

lek. Kacper Christo Dziedzic

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

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

Promotor: prof. dr hab. Łukasz Szarpak

Promotor pomocniczy: dr n. o zdr. Monika Tomaszewska

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



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2024 r.

Słowa kluczowe: biomarker; diagnostyka; predykcja; śmiertelność; stan zapalny; system immunologiczny; koagulopatia; komórki śródbłónka; SARS-CoV-2; COVID-19; koronawirus zespołu ostrej ciężkiej niewydolności oddechowej 2.

Keywords: biomarker; diagnosis; prediction; mortality; inflammation; immune system; coagulopathy; endothelial cells; SARS-CoV-2; COVID-19; acute severe respiratory syndrome coronavirus 2.

Ta praca jest zadedykowana Wam, kochani Rodzice, Dziadkowie i Bracie, w podziękowaniu za Wasze nieocenione wsparcie, miłość i wiarę, które pomogły mi osiągnąć ten ważny cel. Wasza obecność i inspiracja były dla mnie nieocenionym źródłem siły i motywacji.

Serdeczne podziękowania składam mojemu promotorowi Profesorowi Łukaszowi Szarpakowi, oraz promotor pomocniczej Dr Monice Tomaszewskiej za nieocenione wsparcie, godziny dywagacji naukowych i merytoryczną pomoc, które umożliwiły mi rozwinięcie skrzydeł naukowych. To dzięki Waszemu zaangażowaniu, cierpliwości i wskazówkom miałem szansę przekroczyć granice dotychczasowej wiedzy i w pełni rozwinąć swoje badawcze ambicje.

Na koniec chciałbym podziękować pracownikom Grupy LUXMED, a w szczególności zespołowi badawczemu Działu Badań Naukowych i Rozwoju za wsparcie i zrozumienie, które towarzyszyły mi podczas realizacji mojej pracy doktorskiej. Dzięki możliwościom rozwoju, które mi zaoferowano, mogłem pogłębiać swoją wiedzę i zdobywać nowe doświadczenia tak naukowe jak i kliniczne, co przyczyniło się do osiągnięcia tego ważnego celu naukowego.

Wykaz publikacji stanowiących pracę

- I. Farah R, Khamisy-Farah R, Dziedzic K, Skrzypek E, Pruc M, Bragazzi NL, Szarpak L, Jomah M. The role of the neutrophil-lymphocyte ratio in predicting poor outcomes in COVID-19 patients. *Cardiol J*. 2023 Dec 27. doi: 10.5603/cj.98214.

(Punktacja MNiSW: 100,0; Impact Factor: 3,000)

- II. Dziedzic K, Pruc M, Kilic M, Ah R, Yildirim M, Szarpak L, Safiejko K, Khamisy-Farah R, Chirico F, Bragazzi NL. Sex- and gender-specific differences in the inflammatory response to COVID-19: the role of the neutrophil-to-lymphocyte ratio. *Disaster Emerg Med J* 2023; 8(4):234-242. DOI: 10.5603/demj.98191.

(Punktacja NMiSW: 200,0)

- III. Dziedzic K, Rahnema-Hezavah M, Tomaszewska M, Szarpak A, Gasecka A, Kuleta K, Fidali O, Pruc M, Ostenda A, Wierzbniak-Stronska M, Kubica A, Chirico F. Breaking down the clotting conundrum: analyzing the role of plasma tissue plasminogen activator in COVID-19 patients through a systematic review and meta-analysis. *Disaster Emerg Med J* 2023; 8(4):207-215. DOI: 10.5603/demj.97097.

(Punktacja NMiSW: 200,0)

- IV. Dziedzic K, Batra K, Pruc M, Tomaszewska M, Kurek K, Yildirim M, Bahramizadeh M, Chirico F, Bragazzi NL, Khabbache H, Sitibondo A, Szarpak L, Nucera G. A systematic review and meta-analysis of the association between galectin-3 levels and clinical outcomes in COVID-19 patients. *JHSS* 2023;8(4):282-294. Doi: 10.19204/2023/SYST3.

(Punktacja NMiSW: 20,0)

- V. Dziedzic K, Szarpak L, Pruc M, Swieczkowski D, Nucera G, Batra K, Khabbache H, Bahramizadeh M, Yildirim M, Sitibondo A, Galwankar S, Karbowska E, Kurek K, Tomaszewska M. Serum-soluble ST2 as a novel biomarker for COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis. J Health Soc Sci 2024, 9(1): 86-99. Doi: 10.19204/2024/SRMS3.

(Punktacja NMiSW: 20,0)

- VI. Dziedzic K, Tomaszewska M, Pruc M, Nucera G, Swieczkowski D, Koselak M, Szarpak L. Surfactant Protein-D (SP-D) serum levels as a predictor of COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis. Adv Med Psychol Public Health. 2024; 1(4):174-184. Doi: 10.5281/zenodo.11075270

(Punktacja MNiSW: 5,0)

SPIS TREŚCI

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW	9
STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM	13
STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM.....	19
1. WSTĘP	25
1.1. Historia Koronawirusów i epidemiologia wirusa SARS-CoV-2.....	25
1.2. Budowa i etiologia wirusa SARS-CoV-2	27
1.2.1. Budowa wirionu	27
1.2.2. Drogi transmisji	29
1.2.3. Cechy epidemiologiczne wirusa SARS-CoV-2	29
1.3. Patomechanizm.....	30
1.4. Obraz kliniczny	32
1.5. Czynniki ryzyka zakażenia i ciężkiego przebiegu COVID-19	34
1.6. Diagnostyka	36
1.6.1. Identyfikacja wirusa	36
1.6.2. Odchylenia w diagnostyce laboratoryjnej, obrazowej oraz ocena ciężkości przebiegu COVID-19	38
1.6.3. Biomarkery prognostyczne w COVID-19	41
2. CEL PRACY	43
3. KOPIE OPUBLIKOWANYCH PRAC.....	45
4. PODSUMOWANIE I WNIOSKI	113
5. OSWIADCZENIA AUTORÓW PUBLIKACJI.....	133
6. SPIS RYCIN	193
7. PISMIENICTWO	195

