze COVID-19, nudeći najveću osjetljivost među dostupnim testovima. Učinak testa ovisi o vrsti i kvaliteti uzorka i trajanju bolesti u vrijeme uzorkovanja. Kao nedostatke testa navode se duže vrijeme obrade testa koje iznosi između 1-3 dana ovisno o vrsti testa i laboratoriju u kojem se obrađuje te je cijenom po testu skuplji od ostalih metoda (43, 45, 46).

Antigensko testiranje za SARS-CoV-2 infekciju je imunoesej koji detektira prisutnost specifičnog virusnog antigena, najčešće nukelokapsidnog proteina, što podrazumijeva trenutnu virusnu infekciju. Uzorak za testiranje je obrisak sluznice nazofarinksa ili nosa koji se stavlja direktno na imunoesej koji sadrži pufer za ekstrakciju ili određeni reagens (46).

Za bolesnike sa simptomatskom infekcijom osjetljivost i specifičnost antigenog testiranja redom iznosi 72,0% i 99,6%, dok za asimptomatske infekcije redom iznose 58,1% i 98,9% te najveću osjetljivost postižu kod testiranja simptomatskih bolesnika 5-7 dana nakon početka simptoma (43, 47). Općenito su manje osjetljivosti od RT-PCR-a te mogu zahtijevati dodatna testiranja, ali prednosti su kratko vrijeme obrade testa koji iznosi 15-30 minuta, izvođenje testa na bilo kojoj lokaciji i cijena koja je značajno jeftinija od RT-PCR-a (43).

Serološki testovi otkrivaju protutijela, na SARS-CoV-2 iz krvi i mogu identificirati bolesnike koji su tek preboljeli ili prethodno bolovali od SARS-CoV-2 infekcije te bolesnike koji imaju trenutnu infekciju s početkom simptoma prije 3 do 4 tjedna (43). Prvenstveno se detektiraju IgM i IgG protutijela koja su nastala kao odgovor imunološkog sustava na infekciju. Uzorak za testiranje je serum ili plazma (31).

IgM protutijela nastaju prije IgG, a u krvi se mogu otkriti krajem prvog tjedna infekcije i vrhunac dosežu između drugog i petog tjedna, opadajući tijekom daljnjih tri do pet tjedana nakon pojave simptoma. Nedugo nakon IgM u krvi se mogu otkriti IgG protutijela, a vrhunac dosežu između trećeg i sedmog tjedna od pojave simptoma i zadržavaju se najmanje osam tjedana (30).

Osjetljivost seroloških testiranja visoko je varijabilna te ovisi o vrsti serološkog testa i vremenu kada je uzorak napravljen s obzirom na početak simptoma. Prema *Cochrane* pregledu maksimalna osjetljivost za IgM i IgG bila je između 15-21 dana od početka simptoma, redom 75,4% i 88,2%. Specifičnost za IgM iznosila je 98,7%, a za IgG 99,1% bez obzira na vrijeme uzorkovanja (48). Vrijeme obrade testa uvelike ovisi o vrsti testa koji se koristio i o laboratoriju

u kojem se obrađuje te se kreće u roku od nekoliko sati do nekoliko dana. I dalje je nepoznato znači li pozitivan serološki test imunitet protiv buduće infekcije (43).

U perifernoj krvi bolesnika uobičajeni nalazi su limfopenija, trombocitoza, povišene razine jetrenih enzima, laktat dehidrogenaze, povišene razine upalnih parametara, povišene razine D-dimera, protrombinskog vremena, troponina i kreatin kinaze. Povišeni D-dimeri, feritin, LDH, interleukin-6 te trombocitopenija i limfopenija povezani su s teškim oblikom bolesti i većom smrtnosti (43).

Rendgensko snimanje (RTG) prsnog koša teško bolesnih s respiratornim simptomima može pomoći u identifikaciji COVID-19 pneumonije. U ranim stadijima bolesti RTG prsnog koša može biti uredan jer se zahvaćenost pluća upalom povećava dužim trajanjem bolesti s vrhuncem 10-12 dana od početka simptoma. Prema radiološkom nalazu COVID-19 pneumonija može se svrstati u atipične pneumonije gdje se vide multifokalne promjene tipa mliječnog stakla, linearni opaciteti i konsolidacije. Češće su promjene obostrane te u 68,5% slučajeva pokazuju promjene tipa mliječnog stakla, smještene periferno u donjim režnjevima pluća (43,49). Prema *Cochrane* pregledu rendgensko snimanje prsnog koša točno dijagnosticiralo COVID-19 u 80,6% bolesnika koji su imali COVID-19 (osjetljivost), pogrešno je identificiran COVID-19 u 28,5% ljudi koji nisu imali COVID-19 (specifičnosti – 71,5% ) (50).

Kompjutorizirana tomografija (engl. *computed tomography* - CT) prsnog koša također se često koristi u dijagnosticiranju COVID-19 za otkrivanje abnormalnih promjena u plućima i praćenje napredovanja bolesti tijekom liječenja. Patološki nalazi u CT-u obuhvaćaju promjene tipa mliječnog stakla, konsolidacije, zadebljanja pleure, zadebljanje interlobularnog septuma te zračne bronhograme. Promjene su najčešće obostrane, smještene periferno u donjim režnjevima, kao kod RTG-a prsnog koša (43). Osjetljivost CT-a procjenjuje se na 87,9%, a specifičnost na 80,0% (50). Iako je CT prsnog koša osjetljiviji od RTG-a prsnog koša i pronalazi promjene karakteristične za COVID-19, nijedan nalaz ne može u potpunosti presuditi niti isključiti mogućnost COVID-19. Radiografske abnormalnosti često zaostaju za kliničkim poboljšanjem (43).

### 1.1.7. Liječenje SARS-CoV-2 infekcije

Do danas i dalje ne postoji dokazano učinkovita terapija protiv SARS-CoV-2 infekcije niti specifična antivirusna sredstva protiv SARS-CoV-2. Postoje međutim terapijske strategije koje su pokazale određene koristi u određenim populacijama bolesnika (1). Terapija SARS-CoV-2 infekcije uglavnom je simptomatska (26).

Osim simptomatskog liječenja postoje barem četiri potencijalne terapijske strategije protiv SARS-CoV-2 infekcije. Prvu čine izravni antivirusni lijekovi poput Remdesivira, zatim neizravna antivirusna sredstva poput interferona I i lijekovi koji ciljaju proteine domaćina potrebne za obranu od infekcije. Treću strategiju čini rekonvalescentna plazma koja sadrži protutijela protiv SARS-CoV-2 te posljednju strategiju čine lijekovi koji zaustavljaju patološki hiperreaktivni upalni odgovor i citokinsku oluju (27).

Remdesivir analog je adenzina, predlijek, koji sprječava virusnu replikaciju inhibirajući RNK ovisnu RNK polimerazu. Primjena remdesivira trenutno se preporuča za bolesnike s težom upalom pluća sa saturacijom kisika <93%, a s urednom bubrežnom funkcijom. Liječenje treba započeti što je ranije moguće. Prema meta-analizi randomiziranih kontroliranih pokusa iz veljače 2021. godine, umjerena razina dokaza pokazala je povezanost remdesivira s višim stopama oporavljenih i otpuštenih bolesnika i nižim stopama razvoja ozbiljnih štetnih događaja. Bolesnicima kojima se daje remdesivir vjerojatnije će pokazati oporavak i više stope otpusta iz bolnice, ali ne i značajno smanjenje medijana vremena do kliničkog poboljšanja (51, 52).

Kortikosteroidi snažni su protuupalni lijekovi koji povećavaju ekspresiju protuupalnih molekula poput aneksina-1, interleukina-10, interleukina-1, a smanjene ekspresije nuklearnog faktora  $\kappa$ B, interleukina-6 i interleukina-2 te općenito smanjeno stvaranje proupalnih citokina (53). Preporuča se primjena deksametazona ili metilprednizolona intravenski. Primjena kortikosteroida rezervirana je za liječenje teškog i oblika bolesti, bolesnike liječenje u jedinicama intenzivne njege i koji su na mehaničkoj ventilaciji, dok primjena u blagom i srednjem teškom obliku bolesti nije opravdana. Kortikosteroidi su pokazali smanjene smrtnosti kod teških oblika SARS-CoV-2 infekcije. Bolesnike koji primaju kortikosteroide potrebno je nadzirati zbog mnogobrojnih neželjenih učinaka, a to su najčešće hiperglikemija i povećan rizik od infekcija (52, 54).

Tolicizumab je monoklonsko protutijelo protiv interleukina-6, kao i sarilumab i siltuksimab, te se koristi u teškom obliku SARS-CoV-2 infekcije, uslijed pogoršanja kliničkog

stanja i vjerojatnim sindromom prekomjernog lučenja citokina. Ne preporuča se primjena samo na temelju progresije upale pluća i hipoksemije u bolesnika koji su afebrilni, imaju niske vrijednosti CRP-a, feritina i IL-6. Za sada se tolicizumab koristi uz kortikosteroide te može biti povezan uz povećan rizik od infekcija. Dosadašnji dokazi ukazuju na smanjenje smrtnosti uz Tolicizumab (52, 55).

