

lek. med. Dorota WYROSTKIEWICZ

**OCENA CZYNNIKÓW RYZYKA
ŻYLNEJ CHOROBY ZAKRZEPOWO – ZATOROWEJ
U CHORYCH PO COVID-19**

**Risk factors assessment of venous thromboembolism
in patients after COVID-19**

Rozprawa na stopień naukowy doktora nauk medycznych

Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie

Promotor:

prof. dr hab. n. med. Witold TOMKOWSKI

Promotor pomocniczy:

dr hab. n. med. Katarzyna LEWANDOWSKA

I Klinika Chorób Płuc Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie

Warszawa, 2024

Składam serdeczne podziękowania

Panu prof. dr hab. n. med. Witoldowi TOMKOWSKIEMU,

Pani prof. dr hab.n. med. Monice SZTURMOWICZ,

Pani dr hab. n. med. Katarzynie LEWANDOWSKIEJ,

a także wszystkim współpracownikom oraz mojej rodzinie

za poświęcony czas, cierpliwość i ogromne wsparcie

na wszystkich etapach powstawania tej pracy.

Spis treści

Spis treści.....	3
1 WSTĘP.....	8
1.1 Wprowadzenie.....	8
1.2 Zapalenie płuc wywołane zakażeniem <i>SARS-CoV-2</i>	11
1.2.1 Patofizjologia COVID-19	11
1.2.2 Czynniki ryzyka zakażenia i ciężkiego przebiegu <i>SARS-CoV-2</i>	14
1.2.3 Diagnostyka infekcji	14
1.2.4 Stopnie ciężkości COVID-19	16
1.2.5 Obrazy histologiczne zapalenia płuc	16
1.3 Patogeneza powikłań zakrzepowo-zatorowych po zakażeniu <i>SARS- CoV-2</i>	18
1.3.1 Patofizjologia	18
1.3.2 Wyniki badań laboratoryjnych.....	22
1.3.3 Czynniki ryzyka ŻChZZ	23
1.3.4 Diagnostyka obrazowa ŻChZZ u chorych na COVID-19	25
1.3.5 Częstość występowania ŻChZZ u chorych po COVID-19	26
1.4 Profilaktyka i leczenie żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej u pacjentów w trakcie COVID-19.....	28
1.5 Podsumowanie	31
2 CEL i ZAŁOŻENIA PRACY	32
2.1 Cel pracy	32
2.2 Założenia pracy	32
3 MATERIAŁ (GRUPA BADANA)	33
3.1 Charakterystyka grupy badanej.....	35
3.2 Przebieg COVID-19.....	37
3.3 Czas wystąpienia ŻChZZ od COVID-19	39
4 METODY BADANIA.....	40
4.1 Wykrywanie zakażenia wirusem <i>SARS-CoV-2</i>	40

4.2	Badania laboratoryjne	41
4.3	Badanie ultrasonograficzne żył kończyn dolnych (6 punktowe)	42
4.4	Badanie tomografią komputerową klatki piersiowej	43
4.5	Metody statystyczne	44
5	WYNIKI	45
5.1	Dane demograficzne grupy badanej z ŻChZZ i bez ŻChZZ	45
5.2	Dane kliniczne	47
5.3	Choroby współistniejące	50
5.4	Stopień ciężkości COVID-19	51
5.5	Parametry biochemiczne krwi	52
5.6	Cytokiny prozapalne, PAI-1 i ferrytyna	53
6	OMÓWIENIE WYNIKÓW	60
6.1	Wstęp	60
6.2	Częstość występowania żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej	62
6.3	Ciężkość przebiegu COVID-19 oraz choroby towarzyszące zwiększające ryzyko ŻChZZ	64
6.4	Oznaczenia stężenia cytokin prozapalnych, PAI-1, ferrytyny	67
6.4.1	Stężenie TNF- α u chorych po przebytych COVID-19 w grupie bez i z ŻChZZ	67
6.4.2	Interleukina 6 (IL-6)	73
6.4.3	Interleukina -8 (IL-8)	75
6.4.4	Interleukina-10 (IL-10)	75
6.4.5	Ferrytyna	76
6.4.6	PAI-1	77
6.4.7	Podsumowanie	78
7	WNIOSKI:	80
8	STRESZCZENIE	81
9	SUMMARY	84

10	PIŚMIENNICTWO	87
11	SPIS TABEL	96
12	SPIS RYCIN.....	97

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW:

ACA – American College of Cardiology

ACE-2 – angiotensin-converting enzyme 2 (enzym konwertujący angiotensynę 2)

aPL – antiphospholipid antibodies (przeciwciała antyfosfolipidowe)

AHA – American Heart Association

APTT – activated partial thromboplastin time (czas częściowej tromboplastyny po aktywacji)

ARDS – acute respiratory distress syndrome (zespół ostrej niewydolności oddechowej)

ATE – arterial thromboembolism (zakrzepica tętnicza)

BMI – Body Mass Index (wskaźnik masy ciała)

BTS – British Thoracic Society

CAC – COVID-19-associated coagulopathy (koagulopatia związana z COVID-19)

COVID-19 – coronavirus disease 2019 (choroba wywołana przez wirus *SARS-CoV-2*)

CRS – cytokine release syndrome (zespół uwalniania cytokin)

CTPA – computer tomography pulmonary angiography (angiografia tętnicy płucnej metodą tomografii komputerowej)

DIC – disseminated intravascular coagulation (rozsiane wykrzepianie wewnątrznaczyniowe)

DNA – deoxyribonucleic acid (kwas deoksyrybonukleinowy)

ECMO – extra corporeal membrane oxygenation (pozaustrojowe wspomaganie utlenowania krwi)

ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay (test immunoenzymatyczny)

ERS – European Respiratory Society

ESC – European Society of Cardiology

GKS – glikokortykosteroidy

GM-CSF – granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów)

HFNOT – high flow nasal oxygen therapy (tlenoterapia wysokoprzepływowa wykorzystująca wysokoprzepływową kaniulę donosową) IFN- γ – interferon gamma

IL – interleukin (interleukina)

ISTH – International Society on Thrombosis and Hemostasis

LDH – dehydrogenaza mleczanowa

LMWH – low-molecular-weight heparin (heparyna drobnocząsteczkowa)

M – mean (średnia)

M-CSF – macrophage colony stimulating factor (czynnik stymulujący tworzenie kolonii makrofagów)

MERS – middle east respiratory syndrome (bliskowschodni zespół niewydolności oddechowej)

NAAT – nucleic acid amplification test (test amplifikacji kwasu nukleinowego)

NETs – neutrophil extracellular traps (neutrofilowe sieci zewnątrzkomórkowe)

NICE – National Institute for Health and Care Excellence

NIV – non-invasive ventilation (nieinwazyjna wentylacja)

OIT– Oddział Intensywnej Terapii

PAI-1– plasminogen activator inhibitor 1 (inhibitor tkankowego aktywatora plazminogenu 1)

PT – prothrombin time (czas protrombinowy)

ROC – receiver operating characteristic (charakterystyka operacyjna odbiornika)

RTG – badanie radiologiczne

RT-PCR – real time reverse-transcription polymerase chain reaction (łańcuchowa reakcja polimerazy w czasie rzeczywistym z odwrotną transkryptazą)

SARS-CoV-2 – severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (koronawirus ciężkiego ostrego zespołu oddechowego 2)

SD – standard deviation (odchylenie standardowe)

SpO₂ – wysycenie tlenem hemoglobiny

TF – tissue factor (czynnik tkankowy)

TGF- β – transforming growth factor beta (transformujący czynnik wzrostu nowotworów beta)

TK – tomografia komputerowa

TKWR – tomografia komputerowa wysokiej rozdzielczości

TNF- α – tumor necrosis factor (czynnik martwicy nowotworów)

VEGF – vascular endothelial growth factor (czynnik wzrostu śródbłónka naczyniowego)

vWF – von Willebrand factor (czynnik von Willebranda)

WHO – World Health Organisation (Światowa Organizacja Zdrowia)

ZTP – zator tętnicy płucnej

ZŻG – zakrzepica żył głębokich

ŻChZZ – żylna choroba zakrzepowo-zatorowa.

1 WSTĘP

1.1 Wprowadzenie

Globalna pandemia wywołana przez wirus *SARS-CoV-2* (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) w 2019 roku, choroba COVID-19 (coronavirus infection disease), miała znaczący wpływ na zdrowie całej populacji światowej. Poza koniecznością leczenia dużej liczby ciężko chorych pacjentów, w okresie pandemii pojawiła się również potrzeba zrozumienia długotrwałych konsekwencji zdrowotnych u osób, które przebyły zakażenie *SARS-CoV-2*. Jednym z istotnych aspektów, jest zwiększone ryzyko żylnej choroby zakrzepowo-zatorowej (ŻChZZ) u tych chorych [1].

Chociaż pierwotnie COVID-19 był identyfikowany głównie jako choroba układu oddechowego, to obecnie wiadomo, że zdolność *SARS-CoV-2* do wpływania na wszystkie narządy i układy organizmu ma ogromne znaczenie. Wpływ wirusa na układ krążenia i hemostazy stał się przedmiotem wielu badań, w wyniku których zaobserwowano, że COVID-19 może prowadzić do różnych powikłań zakrzepowo-zatorowych, a osoby, które przebyły zakażenie, mogą być narażone na długotrwałe skutki tych zdarzeń.

COVID-19, jest to zagrażająca życiu choroba zakaźna wywołana przez koronawirusa 2 (*SARS-CoV-2*) zespołu ostrej niewydolności oddechowej. Została po raz pierwszy zidentyfikowana w chińskim mieście Wuhan pod koniec 2019 r., a następnie rozprzestrzeniła się na cały świat, osiągając rozmiary pandemii. Według statystyk Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organisation – WHO) w chwili pisania tego opracowania (tj. w lipcu 2024 r.) *SARS CoV-2* spowodował już ponad 775 milionów potwierdzonych zakażeń i ponad 7 milionów zgonów [1].

COVID-19 jest chorobą zapalną całego organizmu. Spektrum kliniczne choroby rozciąga się od infekcji bezobjawowej lub skąpoobjawowej, poprzez infekcję z łagodnymi objawami grypopodobnymi, aż do choroby zagrażającej życiu, z zespołem ostrej niewydolności oddechowej (acute respiratory distress syndrome – ARDS) i zakrzepicą naczyń płucnych. Nadmierna aktywacja układu immunologicznego, a następnie uwalnianie cytokin są odpowiedzialne za uszkodzenia wielonarządowe występujące w chorobie o ciężkim przebiegu [1]. Główne objawy to: gorączka, suchy kaszel, duszność, zmęczenie, bóle mięśni, zaburzenia węchu i smaku. Rzadziej występują także: biegunka, ból gardła, bóle głowy czy katar. Symptomy różnią się nasileniem u różnych pacjentów. W niektórych

przypadkach infekcja rozwija się praktycznie bezobjawowo, jednak u części chorych przebieg może być bardzo ciężki, prowadzący do obustronnego zapalenia płuc i w jego konsekwencji do niewydolności oddechowej, a nawet zgonu pacjenta. Narastające problemy to także komplikacje po przebytych COVID-19. Zakażenie *SARS-CoV-2* wiąże się ze zwiększonym ryzykiem powikłań sercowo-naczyniowych, zwłaszcza zakrzepowozatorowych, które są związane zarówno z zakrzepicą małych naczyń jak i rozwojem żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej [2].

Brytyjski National Institute for Health and Care Excellence (NICE) w porozumieniu ze Scottish Intercollegiate Guidelines Network oraz The Royal College of General Practitioners w swoich wytycznych z listopada 2023 roku określił następujące postaci COVID-19:

- 1) **ostry COVID-19** (acute COVID-19) – dolegliwości i objawy COVID-19 trwające do 4 tygodni;
- 2) **przedłużający się objawowy COVID-19** (ongoing symptomatic COVID-19) – dolegliwości i objawy COVID-19 trwające od 4 do 12 tygodni;
- 3) **zespół post-COVID-19** (post-COVID-19 syndrome) – dolegliwości i objawy, które rozwijają się w trakcie lub po COVID-19 i trwają >12 tygodni oraz nie wynikają z innego rozpoznania.

Zespół post-COVID-19, charakteryzuje się złożoną symptomatologią obejmującą różne narządy i układy. W literaturze używany jest również termin „long COVID”, który definiuje oznaki i objawy utrzymujące lub rozwijające się po ostrym COVID-19. Obejmuje on zarówno trwający objawowy COVID-19 (od 4 do 12 tyg.), jak i zespół post COVID-19 (powyżej 12 tygodni) [1]. Według aktualnej definicji WHO zespół post COVID-19 diagnozowany jest u osób z prawdopodobną lub potwierdzoną infekcją *SARS-CoV-2* w wywiadzie, zwykle 3 miesiące od wystąpienia COVID-19, z objawami utrzymującymi się przez co najmniej 2 miesiące, których nie można wytłumaczyć alternatywną diagnozą. Do najczęstszych objawów klinicznych zgłaszanych przez chorych należą: duszność, kaszel, ból w klatce piersiowej, zmęczenie. Poza tym wymieniane są objawy neurologiczne (zaburzenia koncentracji, bóle głowy, zaburzenia snu, węchu i smaku), objawy ze strony układu pokarmowego, narządu ruchu, zaburzenia psychiatryczne takie jak depresja czy lęk. Objawy te wymagają wielodyscyplinarnego podejścia i monitorowania pacjentów po przechorowaniu COVID-19, celem zapobiegania ciężkim powikłaniom choroby. Symptomy mogą pojawić się

ponownie, u chorych, którzy wyzdrowieli po ostrym epizodzie COVID-19 lub po kilku tygodniach od początku choroby. Objawy mogą również zmieniać się lub nawracać w czasie [1]. Osoby zarażone *SARS-CoV-2* w większości wracają do pełnego zdrowia w ciągu kilku tygodni od zachorowania. Post-COVID może dotyczyć chorych, niezależnie od stopnia ciężkości choroby. Zespół post-COVID jest obszarem intensywnych badań, a jego mechanizmy i skutki są wciąż słabo zrozumiane. Część objawów może wynikać z uszkodzeń narządów, takich jak płuca czy serce, a inne mogą być wynikiem utrzymującej się nieprawidłowej reakcji układu immunologicznego. Osoby doświadczające objawów zespołu post-COVID-19 często wymagają kompleksowej opieki medycznej, a leczenie powinno obejmować zarówno farmakoterapię, psychoterapię jak i rehabilitację. Zaleca się również monitorowanie stanu zdrowia pacjentów z objawami tego zespołu. Obecnie istnieją dowody na to, że tak zwany zespół powirusowy jest dość powszechnym następstwem COVID-19 u oficjalnie wyleczonych pacjentów [1].

1.2 Zapalenie płuc wywołane zakażeniem *SARS-CoV-2*

W dniu 30 stycznia 2020 r. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) ogłosiła nowy rodzaj choroby epidemicznej wywołanej przez wirus *SARS-CoV-2* zwaną jako choroba COVID-19 [1]. W marcu 2020 roku WHO uznała serię zachorowań na COVID-19, jako pandemię [1]. W Polsce pierwsze zakażenie potwierdzono 4 marca 2020 roku [3]. Aby znaleźć rozwiązania, które pozwolą powstrzymać pandemię, poznać zagrożenia oraz czynniki ryzyka ciężkiego przebiegu i śmiertelności u chorych na COVID-19 przeprowadzane są liczne badania naukowe, które przynoszą postępy w diagnostyce, terapii, profilaktyce oraz opiece nad chorymi po przebytych zakażeniu *SARS CoV-2*. Z uwagi na utrzymującą się dużą liczbę zachorowań na COVID-19 na całym świecie, pandemia stanowi nadal poważne wyzwanie dla sektora ochrony zdrowia. Narastające problemy to także komplikacje po przebytych COVID-19 w postaci zespołów post-COVID, stanowiących wyzwanie zarówno dla klinicystów, jak i naukowców [1].

1.2.1 Patofizjologia COVID-19

Wirus *SARS-CoV-2* przenosi się z człowieka na człowieka drogą kropelkową, ale źródłem zakażenia może być również aerozol, wytwarzany np. przy procedurach medycznych lub drogą kontaktową. Materiałem zakaźnym jest wydzielina dróg oddechowych [4], [5]. Okres wylęgania wynosi między 2 a 14 dni (średnio 6 dni). Okres zakaźności nie jest jednoznacznie określony. Chorzy, którzy ciężko przechodzą zakażenie lub chorzy w immunosupresji mogą wydalać wirusa znacznie dłużej [5]. Wspólną cechą betakoronawirusów, w tym *SARS-CoV-1* – koronawirus wywołujący SARS, *MERS-CoV* - koronawirus wywołujący MERS (Middle East Respiratory Syndrom) i *SARS-CoV-2* jest zdolność do replikacji w dolnych drogach oddechowych i wywoływanie ciężkiej postaci zapalenia płuc [6]. Śmiertelność pacjentów wzrasta gwałtownie wraz z rozwinięciem zespołu ostrej niewydolności oddechowej (ARDS) [7].

Wirus *SARS-CoV-2* wiąże się z receptorem angiotensyny, przekształcając receptor enzymu typu 2 (ACE-2) w ludzkich komórkach, a podjednostka S2 zakotwicza białko S w błonie komórkowej. Receptory ACE-2 znajdują się na powierzchni komórek nabłonka dróg oddechowych, ale również w całym układzie sercowo-naczyniowym, układzie pokarmowym i łożysku, co czyni te narządy celem zakażenia *SARS-COV-2*. Receptory ACE-2 są obecne na komórkach śródbłonka zarówno naczyń tętniczych, jak i żylnych [8]. Zapalenie naczyń i uszkodzenie komórek śródbłonka może rozwinąć się w wyniku bezpośredniej inwazji

wirusowej lub pośrednio w przebiegu hipoksemii i odpowiedzi zapalnej układu odpornościowego gospodarza. Uszkodzenie komórek śródbłónka powoduje napływ morfologicznych składników krwi oraz komórek zapalnych i mediatorów do pozbawionej nabłónka ściany naczyń. Płytki krwi są najpierw rekrutowane, a po aktywacji uwalniają receptory adhezyjne, w tym selektynę P, czynnik płytkowy 4 oraz chemokiny, które pośredniczą w rekrutacji komórek odporności wrodzonej, w tym peptydu aktywującego neutrofile-2, który stymuluje dalszą rekrutację i aktywację neutrofilów, monocytów i makrofagów. Cytokiny zapalne w ciężkim przebiegu COVID-19 takie jak IL-1 β oraz interferon typu I i III, mogą zwiększać ekspresję receptora ACE-2, potencjalnie ustanawiając pętlę dodatniego sprzężenia zwrotnego dla replikacji wirusa. Jednak ich wpływ na ciężkość choroby jest nieznany [8].

Neutrofile i makrofagi są komórkami pierwszej linii obrony, eliminującymi mikroorganizmy poprzez niespecyficzne mechanizmy, takie jak stres oksydacyjny i wytwarzanie różnych czynników przeciwdrobnoustrojowych. Rola neutrofilów w kontrolowaniu infekcji obejmuje fagocytozę patogenów, aktywność proteolityczną substancji wchodzących w skład ziarnistości azurofilowych oraz tworzenie zewnątrzkomórkowych pułapek neutrofilów (Neutrophil Extracellular Traps – NETs.). NETs to duże, zewnątrzkomórkowe, przypominające pajęczynę struktury utworzone z włókien DNA i histonów z substancjami proteolitycznymi ze zdegranulowanych ciał azurofilowych, takimi jak elastaza neutrofilowa, mieloperoksydaza, katepsyna G, laktoferyna i inne. Są bardzo skuteczne w wychwytywaniu i niszczeniu patogenów, lokalizując w ten sposób infekcję i ograniczając jej rozprzestrzenianie się [9]. Monocyty, które docierają do przestrzeni pozanaczyniowej, zostają aktywowane i różnicują się w dojrzałe makrofagi tkankowe. Ponadto produkty degranulacji uwalniane przez neutrofile mają również istotny wpływ na przemianę monocytów w makrofagi. Makrofagi mogą wykazywać właściwości pro- lub przeciwzapalne. Wyróżnia się dwa typy makrofagów: makrofagi M1, różnicujące się pod wpływem czynnika stymulującego tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor - GM-CSF), o sygnaturze prozapalnej, oraz makrofagi M2, różnicujące się pod wpływem czynnika stymulującego tworzenie kolonii makrofagów (macrophage colony stimulating factor – M-CSF), o właściwościach przeciwzapalnych.

Cytokiny prozapalne wydzielane przez makrofagi M1 obejmują IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, IL-23, IL-27 i czynnik martwicy nowotworów (tumor necrosis factor alpha – TNF- α).

O właściwościach przeciwzapalnych makrofagów M2 decyduje produkcja cytokin, tj. IL-4, IL-10, IL-13, IL-19, oraz czynników wzrostu, tj. transformującego czynnika wzrostu β (transforming growth factor beta – TGF- β) i czynnika wzrostu śródbłónka naczyniowego (vascular endothelial growth factor – VEGF). W fazie zapalnej zakażenia *SARS-CoV-2* dominują cytokiny prozapalne, takie jak IL-2, IL-6, interferon γ (IFN- γ) [10]. W ciężkim COVID-19 układ odpornościowy gospodarza może być zaangażowany w rozwój hiperintensywnej odpowiedzi zapalnej, znanej jako zespół uwalniania cytokin lub „burza cytokinowa”. Mechanizmy leżące u podstaw nieograniczonego uwalniania czynników zapalnych są nadal niejasne, ale istnieje kilka hipotez. Jedna z nich dotyczy piroptozy, zapalnej postaci programowanej litycznej śmierci komórki (apoptozy), stymulowanej przez replikację wirusa. U pacjentów z COVID-19 piroptoza wywołuje uwalnianie cytokin prozapalnych i wpływa na funkcje makrofagów i limfocytów, powodując obwodową limfopenię [11].

Inna hipoteza związana jest z odpornością nabytą i wytwarzaniem przeciwciał neutralizujących przeciwko antygenowi powierzchniowemu wirusa [1]. Różne komponenty NETs są również zaangażowane w patogenezę burzy cytokinowej w zakażeniu *SARS-CoV-2*. Chociaż odpowiedzi te początkowo pomagają w zwalczaniu stanu zapalnego, ogólnoustrojowa i trwała aktywacja śródbłónka, może ostatecznie zaburzyć jego normalną strukturę i funkcję. Wewnętrzna część śródbłónka pokryta jest cienką warstwą glikozylowanych białek zwanych glikokaliksem, który wiąże osocze z jego powierzchnią. Glikokaliks reguluje przepuszczalność śródbłónka dla cząsteczek i odgrywa kluczową rolę w regulacji perfuzji mikronaczyniowej, zapobiega również adhezji trombocytów do powierzchni śródbłónka i przeciwdziała mikrozakrzepicy poprzez przechowywanie antytrombiny i trombomoduliny w warstwie plazmatycznej. Glikokaliks jest zaangażowany w inicjację odpowiedzi zapalnej i jest łatwo rozkładany w odpowiedzi na czynniki infekcyjne, uraz, operację czy chorobę sercowo-naczyniową. Heparyna chroni przed degradacją glikokaliksu poprzez mobilizację syndekanu-1 w celu odtworzenia ochronnej sieci proteoglikanów i rekonstrukcji bariery naczyniowej śródbłónka, ponadto chroni glikokaliks przed złuszczeniem, hamując aktywność heparynazy i stan zapalny, łagodząc ostre uszkodzenie płuc związane z sepsą i poprawiając przeżycie [12].

1.2.2 Czynniki ryzyka zakażenia i ciężkiego przebiegu *SARS-CoV-2*

Na podstawie dotychczasowej literatury wiadomo, że czynnikami ryzyka ciężkiego przebiegu COVID-19 są: starszy wiek, płeć męska, wysoka leukocytoza, wysokie stężenie D dimerów i wysoka aktywność dehydrogenazy mleczanowej (LDH), oraz choroby współistniejące takie jak otyłość, cukrzyca, nadciśnienie tętnicze, niewydolność serca oraz zaburzenia odporności [13], [14]. W badaniu z 2020 roku z Wuhan Li.X i wsp. wykazali, że starszy wiek, współistnienie nadciśnienia tętniczego, wysokie stężenie cytokin (IL-2R, IL-6, IL-10 i TNF- α) oraz wysoka aktywność LDH były istotnie związane z ciężkim COVID-19. Podczas średnio 32 dni obserwacji, szacowana śmiertelność wynosiła 1,1% u pacjentów leczonych w oddziałach zachowawczych i 32% wśród pacjentów wymagających przyjęcia do OIT. Te same czynniki (wiek, wysoka aktywność LDH) a dodatkowo płeć męska, wysoka leukocytoza, niewydolność serca, hiperglikemia i stosowanie dużych dawek kortykosteroidów były związane ze zwiększoną śmiertelnością pacjentów z ciężką postacią COVID-19 [14]. Kolejne badania i ich metaanalizy potwierdziły, że te czynniki ryzyka są najważniejszymi predyktorami ciężkiego przebiegu COVID-19 [12].

1.2.3 Diagnostyka infekcji

Aktualnie celem identyfikacji zakażenia *SARS-CoV-2* wykorzystuje się następujące testy diagnostyczne [11], [15]:

1. RT-PCR (real time reverse-transcription polymerase chain reaction) – reakcja łańcuchowa polimerazy z odwrotną transkrypcją uznana za „złoty standard” diagnostyczny, jest badaniem molekularnym, które wykrywa materiał genetyczny wirusa metodą amplifikacji kwasów nukleinowych (nucleic acid amplification test – NAAT). Zalecane testy powinny wykrywać przynajmniej dwa geny. Materiałem wykorzystywanym do badania może być wymaz z nosogardła, aspirat z nosowej części gardła, wymaz z nosa i gardła, aspirat z tchawicy lub płyn z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego. Czulość testów RT-PCR z wymazu z nosogardła i gardła równocześnie wynosi 97% [16].
2. Testy antygenowe są alternatywą dla badania RT-PCR, wykrywają dwa główne antygeny *SARS-CoV-2*: powierzchniowe białka S i N. W testach wykorzystuje się metody immunochemiczne (enzyme-linked immunosorbent assay – ELISA) lub testy chemiluminescencyjne i jakościowe testy immunochromatograficzne. Testy te są łatwe do wykonania, dostępne komercyjnie i mogą służyć również do domowego użytku

przez pacjentów. Mają mniejszą czułość niż testy RT-PCR. Wyniki ujemne powinny być weryfikowane testem RT-PCR, gdy istnieje duże ryzyko lub podejrzenie zakażenia *SARS-CoV-2*. Materiałem do badania może być ślina, wymaz z nosogardła, wymaz z nosa i gardła. Zaleca się stosowanie testów antygenowych o wysokiej czułości diagnostycznej co najmniej 90% oraz swoistości diagnostycznej co najmniej 97% [16].

3. Wykrywanie przeciwciał anti-*SARS-CoV-2* nie jest metodą przydatną w diagnostyce ostrej infekcji *SARS-CoV-2*, gdyż przeciwciała wytwarzane są zwykle po ok. dwóch tygodniach od momentu zakażenia. Oznaczenie swoistych przeciwciał w klasie IgG i IgM wykonuje się metodą ELISA lub metodą chemiluminescencji. Badania serologiczne wykorzystywane są jako uzupełnienie diagnostyki, nie mogą być używane zamiennie. Narastanie miana przeciwciał IgG w surowicy, w odstępie dwóch tygodni, może służyć potwierdzeniu zakażenia *SARS-CoV-2* u chorego, u którego zakażenia nie udało się potwierdzić metodą RT-PCR i testem antygenowym. U chorych szczepionych wykrywamy jedynie przeciwciała przeciwko antygenom białka kolca S (ang. spike), u nieszczepionych, po przechorowaniu — przeciwko antygenowi nukleokapsydu (N). W wyniku przechorowania mogą występować przeciwciała przeciwko białku S i/lub przeciwciała przeciwko białku nukleokapsydu N. Nie wszystkie osoby wytwarzają przeciwciała po szczepieniu. Jest to bardzo indywidualna cecha osobnicza. Przeciwciała mogą powstawać w różnym czasie, w różnych stężeniach lub może być ich brak. Nie należy porównywać stężenia przeciwciał oznaczanych różnymi metodami, nawet jeśli wynik jest podawany w tych samych jednostkach. Jeżeli chcemy ocenić dynamikę zmian stężenia przeciwciał w czasie, to badanie należy wykonać tym samym testem i w tym samym laboratorium. Szczepienie przeciwko COVID-19 szczepionkami mRNA lub wektorowymi nie wpływa na wynik testów wykrywających wirusa *SARS-CoV-2* (PCR lub antygenowych), więc w żadnym wypadku nie zmienia zalecanych zasad rozpoznawania aktywnego zakażenia. Wszystkie powyższe szczepionki stymulują u osoby zaszczepionej odpowiedź serologiczną skierowaną przeciwko białku S kolca *SARS-CoV-2* (swoiste IgM i IgG). Zatem testy serologiczne wykrywające przeciwciała całkowite przeciwko *SARS-CoV-2* lub swoiste przeciwko białku S dają u osób zaszczepionych wynik dodatni. W celu potwierdzenia odpowiedzi serologicznej po przebytym zakażeniu, ale nie po szczepieniu, należy oznaczyć przeciwciała IgM i IgG przeciwko białku N nukleokapsydu *SARS-CoV-2*, które powstają tylko podczas aktywnej replikacji dzikiego wirusa w organizmie [4].