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

ACE2	Enzym konwertujący angiotensynę 2 (<i>ang. Angiotensin-converting enzyme 2</i>)
ARDS	Zespół ostrej niewydolności oddechowej (<i>ang. Acute respiratory distress syndrome</i>)
AUC	Pole pod krzywą (<i>ang. Area under curve</i>)
BMI	Wskaźnik masy ciała (<i>ang. Body Mass Index</i>)
CI	Przedział ufności (<i>ang. Confidence interval</i>)
CRP	Białko C-reaktywne (<i>ang. C-reactive protein</i>)
DC	Komórki dendrytyczne (<i>ang. Dendritic cell</i>)
EASIX	endothelial activation and stress index
FN	Fibrynonektyna (<i>ang. Fibrinonectin</i>)
GAL-3	Galektyna 3 (<i>ang. Galectin 3</i>)
HCoV	Ludzki koronawirus (<i>ang. Human coronavirus</i>)
HIV	Ludzki wirus niedoboru odporności (<i>ang. Human immunodeficiency virus</i>)
ICU	Oddział Intensywnej Terapii (<i>ang. Intensive Care Unit</i>)
IPF	Idiopatyczne włóknienie płuc (<i>ang. Idiopathic pulmonary fibrosis</i>)
IL	Interleukina (<i>ang. Interleukin</i>)
ILD	Choroba śródmiąższowa płuc (<i>ang. Interstitial lung disease</i>)
LHD	Dehydrogenaza mleczanowa (<i>ang. Lactate dehydrogenase</i>)
MAPK	Kinazy aktywowane mitogenami (<i>ang. Mitogen-activated protein kinase</i>)
MERS-CoV	Koronawirus bliskowschodniego zespołu niewydolności oddechowej (<i>ang. Middle East Respiratory Syndrom Coronavirus</i>)

MIS-A	Wieloukładowy zespół zapalny dorosłych (<i>ang. Multisystem inflammatory syndrome in adult</i>)
MIS-C	Wieloukładowy zespół zapalny dzieci (<i>ang. Multisystem inflammatory syndrome in children</i>)
NF-κB	Jądrowy czynnik transkrypcyjny (<i>ang. The Nuclear Factor kappa B</i>)
NLR	Wskaźnik neutrofili do limfocytów (<i>ang. Neutrophil lymphocyte ratio</i>)
NOS	Skala NewCastle Ottawa (<i>ang. NewCastle Ottawa Scale</i>)
OR	Iloraz szans (<i>ang. Odds ratio</i>)
PLR	Wskaźnik płytek krwi do limfocytów (<i>ang. Platelet-lymphocyte ratio</i>)
PRISMA	Standard raportowania dla systematycznych przeglądów literatury i metaanaliz (<i>agn. Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses</i>)
RNP	Kompleksy rybonukleoprotein (<i>ang. Ribonucleoprotein complexes</i>)
ROS	Reaktywne formy tlenu (<i>ang. Reactive oxygen species</i>)
RSV	syncytialnym wirusem oddechowym (<i>ang. Respiratory syncytial virus</i>)
RTG	Badanie rengenowskie (<i>ang. Radiography</i>)
SARS-CoV-2	Koronawirus Zespołu Ostrej Niewydolności Oddechowej 2 (<i>ang. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2</i>)
SD	Odchylenie standardowe (<i>ang. Standard deviation</i>)
SMD	Standaryzowana różnica średnich (<i>ang. Standardized Mean Difference</i>)
SOC	Standard opieki (<i>ang. Standard of care</i>)
SP-A	Białko powierzchniowo czynne A (<i>ang. Surface protein A</i>)
SP-D	Białko powierzchniowo czynne D (<i>ang. Surface protein D</i>)
TNF-α	Czynnik martwicy nowotworów alfa (<i>ang. Tumor necrosis factor alpha</i>)

TLR4	Białko przezbłonkowe kodowane przez gen TLR4 (<i>ang. Toll-like receptor 4</i>)
t-PA	Tkankowy aktywator plazminogenu (<i>ang. Tissue-type plasminogen activator</i>)
TSH	Hormon stymulujący tarczycę (<i>ang. Thyroid Stimulating Hormone</i>)
VCAM-1	Molekuła adhezyjna-1 komórki naczyniowej (<i>ang. Vascular cell adhesion molecule-1</i>)
VUM	Warianty objęte monitorowaniem (<i>ang. Variants under monitoring</i>)
VOC	Warianty budzące obawy (<i>ang. Variants of concern</i>)
VOI	Warianty będące przedmiotem zainteresowania (<i>ang. Variants of interest</i>)
vWF	Czynnik von Willebranda (<i>ang. Von Willebrand factor</i>)
WHO	Światowa Organizacja Zdrowia (<i>ang. World Health Organization</i>)

STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM

Wstęp

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

co jest bardzo istotne w kontekście długotrwałej walki z pandemią i jej skutkami zdrowotnymi oraz społecznymi.

Cel pracy

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

Materiał i metoda

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

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

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

Trzecia praca została zaprojektowana i przeprowadzona jako przegląd systematyczny z meta-analizą. Celem niniejszej pracy było określenie wartości diagnostycznej i predykcyjnej tkankowego aktywatora plazminogenu u pacjentów z COVID-19. W tym celu za pomocą uprzednio zdefiniowanych słów kluczowych dokonano przeszukania elektronicznych baz piśmienniczych (PubMed Central, Scopus, EMBASE, Cochrane). Finalne przeszukania powyższych baz danych miało miejsce 4 maja 2023 roku. W wyniku przeszukania ujawniono 1548 publikacji, spośród których w następstwie usunięcia duplikatów, oraz w pierwszej kolejności tytułów i abstraktów a następnie spośród wyłoniionych prac pełnej analizie wybranych prac do meta-analzy włączono 13 badań z łączną liczbą 1221 pacjentów.

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

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

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

przeprowadzone w celu oceny wartości diagnostycznej i prognostycznej SP-D w kontekście COVID-19. W trakcie przeszukania baz danych ujawniono 716 artykułów na podstawie predefiniowanych słów kluczowych. Następnie w trakcie weryfikacji artykułów, 12 badań obejmujących 892 pacjentów włączono do meta-analizy.

