

Lekarz Kacper Gan

**OCENA STĘŻENIA TRANSFERYNY I
JEJ IZOFORM ORAZ BIAŁEK
OSTREJ FAZY U CHORYCH NA
COVID-19**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Anatol Panasiuk

Oddział Gastroenterologii, Hepatologii i Chorób Wewnętrznych z Ośrodkiem
Diagnostyki i Leczenia Endoskopowego, Wojewódzkiego Szpitala Zespolonego im. J.
Śniadeckiego w Białymstoku

Zakład Medycyny Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Białystok, 2024

Składam serdeczne podziękowania Promotorowi
Panu prof. dr hab. Anatolowi Panasiukowi
za wszechstronną pomoc, życzliwość,
wrozumiałość i poświęcony czas
oraz Wszystkim którzy przyczynili się
w realizacji niniejszej pracy doktorskiej,

Szczególne podziękowania składam również
Mojej Ukochanej Żonie i Dzieciom
za ogromną wrozumiałość, wytrwałość oraz wsparcie
w trakcie pisania niniejszej pracy doktorskiej.

SPIS TREŚCI

1	Wstęp.....	4
1.1	<i>Wirus SARS-CoV-2.....</i>	4
1.1.1	Budowa wirusa.....	5
1.1.2	Mechanizm zakażenia	8
1.1.3	Zmienność molekularna wirusa SARS-CoV-2	10
1.1.4	Burza cytokinowa.....	12
1.1.5	Choroba Covid -19.....	13
1.2	<i>Transferyna.....</i>	20
1.2.1	Budowa	20
1.2.2	Funkcja transferyny.....	21
1.2.2.1	Transport żelaza	21
1.2.2.2	Zapobieganie tworzeniu się wolnych rodników	22
1.2.2.3	Udział w nieswoistej odpowiedzi immunologicznej – komponenta humoralna	22
1.2.2.4	Marker diagnostyczny	22
1.3	<i>Izoformy transferyny</i>	23
1.3.1.1	Zasady oznaczania izoform transferyny – transferyna desialowana	25
1.3.1.2	Elektroforeza kapilarna (CE)	26
1.3.1.3	Białka ostrej fazy (BOF).....	26
2	Cel pracy.....	36
3	Materiały i metody.....	37
3.1	<i>Grupa badana.....</i>	37
3.2	<i>Grupa kontrolna</i>	38
3.3	<i>Materiał do badania.....</i>	40
3.3.1	Aparatura badawcza	41
3.4	METODY.....	41
3.4.1	CRP	41
3.4.2	Fibrynogen	42
3.4.3	Ferrytyna	42
3.4.4	α 1-antytrypsyna (AAT)	42
3.4.5	α 1- kwaśna glikoproteina (AGP)	43

3.4.6	Transferyna (TRF)	43
3.4.7	Haptoglobina (HAP)	43
3.4.8	Pozostałe metody	43
3.5	<i>Analiza statystyczna</i>	47
4	Wyniki	48
4.1	<i>Charakterystyka grupy badanej</i>	48
4.2	<i>Białka ostrej fazy oraz izoformy transferyny</i>	53
4.3	<i>Białka ostrej fazy oraz izoformy transferyny według stopnia ciężkości choroby</i>	63
4.4	<i>Białka ostrej fazy oraz izoformy transferyny w zależności od obecności burzy cytokinowej</i>	66
4.5	<i>Białka ostrej fazy oraz izoformy transferyny w zależności od stosowanej tlenoterapii/respiratoterapii</i>	69
4.6	<i>Białka ostrej fazy oraz izoformy transferyny w zależności od obecności chorób przewlekłych</i> ...	77
4.7	<i>Białka ostrej fazy oraz izoformy transferyny w zależności od statusu szczepienia pacjentów przeciwko SARS-CoV-2</i>	79
4.8	<i>Białka ostrej fazy oraz izoformy transferyny w zależności od losów pacjenta</i>	80
5	Dyskusja	86
6	Wnioski	98
7	Streszczenie	99
8	Summary	101
9	Piśmiennictwo	102
10	Spis tabel	115
11	Spis rycin	118

1 WSTĘP

1.1 Wirus SARS-CoV-2

Do 2019 roku znanych było sześć gatunków koronawirusów zdolnych do zakażenia człowieka. Wszystkie należą do podrodziny *Coronavirinae* rodzaju alfa- i beta- koronawirusów:

- 1) koronawirusy alfa - HCoV-229E i HCoV NL63,
- 2) koronawirusy beta - HCoV-HKU1, HCoV-OC43, koronawirus bliskowschodniego zespołu niewydolności oddechowej (MERS-CoV), koronawirus zespołu ciężkiej ostrej niewydolności oddechowej (SARS-CoV) (1, 2)

W grudniu 2019 w Wuhan w Chinach stwierdzono przypadki zapalenia płuc o niezidentyfikowanej przyczynie. Zachorowania powiązano z targiem owoców morza w Wuhan, natomiast u chorych wyizolowano dotychczas nie znany koronawirus beta, któremu nadano wstępną nazwę 2019-nCoV ostatecznie nazywając go SARS-CoV-2 - koronawirus ciężkiego ostrego zespołu oddechowego (*severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*) a chorobę którą wywołuje COVID-19 (*coronavirus disease 2019*). SARS-CoV-2 jest ludzkim koronawirusem (HCoV - *human coronavirus*), należących do podrodziny *Coronavirinae* rodziny *Coronaviridae* rzędu *Nidovirales* (3).

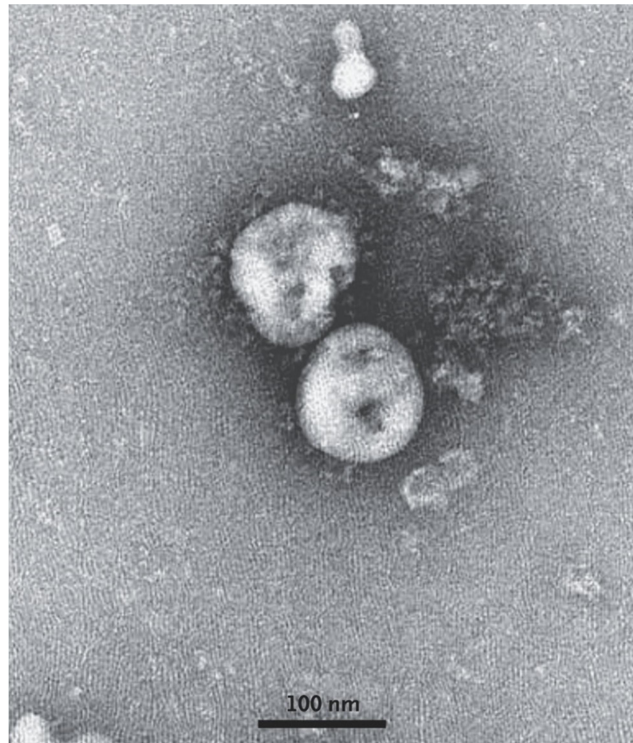
Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) ogłosiła COVID-19 jako „stan zagrożenia zdrowia publicznego o zasięgu międzynarodowym” w dniu 30 stycznia 2020 roku. Szybko choroba rozprzestrzeniła się na inne części Chin oraz inne

kraje obejmując swoim zasięgiem praktycznie cały glob (4). Od początku pandemii COVID-19 do maja 2024 r. WHO zgłoszono 7 047 741 potwierdzonych zgonów oraz 775 431 269 przypadków zakażeń SARS-CoV-2 (5). W Polsce od marca 2020 do maja 2024 zgłoszono 120 602 potwierdzonych zgonów oraz 6 662 770 przypadków zakażeń SARS -CoV – 2 (6). Niestety zgłaszane dane do WHO są niedoszacowane, a ilość zakażeń i zgonów na COVID-19 najprawdopodobniej jest znacznie większa. Z tego powodu WHO oszacowało globalną nadmierną śmiertelność związana z COVID-19 na poziomie 14,91 mln zgonów w ciągu 24 miesięcy od 1 stycznia 2020 r. do 31 grudnia 2021 r, co stanowi 9,49 mln zgonów więcej niż te, które na całym świecie zgłoszono jako bezpośrednio związane z COVID-19. WHO definiuje nadmierną śmiertelność jako „śmiertelność powyżej tego, czego można by oczekiwać na podstawie wskaźnika śmiertelności w populacji będącej przedmiotem zainteresowania” (7).

1.1.1 Budowa wirusa

Wirus SARS-CoV-2 zaliczany jest do rodziny koronawirusów (*Coronaviridae*) z rodzaju beta-koronawirusów. Tak jak wszystkie koronawirusy zbudowany jest z osłonki otaczającej niesegmentowane, jednoniciowe RNA o dodatniej polaryzacji (1, 8). W obrazie mikroskopu elektronowego ma kształt sferyczny z pewnym pleomorfizmem, średnicy około 60 do 140 nm, z widocznymi na powierzchni wirionu kolcami długości około 9 do 12 nm, nadającymi mu wygląd korony słonecznej (3).

Rycina 1. Wirus SARS-CoV-2 w obrazie z transmisyjnego mikroskopu elektronowego (3).



Jednoniciowy genomu RNA ma długości 29891 nukleotydów kodując białka pomocnicze ORF (*open reading frame*), białka niestrukturalne NSP (*nonstructural proteins*) i cztery białka strukturalne M (*membrane*) - białko błonowe, S (*spike*) - białko kolca; E (*envelope*) - białko kolca. Białka ORF biorą udział w procesie transkrypcji i replikacji. Białka strukturalne tworzą dojrzały wirion pełniąc zróżnicowane funkcje:

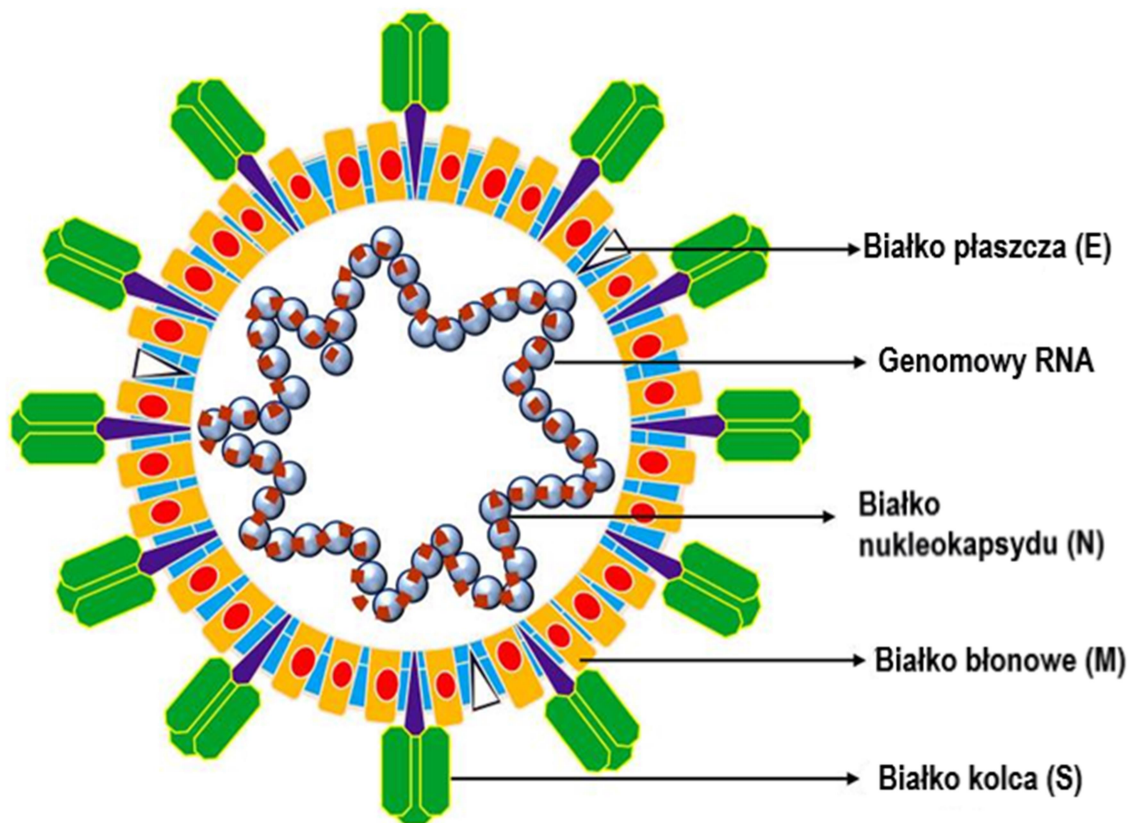
- S – białko kolca, jego funkcja jest połączenie się z komórką żywiciela poprzez dwie podjednostki:
 - S1 – łączy się z receptorem konwertazy angiotensyny 2 (ACE2) dzięki dwóm domenom: N-końcowej – NTD (*N-terminal domain*) i wiążącej receptor – RBD (*receptor binding domain*),

○ S2 – powoduje fuzję błon wirusa i komórki gospodarza poprzez budując ją trimeryczny rdzeń białka i jest odpowiedzialna za fuzję błon

- E (*Envelope*) -białko płaszczka spełnia funkcję formowania wirionu,
- M (*Membrane*) - białko błonowe jest głównym białkiem macierzy wirusa,
- N (*Nucleocapsid*) - białko nukleokapsydu spełnia rolę: ochronną oraz uczestniczy w replikacji oraz modyfikacji procesów komórkowych gospodarza,

(2, 9, 10, 11).

Rycina 2. Schemat struktury koronawirusa (9).



1.1.2 Mechanizm zakażenia

Transmisja wirusa SARS-CoV-2 z człowieka na człowieka następuje głównie drogą kropelkową, poprzez inhalację kropelek pary wodnej wydalanej z dróg oddechowych zakażonej osoby. Istnieje możliwość transmisji drogą powietrzną poprzez aerozole, w trakcie procedur medycznych oraz w wyniku kontaktu z zanieczyszczonymi SARS-CoV-2 obiektami nieożywionymi. Tak szerokie spektrum dróg transmisji wirusa związane jest między innymi z wydalaniem wirusa przez osoby zainfekowane poprzez drogi oddechowe, ślinę, kał oraz mocz (12, 13, 14, 15, 16, 17).

Mechanizm wnikania SARS-CoV-2 do komórki gospodarza związany jest z wiązaniem białka S wirusa z receptorem gospodarza - enzymem konwertującym angiotensynę typu 2 (ACE2) (18).

Receptory ACE2 zlokalizowane są w wielu narządach takich jak: drogi oddechowe, przewód pokarmowy (żołądek, jelito cienkie i grube), węzły chłonne, gruczoły, kości, szpik, śledziona, wątroba, nerki, mózg, skóra (19). ACE2 są szeroko rozpowszechnione w drogach oddechowych, najliczniej na pneumocytach typu II pęcherzyków płucnych oraz mniejszym stopniu w monocytach i makrofagach pęcherzykowych, komórkach nabłonkowych tchawicy, oskrzeli, gruczołów surowiczych oskrzeli (20, 21, 22).

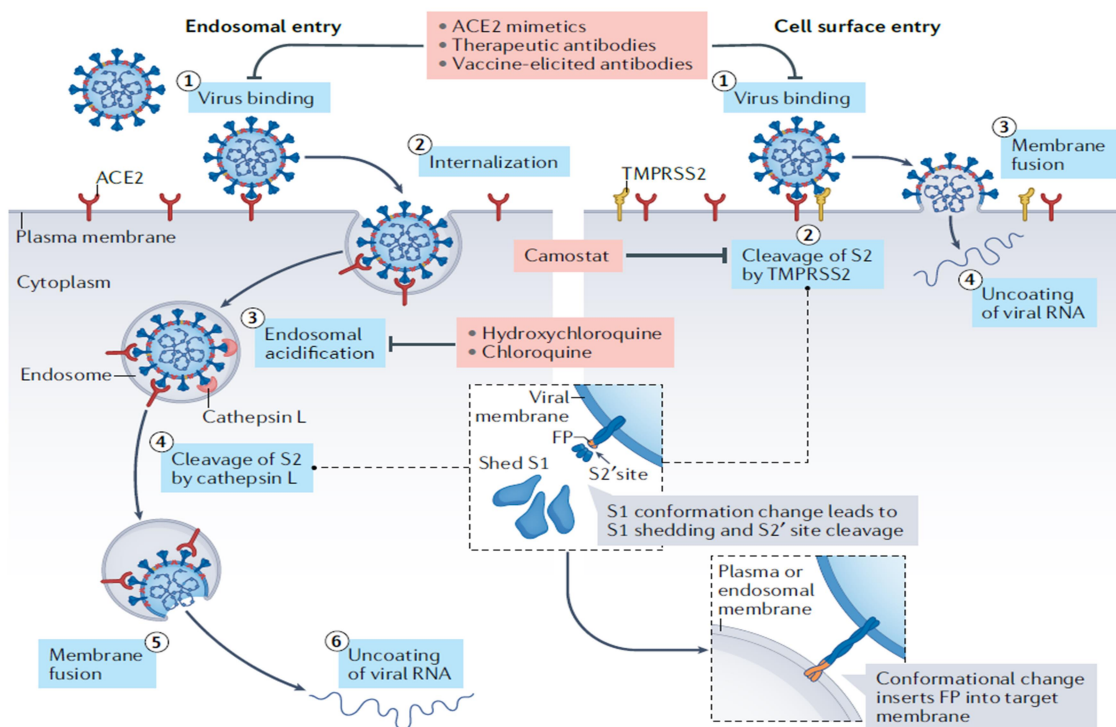
Istnieją dwie różne drogi wnikania SARS-CoV-2 do komórki żywiciela w zależności od udziału proteaz komórki gospodarza w aktywacji białka S związanego z receptorem ACE2:

- bez udziału proteaz serynowych SARS-CoV-2 po połączeniu białka S z receptorem ACE2 wnika do komórki gospodarza poprzez endocytozę przy udziale klatryn. Łączenie się otoczki wirusa ze ścianą endosomalną

komórki żywiciela następuje po cięciu białka S (podjednostka S2) przy udziale katepsyny L w endolizosomach umożliwiając uwalnianie nukleokapsydu wirusa do cytoplazmy komórki żywiciela.

- bezpośrednia fuzja wirusa z błoną plazmatyczną komórki żywiciela poprzez cięcie białka S (podjednostka S2) wirusa związanego z receptorem ACE2 na powierzchni komórki przez transbłonową proteazę serynowej 2 (TMPRSS2) gospodarza umożliwiając uwalnianie nukleokapsydu wirusa do cytoplazmy komórki żywiciela (23, 24).

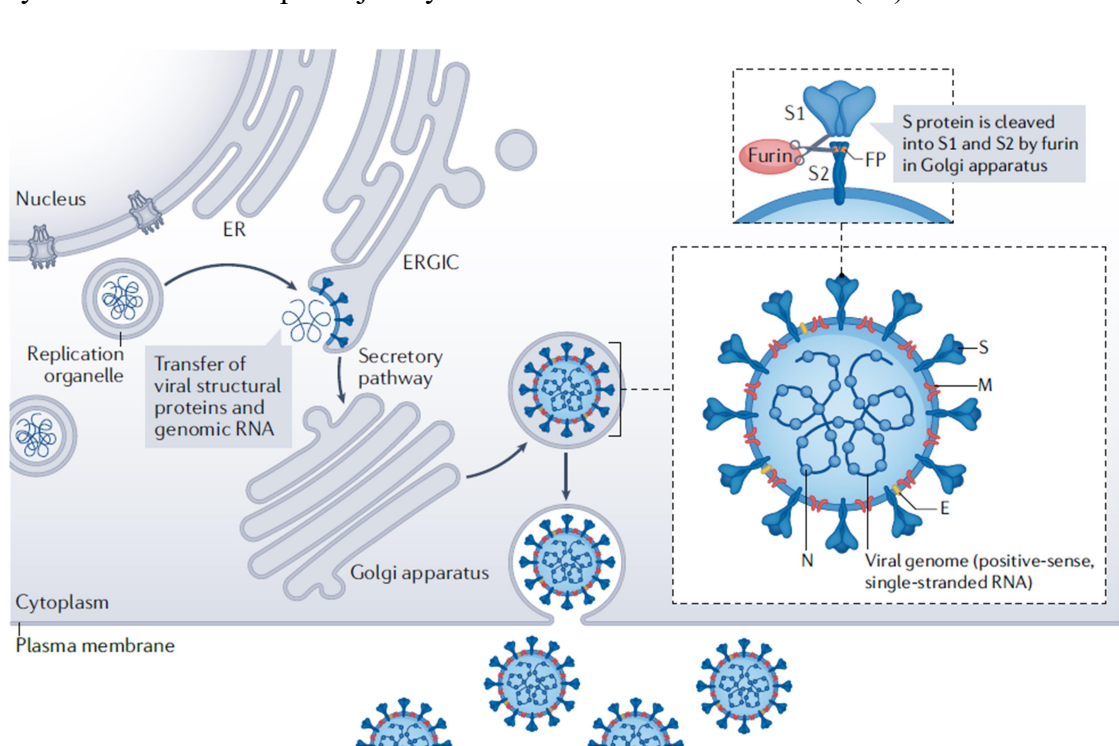
Rycina 3. Mechanizm wnikania SARS-CoV-2 do komórki żywiciela (24).



Po uwolnieniu z nukleokapsydu RNA, genom wirusa zaczyna pełnić funkcję mRNA, rozpoczynając procesy translacji, transkrypcji oraz replikacji wirusa. Nowo

powstałe wirusy przy udziale aparatu Golgiego zostają wydalone z komórki żywiciela w procesie egzocytozy (24, 25).

Rycina 4. Schemat replikacji i wydzielania wirusa SARS-CoV-2 (24).



1.1.3 Zmienność molekularna wirusa SARS-CoV-2

Procesy genetyczne przebiegające w trakcie replikacji wirusa, mianowicie delekcja i insercja głównie w obrębie w białku kolca S oraz w mniejszym stopniu w białkach pomocniczych ORF (*open reading frame*) skutkują powstaniem mutacji oraz wariantów. Mutacje oraz nowe warianty powodują zmianę właściwości biologicznych wirusa, w niektórych przypadkach zwiększając zdolność transmisji i ucieczkę immunologiczną wirusa (11). W badaniach China National Center for Bioinformation porównano 77 801 sekwencji genomu SARS-CoV-2 wykrytych na całym świecie identyfikując łącznie 15 018 mutacji (26).

Ze względu na istniejące liczne warianty wirusa WHO klasyfikuje najistotniejsze warianty wirusa do trzech grup w oparciu o łatwość rozprzestrzeniania

się, stopień ciężkości choroby, szczepienia i leczenie. WHO wyróżniła trzy kategorie, najbardziej zjadliwe i najbardziej rozprzestrzeniające się zaklasyfikowała jako warianty budzące obawę (VOC - *variants of concern*). Warianty, które rozprzestrzeniają się mniej szeroko niż VOCs, są klasyfikowane jako warianty wzbudzające zainteresowanie (VOI - *variants of interest*). Trzecią kategorią są warianty ze zmianami genetycznymi, co do których istnieje podejrzenie, że wpływają na cechy wirusa, zaliczane są do wariantów podlegających monitorowaniu (VuM - *Variants under Monitoring*). Dodatkowo w celu ułatwienia nazewnictwa znaczących wariantów SARS-CoV-2, w maju 2021 r. WHO zaczęła przypisywać greckie litery wariantom budzącym obawę (VOC) i wariantom będącym przedmiotem zainteresowania (VOI). Na dzień 15.03.202 r. WHO nie zakwalifikowała żadnego wariantu jako budzącego obawę (VOC) (27, 28). Dotychczas od początku pandemii WHO sklasyfikowało pięć wariantów VOC SARS-CoV-2 (Tabela 1) (29). Na dzień 23 października 2023 istnieją tylko trzy warianty VOI (Tabela 2) (28).

Tabela 1. Dotychczas sklasyfikowane VOC (29).

Wariant	Linia genetyczna wg PANGO	Kraj i data pierwszej identyfikacji
ALFA	B.1.1.7	Wielka Brytania - grudzień 2020 (pierwszy VOC)
BETA	B.1.351	RPA - grudzień 2020
GAMMA	P.1	Brazylia - styczeń 2021

DELTA	B.1.617.2	Indie - maj 2021
OMICRON	B.1.1.529	RPA - 11.2021

Tabela 1. Obecne warianty VOI (28).

Wariant	Linia genetyczna wg PANGO	Data identyfikacji
OMICRON	XBB.1.5	21-10-2022
	XBB.1.16	09-01-2023
	EG.5	17-02-2023

1.1.4 Burza cytokinowa

W przypadku nadreaktywności odpowiedzi immunologicznej powstaje patologiczna reakcja - burza cytokinowa, charakteryzująca się niekontrolowaną ogólnoustrojową odpowiedzią zapalną z podwyższonym poziomem IL-2, IL-7, IL-10, GCSF, IP-10, MCP-1, MIP-1 α i TNF- α wywołując uszkodzenie wielonarządowe (30).

Replikacja wirusa wyzwała pyroptozę i uwalnianie z zakażonych komórek DNA, ATP oraz prozapalnych cytokin (np IL-1 β , IL-18) (30). Wydzielone cytokiny wpływają na sąsiednie komórki i makrofagi płucne, które uwalniają kolejne prozapalne cytokiny: IL-6, IL-8, TNF- α (*tumor necrosis factor α*), IP10 (*Interferon Gamma-induced Protein 10*), MCP-1 (*monocyte chemoattractant protein 1*) i RANTES (*Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted*). Wydzielone czynniki

rekrutują do czynności zapalnych komórki dendrytyczne oraz kolejne monocyty powodujące wzmocnienie sygnału oraz migrację kolejnych limfocytów T i innych komórek odpornościowych. U większości pacjentów, prawidłowa odpowiedź immunologiczna eliminuje wirusa SARS-CoV2 z ustąpieniem procesu zapalnego (31).

Burza cytokinowa manifestuje się szerokim spektrum objawów w zależności od stopnia jej nasilenia oraz zajęcia poszczególnych narządów. U większości pacjentów obserwowana jest gorączka, bóle głowy, ogólne zmęczenie, wysypka, bóle stawów i mięśni, biegunka, kaszel i tachypnoe. W miarę nasilania się niekontrolowanej odpowiedzi immunologicznej może dochodzić do wystąpienia zespołu ostrej niewydolności oddechowej, rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego, ostrej niewydolności wątroby, niewydolności nerek, kardiomiopatii lub zgonu (32).

1.1.5 Choroba Covid -19

COVID – 19 (*coronavirus disease 2019*) jest chorobą zakaźną wywoływano przez wirusa SARS-CoV-2. Czas wylegania choroby wynosi 2-14 dni, średnio 5-6 dni, a średni czas trwania choroby 7-14 dni (33, 34). Przebieg kliniczny COVID-19 jest zróżnicowany, od bezobjawowego po ciężkoobjawowy z powikłaniami wielonarządowymi. Objawy są niecharakterystyczne, o szerokim spektrum, a najczęściej są to objawy grypopodobne (Tabela 3), (35).

Tabela 2. Najczęstsze objawy choroby COVID-19 (35).

gorączka (43–80%)
bóle głowy (13–70%)
utrata węchu (70%)
zmniejszenie drożności nosa (68%)
kaszel (50–63%)

zmęczenie (31–63%)
duszność (23–63%)
bóle mięśni (17–62%)
nieżyt nosa (6–60%)
zaburzenia smaku (49–54%)
bóle gardła (12–53%)
nudności, wymioty, biegunka (20–31%)

U większości chorych infekcja SARS-CoV-2 przebiega bezobjawowo lub ewentualnie z niewielkimi objawami. Według doniesień odsetek chorych bezobjawowych z COVID -19 może wynosić nawet 87,9-91%. (36, 37). Szacuje się że śmiertelność u chorych z COVID-19 waha się między 1 a 5 %, w Polsce wynosi 1,8%. Udowodnione czynniki predysponujące do ciężkiego przebiegu COVID-19 zostały wymienione w Tabeli 4 (38).

Tabela 3. Czynniki ryzyka ciężkiego przebiegu COVID-19 (38).

wiek > 65 lat
płeć męska
otyłość ($BMI \geq 35 \text{ kg/m}^2$)
choroba nowotworowa
pierwotne i wtórne niedobory odporności
choroby przewlekłe :
• układu oddechowego

<ul style="list-style-type: none"> • układu krążenia • nerek • cukrzyca, <p>nikotynizm</p> <p>cięża</p> <p>zainhalowanie większego ładunku wirusowego (większa dawka zakażająca)</p> <p>niezaszczenie przeciwko COVID-19</p>

W zależności od występujących objawów, parametrów klinicznych i punktacji w skali MEWS (*Modified Early Warning Score* - zmodyfikowana skala wczesnego ostrzegania), (Tabela 6) wyróżnia się 4 stopnie kliniczne ciężkości choroby COVID 19 wg AOTMiT (Agencja Oceny Technologii Medycznych i Taryfikacji) (Tabela 5) (35).

Tabela 4. Stopnie ciężkości przebiegu COVID-19 (35).

Stopień	pkt	Obraz kliniczny
MEWS		
1	0	Brak objawów lub łagodne dolegliwości ze strony górnych dróg oddechowych (gorączka, kaszel bez duszności), którym mogą towarzyszyć bóle głowy, mięśni, nudności, wymioty i biegunka,

			<p>SpO₂ ≥94%;</p> <p>stabilny stan kliniczny.</p>
2	objawowy	<3	<p>Wyczerpanie, astenia, gorączka >38°C, kaszel i duszność i inne objawy pozapłucne.</p> <p>kliniczne i radiologiczne cechy zajęcia płuc,</p> <p>SpO₂ >90% ale <94%.</p>
3	ciężkie zapalenie płuc z niewydolnością oddychania / pre-ARDS	3-4	<p>Kliniczne i laboratoryjne objawy pogorszenia wydolności oddechowej i wymiany gazowej (duszność, zwiększona częstość oddechów >30/min), nieme niedotlenienie (ang. <i>silent hypoxia</i>, ostre objawy zajęcia układu oddechowego, w badaniach obrazowych zwykle zajęte jest >50% miąższu płucnego,</p> <p>obniżenie SpO₂ <90%,</p> <p>możliwe manifestacje pozapłucne: udary niedokrwienne lub krwotoczne, zakrzepica żył głębokich i/lub zapalenie mózgu, zespół Guillain-Barre, zaburzenia świadomości i napady padaczkowe, choroba niedokrwienna serca, zapalenie mięśnia sercowego, zaburzenia rytmu,</p> <p>nie występują objawy ARDS, wstrząsu</p>

			septycznego, niewydolności wielonarządowej.
4	ARDS, niewydolność wielonarządowa	>4	Ciężki stan kliniczny, niewydolność oddychania i upośledzeniem innych funkcji życiowych: zespół ostrej niewydolności oddechowej (<i>acute respiratory distress syndrome</i> ; ARDS), sepsa i wstrząs septyczny, niewydolność wielonarządowa.

Tabela 5. Zmodyfikowana skala wczesnego ostrzegania (MEWS) wg AOTMiT (35).