Terapija rekonvalescentnom plazmom sastoji se od transfuzije krvne plazme bolesnika koji su preboljeli COVID-19 bolesnicima koji se bore s infekcijom. Krvna plazma preboljelih sadrži specifična protutijela koja neutraliziraju SARS-CoV-2 pa se njenom transfuzijom nastoji na umjetan način inducirati pasivnu imunost. Pretpostavlja se da rekonvalescentna plazma koja sadrži visoke titre neutralizirajućih protutijela ima kliničku korist kada se daje rano u tijeku bolesti (54). Prema *Cochrane* pregledu visoka razina dokaza govori da rekonvalescentna plazma za liječenje bolesnika s umjerenom do teškom bolešću ne utječe na smrtnost i ima malo ili nimalo utjecaja na mjere kliničkog poboljšanja. Štetni učinci takve terapije još nisu istraženi (56). Od rekonvalescentne plazme velikog broja davatelja može se proizvesti hiperimuni anti-COVID-19 intravenski imunoglobulin koji se sastoji od koncentrirane frakcije imuglobulina (57).

Unatoč korištenju na početku pandemije, danas se ne preporuča liječenje bolesnika s hidroksiklorokinom, klorokin fosfatom, lopinavir/ritonavir i/ili azitromicinom, osim u sklopu kliničkog ispitivanja (52).

Najčešća komplikacija SARS-CoV-2 infekcije je teška upala pluća stoga nadomjesna terapija kisikom čini veliki dio simptomatskog liječenja. Provodi se nosnim kateterom ili preko maske, ovisno o potrebi. Svjetska zdravstvena organizacija preporučuje nadomjesnu terapiju kisikom kod bolesnika s respiratornim insuficijencijom, hipoksemijom ili šokom s ciljnom SpO<sub>2</sub> većom od 94% (52).

Ukoliko se radi o težoj hipoksemiji (SpO<sub>2</sub> <90% uz 16L/min O<sub>2</sub> na masku) te ako u bolesnika nema zamora respiratorne muskulature i izražene dispneje preporuča se primjena kisika preko visokoprotočnog nosnog katetera (eng. *High-flow nasal cannula* – HFNC). Time se u znatnog broja bolesnika može izbjeći ili odgoditi potreba za invazivnom, mehaničkom ventilacijom (52). U bolesnika s HFNC korisno je praćenje ROX indeksa. ROX indeks definiran je kao omjer saturacije kisika izmjere pulsnom oksimetrijom i frakcije udisajnog kisika naspram frekvencije disanja, a procijenjen je kao prediktor potrebe za intubacijom bolesnika koji su na terapiji HFNC (58).

Potrebno je brzo prepoznati progresivno akutno-hipoksemično respiratorno zatajenje u trenutku kada pacijent s respiratornim distresom ne odgovara na primijenjenu nadomjesnu terapiju kisikom te ga adekvatno pripremiti za invazivnu mehaničku ventilaciju. Preporuča se primjena mehaničke ventilacije nižih respiratornih volumena i nižih udisajnih tlakova (59).

Kao antipiretik preporuča se paracetamol u oralnom ili intravenskom obliku (52). Intravensko davanje infuzije ograničava se na teške bolesnike te se preporuča izbjegavati nepotrebno volumno opterećenje (52). Tijekom SARS-CoV-2 infekcije, kao posljedica stanja hiperkoagulabilnosti, preporuča se kod svih hospitaliziranih bolesnika obavezno primjenjivati niskomolekularni heparin (enoksaparin) u preporučenim profilaktičkim dozama (52). Upotreba anksiolitika opravdana je s obzirom na težinu bolesti, neizvjesnost vezanu uz ishod bolesti, dugotrajnu hospitalizaciju, izolaciju i odvojenost od obitelji. Uz primjenu anksiolitika potreban je oprez jer dovode do depresije disanja (52, 60).

### **1.1.8. Prevencija SARS-CoV-2 infekcije**

Prevencija SARS-CoV-2 infekcije glavni je način suočavanja s virusom budući da ne postoji specifično antivirusno liječenje. Mjere prevencije obuhvaćaju nošenje maske za sve starije od dvije godine, održavanje fizičkog razmaka od dva metra između osoba, izbjegavanje tjelesnog doticaja s drugim ljudima, izbjegavanje većih okupljanja i gužve, često pranje ruku, dezinficiranje površina koje se često dodiruju, održavanje higijene prostora, izbjegavanje dodirivanja oči, usta i nos rukama (61).

Najučinkovitija mjera prevencije i kontrole SARS-CoV-2 infekcije jest cijepljenje. U razvoju su mnoge vrste cjepiva s mehanizmima poput rekombinantnih vektora, DNK, *messenger* RNK u lipidnim nanočesticama, inaktivirane viruse, žive oslabljene viruse i proteinske podjedinice (1).

Trenutno dostupna cjepiva u Republici Hrvatskoj su *Comirnaty Pfizer – BioNTech*, *Spikevax Moderna*, *Vaxzevira AstraZeneca* i *Janssen Johnson&Johnson*. Za cjepiva ne postoje preporuke temeljem kojih se u određenim situacijama daje prednost jednoj vrsti cjepiva nad drugom (62).

*Comirnaty, Pfizer – BioNTech* cjepivo je protiv COVID-19 na bazi *messenger* RNK (skraćeno mRNK). Cjepivo se daje intramuskularnom injekcijom, u vremenskom razmaku od barem tri tjedna između doza. Za sada se preporuča starijima od 12 godina. Sastoji se od



nukleozidno modificirane mRNK koja kodira mutirani oblik S proteina SARS-CoV-2, koja se formulira u lipidne nanočestice u svrhu zaštite RNK i olakšavanja apsorpcije u stanicu. Primitkom takve vrste cjepiva u stanice dolazi sintetska mRNK koja nosi genetski kod za prepisivanje virusnih proteina i stanice počinju proizvoditi iste. Virusni proteini bivaju prepoznati kao strani te stimuliraju imunološki odgovor i nastane proizvodnja protutijela protiv virusnih proteina (63, 64).

*Spikevax, Moderna* također je cjepivo protiv COVID-19 na bazi mRNK koja kodira S protein SARS-CoV-2 te se formulira u lipidne nanočestice. Primjenjuje se intramuskularno, u dvije doze u vremenskom razmaku od četiri tjedna. Preporuča se osobama starijima od 18 godina.

Što se tiče učinkovitosti cjepiva, provode se mnogobrojna istraživanja u svrhu spoznaje o zaštitnoj sposobnosti cjepiva i trajanju imuniteta nakon cijepjenja. Nova studija otkriva da osobe koje su primile obje doze mRNK cjepiva imaju 91% manji rizik od infekcije, s jednom dozom cjepiva 81% manji rizik, manju vjerojatnost prenošenja virusa i, ukoliko je razviju, smanjenu težinu COVID-19. Cjepiva protiv COVID-19 imaju visoku djelotvornost koja varira ovisno o kojem se soju SARS-CoV-2 radi (65).

*Vaxzevira, AstraZeneca* je virusno vektorsko cjepivo za prevenciju COVID-19. Cjepivo se primjenjuje intramuskularno, u dvije doze u vremenskom razmaku između 4-12 tjedna od prve doze te se preporuča osobama starijim od 18 godina. Modificirani humani adenovirus, koji služi kao virusni vektor, sadrži genetski zapis za S protein SARS-CoV-2 te ga dostavlja stanicama u tijelu. Inficirajući stanice i potičući ih na proizvodnju velike količine antigena, aktivira se imunološki sustav, oponaša se prirodna infekcija, pokreće se snažni stanični imunološki odgovor od strane T i B stanica koje potom proizvode protutijela (66).

*Vaxzevira* za sada ima 63%-tnu učinkovitost protiv simptomatske SARS-CoV-2 infekcije te su dulji rasponi doza (8-12 tjedana) povezani s većom učinkovitošću cjepiva (67).

*Janssen, Johnson&Johnson* je virusno vektorsko cjepivo za prevenciju COVID-19 bolesti. Cjepivo se primjenjuje intramuskularno, jednom injekcijom. Mehanizam djelovanja isti je kao i kod *Vaxzevire* te rezultira aktivacijom T i B stanica koje proizvode virusna protutijela (68).

Utvrđeno je da *Janssen* ima učinkovitost od 84,5% protiv teške bolesti i 93,1% od hospitalizacije. Utvrđeno je, također, da pojedinačna doza *Janssen* cjepiva ima učinkovitost od 66,9% protiv simptomatske umjerene i teške SARS-CoV-2 infekcije (69).

## 1.2. Upalni biljezi u SARS-CoV-2 infekciji

Mjerenjem upalnih biljega otkriva se akutna upala koja može ukazati na specifičnu bolest ili je moguće pratiti odgovor na primijenjeno liječenje. Upalni biljezi uključuju C reaktivni protein (CRP), brzinu sedimentacije eritrocita (SE), prokalcitonin, fibrinogen, feritin i nekoliko drugih reaktanata akutne faze (70). Ukoliko serumska koncentracija određenog reaktanta za vrijeme upale raste naziva se pozitivnim reaktantom akutne faze, a tu spadaju CRP, prokalcitonin, fibrinogen i feritin. Ako u upali koncentracija određenog reaktanta pada tada se naziva negativnim reaktantom akutne faze, poput albumina i transferina (71).