Wyniki

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

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

Trzecie badanie mające na celu ocenę roli tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA) jako markera diagnostycznego i predykcyjnego w przypadku pacjentów z COVID-19 wykazało iż poziomy t-PA wśród pacjentów z dodatnim i ujemnym wynikiem COVID-19

różniły się i wynosiły odpowiednio $26,67 \pm 40,65$ vs $4,68 \pm 3,83$ (SMD = 2,49; 95% CI: 1,85 do 3,14; $p < 0,001$). Średni poziom t-PA wśród pacjentów wymagających przyjęcia na OIT wynosił $24,06 \pm 12,44$ w porównaniu do $16,55 \pm 10,01$ u pacjentów nieleczonych na OIT (SMD = 0,69; 95% CI: -0,68 do 2,05; $p = 0,32$). Co więcej, poziomy t-PA wśród pacjentów z ciężkim COVID-19 w porównaniu do pacjentów bez ciężkiego COVID-19 wynosiły odpowiednio $11,89 \pm 9,05$ i $16,87 \pm 20,39$ (SMD = 2,74; 95% CI: -0,71 do 6,19; $p = 0,12$). Wartości t-PA wynosiły odpowiednio: $15,33 \pm 8,01$ dla pacjentów, którzy przeżyli wypis ze szpitala oraz $19,04 \pm 11,88$ dla pacjentów, którzy zmarli w szpitalu z powodu COVID-19 (SMD = -0,50; 95% CI: -2,45 do 1,44; $p = 0,61$).

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

W badaniu piątym odnoszącym się do oceny wartości diagnostycznej i prognostycznej białka ST2, analiza zbiorcza wszystkich badań wykazała, że poziomy sST2 są znacznie podwyższone u pacjentów z COVID-19 w porównaniu z osobami bez COVID-19 ($39,3 \pm 44,23$ vs. $6,74 \pm 6,25$; SMD= 3,52; 95%CI: 1,72 do 5,32), znacznie wyższe w ciężkich niż nieciężkich przypadkach ($94,07 \pm 74.71$ vs. $25,53 \pm 7,36$; SMD=3,87; 95%CI: 2,69 do 5,05) i różnią się między osobami, które przeżyły i nie przeżyły ($43,18 \pm 21,54$ vs. $119,11 \pm 113,98$; SMD= -2,84; 95%CI: -4,49 do - 1,19), ze znacznymi różnicami w średnich i przedziałach ufności zgłoszonych w tych grupach ($p < 0,001$).

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

nie wykryły statystycznie istotnych różnic u pacjentów z COVID-19, którzy przeżyli i zmarli w szpitalu ($27,18 \pm 16,4$ vs. $29,12 \pm 14,14$; SMD = 0,07; 95%CI: -0,28 do 0,42; $p=0,70$).

Wnioski

Przeprowadzone badania pozwalają na sformułowanie następujących wniosków:

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

STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM

EVALUATION OF THE DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC ROLE OF SELECTED BIOMARKERS IN PATIENTS WITH COVID-19

Introduction

COVID-19, caused by the SARS-CoV-2 virus, has become a global challenge, causing not only mass illnesses, but also a significant burden on health systems around the world. The pandemic, which began in late 2019/early 2020, quickly spread to all continents and led to the introduction of unprecedented preventive measures such as lockdowns, travel restrictions, and mass vaccination campaigns. The impact of COVID-19 on society was comprehensive and multifaceted. Human interactions largely shifted to the virtual world, reducing social life to a minimum. Recession has impacted countries' economies, leading to dramatic declines in income in sectors like tourism, food service, and retail. At the political level, the COVID-19 pandemic has also triggered a number of challenges, such as the need to respond quickly to the changing epidemiological situation, manage the crisis, and secure the supply of essential products, including personal protective equipment and vaccinations. In particular, the pandemic has highlighted the need for rapid and accurate diagnostics for early detection of infection, which is key to limiting the spread of the virus. COVID-19 diagnostics include a variety of methods, including genetic, antigenic, and serological tests, which play a key role in managing the pandemic. However, diagnostics alone are not sufficient. Effective prognostic tools that can predict the course of the disease and identify patients at risk of severe COVID-19 have proven equally essential. Understanding and monitoring biomarkers, has become crucial in the fight against the pandemic. These biomarkers, including inflammatory, coagulation, and organ damage-related markers, can provide valuable information about a patient's health status, enabling early detection of infection, assessment of the risk of complications, and monitoring of response to treatment. Thus, biomarkers play a key role in both the diagnosis and prognosis of COVID-19, with direct relevance to optimizing treatment strategies and patient management. They contribute to improving treatment outcomes, reducing mortality, and easing the burden on health systems worldwide, which is critical in the long-term fight against the pandemic and its health and social consequences.

Purpose of the study

The common goal of the series of studies included in thematically consistent publications was to evaluate the diagnostic and prognostic abilities of selected biomarkers for patients with COVID-19.

Material and method

Two of the six studies in the monothematic publication series were retrospective studies, and the other four were systematic reviews with meta-analyses.

Study one was a single-center retrospective study analyzing the medical records of 400 patients admitted for COVID-19 to Ziv Medical Center (Safed, Israel). The hospital admission secured these patients between April 2020 and December 2021, and RT-PCR testing confirmed COVID-19. We performed two laboratory tests of complete blood counts on each patient. We performed the first test upon the patient's admission to the hospital, and the second test either before the patient's discharge or a few days before their death. We designed the study to determine the predictive significance of the neutrophil-to-lymphocyte ratio in determining severity, length of hospital stay, and mortality among adult COVID-19 patients.

The second study, also designed as a retrospective study, was conducted with regard to the medical documentation of patients diagnosed with COVID-19. For this purpose, the medical documentation of patients of the Hospital Emergency Department of "Kartal Dr. Lütfi Kırdar City Hospital" in Istanbul, Turkey, was analyzed. We analyzed patients who presented to the Hospital Emergency Department between January 1 and May 31, 2022. We looked at the data to see if the NLR could predict what would happen. We found a link between the ratio of neutrophils to lymphocytes and differences in the inflammatory response to COVID-19 that were based on gender.

The third paper was designed and conducted as a systematic review with meta-analysis. The aim of the present study was to determine the diagnostic and predictive value of tissue plasminogen activator in patients with COVID-19. We used predefined keywords to search electronic literature databases such as PubMed Central, Scopus, EMBASE, and Cochrane for this purpose. The final search of the above databases took

place on May 4, 2023. The search yielded 1548 publications, from which the meta-analysis included 13 studies with a total of 1221 patients after removing duplicates and, initially, titles and abstracts.

The fourth study was also designed and conducted as a systematic review with meta-analysis, with the aim of assessing the predictive and diagnostic value of Galectin-3 in COVID-19 patients. We conducted a search of literature databases such as PubMed/MEDLINE, EMBASE, SCOPUS, and Cochrane for the study, selecting articles that reported Galectin-3 levels in COVID-19 patients. On November 10, 2023, we conducted the last search and found 351 studies, out of which we finally included 18 studies (2530 patients) in the meta-analysis.