Punkty	3	2	1	0	1	2	3
częstość oddechów (min⁻¹)		≤ 8		9–14	15–20	21–29	> 29
tętno (min⁻¹)		≤ 40	41–50	51–100	101–110	111–129	> 129
skurczowe ciśnienie tętnicze (mmHg)	≤ 70	71–80	81–100	101–199		≥ 200	
wydalenie	<	<		> 0,5			

moczu (ml/kg/h)	10	0,5					
ciepłota ciała (°C)		≤ 35	35,1– 36	36,1–38	38,1–38.5	≥ 38,6	
objawy neurologiczne				świadomy	reagujący na głos	reagujący na ból	brak reakcji

Zdefiniowano trzy kliniczne postacie COVID – 19 ze względu na czas trwania:

- 1) ostra do 4 tyg.
- 2) przedłużająca się (*ongoing symptomatic COVID-19*), 4-12 tyg.
- 3) zespół pokowidowy (*post-COVID-19 syndrome*) > 12 tyg. (39).

Szacuje się, że zespół pokowidowy rozwinie się u 10-20% chorych. Objawy i powikłania po przechorowaniu COVID-19 mogą dotyczyć wielu narządów, zostały przedstawione w Tabeli 7. WHO zdefiniowało zespół pokowidowy jako chorobą występującą po trzech miesiącach po przebyciu zakażeniu SARS-CoV-2 z objawami utrzymującymi się przez co najmniej dwa miesiące a występujące objawy nie mogą być wyjaśnione inną alternatywną diagnozą (40).

W 2022 roku opublikowano wyniki polskiego badania prospektywnego SILCOC-19 oceniającego po 90 dniach od wystąpienia pierwszych objawów COVID-19 hospitalizowanych i nie poddanych hospitalizacji chorych w którym wykazano że, najczęstszym powikłaniem kardiologicznym była bradykardia (częściej występująca u pacjentów nie hospitalizowanych 17.5% vs 5.8%), zmiany w płucach stwierdzone w

HRCT częściej występowały u hospitalizowanych pacjentów (39,3% vs 8.8%) a najczęstszymi zgłaszanymi objawami były zaburzenia węchu i smaku (41).

Tabela 6. Objawy zespołu pokowidowego (38, 39).

Objawy	
plucne	duszność, kaszel, skrócenie oddechu
sercowo naczyniowe	ucisk i/lub ból w klatce piersiowej, arytmie,
uogólnione	zmęczenie, gorączka, ból
neurologiczne	zaburzenia funkcji poznawczych („mgła mózgowa”, utrata koncentracji, problemy z pamięcią), ból głowy, zaburzenia snu, objawy neuropatii obwodowej (mrowienie, drętwienie), zawroty głowy, majaczenie (u starszych osób);
żołądkowo-jelitowe	bóle brzucha, nudności, biegunka, anoreksja i zmniejszony apetyt (u starszych osób)
hematologiczne	incydenty zakrzepowo-zatorowe, niedokrwistość
mięśniowo-szkieletowe	bóle stawowe, bóle mięśni
objawy psychologiczne, psychiatryczne	depresja, niepokój
otolaryngologiczne	szum w uszach, zaburzenia słuchu, ból ucha, ból gardła, utrata smaku i/lub zapachu
dermatologiczne	wysypki skórne

1.2 Transferyna

1.2.1 Budowa

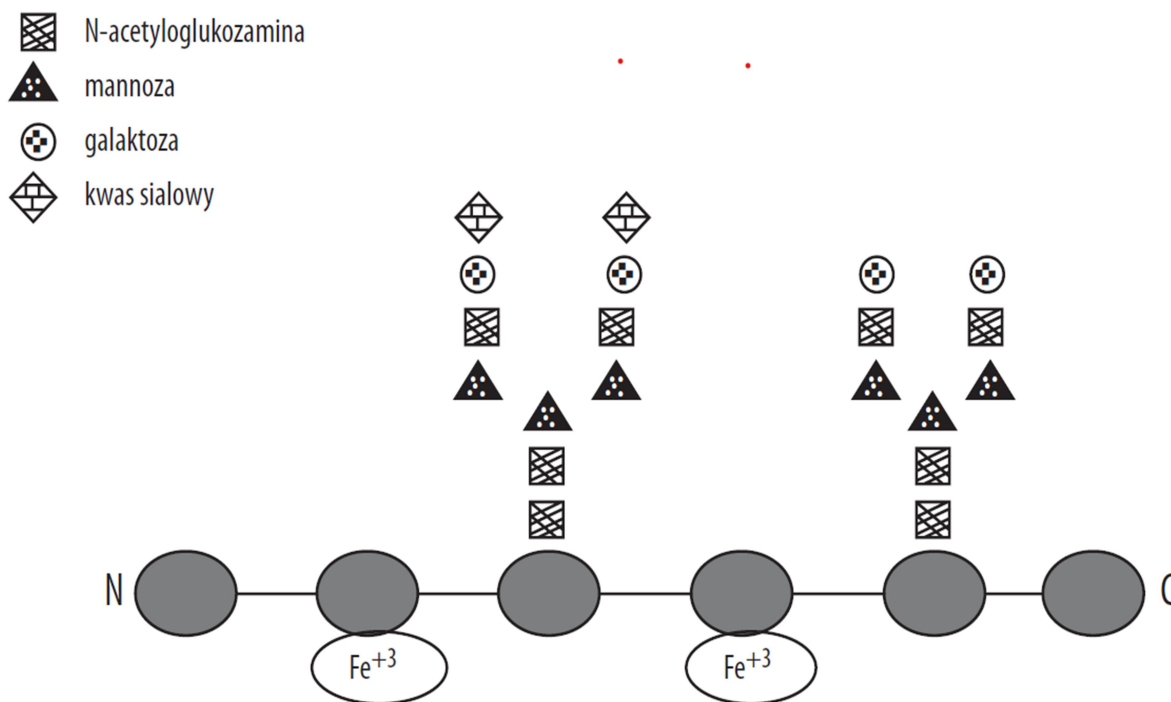
Transferyna (Tf) jest glikoproteina o masie molekularnej 79,6 kDa w obrębie której wyróżniamy 3 podjednostki strukturalne:

- pojedynczy łańcuch polipeptydowy posiadający część N- i C końcową,
- dwa niezależne miejsca wiążące żelazo,
- oraz rozgałęzione dwa boczne łańcuchy oligosacharydowe.

W skład łańcucha oligosacharydowego wchodzi węglowodany: mannoza, N-acetyloglukozoamina, galaktoza i kwas sjałowy (42, 43).

Transferyna jest syntetyzowana głównie w hepatocytach – na terenie aparatu Golgiego oraz ziarnistego retikulum endoplazmatycznego. W mniejszym stopniu wytwarzana jest również w komórkach Sertoliego, komórkach glejowych, a także w trakcie laktacji w komórkach gruczołu mlekowego (43, 44). Strukturę biochemiczną transferyny CDT (ubogowęglowodanowe izoformy transferyny) przedstawiono na rycinie 5.

Rycina 5. Schemat struktury CDT (np. disialo-Fe²⁺-transferyna), (42).



1.2.2 Funkcja transferyny

1.2.2.1 Transport żelaza

Transferyna jest jednym z głównych białek transportujących żelazo w organizmie człowieka – w ciągu doby przenosi ok. 25 mg Fe. Pojedyncza glikoproteina może odwracalnie związać dwa atomy Fe³⁺ w obrębie łańcuch polipeptydowego (44, 45).

Znajdująca się w osoczu transferyna wiązana jest na powierzchni docelowych komórek za pośrednictwem błonowego receptora transferyny 1 (TfR1). Po związaniu z receptorem TfR1 żelazo ulega uwolnieniu do komórki na drodze endocytozy, a transferyna pozbawiona żelaza (apotransferyna) wydzielona zostaje do osocza i może ponownie być użyta do transportu jonów żelaza (46).

1.2.2.2 Zapobieganie tworzeniu się wolnych rodników

Wolne żelazo w dużych ilościach jest niebezpieczne dla ustroju powodując powstawanie wolnych rodników, zwłaszcza wysoko reaktywnego rodnika hydroksylowego (reakcja Fentona: $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{+2} \rightarrow \text{Fe}^{+3} + \text{OH}^\cdot + \text{OH}^\cdot$). Nadmierne stężenie wolnych rodników zaburza mechanizmy antyoksydacyjne wywołując stres oksydacyjny powodujący uszkodzenie komórek. Transferyna poprzez wiązanie Fe zapobiega nadmiernemu tworzeniu się wolnych rodników przerywając niepożądany ciąg procesów powodujących stres oksydacyjny i niszczenie komórek (47, 48).

1.2.2.3 Udział w nieswoistej odpowiedzi immunologicznej – komponenta humoralna

Żelazo jest niezbędne do rozwoju bakterii. Wysoki poziom żelaza w ustroju predysponuje do występowania infekcji bakteryjnych. Utrzymanie prawidłowego stężenia wolnego żelaza przez transferynę zmniejsza ryzyko rozwoju infekcji bakteryjnej poprzez zmniejszenie ilości niezwiązanego żelaza w ustroju. Dodatkowo apotransferyna zmniejsza zdolność adhezyjną bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych co istotnie wpływa na zmniejszenie zdolności inwazyjną drobnoustrojów (47).

1.2.2.4 Marker diagnostyczny

Transferyna jest negatywnym białkiem ostrej fazy, jej stężenie w surowicy zmniejsza się w wyniku zaburzenia homeostazy (ostry stan zapalny, zakażenia, nowotwory, choroby autoimmunologiczne), (49).

U osób spożywających alkohol etylowy w dawce 50 - 80 g dziennie przez tydzień, w wyniku zaburzeń enzymatycznych, występuje większe stężenie transferyny desialowanej (ubogowęglowodanowej, CDT: *carbohydrate-deficient transferrin*).

Stężenie CDT w połączeniu z danymi klinicznymi może być używane do potwierdzenia lub wykluczenia nadużywania alkoholu przez pacjentów co jest niezmiernie ważne w niektórych sytuacjach klinicznych np. kwalifikacja do transplantacji wątroby (42, 50).

1.3 Izoformy transferyny

Transferyna charakteryzuje się zmiennością budowy w obrębie łańcucha polipeptydowego oraz oligosacharydowego co jest powodem występowania licznych izoform (heterogenność).

Różnorodność łańcucha białkowego związana jest z uwarunkowaniami genetycznymi, wykazano 38 wariantów genetycznych łańcucha polipeptydowego. Polimorficzne warianty wykazują w większości taką samą zdolność do wiązania atomów żelaza. W populacji rasy kaukaskiej najczęściej występuje fenotyp C transferyny (Tf- C), (42, 51).

Łańcuchy oligosacharydowe tworzą struktury o zmiennym stopniu rozgałęzienia: dwu-, trój- i tetra-antenowe. Dodatkowo reszty sacharydowe mogą związać łącznie do ośmiu reszt kwasu sialowego w każdej glikoproteinie, warunkuje to występowanie 9 zoform transferyny (mikroheterogenność). Izoformy transferyny posiadające < 3 reszt kwasu sialowego (disjalo -, monosialo -, asialo – Tf) nazwane zostały transferyną desialowaną (ubogowęglowodanowa, CDT). Każda przyłączona reszta kwasu sialowego powoduje zmniejszenie punktu izoelektrycznego o 0,1 jednostkę pH. – Tabela. 8 (42, 50, 52).

Tabela 7. Izoformy transferyny i wartość punktu izoelektrycznego (42).

IZOFORMA	LICZBA RESZT KWASU	
	SJALOWEGO	PUNKT IZOELEKTRYCZNY (PI)
Oktasjalo-Tf	8	5,0
Heptasjalo-Tf	7	5,1
Heksasjalo-Tf	6	5,2
Pentasjalo-Tf	5	5,3
Tetrasjalo-Tf	4	5,4
Trisjalo-Tf	3	5,6
Disjalo-Tf	2	5,7
Monosjalo-Tf	1	5,8
Asjalo-Tf	0	5,9

Transferyna posiada w swoim łańcuchu proteinowym dwa miejsca wiązania żelaza. W zależności od liczby związanych atomów żelaza i miejsca w którym żelazo zostało związane (N- lub C-końcowy aminokwas) występują cztery odmiany białka:

- Fe₀-Tf - nieposiadająca przyłączonego atomu Fe
- Fe_{1N}-Tf przyłączony jeden atom Fe z N-końcowym aminokwasem
- Fe_{1C}-Tf przyłączony jeden atom Fe z C-końcowym aminokwasem
- Fe₂-Tf - przyłączone dwa atomy Fe

Żelazo związane z transferyną powoduje zmniejszenie punktu izoelektrycznego o około 0,2 jednostki pH na każdy atom żelaza. W warunkach fizjologicznych występują wszystkie cztery odmiany transferyny. Związane jest to z niewielkim wysyceniem transferyny żelazem, wynoszącym około 30–40% (42, 43).

1.3.1.1 Zasady oznaczania izoform transferyny – transferyna desialowana

Ze względu na znaczną heterogenność transferyny oznaczenie jej izoform wymaga wysoce swoistych i czułych metod diagnostycznych oraz jest procesem kilkietapowym (42).

W pierwszym etapie stosuje się metody umożliwiające oddzielnie transferyny ubogowęglowodanowej (CDT) od innych białek surowicy. W tym celu stosuje się badania chromatograficzne lub elektroforetyczne, wykorzystujące do rozdziału wielkość ładunku elektrycznego i wartość punktów izoelektrycznych (pI). Na wartość punktu izoelektrycznego duży wpływ ma ilość cząsteczek żelaza związanych z transferyną - jeden atom Fe obniża punkt izoelektryczny o ok 0,2 jednostki pH. Z tego powodu przed użyciem powyższych metod konieczne jest wysycenie transferyny atomami Fe^{+3} w celu uzyskania jednej izoformy transferyny związanej z dwoma atomami Fe^{+3} (Fe_2 -Tf). Proces ten redukuje liczbę izoform występujących w natywnej surowicy o podobnym punkcie izoelektrycznym (42).

W drugim etapie po rozdziale CDT od innych białek stosowane są techniki pomiarów ilościowych (radioimmunologiczne (RIA), immunoenzymatyczne (EIA) lub turbidymetryczne) mające na celu oznaczanie bezwzględnego lub względnego stężenia CDT oraz poszczególnych izoform CDT (42).

1.3.1.2 Elektroforeza kapilarna (CE)

Elektroforeza kapilarna służy do rozdzielania białek. Proces zachodzi w kapilarach wykonanych z szkła krzemianowego w buforze zasadowym. Dysocjujące jony krzemianowe powodują oddawanie kationów do buforu. Nieruchoma ściana kapilar posiada ładunek ujemny natomiast w buforze znajdują się uwodnione jony o dodatnim ładunku. Po przyłożeniu zewnętrznego pola elektrycznego następuje rozdział cząsteczek w wyniku ruchliwości elektroforetycznej oraz przepływowi elektroosmotycznemu na poszczególne frakcje. Frakcje są identyfikowane dzięki pomiarom spektrofotometrycznym, a uzyskane elektroferogramy umożliwiają jakościowe i ilościowe oznaczanie CDT. Głównym ograniczeniem CE jest interakcja separowanych białek z ścianą kapilar. Proces ten może być zmniejszony poprzez zmianę właściwości buforu lub modyfikację wewnętrznej ściany kapilary (42, 53).

1.3.1.3 Białka ostrej fazy (BOF)

Białka ostrej fazy są heterogenną grupą białek wytwarzanych głównie przez wątrobę. Funkcją BOF jest eliminacja czynnika wywołującego zaburzenia homeostazy (ostry stan zapalny, zakażenia bakteryjne, nowotwory, choroby autoimmunologiczne). BOF mają szerokie spektrum oddziaływania:

- aktywują układ dopełniacza
- aktywują układ krzepnięcia
- wywierają działanie bakteriostatyczne
- powodują aglutynację bakterii
- działają jako opsoniny ułatwiające fagocytozę
- nasilają lub hamują odpowiedź zapalną

Aktywatorami zwiększonej syntezy białek ostrej fazy są głównie cytokiny prozapalne (głównie IL-6, IL-1, TNF α). Zaburzenie homeostazy wpływa na proces produkcji białek ostrej fazy powodując zmianę ich syntezy wywołując (Tabela 9):

- zwiększenie (pozytywne białka ostrej fazy)
- zmniejszenie (negatywne białka ostrej fazy)
- brak lub nieznaczną zmianę stężenia w osoczu (białka ostrej fazy obojętne)

(54, 55)

Tabela 8. Białka ostrej fazy (55).

Białka ostrej fazy	Zmiana stężenia	Rodzaje
pozytywne	stężenie wzrasta co najmniej o 25%.	większość BOF, np. CRP, amyloid A (SAA), fibrynogen, haptoglobina czy α -1-kwaśnej glikoproteiny, prokalcytonina
negatywne	stężenie maleje o około 30%	transferyna, prealbumina, albumina i inter- α -antytrypsyna, α 1-lipoproteina
obojętne	nieznaczna lub brak zmiany stężenia	α 2-makroglobulina, protrombina, surowiczy amyloid P (SAP)

1.3.1.3.1 Białko c-reaktywne (CRP)

Białko C-reaktywne (CRP) należy do rodziny pentadekstryn, jest pozytywnym białkiem ostrej fazy, syntetyzowane jest głównie w komórkach wątrobowych. Cząsteczka CRP ma kształt pentameryczny i masę ok. 118 kDa. Zbudowana jest z

pięciu identycznych, połączonych niekowalencyjnie polipeptydów składających się z 206 aminokwasów. Prawidłowe stężenie CRP w surowicy wynosi 0,5-5,0 mg/l. CRP ma zdolność łączenia się z fosfatydylocholiną, fosfocholimą, niezawierającymi ufosforylowanej choliny lipidami i polisacharydami (56). Właściwości takie umożliwiają CRP tworzenie kompleksów z drobnoustrojami, organelami komórkowymi, składnikami wewnątrzkomórkowymi oraz związkami kationowymi. Utworzone kompleksy indukują aktywację układu dopełniacza oraz pobudzają opsonizację i fagocytozę (55).

Główną funkcją CRP jest udział w eliminacji drobnoustrojów (bakterie, grzyby, pasożyty), uszkodzonych komórek gospodarza lub ich fragmentów. Wzrost stężenia CRP obserwowany jest w przeciągu ok 48 h od inicjalizacji stanu zapalnego a normalizacja następuje w przeciągu 7-14 dni od jego ustąpienia. Z tego powodu białko CRP jest markerem stanu zapalnego. Zakażenia bakteryjne w znacznym stopniu indukują syntezę CRP, powodując nawet kilkusetkrotny wzrost jego stężenia, w odróżnieniu od zakażeń wirusowych gdzie stwierdzany jest najwyżej niewielki wzrost stężenia CRP. Umożliwia to w praktyce klinicznej wstępne różnicowanie zakażeń bakteryjnych od wirusowych np. w zapaleniu opon mózgowo-rdzeniowych, zapaleniu płuc (56).

Wykazano że, CRP jest niezależnym czynnikiem ryzyka rozwoju miażdżycy oraz incydentów sercowo-naczyniowych. Wysokie ryzyko incydentów wieńcowych występuje przy stężeniu hsCRP > 3,0 mg/l (57, 58). Mechanizm wpływu CRP na rozwój miażdżycy, a w związku z tym incydentów sercowo-naczyniowych nie jest do końca poznany. Przypuszczalnie związane jest to z prozakrzepowymi właściwościami CRP, opsonizacją natywnych lipoprotein o małej gęstości przez białko C-reaktywne,

chemotaktycznym działaniem odkładającego się w ścianach naczyń CRP dla monocytów i wytwarzaniem komórek piankowych, wzmożoną sekrecją endoteliny 1 (ET-1) i IL-6 pod wpływem CRP oraz zdolnością do ekspresji cząstek adhezyjnych na powierzchni śródbłonna naczyń krwionośnych (59).

CRP stosowne jest jako prognostyczny wskaźnik przebiegu wielu chorób np. w przebiegu ostrego zapalenia trzustki stężenie CRP > 150 mg/l w 24 i 48 h od początku objawów jest jednym z czynników prognostycznych rozwoju ciężkiego ostrego zapalenia trzustki (OZT) natomiast w 48-72 godzin świadczy o martwiczym ostrym zapaleniu trzustki (wiarygodność >86%, czułość i swoistość >80%) (60).

1.3.1.3.2 α 1-kwaśna glikoproteina (AAG, AGP)

α 1- kwaśna glikoproteina (orosomukoid, AGP *alpha-1 acid glycoprotein*) jest pozytywnym białkiem ostrej fazy o masie cząsteczkowej 42 kDa (61). Stężenie AGP w surowic u osób zdrowych wynosi 0,6-1,2 mg/ml, w niektórych stanach patologicznych występuje 2,5 x wzrost jej stężenia (62). Czynnikiem predysponujące do zwiększonej syntezy AGP są stany zapalne, infekcje, uszkodzenia tkanek (63). Funkcja AGP w organizmie nie została do końca poznana, dotychczas wykazano:

- hamuje agregację płytek,
- moduluje odporność,
- utrzymuje funkcję barierową naczyń włosowatych,
- jest wskaźnikiem ostrej fazy procesu zapalnego,
- wiąże i transportuje leki (63,64).

Cząsteczka AGP składa się z pojedynczego łańcucha polipeptydowego związanego z pięcioma rozgałęzionymi łańcuchami glikanowymi. AGP charakteryzuje się polimorfizmem genetycznym w obrębie łańcucha aminokwasowego składającego się z 183 aminokwasów oraz mikroheterogenicznością łańcuchów polisacharydowych. Największa i najistotniejsza klinicznie heterogenność dotyczy łańcuchów glikanowych. Łańcuchy glikanowe posiadają dwa, trzy lub cztery łańcuchy boczne (di- tri- lub tetra-antenowe). Do każdego rozgałęzionego łańcucha może być przyłączona cząsteczka kwasu sialowego lub frukozy warunkując występowanie wielu jej izoform. Wzrost liczby form di-antenowych stwierdzany jest w ostrych stanach zapalnych, tri – i tetra-antenowych w przewlekłych procesach zapalnych (65).

Zaburzenia w glikozylacji AGP wykazano u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego, chorobami wątroby (wirusowe zapalenie wątroby B i C, marskość wątroby, alkoholowe choroby wątroby), cukrzycą typu I (63).

1.3.1.3.3 α 1-antytrypsyna (AAT)

α 1-antytrypsyna (AAT, α 1-antitrypsin) jest pozytywnym białkiem ostrej fazy, zbudowana z 394 aminokwasów i masie cząsteczkowej wynoszącej ok 52 kDa. Kodowana jest na ramieniu długim chromosomu 14 (14q31– 32.1). Wytwarzana jest głównie w hepatocytach oraz także przez makrofagi, komórki nabłonka oskrzeli i jelit. Prawidłowe stężenie AAT w surowicy wynosi 1.9–3.5 mg/ml (66).

AAT jest szeroko rozpowszechniona w organizmie, występuje we wszystkich tkankach i płynach biologicznych (67). Jest jednym z najsilniejszych inhibitorów proteaz serynowych, skuteczne działanie wykazuje wobec elastazy neutrofilowej, proteinazy 3, katepsyny G, trypsyny (66, 68).

Niedobór α 1-antytrypsyny jest jedną z najczęstszych chorób genetycznych w Europie, przyczyną choroby jest mutacja genu SERPINA1 (69).

Wykazano, że niedobór AAT predysponuje do:

- chorób wątroby - od zapalenia i marskość wątroby (głównie noworodki i dzieci) po występowanie raka wątrobowokomórkowy (głównie w populacji osób dorosłych). Choroby wątroby spowodowane są zaburzeniem struktury AAT, a przez to zwiększonej wewnątrzkomórkowej polimeryzacji i retencji AAT w hepatocytach (70).
- chorób płuc - rozedma płuc, POChP, astma oskrzelowa z cechami utrwalonej obturacji. Chorób płuc wynikają ze zwiększonej aktywności elastazy neutrofilowej w wyniku niedoboru AAT, będącej silnym inhibitorem proteaz, powodując degradację elastyny będącej głównym składnikiem włókien sprężystych w dolnych drogach oddechowych (68).
- inne choroby prawdopodobnie wynikające z niedoboru AAT:
 - zapalenie tkanki podskórnej,
 - ANCA-dodatnie zapalenie naczyń,
 - reumatoidalne zapalenie stawów,
 - przewlekłe zapalenie błony śluzowej nosa i zatok,
 - ostre zapalenie błony naczyniowej oka,
 - zapalenie trzustki,
 - nieswoiste zapalenie jelit,
 - celiakia, choroba wrzodowa,
 - cukrzyca,
 - rozrost komórek wysp trzustkowych,

- choroba nerek,
- fibromialgia,
- idiopatyczne ziarniniakowe zapalenie sutka,
- neuropatia obwodowa,
- tętniaki,
- zawał serca,
- miażdżyca,
- nowotwory (71).

1.3.1.3.4 Haptoglobina (Hp)

Haptoglobina (Hp) jest pozytywnym białkiem ostrej fazy. Syntetyzowana jest głównie w wątrobie, w mniejszej ilości w płucach, skórze oraz innych narządach. Haptoglobina zbudowana jest z co najmniej dwóch łańcuchów β (~30-40 kDa każdy) oraz dwóch łańcuchów α ($\alpha 1$ (~9,1 kDa) i $\alpha 2$ (~16 kDa)) połączonych mostkami dwusiarczkowymi. Prawidłowe stężenie Hp w surowicy wynosi 0,3 - 3 mg/ml. Główną funkcją Hp jest wiązanie wolnej hemoglobiny (Hb) a dzięki temu wywiera działanie antyoksydacyjne (wolna hemoglobina jest silnym utleniaczem). Ponadto haptoglobina stymuluje angiogenezę, moduluje proliferację limfocytów B, zmniejsza nasilenie procesów zapalnych o podłożu autoimmunologicznym (72). Dodatkowo haptoglobina jest markerem laboratoryjnym nasilonej hemolizy, która powoduje zmniejszenie stężenia Hp w osoczu (73).

Haptoglobina kodowana jest na ramieniu długim chromosomu 16 (16q22). Występują dwie formy alleliczne Hp (1 i 2), tworząc genotypy homozygotyczne (1-1 lub 2-2) i heterozygotyczne (2-1). Homozygoty typ 1-1 mają najwyższe powinowactwo

do wiązania hemoglobiny, u homozygot 2-2 zaobserwowano częstsze występowanie nieswoistych chorób zapalnych jelit, celiakii, cukrzycy, miażdżycy tętnic (74).

1.3.1.3.5 Ferrytyna (FER)

Ferrytyna jest globularnym białkiem, którego główną funkcją jest magazynowanie żelaza. Jedna cząsteczka ferrytyny może zmagazynować 2000-4500 atomów Fe. Ferrytyna jest szeroko rozpowszechniona w organizmie człowieka, syntetyzowana jest głównie w hepatocytach, prawidłowe stężenie w surowicy wynosi 30–300 µg/l u mężczyzn i kobiet po menopauzie oraz 15–200 µg/l u kobiet miesiączkujących. Cząsteczka ferrytyny ma kształt wydrążonej kuli o średnicy 10-12 nm, zbudowana jest z 12 podjednostek H i 12 podjednostek L mogących tworzyć ok 20 izoform (48).

Podjednostka H posiada aktywność ferroksydazy przekształcając atomy Fe^{2+} w Fe^{3+} wnikające do otoczki ferrytyny, podczas gdy podjednostka L odpowiada za magazynowanie Fe^{3+} wewnątrz cząsteczki (rdzeń). Uwolnienie żelaza z wewnątrzkomórkowej ferrytyny następuje poprzez degradację cząsteczki ferrytyny w lizosomach za pośrednictwem receptora autofagii NCOA4. Nasilenie procesu uwalniania żelaza z ferrytyny uzależnione jest od zapotrzebowania komórkowego (zwiększone zapotrzebowanie zwiększa proces degradacji ferrytyny, zmniejszone zapotrzebowanie wywiera działanie odwrotne) (75). Synteza ferrytyny jest regulowana przez białko IRP1 i IRP2 (*iron regulatory proteins 1 and 2*) wiążąc się ze swoistymi regionami RNA (IREs – *iron responsive elements*) regulując syntezę ferrytyny w zależności od poziomu żelaza w organizmie. Gdy poziom żelaza jest niski synteza ferrytyny jest zmniejszona na drodze hamowania translacji. Z tego względu ferrytyna jest uznawana jako ważny i czuły parametr zasobów Fe w ustroju. Za niedoborami Fe

przemawia stężenie ferrytyny poniżej 30 $\mu\text{g/l}$, nawet przy braku anemii czy prawidłowym stężeniu Fe w osoczu (48, 75).

Ferrytyna jest pozytywnym białkiem ostrej fazy, jej wytwarzanie jest stymulowana przez cytokiny prozapalne (TNF- α , IL-1a, IL-6 i kachektyna). Wzrost stężenia ferrytyny występuje w pierwszych dwóch dobach od zadziałania czynnika prozapalnego (szczyt w 8 dobie), mogąc osiągać wielokrotny wzrost stężenia ferrytyny w surowicy (w posocznicy $>20000 \mu\text{g/l}$; choroba Stilla $> 100000 \mu\text{g/l}$). Dodatkowo hiperferrytynemia obserwowana jest w przewlekłych chorobach zapalnych, chorobach związanych z przeładowaniem żelazem (np. hemochromatoza dziedziczna), chorobach wątroby, uszkodzeniu nerek, chorobach nowotworowych, cytolizie, u osób nadużywających alkohol, w zespole metabolicznym, porfiri skórnej późnej (48, 76).

1.3.1.3.6 Fibrynogen

Fibrynogen jest białkiem ostrej fazy, podczas ostrego stanu zapalnego poziom fibrynogenu w osoczu może wzrosnąć nawet 5 krotnie (62). Prawidłowe stężenie fibrynogenu w osoczu wynosi 1,5 – 3,5 g/l (77). Wykazano również prozapalną rolę fibrynogenu w wielu chorobach np. raku żołądka, infekcje bakteryjne, zapaleniu okrężnicy, stwardnieniu rozsianym, reumatoidalnym zapaleniu stawów, udarze mózgu (78, 79). Najprawdopodobniej wpływ prozapalny fibrynogenu spowodowany jest przez indukcją syntezy cytokin prozapalnych (IL-6, TNF-alfa) oraz zwiększoną ilość mRNA (80).

Fibrynogen jest homodimeryczną glikoproteiną wytwarzaną głównie w hepatocytach o masie cząsteczkowej wynoszącej około 340 kDa. Cząsteczka glikoproteiny składa się z 6 łańcuchów polipeptydowych (2 A α , 2 B β i 2 γ) połączonych 29 mostkami dwusiarczkowymi (81). Fibrynogen kodowany jest przez trzy

geny (FGA – łańcuch $A\alpha$, FGB – łańcuch $B\beta$, FGG – łańcuch γ) zlokalizowane na chromosomie 4. Fibrynogen wydzielany jest bezpośrednio do osocza, a czas jego półtrwania wynosi ok 4 dni. Oprócz fibrynogenu znajdującego się bezpośrednio w osoczu, fibrynogen w krwi przechowywany jest w ziarnistościach α płytek krwi. Fibrynogen pełni kluczową rolę w procesie krzepnięcia i wytworzeniu skrzepu. Proces wytworzenia skrzepu fibrynowego z fibrynogenu można podzielić na trzy odrębne fazy. W pierwszym etapie trombina rozszczepia enzymatycznie cząsteczkę fibryny na monomery fibryny. Następnie w wyniku samoorganizacji jednostek fibryny wytwarza się struktura polimerowa. W ostatnim etapie na polimer fibryny oddziałuje czynnik XIIIa powodując kowalencyjne usieciowanie fibryny. Fibrynogen również pełni ważną funkcję w pierwotnej hemostazie krwi w wytwarzaniu agregatów płytkowych za pomocą receptora glikoproteinowego GP IIb/IIIa zlokalizowanego na powierzchni płytek krwi (77).