1.2.4 Stopnie ciężkości COVID-19

Według wytycznych Agencji Oceny Technologii Medycznych i Taryfikacji w zależności od ciężkości przebiegu COVID-19, podzielono na cztery stopnie [13]:

- **Stopień pierwszy (st.I) – łagodny**, charakteryzuje chorych, u których zakażenie przebiega bez- lub skąpoobjawowo. Wówczas, dominującymi objawami są łagodne dolegliwości ze strony górnych dróg oddechowych, takie jak kaszel, nieżyt nosa, utrata węchu, ból gardła, ponadto może pojawić się gorączka lub stan podgorączkowy, ból głowy, bóle mięśni, objawy ze strony układu pokarmowego, takie jak nudności, biegunka, wymioty. W tym stopniu wysycenie tlenem hemoglobiny (SpO₂) wyrażona w procentach, nie spada poniżej 94%.
- **Stopień drugi (st.II) – czyli umiarkowany**, nasilają się objawy kliniczne występujące w stopniu pierwszym oraz pojawia się osłabienie, duszność i radiologiczne cechy zapalenia płuc, ale o łagodnym przebiegu. SpO₂ mieści się w przedziale 90-94%.
- **Stopień trzeci (st.III) – ciężki**, przejawia się wystąpieniem zapalenia płuc z niewydolnością oddychania. W tej fazie z powodu rozległości zajęcia płuc przez zapalenie wirusowe nasila się duszność, pojawia się tachypnoe, a saturacja krwi spada poniżej 90%. Mogą wystąpić pozapłucne objawy, takie jak udar niedokrwienny lub krwotoczny, zakrzepica żył głębokich, zatorowość płucna czy zapalenie mięśnia sercowego.
- **W stopniu czwartym (st.IV) – bardzo ciężkim (krytycznym)**, chorzy prezentują objawy skrajnie ciężkiego zapalenia płuc, po którym następuje rozwój ARDS i/lub niewydolności wielonarządowej. Nasilają się cechy niewydolności oddychania, dochodzi do upośledzenia funkcji życiowych, w przypadku nadkażenia bakteryjnego może rozwinąć się sepsa lub wstrząs septyczny. Wzrasta znacznie ryzyko wystąpienia zakrzepicy żyłnej lub tętniczej. Chorzy wymagają leczenia w Oddziałach Intensywnej Terapii [17], [18], [19], [20].

1.2.5 Obrazy histologiczne zapalenia płuc

COVID-19 może objawiać się zapaleniem płuc, które charakteryzuje się naciekiem zapalnym, z wysiękiem płynu do przestrzeni między pęcherzykami płucnymi. Obraz histopatologiczny może obejmować uszkodzenie komórek nabłonkowych pęcherzyków płucnych, co prowadzi do utraty struktury pęcherzyków, w niektórych przypadkach stwierdza się też mikrozakrzepy w naczyniach krwionośnych płuc. Obraz histologiczny płuc u osób

zakażonych wirusem *SARS-CoV-2* może różnić się w zależności od stopnia ciężkości choroby oraz od czasu od zakażenia. Na początku pandemii u większości pacjentów obrazy autopsyjne pokazywały rozlane uszkodzenia pęcherzyków płucnych (diffuse alveolar damage – DAD) oraz zmiany naczyniowe [21]. W związku z tym często stwierdzano wysięk włóknisto-śluzowy, złuszczenie się pneumocytów, błony szkliste, czyli obraz zwykle obserwowany we wczesnych fazach zespołu ARDS. Uszkodzenia typu DAD obserwowane w przebiegu *SARS-CoV-2* są podobne do opisywanych w innych okolicznościach lub patologiach indukujących takie uszkodzenia. Opisywano też obrzęk śródmiąższowy, naciek limfocytów, obecność wielojądrzastych komórek syncytialnych, obrazy ostrego organizującego się zapalenia płuc (organizing pneumonia – OP), oraz rozległych ognisk zawału płuca, zwłaszcza w bardzo ciężkich postaciach choroby [21]. Obrazy histologiczne są zmienne, niemożliwe jest, aby odróżnić czy są wywołane przez samego wirusa, odpowiedź zapalną i immunologiczną na zakażenie, niewydolność innych narządów- zwłaszcza serca, manewry resuscytacyjne, leczenie farmakologiczne czy też nadkażenie bakteryjne. Zmiany naczyniowe u pacjentów zakażonych *SARS CoV-2*, dotyczą naczyń różnego kalibru: naczyń włosowatych oraz tętniczek, ale także żyłek, żył i rzadziej dużych tętnic. Obrazy odpowiadają zakrzepom, ale także zapaleniu naczyń włosowatych lub śródbłonna. Zmiany te wynikają bezpośrednio z uszkodzenia komórek śródbłonna przez wirusa, przez tzw. „burzę cytokin” wywołaną nadmierną odpowiedzią immunologiczną i tworzeniem się agregatów wewnątrznaczyniowych neutrofili lub sieciami neutrofilowych pułapek zewnątrzkomórkowych „NETs” [21].

1.3 Patogeneza powikłań zakrzepowo-zatorowych po zakażeniu *SARS-CoV-2*

1.3.1 Patofizjologia

Nadmierna aktywność układu krzepnięcia jest charakterystyczną cechą ciężkiego przebiegu COVID-19. Inwazja wirusa *SARS-CoV-2* do komórek śródbłónka, prowadzi do ich uszkodzenia i zapoczątkowania miejscowej reakcji zapalnej, która sprzyja większej przepuszczalności naczyń. Zdrowy śródbłonek ma właściwości przeciwwakrzepowe. Wynika to z regulowanego wydzielania czynników przeciw płytkowych, w tym prostacykliny i tlenku azotu. Ponadto powierzchnia śródbłónka jest miejscem inaktywacji trombiny przez antytrombinę i jej konwersji do inhibitora krzepnięcia poprzez interakcję z trombomoduliną. Komórki śródbłónka są również źródłem krążącego tkankowego aktywatora plazminogenu (TPA) i jego inhibitora oraz inhibitora szlaku czynnika tkankowego (TFPI) [22]. Uszkodzenie komórek śródbłónka po zakażeniu *SARS-CoV-2* skutkuje zaburzeniem fizjologicznej funkcji przeciwwakrzepowej i rozwojem bardziej prozakrzepowego fenotypu. Nasilenie procesów krzepnięcia w COVID-19 może być również konsekwencją zmniejszonej fibrynolizy i reakcji immunologicznych, które wyzwalają immunozakrzepicę.

Termin immunozakrzepica, odnosi się do wewnętrznego szlaku efektorowego odporności wrodzonej wyzwalanego przez patogeny i uszkodzone komórki w celu zmniejszenia rozprzestrzeniania się i przeżycia atakującego patogenu. Z tego punktu widzenia immunozakrzepicę można uznać za korzystny mechanizm odporności wewnątrznaczyniowej, ale gdy nie jest ona kontrolowana, powoduje rozregulowaną aktywację kaskady krzepnięcia, prowadząc do mikrozakrzepicy i/lub rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego [23]. Immunozakrzepica jest ważnym mechanizmem patologicznym u pacjentów z COVID-19, w którym aktywacja komórek układu odpornościowego i dysfunkcja śródbłónka przyczyniają się do obserwowanego stanu prozakrzepowego [24]. Podstawowa cecha zakrzepicy immunologicznej polega na interakcji między układem hemostatycznym i odpornościowym, w szczególności monocytami, makrofagami i neutrofilami. Późniejsze uwalnianie cytokin przyczynia się do stanu nadkrzepliwości. Cytokiny prozapalne, w szczególności IL-6, indukują aktywację i agregację płytek krwi. Katepsyna G, proteaza serynowa wytwarzana przez neutrofile, również aktywuje płytki krwi [24].

Ważnymi czynnikami w rozregulowanej immunozakrzepicy w COVID-19 są NETs [25]. Uwolnienie NETs inicjuje procesy zakrzepowe w małych naczyniach, zarówno żyłach, jak i tętnicach, co z kolei może prowadzić do uszkodzenia wielu narządów, takich jak płuca, serce, nerki i inne. NETs wzmagają aktywność układu krzepnięcia poprzez zwiększenie odkładania fibryny. Histony obecne w NETs, zwłaszcza histony H3 i H4, mogą zwiększać wytwarzanie trombiny poprzez zmniejszanie aktywacji białka C za pośrednictwem trombomoduliny i poprzez bezpośrednią aktywację płytek krwi [26]. Ponadto obserwuje się indukowaną przez NETs agregację płytek krwi, prowadzącą do trombocytopenii obserwowanej u pacjentów z ciężkimi infekcjami. W ten sposób wykazano, że NETs odgrywają znaczącą rolę w patogenezie zakrzepicy poprzez aktywację płytek krwi, rekrutację neutrofili do ściany śródbłonka oraz aktywację wewnątrzpochodnej i zewnątrzpochodnej kaskady krzepnięcia [27].

Jak wcześniej wspomniano, *SARS-CoV-2* niszczy śródbłonek i prowadzi do apoptozy komórek, co powoduje nadmierną ekspresję czynników krzepnięcia VII, VIII i TF, uwalnianie czynnika von Willebranda aktywującego wewnątrz- i zewnątrzpochodne szlaki krzepnięcia. Stan nadkrzepliwości jest również spowodowany nieprawidłowościami układu fibrynolitycznego, takimi jak zwiększona ekspresja inhibitora aktywatora plazminogenu-1 (plasminogen activator inhibitor 1 – PAI-1) lub spadek aktywności antytrombiny. Ogólnoustrojowa i trwała aktywacja śródbłonka, może ostatecznie zaburzyć jego normalną strukturę i funkcję. Wewnętrzna część śródbłonka pokryta jest cienką warstwą glikozylowanych białek zwanych glikokaliksem, który wiąże osocze z jego powierzchnią.

Glikokaliks reguluje przepuszczalność śródbłonka dla cząsteczek i odgrywa kluczową rolę w regulacji perfuzji mikronaczyniowej, zapobiega również adhezji trombocytów do powierzchni śródbłonka i przeciwdziała mikrozakrzepicy poprzez przechowywanie antytrombiny i trombomoduliny w warstwie plazmatycznej. Glikokaliks jest zaangażowany w inicjację odpowiedzi zapalnej i jest łatwo rozkładany w odpowiedzi na czynniki infekcyjne, uraz, operację czy chorobę sercowo-naczyniową.

Wirus *SARS-CoV-2* wykorzystuje enzym konwertujący angiotensynę 2 (ACE-2) jako kluczowy receptor umożliwiający mu wnikanie do komórek, tym samym powoduje uszkodzenie układu sercowo-naczyniowego, pokarmowego czy moczowego. Skumulowana odpowiedź układu odpornościowego na *SARS-CoV-2*, zarówno poprzez stan zapalny, jak i stymulację białek prozakrzepowych, jest najprawdopodobniej głównym czynnikiem

przyczyniającym się do nadkrzepliwości w COVID-19. Jest prawdopodobne, że wszystkie wymienione mechanizmy poprzez swoje synergiczne działanie prowadzą do rozwoju trombofilii zależnej od COVID-19 i mogą powodować zakrzepicę zarówno małych, jak i dużych naczyń. Mikrozakrzepica płucna jest jednym z podstawowych mechanizmów zaangażowanych w patogenezę krytycznego COVID-19. Zakrzepica małych i bardzo małych naczyń płucnych najprawdopodobniej nasila proces zapalny i niszczenie śródbłónka, a w konsekwencji nasila rozlane uszkodzenie pęcherzyków płucnych (DAD) [28]. Te zmiany zakrzepowe występujące *in situ* w małych i bardzo małych naczyniach płucnych nie są dostępne ocenie w badaniach obrazowych naczyń płucnych, takich jak tomografia komputerowa tętnicy płucnej (computer tomography pulmonary angiography – CTPA) lub angiografia tętnic płucnych [28]. Początkowo zakrzepica umiejscawia się w naczyniach płucnych, a następnie dochodzi do uogólnienia tego zjawiska. Obraz kliniczny i laboratoryjny przypomina, koagulopatię w przebiegu sepsy, czy zespołu wykrzepiania wewnątrznaczyniowego (DIC). Różnice polegają na tym, że u chorych na COVID-19 nie obserwowano skłonności do krwawień czy wydłużenia aPTT, które, jeśli występowało, było niewielkie. Ponadto małopłytkowość jest umiarkowana, stężenie fibrynogenu podwyższone i nie obserwuje się koagulopatii ze zużycia. W opublikowanej w 2020 r. w czasopiśmie „Critical Care” pracy Iba i wsp. określili zmiany układu hemostazy obserwowane w tej grupie pacjentów jako koagulopatię związaną z COVID-19 (COVID-19-associated coagulopathy – CAC). Charakterystycznymi elementami CAC są obecność wysokiego stężenia D-dimeru i fibrynogenu, brak istotnego wydłużenia czasów krzepnięcia, brak ciężkiej małopłytkowości oraz dominacja powikłań zakrzepowo-zatorowych nad krwotocznymi [29].

Wczesne rozpoznanie koagulopatii CAC, zanim dojdzie do DIC czy rozwoju ŻChZZ ma duże znaczenie. Dlatego też odpowiednie zapobieganie zdarzeniom zakrzepowym w przebiegu zakażenia wirusem *SARS-CoV-2* jest niezwykle istotne. Ocena charakterystyki klinicznej i czynników ryzyka zatorowości płucnej związanej z COVID-19 jest ciągle przedmiotem dyskusji i badań. W szczególności uznaje się, że dysfunkcja śródbłónka odgrywa kluczową rolę zarówno w ostrej fazie, jak i w przypadku powikłań długotrwałych.

Cytokiny i ich role w procesach zapalnych, krzepnięcia i fibrynolizy przedstawia **Tabela 1**

Cytokiny	Aktywność w procesie zapalnym	Mechanizm działania	Efekt w procesie krzepnięcia
IFN- γ	Prozapalna	• $\uparrow$ IL-2, IL-6 i TNF-α • $\uparrow$ limfocyty T i B • antyproliferacyjne • $\uparrow$ formowanie NETs	• $\downarrow$ usuwanie skrzepliny • $\uparrow$ formowanie skrzepliny
IL-6	Prozapalna	• $\uparrow$ różnicowanie limf. B • $\uparrow$ aktywacja limf T • $\uparrow$ produkcja białek ostrej fazy • $\uparrow$ produkcja prostaglandyn • $\uparrow$ płytek krwi	• $\uparrow$ zespół pozakrzepowy • $\uparrow$ formowanie skrzepliny
IL-17	Prozapalna	• $\uparrow$ aktywacja i agregacja płytek • $\uparrow$ naciek neutrofilów • $\uparrow$ tworzenie NETs	• $\uparrow$ formowanie skrzepliny
IL-9	Prozapalna	• $\uparrow$ funkcja płytek	• $\uparrow$ formowanie skrzepliny
IL-10	Przeciwpapalna	• $\downarrow$ IL-2, IL-3, • $\downarrow$ TNF-α IFN-γ, GM-CSF	• $\downarrow$ formowanie skrzepliny
IL-1 β	Prozapalna	• $\uparrow$ agregacja płytek	• $\uparrow$ formowanie skrzepliny
TNF- α	Prozapalna	• $\uparrow$ fibrynoliza • $\uparrow$ kolagenoliza • $\uparrow$ neowascularyzacja	• $\uparrow$ usuwanie skrzepliny
TGF- β	Prozapalna	• $\uparrow$ włóknienia • $\uparrow$ dysfunkcja endotelium	• $\downarrow$ usuwanie skrzepliny

Legenda: IFN γ – interferon gamma, IL- interleukina, TNF- α -czynnik martwicy nowotworów alpha, TGF β - transformujący czynnik wzrostu beta, NETs-zewnątrzkomórkowe sieci neutrofilowe, $\uparrow$ -efekt wzmacniający, $\downarrow$ - efekt zmniejszający.

Tabela 1. Cytokiny i ich rola w procesie zapalnym krzepnięcia i fibrynolizy.

1.3.2 Wyniki badań laboratoryjnych

Obserwacje chorych na COVID-19 pod kątem zaburzeń hematologicznych leżących u podstaw koagulopatii wykazały, że są one bezpośrednio powiązane z ciężkością choroby. Stężenie fibrynogenu, D-dimeru, trombiny, czynnika V i VIII są obecnie uznawane za markery, które mogą być stosowane do oceny stratyfikacji ryzyka powikłań i rokowania w przebiegu ŻCHZZ u chorych na COVID-19, podczas gdy parametry stanu zapalnego (tj. stężenie ferrytyny, IL-6) dostarczają cennych informacji do oceny uszkodzenia śródbłónka [14].

Aktywacja śródbłónka w wyniku zakażenia *SARS-CoV-2* może prowadzić do zwiększonej ekspresji PAI-1, TF i uwalniania czynnika von Willebranda (vWF). W przebiegu zakażenia następuje jednak spadek aktywności trombomoduliny i tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA), podczas gdy z neutrofilów uwalniane są proteazy serynowe, takie jak elastaza neutrofilowa, wywołująca działanie prozakrzepowe poprzez aktywację inhibitorów fibrynolizy [2], [30]. Powoduje to podwyższenie stężenia produktów degradacji fibryny (D-dimerów) oraz fibrynogenu i/lub niskie stężenie antytrombiny. Ponadto w badaniach laboratoryjnych stwierdza się wydłużenie czasu protrombinowego (prothrombin time – PT) i czasu częściowej tromboplastyny po aktywacji (activated partial thromboplastin time – APTT) oraz zwiększone stężenie czynnika VIII. Ponieważ stężenie fibrynogenu jest jednym z kryteriów rozpoznania zespołu rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego DIC (disseminated intravascular coagulation), oznaczenie to jest także wskazane w ocenie stanu układu hemostazy u chorych na COVID-19. Najlepszym i najłatwiej dostępnym markerem określającym ryzyko powikłań zakrzepowych także u chorych na COVID-19 jest oznaczenie stężenia D-dimerów [31]. Ponadto wysokie stężenia D-dimerów są jednym ze wskaźników złego rokowania w przebiegu COVID-19 [32].

Zalecenia ISTH sugerują, aby u każdego chorego, u którego rozpoznano COVID-19 oznaczyć: stężenie D-dimerów, czas protrombinowy, liczbę płytek krwi oraz stężenie fibrynogenu [33]. Zwiększenie stężenia troponin sercowych (troponiny T lub I) w zatorze tętnicy płucnej (ZTP) wskazuje na uszkodzenie komórek mięśnia sercowego a wzrost stężenia mózgowego peptydu natriuretycznego (brain natriuretic peptide – BNP) i jego N-końcowego fragmentu peptydu natriuretycznego typu B (N-Terminal pro b-type natriuretic peptide – NT-proBNP), wskazują na przeciążenie prawej komory. Oznaczenia te powinny

być wykonane w każdym przypadku rozpoznania ZTP w celu oceny ryzyka ciężkości przebiegu choroby [34].

1.3.3 Czynniki ryzyka ŻChZZ

Istnieje wiele czynników ryzyka związanych z rozwojem ŻChZZ, które mogą współistnieć z zakażeniem *SARS-CoV-2*. Można je podzielić na czynniki ogólne, które zwiększają ryzyko zakrzepicy, oraz czynniki specyficzne, które mogą wpływać na rozwój konkretnych rodzajów ŻChZZ. Poniżej znajdują się przykłady tych czynników [35]:

Czynniki ogólne ryzyka zakrzepicy:

- **Wiek:** osoby starsze są bardziej narażone na wystąpienie zakrzepicy.
- **Choroby przewlekłe:** cukrzyca, choroby układu sercowo-naczyniowego, autoimmunologiczne oraz choroby śródmiąższowe płuc.
- **Otyłość:** nadwaga i otyłość zwiększają ryzyko zakrzepicy.
- **Palenie papierosów:** nikotyna może wpływać na skład krwi i prowadzić do zakrzepów.
- **Brak aktywności fizycznej:** długotrwałe unieruchomienie zwiększa ryzyko zakrzepicy.

Czynniki specyficzne ryzyka zakrzepicy:

- **Chirurgia i urazy:** zabiegi chirurgiczne, zwłaszcza ortopedyczne, mogą zwiększać ryzyko zakrzepicy.
- **Długi czas hospitalizacji:** pacjenci przebywający w szpitalu przez dłuższy czas mają zwiększone ryzyko zakrzepicy.
- **Nowotwory:** niektóre rodzaje nowotworów, szczególnie nowotwór trzustki, ośrodkowego układu nerwowego oraz płuc, mogą zwiększać ryzyko zakrzepicy.
- **Przyjmowanie leków:** hormonalnych, leków przeciwnowotworowych, glikokortykosteroidów.
- **Choroby genetyczne:** mutacje genetyczne związane z nadmiernym krzepnięciem krwi, rozpoznana trombofilia (niedobór antytrombiny, białka C lub S, mutacja czynnika V typu Leiden, mutacja G20210A genu protrombiny).
- **Ciąża i okres poporodowy:** ciąża i połóg mogą zwiększać ryzyko zakrzepicy.

- **Przebyta zakrzepica:** osoby, które już przeżyły epizod zakrzepicy, mają zwiększone ryzyko nawrotu.

Często kilka czynników ryzyka może działać jednocześnie, zwiększając ogólne ryzyko zakrzepicy. W diagnostyce i ocenie ryzyka ŻChZZ stosuje się różne skale kliniczne. Narzędzia te pomagają lekarzom w identyfikacji pacjentów narażonych na ryzyko zakrzepicy oraz w podejmowaniu decyzji dotyczących diagnostyki, profilaktyki lub leczenia. W ocenie prawdopodobieństwa klinicznego ŻChZZ wykorzystywane są najczęściej:

- **Skala Wellsa** - dedykowana do oceny prawdopodobieństwa klinicznego występowania zakrzepicy żył głębokich (ZŻG) lub zatoru tętnicy płucnej (ZTP). Zawiera kliniczne czynniki ryzyka i objawy kliniczne ŻChZZ przypisując im odpowiednio punkty w zależności od ich obecności. Ostateczny wynik pomaga w określeniu prawdopodobieństwa obecności zakrzepicy lub zatorowości płucnej [34].
- **Skala Genewska** - wykorzystywana do oceny prawdopodobieństwa klinicznego występowania zatorowości płucnej. Czynniki w niej zawarte obejmują wiek, obecność nowotworu, objawy kliniczne takie jak krwioplucie, jednostronny obrzęk i ból kończyny, tachykardię i inne [34], [35].

Natomiast do oceny ryzyka wystąpienia powikłań zakrzepowych u pacjentów hospitalizowanych wykorzystywane są skale:

- **Skala Padewska:** wykorzystywana jest do oceny ryzyka ŻChZZ u pacjentów hospitalizowanych w oddziałach internistycznych. W jej skład wchodzi następujące elementy: wiek, BMI, choroby współistniejące, leczenie, zabiegi oraz przebyta ŻChZZ [36].
- **Skala Capriniego:** wykorzystywana do oceny ŻChZZ u pacjentów hospitalizowanych w oddziałach chirurgicznych [37].
- **Skala Improve oraz Improve DD** wykorzystywane do oceny ryzyka ŻChZZ u pacjentów hospitalizowanych w oddziałach internistycznych [38].

Poza zastosowaniem skal, każdy przypadek kliniczny powinien być analizowany indywidualnie. Osoby z wysokim ryzykiem powinny być pod stałą opieką lekarską, pod kątem rozwoju powikłań i konieczności stosowania profilaktyki.

1.3.4 Diagnostyka obrazowa ŻChZZ u chorych na COVID-19

Trudności w rozpoznaniu ŻChZZ w przebiegu COVID-19, spowodowane są wspólną symptomatologią zapalenia płuc i zatorowości płucnej, a także częstym współwystępowaniem innych chorób płuc czy układu krążenia. COVID-19 może powodować powikłania sercowo-naczyniowe poprzez tworzenie zakrzepicy w żyłach i tętnicach. Diagnostyka żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej jest wystandaryzowana według wytycznych towarzystw naukowych [34], jednak pandemia COVID-19 wiązała się z dodatkowymi trudnościami wynikającymi z konieczności izolacji pacjentów oraz dezynfekcji sprzętu medycznego. U wszystkich chorych z COVID-19 ocena ryzyka ŻChZZ powinna się odbywać na podstawie modeli zwalidowanych jak w ostrych stanach i powinna być systematycznie powtarzana w czasie trwania choroby wraz z oceną ryzyka powikłań krwotocznych. Niektórzy eksperci zalecają stosowanie skali Padewskiej lub skali IMPROVE u pacjentów z łagodnym przebiegiem COVID-19, a skali Capriniego u chorych po zabiegach chirurgicznych lub urazach, u których podejrzewa się lub rozpoznano COVID-19 [39].

Badanie radiologiczne klatki piersiowej ma niewielkie znaczenie w rozpoznawaniu ZTP może jednak ujawnić pośrednie objawy takie jak powiększenie sylwetki serca, płyn w jamie opłucnej, poszerzenie tętnicy płucnej, uniesienie kopuły przepony, ogniska niedodmy czy zagęszczenia miąższowe, jednak u 1/4 chorych obraz jest prawidłowy. Najbardziej przydatnym badaniem obrazowym w wykrywaniu ZTP jest angiografia tętnicy płucnej metodą tomografii komputerowej (CTPA – computer tomography pulmonary angiography), która umożliwia ocenę tętnic płucnych od pnia płucnego do tętnic segmentowych, a najnowsze tomografy wielorzędowe również tętnic subsegmentowych, poza tym pokazuje również inne patologie obecne w miąższu płuc [34].

Do wykrywania zakrzepicy żył głębokich kończyn dolnych wykorzystujemy badanie ultrasonograficzne (USG): ultrasonograficzny test uciskowy (2 lub 6 punktowy) i/lub USG całego układu żylnego kończyn. Scyntygrafia perfuzyjna płuc jest rzadko wykonywana z powodu ograniczonej dostępności, trudności w interpretacji zmian w przebiegu COVID-19 oraz niższej czułości niż CTPA. Arteriografia płucna wykonywana metodą tradycyjną, jest obecnie rzadko stosowana, z powodu jej inwazyjności oraz braku przewagi nad CTPA. [34].

1.3.5 Częstość występowania ŻChZZ u chorych po COVID-19

Zator tętnicy płucnej i zakrzepica żył głębokich, będące zasadniczymi elementami żylniej choroby zakrzepowo-zatorowej, stanowią częste powikłania występujące zarówno w ostrym, jak i po przebytych COVID-19. Rzadziej występuje zakrzepica tętnicza (arterial thromboembolism – ATE) [40]. Częstość występowania ŻChZZ w ostrym okresie zakażenia *SARS CoV-2* zależy od ciężkości przebiegu COVID-19: jest stosunkowo niska u pacjentów, u których obserwuje się łagodny przebieg choroby, osiągając nawet kilkadziesiąt procent w grupie krytycznie chorych. U kilkunastu procent pacjentów z ciężkim przebiegiem COVID-19, ZTP stanowi główną przyczynę zgonu [41].

Ogólna częstość ŻChZZ wśród hospitalizowanych pacjentów z COVID-19 jest trudna do ustalenia ze względu na heterogeniczność badań [42]. Wstępne doniesienia o przypadkach COVID-19 w Chinach nie opisywały ZTP wśród powikłań, ale odnotowały podwyższone stężenie D-dimerów i nieprawidłowe parametry krzepnięcia u krytycznie chorych pacjentów. Jednak w miarę rozprzestrzeniania się choroby na całym świecie zgłoszono wiele przypadków zatorowości płucnej w przebiegu COVID-19. Ustalenia te zostały następnie potwierdzone w prospektywnych badaniach u chorych na COVID-19 [40], [43], [44].

Analiza 14 badań autopsyjnych 749 pacjentów, którzy zmarli na COVID-19, wykazała ostrą zatorowość płucną u 30% pacjentów [43]. Kolejne badania potwierdziły, że częstość występowania ŻChZZ u chorych hospitalizowanych z powodu COVID-19 w oddziałach intensywnej terapii (OIT) może wynosić 30%, a nawet 85,4% [45], [46] [47].