The fifth study was also a systematic review with meta-analysis, related to determining the diagnostic and prognostic abilities of the ST-2 protein based on the available literature. We searched four literature databases (PubMed/MEDLINE, EMBASE, SCOPUS, and Cochrane), concluding the search on October 11, 2023. The meta-analysis included nine studies involving 1,732 patients out of the 275 studies identified in the search.

The sixth study conducted a systematic review and meta-analysis to analyze the diagnostic and predictive ability of COVID-19 severity using levels of surfactant protein D. We searched PubMed, Embase, Web of Science, and Scopus for English-language published articles up to January 21, 2024, for this purpose. We used a systematic review and meta-analysis approach, searching multiple databases for studies that measured SP-D levels in COVID-19 patients and healthy controls. We strictly defined inclusion criteria to select studies with high-quality data, and performed statistical analyses to evaluate the diagnostic and prognostic value of SP-D in the context of COVID-19. The database search revealed 716 articles based on predefined keywords. After reviewing the articles, the meta-analysis included 12 studies involving 892 patients.

Results

In a first-in-human study designed to assess the predictive value of neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) in the context of survival of patients with COVID-19, four hundred patients with COVID-19 were included, of whom males accounted for 51.5%. The mean age was 64.5 ± 17.1 years. There were 102 deaths and 296 survivors in the case group. The

mortality rate was 25.5%. The mean NLR among patients who survived hospital discharge was 8.4 ± 20.4 , which was statistically significantly lower than that of patients who died in hospitals (34.0 ± 49.9 ; $p < 0.001$). Statistical analysis showed statistically significant differences between patients who survived and those who died in the levels of: neutrophils (6.5 ± 4.5 vs. 13.6 ± 9.3 ; $p < 0.001$), lymphocytes (2.6 ± 12.1 vs. 1.0 ± 1.3 ; $p < 0.001$), white blood cells (9.6 ± 11.6 vs. 15.5 ± 1.0 ; $p < 0.001$), hemoglobin (12.2 ± 2.0 vs. 10.0 ± 2.5 g/dL; $p < 0.001$), platelets (269 ± 129 vs. 183 ± 103 ; $p < 0.001$), acidophilic granulocytes (0.57 ± 0.88 vs. 0.30 ± 0.71 ; $p < 0.001$) and monocytes (5.1 ± 4.4 vs. 4.1 ± 3.0 ; $p = 0.001$).

The second study included 513 patients to evaluate the effect of gender on neutrophil-to-lymphocyte ratio in COVID-19 patients. The study population consisted of 47% women and 53% men, with a mean age of 72.42 years. On average, women were significantly older than men. On admission, 73% of patients were classified as having a mild course of COVID-19, and 27% as severe. Overall, 63% of patients survived the infection. NLR values were statistically significantly higher in men than in women (11.24 vs. 8.42 ; $p < 0.0001$). We also observed higher NLR values for patients with severe COVID-19 compared to those with non-severe COVID-19 (14.81 vs. 8.06), and for those who survived to hospital discharge compared to those who died (12.64 vs. 8.21).

A third study to evaluate the role of tissue plasminogen activator (t-PA) as a diagnostic and predictive marker for COVID-19 patients showed that t-PA levels among COVID-19-positive and COVID-19-negative patients differed and were 26.67 ± 40.65 vs. 4.68 ± 3.83 , respectively (SMD = 2.49; 95% CI: 1.85 to 3.14; $p < 0.001$). The mean t-PA level among patients requiring ICU admission was 24.06 ± 12.44 vs. 16.55 ± 10.01 in patients not treated in the ICU (SMD = 0.69; 95% CI: -0.68 to 2.05; $p = 0.32$). Moreover, t-PA levels among patients with severe COVID-19 compared to patients without severe COVID-19 were 11.89 ± 9.05 and 16.87 ± 20.39 , respectively (SMD = 2.74; 95% CI: -0.71 to 6.19; $p = 0.12$). The t-PA values were, respectively: 15.33 ± 8.01 for patients who survived hospital discharge and 19.04 ± 11.88 for patients who died in the hospital due to COVID-19 (SMD = -0.50; 95% CI: -2.45 to 1.44; $p = 0.61$).

The fourth study, which examined the diagnostic and predictive abilities of Galectin-3, revealed a difference in the levels of this marker between patients with and without COVID-19. 15.73 ± 13.03 vs. 8.72 ± 5.82 pg/ml, respectively (SMD = 2.59; 95%CI:

1.52 to 3.67; $p < 0.001$). Galectin-3 levels were also statistically different between patients with COVID-19 who had a severe course and those who did not (18.83 ± 15.5 pg/mL vs. 12.43 ± 10.29 pg/mL; SMD = 2.64; 95%CI: 1.45 to 3.83; $p < 0.001$), and between COVID-19 patients who survived and those who died (6.24 ± 6.74 pg/mL vs. 13.72 ± 15.92 pg/mL; SMD = -1.79; 95%CI: -2.78 to -0.80; $p < 0.001$).

In the fifth study relating to the evaluation of the diagnostic and prognostic value of ST2 protein, pooled analysis of all studies showed that sST2 levels were significantly elevated in patients with COVID-19 compared to those without COVID-19 (39.3 ± 44.23 vs. 6.74 ± 6.25 ; SMD = 3.52; 95%CI: 1.72 to 5.32), significantly higher in severe than non-severe cases (94.07 ± 74.71 vs. 25.53 ± 7.36 ; SMD = 3.87; 95%CI: 2.69 to 5.05) and different between survivors and non-survivors (43.18 ± 21.54 vs. 119.11 ± 113.98 ; SMD = -2.84; 95%CI: -4.49 to -1.19), with significant differences in means and confidence intervals reported in these groups ($p < 0.001$).

Analysis of data in the sixth study, which evaluated the diagnostic and prognostic potential of surfactant protein D (SP-D), showed that SP-D levels in these patient groups differed and were 44.38 ± 74.71 and 21.29 ± 31.8 , respectively (SMD = 1.39; 95%CI: 0.35 to 2.43; $p = 0.009$). Pooled analysis of SP-D values among patients with severe and non-severe COVID-19 were 58.28 ± 101.8 and 94.69 ± 114.22 , respectively (SMD = 0.44; 95%CI: -0.78 to 1.66; $p = 0.48$). SP-D levels also detected no statistically significant differences in COVID-19 patients who survived and died in the hospital (27.18 ± 16.4 vs. 29.12 ± 14.14 ; SMD = 0.07; 95%CI: -0.28 to 0.42; $p = 0.70$).