C reaktivni protein jest reaktant akutne faze koji se sintetizira u hepatocitima pod utjecajem citokina interleukina-6. Referentna vrijednost CRP-a iznosi <5mg/L. Razina CRP-a brzo raste kao odgovor na upalne podražaje, a bakterijska infekcija jedan je od najmoćnijih. Izlučivanje CRP-a započinje unutar 4-6 sati od podražaja, udvostručujući se svako osam sati, kako bi svoj maksimum doseglo između 36-50 sati. Nakon nestanka ili uklanjanja podražaja koncentracija CRP-a brzo se smanjuje s poluvijekom od 19 sati (72).

Vrijednost SE pokazuje brzinu kojom se eritrociti u antikoaguliranoj punoj krvi spuštaju u standardiziranoj cijevi tijekom razdoblja od jednog sata. Nespecifična je mjera upale. Referentna vrijednost SE za muškarce je 2-13 mm/3,6 ks, a za žene 4-24 mm/3,6 ks. U stanjima upale fibrinogen, ostali proteini zgrušavanja, alfa globulin koji su pozitivno nabijeni, smanjuju elektronegativni naboj eritrocita te nastane njihovo ubrzano taloženje. SE počinje rasti 24-48 sati nakon početka akutne upale, polako se smanjuje nakon što se upala razriješi, a može potrajati i nekoliko tjedana i mjeseci da se vrati na normalne vrijednosti (73).

Prokalcitonin je prohormon, protein koji se sastoji od 116 aminokiselina i prekursor kalcitoninu. Razina prokalcitonina raste kao prohormon u sklopu sinteze kalcitonina i kao odgovor na upalni podražaj, posebno bakterijskog podrijetla čiji toksini predstavljaju snažan poticaj za lučenje PCT. U slučaju virusnih ili neinfektivnih upala ne raste značajno. Mnogobrojni citokini također potiču izlučivanje PCT (74). Referentna vrijednost prokalcitonina je <0.5ng/ml. Izlučivanje prokalcitonina između 2-4 sata od upalnog podražaja,

a vrhunac izlučivanja je nakon 24-48 sati (75).

Fibrinogen je protein koji se proizvodi u jetri i oslobađa u krvotok. Prilikom oštećenja tkiva ili krvožilja preko trombina se enzimski pretvara u fibrin te tvori fibrinski ugrušak. Također je protein akutne faze čije se razine povećavaju u odgovoru na sistemsku upalu te se smatra čimbenikom koji pridonosi hiperkoagulabilnosti za vrijeme upale. Referentna vrijednost za fibrinogen je 1.8-3.5 g/L (76).

Nakon što se krvni ugrušak razgradi fibrinolizom, u krvi su prisutni produkti razgradnje fibrina, D-dimeri, te se u kliničkoj praksi u velikoj mjeri koriste kao pokazatelji upale, biljezi hiperkoagulabilnog stanja i prediktori rizika za trombotske događaje (76). Pozitivnim rezultatom može se sumnjati na trombozu, ali se ne isključuju drugi potencijalni uzroci, stoga je glavna uporaba D-dimera isključivanje tromboembolijske bolesti. Referentna vrijednost D-dimera <550  $\mu\text{g/L}$  (77).

Feritin je unutarstanični, citoplazmatski protein koji služi kao spremište željeza, no u malim količinama otpušta se u serum te tako postaje indirektni pokazatelj zalihe željeza u organizmu. Feritin je također protein akutne faze čije razine odražavaju stupanj akutne i kronične upale kod zaraznih, hematoloških i zloćudnih bolesti te je hiperferitinemija, bez obzira na uzrok, povezana s visokom smrtnosti. Tijekom infekcije, povećana razina feritina predstavlja važan obrambeni mehanizam domaćina koji sprječava rast mikrobima uskraćujući im željezo i štiti funkciju imunoloških stanica. Osim njegove homeostatske uloge, feritin sudjeluje kao ključni marker i upalni pokretač u upalnoj patologiji kao dio prirođenog imunološkog odgovora i modulacijom funkcije limfocita. Referentna vrijednost feritina za muškarce je 30-400  $\mu\text{g/L}$ , a za žene 13-150  $\mu\text{g/L}$  (78).

Albumin je glavni protein krvne plazme koji se sintetizira u jetri. Reaktant je akutne faze no za vrijeme upale serumska koncentracija albumina se smanjuje te stoga čini negativne reaktante akutne faze. Hipoalbuminemija se objašnjava pojačanim kataboličkim stanjem tijekom upale te je stoga povećana razgradnja albumina, smanjenim stvaranjem albumina kako bi se sačuvala aminokiseline za ostale reaktante akutne faze te nepovratnom oksidacijom za vrijeme oksidativnog stresa. Referentna vrijednost albumina je 41-51 g/L. Hipoalbuminemija povezana je uz duži ostanak u bolnici, veću mogućnost komplikacija i povećanom smrtnosti (71, 79).

Omjer neutrofila i limfocita (N/L) upalni je biljeg koji se koristi kao indikator sistemske upale. Povišene razine omjera mogu ukazivati na lošu prognozu. N/L može se koristiti kao rani

pokazatelj pogoršanja SARS-CoV-2 infekcije i pružiti osnovu za rano prepoznavanje i rješavanje teške COVID-19 pneumonije (80).

Omjer limfocita i monocita (L/M) također je biljeg koji odražava stanje sistemske upale. U SARS-CoV-2 infekciji omjer se smanjuje te može poslužiti kao rani pokazatelj težeg oblika infekcije (81).

Omjer limfocita i CRP (L/C) upalni je biljeg te služi kao indikator sistemske upale. Nizak omjer odražava pojačanu upalu te ukazuje na pogoršanje SARS-CoV-2 infekcije i težine bolesti (80).

Omjer CRP i albumina korisna je kombinacija biljega za sistemske upale i nutritivnog statusa te služi kao prognostički biljeg bolesnika s infekcijom i zloćudnim bolestima. Visoki omjer upućuje na povećani morbiditet i mortalitet kritično bolesnih (82).

Porast broja leukocita najraniji je laboratorijski pokazatelj infekcije, a u virusnim infekcijama obično raste broj limfocita sa smanjenjem broja neutrofila. U virusnim infekcijama može doći do trombocitopenije. Razina CRP-a obično se povisi, ali ne toliko koliko u bakterijskim infekcijama, a slično vrijedi i za prokalcitonin. Fibrinogen i feritin također se mogu povisiti prilikom virusne infekcije (83, 84).

## **2. CILJ ISTRAŽIVANJA**

Cilj ovog istraživanja jest usporediti upalne biljege i kliničku sliku bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preminuli i bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preživjeli.

Hipoteze istraživanja su:

1. Bolesnici sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preminuli imali su veći udio komorbiditeta.
2. U bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preminuli imali su veći udio obostrane upala pluća i potrebe za mehaničkom ventilacijom u usporedbi s bolesnicima sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preživjeli
3. Vrijednosti laboratorijskih pokazatelja upalne aktivnosti su veći u bolesnika s sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preminuli.

### **3. ISPITANICI I METODE**

### **3.1. Ustroj istraživanja**

Istraživanje je po ustroju retrospektivno istraživanje. Svi su podatci prikupljeni iz elektronske baze podataka Kliničkog bolničkog centra Split. Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu i Kliničkog bolničkog centra Split te je napravljeno prema smjernicama Helsinške deklaracije.

### **3.2. Ispitanici**

U svrhu istraživanja prikupljeni su podatci od 219 bolesnika koji su hospitalizirani u Kliničkom bolničkom centru Split u razdoblju od veljače do srpnja 2020. Kriteriji uključenja bio je pozitivan rezultat RT-PCR test na SARS-CoV-2 infekciju, hospitalizacija u Kliničkom bolničkom centru Split i dob bolesnika veća od 18 godina. Bolesnici su podijeljeni u dvije skupine. U prvu skupinu su uključeni podatci od 177 bolesnika koji su preživjeli, a u drugu skupinu podatci od 42 bolesnika koji su preminuli.

### **3.3. Metoda prikupljanja podataka**

Za potrebe ovog istraživanja prikupljeni su sljedeći podatci: dob i spol bolesnika, prisustvo komorbiditeta koje uključuju šećernu bolest, hipertenziju, hiperlipidemiju, kroničnu bubrežnu bolest, maligne bolesti, preboljeli cerebrovaskularni inzult i kardiovaskularna oboljenja.

Prikupljeni su podatci o kompletnoj krvnoj slici, apsolutne vrijednosti diferencijalne krvne slike, biljezima akutne infekcije te koagulogram. Koristeći podatke kompletne krvne slike izračunali su se omjeri neutrofila i limfocita, limfocita i monocita, limfocita i CRP-a te CRP-a i albumina. Također su prikupljeni podatci o rendgenskim nalazima pluća s obzirom na promjene koje prikazuju, jednostranu ili obostranu zahvaćenost pluća, te o uporabi mehaničke ventilacije. Svi prikupljeni podatci su bili prilikom prijema bolesnika na bolničko liječenje.