2 CEL PRACY

Celem pracy była ocena stężenia transferyny i jej izoform oraz innych białek ostrej fazy w surowicy krwi pacjentów chorych na COVID-19 w zależności od:

- stopnia ciężkości przebiegu COVID-19,
- stosowanej tlenoterapii,
- obecności burzy cytokinowej,
- chorób przewlekłych,
- szczepień przeciw COVID-19,
- losów pacjentów,
- zmodyfikowanej skali wczesnego ostrzegania MEWS.

3 MATERIAŁY I METODY

3.1 Grupa badana

Grupę badaną stanowiło 96 pacjentów w wieku od 22 do 89 lat (średnia 59,2 lat) z rozpoznaniem COVID-19 hospitalizowanych w Oddziale Gastroenterologii, Hepatologii i Chorób Wewnętrznych oraz Oddziale COVID Wojewódzkiego Szpitala Zespolonego w Białymstoku w okresie od listopada 2021 do marca 2022. Zakażenie SARS-CoV-2 stwierdzano za pomocą:

- testu genetycznego jakościowej reakcji łańcuchowej polimerazy z odwrotną transkrypcją w czasie rzeczywistym (RT-PCR), zestaw SARS-Cov-2 Triplex PCR firmy Astra Biotech GmbH (Berlin, Niemcy) z termocyklerem Azure Cielo 6 (Azure Biosystems, Dublin, USA)]
- oraz jakościowym wykryciem antygenu SARS-CoV-2 (Ag) w próbkach wymazu z jam nosowych za pomocą szybkiego testu Panbio™ COVID-19 Ag (Abbott Rapid Diagnostics Jena GmbH, Jena, Niemcy).

U wszystkich włączonych do badania pacjentów krew do badań pobierano w pierwszej dobie hospitalizacji (B1) a u 40 pacjentów w średnio 9 dobie hospitalizacji (3-12 doba) wykonano drugie pobranie materiału biologicznego (B2). Badaniem objęto 39 kobiet w wieku 23-89 lat (średnia 58,4 lat) oraz 57 mężczyzn w wieku 22 – 85 lat (średnia 59 lat). 66 chorych miało choroby współtowarzyszące, 29 pacjentów było zaszczepionych przeciw COVID-19, z czego 8 tylko trzema dawkami szczepionki (1 dawka – 8 pacjentów; 2 dawki – 13 pacjentów; 3 dawki – 8 pacjentów). 62 pacjentów nie przeżyło szczepienia przeciw COVID-19 a u 4 chorych nie udało się uzyskać informacji dotyczącej szczepienia. U 26 pacjentów rozpoznano burzę cytokinową,

definiowaną jako poziom IL-6 powyżej 100 ng/ml. U 66 pacjentów występowały choroby współistniejące, wśród których dominowały: nadciśnienie tętnicze – 21, nadciśnienie i cukrzyca typu 2 – 10, marskość wątroby – 8 i cukrzyca – 5 i inne. Łącznie 76 chorych wymagało tlenoterapii: 43 chorych niskoprzepływowej (tlenoterapia bierna z przepływem tlenu do 18 l/min); 23 chorych wysokoprzepływowej (tlenoterapia bierna z przepływem tlenu 20l-70 l/min); 10 chorych wymagało respiratoroterapii. U 63 chorych stwierdzono umiarkowany kliniczny stopień ciężkości choroby (gorączka, kaszel, brak węchu i brak duszności, zajęcie dolnych dróg oddechowych, saturacja tlenem >94% i niewielkie zmiany radiologiczne), u 14 ciężki (saturacja tlenem spada <94% przy częstości oddechów > 30/min, radiologicznie nacieki płucne >50% z niewydolnością oddechową) natomiast stopień krytyczny u 19 chorych (dysfunkcja wielonarządowa z niewydolnością oddechową). Pomimo stosowanej terapii 9 chorych (9,4%) przekazano do oddziału intensywnej terapii, a 13 chorych zmarło (śmiertelność 13,5%).

Wszyscy pacjenci wyrazili zgodę na udział w badaniu klinicznym na którego przeprowadzenie uzyskano akceptację Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (APK.002.497.2021).

3.2 Grupa kontrolna

Grupę kontrolną stanowiło 30 zdrowych pacjentów w wieku od 21 do 84 lat, 15 mężczyzn oraz 15 kobiet, u których wykluczono zakażenia SARS-CoV-2, zgłaszający się na badania kontrolne do Poradni Medycyny Pracy Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku. Laboratoryjna charakterystyka grupy kontrolnej zawarta jest w Tabeli 10.

Tabela 9. Laboratoryjno-kliniczna charakterystyka grupy kontrolnej.

Zmienna	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Odch.std	Dolny Kwartyl.	Górny Kwartyl.
pH	7,40	7,405	7,356	7,440	0,028	7,375	7,425
pO ₂ , [mmHg]	96,60	97,00	88,00	103,00	4,68	93,00	101,00
pCO ₂ , [mmHg]	39,43	39,00	36,00	43,00	2,34	37,00	41,00
SatO ₂ [%]	97,4	97,0	96,0	99,0	0,97	97,0	99,0
BE [mEq/l]	0,13	0,33	-1,68	1,77	1,15	-0,90	1,15
IL6 [pg/ml]	1,96	1,50	1,50	7,72	1,27	1,50	1,82
Fibrynogen [mg/dl]	297,31	294,00	215,00	382,00	50,49	256,00	342,00
Kreatynina [mg/dl]	0,86	0,86	0,65	1,15	0,12	0,76	0,94
eGFR [ml/min/1,73m ²]	113,97	117,50	96,00	129,00	10,66	102,50	123,50
RR skurczowe [mmHg]	124,22	124,00	120,00	128,00	2,13	123,00	126,00
RR rozkurczowe [mmHg]	82,06	82,00	81,00	84,00	0,95	81,00	83,00
HR [/min]	83,11	84,00	68,00	96,00	8,02	77,00	90,00
CK [IU/l]	100,76	89,00	37,00	200,00	47,59	67,00	138,00
ALT [IU/l]	12,11	10,20	5,00	37,80	6,21	7,80	14,60
AST [IU/l]	21,56	20,00	7,20	49,70	8,01	17,20	23,30
GGT [IU/l]	16,31	14,50	5,00	52,00	9,02	10,00	20,00
LDH [IU/l]	161,05	155,00	105,00	245,00	31,59	139,00	181,00
Bilirubina [mg/dl]	0,51	0,46	0,15	1,80	0,27	0,35	0,57
Glukoza [mg/dl]	86,17	86,40	64,50	121,60	9,99	79,70	91,30
HBG [g/dl]	14,01	13,70	12,50	16,10	1,02	13,20	14,80

HCT [%]	40,10	39,15	35,50	48,10	3,53	37,10	42,35
RBC [$\times 10^6/\mu\text{l}$]	4,65	4,59	4,16	5,37	0,35	4,32	4,93
MCV [fl]	87,06	86,55	73,60	94,30	4,49	84,95	90,80
WBC [$\times 10^3/\mu\text{l}$]	6,49	6,49	3,57	9,84	1,30	5,52	7,26
PLT [$\times 10^3/\mu\text{l}$]	235,35	243,00	135,00	311,00	51,37	218,50	273,50
INR	0,93	0,93	0,86	1,01	0,04	0,90	0,97
PT [sek]	12,42	12,40	11,70	13,20	0,42	12,10	12,80
Cholesterol [mg/dl]	200,14	197,65	115,40	336,40	44,08	169,50	226,70
TG [mg/dl]	114,99	91,20	43,80	726,00	95,77	68,10	122,50
IGG [g/l]	11,69	11,77	5,87	15,91	2,02	10,50	13,17

3.3 Materiał do badania

Materiał pobierano dwukrotnie: przy przyjęciu i przy wypisie ze szpitala (średnio w 9 dobie hospitalizacji). Krew tętniczą pobierano z tętnicy udowej do próbkówki na skrzep oraz do strzykawki heparynizowanej celem oznaczenia gazometrii. Gazometrie oznaczano natychmiast po uzyskaniu materiału, natomiast krew pobraną na skrzep niezwłocznie po pobraniu wirowano z prędkością 1500 obr/min przez 10 min w temperaturze pokojowej w celu uzyskania surowicy. Uzyskaną surowicę przechowywano w temperaturze -78°C w zamrażarce firmy Arcitico model ULUF 15. Wszyscy mieli również pobieraną krew żylną z żyły łokciowej celem oznaczenia podstawowych parametrów biochemicznych: morfologia, IL-6, fibrynogenu, D-dimeru, ferrytyny, kreatyniny, CK, ALT, AST, GGTP, LDH, bilirubiny całkowitej, glukozy, prokalcytoniny, APTT, PT, INR.

3.3.1 Aparatura badawcza

Do wykonywania testów używano następujących aparatów diagnostycznych:

- Analizator gazometryczny - ABL 90 FLEX PLUS, Radiometer Medical ApS, Brønshøj, Denmark
- Analizator biochemiczny COBAS e -411 Cobas 8000, moduł-e 801, Roche Diagnostics International Ltd, Rotkreuz, Szwajcaria
- Analizator biochemiczny ACL TOP 300 CTS, Instrumentation Laboratory, Werfen Company, Bedford, USA
- Analizator hematologiczny XN 1000 WPC XN 550 [DIFF]BF Sysmex Corp., Kobe, Japonia
- Analizator biochemiczny COBAS 6000 moduł c501, Roche Diagnostics International Ltd, Rotkreuz, Szwajcaria
- Analizator biochemiczny Cobas c501, Hitachi-High-Technologies Corporation, Tokyo, Japan

3.4 METODY

3.4.1 CRP

CRP oznaczano metodą immunoturbidymetryczną ze wzmocnieniem cząstek lateksu (CRP4, COBAS). Agregaty powstałe w wyniku aglutynacji ludzkie CRP z cząsteczkami lateksu opłaszczonymi przeciwciałami monoklonalnymi anty CRP oznaczano w analizatorze COBAS 6000 moduł c501 (Roche Diagnostics International Ltd, Rotkreuz, Szwajcaria). Wartości oczekiwana wynosiła < 5 mg/L, zakres oznaczenia 0.6-350 mg/L.

3.4.2 Fibrynogen

Fibrynogen był oznaczany metodą wiskozymetryczną (Hemosil Q.F.A. Thrombin). Stężenie fibrynogenu w próbkach osocza pacjentów określa się przez porównanie wartości czasu krzepnięcia z krzywą odniesienia znanych referencyjnych rozcieńczeń osocza o różnych wartościach fibrynogenu w aparacie ACL TOP 300 CTS (Instrumentation Laboratory, Werfen Company, Bedford, USA). Wartość oczekiwana 200 - 393 mg/dL a zakres oznaczenia 35 - 1000 mg/dL.

3.4.3 Ferrytyna

Ferrytynę oznaczano metodą immunoturbidymetryczną ze wzmocnieniem cząstek lateksu (FERR4, COBAS). Za pomocą aparatu COBAS 6000 moduł c501 (Roche Diagnostics International Ltd, Rotkreuz, Szwajcaria) Oznaczano kompleksy immunologiczne w paśmie 570/800 nm powstały w wyniku aglutynacji ludzkiej ferrytyna z cząstkami lateksu opłaszczonymi przeciwciałami przeciwko ferrytynie.

Wartości oczekiwane wynosiły:

- mężczyźni (20-60 lat): 30-400 $\mu\text{g/L}$

- kobiety (17-60 lat): 15-150 $\mu\text{g/L}$

Zakres oznaczenia mieścił się w granicach 5-1000 $\mu\text{g/L}$.

3.4.4 α 1-antytrypsyna (AAT)

α 1-antytrypsyna oznaczana była za pomocą testu immunoturbidymetrycznego (AAT2, COBAS). W wyniku reakcji ludzkiej α 1-antytrypsyny z specyficzną surowicą odpornościową powstają kompleksy immunologiczne oznaczane przy użyciu analizatora Cobas c501, (Hitachi-High-Technologies Corporation, Tokyo, Japan). Wartości oczekiwane wynosiły 0,9-2,0 g/L a zakres oznaczenia 0.2-6.0 g/L.

3.4.5 α 1- kwaśna glikoproteina (AGP)

α 1- kwaśna glikoproteina oznaczana była metodą immunoturbidymetryczną (AAGP2, COBAS). Przeciwciała przeciwko α 1- kwaśnej glikoproteinie reagują z antygenem w próbce, tworząc kompleks immunologiczny, które oznaczano przy użyciu analizatora Cobas c501, (Hitachi-High-Technologies Corporation, Tokyo, Japan). Wartości oczekiwane wynosiły 0.5-1.2 g/L a zakres oznaczenia.

3.4.6 Transferyna (TRF)

Transferyna oznaczana była metodą immunoturbidymetryczną (TRSF2, COBAS). Oznaczano kompleksy immunologiczne powstałe w wyniku oddziaływania ludzkiej transferyny ze specyficzną surowicą odpornościową za pomocą analizatora Cobas c501, (Hitachi-High-Technologies Corporation, Tokyo, Japan). Wartości oczekiwane wynosiły 2.0-3.6 g/L a zakres oznaczenia 0.1-5.2 g/L.

3.4.7 Haptoglobina (HAP)

Haptoglobina oznaczana była metodą immunoturbidymetryczną (HAPT2, COBAS). Poprzez reakcję ludzkiej transferyny ze specyficzną surowicą odpornościową tworzą się kompleksy immunologiczne, które oznaczano za pomocą analizatora Cobas c501, (Hitachi-High-Technologies Corporation, Tokyo, Japan). Wartości oczekiwane wynosiły 0.3-2.0 g/L a zakres oznaczenia 0.1-5.7 g/L.

3.4.8 Pozostałe metody

Do oceny pacjentów posługiwano się również powszechnie dostępnymi testami i metodami, które przedstawiono w Tabeli 11.

Tabela 10. Pozostałe metody laboratoryjne.

Rodzaj	Metoda diagnostyczna	Nazwa komercyjna	Model analizatora,	Wartości oczekiwane
--------	----------------------	------------------	--------------------	---------------------

testu	testu	testu	producent	
Gazometria z równowagą kwasowo-zasadową	Potencjometryczna, amperometryczna	ABL 90 FLEX solution pack SC 90 300/30 BG/LYT/MET/OX/+QC	ABL 90 FLEX PLUS, Radiometer Medical ApS, Brønshøj, Denmark	pH 7,35 - 7,45 pCO ₂ 35 - 45 mmHg pO ₂ 83 - 108 mmHg satO ₂ 95 - 99% ctO ₂ 7,1 - 8,9 mmol/l (K); 8,4 - 9,9 mmol/l (M) p50 25 - 29 mmHg
Morfologia krwi	WBC - Metoda cytofluorymetryczna RBC - Metoda impedancyjna optyczna HGB - Metoda spektrofotometryczna PLT - Metoda impedancyjna, optyczna, cytofluorymetryczna	CBC+DIFF+RET	XN 1000 WPC XN 550 [DIFF]BF Sysmex Corp. , Kobe, Japonia	RBC 4,0 - 5,0 x10 ⁶ /μl (K), 4,5 - 6,0 x10 ⁶ /μl (M) HGB 12,0 - 16,0 g/dl (K), 14,0 - 18,0 g/dl (M) HCT 37,0 - 47,0% (K), 40 - 54% (M) MCV 81,0 - 99,0 fl (K), 80,0 - 94,0 fl (M) MCH 27,0 - 34,0 pg MCHC 31,0 - 37,0 g/dl RDW-SD 37,0 - 47,0 fl RDW-CV 11,5 - 15,0% PLT 130 - 350 x10 ³ /μl
APTT, PT	PT i APTT: wiskozymetryczna	APTT-SP liquid HemosIL, PT-recombiplasTin 2 G	ACL TOP 300 CTS, Instrumentation Laboratory, Werfen Company,	PT:12-16 sek 70-120% INR: 0,8-1,2 APTT: 24,0 - 35,0 sek.

Fibrynogen			Bedford, USA	Ratio: 0,80 - 1,20
	wiskozymetryczna	QFA Thrombin Hemosil	ACL TOP 300 CTS, Instrumentation Laboratory, Werfen Company, Bedford, USA	200 - 400 mg/dl
Kreatynina	Kinetyczny test kolorymetryczny oparty na metodzie Jaffégo	CREJ2	COBAS 6000 moduł c501, jw	Wartości oczekiwane: Kobiety: 0,5-0,9 mg/dl Mężczyźni: 0,70-1,20 mg/dl
CK	Test UV	CK	COBAS 6000 moduł c501, jw	Wartości oczekiwane: Kobiety: 26-192 U/l Mężczyźni: 39-308 U/l
AST	Optymalizowana, modyfikowana metoda oparta na zaleceniach Międzynarodowej Federacji Chemii Klinicznej (IFCC), bez aktywacji fosforanem pirydoksalu	ASTL	COBAS 6000 moduł c501, jw	Wartości oczekiwane: Kobiety: Do 32 U/l Mężczyźni: Do 40 U/l
ALT	Optymalizowana, modyfikowana metoda oparta	ALTL	COBAS 6000 moduł c501, jw	Wartości oczekiwane: Kobiety:

	na zaleceniach Międzynarodowej Federacji Chemii Klinicznej (IFCC), bez aktywacji fosforanem pirydoksalu			Do 33 U/l Mężczyźni: Do 41 U/l
GGT	Metoda enzymatyczno-kolorymetryczna wg IFCC Szasz	GGT-2	COBAS 6000 moduł c501, jw	Wartości oczekiwane: Kobiety: 6-42 UI/l Mężczyźni: 10-71 UI/l
LDH	Test UV, wg IFCC	LDHI2	COBAS 6000 moduł c501, jw	Wartości oczekiwane: Kobiety: 135-214 U/l Mężczyźni: 135-225 U/l
Bilirubina całkowita	Test kolorymetryczny z wykorzystaniem metody diazowej	BILT3	COBAS 6000 moduł c501, jw	Wartości oczekiwane: do 1,2 mg/dl
Glukoza	enzymatyczna z heksokinazą	GLUC3	COBAS 6000 moduł c501, jw	Wartości oczekiwane: 74-106 mg/dl
IL-6	elektrochemiluminescencji "ECLIA"	IL-6	COBAS e -411 cobas 8000, moduł-e 801, Roche Diagnostics International Ltd, Rotkreuz,	Wartości oczekiwane: Do 7 ng/ml (95. percentyl)

Prokalcytonina			Szwajcaria	
	Metoda elektrochemilu minescencji "ECLIA"	PCTX	Cobas e-411 cobas 8000, moduł e-801, Roche Diagnostics, Tokio, Japonia	Wartości oczekiwane: <u>Zdrowe osoby:</u> Do 0,046 ng/ml (95. percentyl); <u>Na próbkach od pacjentów</u> przyjętych na OIOM: Niskie ryzyko ciężkiej sepsy/lub wstrząsu septycznego: < 0,5 ng/ml, Wysokie ryzyko: > 2,0 ng/ml

3.5 Analiza statystyczna

Opracowania statystycznego dokonano programem Statistica 13 PL. Wyniki wyrażono jako medianę i zakresy. Do oceny różnic pomiędzy grupą badaną i kontrolną zastosowałem test U Manna-Whitneya. Wpływ ciężkości choroby, tlenoterapii i zmodyfikowanej punktacji wczesnego noszenia (MEWS) na stężenie izoform zbadano za pomocą testu ANOVA rangi Kruskala-Wallis. Do oceny korelacji pomiędzy izoformami transferyny a wynikami badań laboratoryjnych wykorzystano współczynnik korelacji rang Spearmana. Za statystycznie istotne uznano wartości $p < 0,05$.

4 WYNIKI

4.1 Charakterystyka grupy badanej

Laboratoryjną charakterystykę grupy badanej przedstawiono w Tabelach 13 i 14. Ponieważ zdecydowana większość testów nie wykazywała rozkładu normalnego ($p < 0,05$ w teście Shapiro-Wilka) charakterystykę przedstawiono jako mediany, zakresy i rozstęp kwartyłowe. Testy, których rozkład wartości był zgodny z rozkładem normalnym wymieniono w Tabeli 12. Były to hemoglobina, RBC, MCV, PLT, haptoglobina, $\alpha 1$ -kwaśna glikoproteina, pO_2 i RR rozkurczowe.

Tabela 11. Analiza statystyczna badań laboratoryjnych, których rozkłady wartości były zgodne z rozkładem normalnym ($P > 0,05$).

Test	Wartość p w teście Shapiro-Wilka	
	Pobranie B1	Pobranie B2
Hb	0,166	0,322
RBC	0,302	0,541
MCV	0,468	0,150
PLT	0,171	0,169
Haptoglobina	0,086	0,493
$\alpha 1$ -kwaśna glikoproteina	0,393	0,177
pO_2	0,334	0,203
RR rozkurczowe	0,488	0,451

Tabela 12. Wartości parametrów laboratoryjno-klinicznych chorych z COVID-19 w pierwszej dobie hospitalizacji (pobranie B1).

Zmienna	Mediana	Minimum	Maksimum	Dolny kwartył	Górny kwartył
pH	7,46	7,28	7,54	7,43	7,48
pO ₂ [mmHg]	83,6	14,6	149,0	64,0	107,0
pCO ₂ [mmHg]	36,1	20,1	60,3	34,0	39,8
SatO ₂ [%]	96,8	6,8	99,9	93,0	98,5
BE [mEq/l]	2,5	-15,6	10,5	-0,7	4,9
IL6 [pg/ml]	42,0	1,9	990,0	19,4	127,0
Fibrynogen [mg/dl]	393	30	1108	246	597
Kreatynina [mg/dl]	0,85	0,28	5,53	0,71	1,24
eGFR [ml/min/1,73m ²]	82,9	10,7	323,4	56,9	111,2
RR skurczowe [mmHg]	128	77	247	114	145
RR rozkurczowe [mmHg]	79	42	120	69	92
HR [/min]	83	52	150	73	92
CK [IU/l]	93	12	4391	47	192
ALT [IU/l]	30	5	244	15	56
AST [IU/l]	42	10	334	23	71
GGT [IU/l]	53	10	904	26	114
LDH [IU/l]	268	114	989	204	399
Bilirubina [mg/dl]	0,5	0,1	5,0	0,3	0,7
Glukoza [mg/dl]	109	50	296	92	134
HBG [g/dl]	12,9	7,8	17,4	11,2	14,0
HCT [%]	38,4	0,5	52,4	33,4	41,3
RBC [x10 ⁶ /μl]	4,28	2,31	5,56	3,68	4,65
MCV [fl]	89,20	72,40	107,90	85,50	94,05

WBC [$\times 10^3/\mu\text{l}$]	7,20	2,60	40,40	4,85	9,20
PLT [$\times 10^3/\mu\text{l}$]	205,50	27,00	420,00	163,00	270,00
INR	1,145	0,86	4,03	1,05	1,34
PT [sek]	13,75	10,40	36,50	12,60	16,00
Cholesterol [mg/dl]	141,65	41,90	313,20	110,30	172,95
TG [mg/dl]	137,60	37,30	425,10	98,25	174,15
IGG [g/l]	10,36	4,01	37,66	8,56	12,18

Tabela 13. Wartości parametrów laboratoryjno-klinicznych chorych z COVID-19 w dziewiątej dobie hospitalizacji (pobranie B2).

Zmienna				Dolny	Górny
	Mediana	Minimum	Maksimum	kwartył	Kwartył
pH	7,45	7,19	7,60	7,43	7,48
pO ₂ [mmHg]	82,6	20,6	163,0	65,7	107,0
pCO ₂ [mmHg]	38,5	23,3	78,2	34,9	41,3
SatO ₂ [%]	96,7	36,8	99,7	94,9	98,1
BE [mEq/l]	3,0	-15,6	11,2	1,2	5,3
IL6 [pg/ml]	24,6	3,0	1022,0	12,8	65,9
Fibrynogen [mg/dl]	315,5	75,0	479,0	179,5	413,0
Kreatynina [mg/dl]	0,77	0,22	3,96	0,60	0,95
eGFR [ml/min/1,73m ²]	104,0	18,8	311,6	76,9	128,8
RR skurczowe [mmHg]	124,0	89,0	173,0	111,0	139,0
RR rozkurczowe [mmHg]	75	49	114	68	85
HR [/min]	82	41	140	73	92
CK [IU/l]	32,0	11,0	251,0	23,0	66,0

ALT [IU/l]	35	9	176	26	62
AST [IU/l]	33,	9	177	20	50
GGT [IU/l]	75	14	925	31	150
LDH [IU/l]	182	110	892	161	253
Bilirubina [mg/dl]	0,4	0,1	12,4	0,2	0,8
Glukoza [mg/dl]	105	59	285	90	129
HBG [g/dl]	12,6	8,3	17,0	10,9	13,8
HCT [%]	37,6	25,4	53,3	33,5	40,8
RBC [$\times 10^6/\mu\text{l}$]	4,13	2,6	6,15	3,75	4,6
MCV [fl]	89,5	76,0	106,5	85,7	93,2
WBC [$\times 10^3/\mu\text{l}$]	6,9	2,45	40,8	5,17	9,9
PLT [$\times 10^3/\mu\text{l}$]	254,0	2,4	632,0	158,0	345,0
INR	1,18	0,97	3,51	1,09	1,44
PT [sek]	14,00	11,60	42,60	13,00	16,70
Cholesterol [mg/dl]	140	57	291	119	191
TG [mg/dl]	164	53	399	107	213
IGG [g/l]	10	5	28	8	11

Wartości następujących testów były istotnie wyższe u chorych z COVID-19 przy przyjęciu (pobranie B1), niż w grupie kontrolnej: pH, BE, IL-6, fibrynogen, CK, ALT, AST, GGT, LDH, glukoza, INR, PT i TG (Tabela 15). Natomiast istotnemu zmniejszeniu uległy następujące testy: pO₂, pCO₂, HBG, HCT, RBC, PLT, eGFR, cholesterol oraz IgG. U chorych na COVID-19 w dziewiątej dobie hospitalizacji (pobranie B2) stwierdzono wyższe niż w grupie kontrolnej wartości badań: pH, BE, kreatyniny, IL-6, AST, ALT, GT, LDH, glukozy, INR, PLT i TG, natomiast niższe: pO₂, CK, HBG, HCT, RBC, cholesterolu oraz RR rozkurczowe. Przy przyjęciu do

oddziału (B1) stwierdzono wyższe wartości: kreatyniny, CK, AST, LDH, glukozy, HBG, HCT i RBC w stosunku do wartości notowanych w dziewiątym dniu hospitalizacji. Natomiast w dziewiątej dobie hospitalizacji (B2) wykazano wyższe wartości: ALT, GGT, INR, PT, cholesterolu, TG, BE i eGFR niż w przy przyjęciu (B1).

Tabela 14. Analiza statystyczna wartości wyników laboratoryjno-klinicznych chorych z COVID-19 przy przyjęciu (pobranie B1) i w dziewiątej dobie hospitalizacji (pobranie B2) do grupy kontrolnej oraz pomiędzy badaniami B1 i B2.

Zmienna	B1 vs K	B2 vs K	B2 vs B1
pH	<0,001	<0,001	0,468
pO2	0,027	0,048	0,856
pCO2	0,002	0,241	0,058
SatO2	0,204	0,048	0,994
BE	0,002	<0,001	0,020
IL6	<0,001	<0,001	0,068
Fibrynogen	0,001	0,722	0,465
Kreatynina	0,474	0,011	0,001
eGFR	<0,001	0,119	0,002
RR skurczowe	0,451	0,742	0,465
RR rozkurczowe	0,074	0,013	0,135
HR	0,965	0,969	0,928
CK	0,007	<0,001	<0,001
ALT	<0,001	<0,001	0,074
AST	<0,001	<0,001	0,005
GGT	<0,001	<0,001	0,983
LDH	<0,001	<0,001	<0,001

Bilirubina	0,209	0,962	0,850
Glukoza	<0,001	<0,001	0,977
HBG	<0,001	<0,001	0,199
HCT	0,028	0,010	0,570
RBC	<0,001	<0,001	0,213
MCV	0,073	0,101	0,046
WBC	0,202	0,201	0,047
PLT	0,129	0,505	0,002
INR	<0,001	<0,001	0,742
PT	<0,001	<0,001	<0,001
Cholesterol	<0,001	<0,001	0,176
TG	<0,001	<0,001	0,567
IGG	0,005	0,012	0,833

W tabeli podano wartość p w teście T-Studenta dla testów o rozkładzie zgodnym z rozkładem normalnym i wartość p w teście U Manna-Whitney dla testów o innym rozkładzie.

4.2 Białka ostrej fazy oraz izoformy transferyny

Stężenia wszystkich białek ostrej fazy, z wyjątkiem AAT znacząco różniły się w grupie chorych z COVID-19 w badaniu przy przyjęciu (B1) i grupie chorych na COVID-19 w badaniu przy wypisie (B2) w porównaniu do grupy kontrolnej. Stężenia AAT różniły się tylko w grupie chorych z COVID-19 przy przyjęciu (B1) w porównaniu do grupy kontrolnej. Stężenia białek ostrej fazy były wysokie w stosunku do grupy kontrolnej, z wyjątkiem TRF, której stężenia były mniejsze u chorych z COVID-19.

Stężenia białek ostrej fazy w pierwszej dobie hospitalizacji (pobranie B1) były wyższe niż w 9 dobie hospitalizacji (B2), za wyjątkiem ferrytyny, której stężenia przy wypisie (B2) które było wyższe niż przy przyjęciu (B1).

Stężenia względne 5-sialo TRF i 3-sialo TRF różniły się istotnie w obu badanych grupach w porównaniu do grupy kontrolnej, przy czym stężenia obu izoform w grupie chorych na COVID-19 pobrane przy wypisie (B2) były wyższe niż w grupie chorych z COVID-19 pobrane przy przyjęciu (B1). Stężenie 4-sialo TRF było niższe w grupie chorych na COVID-19 w dziewiątej dobie hospitalizacji niż przy przyjęciu oraz niższe niż w grupie kontrolnej. Porównanie stężeń izoform TRF pomiędzy grupami badanymi wykazało istotnie wzrost stężenia 3-sialo TRF w dziewiątej dobie hospitalizacji (pobranie B2) w stosunku do stężenia przy przyjęciu do szpitala (pobranie B1). Tabele 16, 17 i 18 oraz Ryc. 6 przedstawiają wyniki białek ostrej fazy oraz izoform transferyny w grupie badanej i kontrolnej. Porównanie wyników białek ostrej fazy i izoform transferyny w badanej grupie chorych z COVID-19 przy przyjęciu (pobranie B1) i w grupie chorych na COVID-19 przy wypisie (pobranie B2) do grupy kontrolnej przedstawia Tabela 19.