Conclusions

The conducted studies support the following conclusions:

- Biomarkers such as the neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) are simple and readily available indicators that can be calculated from a baseline blood smear, making them extremely useful in clinical practice. Its prognostic value in assessing disease severity, length of hospitalization, and mortality in patients with COVID-19 has been widely confirmed;
- The study's findings also indicate the growing potential of modern biomarkers such as Galectin-3 (Gal-3), tissue plasminogen activator (tPA), or ST2 protein in COVID-19 diagnosis and risk stratification;

- Further research is required in light of the evolving SARS-CoV-2 mutations to select and validate the most recent and effective biomarkers for diagnosis and risk stratification in the context of the new viral variants, which, given their widespread infectivity and mutagenicity, may still pose a global threat.

1. WSTĘP

1.1. Historia Koronawirusów i epidemiologia wirusa SARS-CoV-2

Wirusy z rodziny koronawirusów są nam znane już od dawna. Pierwszy koronawirus został zidentyfikowany już w 1930 roku i był przyczyną zapalenia oskrzeli u ptaków wywołanego wirusem zakaźnego zapalenia oskrzeli [1]. Dekadę później, w latach 40. XX wieku, wyizolowano dwa koronawirusy zwierzęce: wirus mysiego zapalenia wątroby i wirus zakaźnego zapalenia żołądka i jelit [2]. Naukowcy odkryli także dowody na istnienie ludzkich koronawirusów już w latach 60. XX wieku. Wirus B814s wyizolowano z nosa przeziębionego chłopca. Kiedy ten wyizolowany wirus został przeniesiony do nosa ochotników, spowodował przeziębienie, ale ponieważ miał otoczkę lipidową, mógł być inaktywowany przez eter [3]. W międzyczasie wyizolowano kolejny nowy wirus, 229E. Ten, podobnie jak wirus B814, powodował przeziębienie podczas infekowania nim ochotników i był również inaktywowany przez eter [4]. Te dwa wirusy były nie tylko powiązane ze sobą, ale także z wirusem zakaźnego zapalenia oskrzeli. W tym samym czasie National Institutes of Health wyizolował innego członka tej nowej rodziny wirusów o nazwie OC43 [5]. Wszystkie te wirusy obserwowane pod mikroskopem elektronowym posiadały charakterystyczne kolczyste maczugi, dlatego też ze względu na ich unikalny wygląd morfologiczny w 1975 roku Międzynarodowy Komitet Taksonomii Wirusów nazwał nową rodzinę koronawirusami (Coronaviridae) [6, 7]. Następnie odkryto kolejne ludzkie koronawirusy, w tym SARS-CoV (2003), HCoV NL63 (2004), HCoV HKU1 (2005), MERS-CoV (2012) i SARS-CoV-2 (2019) [8, 9].

MERS-CoV wyizolowano od pacjenta w Arabii Saudyjskiej w 2012 roku [10]. Był on odpowiedzialny za 2506 przypadki i 862 zgonów z 27 różnych krajów [11]. SARS-CoV został po raz pierwszy wykryty w Chinach w 2003 roku. Wywołał on łącznie 8098 zakażeń oraz spowodował 774 zgonów, a od listopada 2002 roku do sierpnia 2003 roku dotarł do 29 różnych krajów [12]. W przeciwieństwie do epidemii wywołanej przez wirusa SARS-CoV, która trwała niecały rok, wirus MERS-CoV powoduje epizodycznie na nowo epidemie na Bliskim Wschodzie i trzeba założyć, że nie dojdzie do samoograniczenia i naturalnej eliminacji wirusa [13].

Międzynarodowy Komitet Taksonomii Wirusów opisał w 2020 roku nowy gatunek o nazwie: Koronawirus Zespołu Ostrej Niewydolności Oddechowej 2 (SARS-CoV-2),

wywołujący chorobę określoną przez WHO jako COVID-19 [14]. Pierwsze oficjalne informacje na temat ogniska zapalenia płuc o nieznanym etiologii w mieście Wuhan w Chinach odnotowano 31 grudnia 2019 roku [15]. WHO ogłosiła następnie, że w próbkach pobranych od tych pacjentów wykryto właśnie koronawirus SARS-CoV-2. Wirus szybko rozprzestrzenił się i do połowy stycznia 2020 roku liczba przypadków COVID-19 rosła wykładniczo w Wuhan i rozprzestrzeniła się na inne chińskie prowincje oraz kraje Azji Wschodniej [16]. W odpowiedzi na szybkie rozprzestrzenianie się i wczesne oznaki choroby, 30 stycznia 2020 roku WHO najpierw ogłosiła stan zagrożenia zdrowia publicznego o zasięgu międzynarodowym, a chwilę później epidemia przekształciła się w pandemię, którą oficjalnie ogłoszono 11 marca 2020 roku [17, 18]. Od dnia wybuchu pandemii do końca 2023 roku odnotowano ponad 772 milionów potwierdzonych przypadków oraz prawie 7 milionów zgonów spowodowanych przez COVID-19 [19].

Mimo globalnych doświadczeń z epidemiami związanymi z koronawirusami, to SARS-CoV-2 spowodował najwięcej zakażeń oraz sparaliżował system ochrony zdrowia na całym świecie. Wokół pochodzenia wirusa SARS-CoV-2 w dalszym ciągu obecnych jest wiele spekulacji, jednak pierwsi pacjenci z potwierdzonym zakażeniem COVID-19 byli epidemiologicznie powiązani z rynkiem owoców morza w Wuhan, gdzie sprzedawano również nietoperze, łuskowce i króliki [20]. Znaczna część społeczeństwa wierzy w hipotezę, że pochodzenie wirusa SARS-CoV-2 jest związane z laboratoriami wirusologicznymi znajdującymi się w Wuhan i w sposób zamierzony lub przypadkowy, wirus ten przedostał się do populacji ludzkiej wywołując globalny kryzys zdrowotny [21]. Mając na uwadze wcześniej przytoczone epidemie i ich dość jasny związek z zakażeniem odzwierzęcym, należy jednak uznać teorię związaną z przedostaniem się wirusa z laboratorium jako mało prawdopodobną [22].