### **3.4. Statistička obrada podataka**

Za statističku obradu podataka korišten je računalni program SPSS 19.0 (IBM Corp, Armonk, NY) za operacijski sustav Windows.

Kategorijske varijable opisane su korištenjem cijelih brojeva, a za njihovu usporedbu korišten je  $\chi^2$  test. Kolmogorov-Smirnovljevim testom dokazana je raspodjela podataka koja odstupa od normalne, stoga su numeričke varijable opisane korištenjem medijana i



interkvartilnog raspona. Za usporedbu numeričkih varijabli upotrijebljen je Mann-Whitney U test. Razina statističke značajnosti postavljena je na  $P < 0,05$ .

## **4. REZULTATI**

#### 4.1. Osnovna obilježja ispitanika

U istraživanje je uključeno 219 SARS-CoV-2 pozitivnih bolesnika koji su podijeljeni u dvije skupine: prvu skupinu (N=177) su činili bolesnici koji su preživjeli, a u drugu skupinu (N=42) bolesnici koji su preminuli. Pronađena je statistički značajna razlika u životnoj dobi između skupine bolesnika koji su preživjeli i skupine bolesnika koji su preminuli (74 (58-80) vs 84,5 (68-90) godina;  $P < 0,001$ ).

U skupini bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preminuli bio je značajno veći udio ženskog spola u odnosu na skupinu bolesnika koji su preživjeli ( 64% vs. 58 % ;  $P=0,009$ ).

Hipertenzija je najčešći komorbiditet u obje skupine bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom, u skupini bolesnika koji su preminuli bila je značajno češće zastupljena od skupine koja je preživjela (62% vs. 55%;  $P=0,009$ ). Udio ostalih promatranih komorbiditeta je bio statistički značajno veći u skupini bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preminuli i to šećerne bolesti tip 2 (31% vs. 23%;  $P=0,007$  ), preboljeli cerebrovaskularni inzult (38% vs. 22%;  $P= 0,006$ ), kardiovaskularna oboljenja (26% vs. 14%;  $P=0,021$ ), kronične bubrežne bolesti (7% vs. 2%;  $P=0,009$ ), hiperlipidemija (7% vs. 4%;  $P=0,009$ ) u odnosu na skupinu bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preživjeli, osim malignoma čiji je udio statistički značajno veći u skupini bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preživjeli (10% vs. 5%;  $P=0,008$ ) u odnosu na skupinu bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preminuli (Tablica 2).

**Tablica 2.** Usporedba osnovnih obilježja i komorbiditeta SARS-CoV-2 pozitivnih bolesnika u ispitivanim skupinama

Varijable		Preživjeli (N=177)	Preminuli (N=42)	P
Dob (godine)**		74 (58-80)	84,5 (68-90)	<0,001*
Spol	M	75 (42)	15 (36)	0,009†
	Ž	102 (58)	27 (64)	
Šećerna bolest tip 2		40 (23)	13 (31)	0,007†
Hipertenzija		98 (55)	26 (62)	0,009†
Hiperlipidemija		7 (4)	3 (7)	0,009†
KBB		4 (2)	3 (7)	0,009†
Malignomi		18 (10)	2 (5)	0,008†
CVI		39 (22)	16 (38)	0,006†
Kardiovaskularna oboljenja		25 (14)	11 (26)	0,021†

Podaci su prikazani kao apsolutni broj (postoci), osim u slučaju\*\*

\*Mann-Whitney test

\*\*medijan (interkvartilni raspon)

†hi-kvadrat test

**Kratice:** KBB – kronična bubrežna bolest, CVI – cerebrovaskularni inzult

## 4.2. Laboratorijski parametri

Nisu pronađene statistički značajne razlike između skupine bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preživjeli i skupine koji su preminuli u vrijednostima leukocita ( $P=0,341$ ), neutrofila ( $P=0,229$ ), monocita ( $P=0,743$ ), eozinofila ( $P=0,508$ ), bazofila ( $P=0,262$ ), sedimentacije eritrocita ( $P=0,361$ ) kao ni feritina ( $P=0,782$ ).

Statistički značajno povišene vrijednosti CRP-a i prokalcitonina pronađene su u bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preminuli ( $P<0,001$ ). Vrijednosti D-dimera i fibrinogena statistički su značajno više u skupini bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preživjeli ( $P=0,002$ ;  $P=0,035$ ). Statistički je značajno niža vrijednost albumina bila u skupini bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preminuli ( $P<0,001$ ).

Omjer limfocita i monocita statistički se značajno ne razlikuje među promatranim skupinama ( $P=0,212$ ). Statistički značajna razlika pronađena je između skupine bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preživjeli i skupine bolesnika koji su preminuli u omjeru neutrofila i limfocita ( $P=0,028$ ), omjeru limfocita i CRP-a ( $P=0,004$ ) te omjeru CRP-a i albumina ( $P<0,001$ ) (Tablica 3).

**Tablica 3.** Usporedba laboratorijskih parametara u SARS-CoV-2 pozitivnih bolesnika u ispitivanim skupinama

Parametri	Preživjeli (N=177)	Preminuli (N=42)	P*
Leukociti (10 <sup>9</sup> /L)	6 (3,5)	6,7 (5,05)	0,341
Neutrofilii (10 <sup>9</sup> /L)	3,84 (3,59)	4,58 (3,88)	0,229
Limfociti (10 <sup>9</sup> /L)	1,12 (0,82)	1,11 (0,86)	0,022
Monociti (10 <sup>9</sup> /L)	0,4 (0,23)	0,46 (0,33)	0,734
Eozinofili (10 <sup>9</sup> /L)	0,03 (0,06)	0,04 (0,07)	0,508
Bazofili (10 <sup>9</sup> /L)	0,02 (0,02)	0,02 (0,02)	0,262
SE (mm/3.6ks)	44,5 (58,5)	25 (26,5)	0,361
CRP (mg/L)	40,9 (92,1)	48,65 (85)	<0,001
Prokalcitonin (ng/mL)	0,095 (0,26)	0,18 (0,31)	<0,001
Fibrinogen (g/L)	5,5 (1,8)	4 (1,93)	0,035
D dimeri (mg/mL)	1,03 (1,71)	0,97 (1,86)	0,002
Albumini (g/L)	35,5 (7,75)	32 (11)	<0,001
Feritin (μg/L)	240,5 (434,25)	257 (0)	0,782
Omjeri			
N/L	3,5 (4,62)	3,59 (4,47)	0,028
L/M	3,04 (2,46)	2,62 (1,81)	0,212
L/CRP	0,02 (0,11)	0,019 (0,05)	0,004
CRP/albumin	1,45 (3,78)	2,85 (13,44)	<0,001

Podaci su prikazani kao medijan vrijednosti (interkvartilni raspon)

\*Mann-Whitney test

**Kratice:** SE – sedimentacija eritrocita, CRP – C reaktivni protein, N - neutrofilii, L – limfociti, M – monociti

### 4.3. Rendgenski nalazi i uporaba invazivne mehaničke ventilacije

Radiološki nalaz bez opisane upale pluća zabilježen je češće u skupini bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preživjeli, u usporedbi s skupinom bolesnika koji su preminuli (44% vs. 24%;  $P=0,016$ ).

Skupina bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preživjeli, u usporedbi sa skupinom bolesnika koji su preminuli, imala je veći postotak radiološki opisane jednostrane upale pluća, ali nije ustanovljena statistički značajna razlika među promatranim skupinama (18% vs. 17%;  $P=0,896$ ).

Skupina bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preživjeli, u usporedbi sa skupinom bolesnika koji su preminuli, imala je značajno manji postotak radiološki opisane obostrane upale pluća (38% vs. 59%;  $P<0,001$ ).

Statistički je značajna veća potreba za invazivnom mehaničkom ventilacijom bila u skupini bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preminuli (50% vs. 7%;  $P<0,001$ ) (Tablica 4).

**Tablica 4.** Usporedba rendgenskog nalaza plućne infiltracije i potrebe za invazivnom mehaničkom ventilacijom u SARS-CoV-2 pozitivnih bolesnika između ispitivanih skupina

Varijable	Preživjeli (N=177)	Preminuli (N=42)	P*
RTG pluća			
uredan	78 (44)	10 (24)	0,016
jednostrana upala	31 (18)	7 (17)	0,896
obostrana upala	68 (38)	25 (59)	0,011
Invazivna mehanička ventilacija	13 (7)	21 (50)	<0,001

Podaci su prikazani kao apsolutni broj (postotak)

\*hi-kvadrat test

Kratice: RTG – rendgensko snimanje

## **5. RASPRAVA**



U ovom istraživanju pronađena je povezanost težine kliničke slike, upalnih biljega i ishoda bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcije. U skupini bolesnika koji su preminuli bio je veći udio bolesnika starije životne dobi, ženskog spola i veća zastupljenost komorbiditeta. Nadalje, u bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preminuli bila je značajno veća učestalost uporabe mehaničke ventilacije, te značajno veći postotak rendgenskih nalaza obostranih upala pluća te povišenih vrijednosti upalnih biljega CRP-a i prokalcitonina u odnosu na skupinu bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preživjeli.