Tabela 15. Wartości białek ostrej fazy oraz izoform transferyny w grupie chorych z COVID-19 przy przyjęciu (pobranie B1).

Zmienna	Mediana	Minimum	Maksimum	Dolny Kwartył	Górny Kwartył
CRP [mg/l]	41,0	1,8	452	18,1	109,1
Ferrytyna [μ g/l]	606	17	4271	240	1439
Prokalcytonina [ng/ml]	0,1	0,02	6,	0,1	0,4
HAP [g/l]	2,6	0,1	6,5	1,9	3,9
TRF [g/l]	1,7	0,4	3,0	1,2	1,9
AGP [g/l]	1,5	0,2	3,4	1,1	1,9
AAT [g/l]	1,8	0,8	3,8	1,5	2,2
5-sialoTRF [%]	14,2	9,3	35,9	12,7	16,1
4-sialoTRF [%]	82,5	58,2	87,8	80,1	84,1
3-sialoTRF [%]	2,4	0,8	7,8	1,8	3,2
2-sialoTRF [%]	0,7	0,2	6,4	0,5	0,9

Tabela 16. Wartości białek ostrej fazy oraz izoform transferyny w grupie chorych z COVID-19 w dziewiątej dobie hospitalizacji (pobranie B2).

Zmienna	Mediana	Minimum	Maksimum	Dolny Kwartył	Górny Kwartył
CRP [mg/l]	12,2	0,8	241	4,0	36,9
Ferrytyna [$\mu\text{g/l}$]	671,7	27,6	2125,0	303,7	1127,0
Prokalcytonina [ng/ml]	0,08	0,02	6,6	0,04	0,36
HAP [g/l]	1,84	0,20	4,49	1,22	2,86
TRF [g/l]	1,67	0,33	3,95	1,23	1,88
AGP [g/l]	1,13	0,24	2,84	0,71	1,55
AAT [g/l]	1,59	0,84	3,26	1,31	1,91
5-sialoTRF [%]	14,7	10,2	26,5	13,3	17,3
4-sialoTRF [%]	81,15	62,7	86,6	79,5	83,2
3-sialoTRF [%]	2,7	0,7	10,1	2,1	3,8
2-sialoTRF [%]	0,7	0,2	1,7	0,5	0,8

Tabela 17. Wartości białek ostrej fazy oraz izoform transferyny w grupie kontrolnej.

Zmienna	Mediana	Minimum	Maksimum	Dolny Kwartył	Górny Kwartył
CRP [mg/l]	0,6	0,6	4,9	0,6	1,1
Ferrytyna [$\mu\text{g/l}$]	55,2	6,3	309,3	26,5	115,7
Prokalcytonina [ng/ml]	0,02	0,02	0,07	0,02	0,03
HAP [g/l]	1,05	0,10	2,05	0,77	1,31
TRF [g/l]	2,72	1,92	4,38	2,39	3,06
AGP [g/l]	0,61	0,33	1,23	0,5	0,74
AAT [g/l]	1,46	0,81	2,29	1,38	1,62
5-sialoTRF [%]	11,95	9,0	17,0	11,2	13,1

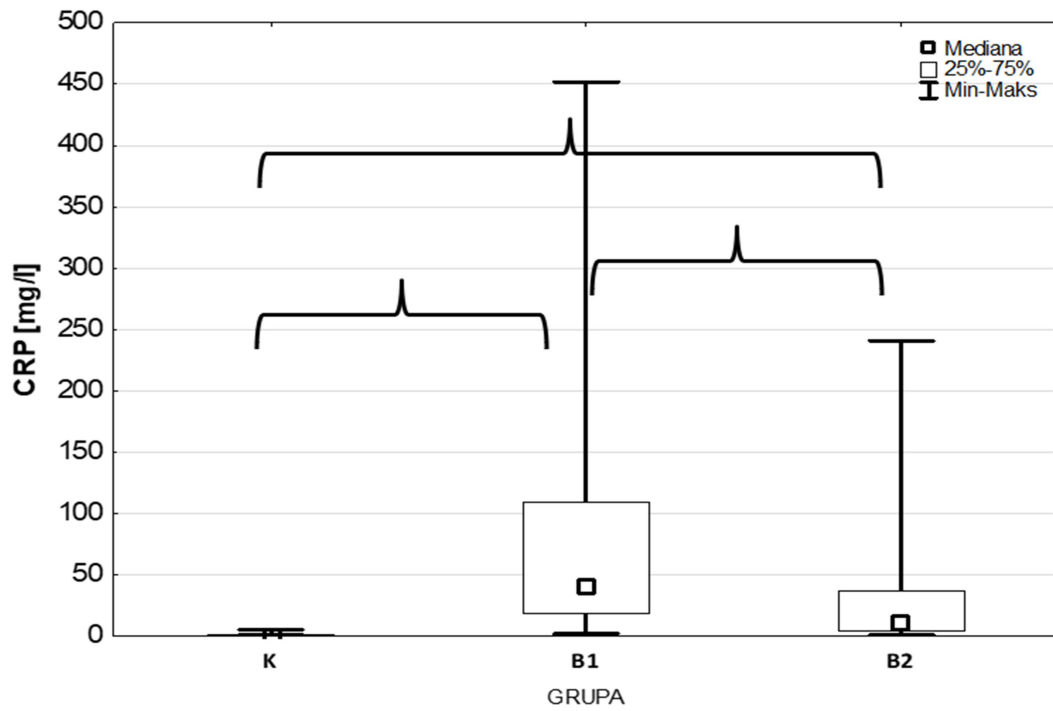
4-sialoTRF [%]	83,05	79,8	86,5	81,4	83,8
3-sialoTRF [%]	4,0	2,1	7,0	3,7	5,2
2-sialoTRF [%]	0,6	0,4	1,1	0,5	0,8

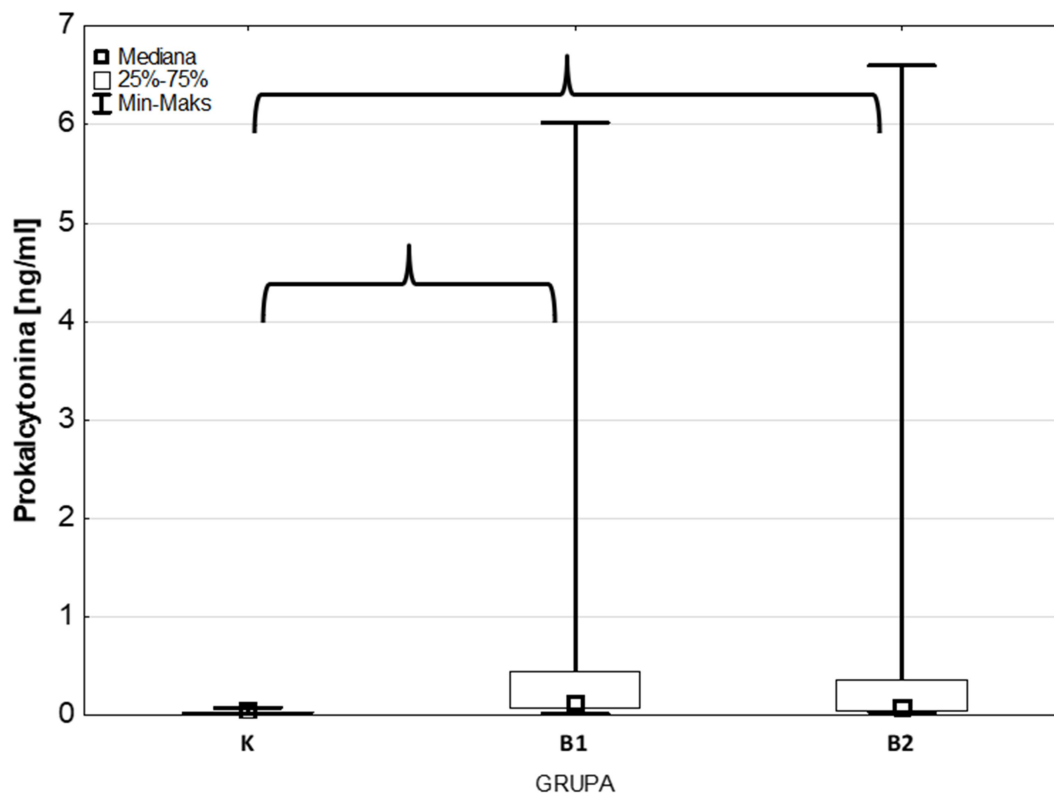
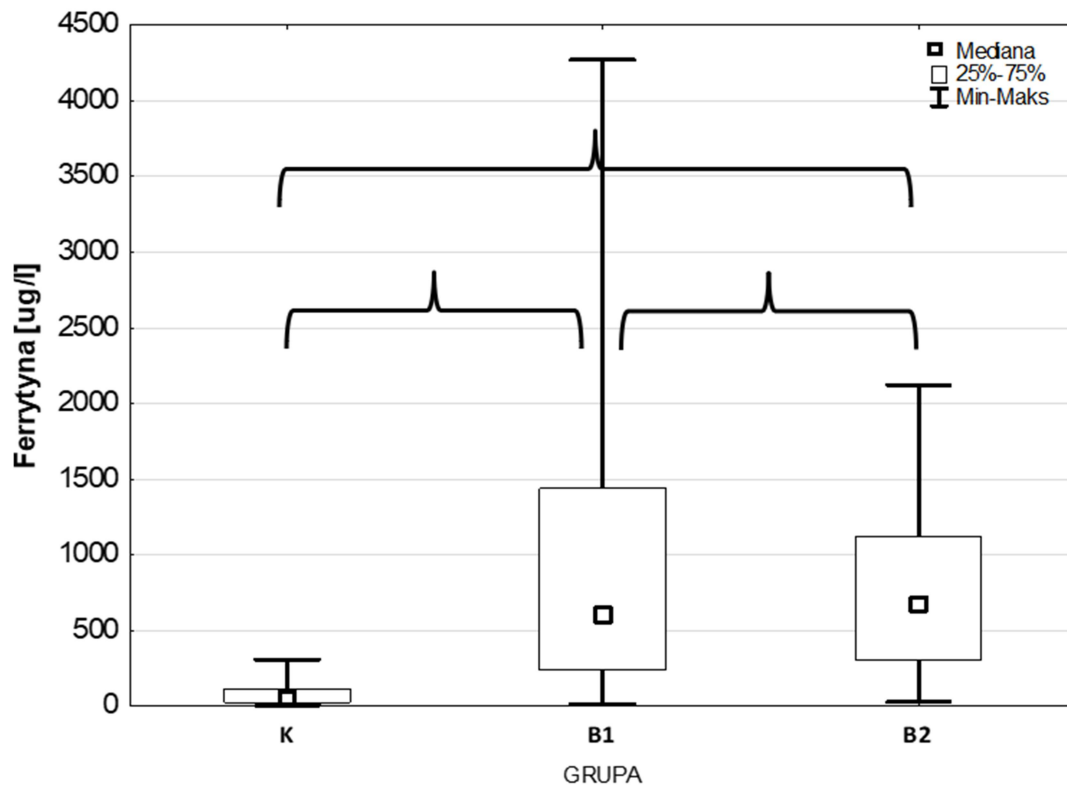
Tabela 18. Analiza statystyczna wartości białek ostrej fazy i izoform transferyny w grupie badanej w grupie chorych z COVID-19 przy przyjęciu (pobranie B1) i w grupie chorych na COVID-19 w dziewiątej dobie hospitalizacji (pobranie B2) do grupy kontrolnej.

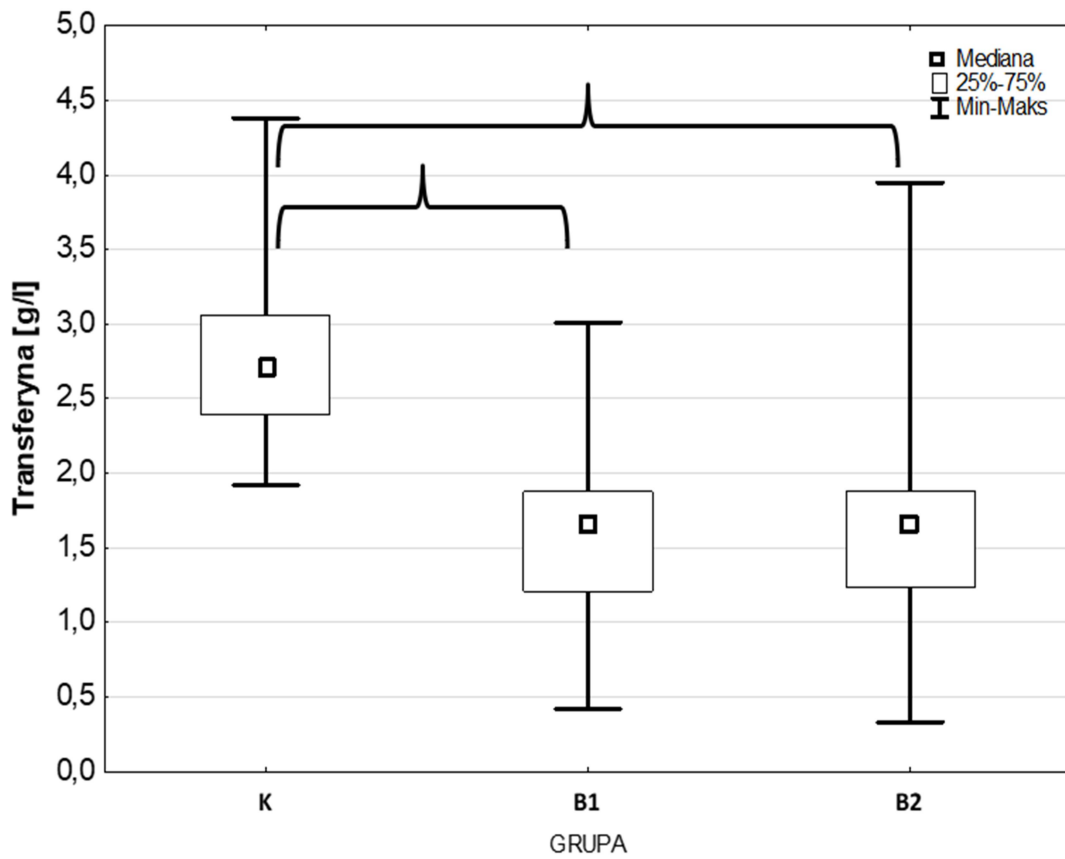
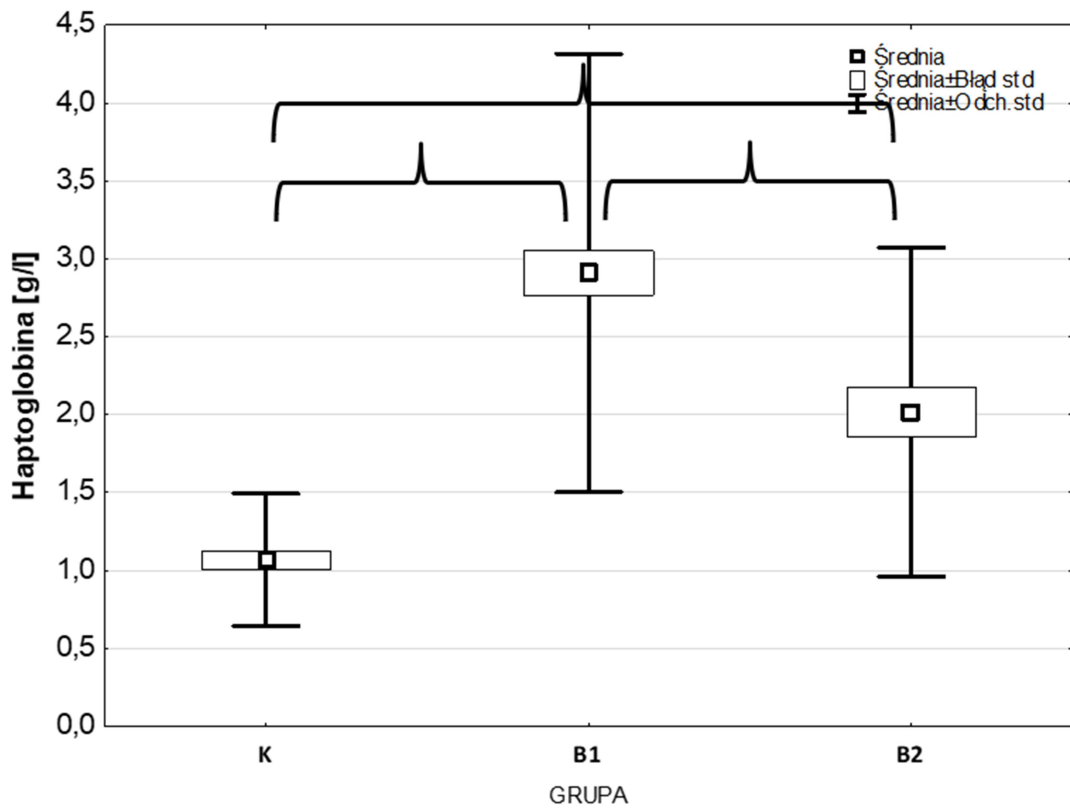
Zmienna	B1 vs K	B2 vs K	B2 vs B1
CRP	<0,001	<0,001	<0,001
Ferrytyna	<0,001	<0,001	0,015
Prokalcytonina	<0,001	<0,001	0,260
HAP*	<0,001	<0,001	<0,001
TRF	<0,001	<0,001	0,690
AGP*	<0,001	<0,001	<0,001
AAT	<0,001	0,089	0,002
5-sialo TRF	<0,001	<0,001	0,605
4-sialo TRF	0,325	0,011	0,334
3-sialo TRF	<0,001	<0,001	0,007
2-sialo TRF	0,349	0,895	0,040

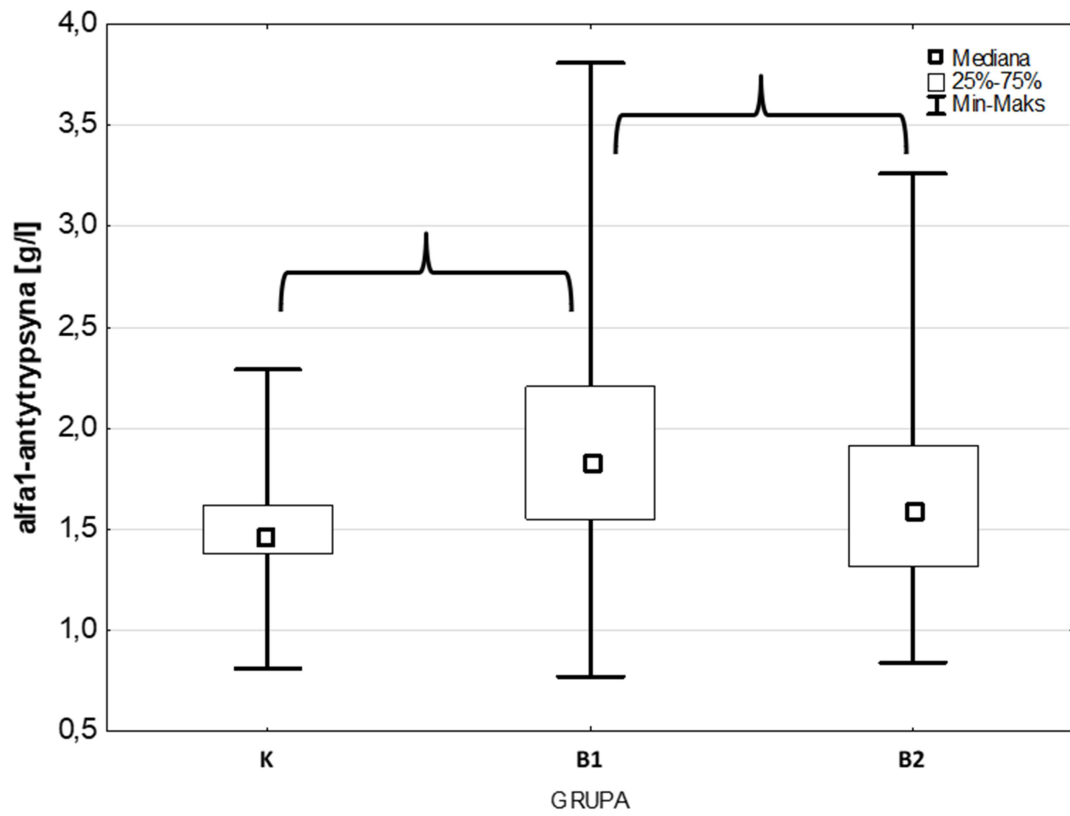
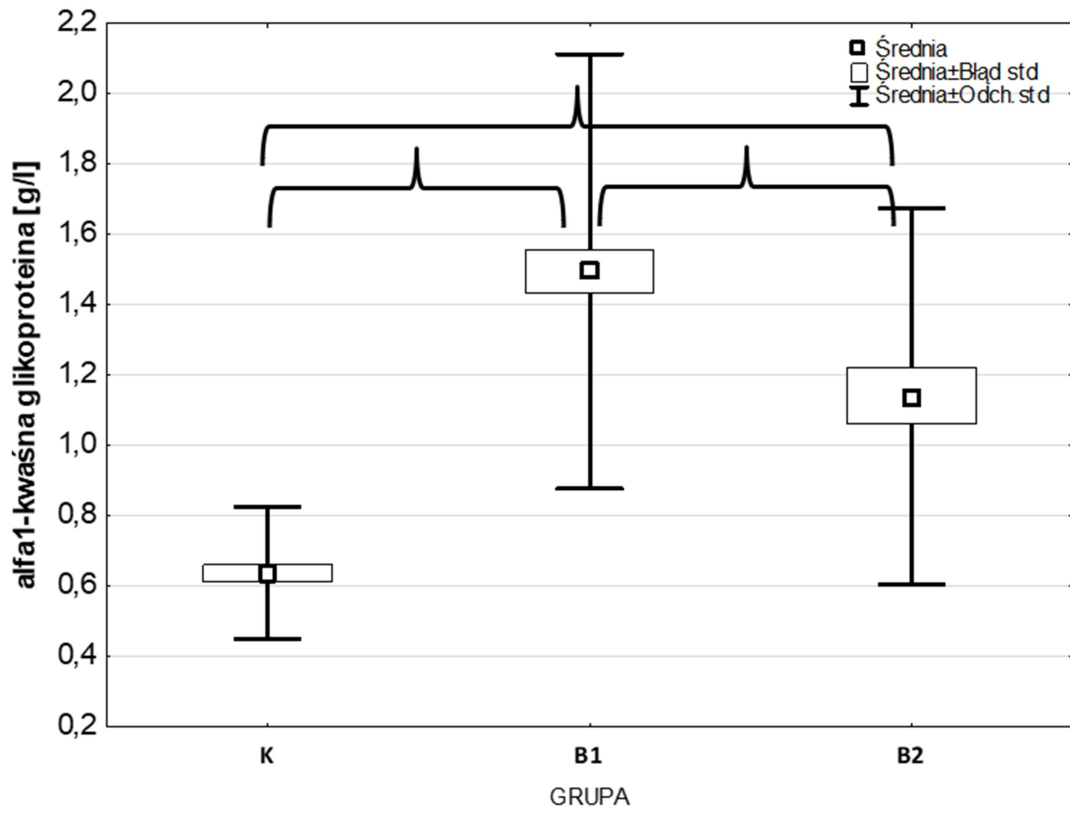
W tabeli podano wartości p. * porównania wykonano testem t-Studenta.

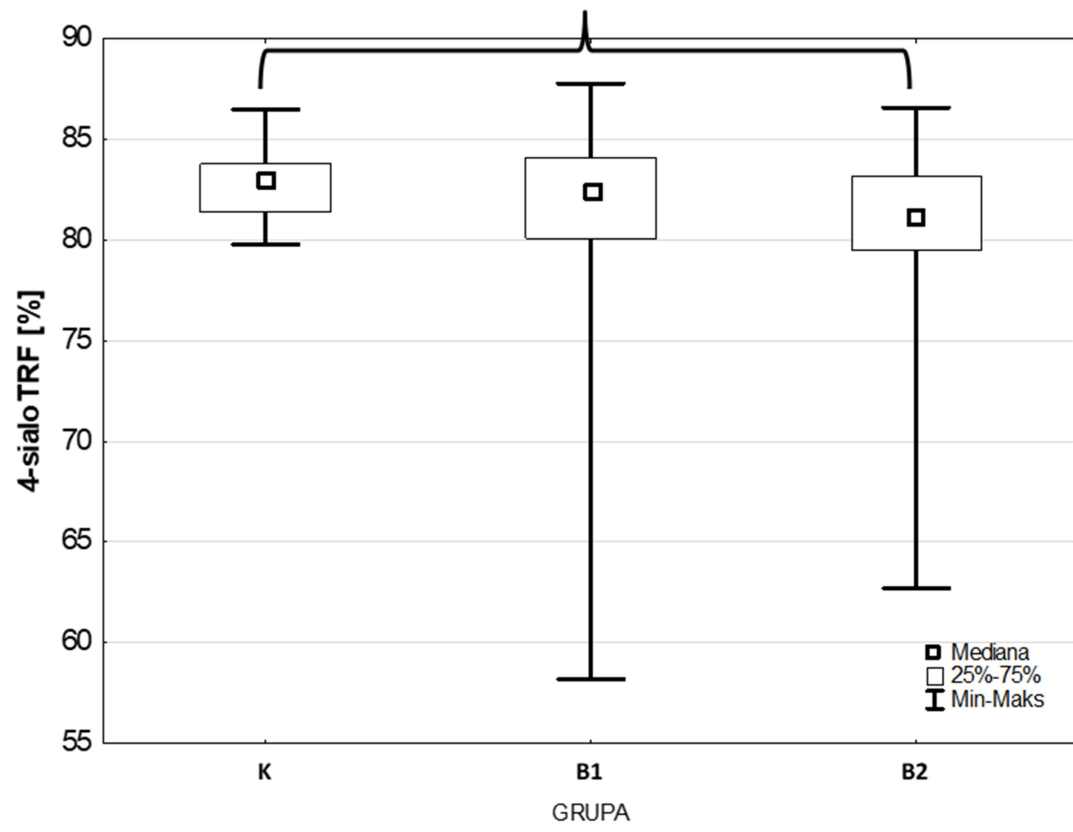
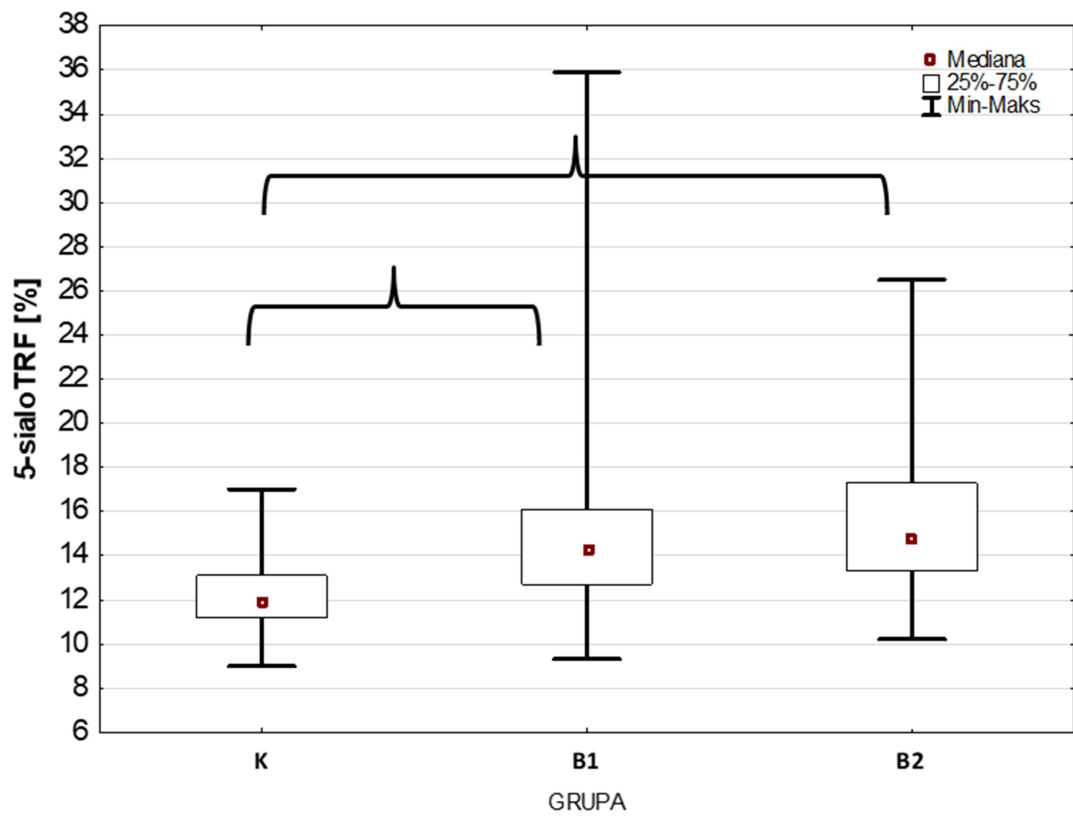
Rycina 6. Wartości białek ostrej fazy i izoform transferyny w badanych grupach oraz w grupie kontrolnej. Nawiasem zaznaczono różnice istotne statystycznie pomiędzy grupą chorych z COVID-19 przy przyjęciu (pobranie B1) i grupą chorych na COVID-19 w dziewiątej dobie hospitalizacji (pobranie B2) oraz w porównaniu do grupy kontrolnej.