W związku z globalnym zagrożeniem naukowcy na całym świecie dołożyli niezwykle dużych starań, aby jak najszybciej zebrać informacje o epidemiologii, etiologii, patofizjologii, sekwencji RNA wirusa, czynnikach ryzyka, zakaźności, środkach ograniczających rozprzestrzenianie się choroby, skutecznej diagnostyce, leczeniu oraz ocenie możliwych powikłań i rokowań, a czasopisma naukowe szybko przetwarzały zgromadzoną wiedzę naukową i umożliwiając jej rozpowszechnianie. Historia nowych koronawirusów prawdopodobnie jeszcze nie dobiegła końca, gdyż koronawirusy powodujące zakażenia u ludzi wykazują się często znacznym podobieństwem

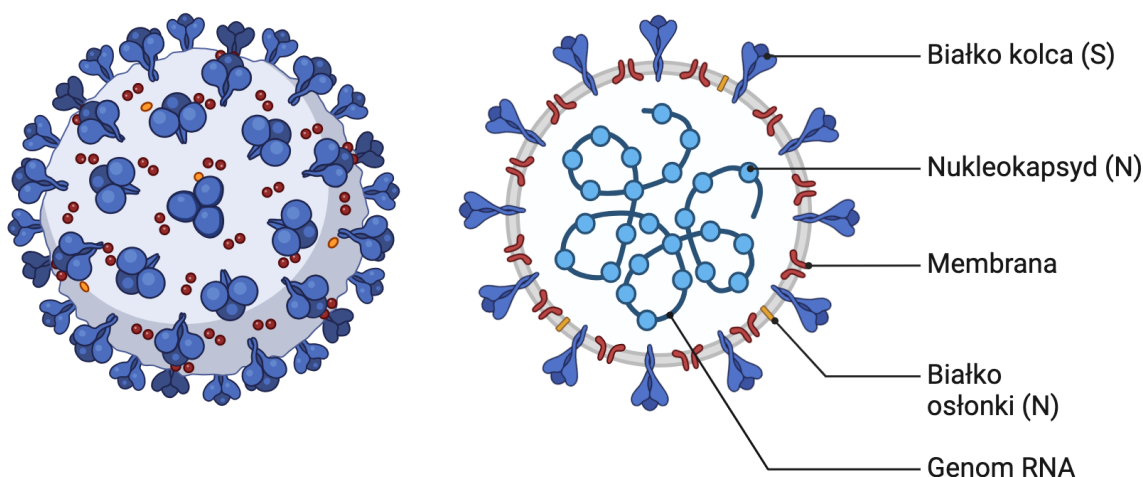
do koronawirusów stwierdzanych u zwierząt i najprawdopodobniej potrafią zmieniać żywicieli adaptując się do nowych organizmów, w tym także do ludzkiego organizmu.

1.2. Budowa i etiologia wirusa SARS-CoV-2

Wirus SARS-CoV-2 posiada nić RNA, należy do rzędu *Nidovirales*, rodziny *Coronaviridae*, podrodziny *Coronavirinae*, wśród której można wyróżnić pięć głównych wariantów takich jak: Alfa, Beta, Gamma, Delta i Omicron [23]. Choć budowę wirusa SARS-CoV-2 można uznać za względnie stałą, to mając na uwadze jego znaczący potencjał do zachodzenia zmienności genetycznej oraz znaczną zakaźność, wymusza on dokładne ustalenie jego cech etiologicznych, konieczność ciągłego monitoringu zakaźności, zmian w materiale genetycznym oraz identyfikacji czynników prognostycznych i diagnostycznych [24].

1.2.1. Budowa wirionu

Niedawne postępy w kriotomografii elektronowej i uśrednianiu subtomogramów umożliwiły niezrównane badania strukturalne kompleksów molekularnych w ich pierwotnej postaci z rozdzielczością niemal atomową [25]. Kilka laboratoriów wykorzystało te techniki do skanowania nienaruszonych wirionów SARS-CoV-2, ujawniając szczegóły dotyczące ich architektury molekularnej i organizacji. Wiriony SARS-CoV-2 mają kształt w przybliżeniu kulisty lub elipsoidalny, a ich średnia średnica wynosi 108 ± 8 nm, co czyni go jednym z największych wirusów RNA, zarówno pod względem rozmiaru, jak i długości genomu [26 – 28]. Zewnętrzna powierzchnia wirionu jest pokryta powierzchniowymi białkami kolczastymi (S) w konformacji przedfuzyjnej, z niewielką ilością S w stanie pofuzyjnym [29] (Rycina 1).



Rycina 1. Budowa wirionu SARS-CoV-2.

Źródło: Opracowanie własne.

Powierzchnia trimery S jest w dużym stopniu glikozylowana, przy czym każdy monomer S zawiera 22 miejsca glikozylacji [30]. Ta otoczka glikanowa, w połączeniu z elastycznością kolców SARS-CoV-2, pozwala im rozpoznawać powierzchnię komórki gospodarza i wiązać się z receptorem komórkowym enzymu konwertującego angiotensynę typu 2 (ACE2), jednocześnie będąc chronionym przed przeciwciałami neutralizującymi [31]. Zewnętrzna błona wirusa zawiera zarówno białko błonowe (M), jak i białko otoczki (E). Zarówno białko M jak i E są ważnym składnikiem błonowym wirusa SARS-CoV-2. E jest białkiem o masie 8,5 kDa i 75 resztach aminokwasowych i pośredniczy w rozmnażaniu i uwalnianiu wirusa. Wykazano, że delecje E osłabiają wirusa, podczas gdy mutacje eliminujące funkcję kanału zmniejszają patogenność [32, 33]. Białko nukleokapsydu (N) jest najważniejszym składnikiem białkowym wirionu SARS-CoV-2. N wiąże się z genomowym RNA wewnątrz wirionu i pakuje go w kompleks rybonukleoproteinowy. Oprócz pakowania białko N pełni szereg funkcji. Odkryto, że białko N SARS-CoV-2 zakłóca interferencję RNA i działa jako wirusowy supresor interferencji RNA w komórkach [34]. Ten proces pakowania genomu w formie „koralików na sznurku” mógłby utrzymać wysoką elastyczność steryczną wirusowej rybonukleoproteiny wymaganą do umożliwienia skutecznego upakowania bardzo dużego genomu w nowopowstałych wirionach [35].

W świetle wirionu znajdują się kompleksy rybonukleoprotein (RNP) składające się z białka nukleokapsydu (N) i genomu wirusa, które są odpowiedzialne za upakowanie genomu RNA wirusa, przy czym szacunkowo 30-35 RNP na wirion [36]. Prekursorowe

poliproteiny Pp1a i Pp1ab ulegają samorozszczepieniu przez proteazy wirusowe, tworząc białka niestrukturalne (Nsps) Nsp1-16. PLPro (Nsp3) odcina trzy miejsca, pozostawiając wolne Nsp1-3, podczas gdy MPro (Nsp5) odcina pozostałe 11 miejsc. Dzięki temu Nsps mogą spełniać swoje role w komórce gospodarza, takie jak funkcje zależnej od polimerazy RNA lub inaczej zwanej replikazy RNA (Nsp12) i helikazy (Nsp13), tworząc pęcherzyki z podwójną błoną do replikacji, transkrypcji i transportu RNA wirusa [37].