Istraživanja iz Kine navode povezanost između starije životne dobi i većeg rizika razvitka teže kliničke slike i smrtnog ishoda, a sličan obrazac pokazao se i u Europi (85,86). Istraživanjem smo dobili veći udio ženskog spola u skupini bolesnika koji su preminuli dok meta-analiza Villalobosa i sur. navodi da muški spol ima 1,4 puta veći rizik smrti od SARS-CoV-2 infekcije (87). Porastom životne dobi veća je učestalost komorbiditeta, što dodatno doprinosi razvitku teže kliničke slike (88). Bolesnici u našem istraživanju imali su barem jedan ili više komorbiditeta, što nije iznenađujuće s obzirom na visoku životnu dob. Statistički značajna razlika pronađena je među skupinama u udjelu komorbiditeta, među kojima je najčešće bila zastupljena hipertenzija, što potvrđuje i dosadašnja literatura (88). U navedenoj meta-analizi objavljeno je da bolesnici koji boluju od hipertenzije, šećerne bolesti, cerebrovaskularnih i kardiovaskularnih bolesti imaju veći rizik smrtnog ishoda od SARS-CoV-2 infekcije, što smo potvrdili i našim istraživanjem (87).

SARS-CoV-2 infekcija manifestira se raznolikim kliničkim i laboratorijskim nalazima. Nužno je učiti dinamiku upalnih i laboratorijskih biljega koji mogu pomoći prilikom procjene težine kliničke slike, ali i kao prediktori kojima bi na vrijeme uočili bolesnike u potrebi za ozbiljnim liječenjem (89). U našem istraživanju medijan vrijednosti leukocita i neutrofila u referentnim je vrijednostima te nije bilo statistički značajne razlike između ispitivanih skupina. Moguće objašnjenje ovakvog rezultata jest izrazito visoka životna dob bolesnika koja sa sobom donosi iscrpljenost imunoloških mehanizama za razvitak odgovarajućeg upalnog odgovora. Dosadašnja istraživanja prikazuju dvojbene rezultate. Anurag i sur. u istraživanju ukazuju na statistički značajnu povezanost između povećanog broja leukocita i neutrofila i teškog oblika SARS-CoV-2 infekcije, dok meta-analiza Ghahramani i sur. ne ukazuje na značajnu povezanost u vrijednostima leukocita i težine kliničke slike (90,91). U našem istraživanju vrijednost limfocita statistički je značajno niža bila kod preminulih bolesnika ( $P=0,022$ ) što je u skladu sa dosadašnjim saznanjima o sniženom broju limfocita i težine kliničke slike (91). Huang i Pranata

u svojoj meta-analizi ukazali su na povezanost lošeg ishoda SARS-CoV-2 infekcije i smanjenog broja limfocita pri prijemu u bolnicu, a retrospektivna studija koja je obuhvatila 312 bolesnika navodi povezanost niskog broja limfocita s povećanom potrebom za invazivnom mehaničkom ventilacijom i smrtnim ishodom (89,92).

Vrijednosti monocita, eozinofila i bazofila u našem istraživanju statistički se značajno ne razlikuju između ispitivanih skupina, što se ne podudara u potpunosti s dostupnom literaturom. Naime, Anurag i sur. pronašli su statistički značajnu razliku u vrijednostima monocita i eozinofila s obzirom na težinu kliničke slike te su utvrdili da niske vrijednosti istih dovode do razvoja težeg oblika SARS-CoV-2 infekcije (90). Nadalje, meta-analiza provedena na 1228 bolesnika također je utvrdila povezanost niske vrijednosti eozinofila s razvitkom težeg oblika bolesti (93). Anurag i sur. također nisu pronašli statistički značajnu razliku u vrijednostima bazofila među različitim stupnjevima težine kliničke slike (90).

Reaktanti akutne faze imaju veliku ulogu u SARS-CoV-2 infekciji i dinamika njihove vrijednosti također može ukazati na mogući razvoj ozbiljne kliničke slike, ali i pružiti bolji uvid u razumijevanje imunološkog odgovora na SARS-CoV-2 infekciju (94). U našem istraživanju brzina sedimentacije eritrocita u obje skupine bila je povišena, ali nije se statistički značajno razlikovala među promatranim skupinama, što ne ide u prilog dosadašnjim istraživanjima u kojima se navodi značajno ubrzana sedimentacija u bolesnika s razvijenom teškom kliničkom slikom naspram bolesnika s blagom kliničkom slikom (91). U našem istraživanju vrijednost C reaktivnog proteina statistički je značajno viša u skupni bolesnika koji su preminuli, a slični rezultati prikazani su u istraživanju provedenom s 2601 bolesnikom koje pokazuje povezanost između povišena razina CRP-a s razvojem teže kliničke slike i smrtnim ishodom (95). U ovom istraživanju vrijednosti prokalcitonina također su statistički značajno više bile u skupini bolesnika koji su preminuli. Meta-analiza Shena i sur. koja je uključila 7716 bolesnika navodi da je povišena razina prokalcitonina pri prijemu bolesnika u bolnicu povezana s većim rizikom razvijanja ozbiljnog i kritičnog oblika bolesti (96).

U našem istraživanju vrijednosti fibrinogena i D-dimera statistički su značajno više kod preživjelih što nije u skladu s dosadašnjim istraživanjima. Naime, hiperkoagulabilno stanje koje prati SARS-CoV-2 infekciju pridonosi težini i ozbiljnosti kliničke slike te je popraćeno povišenom razinom fibrinogena i D-dimera. Povišenje D-dimera pri prijemu u bolnicu čest je nalaz i povezan je s razvojem kritične bolesti i bolničke smrtnosti stoga se može koristiti kao prognostički pokazatelji smrtnosti u bolnici (97,98). Odstupanje od ovih saznanja u našem

istraživanju donekle bi se moglo objasniti specifičnostima promatrane populacije bolesnika čija visoka životna dob i prisustvo mnogobrojnih komorbiditeta mogu na razne načine utjecati na vrijednost D-dimera, budući da različita stanja mogu uzrokovati povišenje istog, poput malignoma, kronične upale, nedavne operacije, traume (99).

Vrijednost albumina u našem istraživanju statistički je značajno manja kod preminulih bolesnika što je potvrđeno i u retrospektivnom istraživanju provedenom na 299 bolesnika. Naime, uočeno je da vrijednost albumina  $<35\text{g/L}$  pri prijemu u bolnicu povećava rizik od smrtnog ishoda SARS-CoV-2 infekcije za najmanje šest puta (100).

U našem istraživanju vrijednosti feritina bile su povišene u obje grupe, no razlika u vrijednostima između preživjelih i preminulih nije statistički značajna, što se razlikuje od rezultata iz dostupne literature. Istraživanje Sibtaina i sur. navelo je feritin kao prognostički biomarker SARS-CoV-2 infekcije te je utvrđena statistički značajna razlika između preživjelih i preminulih bolesnika (101).

Omjeri neutrofila i leukocita, limfocita i CRP-a te CRP-a i albumina pokazali su statistički značajne razlike u vrijednosti između preživjelih i preminulih te smo time potvrdili rezultate ostalih istraživanja. Povišeni omjeri neutrofila i limfocita te CRP-a i albumina, a nizak omjer limfocita i CRP-a, povezani su s težom kliničkom slikom (91). Omjer limfocita i monocita nije pokazao statistički značajnu razliku između ispitivanih skupina, iako je u drugim istraživanjima statistički utvrđen značajno niži omjer vezan uz težu kliničku sliku (81,102).

U ovom istraživanju je pronađen statistički značajno veći postotak rendgenskih nalaza obostranih upala pluća i uporabe invazivne mehaničkom ventilacijom u skupini bolesnika koji su preminuli. Moglo bi se zaključiti da opseg zahvaćenosti pluća može biti prediktor potrebe za mehaničkom ventilacijom, a sličan rezultat prikazali su Balbi *i sur.* (103).

Iako je ova studija donijela nova saznanja o povezanosti težine kliničke slike, upalnih biljega i ishoda bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom, važno je naglasiti njezina ograničenja. Uzorak (N=219) je vrlo malen, stoga se rezultati ovog istraživanja ne mogu poopćiti na cijelu populaciju bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom. Nadalje, ograničenja su vezana uz promatranu populaciju bolesnika koji su bolesnici izrazito visoke životne dobi s mnogobrojnim komorbiditetima stoga rezultate ne možemo poopćiti na širu populaciju. Istraživanje također nije uključilo terapiju bolesnika što može utjecati na rezultate.

Potrebna su daljnja klinička istraživanja na većem broju ispitanika kako bi se razjasnila složena povezanost kliničkih i dijagnostičkih parametara sa ishodima u bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom.