W metaanalizie z 2020 r. obejmującej 86 badań (33 970 pacjentów) oszacowano ogólną częstość ŻChZZ na 14,1%. U chorych, u których nie wykonywano badań przesiewowych odsetek ten wynosił 9,5%, podczas gdy po zastosowaniu skринingu ultrasonograficznego był istotnie wyższy i wynosił 40,3%. Analiza podgrup wykazała dużą heterogeniczność, z częstością ŻChZZ na poziomie 22,7% wśród pacjentów na oddziałach OIT i 7,9% wśród pacjentów na oddziałach ogólnych [48]. Kolejna analiza badań z 2021r. dotycząca 18 000 pacjentów hospitalizowanych z powodu COVID-19 wykazała łączną częstość występowania ŻChZZ na poziomie 17%. Wyższą zapadalność na ŻChZZ, sięgającą 25–33%, odnotowano w populacjach pacjentów poddawanych systematycznym badaniom przesiewowym, a także u chorych w stanie krytycznym, hospitalizowanych na OIT [49].

W metaanalizie z 2023r. obejmującej 63 badania (104 920 pacjentów z COVID-19) ogólny wskaźnik ŻChZZ wyniósł 21%, w tym zakrzepicy żył głębokich-20%, a zatorowości płucnej-8%. Częstość występowania zakrzepicy tętniczej wynosiła 5% wśród wszystkich pacjentów, (9% wśród pacjentów hospitalizowanych na OIT i 4% wśród pacjentów na oddziałach ogólnych). Częstość występowania wszystkich punktów końcowych u starszych pacjentów oraz krytycznie chorych, przyjętych na OIT była istotnie wyższa [40]. Częstość występowania ŻChZZ u pacjentów po wypisaniu ze szpitala z powodu COVID-19 oraz leczonych ambulatoryjnie jest gorzej poznana ze względu na mniejszą liczbę badań. Metaanaliza z 2023r. oceniająca ryzyko ZTP po wypisie ze szpitala, szacowała częstość występowania na 1,5% w czasie 68 dni obserwacji [41].

Wieloośrodkowa analiza ze Szwecji oceniająca 48861 pacjentów hospitalizowanych oraz 894121 leczonych ambulatoryjnie z powodu COVID-19, wykazała, że pacjenci hospitalizowani mieli podwyższone ryzyko ŻChZZ, głównie wystąpienia ZTP po wypisie ze szpitala. Współczynnik ryzyka (risk ratio – RR) wystąpienia ŻChZZ w okresie od 60 do 180 dni po COVID-19 wyniosły 6,05 (95% CI, 4,80-7,62) dla ZTP i 3,97 (CI, 2,96-5,33) dla ŻŻG w porównaniu z pacjentami bez zakażenia *SARS-CoV-2*. Ryzyko ŻChZZ u osób bez hospitalizacji było podobne do pacjentów, którzy nie chorowali na COVID-19 [50].

W analizie opublikowanej w 2022r. w czasopiśmie Lancet wśród 909473 chorych na COVID-19 leczonych ambulatoryjnie w Holandii, Hiszpanii, Niemczech, Włoszech i Wielkiej Brytanii oraz 32329 chorych hospitalizowanych z powodu COVID-19 w Hiszpanii, wykazano większą częstość występowania ŻChZZ u chorych po COVID-19, w przypadku osób hospitalizowanych wyniosła 4,52% w okresie 90 dni [51]. W pracy oceniono również zwiększone ryzyko zgonu z jakiegokolwiek przyczyny zarówno u chorych na COVID-19, leczonych ambulatoryjnie, jak i u chorych hospitalizowanych w porównaniu z ogólną populacją, który wyniósł 14,61% w okresie 90 dni [51].

1.4 Profilaktyka i leczenie żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej u pacjentów w trakcie COVID-19

Wiele towarzystw naukowych, w tym Europejskie Towarzystwo Kardiologiczne – European Society of Cardiology (ESC) [34], International Society on Thrombosis and Hemostasis (ISTH) [52] i American College of Cardiology (ACC) [53] opublikowało zalecenia dotyczące profilaktyki przeciwzakrzepowej i leczenia choroby zakrzepowo-zatorowej u pacjentów z COVID-19.

Wytyczne ISTH z lipca 2022r. u chorych leczonych ambulatoryjnie z powodu zakażenia *SARS-CoV-2*, którzy mają podwyższone ryzyko progresji choroby, w celu ograniczenia ryzyka hospitalizacji, zalecają rozważenie zastosowania sulodeksydu jako profilaktyki powikłań zakrzepowo-zatorowych [52]. W wielu badaniach wykazano, że sulodeksyd chroni glikokaliks śródbłonna naczyń i przywraca jego integralność po jego uszkodzeniu. Udowodniono, że lek ten jest nie tylko antykoagulantem, ale ma również działanie antyagregacyjne, fibrynolityczne i angioprotekcyjne [52], [54].

Zgodnie z wytycznymi ISTH zaleca się u chorych hospitalizowanych z powodu COVID-19 niebędących w stanie krytycznym, podawanie profilaktycznych dawek heparyny drobnocząsteczkowej (low-molecular weight heparyn – LMWH) lub heparyny niefrakcjonowanej (unfractionated heparyn – UFH) [30], [52], [53], [55]. Korzystny wpływ LMWH wynika zarówno z jej właściwości przeciwzakrzepowych, jak i przeciwzapalnych. Heparyny drobnocząsteczkowe wykazują właściwości przeciwzapalne poprzez neutralizację chemokin i cytokin, hamowanie migracji leukocytów, neutralizację NETs oraz hamowanie aktywności heparynazy, odpowiedzialnej za przepuszczalność naczyń [52]. Ponadto wykazują aktywność przeciwwirusową poprzez wpływ na wiązanie wirusowego białka S z receptorem ACE-2, co może mieć szczególne znaczenie w początkowej fazie choroby [56]. Dlatego też LMWH są obecnie uważane za leki z wyboru, zarówno w okresie aktywnego zakażenia, jak i w przypadkach utrzymującego się przewlekłego stanu zapalnego [52].

W indywidualnych przypadkach, zwłaszcza u pacjentów ze szczególnie wysokim ryzykiem powikłań zakrzepowo-zatorowych a niskim ryzykiem powikłań krwotocznych, można rozważyć zwiększenie dawki LMWH w profilaktyce przeciwzakrzepowej, jednak nie zaleca się rutynowo stosowania pośrednich czy terapeutycznych dawek heparyn [52]. U tych pacjentów nie zaleca się również dodania leku przeciwplatekowego oraz podawania leczniczych dawek doustnych antykoagulantów (direct oral anticoagulant inhibitors –

DOAC) [52]. Dla pacjentów z COVID-19, hospitalizowanych w stanie krytycznym (wymagającym pobytu w OIT i wentylacji mechanicznej), wytyczne ISTH rekomendują stosowanie profilaktycznych dawek heparyny drobnocząsteczkowej lub heparyny niefrakcjonowanej [52]. Nie zleca się podawania pośrednich czy leczniczych dawek LMWH/UFH zamiast profilaktycznych w celu ograniczenia śmiertelności i powikłań zakrzepowo-zatorowych, ponieważ nie udowodniono korzyści takiego postępowania. Dodanie leków przeciwplatek do profilaktycznych dawek heparyn może ograniczać śmiertelność w tej grupie chorych [52].

W badaniu RAPID oceniano efekty leczenia heparynami w dawce terapeutycznej w porównaniu z dawką profilaktyczną u 465 pacjentów, którzy nie wymagali przyjęcia do OIT. W grupie przyjmującej terapeutyczną dawkę odnotowano mniejszą częstość zgonów po 28 dniach, jednak nie stwierdzono różnicy między grupami w zakresie przyjęcia do OIT, nieinwazyjnej lub inwazyjnej wentylacji mechanicznej czy zgonu w trakcie hospitalizacji [57]. Randomizowane badania przeprowadzone wśród krytycznie chorych pacjentów hospitalizowanych z powodu COVID-19, nie wykazały korzyści ze stosowania pośredniej dawki LMWH/UFH w porównaniu z dawką profilaktyczną [58]. Kolejne badania nie wykazały również żadnych korzyści ze stosowania terapeutycznych dawek LMWH/UFH w porównaniu z niższymi dawkami w celu zmniejszenia śmiertelności lub potrzeby wsparcia narządowego [45]. W tych badaniach uzyskano niejednoznaczne wyniki dotyczące redukcji zdarzeń zakrzepowo-zatorowych i zwiększonego ryzyka poważnych krwawień [52].

Odsetek niepowodzeń stosowania profilaktycznych dawek heparyn u pacjentów z ciężkim przebiegiem choroby szacowany jest na ok. 20% i jest znacząco wyższy niż w innych stanach ostrych a porównywalny z obserwowanym w sepsie, co skłania do sugestii, by stosować większe dawki heparyn u wybranych chorych [59]. Jednak nawet terapeutyczne dawki heparyn mogą nie zapobiegać epizodom ŻChZZ u pacjentów leczonych w OIT [60].

W pierwotnej profilaktyce u zakażonych *SARS CoV-2* nie zaleca się stosowania doustnie leków przeciwzakrzepowych niebędących antagonistami witaminy K (novel oral anticoagulants, -NOAC) ze względu na możliwość interakcji, zwłaszcza z lekami przeciwwirusowymi stosowanymi w terapii COVID-19 [61].

Terapia przeciwplatekowa może mieć korzystny wpływ u ciężko chorych pacjentów poprzez kilka mechanizmów, w tym hamowanie agregacji płytek krwi, zmniejszenie stężenia mediatorów zapalenia pochodzenia płytkowego i blokowanie trombogennych NETs [62].

Jednakże w dotychczasowych badaniach obserwacyjnych oraz w dużym, randomizowanym badaniu (RECOVERY), w którym wzięło udział ponad 14 000 pacjentów, podawanie aspiryny w dawce 150 mg/dobę nie wiązało się ze zmniejszeniem śmiertelności wśród pacjentów, którzy nie wymagali leczenia wentylacją mechaniczną [63]. W grupie leczonych aspiryną zaobserwowano mniej powikłań zakrzepowo-zatorowych i krótszy czas hospitalizacji jednak większa była także częstość występowania powikłań krwotocznych [63].

U wybranych chorych z podwyższonym ryzykiem zakrzepicy i stężeniem D-dimerów przekraczającym dwukrotność górnej granicy normy, hospitalizowanych z powodu COVID-19, w celu ograniczenia ryzyka wystąpienia ŻChZZ, po wypisaniu ze szpitala, można rozważyć leczenie przeciwzakrzepowe rywaroksabanem (10 mg /dobę) przez okres około 30 dni [52].

W przypadku ostrej zatorowości płucnej i/lub zakrzepicy żył głębokich należy postępować zgodnie z aktualnymi wytycznymi, w których preferowanym lekiem jest heparyna drobnocząsteczkowa podawana w dawkach terapeutycznych. Zastosowanie heparyny niefrakcjonowanej powinno być ograniczone z powodu konieczności monitorowania leczenia przeciwzakrzepowego i ryzyka zakażenia personelu w związku z częstszym kontaktem z zakażonymi pacjentami. W przypadku pacjentów zakażonych *SARS CoV-2* preferowane jest leczenie heparynami drobnocząsteczkowymi, ponieważ nie występują istotne interakcje z lekami stosowanymi w terapii COVID-19 [52], [64].

W kwietniu 2021 roku kilka grup badawczych opisało nową jednostkę chorobową zależną od szczepienia – immunologiczną zakrzepową małopłytkowość (vaccine-induced immune thrombotic thrombocytopenia – VITT). Kryteriami rozpoznania VITT są: małopłytkowość i zakrzepica występująca w ciągu 5-30 dni od przyjęcia szczepionki wektorowej przeciwko *SARS CoV-2*, istotnie zwiększone stężenia D-dimerów, dodatni wynik testu ELISA na obecność przeciwciał przeciwko kompleksowi czynnika płytkowego 4 (platelet factor 4 – PF4) z heparyną (anty-PF4:H) - pomimo braku uprzedniej ekspozycji na heparynę. Leczenie jest podobne jak w przypadkach trombocytopenii wywołanej heparyną (heparin induced thrombocytopenia – HIT). Nie należy stosować heparyny niefrakcjonowanej i drobnocząsteczkowej a zastosować leczenie pośrednimi lub bezpośrednimi inhibitorami czynnika Xa, podać immunoglobuliny, glikokortykosteroidy lub wykonać plazmaferezę [65].

1.5 Podsumowanie

Na podstawie dostępnych danych z literatury wiadomo, że infekcja COVID-19 nasila procesy prozakrzepowe w naczyniach co może być przyczyną pogorszenia choroby, a nawet śmierci pacjenta w przypadku braku lub opóźnionego rozpoznania. Nie wiemy jednak jakie czynniki mogą mieć wpływ na patogenezę przewlekłego stanu zapalnego u pacjentów, u których utrzymują się objawy kliniczne po przebytych zakażeniu *SARS CoV-2*, które mogą być odpowiedzialne za występowanie powikłań zakrzepowo- zatorowych.

W niniejszej pracy podjęto próbę udzielenia odpowiedzi na szereg pytań dotyczących czynników ryzyka żylnej choroby zakrzepowo-zatorowej po przebytych COVID-19.

2 CEL i ZAŁOŻENIA PRACY

2.1 Cel pracy

1. Ocena częstości występowania żyłnej choroby zakrzepowo- zatorowej u chorych po przebytych COVID-19.
2. Analiza czynników patofizjologicznych (biochemicznych i klinicznych) mogących mieć wpływ na patogenezę choroby zakrzepowo- zatorowej.

2.2 Założenia pracy

Żyłna choroba zakrzepowo-zatorowa u chorych z infekcją *SARS CoV-2* jest jednostką chorobową, której patofizjologia jest dotychczas mało poznana. U pacjentów, których objawy chorobowe oraz dolegliwości z różnych narządów i układów utrzymują się po zakończeniu ostrej fazy choroby, obecne są prawdopodobnie czynniki powodujące przewlekłe zapalenie, które może być związane z pobudzeniem kaskady krzepnięcia i występowaniem powikłań pod postacią żyłnej choroby zakrzepowo - zatorowej.

Dane z literatury dotyczące okresu po COVID-19 są nadal niepełne. Konieczne jest przeprowadzenie wnikliwej analizy występowania czynników mogących mieć wpływ na patogenezę przewlekłego stanu zapalnego oraz mechanizmów, które mogą być odpowiedzialne za występowanie powikłań zakrzepowo-zatorowych.

Objawy kliniczne takie jak duszność, bóle w klatce piersiowej, zła tolerancja wysiłku fizycznego i objawy ŻŻG, występują zarówno u chorych z ŻChZZ jak i u pacjentów z dominującymi zmianami zlokalizowanymi w miększu płuc. Należy zatem poszukiwać czynników, które pozwolą na potwierdzenie obecności ŻChZZ i odróżnienie od siebie tych dwóch istotnych powikłań zakażenia *SARS CoV-2*

W ramach prezentowanej pracy badawczej, chorzy po przebytych COVID-19 zostali poddani szczegółowej analizie klinicznej i biochemicznej w celu wykrycia prawdopodobnie istniejących nowych czynników wpływających na ryzyko powikłań zakrzepowo-zatorowych.

3 MATERIAŁ (GRUPA BADANA)

Do prospektywnego badania zakwalifikowano chorych po przebytych COVID-19 przyjmowanych kolejno do I Kliniki Chorób Płuc (IGiCHP) z powodu utrzymujących się objawów choroby lub powikłań z nią związanych, którzy wyrazili świadomą zgodę na uczestnictwo w badaniu obserwacyjnym. Badanie przeprowadzone było w okresie od 05.01.2021r. do 30.06.2023r. Pacjenci byli przyjmowani do Oddziału po ustąpieniu ostrej fazy choroby wirusowej, w celu pogłębienia diagnostyki utrzymujących się, objawów klinicznych takich jak: duszność, kaszel, bóle w klatce piersiowej oraz objawów klinicznych ŻChZZ i/lub w celu leczenia żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej rozpoznanej w trakcie lub po przechorowaniu COVID-19.

Dane kliniczne i demograficzne: wiek, płeć, choroby towarzyszące, historia palenia papierosów, historia leczenia oraz objawy występujące podczas COVID-19 były zbierane w trakcie bezpośredniego wywiadu z chorym oraz dodatkowo na podstawie analizy dostępnej dokumentacji medycznej.

Do badania włączono 108 chorych, kontrolne badania przeprowadzono u 101 osób (1 osoba zmarła a 6 osób nie wyraziło zgody na powtórne badania). U wszystkich pacjentów wykonano 2-krotnie: badanie morfologii krwi obwodowej, badania biochemiczne: aktywność AST, AlAT, stężenie bilirubiny, kreatyniny, prokalcytoniny, CRP, aktywność LDH, koagulogram (APTT, PT, stężenie D-dimerów, stężenie fibrynogenu), oznaczenie stężenia NT-proBNP oraz gazometrię arterializowanej krwi włosniczkowej.

W tym samym czasie u każdego chorego dwukrotnie pobrano krew żylną w objętości 10 ml w celu oznaczenia stężenia cytokin prozapalnych: Il-1 β , Il-6, Il-8, Il-10, stężenia ferrytyny, PAI-1 oraz TNF- α .

U każdego chorego wykonano 6-punktowe badanie usg żył głębokich kończyn dolnych. W przypadku prawdopodobieństwa klinicznego ZTP dodatkowo wykonywano angiografię tętnicy płucnej metodą wielorzędowej tomografii komputerowej.

U każdego chorego włączonego do badania stwierdzano w przeszłości lub aktualnie typowe objawy kliniczne choroby COVID-19. Potwierdzeniem zakażenia *SARS CoV-2* był dodatni wynik RT-PCR lub test antygenowy w kierunku zakażenia *SARS CoV-2*, lub typowe objawy i obecne p-ciała w klasie IgM i/lub IgG przeciwko *SARS CoV-2* (jeśli nie byli

szczepieni) oraz p-ciała w klasie IgG p-ciwko białku nukleokapsydu (białko N) po wprowadzeniu szczepień, na podstawie wytycznych WHO [1].

Badanych pacjentów podzielono na 2 grupy:

- 1) grupa z żylną chorobą zakrzepowo - zatorową – potwierdzoną obiektywnym testem,
- 2) grupa bez żylnej choroby zakrzepowo-zatorowej.

Badanie przeprowadzono zgodnie z Deklaracją Helsińską.

Wszyscy pacjenci, którzy brali udział w badaniu po zapoznaniu się z „Informacją dla Pacjenta” i „Formularzem zgody na badanie”, wyrazili pisemną świadomą zgodę na udział w badaniu obserwacyjnym.

Badanie uzyskało zgodę Komisji Bioetycznej w Instytucie Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie. Dokument: KB-92/2020 z dnia 10.12.2020r.

3.1 Charakterystyka grupy badanej

Do badania włączono 108 pacjentów po przebytych COVID-19: 69 mężczyzn (63,9%) oraz 39 kobiet (36,1%), kolejno przyjmowanych do 1 Kliniki IGiCHP z powodu utrzymujących się przetrwałych objawów klinicznych po przebytych zakażeniu *SARS CoV-2*, którzy wyrazili zgodę na uczestnictwo w tym projekcie.

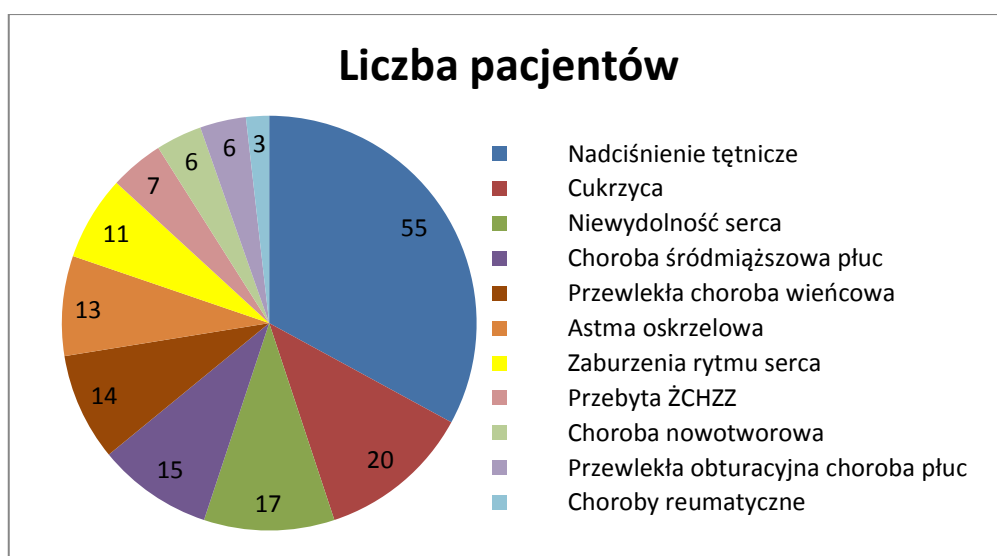
Średnia wieku wszystkich pacjentów biorących udział w badaniu wynosiła $57,52 \pm 13,4$ lat. Najmłodszy uczestnik badania miał 29 lat, a najstarszy 82 lata.

Średnia wartość BMI (Body Mass Index), określonego jako stosunek masy ciała (wyrażonej w kilogramach) do kwadratu wysokości ciała (mierzonej w centymetrach), wynosiła $30,57 \pm 6,33$.

W badanej grupie 57 (52,78%) pacjentów paliło papierosy, 8 osób (7,41%) obecnie, a 49 (45,4%) w przeszłości.

Najczęstszą chorobą towarzyszącą było nadciśnienie tętnicze, które występowało u 55 chorych (50,9%), cukrzycę rozpoznawano u 20 pacjentów (18,5%), niewydolność serca stwierdzono u 17 (15,9%), przewlekłą chorobę wieńcową u 14 (12,9%). Dodatni wywiad w kierunku przebytej żylnej choroby zakrzepowo-zatorowej przed zachorowaniem na COVID19 miało 7 osób (6,48%).

Poszczególne choroby współtowarzyszące u pacjentów z COVID-19 przedstawiono w formie wykresu graficznego na **Rycinie 1**.



Rycina 1. Choroby współistniejące w grupie badanej

Charakterystykę kliniczną i demograficzną grupy badanej zawarto w **Tabeli 2**.

Liczba pacjentów -N (%)	108 (100%)
Kobiety -N (%)	39 (36,1)
Mężczyźni -N (%)	69 (63,9)
Wiek (lata) średnia (± SD)	57,52 (±13,14)
BMI - średnia (± SD)	30,57 (±6,33)
Palenie papierosów	
aktualnie – N (%)	8 (7,41)
w przeszłości – N (%)	49 (45,37)
nigdy – N (%)	51 (47,2)
Choroby towarzyszące	
Nadciśnienie tętnicze – N (%)	55 (50,9)
Cukrzyca – N (%)	20 (18,5)
Niewydolność serca – N (%)	17 (15,9)
Choroba śródmiąższowa płuc – N (%)	15 (13,8)
Przewlekła choroba wieńcowa – N (%)	14 (12,9)
Astma oskrzelowa – N (%)	13 (12)
Zaburzenia rytmu serca – N (%)	11 (10,2)
Przebyta ŻChZZ – N (%)	7 (6,5)
Choroba nowotworowa – N (%)	6 (5,5)
Przewlekła obturacyjna choroba płuc – N (%)	6 (5,5)
Choroby reumatyczne – N (%)	3 (2,8)

Legenda: N- liczba osób badanych; SD (ang. standard deviation) - odchylenie standardowe

Tabela 2. Charakterystyka kliniczna i demograficzna grupy badanej.

3.2 Przebieg COVID-19

Zakażenie *SARS-CoV-2* potwierdzono testem RT-PCR wymazu z nosogardła u 76 (70,4%) osób, u 20 (18,5%) chorych testem antygenowym wymazu z nosogardła oraz u 12 (11,1%) pacjentów na podstawie wzrostu miana przeciwciał anty - *SARS-CoV-2*.

W badanej grupie oceniono retrospektywnie stopień ciężkości COVID-19 zgodnie z polskimi rekomendacjami AOTMiT [20]

- **St.I** – niewielkie objawy kliniczne, sat. >94% – bez hospitalizacji
- **St.II** – umiarkowane objawy kliniczne, sat. 90-94%
- **St.III** – objawy zapalenia płuc, sat. <90 konieczna tlenoterapia, HFNOT lub NIV
- **St.IV** – niewydolność oddechowa wymagająca wspomaganie wentylacją mechaniczną.

Wśród 108 chorych 59 (54,6 %) pacjentów było wcześniej hospitalizowanych w oddziałach leczących COVID-19 a 49 (45,4%) osób było leczonych w domu. Wśród chorych hospitalizowanych, tlenoterapii biernej wymagało 41 (37,8%)osób, 12 (11,11%) pacjentów leczonych było wysokoprzepływową tlenoterapią donosową (HFNOT), 1 osoba (0,93%) nieinwazyjną wentylacją (NIV). U 3(2,78%) osób stosowano wentylację mechaniczną w oddziale OIT, a u 1 (0,93%) pozaustrojową oksygenację (ECMO -extra corporeal membrane oxygenation). Dane dotyczące diagnostyki i przebiegu COVID-19 w grupie badanej przedstawiono w **Tabeli 3**.

Metoda potwierdzenia zakażenia SARS-CoV-2	N (%)
Test RT-PCR	77 (71,29)
Test antygenowy	20 (18,5)
Obecność przeciwciał anti-SARS-CoV-2	11 (10,19)
Stopień ciężkości choroby	N (%)
I/II - N (%)	50 (46,3)
III - N (%)	54 (50)
IV - N (%)	4 (3,7)
Stosowane leczenie	N (%)
Tlenoterapia niskoprzepływowa - N (%)	41 (37,8)
HFNOT - N (%)	12 (11,11)
NIV - N (%)	1 (0,93)
Wentylacja mechaniczna - N (%)	3 (2,78)
ECMO - N (%)	1 (0,93)
GKS systemowo - N (%)	49 (45)
Antybiotykoterapia - N (%)	69 (63,9)
Heparyny drobnocząsteczkowe	47 (43,5)
NOAC - N (%)	6 (5,55)
Aspiryna - N (%)	11 (10,19)
Remdesivir - N (%)	18 (16,6)
Tocilizumab - N (%)	4 (3,7)
Baricytinib - N (%)	7 (6,4)

Legenda: HFNOT- wysokoprzepływowa tlenoterapia donosowa ; NIV- nieinwazyjna wentylacja ; ECMO- pozaustrojowe wspomaganie utlenowania krwi; GKS- glikokortykosteroidy; NOAC- doustne antykoagulanty nowej generacji

Tabela 3. Metody, potwierdzenie, przebieg i leczenie COVID-19 w grupie badanej.

3.3 Czas wystąpienia ŻChZZ od COVID-19

Wśród 108 pacjentów włączonych do badania u 43 (39,8%) chorych stwierdzono epizod ŻChZZ. W tej grupie u 30 osób (69,78%) rozpoznano ZTP, u 7 osób (16,28%) ZŻG a u 6 chorych (13,95%) obie choroby jednocześnie.

Diagnozę ŻChZZ u 29 pacjentów (67,44%) postawiono do 3 miesięcy (zakres 1-90 dni) od czasu rozpoznania COVID-19 u pozostałych 14 (co stanowiło 32,56%) osób powyżej 3 miesięcy (zakres 92-480 dni).

W trakcie ostrego okresu choroby związanej z zakażeniem *SARS-CoV-2* wykryto 18 przypadków ŻChZZ, co stanowiło 41,86% (18/43) przypadków ŻChZZ: 14 osób (32,56%) miało stwierdzoną ZTP, 3 osoby (6,98%) ZŻG a 1 osoba (2,33%) ZŻG i ZTP jednocześnie.

Po przechorowaniu COVID-19 a przed pierwszą hospitalizacją w IGiChP (wizyta 1 – W1) u 7 osób 16,28% (7/43) stwierdzono ŻChZZ: u 4 (9,30%) osób ZP a u 3 (6,98%) pacjentów ZŻG.

W trakcie pierwszej hospitalizacji w IGiChP (W1) wykryto 18 (41,86%) nowych przypadków ŻChZZ: u 12 (27,91%) chorych ZTP, u 1 chorego (2,33%) izolowaną ZŻG a u 5 osób (11,62%) ZTP i ZŻG jednocześnie. Czas rozpoznania żylniej choroby zakrzepowozatorowej pokazuje **Tabela 4**.

	w czasie COVID-19 N(%)	przed hospitalizacją w IGiChP N(%)	podczas hospitalizacji w IGiChP –W1 N(%)	RAZEM
ZTP+ZŻG	1 (2,33)	0	5 (11,62)	6 (13,95)
ZTP	14 (32,56)	4 (9,30)	12 (27,91)	30 (69,78)
ZŻG	3 (6,98)	3 (6,98)	1 (2,33)	7 (16,28)
Razem	18 (41,86)	7 (16,28)	18 (41,86)	43(100%)

Legenda: W1- pierwszy pobyt w IGiChP związany z pobraniem badań

Tabela 4. Czas wystąpienia ŻChZZ od COVID-19.