1.2.2. Drogi transmisji

Mimo, że najbardziej prawdopodobnym pierwotnym pochodzeniem wirusa SARS-CoV-2 są nietoperze, to ludzie stali się jego głównym rezerwuarem [38].

Najważniejszą drogą przenoszenia SARS-CoV-2 jest droga kropelkowa i zakaźnego aerozolu, za pomocą której dochodzi do inhalacji cząsteczek wirusa do nosogardzieli lub bezpośrednio do pneumocytów, w wyniku czego dochodzi do replikacji wirusa i infekcji [39]. W zakażeniu drogą kropelkową największe znaczenie ma bliski kontakt z osobą zakażoną oraz ilość wirionów zdolnych do replikacji w materiale zakaźnym [40]. Rzadziej, do zakażenia może dochodzić drogą powietrzną na przykład w źle wentylowanym pomieszczeniu czy też zatłoczonych miejscach. Ryzyko jest znacznie mniejsze na otwartej przestrzeni, gdzie współczynnik przenoszenia może sięgać nawet mniej niż 1% [41]. Koronawirus może zostać przeniesiony pośrednio poprzez dotknięcie zanieczyszczonej powierzchni lub przedmiotu przed dotknięciem ust, nosa lub oczu, jednak istnieją mocne dowody na to, że nie przyczynia się to znacząco do nowych infekcji [42, 43]. Materiałem zakaźnym oprócz wydzieliny z dróg oddechowych, może być również kał, mocz, łzy, nasienie, krew oraz płyn mózgowo-rdzeniowy [44]. Możliwa jest również transmisja okołoporodowa przez łożysko, jednakże tak samo jak w przypadku przenoszenia wirusa SARS-CoV-2 od dawcy do biorcy podczas transplantacji, ilość danych jest ograniczona. [45, 46].

1.2.3. Cechy epidemiologiczne wirusa SARS-CoV-2

Okres wylęgania zazwyczaj mieści się w zakresie 1-14 dni (średnio 6 dni) [47]. Różni się on jednak pomiędzy wariantami i czas ten skracał się od wariantu Alpha do wariantu Omicron. Należy jednak pamiętać, że samo ozdrowienie nie jest równoznaczne z brakiem wirusa,

gdyż materiał RNA można stwierdzić nawet ponad 20 dni po ustąpieniu objawów choroby, ale cząsteczka wirusa jest wtedy niezdolna zarówno do replikacji i zakażenia [48]. Zakaźność otoczenia jest największe tuż przed wystąpieniem objawów klinicznych i w pierwszych dniach po nim, istotnie malejąc do 7 doby, dlatego możliwe jest zakażenie jeszcze przed wystąpieniem objawów [49]. W niektórych przypadkach, szczególnie u pacjentów leczonych lekami immunosupresyjnymi, bądź posiadającymi ciężki przebiegu COVID-19, pacjent może posiadać wirusa nawet przez kilka tygodni od wystąpienia pierwszych objawów [50]. Nie należy tym samym oceniać obecność wirusa celem uznania osoby za niezakaźną. COVID-19 ewoluował poprzez transformację w czynniku sprawczym - SARS-CoV-2 [51]. W ciągu ponad trzech lat pandemii SARS-CoV-2 rozwinął się w liczne linie w wyniku rekombinacji, presji selekcyjnej i mutacji punktowej. Mutacje te mogą mieć wpływ na rozprzestrzenianie się choroby, skuteczność leczenia i procesy diagnostyczne [52]. Co więcej, każda nowo powstała odmiana następująca po oryginalnym szczepie z Wuhan stwarza ryzyko obejścia monitorowania immunologicznego, co może prowadzić do dużej lub być może całkowitej utraty skuteczności obecnie dostępnych szczepionek. W maju 2021 r. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) przypisała proste etykiety w celu identyfikacji wariantów na podstawie właściwości mutacji genomowych, możliwości przenoszenia, ciężkości choroby oraz unikania szczepionki lub odpowiedzi na leczenie: warianty będące przedmiotem zainteresowania (VOI), warianty budzące obawy (VOC), oraz warianty objęte monitorowaniem (VUM) [53, 54]. Poprzednie wersje, w tym Alpha, Beta, Gamma, Delta i Omicron, zostały uznane za VOC. Musimy zrozumieć profile mutagenne podwariantów grup VOI i VOC, ponieważ nawet niewielkie mutacje mogą skutkować rozwojem nowych lub hybrydowych wariantów, które są wysoce przenoszone.

1.3. Patomechanizm

Początkowo, cząsteczki wirusa są zazwyczaj inhalowane drogą kropelkową/aerozolu do nosogardzieli lub pneumocytów. Łączą się one za pomocą białka S z komórkami nabłonkowymi posiadającymi receptor ACE2 celem wnikięcia do komórki gospodarza [55]. Proces ten wymaga jednak obecności innych białek wirusa, gdzie wiodący udział ma proteaza serynowa TMPRSS2m, dzięki której dochodzi do rozszczepienia białka S i wytworzenia dwóch podjednostek (S1 i S2), co umożliwia pełną fuzję wirusa z komórką gospodarza [56]. Następnie, różne proteinazy uwolnione z wirusa do komórki gospodarza