## **6. ZAKLJUČCI**

Zaključci ovog istraživanja su:

1. Bolesnici sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preminuli su bili starije životne dobi i s većim udjelom komorbiditeta u odnosu na bolesnike sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preživjeli.
2. Vrijednosti laboratorijskih pokazatelja upalne aktivnosti su bili značajno veći u bolesnika s sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preminuli.
3. Učestalost obostrane upala pluća i potrebe za mehaničkom ventilacijom bila je značajno veća u bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preminuli u usporedbi s bolesnicima sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preživjeli.

## **7. POPIS CITIRANE LITERATURE**

1. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi ZL. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol.* 2021;19:141-54.
2. Su S, Wong G, Shi W, Liu J, Lai ACK, Zhou J i sur. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol.* 2016;24:490-502.
3. Machhi J, Herskovitz J, Senan AM, Dutta D, Nath B, Oleynikov MD i sur. The natural history, pathobiology, and clinical manifestations of SARS-CoV-2 infections. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2020;15:359-86.
4. Ye ZW, Yuan S, Yuen KS, Fung SY, Chan CP, Jin DY. Zoonotic origins of human coronaviruses. *Int J Biol Sci.* 2020;16:1686-97.
5. Chan JFW, Kok KH, Zhu Z, Chu H, To KKW, Yuan S i sur. Genomic characterization of the 2019 Novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9:221-36.
6. Fabricant J. The early history of infectious bronchitis. *Avian Dis.* 1998;42:648-50.
7. Bushnell LD, Brandly CA. Laryngotracheitis in chicks. *Poult Sci.* 1933;12:55-60.
8. Cheng VCC, Lau SKP, Woo PCY, Yuen Y. Severe acute respiratory syndrome coronavirus as an agent of emerging and reemerging infection. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20:660-94.
9. Van Der Hoek L, Pyrc K, Berkhout B. Human coronavirus NL63, a new respiratory virus. *FEMS Microbiol Rev.* 2006;30:760-73.
10. Woo PCY, Lau SKP, Chu C, Chan K, Tsoi H, Huang Y i sur. Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. *J Virol.* 2005;79:884-95.
11. Zumla A, Hui DS, Perlman S. Middle east respiratory syndrome. *Lancet.* 2015;386:995-1007.
12. Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS, de Groot RJ, Drosten C, Gulyaeva AA i sur. The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-NCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol.* 2020;5:536-44.
13. Fisher D, Heymann D. Q&A: The Novel coronavirus outbreak causing COVID-19. *BMC Med.* 2020;18:57.
14. COVID-19 – priopćenje prvog slučaja | Hrvatski zavod za javno zdravstvo [Internet]. Available from: <https://www.hzjz.hr/priopcenja-mediji/covid-19-priopcenje-prvog-slucaja/>
15. Zhao J, Cui W, Tian BP. The potential intermediate hosts for SARS-CoV-2. *Front Microbiol.* 2020;11:580137.



16. Scientific brief: Sars-CoV-2 transmission | cdc [Internet]. Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/science/science-briefs/sars-cov-2-transmission.html>
17. Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G i sur. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2020;323:1843-4.
18. Kotlyar AM, Grechukhina O, Chen A, Popkhadze S, Grimshaw A, Tal O i sur. Vertical transmission of coronavirus disease 2019: a systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2021;224:35-53.e3.
19. Quesada JA, López-Pineda A, Gil-Guillén VF, Arriero-Marín JM, Gutiérrez F, Carratala-Munuera C. Incubation period of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Rev Clin Esp.* 2021;221:109-17.
20. Alene M, Yismaw L, Assemie MA, Ketema DB, Gietaneh W, Birhan TY. Serial interval and incubation period of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis.* 2021;21:257.
21. Dhar Chowdhury S, Oommen AM, Chowdhury D. Epidemiology of COVID-19. *J Dig Endosc.* 2020;11:3-7.
22. Yu CJ, Wang ZX, Xu Y, Hu MX, Chen K, Qin G. Assessment of basic reproductive number for COVID-19 at global level: a meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2021;100:e25837.
23. Fang X, Li S, Yu H, Wang P, Zhang Y, Chen Z i sur. Epidemiological, comorbidity factors with severity and prognosis of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Aging (Albany NY).* 2020;12:12493-503.
24. Umakanthan S, Sahu P, Ranade A V., Bukelo MM, Rao JS, Abrahao-Machado LF i sur. Origin, transmission, diagnosis and management of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Postgrad Med J.* 2020;96:753-8.
25. Wang MY, Zhao R, Gao LJ, Gao XF, Wang DP, Cao JM. SARS-CoV-2: Structure, biology, and structure-based therapeutics development. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10:587269.
26. Li S, Li S, Disoma C, Zheng R, Zhou M, Razzaq A i sur. SARS-CoV-2: Mechanism of infection and emerging technologies for future prospects. *Rev Med Virol.* 2021;31:31.
27. Bergmann CC, Silverman RH. COVID-19: coronavirus replication, pathogenesis, and therapeutic strategies. *Cleve Clin J Med.* 2020;87:321-7.
28. Rastogi M, Pandey N, Shukla A, Singh SK. SARS coronavirus 2: from genome to infectome. *Respir Res.* 2020;21:318.

29. Nalbandian A, Sehgal K, Gupta A, Madhavan M V., McGroder C, Stevens JS i sur. Post-acute COVID-19 syndrome. *Nat Med.* 2021;27:601-15.
30. Immune responses and immunity to SARS-CoV-2 [Internet]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/immune-responses>
31. Interim guidelines for COVID-19 antibody testing | cdc [Internet]. Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antibody-tests-guidelines.html>
32. Zirui Tay M, Meng Poh C, Rénia L, MacAry PA, P Ng LF. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol.* 2020;20:363-74.
33. Kalergis AM, Viejo-Borbolla A, Zhu J, Adcock IM, Mortaz E, Tabarsi P i sur. The immune response and immunopathology of COVID-19. 2020;11:2037.
34. Turner JS, Kim W, Kalaidina E, Goss CW, Rauseo AM, Schmitz AJ i sur. SARS-CoV-2 infection induces long-lived bone marrow plasma cells in humans. *Nature.* 2021;1–5.
35. Chandra A, Chakraborty U, Ghosh S, Dasgupta S. Anticoagulation in COVID-19: current concepts and controversies. *Postgrad Med J.* 2021;0:1-8.
36. Oran DP, Topol EJ. The proportion of SARS-CoV-2 infections that are asymptomatic. *Ann Intern Med.* 2021;174:655-62.
37. Gao Z, Xu Y, Sun C, Wang X, Guo Y, Qiu S i sur. A systematic review of asymptomatic infections with COVID-19. *J Microbiol Immunol Infect.* 2021;54:12-6.
38. Kutsuna S. Clinical manifestations of coronavirus disease 2019. *JMA J.* 2021;4:76-80.
39. da Rosa Mesquita R, Francelino Silva Junior LC, Santos Santana FM, Farias de Oliveira T, Campos Alcântara R, Monteiro Arnozo G i sur. Clinical manifestations of COVID-19 in the general population: systematic review. *Wien Klin Wochenschr.* 2021;133:377-82.
40. Genovese G, Moltrasio C, Berti E, Marzano AV. Skin manifestations associated with COVID-19: current knowledge and future perspectives. *Dermatology.* 2021;237:1-12.
41. Logue JK, Franko NM, McCulloch DJ, McDonald D, Magedson A, Wolf CR i sur. Sequelae in adults at 6 months after COVID-19 infection. *JAMA Netw Open.* 2021;4:e210830-e210830.
42. Carod-Artal FJ. [Post-COVID-19 syndrome: epidemiology, diagnostic criteria and pathogenic mechanisms involved]. *Rev Neurol.* 2021;72:384-96.
43. COVID-19: diagnosis - uptodate [Internet]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/covid-19-diagnosis>
44. Uputa za uzimanje obriska nazofarinksa za testiranje na SARS-CoV-2 | nastavni zavod

- za javno zdravstvo [Internet]. Available from: <https://www.stampar.hr/hr/uputa-za-zuzimanje-obriska-nazofarinksa-za-testiranje-na-sars-cov-2>
45. Pasomsub E, Watcharananan SP, Boonyawat K, Janchompoo P, Wongtabtim G, Suksuwan W i sur. Saliva sample as a non-invasive specimen for the diagnosis of coronavirus disease 2019: a cross-sectional study. *Clin Microbiol Infect.* 2021;27:285.e1-285.e4.
  46. Interim guidance for antigen testing for SARS-CoV-2 | cdc [Internet]. Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antigen-tests-guidelines.html#table1>
  47. Burch J, Bhat S. What is the accuracy of rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for the diagnosis of SARS-CoV-2 infection? [Internet]. *Cochrane Clinical Answers.* Wiley; 2021. Available from: <https://www.cochranelibrary.com/cca/doi/10.1002/cca.3590/full>
  48. Deeks JJ, Dinnes J, Takwoingi Y, Davenport C, Spijker R, Taylor-Phillips S i sur. Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020;6:CD013652.
  49. Cleverley J, Piper J, Jones MM. The role of chest radiography in confirming COVID-19 pneumonia. *BMJ.* 2020;370:m2426.
  50. Islam N, Ebrahimzadeh S, Salameh JP, Kazi S, Fabiano N, Treanor L i sur. Thoracic imaging tests for the diagnosis of COVID-19. *Cochrane Database Syst Rev.* 2021;3:CD013639.
  51. Al-Abdoun A, Bizanti A, Barbarawi M, Jabri A, Kumar A, Fashanu OE i sur. Remdesivir for the treatment of COVID-19: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Contemp Clin Trials.* 2021;101:106272.
  52. Smjernice za liječenje oboljelih od COVID-19 [Internet]. Available from: <https://www.koronavirus.hr/sto-moram-znati/o-bolesti/smjernice-za-lijecenje-oboljelih-od-covid-19/805>
  53. Barnes PJ. How corticosteroids control inflammation: quintiles prize lecture 2005. *Br J Pharmacol.* 2006;148:245.
  54. COVID-19: management in hospitalized adults - uptodate [Internet]. Available from: [https://www.uptodate.com/contents/covid-19-management-in-hospitalized-adults?topicRef=129312&source=see\\_link#H2223242197](https://www.uptodate.com/contents/covid-19-management-in-hospitalized-adults?topicRef=129312&source=see_link#H2223242197)
  55. Ghosn L, Chaimani A, Evrenoglou T, Davidson M, Graña C, Schmucker C i sur. Interleukin-6 blocking agents for treating COVID-19: a living systematic review.