4 METODY BADANIA

4.1 Wykrywanie zakażenia wirusem *SARS-CoV-2*.

W badanej grupie zakażenie wirusem *SARS-CoV-2* potwierdzano trzema sposobami:

1. **Wykrywanie materiału genetycznego wirusa *SARS CoV-2*** w wymazie z nosogardła:
 - a) Systemem GeneXpert wykorzystującym test real-time RT-PCR wykrywający RNA wirusa *SARS-CoV-2* (sekwencje N2 i E) w wymazie z nosogardła, test wykonywany był w Zakładzie Mikrobiologii IGiChP
 - b) Testem Idylla *SARS-CoV-2* w wymazie z nosogardła. Test wykrywa sekwencję specyficzną dla 2 genów wirusa *SARS-CoV-2* oraz ORF1B metodą real-time PCR (Biocartis; CE-IVD), z zastosowaniem wewnętrznej kontroli poprawności przebiegu reakcji. Test wykonywany był w Zakładzie Genetyki i Immunologii Klinicznej IGiChP.
2. **Wykrywanie antygenów wirusa *SARS-CoV-2*** w wymazie z nosogardła metodą testów antygenowych, które wykorzystują techniki chemiluminescencyjne; są to jakościowe testy immunochromatograficzne (kasetkowe), najczęściej w IGiChP używane były testy firmy Biomaxima.
3. **Wykrywanie przeciwciał przeciwko białkom wirusa *SARS-CoV-2*** w klasie IgM i IgG (białko S1, S2, N) metodą Western-Blot-ELISA, przy użyciu analizatora EuroBlot One, firmy Euroimmun w laboratorium ALAB.

4.2 Badania laboratoryjne

Podstawowe badania laboratoryjne były wykonywane u każdego chorego w ramach rutynowej diagnostyki przy użyciu aparatury znajdującej się na wyposażeniu firmy ALAB:

- **morfologia z rozmazem komórkowym** – aparat XN-550 firmy Sysmex
- **badania biochemiczne:** aktywność AST, ALT, LDH, stężenie bilirubiny, kreatyniny, prokalcytoniny, CRP, NT-proBNP – analizator biochemiczny typ Cobas 6000 firmy Roche
- **koagulogram:** APTT, PT, stężenie D-dimerów, stężenie fibrynogenu – aparat typu ACL TOP 500 firmy Werfen.
- **gazometrię krwi** – wykonywano z arterializowanej krwi włóśniczkowej aparatem RAPIDLab 348 EX Blood Gas System firmy Siemens.
- **cytokiny (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α)** – oznaczenia stężenia cytokin wykonywano testem MILLIPLEX® Human Cytokine/Chemokine/Growth Factor Panel A Magnetic Bead Panel 96-Well Plate Assay HCYTA-60K firmy Merck Life Science sp. z o.o. – opartym na zasadach testu ELISA i wykorzystującym technologię mikrosfer paramagnetycznych opłaszczonych przeciwciałami. Test typu multiplex, pozwala na wieloparametrową detekcję od kilku do kilkudziesięciu analitów w jednej próbce o małej objętości (~25 μ l). W porównaniu z innymi testami multiplex opartymi o technologię Luminex jest unikatowy ze względu na zastosowanie „*serum matrix*” – odczynnika pozwalającego na optymalizację środowiska reakcji, co ma wpływ na dokładność, czułość, specyficzność i powtarzalność uzyskiwanych wyników. Drugim kluczowym komponentem testu są kontrole jakości: QC1 (*Quality Control level 1*, kontrola jakości poziomu 1) i QC2 (*Quality Control level 2*, kontrola jakości poziomu 2), zawierające rozcieńczone, rekombinowane białka na odpowiednio: niskim i wysokim poziomie. Zastosowanie kontroli QC1 i QC2 o znanych stężeniach badanych analitów, pozwala na ocenę prawidłowości wykonania testu. Oznaczenia wykonano w Zakładzie Genetyki i Immunologii Klinicznej IGiChP.
- **PAI-1** – oznaczenie stężenia z krwi żyłnej wykonano metodą ELISA Human SERPINE1 (plasminogenactivator inhibitor 1) ELISA Kit;96T w Zakładzie Genetyki i Immunologii Klinicznej IGiChP
- **Ferrytyna** – oznaczenie stężenia z krwi żyłnej wykonano testem Human Ferritin (Ferr) OneStep ELISA Kit firmy Boster w Zakładzie Genetyki i Immunologii Klinicznej IGiChP.

4.3 Badanie ultrasonograficzne żył kończyn dolnych (6 punktowe)

Badanie ultrasonograficzne jest podstawową metodą diagnostyczną w rozpoznawaniu zakrzepicy żył głębokich kończyn dolnych. Badanie to było wykonane u każdego chorego dwukrotnie podczas pierwszej hospitalizacji i po 8 miesiącach (mediana) aparatem firmy GE HealthCare Vivid S7ON, przez doświadczonych ultrasonografistów pracujących w IGiChP zgodnie z obowiązującymi standardami. Badanie było wykonywane z wykorzystaniem głowicy liniowej 9L o częstotliwości 3-10 MHz. Obejmowało ultrasonograficzną próbę uciskową. Kryterium rozpoznania zakrzepicy był dodatni wynik próby uciskowej – brak lub niecałkowite zapadanie się żyły pod wpływem ucisku głowicy. Wykazanie całkowitego zapadania się ścian żyły w trakcie ucisku głowicą -oznaczało wynik negatywny.

4.4 Badanie tomografią komputerową klatki piersiowej

Podczas pierwszej hospitalizacji w IGiChP wszyscy chorzy, bez rozpoznanego wcześniej ZTP, u których występowało prawdopodobieństwo ZTP, mieli wykonane badanie tomografią komputerową klatki piersiowej z angiografią tętnicy płucnej.

Badania wykonane były przy pomocy aparatu Revolution Evo firmy GE HealthCare lub REVOLUTION GSI firmy GE HealthCare (oba aparaty 64 rzędowe). U pacjentów, u których wykonano tomografię klatki piersiowej z angiografią tętnicy płucnej w innych ośrodkach, były konsultowane z doświadczonym radiologiem pracującym w IGiChP, w razie wątpliwości związanych z technicznie źle wykonanym badaniem, powtarzano je w Zakładzie Radiologii IGiChP. U pacjentów bez objawów klinicznych ZTP lub z przeciwwskazaniem do podania kontrastu, badanie TK płuc wykonywano bez podania środka kontrastowego.

4.5 Metody statystyczne

Grupę badaną podzielono na dwie podgrupy: chorzy z rozpoznaną żylną chorobą zakrzepowo-zatorową i bez rozpoznania tej choroby. Grupy te porównano pod względem wybranych czynników demograficznych, klinicznych i biochemicznych. W przypadku zmiennych kategorialnych (nominalnych i dychotomicznych) porównane były rozkłady procentowe i zastosowano test chi kwadrat lub w przypadku małej grupy dokładny test Fishera. Dla zmiennych ilościowych, w zależności od tego, czy ich rozkład zbliżony był w grupach do normalnego, czy nie, zastosowano odpowiednio: porównanie średnich (wraz z odchyleniem standardowym) i test t-studenta oraz porównanie median (wraz z pozostałymi kwartylami) i test U Manna Whitney'a. Ponadto porównano wyniki badań biochemicznych i oznaczeń biomarkerów zapalnych w dwóch punktach czasowych – podczas wizyty pierwszej (W1) i wizyty kontrolnej (W2) wykorzystując test Wilcozona dla zmiennych powtarzalnych o rozkładzie nieparametrycznym. Wartość $P < 0,05$ uznano za istotną statystycznie. Dla wyników stężenia cytokin wykreślono krzywe ROC (Receiver Operating Characteristics).

5 WYNIKI

Badanych 108 pacjentów po przebytych COVID-19 podzielono na dwie grupy:

- z rozpoznaną żylną chorobą zakrzepowo-zatorową 43 osoby (39,81%)
- bez rozpoznania żylnych chorób zakrzepowo-zatorowych 65 osób (60,19%).

Grupy te porównano pod względem wybranych czynników demograficznych, klinicznych i biochemicznych dotyczących przebiegu zakażenia *SARS-CoV-2* oraz chorób współistniejących.

5.1 Dane demograficzne grupy badanej z ŻChZZ i bez ŻChZZ

Dane demograficzne obejmowały wiek, płeć, BMI, palenie papierosów aktualnie i w przeszłości, oraz liczbę paczkolet.

Średnia wieku wszystkich pacjentów wynosiła $57,52 \pm 13,14$ lat, najmłodszy uczestnik badania miał 29 lat, a najstarszy 82 lata. Dla grupy z rozpoznaną ŻChZZ średnia wieku wynosiła $57,7 \pm 13,04$ lat a dla grupy bez ŻChZZ było to $57,4 \pm 13,31$ lat. Różnica nie była istotna statystycznie.

W badaniu uczestniczyło 39 kobiet, co stanowiło 36,11% grupy badanej i 69 mężczyzn (63,89%), 17 kobiet znajdowało się w grupie z ŻChZZ, co stanowiło 39,53% tej grupy a 22 kobiety w grupie bez ŻChZZ, co stanowiło 33,85% grupy. Rozkład pod względem płci między obiema grupami nie różnił się istotnie statystycznie.

Średnia wartość BMI, w grupie badanej wynosiła $30,57 \pm 6,33$. W grupie z ŻChZZ wynosiła $31,34 \pm 6,54$ a w grupie bez ŻChZZ było to $29,54 \pm 5,25$. Grupy nie różniły się statystycznie od siebie pod względem BMI.

Palenie papierosów raportowało 57 osób (52,78%), z tego 49 pacjentów (45,37%) deklarowało zaprzestanie palenia, a 8 osób (7,41%) paliło nadal. Średnia liczba paczkolet (liczba papierosów wypalanych na dobę pomnożona przez liczbę lat nałogu) w grupie palaczy wynosiła $19,94 \pm 15,1$ paczkolet. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic dotyczących palenia papierosów pomiędzy grupami z ŻChZZ i bez ŻChZZ.

Szczegółowe dane demograficzne zawarto w **Tabeli 5**.

	Cała grupa N=108	ZCHZZ (+) N=43	ZCHZZ (-) N=65	p
Wiek (ŚR±SD)	57,52 ±13,14	57,7 ± 13,04	57,4 ±13,31	0,91
Płeć –kobiety –N(%)	39 (36,1)	17(39,53)	22 (33,85)	0,661
BMI (ŚR±SD) kg/m²	30,57 ±6,33	31,34±6,54	29,54±5,25	0,12
Palenie papierosów ogółem N (%)	57 (52,78)	16(37,21)	34(52,31)	0,93
w przeszłości N (%)	49 (45,37)	17(39,53)	32(49,23)	0,71
aktualnie N (%)	8 (7,41)	2(4,65)	6(9,23)	
Paczkolata (ŚR±SD)	19,94±15,1	18,38±12,23	20,09±16,62	0,72

ŚR-średnia; SD (ang. standard deviation) - odchylenie standardowe

Tabela 5. Dane demograficzne grupy badanej

5.2 Dane kliniczne

Dane kliniczne dotyczące przebiegu zakażenia *SARS-CoV-2* obejmowały sposób potwierdzenia choroby, stopnie ciężkości choroby, metody leczenia (tlenoterapię, antybiotykoterapię, leczenie przeciwzakrzepowe, rodzaj terapii przeciwwirusowej).

Najczęstszą metodą potwierdzenia zakażenia *SARS-CoV-2* był test PCR, którym potwierdzono zakażenie u 77 pacjentów (71%), u 20 pacjentów (18,5%) potwierdzenie uzyskano testem antygenowym a u 11 (11,1%) pacjentów za pomocą analizy stężenia przeciwciał *SARS-CoV-2*.

Mediana czasu od rozpoznania COVID-19 do pobrania krwi w całej grupie wynosiła 150 dni (10 – 630). W grupie z ŻChZZ wynosiła 120 dni (min. 11, a max. 630 dni) a w grupie bez ŻChZZ 180 dni (min. 10, a max. 630 dni). Wyniki nie różniły się znamienne statystycznie.

Najczęściej stosowaną metodą leczenia tlenem w całej grupie badanej w trakcie choroby COVID-19, była tlenoterapia bierna przez kaniule donosowe lub maskę tlenową, którą stosowano u 41 osób (37,96%). W grupie z ŻChZZ u 13 z 43 pacjentów (30,23%) i u 28 z 65 pacjentów (43,08%) bez ŻChZZ. Kolejną co do częstości stosowania metodą była wysokoprzepływowa tlenoterapia donosowa (HFNO), którą zastosowano u 12 pacjentów z całej grupy badanej (11,1%), u 7 osób z ŻChZZ (7/43) co stanowiło 16,28% i u 5 chorych bez ŻChZZ (7/65) co wyniosło 10,77%. Wentylacja mechaniczna (WM) stosowana była u 3 (2,78%) osób z całej grupy, u 2 (4,65%) z grupy z ŻChZZ i 1 osoby (1,54%) bez ŻChZZ. Nieinwazyjna wentylacja (NIV) była stosowana u 1 osoby z grupy bez ŻChZZ, co stanowiło 1,54% oraz pozaustrojowe natlenianie krwi za pomocą ECMO stosowano u 1 pacjenta (1,54%) bez ŻChZZ. Ze względu na małą liczebność grup leczonych NIV, WM i ECMO do obliczeń statystycznych zsumowano pacjentów leczonych tymi 3 metodami. Testem chi - kwadrat nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic między grupami.

Leczenie glikokortykosteroidami (GKS) systemowymi w trakcie COVID-19 stosowano u 49 osób (45%), u 17 chorych z 43 (39,53%) w grupie z ŻChZZ i u 32 pacjentów z 65 (49,23%) bez rozpoznanej ŻChZZ. Nie było istotnych różnic w zastosowaniu GKS pomiędzy grupami.

Antybiotykoterapię w trakcie COVID-19 stosowano u 69 osób (63,9%), u 30 chorych z 43 (69,78%) w grupie z ŻChZZ i u 39 pacjentów z 65 (60%) bez rozpoznanej ŻChZZ. Nie

stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami pod względem częstości zastosowania antybiotyków.

Heparyny drobnocząsteczkowe podczas choroby COVID-19 stosowano w całej grupie badanej u 47 chorych (43,52%), równie często (u 20 chorych, tj. 46,51%) w grupie z ŻChZZ jak i w grupie bez ŻChZZ (u 27 pacjentów, tj. 41,54%).

Leki z grupy NOAC (ang. novel oral anticoagulants) w trakcie COVID-19 stosowano u 14 osób (12,96%), u 10 (23,26%) chorych w grupie z ŻChZZ i u 4 pacjentów (6,15%) bez rozpoznanej ŻChZZ. Chorzy z ŻChZZ istotnie częściej przyjmowali leki z grupy NOAC ($p=0,02$).

Leczenie aspiryną stosowano u 11 pacjentów (10,19%) w całej grupie, u 2/43 (4,65%) z ŻChZZ oraz u 9/65 (13,85 %) w grupie bez ŻChZZ. Nie stwierdzono różnic statystycznych.

Leczenie przeciwwirusowe Remdesivirem zastosowano u 18 chorych (16,67%). Pozostałe stosowane metody leczenia w COVID-19: inhibitor kinaz JAK-1 i JAK-2 – Barycitinib stosowano u 7 pacjentów (6,48%) a inhibitor receptora dla IL-6 – Tocilizumab u 4 chorych (3,7%). Grupy z ŻChZZ i bez niej nie różniły się od siebie pod względem sposobów leczenia infekcji wirusowej.

Dokładne dane dotyczące leczenia pacjentów z COVID-19 zawarto w **Tabeli nr 6**.

Leczenie COVID-19	cała grupa N=108	ŻChZZ (+) N=43	ŻChZZ (-) N=65	p
bez tlenu - N (%)	50 (46,29)	21 (48,84)	29 (44,62)	0,29
Tlenoter. niskoprzepływ.- N(%)	41 (37,96)	13 (30,23)	28 (43,08)	
HFNOT -N (%)	12 (11,1)	7 (16,28)	5 (7,69)	
Inne: NIV, WM, ECMO N(%)	5 (4,63)	2 (4,65)	3(4,62)	
GKS systemowo –N (%)	49 (45)	17 (39,53)	32 (49,23)	0,47
Antybiotykoterapia– N(%)	69 (63,9)	30 (69,78)	39 (60)	0,31
LMWH - N (%)	47 (43,52)	20 (46,51)	27 (41,54)	0,69
NOAC - N (%)	14 (12,96)	10 (23,26)	4 (6,15)	0,02
Aspiryna - N (%)	11 (10,19)	2 (4,65)	9 (13,85)	0,3
Remdesivir - N (%)	18 (16,6)	7 (16,28)	11 (16,92)	>0,99
Tocilizumab - N (%)	4 (3,7)	1 (2,33)	3 (4,62)	
Baricitinib - N (%)	7 (6,4)	3 (6,98)	4 (6,15)	

Legenda: HFNOT- wysokoprzepływowa tlenoterapia donosowa ; NIV- nieinwazyjna wentylacja. WM- wentylacja mechaniczna ; ECMO- pozaustrojowe wspomaganie utlenowania krwi; GKS- glikokortykosteroidy; LMWH- heparyna drobnocząsteczkowa; NOAC- doustne antykoagulanty nowej generacji.

Tabela 6. Dane kliniczne dotyczące leczenia w trakcie COVID-19

5.3 Choroby współistniejące

Wśród wszystkich biorących udział w badaniu pacjentów, co najmniej jedna choroba współistniejąca występowała aż u 55 (50,93%) chorych, w grupie z ŻChZZ u 21 osób (48,84%) a w grupie bez ŻChZZ u 34 (52,31%). Najczęstszą chorobą towarzyszącą było nadciśnienie tętnicze, które występowało u 55 (50,93%) pacjentów, 20 (18,52%) spośród chorych miało rozpoznaną cukrzycę, 17 osób (15,9%) niewydolność serca i 15 osób (13,8%) chorobę śródmiąższową płuc.

W grupie ze stwierdzoną ŻChZZ również najczęściej występowało nadciśnienie tętnicze – u 21 pacjentów (48,84%), kolejno cukrzyca i niewydolność serca, obie choroby rozpoznano u 13 pacjentów, co stanowiło po 30,23% chorych w tej grupie, a następnie choroby obturacyjne płuc (astma i POCHP) u 5 chorych (11,63%). Wśród chorych bez stwierdzonej ŻChZZ, najczęściej współistniejącą chorobą było także nadciśnienie tętnicze, które występowało u 35 osób (53,85%), następnie choroby obturacyjne płuc (astma i POCHP) u 14 osób (21,54%), choroba śródmiąższowa płuc u 13 osób (20%) oraz choroba niedokrwienna serca – u 12 osób (18,46%). Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic między obiema grupami pod względem współchorobowości.

Częstości i rodzaj chorób współistniejących ogółem oraz w podziale na grupy z ŻChZZ i bez przedstawiono w **Tabeli 7**.

Choroby współistniejące	Cała grupa N=108	ŻChZZ (+) N=43	ŻChZZ (-) N=65	p
Nadciśnienie tętnicze -N (%)	55 (50,9)	21 (48,84)	34 (52,31)	1,0
Cukrzyca - N (%)	20 (18,5)	13 (30,23)	7 (10,77)	0,74
Niewydolność serca - N (%)	17 (15,9)	13 (30,23)	4 (6,15)	0,31
Choroba śródmiąższowa -N(%)	15 (13,8)	2 (4,65)	13 (20)	0,08
Choroba wieńcowa - N (%)	14 (12,9)	2 (4,65)	12 (18,46)	0,11
Choroby obturacyjne płuc-N(%)	19 (17,59)	5 (11,63)	14 (21,54)	0,52
Zaburzenia rytmu serca-N (%)	11 (10,2)	4 (9,30)	7 (10,77)	1,0
Przebyta ŻChZZ N (%)	7 (6,48)	4 (9,30)	3 (4,62)	1,0
Choroby reumatyczne - N (%)	3 (%)	2 (4,65)	1 (1,54)	0,64
Choroba nowotworowa - N(%)	6 (5,5)	2 (4,65)	4 (6,15)	0,24

Tabela 7. Choroby współistniejące (częstość i rodzaj) w grupie z ŻChZZ i bez ŻChZZ

5.4 Stopień ciężkości COVID-19

Najliczniejszą grupą pod względem stopnia ciężkości przebiegu COVID-19 w grupie badanej stanowili chorzy w stopniu III – ciężkim były to 54 osoby (50%), u których występowały objawy zapalenia płuc z niewydolnością oddychania wymagające tlenoterapii. W grupie z ŻChZZ było to 20 osób (46,51%) a w grupie bez ŻChZZ 34 pacjentów (52,31%). Do grupy IV o bardzo ciężkim (krytycznym) przebiegu zakwalifikowano 4 osoby (3,7%) 2 chorych (4,65%) z grupy z ŻChZZ i 2 chorych (3,08%) w grupie bez ŻChZZ. U pozostałych 50 osób (46,29%) przebieg COVID-19 był umiarkowany lub łagodny, lecz w późniejszym czasie powikłany objawami wymagającymi hospitalizacji. W tej grupie u 21 pacjentów (19,44%) również stwierdzono ŻChZZ. Rozkład obu grup pod względem stopnia ciężkości choroby obliczono testem Fishera, który nie wykazał znamiennych statystycznie różnic pomiędzy obiema grupami. Dane dotyczące ciężkości przebiegu COVID-19 zawarto w Tabeli 8.

	st I-II	st III	st IV	Razem	p
ŻChZZ (+) N(%)	21 (48,84)	20 (46,51)	2 (4,65)	43 (100)	0,667
ŻChZZ (-) N(%)	29(44,62)	34 (52,31)	2 (3,08)	65 (100)	
Ogółem –N(%)	50 (46,29)	54 (50)	4 (3,7)	108 (100)	

N- liczba osób ; st- stopień ciężkości choroby

Tabela 8. Stopień ciężkości przebiegu COVID-19

5.5 Parametry biochemiczne krwi

Wyniki badań biochemicznych krwi 108 chorych (43 pacjentów z ŻChZZ i 65 bez ŻChZZ) wykonanych podczas pierwszej hospitalizacji w IGiChP (W1) oraz 101 pacjentów (40 z ŻChZZ i 61 pacjentów bez ŻChZZ) wykonanych podczas kontroli (W2) po ok. 8 miesiącach (mediana 8 mies, min.5, max.15 mies.), poddano analizie porównawczej. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w wynikach tych badań pomiędzy grupami. Średnie stężenie D-dimerów w grupie z ŻChZZ było wyższe i wynosiło 2177.22 ± 3490.27 , w porównaniu ze stężeniem w grupie bez ŻChZZ które wynosiło 802.36 ± 1262.52 , jednak różnica nie była istotna statystycznie ($p=0,075$). Średnie stężenie CRP w grupie z ŻChZZ wynosiło 24.29 ± 40.90 , natomiast w grupie bez ŻChZZ było niższe i wynosiło $12,69 \pm 34,58$ ($p=0,071$). Wyniki wszystkich wykonanych badań biochemicznych zebrano w **Tabeli 9**.

Parametry biochemiczne(W1)	ŚREDNIA $\pm$ SD		p
	ŻChZZ (+)	ŻChZZ (-)	
Płytki krwi [$10^9/L$]	275.92 ± 99.99	265.69 ± 102.37	0.082
APTT[s]	33.14 ± 7.71	31.23 ± 6.06	0.207
PT [s]	13.70 ± 3.71	12.76 ± 2.65	0.093
INR	1.23 ± 0.34	1.14 ± 0.23	0.086
D-dimer[ng/ml]	2177.22 ± 3490.27	802.36 ± 1262.52	0.075
Fibrynogen[g/l]	3.74 ± 1.11	3.47 ± 1.10	0.156
CRP[mg/l]	24.29 ± 40.90	$12,69 \pm 34,58$	0.071
BNP[pg/ml]	286.62 ± 483.88	198.13 ± 323.91	0.261
Prokalcytonina[ng/ml]	0.06 ± 0.04	0.05 ± 0.04	0.080
Leukocyty [$10^9/L$]	$8,90 \pm 3,09$	$8,06 \pm 3,08$	0,156

Tabela 9. Porównanie stężeń wybranych parametrów biochemicznych dla obu grup z ŻChZZ i bez ŻChZZ podczas wizyty 1 (W1).

5.6 Cytokiny prozapalne, PAI-1 i ferrytyna

Podczas wizyty pierwszej (W1) u 108 chorych wykonano oznaczenia stężeń cytokin prozapalnych (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α), a także oznaczenie stężenia ferrytyny i PAI-1. Krew na te same oznaczenia pobrano ponownie podczas wizyty 2 (W2) u 101 chorych. Mediana czasu pomiędzy obiema wizytami wynosiła 8 miesięcy (5-15). W grupie z ŻChZZ mediana wynosiła 8 miesięcy (5 – 13), a w grupie bez ŻChZZ – 7,5 miesiąca (6 – 15), różnica nie była istotna statystycznie.

Wyniki oznaczeń cytokin prozapalnych, PAI-1 i ferrytyny pobrane podczas wizyty 1 (W1) przedstawiono w Tabeli 10.

Cytokiny W1	PAI-1 [ng/ml]	IL-6 [pg/ml]	IL-8 [pg/ml]	IL-10 [pg/ml]	TNF- α [pg/ml]	Ferrytyna [ng/ml]
Mediana	29,82	2,42	9,42	1,68	31,53	94,20
Minimum	20,215	0,18	0,90	0,42	3,33	0,75
Maksimum	63,014	84,05	38,52	60,29	206,49	1130,19

Legenda: W1-wizyta 1

Tabela 10. Stężenie cytokin – cała grupa badana W1

Mediana czasu od rozpoznania COVID-19 do pierwszego pobrania krwi wynosiła 150 dni (min. 10, max.630). W grupie z ŻChZZ wynosiła 120 dni (min. 11, max. 630 dni) a w grupie bez ŻChZZ 180 dni (min. 11 i max. 630), różnica nie była istotna statystycznie ($p = 0,5$).

Porównano oznaczenia stężenia cytokin (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10), ferrytyny, PAI-1 i TNF- α w grupie chorych z ŻChZZ i bez ŻChZZ podczas wizyty 1 (W1).

Mediana stężeń TNF- α była istotnie wyższa w grupie chorych z ŻChZZ niż w grupie chorych bez ŻChZZ, wynosiła odpowiednio 37,23 (3,33-206,49) i 27,94 (13,97-86-31) pg/ml, $p=0,015$ (test U Manna-Whitney'a).

Mediana stężeń PAI-1 w grupie chorych z ŻChZZ w porównaniu do grupy chorych bez ŻChZZ, wynosiła odpowiednio 31,78 (20,22-63,01) i 29,60 (20,96-60,53) ng/ml, $p=0,325$, stężenia nie różniły się znamienne statystycznie (test U Manna-Whitney'a).

Mediana stężeń IL-6 w grupie chorych z ŻChZZ w porównaniu z grupą chorych bez ŻChZZ, nie różniła się istotnie statystycznie, odpowiednio wynosiła 2,79 (0,18-52,44) i 1,98 (0,18-84,05) pg/ml, $p=0,267$ (test U Manna-Whitney'a).

Mediana stężeń IL-8 w grupie chorych z ŻChZZ w porównaniu z grupą chorych bez ŻChZZ, wynosiła odpowiednio 10,51 (3,52-36,08) i 8,49 (0,9-38,52) pg/ml, $p=0,309$. Nie wykazano różnicy istotnej statystycznie (test U Manna-Whitney'a).

Mediana stężeń IL-10 w grupie chorych z ŻChZZ w porównaniu z grupą chorych bez ŻChZZ, nie różniła się istotnie statystycznie, odpowiednio wynosiła 2,545 (0,42-15,52) i 1,33 (0,43-60,29) pg/ml, $p=0,132$ (test U Manna-Whitney'a).

Mediana stężeń ferrytyny w grupie chorych z ŻChZZ w porównaniu do chorych bez ŻChZZ, wynosiła odpowiednio 103,4 (0,75-1130,19) i 92 (4,23-712,8) ng/ml, $p=0,828$, mediany nie różniły się istotnie statystycznie (test U Manna-Whitney'a).