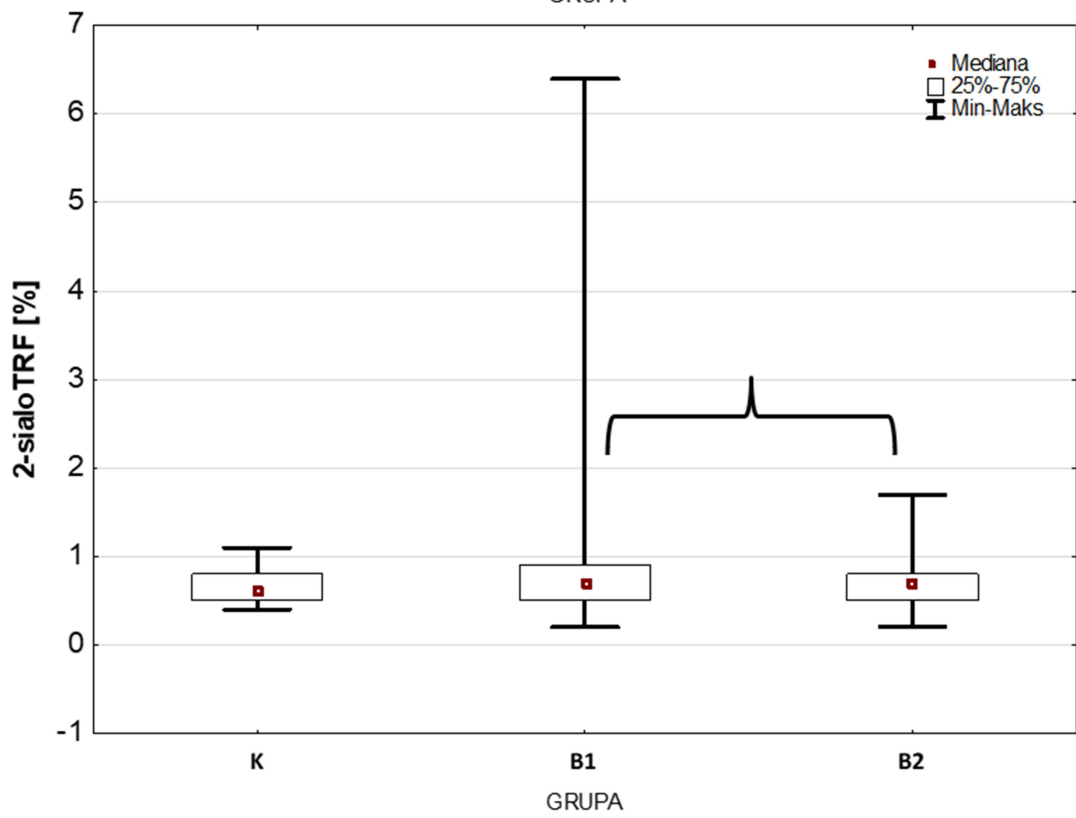
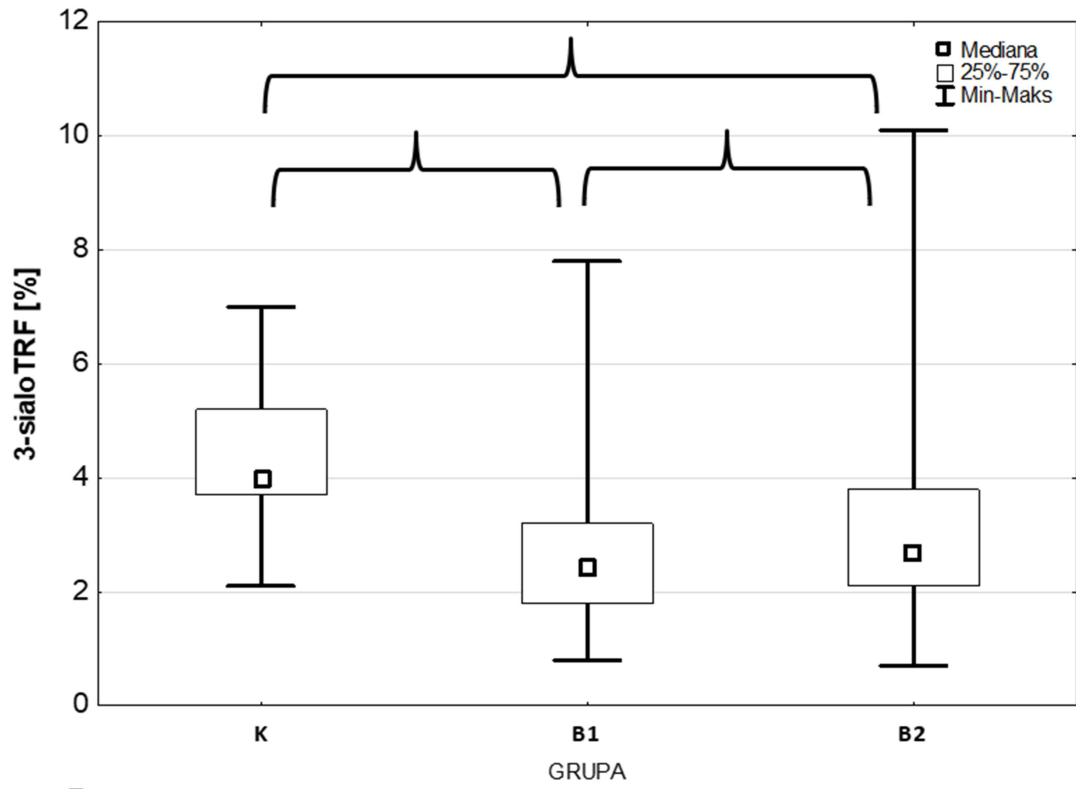












4.3 Białka ostrej fazy oraz izoformy transferyny według stopnia ciężkości choroby

Stężenia CRP, ferrytyny, prokalcytoniny oraz 5-sialo TRF były istotnie wyższe u pacjentów z krytycznym przebiegiem choroby w stosunku do przebiegu umiarkowanego, zaś stężenie transferyny istotnie niższe w krytycznym przebiegu choroby niż w przebiegu umiarkowanym (Tabela 20). Dodatkowo, dla CRP i prokalcytoniny występowała różnica stężenia między umiarkowanym i ciężkim przebiegiem choroby, stężenia w przebiegu ciężkim były istotnie wyższe niż w przebiegu umiarkowanym. W grupie chorych z COVID-19 przy wypisie (pobranie B2) jedyną zaobserwowaną różnicą była różnica stężenia CRP między krytycznym (wyższe stężenie) a umiarkowanym przebiegiem choroby (niższe stężenie), (Tabela 21). Pokazują to oryginalne tabele statystyczne z wynikami porównań wykonane testem ANOVA rang Kruskala-Wallisa (Tabela 20).

Pozostałe białka ostrej fazy i izoformy transferyny w grupie chorych z COVID-19 przy przyjęciu (pobranie B1) nie wykazały różnic zależnych od stopnia ciężkości choroby. Były to:

- Haptoglobina: Test Kruskala-Wallisa: $H(3, N=96) = 3,643808$ $p = 0,3026$
- AGP: Test Kruskala-Wallisa: $H(3, N=96) = 2,977261$ $p = 0,3951$
- AAT: Test Kruskala-Wallisa: $H(3, N=96) = 5,761629$ $p = 0,1238$
- 4-sialo TRF: Test Kruskala-Wallisa: $H(3, N=93) = 6,999026$ $p = 0,0719$
- 3-sialo TRF: Test Kruskala-Wallisa: $H(3, N=93) = 0,6117815$ $p = 0,8937$
- 2-sialo TRF: Test Kruskala-Wallisa: $H(3, N=95) = 1,184564$ $p = 0,7567$

Tabela 19. Analiza statystyczna wartości białek ostrej fazy i izoform transferyny w grupie badanej chorych z COVID-19 przy przyjęciu (pobranie B1) według stopnia ciężkości choroby (C - przebieg ciężki, U - przebieg umiarkowany, K – przebieg krytyczny, C/K – przebieg graniczny umiarkowany/krytyczny).

Zależna: Wartość p dla porównań wielokrotnych (dwustronnych); I-CRP, CRP Zmienna niezależna (grupująca): Stopień ciężkości infekcji (U-umiarkowany, C-ciężki, K-krytyczny) Test Kruskala-Wallis: H (3, N= 96) =19,46993 p =,0002 Warunek uwzględniania: V4="B1"				
	C R:66,107	U R:40,023	K R:61,938	C/K R:89,000
C		0,009	1,0	1,0
U	0,009		0,029	0,086
K	1,0	0,029		1,0
C/K	1,0	0,08	1,0	

Zależna: Wartość p dla porównań wielokrotnych (dwustronnych); I-Ferrytyna, Ferrytyna Zmienna niezależna (grupująca): Stopień ciężkości infekcji (U-umiarkowany, C-ciężki, K-krytyczny) Test Kruskala-Wallis: H (3, N= 87) =13,11942 p =,0044 Warunek uwzględniania: V4="B1"				
	C R:58,364	U R:37,569	K R:58,750	C/K R:33,500
C		0,074	1,0	1,0
U	0,074		0,018	1,0
K	1,0	0,018		1,0
C/K	1,0	1,0	1,0	

Zależna: Wartość p dla porównań wielokrotnych (dwustronnych); I-Prokalcytonina Prokalcytonina Zmienna niezależna (grupująca): Stopień ciężkości infekcji (U-umiarkowany, C-ciężki, K-krytyczny) Test Kruskala-Wallis: H (3, N= 94) =23,19887 p =,0000 Warunek uwzględniania: V4="B1"				
	C R:65,750	U R:37,790	K R:67,313	C/K R:62,250
C		0,0032	1,0	1,0

U	0,0032		0,0007	1,0
K	1,0	0,0007		1,0
C/K	1,0	1,0	1,0	

Zależna: TRF
Wartość p dla porównań wielokrotnych (dwustronnych); I-TRF, Zmienna niezależna (grupująca): Stopień ciężkości infekcji (U-umiarkowany, C-ciężki, K-krytyczny) Test Kruskala-Wallis: $H(3, N=96) = 19,06938$ $p = 0,0003$ Warunek uwzględniania: $V4 = "B1"$

	C R:41,429	U R:56,531	K R:23,781	C/K R:38,750
C		0,40	0,50	1,0
U	0,40		0,00015	1,0
K	0,50	0,00015		1,0
C/K	1,0	1,0	1,0	

Zależna: 5-sialoTRF
Wartość p dla porównań wielokrotnych (dwustronnych); I-5-sialoTRF, Zmienna niezależna (grupująca): Stopień ciężkości infekcji (U-umiarkowany, C-ciężki, K-krytyczny) Test Kruskala-Wallis: $H(3, N=93) = 10,22772$ $p = 0,0167$ Warunek uwzględniania: $V4 = "B1"$

	C R:44,923	U R:42,355	K R:66,438	C/K R:49,000
C		1,0	0,20	1,0
U	1,0		0,009	1,0
K	0,19	0,009		1,0
C/K	1,0	1,0	1,0	

Tabela 20. Analiza statystyczna stężenia CRP w grupie chorych z COVID-19 w 9 dobie hospitalizacji z uwzględnieniem stopnia ciężkości choroby.

Zależna: CRP		Wartość p dla porównań wielokrotnych (dwustronnych); I-CRP, Zmienna niezależna (grupująca): Stopień ciężkości infekcji (U- umiarkowany, C-ciężki, K-krytyczny) Test Kruskala-Wallisa: H (3, N= 76) =12,58479 p =,0056 Warunek uwzględniania: V4="B2"			
	C R:47,538	U R:33,536	K R:62,000	C/K R:58,000	
C		0,24	1,0	1,0	
U	0,24		0,016	1,0	
K	1,0	0,016165		1,0	
C/K	1,0	1,0	1,0		

4.4 Białka ostrej fazy oraz izoformy transferyny w zależności od obecności burzy cytokinowej

Spośród białek ostrej fazy tylko haptoglobina i AGP nie wykazały istotnych statystycznie różnic w zależności od obecności burzy cytokinowej (Tabela 22). Spośród tych, które się istotnie różniły, odnotowano istotne zwiększenie stężenia białek ostrej fazy u chorych z burzą cytokinową, z wyjątkiem transferyny, której stężenie było wyższe u pacjentów bez burzy cytokinowej (Tabela 23 i Tabela 24). Stężenia wszystkich z izoform transferyny nie różniły się istotnie ze względu na obecność burzy cytokinowej.

Tabela 21. Analiza statystyczna wartości białek ostrej fazy w grupie chorych z COVID-19 pobrane przy przyjęciu (B1) w zależności od obecności burzy cytokinowej.

Zmienna	Wartość Z w teście U Manna-Whitneya	Wartość P
I-CRP	4,68836	0,000003
I-Ferrytyna	3,68695	0,000227
I-Prokalcytonina	5,29970	0,000000

I-HAP	1,35212	0,176339
I-TRF	-4,60409	0,000004
I-AGP	0,75841	0,448206
I-AAT	2,99917	0,002707
I-5-sialoTRF	1,33435	0,182089
I-4-sialoTRF	-0,90574	0,365073
I-3-sialoTRF	0,44074	0,659401
I-2-sialoTRF	-0,31265	0,754545

Wartości stężeń białek ostrej fazy oraz izoform transferyny w grupie chorych z COVID-19 przy przyjęciu (pobranie B1) przedstawiają Tabela 23 (burza cytokinowa obecna) i Tabela 24 (bez burzy cytokinowej).

Tabela 22. Stężenia białek ostrej fazy i izoform transferyny w grupie chorych z COVID-19 przy przyjęciu (pobranie B1) z burzą cytokinową.

Zmienna	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Dolny Kwartyl	Górny Kwartyl	Odch. standard
CRP [mg/l]	129,7	112,3	14,1	452,0	43,4	171,0	102,3
Ferrytyna [μg/l]	1525,7	1404,0	200,0	4271,0	532,0	2253,0	1135,4
Prokalcytonina [ng/ml]	1,27	0,46	0,06	6,02	0,21	1,72	1,79
HAP [g/l]	3,04	3,11	0,10	5,50	2,07	4,22	1,46
TRF [g/l]	1,29	1,20	0,42	3,01	1,05	1,66	0,50
AGP [g/l]	1,53	1,62	0,21	2,97	1,18	1,89	0,61
AAT [g/l]	2,13	2,02	0,77	3,81	1,75	2,44	0,65
5-sialoTRF [%]	15,20	14,65	9,30	29,60	13,00	16,75	3,59

4-sialoTRF [%]	81,05	81,90	61,30	86,0	79,35	83,95	4,65
3-sialoTRF [%]	2,92	2,50	0,90	7,80	1,60	3,55	1,66
2-sialoTRF [%]	0,78	0,70	0,30	2,60	0,50	0,80	0,42

Tabela 23. Stężenia białek ostrej fazy i izoform transferyny w grupie chorych z COVID-19 przy przyjęciu (pobranie B1) bez burzy cytokinowej.

Zmienna	Średni a	Median a	Minimum	Maksimum	Dolny Kwarty l.	Górny Kwarty l.	Odch.st d
CRP [mg/l]	47,5	29,8	1,8	277,0	10,7	72,0	51,6
Ferrytyna [µg/l]	727,53	391,00	17,0	4271,0	200,5	819,5	894,67
Prokalcytonina [ng/ml]	0,24	0,09	0,02	6,02	0,05	0,19	0,77
HAP [g/l]	2,80	2,46	0,10	6,54	1,71	3,78	1,37
TRF [g/l]	1,77	1,77	0,42	2,84	1,50	1,97	0,48
AGP [g/l]	1,47	1,35	0,37	3,39	1,05	1,93	0,62
AAT [g/l]	1,78	1,77	0,83	3,05	1,49	1,96	0,42
5-sialoTRF [%]	14,5	14,1	9,8	35,9	12,4	15,5	3,7
4-sialoTRF [%]	81,8	82,5	58,2	87,8	80,9	84,1	4,2
3-sialoTRF [%]	2,7	2,3	0,8	7,8	2	3,1	1,4
2-sialoTRF [%]	0,88	0,7	0,2	6,4	0,6	0,9	0,83

W grupie chorych na COVID-19 przy wypisie (pobranie B2) tylko stężenie prokalcytoniny różniło się istotnie w zależności od obecności burzy cytokinowej i było istotnie wyższe (mediana:0,33, zakres: 0,03-6,60) niż u pacjentów bez burzy cytokinowej (mediana: 0,067, zakres: 0,025-3,62), ($Z=2,807$, $p=0,005$).

4.5 Białka ostrej fazy oraz izoform transferyny w zależności od stosowanej tlenoterapii/respiratoterapii

Analiza wykazała wpływ intensywności tlenoterapii/respiratoterapii na stężenie białek ostrej fazy oraz brak wpływu na stężenie izoform transferyny (Tabela 25). Główną uchwyconą zmianą była różnica stężenia białek ostrej fazy między tlenoterapią o wysokim przepływie tlenu i respiratoterapią (W i R) a brakiem wspomagania leczenia tlenem (B). Taką zmianę wykazano dla CRP, ferrytyny, prokalcytoniny, transferyny i $\alpha 1$ -kwaśnej glikoproteiny. Dla ferrytyny i $\alpha 1$ -kwaśnej glikoproteiny, dodatkowo wykazano różnice między niskim przepływem tlenu (N) i brakiem wspomagania (B). Dla haptoglobiny jedyna różnica stężenia wystąpiła między respiratoroterapią (R) a brakiem wspomagania oddychania tlenem (B). Pomimo, że analiza wariancji wykazała zmienność stężenia 5- sialo TRF zależną od zastosowanej terapii tlenowej ($P=0,0498$), to analiza porównań dwustronnych już nie wskazała na istnienie takich różnic.

Tabela 24. Analiza statystyczna wartości białek ostrej fazy oraz izoform transferyny w zależności od stosowanej tlenoterapii/respiratoterapii w grupie chorych z COVID-19 przy przyjęciu (pobranie B1), (N – niski przepływ tlenu, W – wysoki przepływ tlenu, R – respiratoterapia, B – bez w/w).

Zależna: Wartość p dla porównań wielokrotnych (dwustronnych); I-CRP, CRP Zmienna niezależna (grupująca): Tlenoterapia (N-niski, W-wysoki, R-respiratoterapia) Test Kruskala-Wallis: $H(3, N= 96) =23,11368$ $p =,0000$ Warunek uwzględniania: $V4="B1"$				
	N R:46,302	W R:59,522	R R:73,850	B R:27,875
N		0,40	0,03	0,09
W	0,40		1,0	0,001
R	0,03	1,00		0,0001
B	0,00	0,001	0,0001	

Zależna: Ferrytyna **Wartość p dla porównań wielokrotnych (dwustronnych); I-Ferrytyna, Zmienna niezależna (grupująca): Tlenoterapia (N-niski, W-wysoki, R-respiratoterapia) Test Kruskala-Wallis: H (3, N= 87) =16,90399 p =,0007 Warunek uwzględniania: V4="B1"**

	N R:45,987	W R:53,026	R R:57,450	B R:24,925
N		1,00	1,00	0,015
W	1,00		1,00	0,003
R	1,00	1,00		0,005
B	0,015	0,003	0,005	

Zależna: Prokalcytonina **Wartość p dla porównań wielokrotnych (dwustronnych); I-Prokalcytonina, Zmienna niezależna (grupująca): Tlenoterapia (N-niski, W-wysoki, R-respiratoterapia) Test Kruskala-Wallis: H (3, N= 94) =17,97013 p =,0004 Warunek uwzględniania: V4="B1"**

	N R:48,049	W R:51,609	R R:72,450	B R:29,175
N		1,0	0,08	0,07
W	1,00		0,26	0,04
R	0,08	0,26		0,0002
B	0,07	0,04	0,0002	

Zależna: HAP **Wartość p dla porównań wielokrotnych (dwustronnych); I-HAP, Zmienna niezależna (grupująca): Tlenoterapia (N-niski, W-wysoki, R-respiratoterapia) Test Kruskala-Wallis: H (3, N= 96) =11,69038 p =,0085 Warunek uwzględniania: V4="B1"**

	N R:49,674	W R:54,043	R R:64,550	B R:31,575
N		1,0	0,78	0,098
W	1,0		1,0	0,05
R	0,77	1,0		0,013

B	0,01	0,05	0,013
---	------	------	-------

Zależna: Wartość p dla porównań wielokrotnych (dwustronnych); I-TRF, TRF
Zmienna niezależna (grupująca): Tlenoterapia (N-niski, W-wysoki, R-respiratoterapia) **Test Kruskala-Wallisa: H (3, N= 96) =13,23496 p =,0042** Warunek uwzględniania: V4="B1"

	N R:47,302	W R:41,478	R R:33,150	B R:66,825
N		1,0	0,89	0,06
W	1,0		1,0	0,017
R	0,89	1,0		0,011
B	0,06	0,017	0,011	

Zależna: Wartość p dla porównań wielokrotnych (dwustronnych); I-AGP, AGP
Zmienna niezależna (grupująca): Tlenoterapia (N-niski, W-wysoki, R-respiratoterapia) **Test Kruskala-Wallisa: H (3, N= 96) =11,83878 p =,0080** Warunek uwzględniania: V4="B1"

	N R:50,767	W R:53,913	R R:62,150	B R:30,575
N		1,0	1,0	0,044
W	1,0		1,0	0,037
R	1,0	1,0		0,02
B	0,04	0,037	0,02	

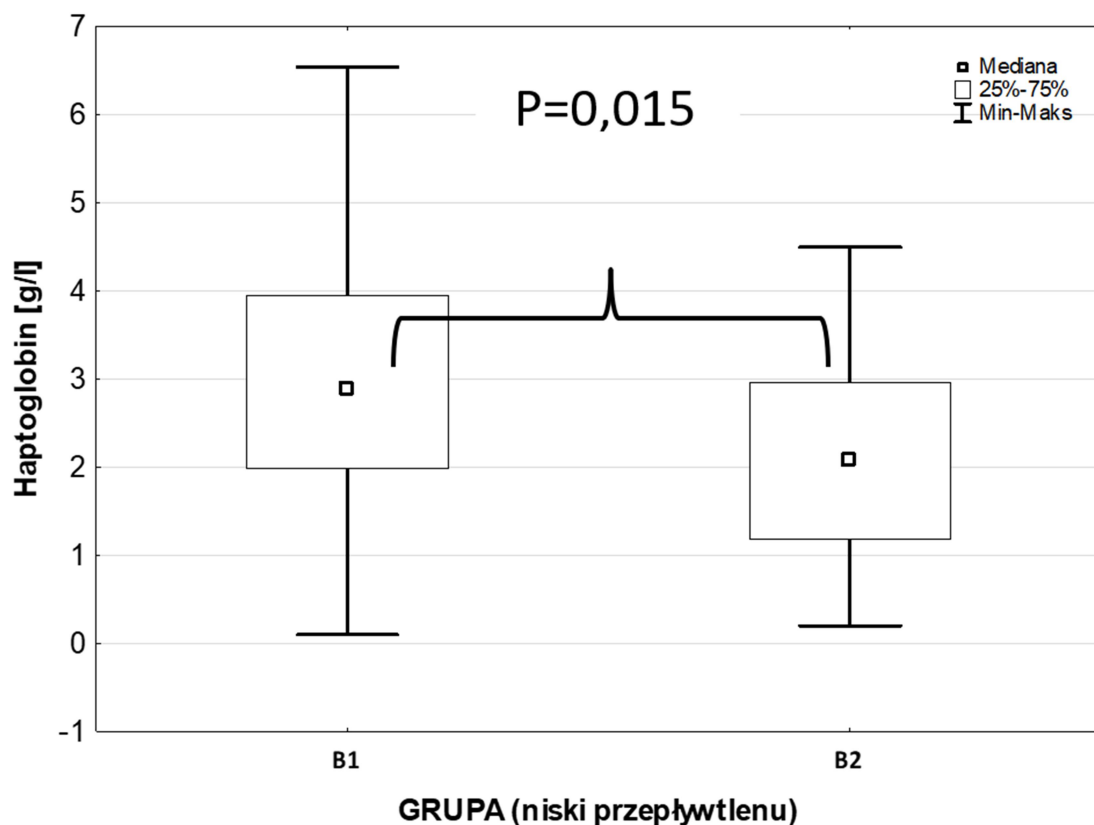
Zależna: Wartość p dla porównań wielokrotnych (dwustronnych); I-5-sialoTRF
Zmienna niezależna (grupująca): Tlenoterapia (N-niski, W-wysoki, R-respiratoterapia) **Test Kruskala-Wallisa: H (3, N= 93) =7,822848 p =,0498** Warunek uwzględniania: V4="B1"

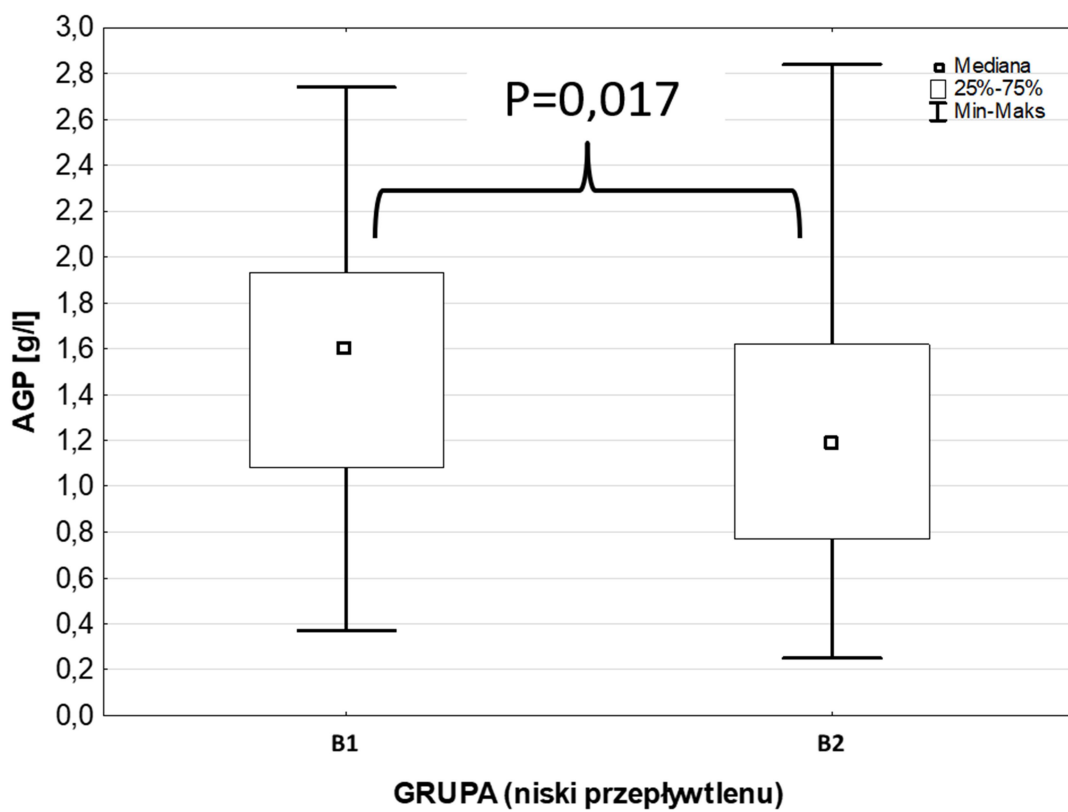
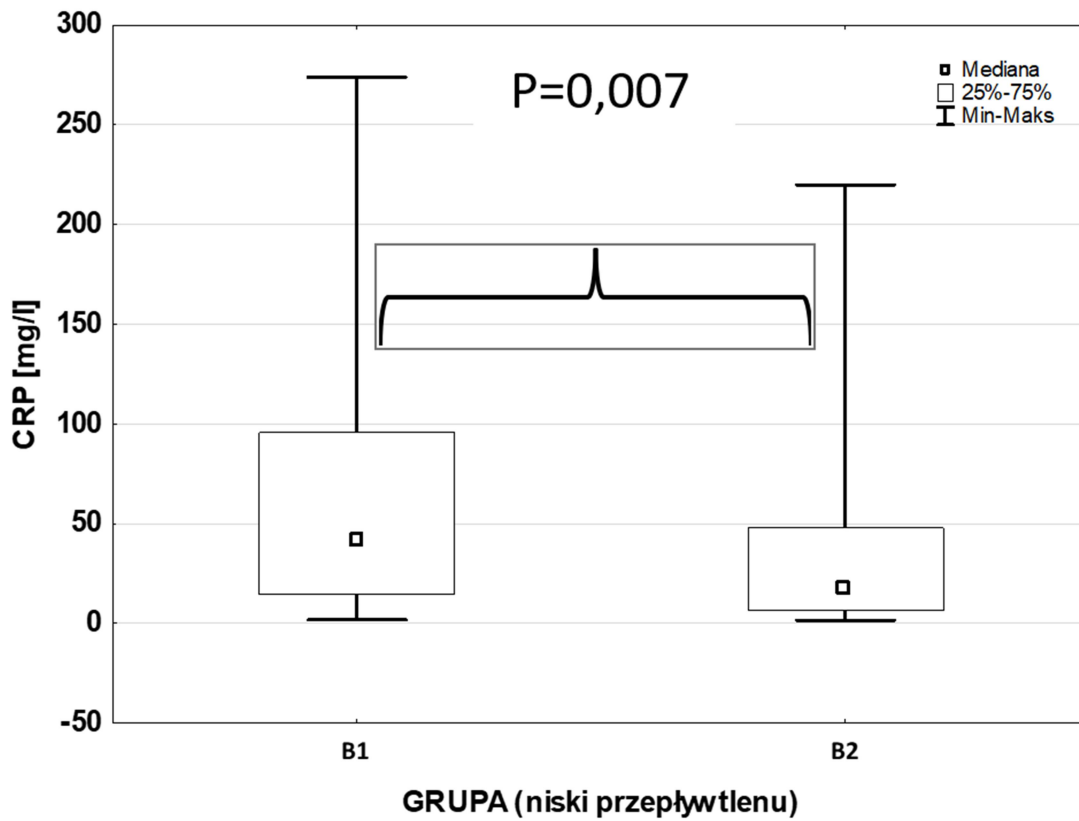
	N R:51,232	W R:45,750	R R:58,900	B R:33,750
N		1,0	1,0	0,1

W	1,0		1,0	0,90
R	1,0	1,0		0,097
B	0,1	0,9	0,09	

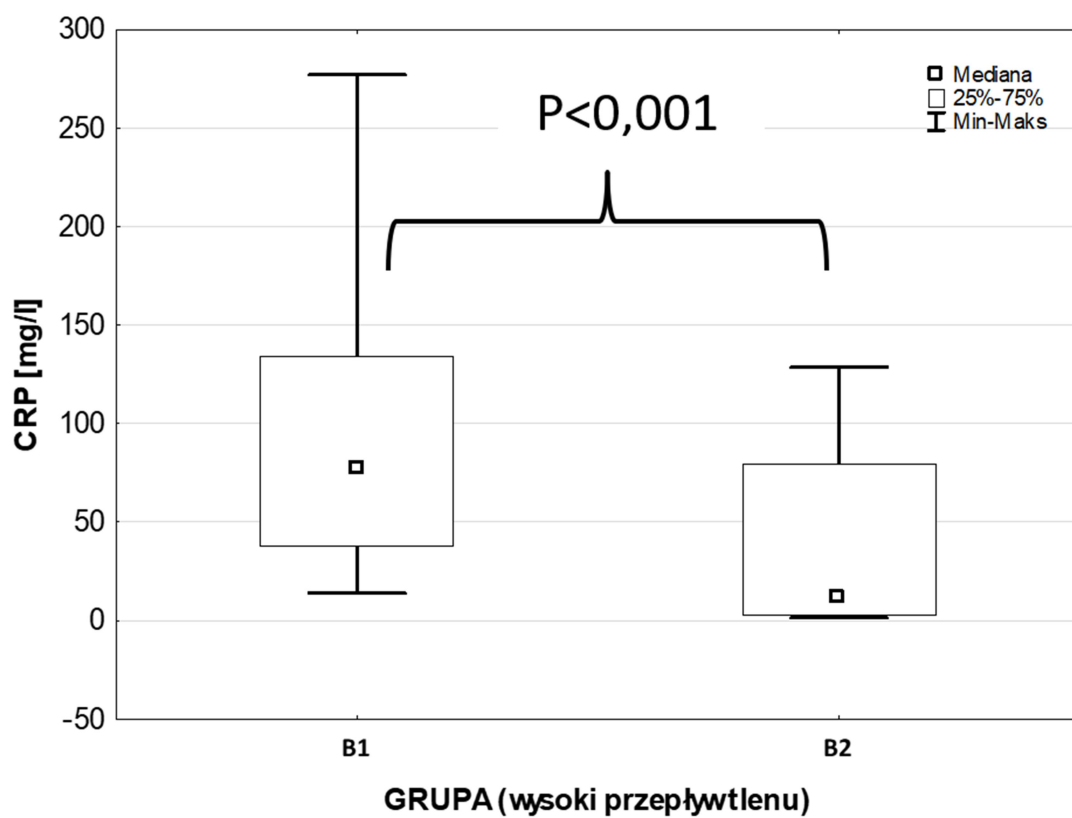
Na poniższych rycinach przedstawiono zmianę stężenia białek ostrej fazy w zależności od zastosowanej tlenoterapii. Chorzy wymagający tlenoterapii o niskim przepływie tlenu mieli niższe wartości CRP, haptoglobiny i AGP (Ryc. 7). Wyższe stężenia białek ostrej fazy CRP, haptoglobiny, AGP, PCT i AAT wykazano u chorych z tlenoterapią o wysokim przepływie tlenu (Ryc. 8). Nie zanotowano zmian stężenia białek ostrej fazy u chorych z respiratoterapią. Nie stwierdzono istotnych zmian stężenia izoform transferyny w różnych typach tlenoterapii.