- Cochrane Database Syst Rev. 2021; 3:CD013881.
56. Piechotta V, Iannizzi C, Chai KL, Valk SJ, Kimber C, Dorando E i sur. Convalescent plasma or hyperimmune immunoglobulin for people with COVID-19: a living systematic review. Cochrane Database Syst Rev. 2021;7: CD013600.
  57. COVID-19: convalescent plasma and hyperimmune globulin - uptodate [Internet]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/covid-19-convalescent-plasma-and-hyperimmune-globulin>
  58. An index combining respiratory rate and oxygenation to predict outcome of nasal high-flow therapy | read by qxmd [Internet]. Available from: <https://read.qxmd.com/read/30576221/an-index-combining-respiratory-rate-and-oxygenation-to-predict-outcome-of-nasal-high-flow-therapy>
  59. COVID-19 clinical management: living guidance [Internet]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-clinical-2021-1>
  60. Khawam E, Khouli H, Pozuelo L. Treating acute anxiety in patients with COVID-19: posted april 26, 2020. Cleve Clin J Med. 2020;87:1-4.
  61. Mjere prevencije-COVID | hrvatski zavod za javno zdravstvo [Internet]. Available from: <https://www.hzjz.hr/sluzba-epidemiologija-zarazne-bolesti/zastita-prilikom-rada-i-provedbe-aktivnosti-s-obzirom-na-epidemiju-covid-19/attachment/mjere-prevencije-covid-2/>
  62. Cijepljenje protiv COVID-19: najčešća pitanja i odgovori | hrvatski zavod za javno zdravstvo [Internet]. Available from: <https://www.hzjz.hr/sluzba-epidemiologija-zarazne-bolesti/cijepljenje-protiv-covid-19-bolesti-najcesca-pitanja-i-odgovori/>
  63. Lamb YN. BNT162b2 mrna covid-19 vaccine: first approval. Drugs. 2021;81:495-501.
  64. CHMP. Comirnaty (mrnk cjepivo protiv covid-a 19 [s modificiranim nukleozidima]) kako se comirnaty primjenjuje? [Internet]. Available from: [www.ema.europa.eu/contact](http://www.ema.europa.eu/contact)
  65. CDC covid-19 study shows mrna vaccines reduce risk of infection by 91 percent for fully vaccinated people | cdc online newsroom | cdc [Internet]. Available from: [https://www.cdc.gov/media/releases/2021/p0607-mrna-reduce-risks.html?fbclid=IwAR3Z0fjmRECq2\\_yxBsy09NTM9MKHDFux1MK-Zicry30OvmRm9K52L0lGGv0](https://www.cdc.gov/media/releases/2021/p0607-mrna-reduce-risks.html?fbclid=IwAR3Z0fjmRECq2_yxBsy09NTM9MKHDFux1MK-Zicry30OvmRm9K52L0lGGv0)
  66. Vaxzevria (previously covid-19 vaccine astrazeneca) | european medicines agency [Internet]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/vaxzevria-previously-covid-19-vaccine-astrazeneca>

67. The oxford/astrazeneca covid-19 vaccine: what you need to know [Internet]. Available from: [https://www.who.int/news-room/feature-stories/detail/the-oxford-astrazeneca-covid-19-vaccine-what-you-need-to-know?gclid=Cj0KCQjw5uWGBhCTARIsAL70sLIezx2ik31Ejd\\_U3f9B9mK8bI69hvCQnnWK2dHVwjKBxxPt0ERGpScaAgtxEALw\\_wcB](https://www.who.int/news-room/feature-stories/detail/the-oxford-astrazeneca-covid-19-vaccine-what-you-need-to-know?gclid=Cj0KCQjw5uWGBhCTARIsAL70sLIezx2ik31Ejd_U3f9B9mK8bI69hvCQnnWK2dHVwjKBxxPt0ERGpScaAgtxEALw_wcB)
68. COVID-19 vaccine janssen | european medicines agency [Internet]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/covid-19-vaccine-janssen>
69. The janssen ad26.cov2.s covid-19 vaccine: what you need to know [Internet]. Available from: <https://www.who.int/news-room/feature-stories/detail/the-j-j-covid-19-vaccine-what-you-need-to-know>
70. Watson J, Round A, Hamilton W. Raised inflammatory markers: what is the evidence for using C reactive protein, erythrocyte sedimentation rate, and plasma viscosity in diagnosis? *BMJ*. 2012;344:—5.
71. Gulhar R, Jialal I. Physiology, acute phase reactants. StatPearls. StatPearls Publishing; 2018.
72. Black S, Kushner I, Samols D. C-reactive protein. *J Biol Chem*. 2004;279:48487-90.
73. Harrison M. Erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein. *Aust Prescr*. 2015;38:93-4.
74. Hamade B, Huang DT. Procalcitonin: where are we now? *Crit Care Clin*. 2020;36:23-40.
75. Becker KL, Snider R, Nylen ES. Procalcitonin assay in systemic inflammation, infection, and sepsis: clinical utility and limitations. *Crit Care Med*. 2008;36:941-52.
76. Davalos D, Akassoglou K. Fibrinogen as a key regulator of inflammation in disease. *Semin Immunopathol*. 2012;34:43-62.
77. Asakura H, Ogawa H. COVID-19-associated coagulopathy and disseminated intravascular coagulation. *Int J Hematol*. 2021;113:45-57.
78. Kernan KF, Carcillo JA. Hyperferritinemia and inflammation. *Int Immunol*. 2017;29:401-9.
79. Mirsaeidi M, Omar HR, Sweiss N. Hypoalbuminemia is related to inflammation rather than malnutrition in sarcoidosis. *Eur J Intern Med*. 2018;53:e14-6.
80. Lagunas-Rangel FA. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and lymphocyte-to-C-reactive protein ratio in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID19): a meta-analysis. *J Med Virol*. 2020;92:1733-4.
81. S. P, Patil N. Study correlating lymphocyte to monocyte ratio and platelet to lymphocyte

- ratio with the severity in COVID-19 patients: a cross sectional study. *Int J Adv Med.* 2021;8:201.
82. Park J, Chung K, Song J, Kim S, Kim E, Jung J i sur. The C-reactive protein/albumin ratio as a predictor of mortality in critically ill patients. *J Clin Med.* 2018;7:333.
  83. Korppi M, Kröger L, Laitinen M. White blood cell and differential counts in acute respiratory viral and bacterial infections in children. *Scand J Infect Dis.* 1993;25:435-40.
  84. Lee H. Procalcitonin as a biomarker of infectious diseases. *Korean J Intern Med.* 2013;28:285-91.
  85. Xu PP, Tian RH, Luo S, Zu ZY, Fan B, Wang XM i sur. Risk factors for adverse clinical outcomes with COVID-19 in China: a multicenter, retrospective, observational study. *Theranostics.* 2020;10:6372-83.
  86. D'ascanio M, Innammorato M, Pasquariello L, Pizzirusso D, Guerrieri G, Castelli S i sur. Age is not the only risk factor in covid-19: the role of comorbidities and of long staying in residential care homes. *BMC Geriatr.* 2021;21:63.
  87. Villalobos NVF, Ott JJ, Klett-Tammen CJ, Bockey A, Vanella P, Krause G i sur. Effect modification of the association between comorbidities and severe course of COVID-19 disease by age of study participants: a systematic review and meta-analysis. *Syst Rev.* 2021;10:194.
  88. Singhal S, Kumar P, Singh S, Saha S, Dey AB. Clinical features and outcomes of COVID-19 in older adults: a systematic review and meta-analysis. *BMC Geriatr* 2021 211. 2021;21:1-9.
  89. Huang I, Pranata R. Lymphopenia in severe coronavirus disease-2019 (COVID-19): systematic review and meta-analysis. *J Intensive Care* 2020 81. 2020;8:1-10.
  90. Anurag A, Jha PK, Kumar A. Differential white blood cell count in the COVID-19: a cross-sectional study of 148 patients. *Diabetes Metab Syndr.* 2020;14:2099.
  91. Ghahramani S, Tabrizi R, Lankarani KB, Kashani SMA, Rezaei S, Zeidi N i sur. Laboratory features of severe vs. non-severe COVID-19 patients in asian populations: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Med Res* 2020 251. 2020;25:1-10.
  92. Illg Z, Muller G, Mueller M, Nippert J, Allen B. Analysis of absolute lymphocyte count in patients with COVID-19. *Am J Emerg Med.* 2021;46:16.
  93. Rong Huang , Liangcai Xie, Junpeng He, Hong Dong TL. Association between the peripheral blood eosinophil counts and COVID-19: a meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2021;100:e26047.
  94. Li L, Chen C. The contribution of acute phase reaction proteins to the diagnosis and