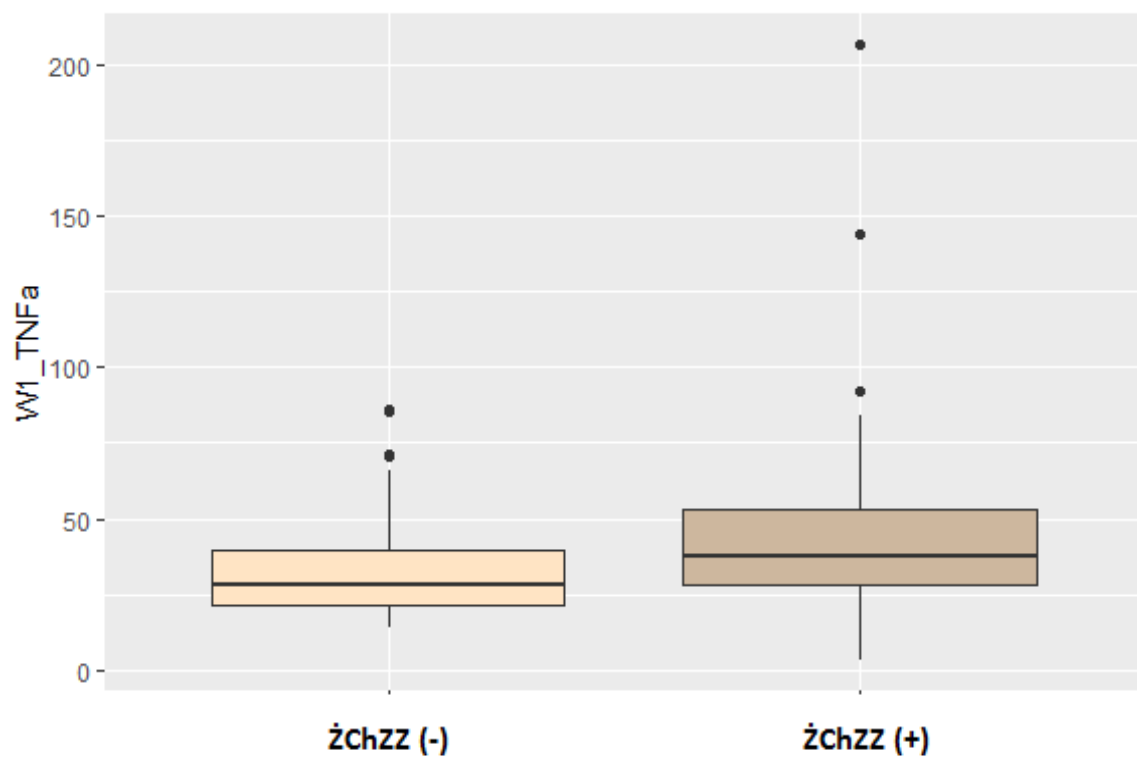
Wyłączono z analiz statystycznych oznaczenie stężenia IL-1 β z powodu dużej liczby oznaczeń poniżej granicy wykrywalności metody.

Dokładne dane dotyczące porównania stężeń cytokin, ferrytyny i PAI-1 dla obu grup z ŻChZZ i bez ŻChZZ z wizyty W1 zawarto w **Tabeli 11**.

Cytokiny W 1	Mediana (min-max)		p
	ŻChZZ (-)	ŻChZZ (+)	
PAI-1--[ng/ml]	29,60 (20,96-60,53)	31,78 (20,22-63,01)	0,325
IL-6-[pg/ml]	1,98 (0,18-84,05)	2,79 (0,18-52,44)	0,267
IL-8- [pg/ml]	8,49 (0,9-38,52)	10,51(3,52-36,08)	0,309
IL-10- [pg/ml]	1,33 (0,43-60,29)	2,55 (0,42-15,52)	0,132
TNF- α -[pg/ml]	27,94 (13,97-86-31)	37,23 (3,33-206,49)	0,015
Ferrytyna- [ng/ml]	92 (4,23-712,8)	103,4 (0,75-1130,19)	0,828

Tabela 11. Porównanie stężeń cytokin, ferrytyny i PAI-1 w grupach z ŻChZZ i bez ŻChZZ w czasie wizyty W1

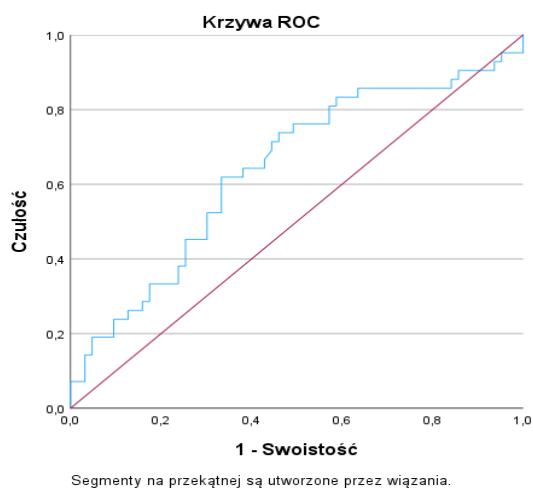
Porównanie graficzne stężeń TNF- α oznaczonych podczas wizyty 1 w grupie chorych z ŻChZZ i bez ŻChZZ przedstawiono na **Rycinie 2**



Rycina 2. Wykres skrzynkowy stężeń TNF- α podczas wizyty 1 (W1) dla grupy bez ŻChZZ (-) oraz grupy z ŻChZZ (+).

Wykreślono krzywą ROC dla stężenia TNF- α podczas wizyty 1.

Powierzchnia pod krzywą (AUC) wynosiła 0,6179. Czulość wykrywania ŻChZZ przy pomocy oznaczania stężenia TNF- α wynosiła 62.9%, a swoistość 62.5% dla stężenia >30.15 pg/ml. Wykres krzywej ROC przedstawia **Rycina 3**.



Rycina 3. Krzywa ROC dla TNF- α

Powierzchnia pod krzywą (AUC)	Błąd standardowy (a)	Istotność asymptotyczna (b)	95% przedział ufności	
			Dolna wartość graniczna	Górna wartość graniczna
0,6179	0,063	0,0595	0,4942	0,7415

a - Przy założeniu rozkładu nieparametrycznego

b - Hipoteza zerowa: powierzchnia prawdziwa=0.5

Tabela 12. Wyniki krzywej ROC dla TNF- α

W grupie chorych z rozpoznaną ŻChZZ porównano oznaczenia cytokin prozapalnych (IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α), PAI-1 i ferrytyny u których rozpoznanie postawiono w czasie hospitalizacji w IGiChP (W1) – 18 chorych (41,86%), do pacjentów, u których rozpoznanie postawiono przed hospitalizacją – 25 osób (58,14%). Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w oznaczonych parametrach – dane przedstawiono w **Tabeli 13**.

Cytokiny W 1	Mediana (min-max)		p
	ŻChZZ przed hosp. w IGiChP N=25	ŻChZZ w trakcie hosp. w IGiChP N=18	
PAI-1-[ng/ml]	28,19 (20,69– 42,96)	28,60 (21,33– 50,23)	0,67
IL-6 -[pg/ml]	1,22 (0,18– 57,29)	1,16 (0,18– 2647,75)	0,94
IL-8 -[pg/ml]	8,82 (0,24– 28,05)	7,70 (3,48– 27,49)	0,45
IL-10 -[pg/ml]	0,72 (0,72– 16,22)	0,72 (0,42–10,29)	0,89
TNF- α -[pg/ml]	29,39 (2,21– 70,28)	28,96 (11,53– 281,62)	0,35
Ferrytyna -[ng/ml]	62,49 (18,860– 359,830)	73,00 (1,45– 658,43)	0,31

Tabela 13. Porównanie stężeń cytokin, ferrytyny i PAI-1 u chorych z ŻChZZ rozpoznaną przed hospitalizacją i w trakcie pobytu w IGiChP

Wyniki oznaczeń cytokin prozapalnych, PAI-1 i ferrytyny podczas wizyty 2 (W2) przedstawiono w **Tabeli 14**.

Cytokiny W2	PAI-1 [ng/ml]	IL-6 [pg/ml]	IL-8 [pg/ml]	IL-10 [pg/ml]	TNF- α [pg/ml]	Ferrytyna [ng/ml]
Mediana	29,82	1,13	8,12	0,72	26,26	80,16
Minimum	19,857	0,18	0,24	0,015	2,21	1,45
Maksimum	65,534	2647,75	32,09	19,78	281,62	2030,0

Tabela 14. Stężenie cytokin, PAI-1 i ferrytyny - cała grupa badana -wizyta W2

W oznaczeniach kontrolnych stężeń cytokin podczas wizyty 2 (W2), mediana stężeń TNF- α w grupie z ŻChZZ nadal była wyższa niż w grupie bez ŻChZZ i odpowiednio wynosiła 8,58 (0,24-28,05) i 8,12 (1,03-32,09) w pg/ml, ale nie była to różnica istotna statystycznie ($p=0,361$).

Stężenia pozostałych analizowanych parametrów (IL-6, IL-8, IL-10, PAI-1 i ferrytyny) podczas wizyty drugiej (W2) również nie różniły się istotnie statystycznie w obu grupach.

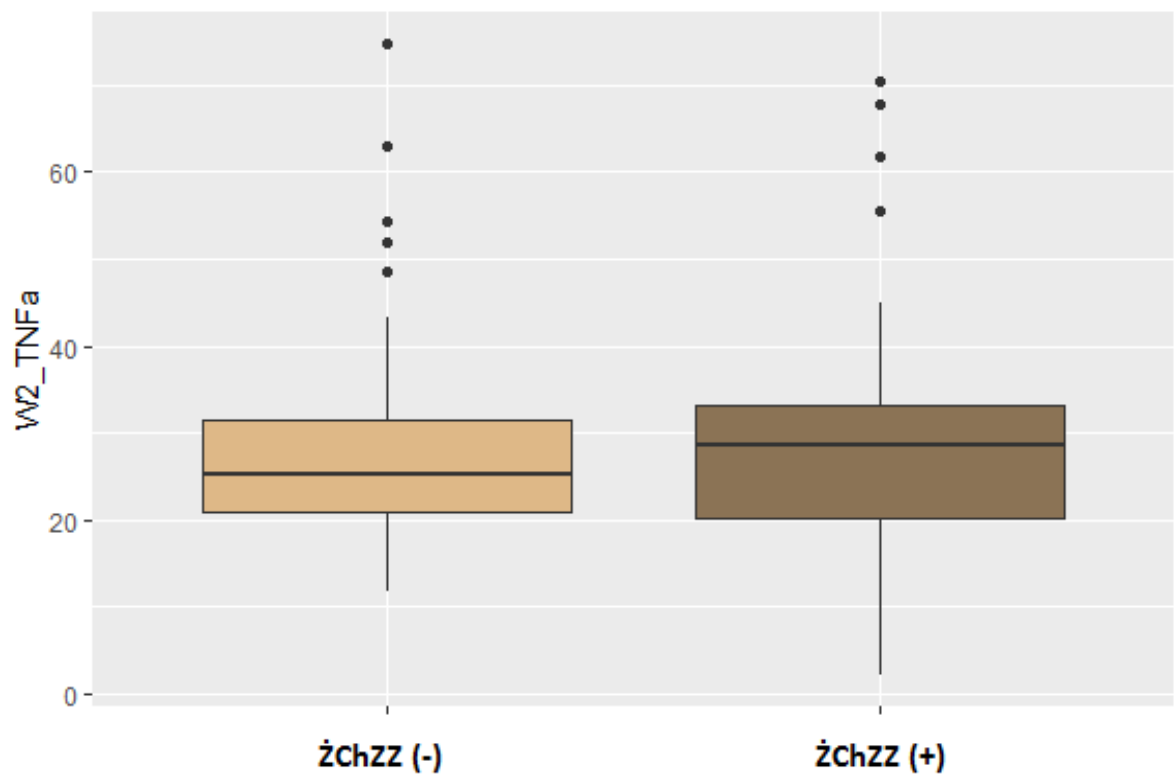
Podczas analizy oznaczeń z drugiej wizyty wyłączono z obliczeń statystycznych oznaczenia stężenia IL-1 β z powodu dużej liczby wartości poniżej granicy wykrywalności dla metody.

Dokładne dane dotyczące porównania stężeń cytokin, ferrytyny i PAI-1 dla obu grup z ŻChZZ i bez ŻChZZ z wizyty W2 zawarto w **Tabeli 15**.

Cytokiny W 2	Mediana (max-min)		p
	ŻChZZ (-)	ŻChZZ (+)	
PAI-1- [ng/ml]	30,30 (19,86-65,53)	28,35 (20,69-50,231)	0,327
IL-6-[pg/ml]	1,13 (0,18-40,51)	1,16 (0,18-2647,75)	0,985
IL-8- [pg/ml]	8,12 (1,03-32,09)	8,58(0,24-28,05)	0,856
IL-10-[pg/ml]	0,72 (0,01-19,78)	0,72 (0,42-16,22)	0,984
TNF-α [pg/ml]	25,22 (11,86-74,73)	28,96 (2,21-281,62)	0,361
Ferrytyna- [ng/ml]	114,2 (5,85-2030)	69,61 (1,454-658,43)	0,056

Tabela 15. Porównanie stężenia cytokin, ferrytyny i PAI-1 dla grupy z ŻChZZ (+) i bez ŻChZZ(-) podczas wizyty W2.

Porównanie graficzne stężeń TNF- α oznaczonych podczas wizyty 2 w grupie chorych z ŻChZZ i bez ŻChZZ przedstawiono na **Rycinie 4**.



Rycina 4. Wykres skrzynkowy stężeń TNF- α podczas wizyty 2 (W2) dla grupy bez ŻChZZ (-) oraz grupy z ŻChZ (+).

6 OMÓWIENIE WYNIKÓW

6.1 Wstęp

Żylna choroba zakrzepowo-zatorowa stanowi częste powikłanie występujące zarówno w ostrym okresie choroby, jak i w długim czasie po przebytych COVID-19. Mechanizmy prozakrzepowe po zakażeniu wirusem *SARS-COV-2* nie są do końca poznane i są przedmiotem wielu analiz od czasu ogłoszenia epidemii w Chinach w styczniu 2020 roku. Początkowo dużą śmiertelność w przebiegu COVID-19 wiązano z ciężkością zapalenia płuc, dopiero w wyniku przeprowadzonych badań odkryto, że duże znaczenie dla przebiegu choroby mają także procesy prozakrzepowe zachodzące zarówno w naczyniach płucnych jak i zakrzepica naczyń obwodowych i zator tętnicy płucnej [13], [14], [28].

U pacjentów z COVID-19 częściej występują powikłania zakrzepowo-zatorowe w układzie żylnym, rzadziej w tętniczym, epizody zakrzepowo-zatorowe najczęściej dotyczą chorych hospitalizowanych w oddziałach intensywnej opieki medycznej (OIT), rzadziej w oddziałach zachowawczych, a najrzadziej wśród pacjentów ambulatoryjnych [66]. Wiąże się to z od dawna znanymi czynnikami ryzyka zakrzepicy, stanem klinicznym pacjenta (wiek, ciężkość zakażenia, przebyty epizod ŻChZZ, choroby współistniejące) oraz przebiegiem hospitalizacji (rodzajem farmakoterapii czy unieruchomieniem).

Na początku epidemii zakażeń wirusem *SARS-CoV-2* w Chinach zaobserwowano znaczący wzrost stężenia D-dimerów w osoczu u pacjentów z ciężkim przebiegiem choroby i tych którzy zmarli, przekraczały one kilkukrotnie stężenia obserwowane u osób z łagodniejszym przebiegiem choroby [59], [67]. Po rozszerzeniu się epidemii kolejne doniesienia z Europy wskazywały na znaczną częstość ŻChZZ u chorych hospitalizowanych z powodu COVID-19, pomimo stosowania profilaktycznie standardowych dawek heparyn drobnocząsteczkowych [59]. Dokładne określenie częstości występowania ŻChZZ u chorych na COVID-19 jest bardzo trudne ze względu na okres pandemii, w czasie której były prowadzone badania oraz heterogenność grup ocenianych pacjentów [68]. Duże znaczenie miał sposób wykrywania ŻChZZ, u chorych z objawami czy też na podstawie badań przesiewowych u osób hospitalizowanych z czynnikami ryzyka.

Metaanalizy wieloośrodkowych badań wskazują na ogólną częstość występowania ŻChZZ u chorych hospitalizowanych na ok. 14,7 - 27%, z wyraźnie częstszym występowaniem u ciężko chorych oraz hospitalizowanych na OIT gdzie sięga nawet do 85,4% [40], [41], [46], [49] [47] [69].

ŻChZZ może wystąpić także po wypisie ze szpitala, co dotyczyło 1,1%- 1,55% chorych [70], [71].

Interesujące są doniesienia z początku XXI wieku na temat związku wirusów *SARS CoV-1* z ŻChZZ. W badaniu przeprowadzonym w 2004r. u chorych zakażonych *SARS-CoV-1* wykazano, że ŻŻG występowała u 20,5% a ZTP u 11,4% chorych co wskazuje na związek różnych koronawirusów wywołujących ciężkie zapalenia płuc z ŻChZZ [72].

Związek między patofizjologią COVID-19 a zakrzepicą jest wieloczynnikowy i obejmuje zarówno osoczowe jak i komórkowe składniki układu hemostazy oraz wiele elementów odpowiedzi immunologicznej na działanie wirusa *SARS-CoV-2*. Mimo wielu przeprowadzonych badań, mechanizmy aktywacji płytek krwi i czynniki prokoagulacyjne w COVID-19 nie zostały dotychczas całkowicie wyjaśnione.

Zadaniem prezentowanej pracy było znalezienie nowych czynników ryzyka żylnej choroby zakrzepowo-zatorowej u chorych po przebytych COVID-19, które mogą mieć znaczenie w patogenezie tej choroby, a także ocena częstości występowania ŻChZZ u pacjentów po przebytych COVID-19 z utrzymującymi się przetrwałymi objawami klinicznymi takimi jak duszność, obniżona tolerancja wysiłku, bóle w klatce piersiowej. Nasz projekt badawczy był badaniem prospektywnym. Przeprowadzono go na grupie 108 pacjentów hospitalizowanych w I Klinice Chorób Płuc w okresie od 01.01.2021 do 31.12.2023r. Po ok 8 miesiącach (mediana 8 mies.), zakres (5 – 15 mies.), 101 osób ponownie zostało poddanych ocenie klinicznej i wykonano u nich badania obrazowe i biochemiczne oceniające dynamikę choroby. Z całej grupy badanej 6 osób nie zgodziło się na kontrolne badania a 1 osoba z grupy bez ŻChZZ zmarła z powodu innych ciężkich chorób współistniejących.

Czas trwania przewlekłego leczenia przeciwzakrzepowego u chorych po COVID-19 nie jest precyzyjnie określony. Nieznane są dotychczas markery kliniczne i biochemiczne, które pomogłyby podjąć decyzję o długości leczenia przeciwzakrzepowego. Implikacją kliniczną naszych badań mogłoby być wyodrębnienie grupy chorych po przebytych COVID-19, u których należałoby przedłużyć stosowanie takiego leczenia.

6.2 Częstość występowania żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej

Częstość występowania ŻChZZ u pacjentów hospitalizowanych z powodu COVID-19 jest bardzo różna w zależności od ciężkości choroby, ale też od protokołu przeprowadzonego badania. W badaniach gdzie wykonano skrining w kierunku ŻChZZ częstość rozpoznań była znacząco większa sięgająca nawet do 85,4% [45], [46], [47].

Wśród 108 pacjentów włączonych do naszego badania u 43 (39,8%) chorych potwierdzono ŻChZZ. W tej całej grupie u 30 osób (27,78%) rozpoznano ZTP, u 7 osób (6,48%) ŻŻG a u 6 (5,56%) obie choroby jednocześnie (ZTP i ŻŻG). Jest to częstość większa niż wykazana w metaanalizie Nopp i wsp. z 2020r [48] obejmującej 86 badań (33 970 pacjentów) gdzie oszacowano ogólną częstość ŻChZZ na 14,1%. Jeśli chorobę rozpoznano na podstawie badania chorych objawowych, odsetek ten wynosił 9,5%, podczas gdy po zastosowaniu skriningu ultrasonograficznego u osób bez objawów był istotnie wyższy i wynosił 40,3%.

Kolejna metaanaliza z Włoch przeprowadzona przez Zuin [43] i wsp. dotycząca badań autopsyjnych oceniła częstość występowania ZTP u pacjentów zakażonych *SARS-CoV-2* na 30%, co jest wartością zbliżoną do wyników uzyskanych w naszej grupie. W trakcie naszego badania wszyscy chorzy niezależnie od objawów klinicznych zakrzepicy żył głębokich, mieli wykonywane USG żył kończyn dolnych, było to więc badanie przesiewowe. Tomografię komputerową z oceną tętnic płucnych wykonywano w zależności od wskazań klinicznych (duszność bóle w klatce piersiowej, obniżona tolerancja wysiłku), ale też u chorych z podwyższonym stężeniem D-dimeru.

Diagnozę ŻChZZ u 30 pacjentów (27,78%) uczestniczących w naszym badaniu postawiono do 3 miesięcy (1-90 dni) od czasu rozpoznania COVID-19, a więc w krótkim okresie upływającym od zakażenia. W metaanalizie przeprowadzonej przez Liu i wsp. w 2021r. [42] wśród pacjentów hospitalizowanych z powodu ostrego COVID-19 oszacowano całkowitą częstość występowania ŻChZZ na 28,3% a wśród pacjentów w ciężkim stanie na 38%, co jest zgodne z naszymi wynikami.

Trzynastu chorych (12,04%) z naszej grupy badanej uzyskało diagnozę ŻChZZ powyżej 3 miesięcy od ostrego zakażenia wirusem *SARS-CoV-2* (zakres wynosił 92-480 dni). Jest to częstość wyższa niż w innych publikowanych opracowaniach [51], [73]. Jednak w metaanalizie Zuin i wsp. [73] z 2022r. częstość występowania ŻChZZ po wypisie ze szpitala

oszacowano od 0,2 do 14,8%. Średni czas obserwacji po wypisie ze szpitala wynosił 61,7 dnia (21-180 dni). Okres obserwacji był więc znacznie krótszy niż w naszym badaniu.

W metaanalizie Burn i wsp. [51] oceniającej 909473 chorych na COVID-19 leczonych ambulatoryjnie oraz 32329 chorych hospitalizowanych z powodu COVID-19, częstość ŻChZZ wyniosła 4,52% w okresie 90 dni od rozpoznania zakażenia *SARS-CoV-2*. W naszym badaniu u 13 pacjentów (30,23%) rozpoznanie ŻChZZ postawiono powyżej 90 dni od COVID-19, co wskazuje na utrzymujące się podwyższone ryzyko nawet po tak długim czasie.

Mediana czasu od rozpoznania COVID-19 w naszej grupie 18 chorych, u których postawiono rozpoznanie ŻChZZ podczas pierwszej hospitalizacji w IGiChP (W1) wynosiła 120 dni (11-360). U 17 pacjentów potwierdzono ZTP a u 1 osoby ZZG. Objawy ZTP (duszność, bóle w klatce piersiowej tachypnoe, obniżona tolerancja wysiłku) występowały u wszystkich omawianych chorych. Wymienione objawy nie są jednak charakterystyczne tylko dla ZTP, często występują również u chorych ze zmianami płucnymi wynikającymi z zakażenia *SARS-CoV-2* lub stanowią czynnik dodatkowy pogarszający stan kliniczny tych chorych. Na podstawie dotychczasowej wiedzy nie jest jasne, u kogo z pacjentów po przebytych COVID-19 należy wykonywać angiografię tętnicy płucnej, zwłaszcza, że podwyższenie stężenia D-dimerów obserwuje się u większości takich chorych. Stwierdzenie podwyższonego stężenia TNF- α może być dodatkowym istotnym czynnikiem stanowiącym o wykonaniu angiografii tętnicy płucnej w przypadku uzyskania wyniku powyżej wartości odcięcia (TNF- α >30,15 pg/ml).

6.3 Ciężkość przebiegu COVID-19 oraz choroby towarzyszące zwiększające ryzyko ŻChZZ

Na początku pandemii w 2020r w analizach przypadków COVID-19 w Chinach Chen i wsp. [18] wykazali, że u ponad 50% chorych współistniały choroby przewlekłe najczęściej choroby układu sercowo-naczyniowego i cukrzyca. Kolejne badania i metaanalizy grup pacjentów potwierdzały, że współchorobowość wiązała się z cięższym przebiegiem COVID-19. W naszej grupie choroby współistniejące występowały aż u 55 osób (50,93%). Jest to najpewniej związane z tym, że osoby z wielochorobowością prezentują więcej objawów, które skłaniają lekarzy rodzinnych do kierowania ich do szpitala celem uzupełnienia diagnostyki.

W metaanalizie dotyczącej 241 badań Abdullah i wsp. [74] wykazali, że do najczęściej zgłaszanych chorób współistniejących u pacjentów z COVID-19 należały nadciśnienie tętnicze (18,3%), cukrzyca (13,1%) i choroby układu oddechowego (4,2%). Wśród wszystkich biorących udział w naszym badaniu pacjentów, najczęstszą chorobą towarzyszącą było nadciśnienie tętnicze, które występowało u 55 (50,93%) pacjentów, 20 (18,52%) spośród chorych miało rozpoznaną cukrzycę, 17 osób (15,9%) niewydolność serca i 15 osób (13,8%) chorobę śródmiąższową płuc. Różnice mogą występować ze względu na heterogenność badań w metaanalizie i trudny do porównania stopień ciężkości chorych biorących udział w badaniu. Ponadto w naszej grupie analizowano jedynie chorych, którzy byli przyjęci do szpitala po raz drugi, po zakończeniu hospitalizacji związanej z COVID, a więc mogą być to osoby, które prezentują więcej objawów i gorszy stan ogólny w związku z chorobami współistniejącymi.

Najczęstszą chorobą towarzyszącą COVID-19 w naszym opracowaniu w grupie ze stwierdzoną ŻChZZ (43osób) było nadciśnienie tętnicze, które miało rozpoznanych 21 pacjentów (48,84%), kolejno cukrzyca i niewydolność serca, obie choroby rozpoznano u 13 pacjentów, co stanowiło po 30,23% chorych w tej grupie, a następnie choroby obturacyjne płuc (astma i POCHP) u 5 chorych (11,63%). W porównaniu do badania Li i wsp. [75] gdzie, najczęstszą chorobą współistniejącą w grupie z ŻChZZ było również nadciśnienie tętnicze, które występowało u 44,2% chorych, kolejno choroba wieńcowa u 23,1% osób, cukrzyca u 21,2%, niewydolność serca 18,3%, POCHP-14,4% oraz migotanie przedsionków u 9,6% chorych, procentowy rozkład chorób współistniejących był podobny.

Wśród chorych w naszym badaniu w grupie bez stwierdzonej ŻChZZ (65 osób) najczęściej współistniejącą chorobą było także nadciśnienie tętnicze, które miało rozpoznane 34 osoby (52,31%), następnie choroby obturacyjne płuc (astma i POCHP), które stwierdzono u 14 osób (21,54%), chorobę śródmiąższową płuc miało rozpoznane 13 osób (20%) oraz chorobę niedokrwienną serca rozpoznano u 12 chorych (18,46%). We wspomnianym wcześniej badaniu Li i wsp. w grupie bez ŻChZZ najczęściej występowało nadciśnienie tętnicze (27,9%), cukrzyca (18,3%), choroba wieńcowa (16,8%) i niewydolność serca (11%). Różnice w tej grupie dotyczące chorób współistniejących mogą wynikać z profilu naszego szpitala, który zajmuje się wieloma pacjentami z chorobami obturacyjnymi i śródmiąższowymi płuc.

W badaniu Mouhat i wsp. [76] opisali grupę 162 pacjentów z COVID-19, u których wykonano badanie angiografii tętnicy płucnej metodą tomografii komputerowej i stwierdzono 44 przypadki ZTP. Współchorobowość w tej grupie pacjentów była również podobna jak w naszym badaniu. Nadciśnienie tętnicze miało rozpoznanych 47,7% chorych, cukrzycę - 18,2%, choroby serca ogółem (choroba wieńcowa, niewydolność i zaburzenia rytmu serca) stanowiły 18,2%. Współchorobowość w grupie 118 chorych w badaniu Mouhat i wsp. bez rozpoznanej zatorowości płucnej nie wykazywała istotnych różnic statystycznych w porównaniu z grupą z ZTP.

Analizując wyniki naszej pracy, profil chorób współistniejących był bardzo podobny do cytowanych badań.

Najliczniejszą grupę pod względem stopnia ciężkości przebiegu COVID-19 w naszej grupie badanej stanowili chorzy w stopniu III – ciężkim - 54 osoby (50%), u których występowały objawy zapalenia płuc z niewydolnością oddychania wymagającą tlenoterapii. W grupie 43 osób z ŻChZZ było to 20 chorych (46,51%) a w grupie 65 pacjentów bez ŻChZZ 34 osoby (52,31%). W grupie IV o bardzo ciężkim (krytycznym) przebiegu były 4 osoby (3,7%) 2 chorych z 43 (4,65%) z grupy z ŻChZZ i 2 chorych (3,08%) w grupie bez ŻChZZ. U pozostałych 50 chorych (46,29%) przebieg COVID-19 był umiarkowany lub łagodny, lecz w późniejszym czasie powikłany objawami wymagającymi hospitalizacji. W tej grupie u 21 pacjentów (42%) stwierdzono ŻChZZ.