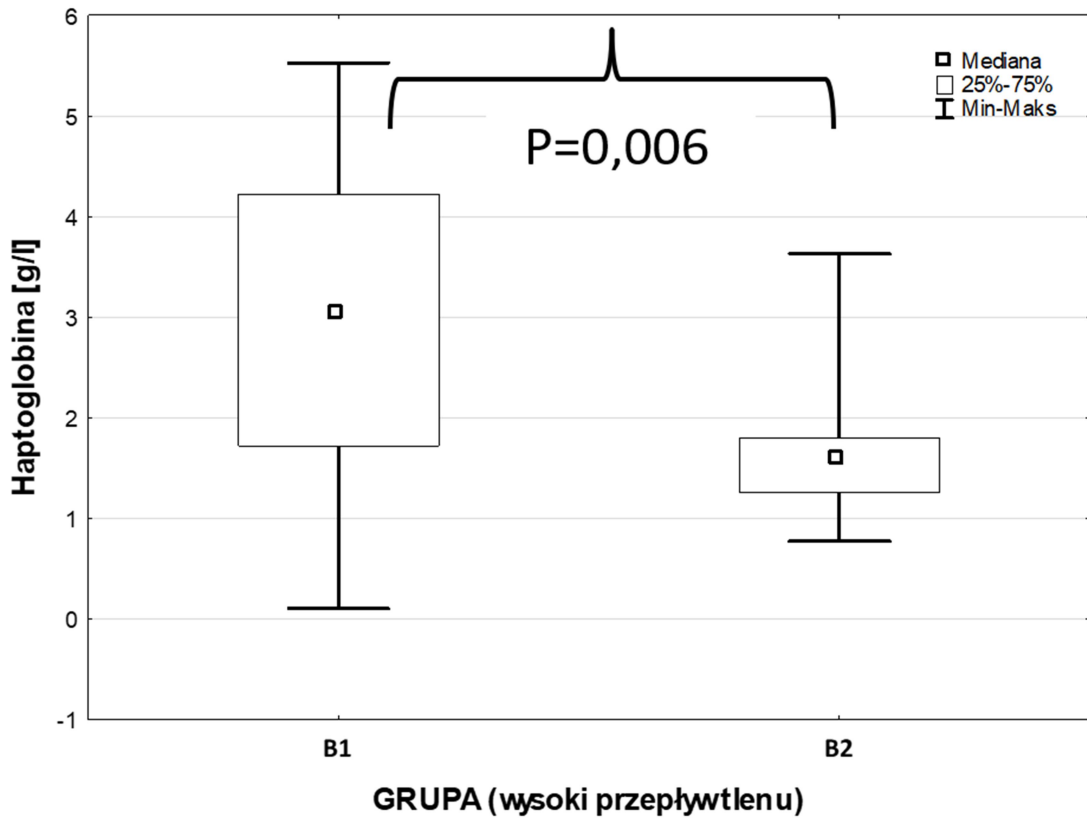
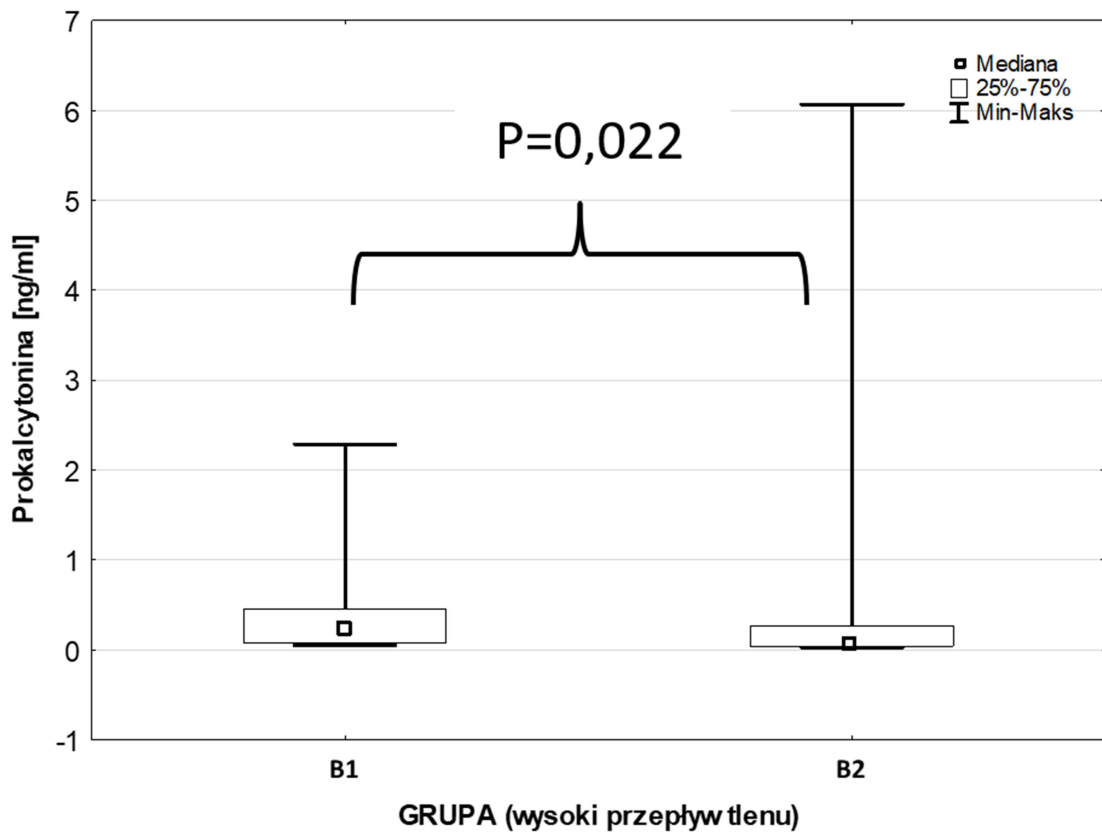
Rycina 7. Stężenia białek ostrej fazy u chorych z COVID-19 w pierwszej dobie (pobranie B1) i dziewiątej dobie hospitalizacji (pobranie B2) u których stosowano tlenoterapię o niskim przepływie tlenu.

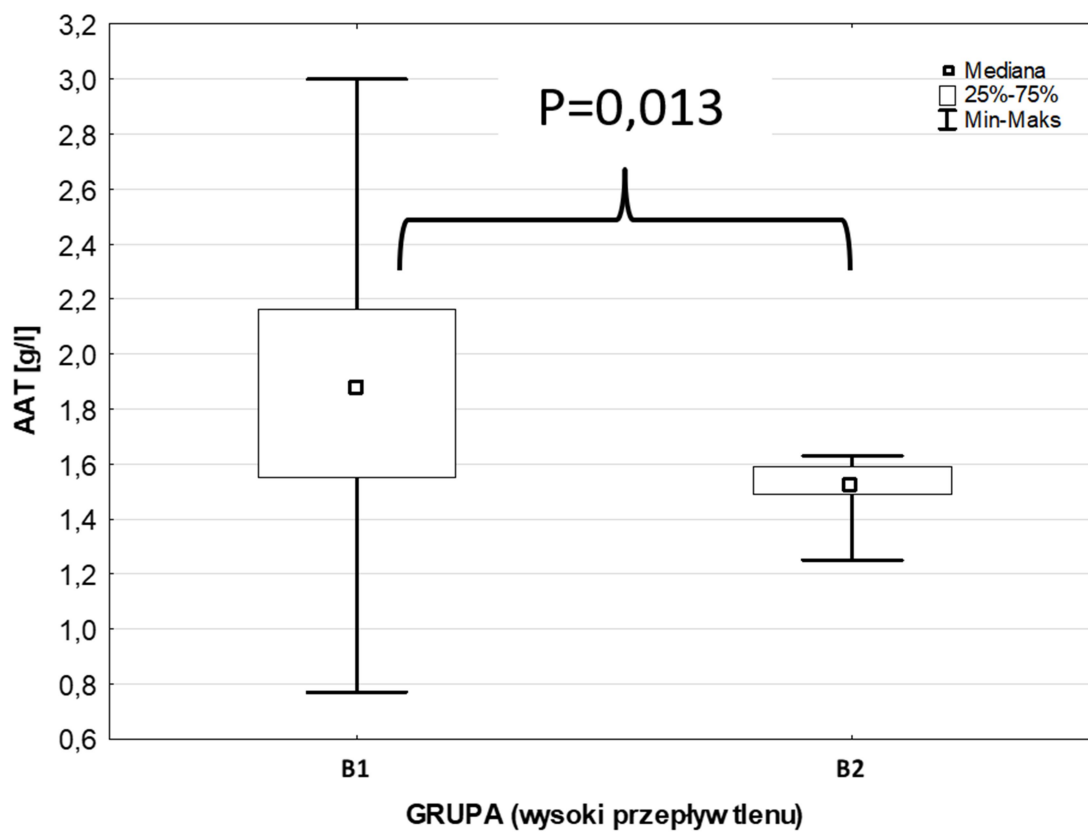
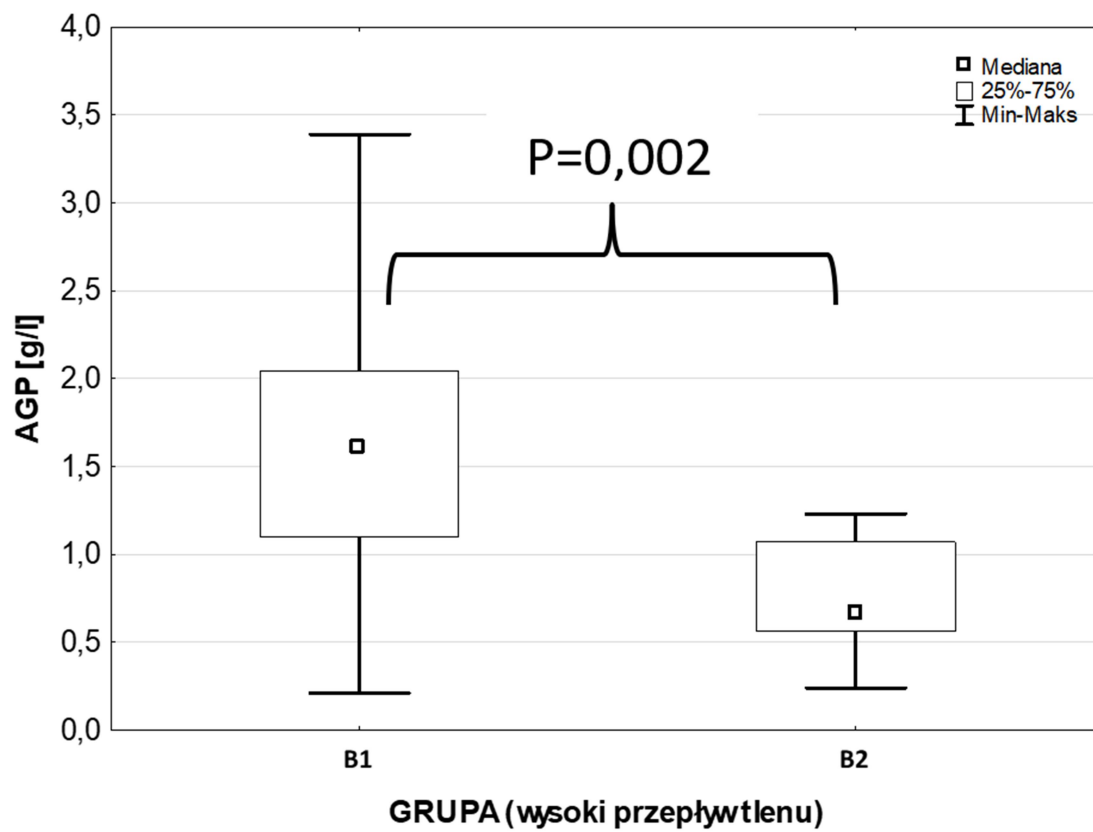




Rycina 8. Stężenia białek ostrej fazy u chorych z COVID-19 w pierwszej dobie (pobranie B1) i dziewiątej dobie hospitalizacji (pobranie B2) u których stosowano tlenoterapię o wysokim przepływie tlenu.







Analiza statystyczna dla białek, które nie wykazały zmian zależnych od tlenoterapii/respiratoterapii:

- Alfa1-antytrypsyna: Test Kruskala-Wallisa (H (3, N= 96) =7,278328 p =0,0635
- 4-sialo TRF: Test Kruskala-Wallisa: H (3, N= 93) =3,429201 p =0,3301
- 3-sialo TRF: Test Kruskala-Wallisa: H (3, N= 93) =3,540782 p =0,3155
- 2-sialo TRF: Test Kruskala-Wallisa: H (3, N= 95) =0,2327732 p =0,9721

4.6 Białka ostrej fazy oraz izoform transferyny w zależności od obecności chorób przewlekłych

Analiza wykazała zależność stężenia prokalcytoniny, 5-sialo TRF i 4-sialo TRF od obecności chorób przewlekłych (Tabela 26). Przy przyjęciu u chorych z COVID-19 (pobranie B1) stężenie prokalcytoniny było istotnie niższe u pacjentów z towarzyszącą chorobą przewlekłą w porównaniu do tych bez dodatkowych chorób (Tabela 27 i Tabela 28). Stężenie 5-sialo TRF było istotnie niższe, a stężenie 4-sialo TRF istotnie wyższe u pacjentów z dodatkową chorobą przewlekłą w porównaniu do tych bez chorób współistniejących.

Tabela 25. Porównanie stężenia białek ostrej fazy i izoform transferyny w zależności od obecności choroby przewlekłej (pobranie B1).

Zmienna	Wartość Z w teście U Manna-Whitneya	Wartość p
CRP [mg/l]	0,20947	0,834083
Ferrytyna [μg/l]	-0,38159	0,702768
Prokalcytonina [ng/ml]	2,14538	0,031923
HAP [g/l]	-0,96434	0,334874
TRF [g/l]	-1,22124	0,221996
AGP [g/l]	-0,86949	0,384580

AAT [g/l]	0,88925	0,373869
5-sialoTRF [%]	2,03605	0,041746
4-sialoTRF [%]	-2,49634	0,012549
3-sialoTRF [%]	1,12792	0,259356
2-sialoTRF [%]	0,38831	0,697786

Tabela 26. Wartości białek ostrej fazy i izoform transferyny w grupie chorych z COVID-19 przy przyjęciu (pobranie B1) z obecną chorobą przewlekłą.

Zmienne	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Dolny Kwartyl.	Górny Kwartyl.	Odch.std
CRP [mg/l]	73,4	40,7	3,6	452,0	20,2	106,1	79,9
Ferrytyna [μg/l]	1011,2	606,0	17,0	4271,0	272,5	1428,0	1053,4
Prokalcytonina [ng/ml]	0,47	0,12	0,02	6,02	0,07	0,33	1,14
HAP [g/l]	2,99	2,68	0,10	6,54	2,00	3,98	1,39
TRF [g/l]	1,61	1,66	0,50	3,01	1,22	1,90	0,52
AGP [g/l]	1,49	1,54	0,21	2,57	1,09	1,97	0,56
AAT [g/l]	1,86	1,81	0,77	3,0	1,55	2,1	0,45
5-sialoTRF [%]	14,55	13,80	9,80	29,60	12,70	15,60	3,27
4-sialoTRF [%]	81,95	83,10	61,30	87,80	80,80	84,30	4,04
3-sialoTRF [%]	2,62	2,30	0,80	7,80	1,70	3,10	1,44
2-sialoTRF [%]	0,82	0,70	0,20	2,60	0,60	0,90	0,46

Tabela 27. Wartości białek ostrej fazy i izoform transferyny w grupie chorych z COVID-19 przy przyjęciu (pobranie B1) bez choroby przewlekłej.

Zmienna	Średnia	Median	Minimu	Maksimu	Dolny Kwarty	Górny Kwarty	Odch.std
		a	m	m			d

					1.	1.	
CRP [mg/l]	74,4	40,3	3,1	361,4	15,0	120,0	82,7
Ferrytyna [µg/l]	911,9	583,0	41,0	4271,0	194,5	1342,5	1005,9
Prokalcytonina [ng/ml]	0,9	0,2	0,02	6,02	0,05	0,5	1,7
HAP [g/l]	2,77	2,52	0,10	6,32	1,59	3,84	1,53
TRF [g/l]	1,6	1,7	0,4	2,8	1,2	1,8	0,55
AGP [g/l]	1,48	1,36	0,37	3,39	1,01	1,79	0,72
AAT [g/l]	1,95	1,83	0,83	3,81	1,49	2,29	0,62
5-sialoTRF [%]	14,99	14,95	9,30	35,90	12,20	16,20	4,57
4-sialoTRF [%]	81,35	81,60	58,20	86,00	80,30	84,00	4,90
3-sialoTRF [%]	2,95	2,60	1,00	7,80	1,80	4,0	1,48
2-sialoTRF [%]	0,7	0,7	0,2	1,9	0,5	0,8	0,3

4.7 Białka ostrej fazy oraz izoformy transferyny w zależności od statusu szczepienia pacjentów przeciwko SARS-CoV-2

Analiza nie wykazała różnic w stężeniu białek ostrej fazy i izoform transferyny w zależności od statusu szczepienia u 29 pacjentów (Tabela 29). Zbyt mała grupa osób szczepionych (łącznie 29 pacjentów było zaszczepionych w tym: 8 chorych trzema dawkami, 13 chorych dwoma dawkami, 8 chorych jedną dawką) nie pozwoliła na wyodrębnienie reprezentatywnych podgrup w zależności od liczby szczepień. Dlatego analiza obejmuje całą grupę pacjentów bez względu na liczbę szczepień bez względu na liczbę przyjętych dawek szczepionki.

Tabela 28. Porównanie stężenia białek ostrej fazy i izoform transferyny w zależności od statusu szczepienia pacjentów.

Zmienna	Wartość Z w teście U Manna-Whitneya	Wartość p
CRP	0,25403	0,799469
Ferrytyna	0,65472	0,512647
Prokalcytonina	-0,53067	0,595647
HAP	0,88287	0,377305
TRF	-0,04164	0,966782
AGP	0,70380	0,481558
AAT	-0,52889	0,596881
5-sialoTRF	-0,71604	0,473968
4-sialoTRF	0,96774	0,333176
3-sialoTRF	-1,20642	0,227658
2-sialoTRF	0,98777	0,323265

4.8 Białka ostrej fazy oraz izoformy transferyny w zależności od losów pacjenta

Wyższe stężenie prokalcytoniny i 5-sialo TRF oraz niższe stężenie transferyny i 4-sialo TRF stwierdzono u chorych z COVID-19, którzy zmarli w trakcie hospitalizacji w porównaniu do pacjentów, którzy zostali wypisani do domu (pobranie B1), (Tabela 30).

Tabela 29. Porównanie wyników stężeń białek ostrej fazy i izoform transferyny u pacjentów z COVID-19, którzy zmarli w trakcie hospitalizacji wobec chorych których wypisano z oddziału (pobranie B1).

Zmienne	Wartość Z w teście U Manna-Whitneya	Wartość p
CRP	-1,64648	0,099667
Ferrytyna	-1,64028	0,100947
Prokalcytonina	-2,95085	0,003169
HAP	0,59037	0,554943
TRF	3,59470	0,000325
AGP	0,00656	0,994766
AAT	0,22959	0,818412
5-sialoTRF	-2,58705	0,009681
4-sialoTRF	2,74200	0,006107
3-sialoTRF	-1,92681	0,054004
2-sialoTRF	1,73492	0,082756

Stężenie CRP, prokalcytoniny, haptoglobiny, α 1-kwaśnej glikoproteiny i α 1-anty trypsyny było istotnie wyższe u pacjentów przekazanych na OIT niż u pacjentów pozostających na oddziale (pobranie B2), podczas gdy stężenie transferyny było istotnie niższe (Tabela 31).

Tabela 30. Porównanie wyników białek ostrej fazy i izoform transferyny u pacjentów przekazanych na OIT wobec chorych nie wymagających leczenia w OIT (pobranie B2).

Zmienna	Wartość Z w teście U Manna-Whitneya	Wartość p
CRP	-3,15550	0,001602
Ferrytyna	-1,68567	0,091860
Prokalcytonina	-2,36240	0,018158
HAP	-2,73117	0,006311
TRF	1,99823	0,045693
AGP	-2,18339	0,029008
AAT	-2,16025	0,030754
5-sialoTRF	0,40622	0,684584
4-sialoTRF	-0,89706	0,369687
3-sialoTRF	0,98169	0,326254
2-sialoTRF	0,86019	0,389685

Stężenie transferyny było istotnie niższe a stężenie 5 - sialo transferyny istotnie wyższe u pacjentów którzy zmarli w trakcie hospitalizacji niż u chorych wypisanych ze szpitala (Tabela 32 i Tabela 35). W tabeli 33 i tabeli 34 przedstawiono wyniki białek ostrej fazy i izoform transferyny w grupie pacjentów z COVID-19, którzy zostali wypisani z oddziału oraz zmarli w pobraniu przy przyjęciu (pobranie B1).

Tabela 31 Analiza wyników białek ostrej fazy i izoform transferyny u pacjentów którzy zmarli w trakcie hospitalizacji w porównaniu do pacjentów wypisanych z oddziału.

Zmienna	Wartość Z w teście U Manna-Whitneya	Wartość p
CRP	-1,00139	0,316640
Ferrytyna	-1,22687	0,219873
Prokalcytonina	-1,95007	0,051168
HAP	1,10680	0,268382

TRF	2,58253	0,009808
AGP	0,21082	0,833029
AAT	0,47434	0,635257
5-sialoTRF	-2,05548	0,039833
4-sialoTRF	1,10680	0,268382
3-sialoTRF	-0,57975	0,562083
2-sialoTRF	1,63384	0,102293

Tabela 32. Stężenie prokalcytoniny i transferyny u chorych z COVID-19, którzy zostali wypisani z oddziału (P) lub zmarli w trakcie hospitalizacji (N).

Test	Mediana	Minimum	Maximum
PCT [ng/ml], (P)	0.10	0.02	6.02
PCT [ng/ml], (N)	0.47	0.03	6.02
Transferyna [g/l] (P)	1.71	0.69	3.01
Transferyna [g/l], (N)	0.94	0.42	2.84

P –pacjenci wypisani z oddziału, N –pacjenci zmarli w trakcie hospitalizacji

Tabela 33. Wyniki białek ostrej fazy i izoform transferyny w grupie pacjentów z COVID-19, którzy zostali wypisani z oddziału (pobranie B1).

Zmienne	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Dolny Kwartyl	Górny Kwartyl	Odch.st d
CRP [mg/l]	60,4	37,6	3,2	277,0	15,8	79,3	63,8
Ferrytyna [µg/l]	885,6	532,0	17,0	4271,0	230,0	1439,0	990,6
Prokalcytonina [ng/ml]	0,42	0,10	0,02	6,02	0,05	0,27	0,98
HAP [g/l]	2,78	2,51	0,28	6,540	1,8700	3,720	1,2446

TRF [g/l]	1,7	1,71	0,69	3,01	1,35	1,94	0,47
AGP [g/l]	1,46	1,35	0,44	3,39	1,05	1,83	0,60
AAT [g/l]	1,86	1,81	1,12	3,80	1,540	2,07	0,48
5-sialoTRF [%]	14,25	14,10	9,30	22,80	12,30	15,95	2,55
4-sialoTRF [%]	82,29	82,45	72,50	87,80	80,80	84,20	2,65
3-sialoTRF [%]	2,62	2,40	0,80	7,80	1,95	3,05	1,25
2-sialoTRF [%]	0,80	0,70	0,30	2,50	0,60	0,90	0,39

Tabela 34 Wyniki białek ostrej fazy i izoform transferyny w grupie pacjentów z COVID-19, którzy zmarli w trakcie hospitalizacji (pobranie B1).

Zmienna	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Dolny Kwartyl.	Górny Kwartyl.	Odch.st d
CRP [mg/l]	118,0	90,9	3,1	452,0	30,7	149,3	125,3
Ferrytyna [µg/l]	1569,8	1251,0	98,0	4271,0	453,5	2649,0	1368,3
Prokalcytonina [ng/ml]	1,84	0,47	0,03	6,02	0,26	3,75	2,55
HAP [g/l]	2,41	2,65	0,10	5,50	0,89	3,74	1,74
TRF [g/l]	1,06	0,94	0,42	2,84	0,53	1,32	0,69
AGP [g/l]	1,40	1,49	0,21	2,48	0,83	1,85	0,74
AAT [g/l]	1,76	1,77	0,77	2,68	1,38	2,18	0,62
5-sialoTRF [%]	18,72	16,40	12,20	35,90	14,65	19,75	7,15
4-sialoTRF [%]	76,55	78,05	58,20	85,50	75,85	83,00	8,54
3-sialoTRF [%]	3,89	3,75	1,50	7,80	1,95	5,40	2,06
2-sialoTRF [%]	0,74	0,45	0,20	2,60	0,30	1,00	0,7

Nie wykazano istotnych różnic w porównaniu stężenia białek ostrej fazy i izoform transferyny w grupie chorych wypisanych z oddziału przed drugim pobraniem

(pobranie B1) a wynikami uzyskanymi w pobraniu przy wypisie z oddziału (pobranie B2) (tabela 36).

Tabela 35 Porównanie wyników białek ostrej fazy i izoform transferyny u pacjentów wypisujących się z oddziału z wynikami pacjentów w drugim pobraniu (grupa B2).

Zmienna	Wartość Z w teście U Manna-Whitneya	Wartość p
CRP	0,32922	0,741992
Ferrytyna	0,38480	0,700388
Prokalcytonina	0,02184	0,982576
HAP	-1,12571	0,260290
TRF	-1,29563	0,195105
AGP	0,21240	0,831797
AAT	-0,86021	0,389674
5-sialoTRF	0,82989	0,406603
4-sialoTRF	-0,41494	0,678184
3-sialoTRF	0,06552	0,947762
2-sialoTRF	-1,61515	0,106280

5 DYSKUSJA

Pandemia SARS-CoV-2 która objęła swoim zasięgiem cały świat doprowadziła do znacznego obciążenia światowego systemu zdrowia. Od początku pandemii COVID-19 do maja 2024 r. do WHO zgłoszono 7 047 741 potwierdzonych zgonów oraz 775 431 269 przypadków zakażeń SARS -CoV-2, natomiast w Polsce od marca 2020 do maja 2024 odnotowano 120 602 potwierdzonych zgonów oraz 6 662 770 przypadków zakażeń SARS -CoV – 2 (5, 6).

Przy tak dużej liczbie zakażeń a stosunkowo niskiej śmiertelności istotne jest wyselekcjonowanie wśród zakażonych pacjentów z wysokim i niskim ryzykiem zgonu. Pacjenci z grupy wysokiego ryzyka powinni mieć jak najwcześniej rozpoczęte leczenie w warunkach szpitalnych, a pacjenci z grupy niskiego ryzyka w warunkach ambulatoryjnych nie powodując nadmiernego obciążenia szpitali. Do tego celu powinny być stosowane proste i ogólnodostępne metody.

Białka ostrej fazy stanowią grupę heterogennych białek wytwarzanych głównie przez wątrobę. Stymulatorami ich syntezy są głównie cytokiny prozapalne, a ich główną funkcją jest eliminacja czynnika wywołującego zaburzenia homeostazy (ostry stan zapalny, zakażenia bakteryjne, nowotwory, choroby autoimmunologiczne). Czynniki powodujące zaburzenie homeostazy wpływają na proces produkcji białek ostrej fazy powodując zmianę ich syntezy wywołując zwiększenie (pozytywne białka ostrej fazy), zmniejszenie (negatywne białka ostrej fazy), nieznaczną zmianę lub ewentualnie brak zmiany ich stężenie w osoczu (białka ostrej fazy obojętne). W chwili obecnej w powszechnej diagnostyce laboratoryjnej dysponujemy szerokim wachlarzem oznaczonych białek ostrej fazy. Z tego powodu celowa wydaje się analiza profilu białek

ostrej fazy w przebiegu COVID-19 oraz wyselekcjonowanie tych które mają największą wartość rokowniczą.

Transferyna jest negatywnym białkiem ostrej fazy, jej stężenie w surowicy zmniejsza się w wyniku zaburzenia homeostazy (ostry stan zapalny, zakażenia, nowotwory, choroby autoimmunologiczne). Transferyna charakteryzuje się zmiennością budowy w obrębie łańcucha polipeptydowego oraz oligosacharydowego co jest powodem występowania licznych izoform (heterogenność). Różnorodność łańcucha białkowego związana jest z uwarunkowaniami genetycznymi, wykazano 38 wariantów genetycznych łańcucha polipeptydowego. Łańcuchy oligosacharydowe tworzą struktury o zmiennym stopniu rozgałęzienia: dwu-, trój- i tetra-antenowe. Mikroheterogenność związana z wiązaniem reszt kwasu sialowego w obrębie łańcuchów polisacharydowych warunkuje występowanie 9 izoform transferyny. W zdrowej populacji dominującą izoformą (64-80%) jest transferyna z przyłączonymi czterema resztami kwasu sialowego - tetrasialo-Tf, dodatkowo profil izoform jest stały. W przypadku wystąpienia stanu chorobowego dochodzi do zaburzeń w glikozylacji glikoprotein co warunkuje zmianę występujących profili izoform. W przypadku chorób zapalnych podłożem zaburzeń glikozylacji jest wpływ mediatorów prozapalnych na proces syntezy glikoprotein. Ze względu na znaczną heterogenność budowy transferyny jest ona adekwatnym wzorem do obserwacji takich zmian. Dotychczas zmiana profilu izoform transferyny została wykazana w reumatoidalnym zapaleniu stawów, twardzinie układowej, wirusowych zapaleniach wątroby (WZW B i WZW C), przewlekłym zapaleniu wątroby lub w przypadku osób przewlekle spożywających alkohol. Mając powyższe na uwadze wydaje się celowe oznaczenie izoform transferyny u pacjentów chorych z COVID-19 (83, 84, 85, 86).