- treatment of 2019 Novel coronavirus disease (COVID-19). *Epidemiol Infect.* 2020;148:e164.
95. Nathaniel R Smilowitz, Dennis Kunichoff, Michael Garshick, Binita Shah, Michael Pillinger, Judith S Hochman JSB. C-reactive protein and clinical outcomes in patients with covid-19. *Eur Heart J.* 2021;42:2270-9.
  96. Yue Shen, Cheng Cheng, Xue Zheng Yuefei Jin, Guangcai Duan, Mengshi Chen SC. Elevated procalcitonin is positively associated with the severity of COVID-19: a meta-analysis based on 10 cohort studies. *Medicina (Kaunas).* 2021;57:594.
  97. Yao Y, Cao J, Wang Q, Shi Q, Liu K, Luo Z i sur. D-dimer as a biomarker for disease severity and mortality in COVID-19 patients: a case control study. *J Intensive Care* 2020 81. 2020;8:1-11.
  98. COVID-19: hypercoagulability - uptodate [Internet]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/covid-19-hypercoagulability>
  99. Kabrhel C, Courtney DM, Camargo CA, Jr, Plewa MC, Nordenholz KE i sur. Factors associated with positive D-dimer results in patients evaluated for pulmonary embolism. *Acad Emerg Med.* 2010;17:589.
  100. Huang J, Cheng A, Kumar R, Fang Y, Chen G, Zhu Y i sur. Hypoalbuminemia predicts the outcome of COVID-19 independent of age and co-morbidity. *J Med Virol.* 2020;92:2152-8.
  101. Ahmed S, Ansar Ahmed Z, Siddiqui I, Haroon Rashid N, Mansoor M, Jafri L. Evaluation of serum ferritin for prediction of severity and mortality in COVID-19- a cross sectional study. *Ann Med Surg.* 2021;63:102163.
  102. Biamonte F, Botta C, Mazzitelli M, Rotundo S, Treçarichi EM, Foti D i sur. Combined lymphocyte/monocyte count, D-dimer and iron status predict COVID-19 course and outcome in a long-term care facility. *J Transl Med* 2021 191. 2021;19:1-10.
  103. Balbi M, Caroli A, Corsi A, Milanese G, Surace A, Marco F Di i sur. Chest X-ray for predicting mortality and the need for ventilatory support in COVID-19 patients presenting to the emergency department. *Eur Radiol* 2020 314. 2020;31:1999-2012.

## **8. SAŽETAK**



**Cilj istraživanja:** Cilj ovog istraživanja jest usporediti upalne biljege i kliničku sliku bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preminuli i bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preživjeli.

**Ispitanici i metode:** U ovo retrospektivno istraživanje uključeno je 219 SARS-CoV-2 pozitivnih bolesnika koji su u periodu od veljače do srpnja 2020.godine hospitalizirani u Kliničkom bolničkom centru Split. Ispitanici su podijeljeni u dvije skupine. U prvu skupinu su uključeni podaci od 177 ispitanika koji su preživjeli, a u drugu skupinu podaci od 42 ispitanika koji su preminuli. Svi su podaci prikupljeni iz elektronske baze podataka Kliničkog bolničkog centra Split.

**Rezultati:** Pronađena je statistički značajna razlika u životnoj dobi između skupine bolesnika koji su preživjeli i skupine bolesnika koji su preminuli (74 vs. 84,5;  $P<0,001$ ). Hipertenzija je najčešći komorbiditet u obje skupine, a u skupini bolesnika koji su preminuli bila je značajno češće zastupljena od skupine koja je preživjela (62% vs. 55%;  $P=0,009$ ). Udio preostalih komorbiditeta bio je statistički značajno veći u skupini bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preminuli, osim malignoma koji su statistički značajno češći bili u skupini bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preživjeli. Statistički značajno povišene vrijednosti CRP-a i prokalcitonina, a snižena vrijednost albumina pronađene su u bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preminuli ( $P<0,001$ ). Vrijednosti D-dimera i fibrinogena statistički su značajno više u skupini bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preživjeli ( $P=0,002$ ;  $P=0,035$ ). Statistički značajna razlika pronađena je između skupine bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preživjeli i skupine bolesnika koji su preminuli u omjeru neutrofila i limfocita ( $P=0,028$ ), limfocita i CRP-a ( $P=0,004$ ) te CRP-a i albumina ( $P<0,001$ ). Skupina bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preživjeli, u usporedbi sa skupinom bolesnika koji su preminuli, imala je značajno manji postotak radiološki opisane obostrane upale pluća (38% vs. 59%;  $P<0,001$ ). Statistički je značajno veća potreba za invazivnom mehaničkom ventilacijom bila u skupini bolesnika sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preminuli (50% vs. 7% ;  $P<0,001$ ).

**Zaključak:** Bolesnici sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preminuli su bili starije životne dobi, s većim udjelom komorbiditeta, značajno većim vrijednostima laboratorijskih pokazatelja upalne aktivnosti, značajno većom učestalosti obostrane upale pluća i potrebe za mehaničkom ventilacijom u usporedbi s bolesnicima sa SARS-CoV-2 infekcijom koji su preživjeli.

## **9. SUMMARY**

**Diploma thesis title:** Relationship between inflammatory markers and clinical manifestation in patients with SARS-CoV-2 infection

**Aim of the study:** The aim of this study was to compare inflammatory markers and the clinical manifestations of patients with SARS-CoV-2 infection who died and patients with SARS-CoV-2 infection who survived.

**Subjects and methods:** This retrospective study included 219 SARS-CoV-2 positive patients who were hospitalized in the University Hospital Split in the period from February to July 2020. Respondents were divided into two groups. The first group included data from 177 survivors, and the second group included data from 42 survivors. All data were collected from the electronic database of the University Hospital Split.

**Results:** A statistically significant difference in age was found between the group of surviving patients and the group of deceased patients (74 vs. 84.5;  $P < 0.001$ ). Hypertension was the most common comorbidity in both groups and was significantly more common in the deceased group than in the surviving group (62% vs. 55%;  $P = 0.009$ ). The proportion of other comorbidities was statistically significantly higher in the group of patients with SARS-CoV-2 infection who died, except for malignancies that were statistically significantly more common in the group of patients with SARS-CoV-2 infection who survived. Statistically significantly elevated CRP and procalcitonin values and decreased albumin values were found in patients with SARS-CoV-2 infection who died ( $P < 0.001$ ). D-dimer and fibrinogen values were statistically significantly higher in the group of patients with SARS-CoV-2 infection who survived ( $P = 0.002$ ;  $P = 0.035$ ). A statistically significant difference was found between the group of patients with SARS-CoV-2 infection who survived and the group of patients who died in the ratio of neutrophils and lymphocytes ( $P = 0.028$ ), lymphocytes and CRP ( $P = 0.004$ ) and CRP and albumin ( $P < 0.001$ ). The group of patients with SARS-CoV-2 infection who survived, compared with the group of patients who died, had a significantly lower percentage of radiologically described bilateral pneumonia (38% vs. 59%;  $P < 0.001$ ). There was a statistically significantly higher need for invasive mechanical ventilation in the group of patients with SARS-CoV-2 infection who died (50% vs. 7%;  $P < 0.001$ ).

**Conclusion:** Patients with SARS-CoV-2 infection who died were elderly, with a higher proportion of comorbidities, significantly higher values of laboratory indicators of inflammatory activity, significantly higher incidence of bilateral pneumonia and the need for mechanical ventilation compared with patients with SARS-CoV-2 infection survivors.

## **10. ŽIVOTOPIS**

## **OSOBNI PODATCI**

Ime i prezime: Petra Krvavica Ilić

Datum i mjesto rođenja: 25. studenog 1994.godine, Split, Republika Hrvatska

Državljanstvo: hrvatsko

Adresa stanovanja: Odeska 7, Split

Telefon: +385915826168

E-mail adresa: petra.krvavica@gmail.com

## **OBRAZOVANJE**

2001. – 2009. Osnovna škola Mertojak, Split

2009. – 2013. II. jezična gimnazija Split

2014. – 2021. Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, studij medicine

## **OSOBNNA ZNANJA I VJEŠTINE**

Aktivno služenje engleskim i talijanskim jezikom

Vozačka dozvola B kategorije

Dobro služenje računalom i MS Office programom