W badaniu Li i wsp. [75] autorzy wykazali, że ciężki przebieg COVID-19 wiązał się z sześciokrotnie zwiększonym ryzykiem ŻChZZ w porównaniu do 3 - krotnego wzrostu ryzyka ŻChZZ jeśli rozpoznano chorobę o łagodnym przebiegu. W analizowanej grupie 312 chorych

włączonych do badania 104 osoby miały rozpoznaną ŻChZZ a 208 osób miało wykluczoną ŻChZZ i stanowiło grupę kontrolną. U chorych z ŻChZZ 61,5% pacjentów miało ciężki przebieg COVID-19 a 39,5% umiarkowany. W naszej grupie pacjentów z ŻChZZ różnice w ciężkości przebiegu COVID-19 były mniej wyrażone, 22 osoby (51,16%) miały ciężki przebieg choroby a 21 osób (48,84%) umiarkowany. W badaniu Li w grupie bez ŻChZZ - 57,7% chorych było w grupie o ciężkim przebiegu a 42,3% w grupie o umiarkowanym. W naszym badaniu rozkład był podobny, odpowiednio 36 osób (55,38%) i 29 osób (44,62%). Wskazuje to na duże ryzyko ŻChZZ również u chorych z umiarkowaną ciężkością przebiegu COVID-19.

6.4 Oznaczenia stężenia cytokin prozapalnych, PAI-1, ferrytyny

W prezentowanym badaniu u 108 chorych wykonano oznaczenia stężeń cytokin prozapalnych (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α), a także stężenie ferrytyny i PAI-1. Porównano wyniki stężeń w grupie chorych z ŻChZZ i bez ŻChZZ podczas wizyty 1 (W1) oraz w badaniach kontrolnych po ok 8 miesiącach (mediana 8 miesięcy). Wyłączono z analiz statystycznych oznaczenie stężenia IL-1 β z powodu dużej ilości oznaczeń poniżej wykrywalności metody.

6.4.1 Stężenie TNF- α u chorych po przebytych COVID-19 w grupie bez i z ŻChZZ

W naszym badaniu podczas wizyty pierwszej (W1) wykazano, że stężenie TNF- α było istotnie wyższe w grupie chorych z ŻChZZ niż w grupie chorych bez ŻChZZ, mediana odpowiednio wynosiła 37,23 (3,33-206,49) i 27,94 (13,97-86-31) pg/ml, $p=0,015$.

W dostępnej literaturze medycznej znaleziono pojedyncze doniesienia naukowe dotyczące znaczenia podwyższonego stężenia TNF- α u pacjentów z COVID-19 i współistniejącą ŻChZZ. Dlatego przeanalizowano też badania, w których opisano znaczenie TNF- α w chorobie COVID-19, a także artykuły dotyczące związku TNF- α z zakrzepicą.

„Burza cytokinowa” opisywana w wielu opracowaniach dotyczących ostrego okresu choroby COVID-19 powodowała, że stwierdzano podwyższone stężenia wielu cytokin prozapalnych. Wśród głównych mediatorów stanu zapalnego uwalnianych przez komórki układu odpornościowego wyróżnia się cytokiny IFN- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, IL-33, TNF- α i TGF- β [11] [77] [78] [79].

W badaniu Mohd Zawawi i wsp. [80] stwierdzono, że TNF- α w połączeniu z innymi cytokinami prozapalnymi może indukować miejscowe i ogólnoustrojowe stany zapalne, które ostatecznie prowadzą do uszkodzenia płuc, obrzęku płuc, a nawet śmierci. Pokazuje to znaczenie TNF- α w progresji COVID-19. Biorąc pod uwagę dużą rolę immunomodulującą TNF- α , może on potencjalnie służyć jako marker diagnostyczny lub prognostyczny w przypadku ciężkiego przebiegu COVID-19 oraz jako cel molekularny dla inhibitorów TNF- α w leczeniu COVID-19. Autorzy zaproponowali, że w prognozowaniu COVID-19 zmiany stężenia TNF- α w porównaniu z wartością wyjściową, można wykorzystać do przewidywania postępu i ciężkości choroby, natomiast stosowanie inhibitorów lub blokerów TNF- α w leczeniu Covid-19 może zapobiegać dużej śmiertelności w ciężkich przypadkach. Należy jednak podkreślić, że oznaczenia stężeń TNF- α w tym badaniu były wykonywane jedynie w ostrym okresie choroby.

W pracy Subramaniana i wsp. [81] dotyczącej roli czynnika tkankowego (TF) w koagulopatii związanej z COVID-19 autorzy wyjaśniają mechanizm prozakrzepowy, zależny w głównej mierze od wysokich stężeń cytokin prozapalnych (IL-1 β , IL-6, IL-18, IFN- γ i TNF- α). Cytokiny te indukują ekspresję TF na leukocytach (np. monocytach, makrofagach) i komórkach nieimmunologicznych (np. śródbłonku, nabłonku). Koagulopatia wywołana zapaleniem jest wynikiem nadekspresji oraz aktywacji czynników krzepnięcia (np. TF), zmniejszonej produkcji czynników przeciwzakrzepowych (np. inhibitora szlaku TF, trombomoduliny, białka C) i supresji białek fibrynolitycznych. Aktywacja receptorów w błonie komórkowej typu Toll (TLR, toll like receptor) przez wirusa (np. białko kolców) i jednoniciowy RNA (ssRNA) aktywuje dalszy proces, prowadząc do produkcji prozapalnych cytokin i chemokin. Następuje dalsza rekrutacja komórek odpornościowych, takich jak neutrofile, monocyty i limfocyty T, do płuc, co powoduje zmiany zapalne w płucach. Wobec braku wyjaśnienia jednoprzyczynowego wydaje się prawdopodobne, że koagulopatia w przebiegu COVID-19 jest skumulowanym skutkiem kilku rozregulowanych szlaków. Pojawiające się dowody potwierdzają koncepcję, że zwiększona ekspresja TF z dużym prawdopodobieństwem przyczynia się do zakrzepicy w ciężkim przebiegu COVID-19. Wysoka ekspresja TF na komórkach śródbłonka i monocytach może powodować zwiększone tworzenie fibryny i aktywację płytek krwi podczas zakażenia COVID-19. Na podstawie istniejących dowodów autorzy opracowania sugerują, że śródbłonkowa odpowiedź prokoagulacyjna i zapalna może wynikać z połączenia ekspresji TF za pośrednictwem przeciwciał antyfosfolipidowych (aPL– antiphospholipid antibodies), dopełniacza i cytokin, a nie z bezpośredniego zakażenia śródbłonka lub komórek krwi. Zdaniem autorów kolejne obserwacje kliniczne będą najodpowiedniejsze do sprawdzenia hipotezy, czy TF jest niezbędny lub zbędny w patogenezie CAC.

Smail i wsp. [82] opublikowali badanie, w którym wzięło udział 180 pacjentów z COVID-19 i 90 zdrowych ochotników. Oznaczono u nich stężenia cytokin prozapalnych o podobnym profilu jak w naszym badaniu: IL-10, IL-23, TNF- α , IFN- γ , IL-17 metodą ELISA. Równolegle oznaczono aktywność mieloperoksydazy (MPO) i stężenie białka CRP. Pacjentów w tym badaniu podzielono na trzy różne podgrupy w zależności od przebiegu COVID-19: łagodną (n=81), ciężką (n=60) i krytyczną (n=39). W porównaniu z grupą kontrolną u pacjentów z COVID-19 zaobserwowano znaczny wzrost stężenia IL-23, IL-10, TNF- α , IFN- γ . Stężenia IL-23, IL-10 i TNF- α w surowicy były istotnie wyższe u pacjentów z COVID-19 w przypadkach krytycznych w porównaniu z przypadkami łagodnymi i ciężkimi

oraz korelowały ze stężeniem CRP. Ponadto autorzy zaobserwowali związek podwyższonego stężenia IL-10 w połączeniu z IL-23 i TNF- α a zwiększoną śmiertelnością wewnątrzszpitalną u pacjentów z COVID-19. Ocena na podstawie krzywej ROC wykazała, że stężenia IL-10, IL-23 i TNF- α są doskonałymi czynnikami prognostycznymi przebiegu w ostrym okresie Covid-19. Autorzy zaproponowali model prognostyczny uwzględniający oznaczanie stężenia tych cytokin przy przyjęciu do szpitala, aby pacjenci z wysokim stężeniami IL-10, IL-23 i TNF- α byli intensywnie monitorowani i leczeni.

Podobne wyniki uzyskano w badaniu Mai A. Saleh i wsp. [83], które dotyczyło 46 pacjentów, u których porównywano stężenia TNF- α w ostrym okresie choroby COVID-19. Autorzy wykazali, że stężenie TNF- α było istotnie wyższe u chorych z ciężką chorobą w porównaniu z grupą chorych o łagodnym przebiegu wartość $p < 0,001$. Nasze badanie nie dotyczyło ostrego okresu zakażenia *SARS CoV-2* dlatego nie wykonywaliśmy porównania stężeń interleukin w tych grupach.

Siekacz i wsp. w swoim badaniu stwierdzili, że wśród pacjentów po przebytych COVID-19, u których utrzymywały się powikłania płucne (potwierdzone obniżeniem wartości w testach czynnościowych układu oddechowego), po 3 miesiącach były podwyższone stężenia IL-6 i TNF- α . W badaniu tym nie analizowano powikłań zakrzepowozatorowych [84].

Pereson i wsp. [85] w swoim badaniu wykazali, że stężenie TNF- α w wydzielinie z nosogardła i gardła było wyższe w grupie zakażonych *SARS-CoV-2*, u których średnia wyników wynosiła: 16 pg/ml, mediana: 5,88 (5 do 172,1) pg/ml, w porównaniu do osób bez zakażenia u których średnia wynosiła: 7,6 pg/ml, mediana: 5,00 (5 do 69,9) pg/ml. Stężenie TNF- α było istotnie wyższe u pacjentów zakażonych. Próbkę do oznaczeń stężeń cytokin były pobierane z wydzieliny nosogardła i gardła, u pacjentów w ostrym okresie choroby COVID-19, dlatego nie mogą być porównane do naszych oznaczeń, jedynie stanowią kolejny dowód na zwiększone stężenia TNF- α u osób zakażonych *SARS-CoV-2*.

W badaniu Guo i wsp. [86] dotyczącym znaczenia TNF- α u pacjentów w chorobie COVID-19, autorzy wyciągnęli wnioski, że terapia anti-TNF- α miała ochronny wpływ na progresję choroby, szczególnie u pacjentów w ciężkim stanie. Ponadto terapia anti-TNF- α ma dobrze udowodnioną zdolność do zmniejszania stanu zapalnego i może zapobiegać CRS (cytokine release syndrome) związanemu z immunologiczną patogenezą infekcji. Badania przeprowadzone na podstawie bazy danych SECURE-IBD (ang. Surveillance Epidemiology

of Coronavirus Under Research Exclusion in Inflammatory Bowel Disease) wykazały, że leczenie antagonistą TNF- α zmniejsza odsetek pacjentów z COVID-19 o złym rokowaniu i odgrywa istotną rolę ochronną. Należy jednak zwrócić uwagę, że chorzy pochodzący z bazy SECURE-IBD, otrzymywali leki anty- TNF- α z powodu chorób zapalnych jelit. Autorzy sugerują, że wyniki niektórych badań klinicznych potwierdzają, że terapia anty TNF- α ma znaczenie u pacjentów z COVID-19. Potwierdzają to badania kliniczne dotyczące Infliksimabu (IFX –infliximab- przeciwciało monoklonalne anty TNF- α), który ułatwia powrót do zdrowia w przypadku ciężkiego i krytycznego zakażenia COVID-19.

W 2022 r. United States National Institutes of Health [87] opublikował wyniki dużego, randomizowanego, kontrolowanego badania klinicznego ACTIV-1, które wykazało korzyści w zakresie śmiertelności i znaczną poprawę stanu klinicznego u dorosłych hospitalizowanych z powodu COVID-19, którzy byli leczeni infliksimabem. Trwają też badania pozostałych inhibitorów TNF- α u pacjentów z COVID-19, jednak ostateczne wyniki nie są jeszcze dostępne. W naszym badaniu nie było żadnego pacjenta leczonego anty- TNF- α .

W badaniu Teodoro i wsp. [88] dotyczącym odpowiedzi zapalnej i aktywacji układu krzepnięcia w COVID-19, zdarzenia zakrzepowe obejmowały ŻŻG, ZTP, ostry zawał mięśnia sercowego, udar niedokrwieny i zator tętniczy. W badanej grupie 97 osób, u 7 pacjentów stwierdzono jeden rodzaj zdarzenia zakrzepowego. Wykryto 4 przypadki zatorowości płucnej lub zakrzepicy żył głębokich, 2 przypadki udaru niedokrwienego i jeden przypadek zatorowości tętniczej. Oceniono stężenia IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IFN- γ i TNF- α u pacjentów z COVID-19, u których wystąpiło lub nie wystąpiło potwierdzone zdarzenie zakrzepowe. W grupie, w której wystąpiły zdarzenia zakrzepowe, stężenia IL1 β , IL-10 i IL-2 były istotnie wyższe, niż w grupie gdzie nie było zdarzeń zakrzepowych ($p < 0,05$). W odniesieniu do IL-6 i TNF- α dane wykazały nieistotnie wyższe stężenia obu cytokin u pacjentów ze zdarzeniem zakrzepowym. Ponadto badanie to ustaliło związek między reakcją zapalną a aktywacją krzepnięcia, wykazując wzrost IL-1 β i IL-2 u pacjentów z COVID-19, u których wystąpiły zdarzenia zakrzepowe. Badanie to obejmowało małą grupę jedynie 7 osób z chorobą zakrzepowo-zatorową, a więc należy je interpretować z dużą ostrożnością. W naszym badaniu nie analizowano stężeń cytokin prozapalnych IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , w ostrym okresie choroby. Mediana czasu od ostrego COVID-19 do oznaczenia stężenia TNF- α podczas wizyty pierwszej w grupie z ŻChZZ wynosiła 150 dni. Wykazano statystycznie znamiennej różnicę w stężeniu TNF- α w grupie chorych z ŻChZZ w porównaniu do grupy chorych, u których nie wystąpiły zdarzenia zakrzepowo-zatorowe.

Pozostałe cytokiny prozapalne (IL-6, IL-8, IL-10) oraz stężenia ferrytyny i PAI-1, pobrane w tym okresie nie różniły się statystycznie w obu grupach. Kolejne oznaczenia wykonane po ok. 8 miesiącach (mediana) nie różniły się statystycznie. Wskazuje to na utrzymywanie się podwyższonego stężenia TNF-alfa u chorych na ŻChZZ przez dłuższy czas od ostrej fazy COVID-19, w porównaniu do osób bez powikłań zakrzepowo – zatorowych. Efekt ten zanika dopiero po kolejnych kilku miesiącach.

Ponieważ prezentowane badanie nie dotyczyło ostrego okresu choroby COVID-19 przeanalizowano również badania dotyczące znaczenia TNF- α u pacjentów z objawami post-COVID-19. W pracy opublikowanej przez Alonso-Dominiguez i wsp. [89] w 2023 r. stężenia TNF- α u pacjentów z objawami post-COVID-19 (PC), były wyższe niż u chorych bez utrzymujących się objawów po przechorowaniu COVID-19. Autorzy tego badania przyjęli definicję post-COVID-19 przedstawioną przez WHO jako „stan występujący u osób z historią prawdopodobnego lub potwierdzonego zakażenia *SARS-CoV-2*, zwykle 3 miesiące od początku zakażenia, charakteryzujący się kontynuacją lub rozwojem nowych objawów i trwający co najmniej 2 miesiące i niemożliwy do wyjaśnienia przez alternatywną diagnozę”. Wszystkie oznaczane w tym badaniu cytokiny (IL-1 β , IL-3, IL-6, IL-8, IL-18, IP-10, TNF- α , IFN- γ , MIP-1 α i MIP-1 β) pobierane były na początku badania oraz w miesiącach 1 i 6 po wystąpieniu zakażenia. Wartości początkowe były najwyższe dla wszystkich oznaczeń, które stopniowo spadały po ostrej infekcji. W kontrolnych oznaczeniach po 1 miesiącu IL-1 β , MIP-1 α i TNF- α były jedynymi cytokinami, które wykazały istotną różnicę między grupami z objawami PC i bez objawów PC. Autorzy badania sugerują, że utrzymujący się stan zapalny miesiąc po wystąpieniu zakażenia *SARS-CoV-2* związany ze specyficznymi cytokinami (IL-1 β , MIP-1 α i TNF- α) może pomóc w przewidywaniu objawów po COVID-19. Autorzy ocenili, że stężenia TNF- α (18,1 μ g/ml i AUC: 0,682), powyżej których ryzyko wystąpienia objawów PC w 6. miesiącu było znacząco wyższe. W naszym badaniu wykazano, że podwyższone stężenia TNF- α utrzymują się nawet powyżej 150 dni po przebytych COVID-19. Ponadto stężenia te były wyższe niż we wspomnianej pracy. Wszyscy chorzy w naszym badaniu zgłaszali utrzymujące się kliniczne objawy po przebytych COVID-19.

W badaniu Schultheiß i wsp. [90] dotyczącym przetrwałych objawów po przebytych COVID-19, w którym wzięło udział 258 osób z COVID-19. Mediana czasu od pozytywnego wyniku testu PCR lub antygenowego do włączenia uczestników do badania, wyniosła 8 miesięcy. Łącznie 175 (67,8%) wcześniej zakażonych osób zgłosiło objawy po upływie

4 tygodni od pozytywnego wyniku testu na obecność *SARS-CoV-2* i w związku z tym uznano, że mają objawy post-COVID-19 (PC). Zmęczenie i duszność były jednymi z najczęstszych objawów. Następnie pobrano próbki krwi od uczestników bez wcześniejszego COVID-19, wcześniej zakażonych uczestników bez PC oraz z trwającym PC pod kątem panelu 21 cytokin prozapalnych, które są zwykle podwyższone w ostrej postaci COVID-19. Pomimo długiego odstępu między ostrą infekcją a pobraniem krwi wynoszącego 8 miesięcy, uczestnicy z wcześniejszym COVID-19 wykazali zwiększenie stężeń cytokin, które występują również w ostrej postaci COVID-19 lub we wczesnym okresie rekonwalescencji, w tym TNF- α , TNF- β , IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-13 i interferon IFN- α 2. Spośród nich jedynie IL-1 β , IL-6 i TNF- α wykazały istotną korelację z PC. Dane te sugerują, że stale podwyższone stężenia IL-1 β , IL-6 i TNF- α mogą być cechą charakterystyczną dla objawów post-COVID-19.

Najnowsza metaanaliza Almulla i wsp. z 2024r. [91] obejmująca 103 badania, wskazuje, że pacjenci z objawami long COVID (LC) zazwyczaj wykazują zwiększoną odpowiedź zapalną, zwiększoną aktywność układu immunologicznego w zakresie odpowiedzi komórkowej i neurotoksyczne działanie układu immunologicznego. Analizowano wiele profili immunologicznych, białko CRP i 58 cytokin/chemokin/czynników wzrostu u 5502 pacjentów z objawami long-COVID, w porównaniu z 5962 osobami z grupy kontrolnej. Wykazano istotnie podwyższone stężenia CRP i 21 innych cytokin u pacjentów z LC w porównaniu z grupą bez. Zwiększone stężenie części z tych cytokin wykazaliśmy również w naszej grupie badanej. Należy też zwrócić uwagę, że stężenie TNF-alfa u chorych z ŻChZZ było istotnie wyższe niż u osób bez tej choroby, ale z objawami sugerującymi obecność zespołu post COVID, tak więc można się spodziewać, że podwyższone stężenie TNF-alfa może różnicować nie tylko chorych z zespołem post COVID od tych bez zespołu, ale także od chorych z ŻChZZ.

W badaniu dotyczącym prokoagulacyjnego efektu TNF- α i składnika C3 dopełniacza opublikowanym jeszcze kilka lat przed pandemią COVID-19, w 2018r. Page i wsp. [92] udowodnili prokoagulacyjny efekt TNF- α i składnika C3 dopełniacza w modelu *in vitro*, wykorzystując metodę tromboelastografii i mikroskopu elektronowego. Autorzy wykazali, że ekspozycja na TNF- α w pełnej krwi spowodowała zlepianie się i aktywację płytek krwi. Wyniki tego badania pokazały, że te dwie cząsteczki (TNF- α i składowa C3 dopełniacza) mają działanie prokoagulacyjne. Autorzy zasugerowali że istotna może być dalsza ocena mechanizmów biochemicznych, za pomocą których C3 i TNF- α modulują szlaki

prokoagulacyjne. Może to ujawnić terapeutyczny potencjał obniżania stanu prokoagulacyjnego ze względu na obecność zwiększonych stężeń C3 i TNF- α w chorobach zapalnych.

Badanie przeprowadzone w modelu in vitro nie jest w stanie odpowiedzieć na to, jaką rolę TNF- α odgrywa w patogenezie żylnych choroby zakrzepowo-zatorowej. Nasze badanie jest pierwszym przeprowadzonym w warunkach klinicznych, które wskazuje na duże znaczenie cząsteczki TNF- α w rozwoju ŻChZZ u pacjentów po przebyciu COVID-19.

Warto także podkreślić, że w moim badaniu nie wykazano różnic w stężeniu D-dimeru w obu analizowanych grupach ani po 4 miesiącach od zakażenia, ani w kolejnych oznaczeniach. Zatem stężenie D-dimeru nie różnicowało chorych, u których można było podejrzewać ZTP jako chorobę odpowiedzialną za objawy (duszność, bóle w klatce piersiowej, tachypnoe, obniżoną tolerancję wysiłku) i/lub objawy kliniczne ŻŻG z którymi pacjenci zgłaszali się do szpitala, a które obecne były u wszystkich chorych w naszym badaniu. Należy szczególnie podkreślić, że aż u 17 chorych z całej grupy badanej podczas pierwszej wizyty rozpoznano ostry ZTP. U wszystkich tych chorych były stwierdzone podwyższone stężenia TNF- α . Zatem podwyższone stężenie tej cytokiny może być markerem wskazującym na konieczność pogłębienia diagnostyki ŻChZZ oraz wykonania angiografii tętnicy płucnej i USG żył głębokich kończyn dolnych. Wymaga to jednak wykonania kolejnych prospektywnych badań. Wydaje się, że podwyższone stężenie TNF- α powyżej 30,15 pg/ml powinno być dodatkowym wskaźnikiem, na podstawie którego mogą być podejmowane decyzje dotyczące kontynuowania lub przerwania leczenia przeciwzakrzepowego.

6.4.2 Interleukina 6 (IL-6)

Interleukina-6 (IL-6) to cytokina, posiadająca wiele funkcji fizjologicznych, obejmujących regulację proliferacji i różnicowania komórek odpornościowych, a także koordynację wrodzonego i nabytego układu odpornościowego. Cytokina ta jest wydzielana przez wiele typów komórek, w tym monocyty i makrofagi, komórki śródbłonna, oraz limfocyty B i T [93]. W kilku badaniach wykazano związek między stężeniem IL-6 a ŻChZZ. Badania potwierdziły, że stosowanie przeciwciał lub blokada receptora dla IL-6 może być korzystna w zmniejszaniu stanu zapalnego podczas tworzenia się skrzepliny i włóknienia [93].

W naszym opracowaniu stężenie IL-6 w grupie chorych z ŻChZZ w porównaniu z grupą chorych bez ŻChZZ, nie różniło się istotnie statystycznie, mediana odpowiednio wynosiła 2,79 (0,18-52,44) i 1,98 (0,18-84,05) w pg/ml, $p=0,267$. Może to być spowodowane tym, że stężenia IL-6 były analizowane już po upływie ostrego okresu zakażenia *SARS-CoV2*.

W metaanalizie Liu i wsp. [94] autorzy wykorzystali 17 badań, łącznie do analizy zakwalifikowano 7035 pacjentów z COVID-19. Średnia ważona różnic (WMD, weighted mean difference) IL-6, ferrytyny i LDH wynosiła odpowiednio 31,15 (95% CI: 9,82, 52,49), 257,02 (95% CI: 51,70, 462,33) i 41,79 (95% CI: -19,38, 102,96). Powyższe wyniki wskazują, że w porównaniu z grupą bez ŻChZZ, grupa z ŻChZZ miała istotnie wyższe stężenia IL-6 i stężenia ferrytyny, ale podobne stężenia LDH. Ten systematyczny przegląd i metaanaliza wykazały, że podwyższone stężenia IL-6 i ferrytyny były związane z ŻChZZ, a zatem mogą być wykorzystane jako biologiczne wskaźniki predykcyjne ŻChZZ u pacjentów z COVID-19 w ostrym okresie choroby. Dlatego ściśle monitorowanie zmian stężeń IL-6 i stężeń ferrytyny ma dużą wartość w szybkiej identyfikacji możliwości wystąpienia powikłań zakrzepowych u pacjentów z COVID-19, ułatwiając tym samym skuteczne leczenie.

Melazzini i wsp. [95] w swojej retrospektywnej analizie dotyczącej dokumentacji 250 kolejno przyjmowanych do ośrodka chorych z COVID-19, wśród, których u 25 osób rozwinęła się ŻChZZ, po raz pierwszy zwrócili uwagę, że porównując te obie grupy, nie stwierdzono istotnej różnicy w stężeniach D-dimerów między pacjentami z ŻChZZ i bez ŻChZZ, podczas gdy istotnie wyższe były stężenia LDH ($p = 0,04$) i IL-6 ($p = 0,04$) u pacjentów z ŻChZZ w porównaniu z pacjentami bez ŻChZZ. Porównując obie badane grupy z ŻChZZ i bez ŻChZZ, w naszym badaniu, również nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w stężeniu D-dimerów, natomiast inaczej niż we wcześniej wspomnianej analizie nie obserwowano też różnic w zakresie LDH i IL-6.

W badaniu REAMP-CAP [96] w którym wzięło udział 4869 krytycznie chorych pacjentów z COVID-19, stwierdzono, że zastosowanie antagonistów receptora IL-6 poprawiało przeżycie po 6 miesiącach od zachorowania z wysokim prawdopodobieństwem (HR, 0,74 [95% CI, 0,61-0,90]). Skuteczność antagonistów receptora IL-6 potwierdzono w wielu badaniach i leki mają obecnie udokumentowane zastosowanie w leczeniu ciężkich postaci COVID-19. Wśród chorych w naszej grupie badanej w leczeniu COVID-19 również stosowano Tocilizumab (przeciwciało monoklonalne przeciw receptorom dla IL-6) u 4 pacjentów (u 1 chorego z grupy z ŻChZZ i 3 z grupy bez ŻChZZ), jednak jest to zbyt mała liczba pacjentów, aby wyciągnąć wnioski dotyczące wpływu tego leczenia na stężenia IL-6.

6.4.3 Interleukina -8 (IL-8)

W naszym badaniu mediana stężeń IL-8 w grupie chorych z ŻChZZ w porównaniu z grupą bez ŻChZZ, wynosiła odpowiednio 10,51 pg/ml (3,52-36,08) i 8,49 (0,9-38,52) pg/ml, $p=0,309$. Nie wykazano różnic istotnych statystycznie (test U Manna-Whitney'a) pomiędzy badanymi grupami.

W badaniu Ragnoli i wsp. [97] autorzy opisali, że mediatory stanu zapalnego takie jak IL-6, IL-8 i $\text{TNF-}\alpha$, a także DAMP (ang. damage-associated molecular patterns) z uszkodzonej tkanki gospodarza mogą aktywować monocyty i indukują ekspresję czynnika tkankowego (TF) na monocytach i komórkach śródbłónka. Zdrowe komórki śródbłónka mają działanie przeciwzakrzepowe ze względu na ekspresję glikokaliksu i jego białka wiążącego, antytrombinę. Gdy komórki śródbłónka ulegają uszkodzeniu, struktura glikokaliksu zostaje zakłócona, a aktywność przeciwzakrzepowa zmniejsza się, w związku z czym komórki te zmieniają swoje właściwości na prokoagulanty. W naszym badaniu nie znaleziono związku stężeń IL-8 z wystąpieniem ŻChZZ u pacjentów po przebytych COVID-19.

6.4.4 Interleukina-10 (IL-10)

Stężenie IL-10 w naszej grupie chorych z ŻChZZ w porównaniu z grupą chorych bez ŻChZZ, podczas wizyty pierwszej, nie różniło się istotnie statystycznie, mediana odpowiednio wynosiła 2,545 (0,42-15,52) pg/ml i 1,33 (0,43-60,29) pg/ml, $p=0,132$.