Przeprowadziliśmy badanie prospektywne u 96 pacjentów chorych z COVID-19 hospitalizowanych w oddziale Gastroenterologii, Hepatologii i Chorób Wewnętrznych z Ośrodkiem Diagnostyki i Leczenia Endoskopowego oraz Oddziale COVID Wojewódzkiego Szpitala Zespołonego w Białymstoku w latach 2021-2022. Zakażenie SARS-CoV-2 stwierdzano za pomocą testu genetycznego jakościowej reakcji łańcuchowej polimerazy z odwrotną transkrypcją w czasie rzeczywistym (RT-PCR) oraz jakościowym wykryciem antygeny SARS-CoV-2 (Ag) w próbkach wymazu z jam nosowych. Pacjenci mieli wykonane badania krwi dwukrotnie – przy przyjęciu do oddziału oraz średnio w 9 dobie hospitalizacji. Grupę kontrolną stanowiło 30 zdrowych pacjentów, u których wykluczono zakażenie SARS-CoV-2.

Zakażenie SARS-CoV-2, w wyniku zainicjowanych odpowiedzi immunologicznych, stymuluje wątrobę do syntezy białek reakcji ostrej fazy (54, 55). Uzyskane wyniki uzyskano w obu pobraniach (przy przyjęciu B1 i przy wypisie B2) w porównaniu do wyników w grupie kontrolnej potwierdziły to zależność za wyjątkiem alfa1-antytrypsyny (AAT) której stężenie było wyższe jedynie w pobraniu przy przyjęciu (B1). Dodatkowo stwierdziłem różnice w poziomie białek ostrej fazy pomiędzy grupą chorych przed (pobranie B1) i po leczeniu (pobranie B2). Wartości większości białek ostrej fazy po leczeniu uległy obniżeniu istotnie statystycznie, poza stężeniem transferyny i prokalcytoniny które nie zmieniło się. Stężenie ferrytyny uległo zwiększeniu (istotność statystyczna) w dziewiątej dobie hospitalizacji. Zmiana stężenia białek ostrej fazy związana jest z stymulującym działaniem cytokin uwalnianych w trakcie procesu zapalnego. Natomiast wyższe stężenie ferrytyny u pacjentów po leczeniu możemy wiązać z faktem, iż najwyższe stężenie ferrytyny po zadziałaniu czynnika prozapalnego występuje w 8 dobie od jego zadziałania. Dlatego

przypuszczam, że w dziewiątej dobie badania (pobranie B2) nie udało się uchwycić spadku poziomu ferryty, który mógł mieć miejsce w późniejszym okresie choroby. Zmniejszenie stężenia większości białek ostrej fazy u pacjentów po leczeniu jest efektem wygaszenia reakcji ostrej fazy i jest w pełni zgodny z obowiązującą wiedzą dotyczącą białek ostrej fazy. Natomiast brak zmian stężenia transferyny (TRF) w drugim badaniu (B2) jest związany z okresem półtrwania transferyny wynoszącym 8-10 dni. Jest to zgodne z obserwacjami innych autorów (87). Natomiast brak zmiany stężenie prokalcytoniny (PCT) jest trudniejszy do wytłumaczenia. Prokalcytonina, jest dodatnim białkiem ostrej fazy, wytwarzana głównie w komórkach C tarczycy, dodatkowo syntetyzowana jest w wątrobie, trzustce, nerkach, płucach, jelitach i leukocytach. W warunkach fizjologicznych stężenie PCT w surowicy osiąga stężenie do 0,05 ng/ml. Zakażenie bakteryjne, zwłaszcza o ciężkim przebiegu (bakteriemia i sepsa), powodują wielokrotny wzrost poziomu prokalcytoniny (nawet do 1000 x) poprzez stymulację pozataarczycowej syntezy prokalcytoniny przez endotoksyny lub cytokiny takie jak IL-6, IL-1b TNF- α . Z drugiej strony infekcje wirusowe wywierają supresyjne działanie na syntezę prokalcytoniny poprzez wydzielane cytokin w trakcie infekcji wirusowej (np. interferon -gamma), powodując obniżenie poziomu PCT (88, 89, 90, 91, 92). Okres półtrwania prokalcytoniny jest jednym z najkrótszych wśród białek ostrej fazy i szacuje się, że wynosi 25-30 godzin) (93). Utrzymujący się wysoki poziom PCT można również przypisać dodatkowej produkcji w innych dotkniętych chorobą tkankach organizmu (wątroba, nerki, śledziona i trzustka) w odpowiedzi na burzę cytokinową (94). Odpowiedź ta ma charakter wtórny (opóźniony w czasie) w stosunku do oddziaływania burzy cytokinowej na układ oddechowy, o czym świadczy wyższy poziom ALT i GGT w dziewiątej dobie hospitalizacji (pobranie B2) niż przy przyjęciu (pobranie B1).

W badaniach własnych, zgodnie z oczekiwaniem, całkowite stężenie transferyny, która jest negatywnym białkiem ostrej fazy, było niższe u chorych z COVID-19 zarówno na początku jak i po dziewięciu dniach terapii. Dotychczasowe badania innych autorów wykazały patognomoniczną zmianę profilu izoform transferyny w niektórych chorobach np. przewlekłym zapaleniu wątroby, pierwotnym żółciowym zapaleniu dróg żółciowych, reumatoidalnym zapaleniu stawów lub przewlekłym zapaleniu trzustki (83, 84, 85, 95).

W moich badaniach, analiza izoform transferyny wykazała wzrost 5-sialoTRF i spadek 3-sialoTRF u pacjentów z COVID-19, zmiany te utrzymywały się przed (B1) i po leczeniu (B2), dodatkowo stwierdzono nieistotną statystycznie tendencję spadkową stężenia największej frakcji transferyny, 4-sialoTRF. Utrzymujące się stężenia 5-sialoTRF i 3-sialoTRF związane są z okresem półtrwania transferyny we krwi, który jak wcześniej wspomniałem wynosi 8-10 dni, natomiast odstępy czasowe między pobraniami były krótsze (mediana 9 dni). Podobną korelację obserwowałem w przypadku całkowitego stężenia transferyny, jednak nie stwierdziłem różnic istotnych statystycznie między stężeniem w pobraniu B1 i B2.

Zaobserwowałem zmianę stężenie białek ostrej fazy w zależności od stopnia ciężkości choroby, u pacjentów o ciężkim przebiegu choroby występowały wyższe wartości dodatnich białek ostrej fazy (CRP, prokalcytonina i ferrytyna) oraz niższe stężenie transferyny. Zaobserwowałem statystycznie istotne różnice między pacjentami będącymi w stanie umiarkowanym i ciężkim oraz umiarkowanym i krytycznym choroby. Dodatkowo stwierdziłem istotne różnice w stężeniu glikoprotein u chorych którzy zostali przekazani do oddziału intensywnej terapii (OIT) w porównaniu do pacjentów którzy zostali wypisani z oddziału (pobranie B2). Były to wyższe wartości

CRP, prokalcytoniny, haptoglobiny, α 1-kwaśnej glikoproteiny i α 1- antytrypsyny oraz niższe stężenie transferyny. Wyniki te są w pełni zgodne z wynikami innych autorów i związane są z odpowiednią do ciężkości procesu chorobowego stymulacją syntezy białek ostrej fazy przez czynniki prozapalne wytwarzane w trakcie infekcji (96, 97). Wykazałem wyższe stężenie 5-sialoTRF w grupie pacjentów o krytycznym przebiegu choroby w porównaniu do pacjentów z umiarkowaną ciężkością choroby. Interesującą klinicznie obserwacją było stwierdzenie istotnie wyższego stężenia 5-sialoTRF oraz prokalcytoniny u pacjentów u których hospitalizacja zakończyła się zgonem w porównaniu do pacjentów którzy przeżyli. Odwrotną korelację zaobserwowano w przypadku stężenia całkowitej transferyny, mianowicie stężenie transferyny było istotnie niższe w grupie chorych którzy zmarli w porównaniu do pacjentów wypisanych ze szpitala. Zmiana ta znajduje odzwierciedlenie w całkowitym stężeniu transferyny, które w stanie krytycznym jest mniejsza niż u chorych o umiarkowanym przebiegu choroby. Wyniki te mogą stanowić przesłankę do uznania 5-sialoTRF oraz całkowitego stężenia transferyny za marker prognostyczny przeżycia chorych z COVID-19.

Całkowite stężenie transferyny było niższe u pacjentów którzy wymagali stosowania tlenoterapii. Mechanizm wnikania SARS-CoV-2 do komórki gospodarza związany jest z wiązaniem białka S wirusa z receptorem gospodarza - enzymem konwertującym angiotensynę typu 2 (ACE-2) (18). Receptory ACE2 są szeroko rozpowszechnione w drogach oddechowych, najliczniej na pneumocytach typu II pęcherzyków (20, 21, 22). W wyniku zajęcia płuc dochodzi do uszkodzenia mięszu płucnego co powoduje zmniejszenie powierzchni oddechowej i konieczność tlenoterapii u chorych w celu zapewnienia odpowiedniej podaży tlenu. Rodzaj stosowanej tlenoterapii w głównej mierze zależy od stopnia uszkodzenia mięszu płucnego. W

badaniach własnych wykazano zmniejszenie stężenia transferyny, która jest negatywnym białkiem ostrej fazy i korelację z nasileniem procesu zapalnego. Dodatkowo transferyna dostarczając żelazo do syntezy hemoglobiny, odgrywa kluczową rolę w zaopatrywaniu tkanek w tlen. Zatem pacjenci z niskim stężeniem transferyny wymagają większej podaży tlenu niż pacjenci z wyższym stężeniem transferyny.

Analiza stężeń glikoprotein w zależności od rodzaju zastosowanej tlenoterapii wykazała, że pacjenci z wyższym stężeniem glikoprotein i w konsekwencji większym nasileniem burzy cytokinowej wymagali stosowania coraz intensywniejszej tlenoterapii. Dodatkowo wykazałem zmniejszenie stężenie białek ostrej fazy w wyniku stosowanej tlenoterapii, a największe zmiany zostały zaobserwowano po leczeniu tlenoterapią wysokoprzepływową i dotyczyły gł. CRP, haptoglobiny, alfa1-kwaśnej glikoproteiny, prokalcytoniny, alfa1-antytrypsyny. Nie stwierdziłem żadnych zmian w stężeniu białek ostrej fazy w wyniku zastosowania respiratoroterapii. Brak spadku stężenia białek ostrej fazy u tych pacjentów można traktować jako negatywny czynnik prognostyczny przemawiający za bardzo nasiloną burzą cytokinową. Analiza stężenia białek ostrej fazy w dziewiątej dobie hospitalizacji u chorych poddanych tlenoterapii nie wykazała różnic w stężeniu większości glikoprotein w porównaniu do chorych niewymagających tlenoterapii. Odstępstwem od tej reguły było stężenie CRP, którego stężenie było istotnie wyższe u pacjentów poddanych wentylacji mechanicznej. Nasze obserwacje potwierdzają słuszność podjętej decyzji do stosowania i rodzaju tlenoterapii w zależności od nasilenia burzy cytokinowej.

Współistniejące choroby przewlekłe są niepodważalnie negatywnym czynnikiem rokowniczym u chorych z COVID -19 wpływając na przebieg choroby i

leczenia. W badaniu nie stwierdziłem różnic w całkowitym stężeniu transferyny między pacjentami z chorobami przewlekłymi i bez nich. Stwierdziłem że choroby współistniejące wpływają na poziomy izoform transferyny. Stężenie 5-sialo TRF było istotnie wyższe zaś stężenie 4-sialo TRF istotnie niższe u pacjentów z dodatkową chorobą współistniejącą. Niestety brak jest jednoznacznych danych naukowych mogących wytłumaczyć zaobserwowaną korelację. Niemniej jednak wniosek wypływający z tej obserwacji wskazuje na to, że wyższe stężenie 5-sialoTRF i niższe stężenie 4-sialo TRF u pacjentów z towarzyszącą chorobą przewlekłą należy traktować jako dodatkowy czynnik obciążający pacjentów z COVID-19. Dodatkowo stwierdziłem, iż u pacjentów z chorobami przewlekłymi stężenie prokalcytoniny było istotnie niższe niż u pacjentów bez chorób współistniejących. Patomechanizm tej obserwacji jest niejasny. Na podstawie dotychczasowych doniesień naukowych poziom prokalcytoniny w poszczególnych chorobach przewlekłych może zależeć od rodzaju choroby, stosowanych leków ale według większości autorów wzrost stężenia prokalcytoniny przede wszystkim związany jest z istniejącą infekcją bakteryjną (98, 99, 100, 101, 102, 103). Niestety, ze względu na szerokie spektrum chorób przewlekłych u pacjentów objętych badaniem, brak wystarczających danych, nie udało się wyodrębnić reprezentatywnych podgrup w zależności od rodzaju chorób przewlekłych i zakażeń bakteryjnych.

Skala MEWS jest powszechnie stosowanym narzędziem diagnostycznym do identyfikacji pacjentów w stanie zagrożenia życia, uwzględnia łatwe do oceny parametry takie jak: tętno, częstość oddechów, temperaturę ciała, saturację, stan świadomości pacjenta (skala AVPU) oraz diurezę. Nie wykazałem związku stężenia izoform transferyny ze zmodyfikowaną skalą wczesnego ostrzegania (MEWS). W

niniejszym badaniu jedynie dwa białka ostrej fazy, tj. CRP i prokalcytonina, wykazały związek ze skalą MEWS. Uwzględniając punktację w skali MEWS stwierdzono istotną statystycznie różnicę w stężeniu ferrytyny u chorych którzy otrzymali 0 pkt a pacjentami z 6 pkt oraz prokalcytoniny między pacjentami, którzy uzyskali 1 pkt a chorymi z 3 pkt w skali MEWS. Niestety zaobserwowałem, że wyniki uzyskane w skali MEWS nie odpowiadały klinicznej skali ciężkości choroby. Tylko 4,4% chorych uzyskało wynik ≥ 5 w skali MEWS, natomiast aż 18,75% chorych zostało sklasyfikowanych jako krytyczny w skali ciężkości choroby. Porównując obie te skale zbieżność dotyczy jedynie nasycenia tlenem, poza tym tak duże rozbieżności poddają pod wątpliwość wartość diagnostyczną skali MEWS. Ostatnia teza wymaga pogłębienia i badań na większej grupie badanych.

W przebiegu zakażenia SARS-CoV-2 najbardziej niepożądanym stanem dającym istotne implikacje kliniczne jest rozwinięcie się burzy cytokinowej. Patologiczny proces immunologiczny rozwija się wyniku nadreaktywnej odpowiedzi odpornościowej na replikację wirusa w organizmie zainfekowanego, charakteryzuje się niekontrolowaną ogólnoustrojową odpowiedzią zapalną i uwalnianiem cytokin prozapalnych: IL-6, IL-8, TNF- α , IP10, MCP-1 i RANTES. Burza cytokinowa jako samonapędzająca się, trudna do przerwania, spirala niekontrolowanej reakcji immunologicznej organizmu prowadzi do uszkodzenia wielonarządowego i stwarza wysokie ryzyko zgonu chorego (30).

W badaniu jako wykładnik burzy cytokinowej wykorzystałem stężenie IL-6 w surowicy. U pacjentów z burzą cytokinową (IL-6 >100 ng/ml) stwierdziłem istotną statystycznie zmianę stężenia większości białek ostrej fazy, jedynie w przypadku haptoglobiny i alfa1-kwaśnej glikoproteiny nie odnotowałem istotnych różnic w ich

stężeniach u chorych z/lub bez wykładników burzy cytokinowej. Jedynym białkiem ostrej fazy, którego stężenie uległo zmniejszeniu u chorych z burzą cytokinową była transferyna. U chorych z burzą cytokinową wykazałem istotny wzrost wartości prokalcytoniny oraz CRP (ponad 4-krotny). Jedynie w przypadku prokalcytoniny stwierdziłem utrzymujące się istotnie wyższe stężenie tego białka u pacjentów z burzą cytokinową w drugim oznaczeniu (B2). Nie zaobserwowałem zmian stężenia żadnej z izoform transferyny w zależności od obecności burzy cytokinowej, chociaż w warunkach burzy cytokinowej całkowite stężenie transferyny zmniejszało się. Ponadto wykazałem ujemną korelację wartości IL-6 z całkowitym stężeniem transferyny, ale co ciekawe, także dodatnią korelację z poziomem 5-sialoTRF i ujemną korelację z 4-sialoTRF. Zaobserwowane zależności pokrywają się z wiedzą dotyczącą białek ostrej fazy, a ocena korelacji potwierdziła związek pomiędzy nasileniem burzy cytokinowej, a stężeniem glikoprotein. Prawdopodobne przyczyny utrzymującego się wzrostu stężenia prokalcytoniny wykazałem już wcześniej, a największy wzrost stężenia prokalcytoniny można wytłumaczyć sumą glikoprotein uwolnionych z innych narządów wewnętrznych objętych chorobą. Chociaż uzyskano także dodatnią korelację IL-6 z haptoglobiną i alfa1-kwaśną glikoproteiną, jednak wartości współczynników korelacji były niskie i dlatego w porównaniu obustronnym nie uzyskano zmiany stężenia tych dwóch glikoprotein u pacjentów z burzą cytokinową.

Nie wykazałem różnic w stężeniach białek ostrej fazy i izoform transferyny w zależności od przebytego szczepienia pacjentów przeciwko SARS-CoV-2. Celem szczepienia jest wytworzenie swoistych przeciwciał w klasie IgG, które nie mają bezpośredniego wpływu na syntezę białek ostrej fazy, a w związku z tym nie wpływają na stężenie białek ostrej fazy u pacjentów z zakażeniem SARS-CoV-2. Dodatkowo

grupa badana objęła jedynie 29 pacjentów a dane dotyczące rodzaju i ilości dawek przyjętej szczepionki były ograniczone. Ponadto nie dysponowałem możliwością oznaczenia swoistych przeciwciał IgG w kierunku SARS-CoV-2. Mając powyższe na uwadze nie udało mi się wyodrębnić reprezentatywnych grup statystycznych, a co za tym idzie wyciągnąć odpowiednich wniosków.

Transferyna, dostarczając żelazo do syntezy hemoglobiny, odgrywa kluczową rolę w zaopatrywaniu tkanek w tlen. Jako negatywne białko ostrej fazy jej stężenie zmniejsza się w wyniku trwającego procesu zapalnego. W związku ze zmniejszeniem stężenia transferyny u tych chorych należy spodziewać się obniżenia stężenia hemoglobiny oraz liczby erytrocytów. W badaniu tym potwierdziłem tą zależność i wykazałem niższe stężenia hemoglobiny oraz ilości erytrocytów u pacjentów z COVID-19 w obu badaniach (B1 i B2) w porównaniu do grupy kontrolnej. Nie wykazałem istotnej statystycznie różnicy, a jedynie tendencję spadkową, pomiędzy stężeniem hemoglobiny i liczbą erytrocytów u pacjentów przed (B1) i po leczeniu (B2). Stan taki prawdopodobnie spowodowany jest okresem półtrwania hemoglobiny, który pokrywa się z czasem życia erytrocytów, a odstęp między pobraniami jest zbyt krótki aby zaobserwować istotne zmiany morfologiczne.

Podsumowując, stężenie białek ostrej fazy zależy od ciężkości choroby COVID-19, obecności burzy cytokinowej oraz zastosowanej tlenoterapii. Potwierdziłem opisywane wcześniej obserwacje dotyczące rokowniczej wartości białek ostrej fazy. Stwierdziłem wyższe stężenie CRP, prokalcytoniny, haptoglobiny, α 1- kwaśnej glikoproteiny i α 1- antytrypsyny oraz niższe stężenie transferyny u pacjentów którzy zostali przekazani do Oddziału Intensywnej Terapii celem dalszego leczenia. Dodatkowo zaobserwowałem, iż stężenie prokalcytoniny było niższe, a stężenie

transferyny wyższe u pacjentów, którzy przeżyli w stosunku do chorych, którzy zmarli. Istotną obserwacją było stwierdzenie zmiany stężenia izoform transferyn, a dokładnie 5-sialoTRF w zależności od ciężkości choroby. U pacjentów, którzy przeżyli, stężenie 5-sialoTRF było niższe niż u pacjentów, którzy zmarli. Wynik ten może stanowić przesłankę do uznania 5-sialoTRF za marker prognostyczny przeżycia chorych na COVID-19. Wzrost stężenia bogatej w kwas sialowy izoformy 5-sialoTRF która wykazuje większe powinowactwie do receptorów transferyny (104, 105) u ciężko chorych pacjentów wydaje się być mechanizmem kompensacyjnym, mającym na celu zwiększenie syntezy hemoglobiny a przez to zwiększenie dostarczania tlenu do tkanek. Niepokojącą obserwacją było wykazanie dużej rozbieżność skali MEWS w porównaniu do klinicznej skali ciężkości choroby, co poddaje pod wątpliwość wartość diagnostyczną skali MEWS oraz wymaga pogłębienia uzyskanych wyników w celu wyciągnięcia obiektywnych wniosków.

6 WNIOSKI

1. Białka ostrej fazy są wskaźnikami stopnia ciężkości choroby, obecności burzy cytokinowej oraz konieczności tlenoterapii u chorych z COVID-19.
2. Prokalcytonina, transferyna oraz jej izoforma 5-sialoTRF mogą być markerami prognostycznymi przeżycia chorych z COVID-19, a dodatkowo izoforma 5-sialoTRF może być przydatnym wskaźnikiem stopnia nasilenia choroby.
3. Szczepienia przeciwko COVID-19 nie mają wpływu na stężenie białek ostrej fazy, w tym na transferynę i jej izoformy.
4. Choroby przewlekłe mają wpływ na przebieg i rokowanie u osób z COVID-19, a towarzyszą im zmiany stężenia izoform 5-sialo oraz 4-sialo transferryn.
5. Duża rozbieżność punktacji w zmodyfikowanej skali wczesnego ostrzegania do klinicznej skali ciężkości choroby poddaje pod wątpliwość znaczenie diagnostyczne skali MEWS.

7 STRESZCZENIE

Celem pracy była ocena stężenia transferyny i jej izoform oraz innych białek ostrej fazy w surowicy krwi chorych z COVID-19. Grupę badaną stanowiło 96 pacjentów w wieku od 22 do 89 lat (średnia 59,2 lat) z rozpoznaniem COVID-19 hospitalizowanych w Oddziale Gastroenterologii, Hepatologii i Chorób Wewnętrznych i w Oddziale COVID-19 Wojewódzkiego Szpitala Zespolonego w Białymstoku. Zakażenie SARS-CoV-2 stwierdzano za pomocą testu genetycznego jakościowej reakcji łańcuchowej polimerazy z odwrotną transkrypcją w czasie rzeczywistym (RT-PCR) oraz jakościowym wykryciem antygenu SARS - CoV – 2 (Ag) w próbkach wymazu z jam nosowych za pomocą szybkiego testu Panbio™ COVID-19 Ag. Burzę cytokinową stwierdzono u 34 chorych. Łącznie 76 chorych wymagało tlenoterapii: 43 chorych niskoprzepływową; 23 chorych wysokoprzepływową; 10 chorych wymagało respiratoroterapii, U 63 chorych stwierdzono umiarkowany kliniczny stopień ciężkości choroby, u 14 ciężki, natomiast stopień krytyczny u 19 chorych. Pomimo stosowanej terapii 9 chorych (9,4%) przekazano do oddziału intensywnej terapii, a 13 chorych zmarło (śmiertelność 13,5%). Grupę kontrolną stanowiło 30 zdrowych pacjentów w wieku 21-84 lat, 15 mężczyzn oraz 15 kobiet, zgłaszający się na badania kontrolne do Poradni Medycyny Pracy Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku, u których wykluczono zakażenie SARS-CoV-2.

Wykazano że stężenie białek ostrej fazy zależy od ciężkości choroby COVID-19, obecności burzy cytokinowej, zastosowanej tlenoterapii. Pacjenci przekazani do Oddziału Intensywnej Terapii mieli wyższe stężenie CRP, prokalcytoniny, haptoglobiny, α 1-kwaśnej glikoproteiny i α 1- antytrypsyny oraz niższe stężenie transferyny. Niższe stężenie prokalcytoniny i wyższe stężenie transferyny obserwowane

było u pacjentów, którzy przeżyli w porównaniu do chorych którzy zmarli. Wykazano zmiany stężenia izoform transferyn, a dokładnie 5-sialoTRF w zależności od ciężkości choroby. Ponadto u pacjentów, którzy przeżyli, stężenie 5-sialoTRF było niższe niż u chorych którzy zmarli. Wysokie stężenie 5 - sialoTRF u ciężko chorych może stanowić przesłankę do uznania go za marker prognostyczny przeżycia chorych na COVID-19. Wykazano dużą rozbieżność w punktacji zmodyfikowanej skali wczesnego ostrzegania MEWS w porównaniu do klinicznej skali ciężkości choroby.

8 SUMMARY

The aim of the study was to assess the concentration of transferrin and its isoforms and other acute phase proteins in the blood serum of patients with COVID-19. The study group consisted of 96 patients aged 22 to 89 years (average 59.2 years) diagnosed with COVID-19 hospitalized in the Department of Gastroenterology, Hepatology and Internal Diseases and in the COVID-19 Department of the Provincial Hospital in Białystok. SARS-CoV-2 infection was diagnosed using a qualitative real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) genetic test and qualitative detection of the SARS - CoV - 2 (Ag) antigen in nasal swab samples using the Panbio™ COVID rapid test -19Ag. Cytokine storm was detected in 34 patients. A total of 76 patients required oxygen therapy: 43 patients with low-flow oxygen therapy; 23 patients with high-flow; 10 patients required ventilator therapy. In 63 patients, the clinical severity of the disease was moderate, in 14 it was severe, and in 19 it was critical. Despite the therapy, 9 patients (9.4%) were transferred to the intensive care unit, and 13 patients died (mortality rate 13.5%). The control group consisted of 30 healthy patients aged 21-84, 15 men and 15 women, attending the Occupational Medicine Outpatient Clinic of the University Clinical Hospital in Białystok, in whom SARS-CoV-2 infection was excluded.

It has been shown that the concentration of acute phase proteins depends on the severity of COVID-19 disease, the presence of a cytokine storm and the oxygen therapy used. Patients transferred to the Intensive Care Unit had higher concentrations of CRP, procalcitonin, haptoglobin, α 1-acid glycoprotein and α 1-antitrypsin and lower concentrations of transferrin. Lower procalcitonin levels and higher transferrin levels were observed in patients who survived compared to those who died. Changes in the concentration of transferrin isoforms, specifically 5-sialoTRF, have been demonstrated depending on the severity of the disease. Moreover, in patients who survived, the concentration of 5-sialoTRF was lower than in patients who died. High concentration of 5-sialoTRF in seriously ill patients may be a reason to consider it as a prognostic marker for survival of COVID-19 patients. A large discrepancy was found in the scores of the modified MEWS early warning scale compared to the clinical disease severity scale.

9 PIŚMIENICTWO

1. Rabaan A.A., Al-Ahmed S.H., Haque S., Sah R., Tiwari R., Malik Y.S., et al. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-COV: a comparative overview, 2020. Infez. Med. 2020; 28:174–184
2. Pyrc K., Ludzkie koronawirusy, „Postępy Nauk Medycznych”, XXVIII (4B), Borgis, 2015; 48–54
3. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, Zhao X, Huang B, Shi W, Lu R, Niu P, Zhan F, Ma X, Wang D, Xu W, Wu G, Gao GF, Tan W; China Novel Coronavirus Investigating and Research Team. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. N Engl J Med. 2020;382:727-733
4. Li X, Wang W, Zhao X, Zai J, Zhao Q, Li Y, Chaillon A. Transmission dynamics and evolutionary history of 2019-nCoV, 2020. J Med Virol. 2020; 92(5):501-511
5. Coronavirus disease (COVID-19) (who.int)
<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
6. Raport zakażeń koronawirusem (SARS-CoV-2) - Koronawirus: informacje i zalecenia - Portal Gov.pl (www.gov.pl)
<https://www.gov.pl/web/koronawirus/wykaz-zarazen-koronawirusem-sars-cov-2>
7. Global excess deaths associated with COVID-19, January 2020 - December 2022, WHO, 2022, May 2022, <https://www.who.int/data/stories/global-excess-deaths-associated-with-covid-19-january-2020-december-2021>
8. Masters PS. The molecular biology of coronaviruses, 2006. Adv Virus Res. 2006; 66:193-292.

9. Kirtipal N., Bharadwaj S., Kang S.G. From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses, 2020. *Infect. Genet. Evol.* 2020 Nov; 85:104502.;
10. Chan JF, Kok KH, Zhu Z, Chu H, To KK, Yuan S, Yuen KY. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan, 2020. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):221-236
11. Tian, D, Sun, Y, Zhou, J, Ye, Q. The global epidemic of SARS-CoV-2 variants and their mutational immune escape, 2022. *J Med Virol.* 2022; 94: 847-857.
12. Li Q, Guan X, Wu P, et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia, 2020. *N Engl J Med* 2020; 382:1199–207.
13. Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study, 2020. *Lancet* 2020; 395:507–13
14. Tang B, Bragazzi NL, Li Q, et al. An updated estimation of the risk of transmission of the novel coronavirus (2019-nCoV), 2020. *Infect Dis Model* 2020; 5:248–55
15. Umakanthan S, Sahu P, Ranade AV, Bukelo MM, Rao JS, Abrahao-Machado LF, Dahal S, Kumar H, Kv D. Origin, transmission, diagnosis and management of coronavirus disease 2019 (COVID-19), 2020. *Postgrad Med J.* 2020 Dec; 96(1142):753-758.
16. Cai, J.; Sun, W.; Huang, J.; Gamber, M.; Wu, J.; He, G. Indirect Virus Transmission in Cluster of COVID-19 Cases, Wenzhou, China, 2020. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26

17. Sharma, A.; Ahmad Farouk, I.; Lal, S.K. COVID-19: A Review on the Novel Coronavirus Disease Evolution, Transmission, Detection, Control and Prevention, 2021. *Viruses* 2021; 13, 202
18. Zhuang MW, Cheng Y, Zhang J, Jiang XM, Wang L, Deng J, Wang PH. Increasing host cellular receptor-angiotensin-converting enzyme 2 expression by coronavirus may facilitate 2019-nCoV (or SARS-CoV-2) infection, 2020. *J Med Virol.* 2020 Nov; 92(11):2693-2701.
19. Hamming I, Timens W, Bulthuis MLC, Lely AT, Navis GJ, Goor HV: Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus—a first step in understanding SARS pathogenesis, 2004. *J Pathol* 2004; 203:631–637
20. Liu, L., Wei, Q.A., Alvarez, X., Wang, H.B., Du, Y.H., Zhu, H., Jiang, H., Zhou, J.Y., Lam, P., Zhang, L.Q., Lackner, A., Qin, C.A., Chen, Z.W. Epithelial cells lining salivary gland ducts are early target cells of severe acute respiratory syndrome coronavirus infection in the upper respiratory tracts of Rhesus Macaques, 2011. *J. Virol.* 2011; 85, 4025–4030.
21. Kuba, K., Imai, Y., Ohto-Nakanishi, T., Penninger, J.M. Trilogy of ACE2: a peptidase in the renin-angiotensin system, a SARS receptor, and a partner for amino acid transporters, 2010. *Pharmacology Therapeutics* 2010; 128, 119–128.
22. Dobbs L.G. , Pulmonary surfactant, 1989. *Annu. Rev. Med.* 1989; 40 (1), 431–446.
23. Simmons, G., Zmora, P., Gierer, S., Heurich, A., Pohlmann, S. Proteolytic activation of the SARS-coronavirus spike protein: cutting enzymes at the cutting edge of antiviral research, 2013. *Antivir. Res.* 2013; 100, 605–614

24. Jackson CB, Farzan M, Chen B, Choe H. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells, 2022 . Nat Rev Mol Cell Biol. 2022 Jan; 23(1):3-20.
25. Fehr, A.R., Perlman, S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis, 2015. Methods in Molecular Biology Clifton, N.J. 2015; 1282, 1–23
26. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi ZL. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19, 2021. Nat Rev Microbiol. 2021 Mar; 19(3):141-154.
27. <https://www.who.int/news/item/16-03-2023-statement-on-the-update-of-who-s-working-definitions-and-tracking-system-for-sars-cov-2-variants-of-concern-and-variants-of-interest>
28. Tracking SARS-CoV-2 variants (who.int); <https://www.who.int/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants>
29. Aleem A, Akbar Samad AB, Vaqar S. Emerging Variants of SARS-CoV-2 and Novel Therapeutics Against Coronavirus (COVID-19), 2023 May 8. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan–.
30. Broz P., Dixit V.M., Inflammasomes: mechanism of assembly, regulation and signalling, 2016. Nat. Rev. Immunol. 2016; 16 (7) 407–420
31. Fajgenbaum DC, June CH. Cytokine Storm, 2020. N Engl J Med. 2020 Dec 3;383(23):2255-2273.
32. Bakhiet M, Taurin S. SARS-CoV-2: Targeted managements and vaccine development, 2021. Cytokine Growth Factor Rev. 2021 Apr; 58:16-29.
33. Lai CC, Shih TP, Ko WC, Tang HJ, Hsueh PR. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges, 2020. Int J Antimicrob Agents. 2020 Mar; 55(3):105924.