W badaniu Teodoro i wsp. [88] dotyczącego odpowiedzi zapalnej i aktywacji układu krzepnięcia w COVID-19, w grupie, w której wystąpiły zdarzenia zakrzepowe, stężenia IL-1 β , IL-10 i IL-2 były istotnie wyższe niż w przypadku braku zdarzeń zakrzepowych ($p < 0,05$)

W badaniu Queiroz i wsp. [77] autorzy analizowali grupę 317 pacjentów, u których zdiagnozowano COVID-19; chorych podzielono według stanu klinicznego na ciężki ($n=91$), umiarkowany ($n=56$) i łagodny ($n=170$). Spośród tych pacjentów u 92 rozpoznano ostrą postać *SARS-CoV-2* w momencie pobrania próbki do oznaczenia cytokin, 90 chorych wyzdrowiało już bez następstw, a 135 miało objawy post -COVID. W grupie z ostrym zakażeniem COVID-19 pacjenci z ciężką postacią mieli wyższe stężenie IL-6 ($p=0,0260$). W grupie chorych na ostrą chorobę COVID-19 u młodszych pacjentów stwierdzono wyższe stężenie $\text{TNF-}\alpha$, a u pacjentów bez chorób współistniejących wykazano wyższe stężenia $\text{TNF-}\alpha$, IL-4 i IL-2 ($p<0,05$). Natomiast wśród chorych w wieku powyżej 60 lat z chorobami współistniejącymi stwierdzono wyższe stężenie IL-6. W grupie po przebyciu COVID-19

osoby z objawami long COVID wykazywały wyższe stężenia IL-17 i IL-2 ($p<0,05$), a osoby bez następstw – wyższe stężenia IL-10, IL-6 i IL-4 ($p<0,05$). Wyniki sugerują, że zaawansowany wiek, choroby współistniejące i podwyższone stężenie IL-6 w surowicy są powiązane z ciężkim przebiegiem COVID-19 i są dobrymi markerami umożliwiającymi odróżnienie przypadków ciężkich od łagodnych. Co więcej, wydaje się, że wyższe stężenia IL-17 i IL-2 w surowicy oraz niskie stężenia IL-4 i IL-10 stanowią profil cytokin long COVID-19. Chorzy analizowani w naszym badaniu znajdowali się w okresie post-COVID, dlatego stężenia badanych cytokin były niższe niż w stanie ostrym i nie różniły się istotnie w obu grupach.

6.4.5 Ferrytyna

Mediana stężeń ferrytyny w grupie chorych z ŻChZZ w porównaniu do chorych bez ŻChZZ w naszym badaniu podczas wizyty pierwszej, wynosiła odpowiednio 103,4 (0,75-1130,19) ng/ml i 92 (4,23-712,8) ng/ml ($p=0,828$) różnica nie była istotna statystycznie (test U Manna-Whitney'a).

W metaanalizie dotyczącej roli markerów stanu zapalnego u ciężko chorych pacjentów z COVID-19, Hiwa O. Abdullah i wsp. [74] ocenili łącznie 241 badań obejmujących 79934 przypadków COVID-19. W ostrym okresie choroby COVID-19 wykazano istotnie statystycznie zwiększone stężenia: białka CRP, D-dimeru, ferrytyny, fibrynogenu, IL-6, prokalcytoniny, aktywności LDH i liczby białych krwinek oraz, że parametry te korelowały z ciężkością przebiegu COVID-19. Stężenia CRP, D-dimerów, ferrytyny, fibrynogenu, IL-6, prokalcytoniny, aktywność LDH i liczba białych krwinek były istotnie ($p<0,05$) podwyższone i korelowały z ryzykiem przyjęcia na OIT (z wyjątkiem fibrynogenu) i śmiertelnością w przebiegu COVID-19.

W uprzednio przytoczonej analizie Liu i wsp. [94] na podstawie 17 badań wykazano, że podwyższone stężenie IL-6 i ferrytyny dodatkowo korelowały z ŻChZZ, a zatem mogą być wykorzystane jako biologiczne wskaźniki predykcyjne ŻChZZ u pacjentów z COVID-19.

Alwafi i wsp. [98] w 2020 r. w swoim badaniu przeprowadzili wieloczynnikową analizę, na podstawie której stwierdzono, że śmiertelność u pacjentów z COVID-19 była wyższa, gdy stężenie ferrytyny w ostrym okresie choroby było większe niż 400 $\mu\text{g/l}$. Nasze badanie dotyczyło późniejszego okresu choroby, więc stężenia ferrytyny nie były tak znacząco podwyższone (ale u niektórych pacjentów nadal utrzymywały się powyżej górnej granicy normy).

Metaanaliza Cheng i wsp. [99] wykazała, że pacjenci z COVID-19 z powikłaniami zakrzepowo-zatorowymi mieli wyższe stężenie ferrytyny niż pacjenci bez tych powikłań. Zwiększone stężenie ferrytyny nie jest tylko efektem nadmiernego stanu zapalnego, ale odgrywa rolę w patogenezie procesu zapalnego, ponieważ jest w stanie aktywować makrofagi do wydzielania cytokin zapalnych. Wysokie stężenia ferrytyny przyczyniają się do uwalniania cytokin w zakażeniu *SARS-CoV-2*, promując stan pobudzenia układu krzepnięcia.

Ważną kwestią, która wciąż wymaga omówienia, jest wspomniany wcześniej long COVID, który jest częstym schorzeniem u pacjentów zakażonych *SARS-CoV-2*, niezależnie od ciężkości ostrej choroby. Niedawny systematyczny przegląd z metaanalizą Gennaro i wsp. [100] wykazał, że większość objawów, takich jak objawy neurologiczne, schorzenia układu oddechowego, zaburzenia ruchomości ze zmniejszoną tolerancją wysiłku, schorzenia serca i ogólne objawy, takie jak zmęczenie, mogą występować z różną częstością, a częstość występowania jest wyższa u kobiet i wzrasta wraz z wiekiem.

W analizie Pasini i wsp. [101] wśród istotnych nieprawidłowości towarzyszących objawom long COVID zidentyfikowanych za pomocą biochemicznych badań laboratoryjnych były zwiększone stężenia ferrytyny, białka CRP i D-dimeru.

W moim badaniu nie stwierdzono istotności statystycznych dla CRP i ferrytyny w grupach badanych z ŻChZZ i bez ŻChZZ, ale mediany stężeń w obu grupach dla CRP były powyżej normy a istotność statystyczna wynosiła ($p=0,071$). Na podstawie naszej analizy nie można potwierdzić roli ferrytyny w patogenezie ŻChZZ, należy jednak pamiętać, że stężenia były mierzone po zakończeniu ostrej fazy choroby.

6.4.6 PAI-1

Podwyższone stężenia PAI-1 nasilają ogólnoustrojowy stan zapalny, co ma szczególne znaczenie w przypadku rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego wywołanego sepsą. W badaniu Kang i wsp. [102] zbadano stężenia PAI-1 w okresie ostrym choroby COVID-19 u pacjentów z CRS (cytokine release syndrome). Stężenie PAI-1 w surowicy były wyraźnie podwyższone u pacjentów z CRS w porównaniu ze zdrową grupą kontrolną. Stężenia PAI-1 w surowicy nie były podwyższone u pacjentów z chorobami przewlekłymi, takimi jak reumatoidalne zapalenie stawów lub inne choroby tkanki łącznej, podczas gdy stężenia 11 cytokin i chemokin były podwyższone. Dane te wskazują, że stężenie PAI-1 jest czynnikiem prognostycznym postępu choroby CRS. W naszym badaniu gdzie stężenie PAI-1 oznaczono po ok. 4 miesiącach mediana stężenia PAI-1 w grupie chorych z ŻChZZ w porównaniu do

grupy chorych bez ŻChZZ, wynosiła odpowiednio 31,78 (20,22-63,01) ng/ml i 29,60 (20,96-60,53) ng/ml, $p=0,325$, różnica nie była istotna statystycznie (test U Manna-Whitney'a). Mediana stężeń PAI-1 w obu grupach badanych u naszych pacjentów była wyższa niż wartości w PAI-1 uznawane za normę laboratoryjną podawaną w literaturze (do 25 ng/ml) [100], ale nie różniła się u chorych bez i z ŻChZZ.

W badaniu Baycan i wsp. [100] u 71 pacjentów analizowano związek między stężeniem PAI-1 a ciężkością choroby i śmiertelnością u osób hospitalizowanych z powodu COVID-19. Stwierdzono, że stężenia PAI-1 u tych chorych były wyższe niż w grupie kontrolnej. Ponadto stężenia PAI-1 u tych chorych były wyższe w grupie osób, które zmarły, niż w grupie osób, które przeżyły. Stężenia PAI-1 okazały się wyższe także w grupie osób z ciężkim przebiegiem w porównaniu z grupą osób z łagodnym przebiegiem choroby. Wieloczynnikowa analiza wykazała, że wysokie stężenia PAI-1 przewidywały zarówno śmiertelność, jak i ciężkość choroby w przypadku ostrego COVID-19. Ponadto wysokie stężenia PAI-1 pomagały przewidywać wystąpienie zgonu z czułością 83%, swoistością 83% i wartością odcięcia 10,2. Badanie to również dotyczyło ostrego okresu zakażenia *SARS CoV2*.

W badaniu Zuo i wsp. [103] wzięło udział 118 pacjentów hospitalizowanych z powodu COVID-19 i 30 zdrowych osób. Stwierdzono wyraźnie podwyższone stężenia tPA i PAI-1 u pacjentów hospitalizowanych z powodu ostrego okresu COVID-19. Oba czynniki wykazały silne korelacje z liczbą neutrofili i markerami aktywacji neutrofili. Wysokie stężenia tPA i PAI-1 były związane z gorszym stanem układu oddechowego. Wysokie stężenia tPA, w szczególności, były silnie skorelowane ze śmiertelnością i znaczącym zwiększeniem spontanicznej lizy skrzepu „ex vivo”. Podczas gdy zarówno stężenia tPA, jak i PAI-1 były podwyższone u pacjentów z COVID-19, ekstremalnie wysokie stężenia tPA zwiększają spontaniczną fibrynolizę i są znacząco związane ze śmiertelnością u niektórych pacjentów. To badanie również odnosi się do ostrego okresu choroby COVID-19.

6.4.7 Podsumowanie

Większość cytowanych badań, dostępnych w literaturze analizuje związek stężeń IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , PAI-1 i ferrytyny z ciężkością stanu klinicznego oraz z prawdopodobieństwem wystąpienia powikłań zakrzepowo-zatorowych w ostrym okresie choroby. Dane dotyczące analizy podobnych czynników oznaczanych po upływie 4 miesięcy są nader skąpe. Zaplanowane i wykonane przez nas badanie, dotyczące oznaczenia IL-1 β , IL-

6, IL-8, IL-10, TNF- α , PAI-1 i ferrytyny, poświęcone było odpowiedzi na pytanie, jakie jest stężenie oznaczanych parametrów u chorych objawowych po przebyciu COVID i porównanie stężeń w grupach z potwierdzoną obiektywnym testem ŻChZZ i u chorych bez ŻChZZ. Nie stwierdzono różnic w stężeniach IL-6, IL-8, IL-10, PAI-1 i ferrytyny, jedyne różnice statystyczne dotyczyły stężenia TNF- α . Od dawna znane są związki zwiększonego stężenia TNF- α z patogenezą rozwoju powikłań zakrzepowo-zatorowych oraz jego interakcje z czynnikiem tkankowym. Po raz pierwszy w naszej pracy udowodniono, że u chorych z ŻChZZ występuje podwyższone stężenie TNF- α w okresie 4 miesięcy od początku choroby. Odkrycie to, może implikować działania diagnostyczne i terapeutyczne dedykowane chorym po przebyciu COVID-19. Wydaje się zasadne, aby w przypadku występowania duszności, bólu w klatce piersiowej, obniżonej tolerancji wysiłku i tachypnoe oraz podwyższonego stężenia TNF- α >30,15 pg/ml, wykonać badania obrazowe tętnicy płucnej. Podwyższone stężenie TNF- α może stanowić dodatkowy czynnik istotny w analizie, u których pacjentów można przerwać lub należy kontynuować leczenie przeciwzakrzepowe. Należy jednak dobitnie podkreślić, że nasze badanie stanowi pierwszą tego typu informację w literaturze i wymaga potwierdzenia, które powinno obejmować większą grupę chorych.

Należy wymienić także ograniczenia naszego badania. Badanie było jednośrodkowe, nie było grupy kontrolnej. W czasie projektu nie udało się wykonać kontrolnych badań u wszystkich 108 chorych, ze względu na brak zgody na ponowną hospitalizację, 1 pacjent zmarł z powodu ciężkich chorób współistniejących. Oznaczenia IL-1 β wykluczono z analiz z powodu dużej liczby wyników poniżej wykrywalności metody, nie było możliwości oznaczenia dokładnych wartości stężenia tej interleukiny. W całej grupie badanej była duża rozpiętość czasu pomiędzy oznaczeniem stężenia wybranych parametrów biochemicznych a czasem upływającym od zakażenia *SARS-CoV-2*. Jednak należy podkreślić, że mediana czasu w obu porównywanych grupach nie różniła się istotnie statystycznie.

7 WNIOSKI:

1. Częstość występowania ŻChZZ u chorych po przebytych zakażeniu *SARS CoV-2* w badanej kohorcie była wysoka i wynosiła prawie 40% (39,81%).
2. Badane grupy chorych z ŻChZZ i bez ŻChZZ różniły się jedynie stężeniem TNF- α , które było znamienne statystycznie wyższe w grupie chorych z rozpoznaną żylną chorobą zakrzepowo-zatorową podczas pierwszej hospitalizacji. Wydaje się, że podwyższone stężenie TNF- α może stanowić dodatkowy czynnik w podejmowaniu decyzji diagnostycznych i terapeutycznych u chorych po przebytych COVID-19.
3. Stężenia IL-6, IL-8, IL-10, PAI-1, ferrytyny i D-dimerów oceniane po przebytych COVID-19, nie różniły się istotnie statystycznie u chorych z ŻChZZ i bez ŻChZZ, a więc nie mogą być uważane za skuteczne narzędzia wspierające decyzje diagnostyczno – terapeutyczne u tych chorych.

8 STRESZCZENIE

COVID-19 jest chorobą ogólnoustrojową charakteryzującą się dysregulacją układu odpornościowego i stanem zwiększonej krzepliwości. Koagulopatia związana z COVID-19 jest kluczowym aspektem choroby, a jej wczesne rozpoznanie, zapobieganie i leczenie mogą ograniczyć jej ewolucję w kierunku potencjalnie nieodwracalnych schorzeń płucnych i ogólnoustrojowych. Trudności w rozpoznaniu ŻChZZ w przebiegu COVID-19, w ostrym okresie choroby jak i po przebytych zakażeniu *SARS-CoV-2*, spowodowane są wspólną symptomatologią zapalenia płuc, zatorowości płucnej i /lub ZZG, a także częstym współwystępowaniem innych chorób płuc czy układu krążenia. Na podstawie dotychczasowej literatury wiadomo, że infekcja *SARS-CoV-2* nasila procesy prozakrzepowe w naczyniach, co może być przyczyną pogorszenia choroby, a nawet śmierci pacjenta w przypadku braku lub opóźnionego rozpoznania. Dotychczas jednak nie wiadomo jakie czynniki mogą mieć wpływ na patogenezę przewlekłego stanu zapalnego u pacjentów, u których utrzymują się objawy kliniczne po przebytych zakażeniu *SARS CoV-2*, które mogą być odpowiedzialne za występowanie powikłań zakrzepowo- zatorowych.

Prezentowana praca miała na celu: analizę występowania czynników, które mogą być odpowiedzialne za rozwój powikłań zakrzepowo-zatorowych oraz ocenę częstości występowania ŻChZZ, u chorych po przebytych COVID-19. Chorzy po przebytych zakażeniu *SARS-CoV-2*, zostali poddani szczegółowej analizie klinicznej i biochemicznej w celu wykrycia prawdopodobnie istniejących czynników wpływających na ryzyko tych powikłań.

Projekt badawczy był badaniem prospektywnym. Do badania kwalifikowano chorych, kolejno przyjmowanych do I Kliniki Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc (IGiChP), w celu pogłębienia diagnostyki utrzymujących się objawów klinicznych takich jak: duszność, kaszel, bóle w klatce piersiowej oraz objawy kliniczne ZZG i/lub mieli rozpoznaną żylną chorobę zakrzepowo-zatorową w trakcie lub po przechorowaniu COVID-19.

W badaniu wzięło udział 108 chorych 39 (36,11%) kobiet i 69. (63,89%) mężczyzn. Średnia wieku wynosiła $57,52 \pm 13,14$ lat, najmłodszy uczestnik badania miał 29 lat, a najstarszy 82 lata. Pacjentów podzielono na dwie grupy: z rozpoznaną żylną chorobą zakrzepowo-zatorową – 43 osoby (39,81%) i bez rozpoznania tej choroby – 65 osób (60,19%). Grupy te porównano pod względem wybranych czynników demograficznych, klinicznych i biochemicznych. U wszystkich pacjentów wykonano 2-krotnie badania biochemiczne, mediana czasu upływającego pomiędzy oznaczeniami wynosiła 8 miesięcy

(min. 5 -max.15). Dwukrotnie oznaczono stężenia cytokin prozapalnych: IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α oraz stężenia ferrytyny i PAI-1. U każdego pacjenta wykonano badanie usg żył kończyn dolnych. U pacjentów, bez rozpoznanego wcześniej ZTP, u których istniało prawdopodobieństwo wystąpienia zatorowości, wykonano badanie tomografii klatki piersiowej z angiografią tętnicy płucnej.

Obie grupy nie różniły się od siebie istotnie statystycznie pod względem demograficznym, ciężkości przebiegu i leczenia COVID-19 oraz okresem pobrania badań od czasu przebytego zakażenia *SARS-CoV-2*.

Częstość występowania ŻChZZ u chorych po przebytym zakażeniu *SARS-CoV-2* w badanej kohorcie była wysoka i wynosiła prawie 40% (39,81%). W ostrym okresie choroby COVID-19, ŻChZZ rozpoznano u 16,67% chorych. Po przebytym zakażeniu *SARS-CoV-2*, ambulatoryjnie rozpoznano 6,48% przypadków, a podczas wizyty pierwszej w IGiChP, kolejnych 16,67% przypadków tej choroby.

Mediana czasu od rozpoznania COVID-19 do wykonania oznaczeń wybranych parametrów wynosiła 150 dni (min.10 – max.630). W grupie z ŻChZZ wynosiła 120 dni (min.11 – max.630 dni) oraz w grupie bez ŻChZZ – 180 dni (min.11 – max.630). Mediany obu grup nie różniły się znamienne statystycznie.

U wszystkich pacjentów zakażenie *SARS-CoV-2* zostało wykryte metodą PCR lub testem antygenowym. Najczęstszą metodą potwierdzenia zakażenia *SARS-CoV-2* był test PCR, którym wykryto zakażenie u 71% pacjentów.

Wśród wszystkich biorących udział w badaniu pacjentów, co najmniej jedna choroba współistniejąca występowała u 50,93% chorych. W grupie z ŻChZZ u 48,84% a w grupie bez ŻChZZ u 52,31%.

Najczęstszą chorobą towarzyszącą w całej badanej kohorcie było nadciśnienie tętnicze, które występowało u 50,93% pacjentów, 18,52% spośród chorych miało rozpoznaną cukrzycę, 15,9% niewydolność serca i 13,8% chorobę śródmiąższową płuc. Obie grupy badane nie różniły się znamienne statystycznie pod względem chorób współistniejących.

Mediana stężeń TNF- α podczas pierwszej hospitalizacji w IGiChP była wyższa w grupie chorych z ŻChZZ niż w grupie chorych bez ŻChZZ, wynosiła odpowiednio 37,23 (3,33-206,49) pg/ml i 27,94 (13,97-86-31) pg/ml. Różnica stężeń w obu grupach była istotna statystycznie ($p=0,015$).

W badaniach podczas drugiej hospitalizacji w IGiChP wykonanych po ok. 8 miesiącach (mediana 8 mies.), mediana stężeń TNF- α w grupie chorych z ŻChZZ nadal była wyższa i wynosiła 28,96 pg/dl (2,21-281,62) a w grupie chorych bez ŻChZZ – 25,22 pg/dl (11,86-74,73). Jednak mediany nie różniły się statystycznie.

Wyznaczono krzywą ROC dla stężenia TNF- α . Powierzchnia pod krzywą (AUC) wynosiła 0,6179. Czulość wykrywania ŻChZZ przy pomocy oznaczania stężenia TNF- α wynosiła 62,9%, a swoistość 62,5% dla stężenia >30,15 pg/ml.

Podczas pierwszej hospitalizacji średnie stężenie D-dimerów było wyższe w grupie z ŻChZZ i wynosiło 2177,22 $\pm$ 3490,27 ng/ml. Średnie stężenie D-dimerów w grupie bez ŻChZZ wynosiło 802,36 $\pm$ 1262,52 ng/ml. Nie stwierdzono istotności statystycznej w porównaniu obu grup. Nie stwierdzono również różnic statystycznych w stężeniach pozostałych parametrów: IL-6, IL-8, IL-10, PAI-1 i ferrytyny w oznaczeniach podczas obu wizyt.

Po raz pierwszy w literaturze, w niniejszej pracy wykazano, że u chorych z ŻChZZ występuje podwyższone stężenie TNF- α w okresie ok 120 dni (mediana) od początku choroby. Wykonanie oznaczenia stężenia TNF- α w tym czasie po przechorowaniu COVID-19 i stwierdzenie wartości powyżej 30,15 pg/ml, wraz z prawdopodobnymi objawami klinicznymi ŻChZZ (ZTP lub ZZG), powinno skutkować wykonaniem badań w kierunku żylnej choroby zakrzepowo-zatorowej. Stężenie D-dimerów w obu grupach badanych było podwyższone, ale nie różniło się istotnie statystycznie, co nie różnicowało pacjentów z ŻChZZ i bez niej.

Wyniki niniejszej pracy mogą implikować działania diagnostyczne i terapeutyczne dedykowane chorym po przebyciu COVID-19. Wydaje się, że podwyższone stężenie TNF- α może stanowić dodatkowy czynnik w podejmowaniu decyzji diagnostycznych.

Należy podkreślić, że to badanie stanowi pierwszą tego typu informację w literaturze.

9 SUMMARY

COVID-19 is a systemic disease characterized by dysregulation of the immune system and increased coagulability. COVID-19-related coagulopathy is a crucial aspect of the disease, and its early diagnosis, prevention, and treatment may limit its evolution toward potentially irreversible pulmonary and systemic diseases. Difficulties in diagnosing VTE in the course of COVID-19, during the acute period of the disease and after *SARS CoV-2* infection, are caused by the common symptomatology of pneumonia and pulmonary embolism and/or DVT, as well as the frequent co-occurrence of other lung or circulatory system diseases. Based on the existing literature, it is known that *SARS CoV-2* infection intensifies prothrombotic processes in the vessels, which may result in the worsening of the disease and even death of the patient in the case of absence or delayed diagnosis. However, it is not yet known what factors may influence the pathogenesis of chronic inflammation in patients with persistent clinical symptoms after *SARS-CoV-2* infection, which may be responsible for the occurrence of thromboembolic complications.

The presented study aimed to analyze the factors that may be responsible for developing thromboembolic complications and assess the incidence of VTE in patients after COVID-19. Patients after *SARS CoV-2* infection were subjected to detailed clinical and biochemical analysis to detect possibly existing factors influencing the risk of these complications.

The study was prospective. Consecutive patients admitted to the Pulmonary Department of the Institute of Tuberculosis and Lung Diseases (IGiChP) to establish the diagnosis of persistent clinical symptoms such as shortness of breath, cough, chest pain, and DVT symptoms and/or who were diagnosed with venous thromboembolism during or after suffering from COVID-19 and signed an informed consent form were qualified for the study.

One hundred eight patients were enrolled: 39 (36,11%) women and 69. (63,89%) men. The mean age was $57,52 \pm 13,14$ years; the youngest patient was 29 years old, and the oldest was 82 years old. Patients were assigned to two groups: with a diagnosis of venous thromboembolism – 43 people (39,81%) and without a diagnosis of this disease – 65 people (60,19%). Both groups did not differ significantly in terms of demographics, severity of the course and treatment of COVID-19, and the period of testing since the *SARS-CoV-2* infection.

All patients had biochemical blood tests twice, with a median time between tests of 8 months (min. 5—max. 15). The levels of pro-inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , and the concentrations of ferritin and PAI-1 were determined twice.

Each patient underwent an ultrasound examination of the veins of the lower limbs. In patients without previously diagnosed PE, who were at risk of developing embolism, chest computed tomography with pulmonary angiography was performed.

Both groups did not differ statistically significantly in terms of demographics, the severity of the course and treatment of COVID-19, and the period of testing since the SARS-CoV-2 infection.

All patients with SARS CoV-2 were detected by PCR or antigen tests. The most common method of confirming SARS-CoV-2 was the PCR test, which detected infection in 71% of patients.

The incidence of VTE in patients after SARS CoV-2 infection in the study was as high as 40% (39,81%). In the acute period of COVID-19 disease, VTE was diagnosed in 16,67% of patients. After the SARS-CoV-2 infection, 6,48% of cases were diagnosed on an outpatient basis, and the other 16,67% of cases of this disease were diagnosed during the first visit to our department.

The median period from the diagnosis of COVID-19 to the measurement of selected parameters was 150 days (10-630). In the group with VTE, it was 120 days (min. 11—max. 630 days), and in the group without VTE, it was also 180 days (min. 10—max. 630). The difference was not statistically significant.

Among all patients participating in the study, at least one comorbid disease occurred in 50,93% of patients—48,84 % in the group with VTE and 52,31% in the group without VTE. The most common concomitant disease was hypertension, which occurred in 50,93% of patients. 18,52% of patients had diabetes, 15,9% had heart failure, and 13,8% had interstitial lung disease. No significant difference was found between both groups with and without VTE.

The median TNF- α concentration during the first visit was significantly higher in the group of patients with VTE than in the group of patients without VTE, respectively to 37,23 pg/ml (3,33-206,49) and 27,94 (13,97-206,49) pg/ml ($p=0.015$).

During the second visit, after eight months (eight-month median), TNF- α concentration in the group of patients with VTE was still higher and respectively was 28,96 pg/ml (2,21-281,62) vs.– 25,22 pg/ml (11,86-74,73) in the group without VTE. However, the difference was not significant.

A ROC curve for TNF- α concentration was determined. The area under the curve (AUC) was 0,6179. The sensitivity of VTE detection using TNF α concentration was 62,9%, and the specificity was 62,5% for the concentration of >30.15 pg/ml.

The mean d-dimer concentration during the first visit was higher in the VTE group than in the group without VTE, amounted 2177,22 $\pm$ 3490,27 ng/ml and 802,36 $\pm$ 1262,52 ng/ml, respectively. No significant difference was found between both groups. There were no statistical differences in the concentrations of the remaining parameters: IL-6, IL-8, IL-10, PAI-1, and ferritin during both visits.

According to our knowledge, for the first time, this work showed an increased concentration of TNF- α within approximately 120 days from the onset of COVID-19 in patients with VTE. Testing the TNF- α concentration at this time after COVID-19 and finding a value above 30,15 pg/ml, together with probable clinical symptoms of VTE (PE or DVT), should result in a diagnostic procedure for venous thromboembolism. The D-dimer concentration in both study groups was elevated but did not differ significantly or differentiate between patients with and without VTE.

The results of this study provided significant information, which may imply diagnostic and therapeutic activities dedicated to symptomatic patients after COVID-19. It seems that increased TNF- α concentration may be an additional factor in making diagnostic decisions.

It is worth highlighting that this study is the first significant piece of information of this type in the literature.

10 PIŚMIENNICTWO

- [1] "World Health Organization (WHO)." Accessed: Jun. 11, 2023. [Online]. Available: <https://www.who.int>
- [2] Dybowska M. i wsp., "Venous Thromboembolic Disease in COVID-19, Pathophysiology, Therapy and Prophylaxis," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 23, no. 18, pp. 10372–, 2022, doi: 10.3390/ijms231810372.
- [3] "Pierwszy przypadek koronawirusa w Polsce - Ministerstwo Zdrowia - Portal Gov.pl," Ministerstwo Zdrowia. Accessed: Jun. 11, 2023. [Online]. Available: <https://www.gov.pl/web/zdrowie/pierwszy-przypadek-koronawirusa-w-polsce>
- [4] Meyerowitz E. A., Richterman A., Gandhi R. T. i wsp. "Transmission of SARS-CoV-2: A Review of Viral, Host, and Environmental Factors," *Ann. Intern. Med.*, vol. 174, no. 1, pp. 69–79, Jan. 2021, doi: 10.7326/M20-5008.
- [5] Muralidar S., Ambi S. V., Sekaran S. i wsp. "The emergence of COVID-19 as a global pandemic: Understanding the epidemiology, immune response and potential therapeutic targets of SARS-CoV-2," *Biochimie*, vol. 179, pp. 85–100, Dec. 2020, doi: 10.1016/j.biochi.2020.09.018.
- [6] Gusev E., Sarapultsev A., Solomatina L. i wsp. "SARS-CoV-2-Specific Immune Response and the Pathogenesis of COVID-19," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 23, no. 3, pp. 1716–, 2022, doi: 10.3390/ijms23031716.
- [7] G. Grasselli i wsp., "Pathophysiology of COVID-19-associated acute respiratory distress syndrome: a multicentre prospective observational study," *Lancet Respir. Med.*, vol. 8, no. 12, pp. 1201–1208, Dec. 2020, doi: 10.1016/S2213-2600(20)30370-2.
- [8] Jackson C. B., Farzan M., Chen B. i wsp. "Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells," *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, vol. 23, no. 1, pp. 3–20, Jan. 2022, doi: 10.1038/s41580-021-00418-x.
- [9] A. S. Kimball A. S., Obi A. T., Diaz J. A i wsp. "The Emerging Role of NETs in Venous Thrombosis and Immunothrombosis," *Front. Immunol.*, vol. 7, 2016, Accessed: Aug. 14, 2023. [Online]. Available: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2016.00236>
- [10] Agier J., Efenberger M., i Brzezińska-Błaszczyk E., "Cathelicidin impact on inflammatory cells," *Cent. Eur. J. Immunol.*, vol. 40, no. 2, pp. 225–235, 2015, doi: 10.5114/ceji.2015.51359.
- [11] Montazersaheb S. i wsp., "COVID-19 infection: an overview on cytokine storm and related interventions," *Virol. J.*, vol. 19, no. 1, p. 92, May 2022, doi: 10.1186/s12985-022-01814-1.

- [12] Shi Y. i wsp., “Global trends in research on endothelial cells and sepsis between 2002 and 2022: A systematic bibliometric analysis,” *Heliyon*, vol. 10, no. 1, p. e23599, Dec. 2023, doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e23599.
- [13] Piwowarczyk P. i wsp., “Risk factors and outcomes for acute respiratory failure in coronavirus disease 2019: An observational cohort study,” *Adv. Clin. Exp. Med.*, vol. 30, no. 2, Art. no. 2, 2021, doi: 10.17219/acem/130603.
- [14] Li X. i wsp., “Risk factors for severity and mortality in adult COVID-19 inpatients in Wuhan,” *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 146, no. 1, pp. 110–118, Jul. 2020, doi: 10.1016/j.jaci.2020.04.006.
- [15] NICE “COVID-19 rapid guideline: Managing COVID-19.” Accessed: Jan. 13, 2024. [Online]. Available: <https://app.magicapp.org/#/guideline/L4Qb5n/section/LwdGon>
- [16] “COVID,” Agencja Oceny Technologii Medycznych i Taryfikacji. Accessed: Jan. 05, 2024. [Online]. Available: <https://www.aotm.gov.pl/tag/covid/>
- [17] Carsetti R., Quinti I., i Locatelli F., “COVID-19 - pathogenesis and immunological findings across the clinical manifestation spectrum,” *Curr. Opin. Pulm. Med.*, vol. 27, no. 3, pp. 193–198, May 2021, doi: 10.1097/MCP.0000000000000775.
- [18] Chen N. i wsp., “Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study,” *Lancet Lond. Engl.*, vol. 395, no. 10223, pp. 507–513, 2020, doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
- [19] Hu B., Guo H., Zhou P. i wsp. “Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19,” *Nat. Rev. Microbiol.*, vol. 19, no. 3, pp. 141–154, 2021, doi: 10.1038/s41579-020-00459-7.
- [20] Agencja Oceny Technologii Medycznych i Taryfikacji. “Wytyczne,” Accessed: Jan. 05, 2024. [Online]. Available: <https://www.aotm.gov.pl/wytyczne-oceny-technologiei-medycznych/>
- [21] Rivera J. i wsp., “Histopathology of COVID-19: An illustration of the findings from fatal cases,” *Biomédica*, vol. 43, no. 1, pp. 8–21, Mar. 2023, doi: 10.7705/biomedica.6737.
- [22] Pearson J. D., “Endothelial cell function and thrombosis,” *Baillieres Best Pract. Res. Clin. Haematol.*, vol. 12, no. 3, pp. 329–341, Sep. 1999, doi: 10.1053/beh.1999.0028.
- [23] Engelmann B. and Massberg S., “Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity,” *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 13, no. 1, pp. 34–45, Jan. 2013, doi: 10.1038/nri3345.
- [24] Loo J., Spittle D. A. i Newnham M., “COVID-19, immunothrombosis and venous thromboembolism: biological mechanisms,” *Thorax*, vol. 76, no. 4, pp. 412–420, Apr. 2021, doi: 10.1136/thoraxjnl-2020-216243.

- [25] Zuo Y. i wsp., “Neutrophil extracellular traps and thrombosis in COVID-19,” *J. Thromb. Thrombolysis*, vol. 51, no. 2, pp. 446–453, 2021, doi: 10.1007/s11239-020-02324-z.
- [26] Bonaventura A. i wsp., “Endothelial dysfunction and immunothrombosis as key pathogenic mechanisms in COVID-19,” *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 21, no. 5, Art. no. 5, May 2021, doi: 10.1038/s41577-021-00536-9.
- [27] Szturmowicz M. i Demkow U., “Neutrophil Extracellular Traps (NETs) in Severe SARS-CoV-2 Lung Disease,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 22, no. 16, p. 8854, Aug. 2021, doi: 10.3390/ijms22168854.
- [28] Ackermann M. i wsp., “Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 383, no. 2, pp. 120–128, Jul. 2020, doi: 10.1056/NEJMoa2015432.
- [29] Iba T., Warkentin T. E, Thachil J. i wsp., “Proposal of the Definition for COVID-19-Associated Coagulopathy,” *J. Clin. Med.*, vol. 10, no. 2, p. 191, Jan. 2021, doi: 10.3390/jcm10020191.
- [30] Dybowska M. i wsp., “Thromboprophylaxis in patients with Covid-19,” *Acta Angiol.*, vol. 27, no. 4, pp. 138–143, 2021, doi: 10.5603/AA.2021.0016.
- [31] Panigada M. i wsp., “Hypercoagulability of COVID-19 patients in intensive care unit: A report of thromboelastography findings and other parameters of hemostasis,” *J. Thromb. Haemost.*, vol. 18, no. 7, pp. 1738–1742, 2020, doi: 10.1111/jth.14850.
- [32] Tang N., Li D., Wang X. i wsp., “Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia,” *J. Thromb. Haemost.*, vol. 18, no. 4, pp. 844–847, Apr. 2020, doi: 10.1111/jth.14768.
- [33] Thachil J. i wsp., “ISTH interim guidance on recognition and management of coagulopathy in COVID-19,” *J. Thromb. Haemost. JTH*, vol. 18, no. 5, pp. 1023–1026, May 2020, doi: 10.1111/jth.14810.
- [34] Konstantinides S. V. i wsp., “2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European Respiratory Society (ERS): The Task Force for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism of the European Society of Cardiology (ESC),” *Eur. Heart J.*, vol. 41, no. 4, pp. 543–603, Jan. 2020, doi: 10.1093/eurheartj/ehz405.
- [35] Pruszczyk P., Torbicki A., “Zatorowość płucna.” Accessed: Jan. 03, 2024. [Online]. Available: <http://www.mp.pl/social/chapter/B16.II.2.33.2>.
- [36] Nizankowski R. i wsp., “Tabela 2.33-11. Czynniki ryzyka ŻChZZ u chorych hospitalizowanych – Skala Padewska Oceny Ryzyka | Interna.” Accessed: Jan. 03, 2024. [Online]. Available: <https://www.mp.pl/interna/table/B16.2.33-10>.

- [37] Nizankowski R. i wsp., “Tabela 2.33-10. Zmodyfikowany model oceny ryzyka wg Capriniego "Interna.” Accessed: Jan. 20, 2024. [Online]. Available: <https://www.mp.pl/interna/table/B16.2.33-9>.
- [38] Decousus H. i wsp., “Factors at admission associated with bleeding risk in medical patients: findings from the IMPROVE investigators,” *Chest*, vol. 139, no. 1, pp. 69–79, Jan. 2011, doi: 10.1378/chest.09-3081.
- [39] Zhai Z. i wsp., “Prevention and Treatment of Venous Thromboembolism Associated with Coronavirus Disease 2019 Infection: A Consensus Statement before Guidelines,” *Thromb. Haemost.*, vol. 120, no. 6, pp. 937–948, Jun. 2020, doi: 10.1055/s-0040-1710019.
- [40] Kollias A., Kyriakoulis K. G., Lagou S., i wsp. “Venous thromboembolism in COVID-19: A systematic review and meta-analysis,” *Vasc. Med. Lond. Engl.*, vol. 26, no. 4, pp. 415–425, Aug. 2021, doi: 10.1177/1358863X21995566.
- [41] Ortega-Paz L. i wsp., “COVID-19-Associated Pulmonary Embolism: Review of the Pathophysiology, Epidemiology, Prevention, Diagnosis, and Treatment,” *Semin. Thromb. Hemost.*, vol. 49, no. 8, pp. 816–832, Nov. 2023, doi: 10.1055/s-0042-1757634.
- [42] Liu Y., i wsp., “A systematic review and meta-analysis of incidence, prognosis, and laboratory indicators of venous thromboembolism in hospitalized patients with coronavirus disease 2019,” *J. Vasc. Surg. Venous Lymphat. Disord.*, vol. 9, no. 5, pp. 1099–1111.e6, Sep. 2021, doi: 10.1016/j.jvsv.2021.01.012.
- [43] Zuin M. i wsp., “Prevalence of Acute Pulmonary Embolism at Autopsy in Patients With COVID-19,” *Am. J. Cardiol.*, vol. 171, pp. 159–164, May 2022, doi: 10.1016/j.amjcard.2022.01.051.
- [44] Bagheri B. i wsp., “Prevalence of Thromboembolic Events, Including Venous Thromboembolism and Arterial Thrombosis, in Patients with COVID-19: A Systematic Review with Meta-Analysis,” *J. Tehran Univ. Heart Cent.*, vol. 18, no. 3, pp. 154–169, Jul. 2023, doi: 10.18502/jthc.v18i3.14110.
- [45] Klok F. A. i wsp., “Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19,” *Thromb. Res.*, vol. 191, pp. 145–147, Jul. 2020, doi: 10.1016/j.thromres.2020.04.013.
- [46] Klok F. A. i wsp., “Confirmation of the high cumulative incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19: An updated analysis,” *Thromb. Res.*, vol. 191, pp. 148–150, Jul. 2020, doi: 10.1016/j.thromres.2020.04.041.
- [47] Ren B. i wsp., “Extremely High Incidence of Lower Extremity Deep Venous Thrombosis in 48 Patients With Severe COVID-19 in Wuhan | Circulation.” Accessed:

- Aug. 14, 2024. [Online]. Available:
<https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047407>
- [48] Nopp S., Moik F., Jilma B. i wsp., “Risk of venous thromboembolism in patients with COVID-19: A systematic review and meta-analysis,” *Res. Pract. Thromb. Haemost.*, vol. 4, no. 7, pp. 1178–1191, Oct. 2020, doi: 10.1002/rth2.12439.
 - [49] Jiménez D. i wsp., “Incidence of VTE and Bleeding Among Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019: A Systematic Review and Meta-analysis,” *Chest*, vol. 159, no. 3, pp. 1182–1196, Mar. 2021, doi: 10.1016/j.chest.2020.11.005.
 - [50] Sjoland H. i wsp., “Pulmonary embolism and deep venous thrombosis after COVID-19: long-term risk in a population-based cohort study,” *Res. Pract. Thromb. Haemost.*, vol. 7, no. 5, p. 100284, Jun. 2023, doi: 10.1016/j.rpth.2023.100284.
 - [51] Burn E. i wsp., “Venous or arterial thrombosis and deaths among COVID-19 cases: a European network cohort study,” *Lancet Infect. Dis.*, vol. 22, no. 8, pp. 1142–1152, Aug. 2022, doi: 10.1016/S1473-3099(22)00223-7.
 - [52] Schulman S. i wsp., “ISTH guidelines for antithrombotic treatment in COVID-19,” *J. Thromb. Haemost.*, vol. 20, no. 10, pp. 2214–2225, Oct. 2022, doi: 10.1111/jth.15808.
 - [53] Driggin E. i wsp., “Prophylaxis and Treatment of Venous Thromboembolic Disease in COVID-19,” American College of Cardiology. Accessed: Jan. 21, 2024. [Online]. Available: <https://www.acc.org/latest-in-cardiology/articles-prophylaxis-and-treatment-of-venous-thromboembolic-disease-in-covid-19>
 - [54] Melkumyants A. i wsp., “Effect of Sulodexide on Circulating Blood Cells in Patients with Mild COVID-19,” *J. Clin. Med.*, vol. 11, no. 7, p. 1995, Apr. 2022, doi: 10.3390/jcm11071995.
 - [55] “ESC Guidelines on Acute Pulmonary Embolism (Diagnosis and Management of).” Accessed: Jan. 20, 2024. [Online]. Available: <https://www.escardio.org/Guidelines/Clinical-Practice-Guidelines/Acute-Pulmonary-Embolism-Diagnosis-and-Management-of>,
 - [56] Clausen T. M. i wsp., “SARS-CoV-2 Infection Depends on Cellular Heparan Sulfate and ACE2,” *Cell*, vol. 183, no. 4, pp. 1043–1057.e15, Nov. 2020, doi: 10.1016/j.cell.2020.09.033.
 - [57] Cate H. , “Surviving Covid-19 with Heparin?,” *N. Engl. J. Med.*, p. NEJMe2111151, Aug. 2021, doi: 10.1056/NEJMe2111151.
 - [58] REMAP-CAP Investigators *et al.*, “Therapeutic Anticoagulation with Heparin in Critically Ill Patients with Covid-19,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 385, no. 9, pp. 777–789, Aug. 2021, doi: 10.1056/NEJMoa2103417.

- [59] Middeldorp S. i wsp., “Incidence of venous thromboembolism in hospitalized patients with COVID-19,” *J. Thromb. Haemost.*, vol. 18, no. 8, pp. 1995–2002, Aug. 2020, doi: 10.1111/jth.14888.
- [60] Llitjos J.F. i wsp., “High incidence of venous thromboembolic events in anticoagulated severe COVID-19 patients,” *J. Thromb. Haemost.*, vol. 18, no. 7, pp. 1743–1746, Jul. 2020, doi: 10.1111/jth.14869.
- [61] ATTACC Investigators; i wsp. “Therapeutic Anticoagulation with Heparin in Noncritically Ill Patients with Covid-19,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 385, no. 9, pp. 790–802, Aug. 2021, doi: 10.1056/NEJMoa2105911.
- [62] Mycroft-West C. J. i wsp., “Heparin Inhibits Cellular Invasion by SARS-CoV-2: Structural Dependence of the Interaction of the Spike S1 Receptor-Binding Domain with Heparin,” *Thromb. Haemost.*, vol. 120, no. 12, pp. 1700–1715, Dec. 2020, doi: 10.1055/s-0040-1721319.
- [63] RECOVERY Collaborative Group. “Aspirin in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial,” *Lancet Lond. Engl.*, vol. 399, no. 10320, pp. 143–151, Jan. 2022, doi: 10.1016/S0140-6736(21)01825-0.
- [64] Spyropoulos A. C. i wsp., “Scientific and Standardization Committee communication: Clinical guidance on the diagnosis, prevention, and treatment of venous thromboembolism in hospitalized patients with COVID-19,” *J. Thromb. Haemost.*, vol. 18, no. 8, pp. 1859–1865, Aug. 2020, doi: 10.1111/jth.14929.
- [65] Tomkowski W. Z., “3.2. Powikłania zakrzepowo-zatorowe u chorych na COVID-19,” *Pacjent Post-COVID-Owy*, p. 37.
- [66] Windyga J., “COVID-19 a żylna choroba zakrzepowo-zatorowa: co wiadomo po 2 latach pandemii?,” *J. Transfus. Med.*, vol. 15, no. 1, Art. no. 1, 2022.
- [67] Mattiuzzi C. and Lippi G., “Long COVID: An Epidemic within the Pandemic,” *COVID*, vol. 3, no. 5, Art. no. 5, May 2023, doi: 10.3390/covid3050057.
- [68] Musiał J., “Venous thromboembolism and antithrombotic therapy in COVID-19,” *J. Transfus. Med.*, vol. 15, no. 3, Art. no. 3, 2022, doi: 10.5603/JTM.2022.0017.
- [69] Katsoularis I. i wsp., “Risks of deep vein thrombosis, pulmonary embolism, and bleeding after covid-19: nationwide self-controlled cases series and matched cohort study,” *BMJ*, vol. 377, p. e069590, Apr. 2022, doi: 10.1136/bmj-2021-069590.
- [70] Galeano-Valle F. i wsp., “Comparative analysis of COVID-19-associated venous thromboembolism outcomes: evolution from 2020 to 2021–2022,” *J. Thromb. Thrombolysis*, Jul. 2024, doi: 10.1007/s11239-024-03026-6.

- [71] Giannis D. i wsp., “Postdischarge thromboembolic outcomes and mortality of hospitalized patients with COVID-19: the CORE-19 registry,” *Blood*, vol. 137, no. 20, pp. 2838–2847, May 2021, doi: 10.1182/blood.2020010529.
- [72] Chong P. Y. i wsp., “Analysis of deaths during the severe acute respiratory syndrome (SARS) epidemic in Singapore: challenges in determining a SARS diagnosis,” *Arch. Pathol. Lab. Med.*, vol. 128, no. 2, pp. 195–204, Feb. 2004, doi: 10.5858/2004-128-195-AODDTS.
- [73] Zuin i wsp. M., “Incidence of venous thromboembolic events in COVID-19 patients after hospital discharge: A systematic review and meta-analysis,” *Thromb. Res.*, vol. 209, pp. 94–98, Jan. 2022, doi: 10.1016/j.thromres.2021.11.029.
- [74] Abdullah H. O. i wsp., “Role of Inflammatory Markers in Severity, ICU Admission, and Mortality in COVID-19: A Systematic Review and Meta-analysis of 79,934 Patients,” *Barw Med. J.*, Jun. 2024, doi: 10.58742/bmj.v2i2.96.
- [75] Li J. i wsp., “Clinical characteristics and risk factors for symptomatic venous thromboembolism in hospitalized COVID-19 patients: A multicenter retrospective study,” *J. Thromb. Haemost.*, vol. 19, no. 4, pp. 1038–1048, Apr. 2021, doi: 10.1111/jth.15261.
- [76] Mouhat B. i wsp., “Elevated D-dimers and lack of anticoagulation predict PE in severe COVID-19 patients,” *Eur. Respir. J.*, vol. 56, no. 4, p. 2001811, Oct. 2020, doi: 10.1183/13993003.01811-2020.
- [77] Queiroz M. A. F. i wsp., “Cytokine Profiles Associated With Acute COVID-19 and Long COVID-19 Syndrome,” *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, vol. 12, p. 922422, 2022, doi: 10.3389/fcimb.2022.922422.
- [78] Fajgenbaum D. C. and June C. H., “Cytokine Storm,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 383, no. 23, pp. 2255–2273, Dec. 2020, doi: 10.1056/NEJMra2026131.
- [79] Queiroz M. A. F. i wsp., “Cytokine Profiles Associated With Acute COVID-19 and Long COVID-19 Syndrome,” *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, vol. 12, p. 922422, Jun. 2022, doi: 10.3389/fcimb.2022.922422.
- [80] Mohd Zawawi Z. i wsp., “Prospective Roles of Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- α) in COVID-19: Prognosis, Therapeutic and Management,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 24, no. 7, p. 6142, Mar. 2023, doi: 10.3390/ijms24076142.
- [81] Subramaniam S., Kothari H., and Bosmann M., “Tissue factor in COVID-19-associated coagulopathy,” *Thromb. Res.*, vol. 220, pp. 35–47, Dec. 2022, doi: 10.1016/j.thromres.2022.09.025.
- [82] Smail S. W. i wsp., “Serum IL-23, IL-10, and TNF- α predict in-hospital mortality in COVID-19 patients,” *Front. Immunol.*, vol. 14, p. 1145840, May 2023, doi: 10.3389/fimmu.2023.1145840.

- [83] Mai a. Saleh i wsp. "TNF- α and IL-10 Serum Levels in COVID-19 Patients and their Relation to Disease Severity," *Med. J. Cairo Univ.*, vol. 90, no. 9, pp. 1459–1467, Sep. 2022, doi: 10.21608/mjcu.2022.264601.
- [84] Siekacz K. i wsp., "Oxidative Biomarkers Associated with the Pulmonary Manifestation of Post-COVID-19 Complications," *J. Clin. Med.*, vol. 12, no. 13, Art. no. 13, Jan. 2023, doi: 10.3390/jcm12134253.
- [85] Pereson M. J., Badano M. N., Aloisi N. i wsp. "TNF- α Levels in Respiratory Samples Are Associated with SARS-CoV-2 Infection," *Microbiol. Spectr.*, vol. 10, no. 1, pp. e01411-21, doi: 10.1128/spectrum.01411-21.
- [86] Guo Y. i wsp., "Targeting TNF- α for COVID-19: Recent Advanced and Controversies," *Front. Public Health*, vol. 10, p. 833967, 2022, doi: 10.3389/fpubh.2022.833967.
- [87] National Institutes of Health (NIH) "Immune modulator drugs improved survival for people hospitalized with COVID-19," Accessed: Aug. 15, 2024. [Online]. Available: <https://www.nih.gov/news-events/news-releases/immune-modulator-drugs-improved-survival-people-hospitalized-covid-19>
- [88] Teodoro A. G. F. i wsp., "Inflammatory Response and Activation of Coagulation after COVID-19 Infection," *Viruses*, vol. 15, no. 4, p. 938, Apr. 2023, doi: 10.3390/v15040938.
- [89] Alonso-Domínguez J. i wsp., "High Levels of IL-1 β , TNF- α and MIP-1 α One Month after the Onset of the Acute SARS-CoV-2 Infection, Predictors of Post COVID-19 in Hospitalized Patients," *Microorganisms*, vol. 11, no. 10, Art. no. 10, Oct. 2023, doi: 10.3390/microorganisms11102396.
- [90] Schultheiß C. i wsp., "The IL-1 β , IL-6, and TNF cytokine triad is associated with post-acute sequelae of COVID-19," *Cell Rep. Med.*, vol. 3, no. 6, p. 100663, Jun. 2022, doi: 10.1016/j.xcrm.2022.100663.
- [91] Almulla A. F. i wsp., "Immune activation and immune-associated neurotoxicity in Long-COVID: A systematic review and meta-analysis of 103 studies comprising 58 cytokines/chemokines/growth factors," *Brain. Behav. Immun.*, vol. 122, pp. 75–94, Aug. 2024, doi: 10.1016/j.bbi.2024.07.036.
- [92] Page M. J., Bester J. i Pretorius E., "The inflammatory effects of TNF- α and complement component 3 on coagulation," *Sci. Rep.*, vol. 8, no. 1, p. 1812, Jan. 2018, doi: 10.1038/s41598-018-20220-8.
- [93] Najem M. Y. i wsp., "Cytokine and chemokine regulation of venous thromboembolism," *J. Thromb. Haemost.*, vol. 18, no. 5, pp. 1009–1019, May 2020, doi: 10.1111/jth.14759.

- [94] Liu H. i wsp., “Association of interleukin-6, ferritin, and lactate dehydrogenase with venous thromboembolism in COVID-19: a systematic review and meta-analysis,” *BMC Infect. Dis.*, vol. 24, no. 1, p. 324, Mar. 2024, doi: 10.1186/s12879-024-09205-3.
- [95] Melazzini F. i wsp., “Venous thromboembolism and COVID-19: a single center experience from an academic tertiary referral hospital of Northern Italy,” *Intern. Emerg. Med.*, vol. 16, no. 5, pp. 1141–1152, Aug. 2021, doi: 10.1007/s11739-020-02550-6.
- [96] Writing Committee for the REMAP-CAP Investigators i wsp., “Long-term (180-Day) Outcomes in Critically Ill Patients With COVID-19 in the REMAP-CAP Randomized Clinical Trial,” *JAMA*, vol. 329, no. 1, Art. no. 1, Jan. 2023, doi: 10.1001/jama.2022.23257.
- [97] Ragnoli B. i wsp., "Interrelationship between COVID-19 and Coagulopathy: Pathophysiological and Clinical Evidence. *Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24, 8945. <https://doi.org/10.3390/ijms24108945>
- [98] Alwafi H. i wsp., “Predictors of Length of Hospital Stay, Mortality, and Outcomes Among Hospitalised COVID-19 Patients in Saudi Arabia: A Cross-Sectional Study,” *J. Multidiscip. Healthc.*, vol. 14, pp. 839–852, Apr. 2021, doi: 10.2147/JMDH.S304788.
- [99] Cheng L. i wsp. “Ferritin in the coronavirus disease 2019 (COVID-19): A systematic review and meta-analysis -*J Clin Lab Anal.* 2020 Oct;34(10):e23618. doi: 10.1002/jcla.23618. Epub 2020 Oct 19. PMID: 33078400; PMCID: PMC7595919.
- [100] Wygrecka M. i wsp. “Plasminogen Activator Inhibitor-1 Is an Inhibitor of Factor VII-activating Protease in Patients with Acute Respiratory Distress Syndrome - *J Biol Chem.* 2007 Jul 27;282(30):21671-82. doi: 10.1074/jbc.M610748200. Epub 2007 May 31. PMID: 17540775; PMCID: PMC8025756. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021925820781196>
- [101] Pasini E. i wsp., “Serum Metabolic Profile in Patients With Long-Covid (PASC) Syndrome: Clinical Implications,” *Front. Med.*, vol. 8, Jul. 2021, doi: 10.3389/fmed.2021.714426.
- [102] Kang S. i wsp., “IL-6 trans-signaling induces plasminogen activator inhibitor-1 from vascular endothelial cells in cytokine release syndrome,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 117, no. 36, pp. 22351–22356, Sep. 2020, doi: 10.1073/pnas.2010229117.
- [103] Zuo Y. i wsp., “Plasma tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in hospitalized COVID-19 patients,” *Sci. Rep.*, vol. 11, no. 1, p. 1580, Jan. 2021, doi: 10.1038/s41598-020-80010-z.

11 SPIS TABEL

Tabela 1. Cytokiny i ich rola w procesie zapalnym krzepnięcia i fibrynolizy.	21
Tabela 2. Charakterystyka kliniczna i demograficzna grupy badanej.	36
Tabela 3. Metody, potwierdzenie, przebieg i leczenie COVID-19 w grupie badanej.....	38
Tabela 4. Czas wystąpienia ŻChZZ od COVID-19.....	39
Tabela 5. Dane demograficzne grupy badanej.....	46
Tabela 6. Dane kliniczne dotyczące leczenia w trakcie COVID-19	49
Tabela 7. Choroby współistniejące (częstość i rodzaj) w grupie z ŻChZZ i bez ŻChZZ	50
Tabela 8. Stopień ciężkości przebiegu COVID-19	51
Tabela 9. Porównanie stężeń wybranych parametrów biochemicznych dla obu grup z ŻChZZ i bez ŻChZZ podczas wizyty 1 (W1).	52
Tabela 10. Stężenie cytokin – cała grupa badana W1.....	53
Tabela 11. Porównanie stężeń cytokin, ferrytyny i PAI-1 w grupach z ŻChZZ i bez ŻChZZ w czasie wizyty W1	54
Tabela 12. Wyniki krzywej ROC dla TNF- α	56
Tabela 13. Porównanie stężeń cytokin, ferrytyny i PAI-1 u chorych z ŻChZZ rozpoznaną przed hospitalizacją i w trakcie pobytu w IGiChP.....	57
Tabela 14. Stężenie cytokin, PAI-1 i ferrytyny - cała grupa badana -wizyta W2	58
Tabela 15. Porównanie stężenia cytokin, ferrytyny i PAI-1 dla grupy z ŻChZZ (+) i bez ŻChZZ(-) podczas wizyty W2.....	58

12 SPIS RYCIN

Rycina 1. Choroby współistniejące w grupie badanej.....	35
Rycina 2. Wykres skrzynkowy stężeń $TNF-\alpha$ podczas wizyty 1 (W1) dla grupy bez ŻChZZ (nie stwierdzono zakrzepicy) oraz grupy z ŻChZZ (zakrzepica).	55
Rycina 3. Krzywa ROC dla $TNF-\alpha$	56
Rycina 4. Wykres skrzynkowy stężeń $TNF-\alpha$ podczas wizyty 2 (W2) dla grupy bez ŻChZZ (nie stwierdzono zakrzepicy) oraz grupy z ŻChZZ (zakrzepica).	59