34. Kim JS, Lee JY, Yang JW, Lee KH, Effenberger M, Szpirt W, Kronbichler A, Shin JI. Immunopathogenesis and treatment of cytokine storm in COVID-19. *Theranostics*. 2021 Jan 1;11(1):316-329. doi: 10.7150/thno.49713. PMID: 33391477; PMCID: PMC7681075.
35. Diagnostyka COVID-19 Aktualizacja zaleceń; AOTMiT <https://www.aotm.gov.pl/media/2022/03/Diagnostyka-COVID-19-Aktualizacja-Zalecen-wersja-3.0-25-lutego-2022-r..pdf>
36. Barboza JJ, Chambergo-Michilot D, Velasquez-Sotomayor M, Silva-Rengifo C, Diaz-Arocutipa C, Caballero-Alvarado J, Garcia-Solorzano FO, Alarcon-Ruiz CA, Albitres-Flores L, Malaga G, Schlagenhauf P, Rodriguez-Morales AJ. Assessment and management of asymptomatic COVID-19 infection: A systematic review, 2021. *Travel Med Infect Dis*. 2021 May-Jun;41:102058.
37. Han D, Li R, Han Y, Zhang R, Li J. COVID-19: Insight into the asymptomatic SARS-COV-2 infection and transmission, 2020. *Int J Biol Sci*. 2020 Aug 27;16(15):2803-2811.
38. Podręcznik Interna - Medycyna Praktyczna: COVID-19 (choroba spowodowana przez SARS-CoV-2) (mp.pl) <https://www.mp.pl/interna/chapter/B16.II.18.1.13>.
39. Shah W, Hillman T, Playford ED, Hishmeh L. Managing the long term effects of covid-19: summary of NICE, SIGN, and RCGP rapid guideline, 2021. *BMJ*. 2021 Jan 22;372:n136.
40. World Health Organization. (2021). A clinical case definition of post COVID-19 condition by a Delphi consensus, 6 October 2021. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/345824>. License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO

41. Niedziela JT, Głowacki J, Ochman M, et al. Post–COVID19 complications in hospitalized and nonhospitalized patients: the Silesian database of COVID19 complications (SILCOV19), 2022. *Pol Arch Intern Med.* 2022; 132: 16233.
42. Cylwik B, Chrostek L, Szmitkowski M. Nowe metody oznaczania izoform transferyny w diagnostyce uzależnienia od alkoholu [New methods for the determination of transferrin isoforms in the diagnostics of alcohol abuse], 2006. *Postepy Hig Med Dosw (Online).* 2006;60:101-12. Polish. PMID: 16489296.
43. de Jong G., van Dijk J.P., van Eijk H.G. The biology of transferrin, 1990. *Clin. Chem.*, 1990, 190, 1–46
44. Arndt T. Carbohydrate-deficient transferrin as a marker of chronic alcohol abuse: a critical review of preanalysis, analysis, and interpretation, 2001. *Clin Chem.* 2001 Jan;47(1):13-27.
45. Conrad ME, Umbreit JN, Moore EG. Iron absorption and transport, 1999. *Am J Med Sci.* 1999 Oct;318(4):213-29.
46. Waldvogel-Abramowski S, Waeber G, Gassner C, Buser A, Frey BM, Favrat B, Tissot JD. Physiology of iron metabolism, 2014. *Transfus Med Hemother.* 2014 Jun;41(3):213-21.
47. Gomme P.T., McCann K.B., Bertolini J. Transferrin: structure, function and potential therapeutic actions 2005. *Drug. Discov. Today*, 2005, 10(4):267-273
48. Krzyżowska K., Eszyk J., Gonciarz M. Ferritin – assessment of iron status and diagnostic value 2020. *Lekarz POZ.* 2020;6(5):272-277.
49. Olewicz-Gawlik A, Hrycaj P. Original paper Acute phase proteins in rheumatic diseases – merely the markers of inflammation? 2007. *Reumatologia/Rheumatology.* 2007;45(6):321-324.

50. Martensson O., Harlin A., Brandt R., Seppa K., Sillanaukee P.: Transferrin isoform distribution: gender and alcohol consumption, 1997. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, 1997; 21: 1710–1715
51. Kamboh MI, Ferrell RE. Human transferrin polymorphism, 1987. *Hum Hered.* 1987;37(2):65-81.
52. Caslavská J., Thormann W. Monitoring of transferrin isoforms in biological samples by capillary electrophoresis, 2018. *J. Sep. Sci.*, 2018, 41(1):303-322
53. Tagliaro F., Crivellente F., Manetto G., Puppi I., Deyl Z., Marigo M.: Optimized determination of carbohydrate-deficient transferrin isoforms in serum by capillary zone electrophoresis, 1998. *Electrophoresis*, 1998; 19: 3033–3039
54. Krzysztof Bryniarski: *Immunologia dla studentów wydziałów medycyny i lekarzy*, 2017. Wrocław: Edra Urban & Partner, 2017, s. 25-40.
55. Korczowska I., Hrycaj P., Łącki J.K. Białka ostrej fazy we współczesnej diagnostyce medycznej [Application of acute phase proteins in modern medical diagnostics]m 2011. *Postępy Nauk Medycznych* 2011; 3-10
56. Stasik Z., Skotnicki P., Nowak-Sadzikowska J., Kanty Kulpa J., 2008. Białko C-reaktywne u chorych na nowotwory złośliwe. *Journal of Oncology*, 2008, 58: 441–446
57. Sabatine MS, Morrow DA, Jablonski KA, Rice MM, Warnica JW, Domanski MJ, Hsia J, Gersh BJ, Rifai N, Ridker PM, Pfeffer MA, Braunwald E; PEACE Investigators. Prognostic significance of the Centers for Disease Control/American Heart Association high-sensitivity C-reactive protein cut points for cardiovascular and other outcomes in patients with stable coronary artery disease, 2007. *Circulation*. 2007; 115(12):1528-36.

58. Yeh E.T., Willerson J.T.: Coming of age of C-reactive protein: using inflammation markers in cardiology, 2003. *Circulation*, 2003; 107: 370–371
59. Boncler M, Luzak B, Watala C. Znaczenie białka C-reaktywnego w patofizjologii miażdżycy [Role of C-reactive protein in atherogenesis], 2006. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2006; 60:538-46. Polish.
60. Dąbrowski A., *Wielka Interna, Gastroenterologia*, część I s. 299-303
61. Zegarska P, Markowska U, Płoszaj M. The importance of acute-phase proteins as markers in cancers, 2021. 2021;37(4):344-348.
62. Koj A.: Reakcja ostrej fazy i klasyfikacja białek ostrej fazy. *Diagn. Lab.* 1985, 21(6): 261–266
63. Veas, F (ed.). 2011, *Acute Phase Proteins - Regulation and Functions of Acute Phase Proteins*, IntechOpen, London. 10.5772/756;
64. Luo Z, Lei H, Sun Y, Liu X, Su DF. Orosomucoid, an acute response protein with multiple modulating activities, 2015. *J Physiol Biochem.* 2015 Jun;71(2):329-40.
65. Sochacka J., Lipska I. Rola α 1-kwaśnej glikoproteiny surowicy krwi ludzkiej w procesie wiązania leków, 2014. *Farmacja polska* 2014. 70. s 55-62
66. Lomas DA, Parfrey H. Alpha1-antitrypsin deficiency. 4: *Molecular pathophysiology*, 2004. *Thorax.* 2004 Jun; 59(6):529-35.
67. Gooptu B, Lomas DA. Conformational pathology of the serpins: themes, variations, and therapeutic strategies 2009. *Annu Rev Biochem.* 2009; 78:147-76.
68. Struniawski R, Szpechciński A, Chorostowska-Wynimko J. Diagnostyka molekularna niedoboru alfa-1-antytrypsyny w praktyce klinicznej [Molecular

- diagnostics of alpha-1-antitrypsin deficiency in clinical practice] 2008. *Pneumonol Alergol Pol.* 2008;76(4):253-64. Polish.
69. Chorostowska-Wynimko J. et al. Standards for diagnosis and care of patients with inherited alpha-1 antitrypsin deficiency. Recommendations of the Polish Respiratory Society, Polish Society of Pediatric Pulmonology and Polish Society of Pediatric Gastroenterology, 2016. *Pneumonol Alergol Pol* 2016; 84: 193–202.
70. Carrell RW, Lomas DA. Conformational disease, 1997. *Lancet.* 1997 Jul 12;350(9071):134-8.
71. Janciauskiene SM, Bals R, Koczulla R, Vogelmeier C, Köhnlein T, Welte T. The discovery of α 1-antitrypsin and its role in health and disease, 2011. *Respir Med.* 2011 Aug;105(8):1129-39.
72. Kohansal-Nodehi M, Swiatek-de Lange M, Tabarés G, Busskamp H. Haptoglobin polymorphism affects its N-glycosylation pattern in serum 2022. *J Mass Spectrom Adv Clin Lab.* 2022 Jul 25;25:61-70.
73. Körmöczi GF, Säemann MD, Buchta C, Peck-Radosavljevic M, Mayr WR, Schwartz DW, Dunkler D, Spitzauer S, Panzer S. Influence of clinical factors on the haemolysis marker haptoglobin 2006. *Eur J Clin Invest.* 2006 Mar; 36(3):202-9.
74. Kadkhodazadeh M, Ebadian AR, Alizadeh Tabari Z, Amid R, Moscowchi A. Association of haptoglobin and natural resistance-associated macrophage protein 1 alleles with heme-consuming periodontal pathogens in chronic periodontitis and peri-implantitis: A pilot study, 2020. *J Adv Periodontol Implant Dent.* 2020 May 2; 12(1):37-42.
75. Truman-Rosentsvit M, Berenbaum D, Spektor L, Cohen LA, Belizowsky-Moshe S, Lifshitz L, Ma J, Li W, Kesselman E, Abutbul-Ionita I, Danino D,

- Gutierrez L, Li H, Li K, Lou H, Regoni M, Poli M, Glaser F, Rouault TA, Meyron-Holtz EG. Ferritin is secreted via 2 distinct nonclassical vesicular pathways, 2018. *Blood*. 2018 Jan 18; 131(3):342-352.
76. Koperdanova M, Cullis JO. Interpreting raised serum ferritin levels, 2015. *BMJ*. 2015 Aug 3; 351:h3692.
77. de Moerloose P, Casini A, Neerman-Arbez M. Congenital fibrinogen disorders: an update, 2013. *Semin Thromb Hemost*. 2013 Sep; 39(6):585-95.
78. Davalos D, Akassoglou K. Fibrinogen as a key regulator of inflammation in disease 2012. *Semin Immunopathol*. 2012 Jan; 34(1):43-62.
79. Repetto O, De Re V. Coagulation and fibrinolysis in gastric cancer, 2017. *Ann N Y Acad Sci*. 2017 Sep;1404(1):27-48.
80. Jensen T, Kierulf P, Sandset PM, Klingenberg O, Joø GB, Godal HC, Skjønsberg OH. Fibrinogen and fibrin induce synthesis of proinflammatory cytokines from isolated peripheral blood mononuclear cells, 2007. *Thromb Haemost*. 2007 May; 97(5):822-9.
81. Kattula S, Byrnes JR, Wolberg AS. Fibrinogen and Fibrin in Hemostasis and Thrombosis, 2017. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2017 Mar; 37(3):e13-e21.
82. COVID-19 Treatment Guidelines Panel. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Treatment Guidelines. National Institutes of Health. Available at <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/>. Accessed [11.11.2023].
[Clinical Spectrum | COVID-19 Treatment Guidelines \(nih.gov\)](#)
83. Gruszewska E, Wrona A, Gudowska M, Panasiuk A, Cylwik B, Lipartowska-Klimuk K, Flisiak R, Chrostek L: The transferrin isoforms in chronic hepatitis, 2017. *Clin Biochem* 2017; 50, 1131-1135.

84. Cylwik B, Gruszewska E, Gindzienska-Sieskiewicz E, Kowal-Bielecka O, Chrostek L: Serum profile of transferrin isoforms in rheumatoid arthritis treated with biological drugs, 2019. *Clin Biochem* 2019; 74, 31-35.
85. Grytczuk A., Bauer A., Gruszewska E., Cylwik B., Chrostek L.: Changed profile of serum transferrin isoforms in Primary Biliary Cholangitis, 2020. *J. Clin. Med*, 2020; 9, 2894.
86. Lacki J.K., Klama K., Samborski W., Mackiewicz S.H., Muller W.: Comparison of microheterogeneity of alpha-1-acid-glycoprotein in serum and synovial fluid from rheumatoid arthritis patients, 1994. *Clin. Rheumatol.*, 1994; 13, 598-604
87. Giri NC. Role of Transferrin in Iron Metabolism. In: *Iron Metabolism- A Double-Edged Sword*. Edited by Marwa Zakaria and Tamer Hassan, 2022. *Biochemistry*. IntechOpen; 2022.
88. Duan S, Gu X, Fan G, Zhou F, Zhu G, Cao B. C-reactive protein or procalcitonin combined with rhinorrhea for discrimination of viral from bacterial infections in hospitalized adults in non-intensive care units with lower respiratory tract infections, 2021. *BMC Pulm Med*. 2021 Sep 28; 21(1):308.
89. Lippi G, Sanchis-Gomar F. Procalcitonin in inflammatory bowel disease: Drawbacks and opportunities, 2017. *World J Gastroenterol*. 2017 Dec 21; 23(47):8283-8290.
90. Schuetz P, Albrich W, Mueller B. Procalcitonin for diagnosis of infection and guide to antibiotic decisions: past, present and future, 2011. *BMC Med*. 2011 Sep 22; 9:107
91. Cleland DA, Eranki AP. Procalcitonin. [Updated 2023 Apr 23]. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539794/>

92. Muller B, White JC, Nylén ES, Snider RH, Becker KL, Habener JF. Ubiquitous expression of the calcitonin-receptor-like receptor 1 gene in multiple tissues in response to sepsis, 2001. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:396–404.
93. Jong Hun Kim. Clinical Utility of Procalcitonin on Antibiotic Stewardship: A Narrative Review. *Infect Chemother.* 2022 Dec;54(4):610-620
94. Baj J, Karakuła-Juchnowicz H, Teresiński G, Buszewicz G, Ciesielka M, Sitarz E, Forma A, Karakuła K, Flieger W, Portincasa P, Maciejewski R. COVID-19: specific and non-specific clinical manifestations and symptoms: the current state of knowledge, 2020. *J Clin Med* 2020; 9: 1753
95. Mucha A, Zaczek M, Kralisz M, Gruszevska E, Cylwik B, Panasiuk A, Chrostek L. The serum profile of transferrin isoforms in pancreatitis, 2022. *JCM*, 2022, 11(6):1638.
96. Huang I, Pranata R, Lim MA, Oehadianand A, Alisjahban B. C-reactive protein, procalcitonin, D-dimer, and ferritin in severe coronavirus disease-2019: a metaanalysis, 2020. *Ther Adv Respir Dis* 2020, Vol. 14: 1–14.
97. Liu F, Li L, Xu MD, Wu J, Luo D, Zhu YS et al. Prognostic value of interleukin-6, C-reactive protein, and procalcitonin in patients with COVID-19, 2020. *J Clin Virol.* 2020;127:104370.
98. Ng KJ, Yu HC, Huang Tseng HY, Hsu CW, Lu MC. Modestly Elevated Serum Procalcitonin Levels in Patients with Rheumatoid Arthritis Free of Active Infection, 2020. *Medicina (Kaunas).* 2020 Oct 17;56(10):545.
99. Buhaescu I, Yood RA, Izzedine H. Serum procalcitonin in systemic autoimmune diseases--where are we now? 2010. *Semin Arthritis Rheum.* 2010 Oct;40(2):176-83.

100. Chen K, Pleasants KA, Pleasants RA, Beiko T, Washburn RG, Yu Z, Zhai S, Drummond MB. Procalcitonin for Antibiotic Prescription in Chronic Obstructive Pulmonary Disease Exacerbations: Systematic Review, Meta-Analysis, and Clinical Perspective, 2020. *Pulm Ther.* 2020 Dec;6(2):201-214.
101. Lippi G, Sanchis-Gomar F. Procalcitonin in inflammatory bowel disease: Drawbacks and opportunities, 2017. *World J Gastroenterol.* 2017 Dec 21; 23(47):8283-8290.
102. Wu SC, Liang CX, Zhang YL, Hu WP. Elevated serum procalcitonin level in patients with chronic kidney disease without infection: A case-control study, 2020. *J Clin Lab Anal.* 2020 Feb; 34(2):e23065.
103. Covington EW, Roberts MZ, Dong J. Procalcitonin Monitoring as a Guide for Antimicrobial Therapy: A Review of Current Literature 2018. *Pharmacotherapy.* 2018 May;38(5):569-581.
104. Leger D., Champion B., Decottignies J-P., Montreuil J., Spik G. Physiological significance of the marked increased branching of the glycans of human serotransferrin during pregnancy, 1989. *Biochem. J.* 1989; 257, pp 231-238.
105. de Jong G, van Noort WL, Feelders RA, de Jeu-Jaspars CM, van Eijk HG. Adaptation of transferrin protein and glycan synthesis, 1992. *Clin Chim Acta.* 1992 Nov 16; 212(1-2):27-45.
106. Raport zakazeń koronawirusem (SARS-CoV-2) - Koronawirus: informacje i zalecenia - Portal Gov.pl (www.gov.pl)
<https://www.gov.pl/web/koronawirus/wykaz-zarazen-koronawirusem-sars-cov-2>
107. Fajgenbaum DC, June CH. Cytokine Storm, 2020. *N Engl J Med.* 2020 Dec 3;383(23):2255-2273.

10 SPIS TABEL

TABELA 2. OBECNE WARIANTY VOI (28).....	12
TABELA 3. NAJCZĘSTSZE OBJAWY CHOROBY COVID-19 (35).....	13
TABELA 4. CZYNNIKI RYZYKA CIĘŻKIEGO PRZEBIEGU COVID-19 (38).....	14
TABELA 5. STOPNIE CIĘŻKOŚCI PRZEBIEGU COVID-19 (35).....	15
TABELA 6. ZMODYFIKOWANA SKALA WCZESNEGO OSTRZEGANIA (MEWS) WG AOTMI T (35).....	17
TABELA 7. OBJAWY ZESPOŁU POKOWIDOWEGO (38, 39).....	19
TABELA 8. IZOFORMY TRANSFERYNY I WARTOŚĆ PUNKTU IZOELEKTRYCZNEGO (42).....	24
TABELA 9. BIAŁKA OSTREJ FAZY (55).....	27
TABELA 10. LABORATORYJNO-KLINICZNA CHARAKTERYSTYKA GRUPY KONTROLNEJ....	39
TABELA 11. POZOSTAŁE METODY LABORATORYJNE.	43
TABELA 12. ANALIZA STATYSTYCZNA BADAŃ LABORATORYJNYCH, KTÓRYCH ROZKŁADY WARTOŚCI BYŁY ZGODNE Z ROZKŁADEM NORMALNYM ($P>0,05$).	48
TABELA 13. WARTOŚCI PARAMETRÓW LABORATORYJNO-KLINICZNYCH CHORYCH Z COVID-19 W PIERWSZEJ DOBIE HOSPITALIZACJI (POBRANIE B1).	49
TABELA 14. WARTOŚCI PARAMETRÓW LABORATORYJNO-KLINICZNYCH CHORYCH Z COVID-19 W DZIEWIĄTEJ DOBIE HOSPITALIZACJI (POBRANIE B2).	50
TABELA 15. ANALIZA STATYSTYCZNA WARTOŚCI WYNIKÓW LABORATORYJNO-KLINICZNYCH CHORYCH Z COVID-19 PRZY PRZYJĘCIU (POBRANIE B1) I W DZIEWIĄTEJ DOBIE HOSPITALIZACJI (POBRANIE B2) DO GRUPY KONTROLNEJ ORAZ POMIĘDZY BADANIAM I B1 I B2.	52
TABELA 16. WARTOŚCI BIAŁEK OSTREJ FAZY ORAZ IZOFORM TRANSFERYNY W GRUPIE CHORYCH Z COVID-19 PRZY PRZYJĘCIU (POBRANIE B1).	54
TABELA 17. WARTOŚCI BIAŁEK OSTREJ FAZY ORAZ IZOFORM TRANSFERYNY W GRUPIE CHORYCH Z COVID-19 W DZIEWIĄTEJ DOBIE HOSPITALIZACJI (POBRANIE B2).	55
TABELA 18. WARTOŚCI BIAŁEK OSTREJ FAZY ORAZ IZOFORM TRANSFERYNY W GRUPIE KONTROLNEJ.....	55
TABELA 19. ANALIZA STATYSTYCZNA WARTOŚCI BIAŁEK OSTREJ FAZY I IZOFORM TRANSFERYNY W GRUPIE BADANEJ W GRUPIE CHORYCH Z COVID-19 PRZY PRZYJĘCIU (POBRANIE B1) I W GRUPIE CHORYCH NA COVID-19 W DZIEWIĄTEJ DOBIE HOSPITALIZACJI (POBRANIE B2) DO GRUPY KONTROLNEJ.....	56
TABELA 20. ANALIZA STATYSTYCZNA WARTOŚCI BIAŁEK OSTREJ FAZY I IZOFORM TRANSFERYNY W GRUPIE BADANEJ CHORYCH Z COVID-19 PRZY PRZYJĘCIU	

(POBRANIE B1) WEDŁUG STOPNIA CIĘŻKOŚCI CHOROBY (C - PRZEBIEG CIĘŻKI, U - PRZEBIEG UMIARKOWANY, K – PRZEBIEG KRYTYCZNY, C/K – PRZEBIEG GRANICZNY UMIARKOWANY/KRYTYCZNY).	64
TABELA 21. ANALIZA STATYSTYCZNA STĘŻENIA CRP W GRUPIE CHORYCH Z COVID-19 W 9 DOBIE HOSPITALIZACJI Z UWZGLĘDNIENIEM STOPNIA CIĘŻKOŚCI CHOROBY.	66
TABELA 22. ANALIZA STATYSTYCZNA WARTOŚCI BIAŁEK OSTREJ FAZY W GRUPIE CHORYCH Z COVID-19 POBRANIE PRZY PRZYJĘCIU (B1) W ZALEŻNOŚCI OD OBECNOŚCI BURZY CYTOKINOWEJ.	66
TABELA 23. STĘŻENIA BIAŁEK OSTREJ FAZY I IZOFORM TRANSFERYNY W GRUPIE CHORYCH Z COVID- 19 PRZY PRZYJĘCIU (POBRANIE B1) Z BURZĄ CYTOKINOWĄ. 67	67
TABELA 24. STĘŻENIA BIAŁEK OSTREJ FAZY I IZOFORM TRANSFERYNY W GRUPIE CHORYCH Z COVID- 19 PRZY PRZYJĘCIU (POBRANIE B1) BEZ BURZY CYTOKINOWEJ.	68
TABELA 25. ANALIZA STATYSTYCZNA WARTOŚCI BIAŁEK OSTREJ FAZY ORAZ IZOFORM TRANSFERYNY W ZALEŻNOŚCI OD STOSOWANEJ TLENOTERAPII/RESPIRATOTERAPII W GRUPIE CHORYCH Z COVID-19 PRZY PRZYJĘCIU (POBRANIE B1), (N – NISKI PRZEPŁYW TLENU, W – WYSOKI PRZEPŁYW TLENU, R – RESPIRATOTERAPIA, B – BEZ W/W).	69
TABELA 26. PORÓWNANIE STĘŻENIA BIAŁEK OSTREJ FAZY I IZOFORM TRANSFERYNY W ZALEŻNOŚCI OD OBECNOŚCI CHOROBY PRZEWLEKŁEJ (POBRANIE B1).	77
TABELA 27. WARTOŚCI BIAŁEK OSTREJ FAZY I IZOFORM TRANSFERYNY W GRUPIE CHORYCH Z COVID-19 PRZY PRZYJĘCIU (POBRANIE B1) Z OBECNĄ CHOROBA PRZEWLEKŁĄ.	78
TABELA 28. WARTOŚCI BIAŁEK OSTREJ FAZY I IZOFORM TRANSFERYNY W GRUPIE CHORYCH Z COVID-19 PRZY PRZYJĘCIU (POBRANIE B1) BEZ CHOROBY PRZEWLEKŁEJ.	78
TABELA 29. PORÓWNANIE STĘŻENIA BIAŁEK OSTREJ FAZY I IZOFORM TRANSFERYNY W ZALEŻNOŚCI OD STATUSU SZCZEPIENIA PACJENTÓW.	80
TABELA 30. PORÓWNANIE WYNIKÓW STĘŻEŃ BIAŁEK OSTREJ FAZY I IZOFORM TRANSFERYNY U PACJENTÓW Z COVID-19, KTÓRZY ZMARLI W TRAKCIE HOSPITALIZACJI WOBEC CHORYCH KTÓRYCH WYPISANO Z ODDZIAŁU (POBRANIE B1).	81
TABELA 31. PORÓWNANIE WYNIKÓW BIAŁEK OSTREJ FAZY I IZOFORM TRANSFERYNY U PACJENTÓW PRZEKAZANYCH NA OIT WOBEC CHORYCH NIE WYMAGAJĄCYCH LECZENIA W OIT (POBRANIE B2).	82
TABELA 32 ANALIZA WYNIKÓW BIAŁEK OSTREJ FAZY I IZOFORM TRANSFERYNY U PACJENTÓW KTÓRZY ZMARLI W TRAKCIE HOSPITALIZACJI W PORÓWNIANIU DO PACJENTÓW WYPISANYCH Z ODDZIAŁU.	82

TABELA 33. STĘŻENIE PROKALCYTONINY I TRANSFERYNY U CHORYCH Z COVID-19, KTÓRZY ZOSTALI WYPISANI Z ODDZIAŁU (P) LUB ZMARLI W TRAKCIE HOSPITALIZACJI (N).....	83
TABELA 34. WYNIKI BIAŁEK OSTREJ FAZY I IZOFORM TRANSFERYNY W GRUPIE PACJENTÓW Z COVID-19, KTÓRZY ZOSTALI WYPISANI Z ODDZIAŁU (POBRANIE B1).	83
TABELA 35 WYNIKI BIAŁEK OSTREJ FAZY I IZOFORM TRANSFERYNY W GRUPIE PACJENTÓW Z COVID-19, KTÓRZY ZMARLI W TRAKCIE HOSPITALIZACJI (POBRANIE B1).	84
TABELA 36 PORÓWNANIE WYNIKÓW BIAŁEK OSTREJ FAZY I IZOFORM TRANSFERYNY U PACJENTÓW WYPISUJĄCYCH SIĘ Z ODDZIAŁU Z WYNIKAMI PACJENTÓW W DRUGIM POBRANIU (GRUPA B2).....	85

11 SPIS RYCIN

RYCINA 1. WIRUS SARS-CoV-2 W OBRAZIE Z TRANSMISYJNEGO MIKROSKOPU ELEKTRONOWEGO (3).....	6
RYCINA 2. SCHEMAT STRUKTURY KORONAWIRUSA (9).....	7
RYCINA 3. MECHANIZM WNIKANIA SARS-CoV-2 DO KOMÓRKI ŻYWCIELA (24).	9
RYCINA 4. SCHEMAT REPLIKACJI I WYDZIELANIA WIRUSA SARS-CoV-2 (24).	10
RYCINA 5. SCHEMAT STRUKTURY CDT (NP. DISIALO-Fe ²⁺ -TRANSFERYNA), (42).....	21
RYCINA 6. WARTOŚCI BIAŁEK OSTREJ FAZY I IZOFORM TRANSFERYNY W BADANYCH GRUPACH ORAZ W GRUPIE KONTROLNEJ. NAWIASEM ZAZNACZONO RÓŻNICE ISTOTNE STATYSTYCZNIE POMIĘDZY GRUPĄ CHORYCH Z COVID-19 PRZY PRZYJĘCIU (POBRANIE B1) I GRUPĄ CHORYCH NA COVID-19 W DZIEWIĄTEJ DOBIE HOSPITALIZACJI (POBRANIE B2) ORAZ W PORÓWNANIU DO GRUPY KONTROLNEJ. ...	57
RYCINA 7. STĘŻENIA BIAŁEK OSTREJ FAZY U CHORYCH Z COVID-19 W PIERWSZEJ DOBIE (POBRANIE B1) I DZIEWIĄTEJ DOBIE HOSPITALIZACJI (POBRANIE B2) U KTÓRYCH STOSOWANO TLENOTERAPIĘ O NISKIM PRZEPLYWIE TLENU.	72
RYCINA 8. STĘŻENIA BIAŁEK OSTREJ FAZY U CHORYCH Z COVID-19 W PIERWSZEJ DOBIE (POBRANIE B1) I DZIEWIĄTEJ DOBIE HOSPITALIZACJI (POBRANIE B2) U KTÓRYCH STOSOWANO TLENOTERAPIĘ O WYSOKIM PRZEPLYWIE TLENU.	74