dokonywać translacji wirusowego RNA, po czym zachodzi proteoliza białek niestrukturalnych wirusa, translacja i replikacja wirusowego RNA. Na końcu cały materiał genetyczny wirusa jest pakowany do nowopowstałych wirionów. Kompletny wirion opuszcza komórkę gospodarza, uszkadzając ją [57]. W trakcie pierwszych dni, gdy pacjent jest bezobjawowy, odpowiedź immunologiczna jest ograniczona [58]. U około 80% pacjentów choroba przebiega łagodnie, natomiast u pozostałej części dochodzi jednak do progresji [59]. W wyniku przemieszczania się wirusa przez drogi oddechowe i kontaktu z komórkami układu odpornościowego dochodzi do wydzielania różnych cytokin i chemokin, w tym m.in. IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-17, IL-18, IL-31, IL-33, TNF-alfa, IFN-beta, IFN-gamma, TGF-beta, MIG, IP-10, MCP-1, MIP-1, BLC, co doprowadza do powstania burzy cytokinowej [60]. Zazwyczaj około dziewiątego dnia od zakażenia rozwija się zapalenie płuc i wskutek przybycia i aktywacji różnych komórek, takich jak neutrofile, limfocyty T pomocnicze i cytotoksyczne, dochodzi do uszkodzenia komórek pneumocytów typu I i II. Prowadzi to do rozległego uszkodzenia pęcherzyków płucnych i rozwinięcia się ostrej niewydolności oddechowej (ARDS). Ciężkie zapalenie płuc jest konsekwencją przebudowy zwłóknieniowej i wtórnego mikroniedokrwienia zrazikowego, co prowadzi do charakterystycznej postaci zwłóknienia śródmiąższowego płuc [60]. Wtórnie, przy długim przebiegu pojawia się limfopenia i anergia limfocytów T wynikająca z wyczerpania [61,62]. Ze względu na zróżnicowane rozmieszczenie receptorów ACE2 w ludzkim organizmie, wirus może przenikać do komórek wielu różnych układów i narządów. Należą do nich m.in. Białko ACE2 występuje w komórkach wielu tkanek i narządów ludzkiego ciała, w tym serca, nerek, jąder, jelit, jajników i płuc. ACE2 jest również obecny w komórkach śródbłonna wyściełających naczynia krwionośne i odgrywa ważną rolę w regulacji wielu funkcji sercowo-naczyniowych [63]. W wyniku tego, nie tylko w układzie oddechowym dochodzi do zmian, lecz stwierdzone w przebiegu COVID-19 jest również: rozległe uszkodzenie śródbłonna naczyniowego, rozległa mikroangiopatia, zapalenie mięśnia sercowego, zakrzepicę i zatorowość, ostre uszkodzenie nerek, choroby przewodu pokarmowego, ketozę, hiperglikemię, powikłania neurologiczne, powikłania oczne, objawy dermatologiczne, nieprawidłowości kardiologiczne, zawał mięśnia sercowego, dysfunkcja, ostry zespół wieńcowy, zespoły dysfunkcji wielonarządowych czy też powikłania neurologiczne [64, 65].

Znajomość patomechanizmu jest kluczowa w przewidywaniu przebiegu COVID-19, jego powikłań, czy w poszukiwaniu laboratoryjnych czynników rokowniczych ciężkiego przebiegu COVID-19, które ze względu na złożony patomechanizm i szeroką dostępność receptorów ACE2 mogą być związane z wieloma procesami.

1.4. Obraz kliniczny

W porównaniu z wirusami SARS-CoV oraz MERS-CoV, wirus SARS-CoV-2 jest mniej wirulentny, posiada mniejszy wskaźnik śmiertelności, lecz jest znacznie bardziej zakaźny, co czyni go wyjątkowo niebezpiecznym [66, 67]. Infekcja wirusem SARS-CoV-2 może prezentować szeroki zakres objawów, zaczynając od bezobjawowego lub skąpo objawowego przebiegu, po wielonarządową niewydolność z towarzyszącym zespołem ostrej niewydolności oddechowej (ARDS). W większości jednak, bo u ponad 80% pacjentów przebieg zakażenia jest łagodny, a objawy ustępują w ciągu 1-2 tygodni [68]. Niestety, u prawie 15% pacjentów może rozwinąć się ciężki przebieg, a u kolejnych 5% pacjentów dochodzi do dalszej progresji objawów i wystąpienia ostrej niewydolności oddechowej, wstrząsu i niewydolności wielonarządowej [69]. W ogólnej populacji śmiertelność sięga około 1%, a wśród chorych hospitalizowanych odsetek ten jest większy, sięgający nawet ponad 37% w oddziałach intensywnej terapii [70 – 72]. Te dane jednak ciągle się zmieniają, gdyż nowe warianty cechują się częściowo odmiennym przebiegiem i charakterem objawów, jak na przykład wariant Omicron, który charakteryzuje się łagodnym przebiegiem w 98% przypadków [73]. Na te dane wpływa wiele zmiennych, między innymi status wyszczenia populacji, dostęp do opieki zdrowotnej, wiek pacjentów, gęstość zaludnienia, czy obecność chorób współtowarzyszących [74, 75].

Typowe objawy choroby COVID-19 obejmują: gorączkę (64,6%), kaszel (53,6%), zmęczenie (29,4%), bóle mięśni (18,7%), bóle stawów (7,5%), duszność (19,8%), zmienione poczucie smaku i/lub zapachu (17,4%), ból gardła (12,4%), ból głowy (11%), katar (7%), kichanie (4,4%), odkrztuszanie płwociny (23,4%) [76]. Rzadziej można stwierdzić ucisk i/lub ból w klatce piersiowej, złe samopoczucie, zawroty głowy, dezorientację, objawy żołądkowo-jelitowe, objawy skórne, objawy oczne, skłonność do krwawień czy też zaburzenia słuchu [76, 77]. W badaniu przedmiotowym można przede wszystkim stwierdzić trzeszczenia i/lub rżenia nad polami płucnymi (w przypadku zapalenia płuc),

rzadziej może być obecna tachykardia, tachypnoe, czy cechy sinicy. Objawy również różnią się w zależności od wariantu i dla przykładu najnowszy i obecnie najbardziej rozpowszechniony Omicron charakteryzuje się częstszymi objawami z górnych dróg oddechowych niż wariant Delta [78]. Natomiast wariant Delta cechował się znacznie częstszym występowaniem bólu głowy, gorączki, zawrotów głowy, „mgły mózgowej” czy utratą węchu niż wariant Omicron [79]. W przypadkach COVID-19 mogą występować również inne objawy, co wskazuje na szeroki zakres manifestacji tej choroby. Dlatego niezbędne jest przeprowadzenie testów molekularnych i/lub antygenowych w celu potwierdzenia diagnozy, ponieważ brakuje objawów charakterystycznych dla tej choroby. Obraz kliniczny jest zależny od wieku, gdyż u dzieci objawy są zwykle rzadsze i bardziej łagodne, a prawdopodobieństwo rozwinięcia się ciężkiej choroby jest u nich mniejsze niż u dorosłych [80, 81]. Jednymi z najpoważniejszych następstw choroby może być wieloukładowy zespół zapalny dzieci (MIS-C) i rzadziej, dorosłych (MIS-A) [82]. Wśród ciężkich powikłań pulmonologicznych należy wymienić ostrą niewydolność oddechową (ARDS) [83]. Również w obrębie układu sercowo-naczyniowego dochodzi nierzadko do powikłań i wśród nich najczęściej stwierdzane są zaburzenia rytmu serca, uszkodzenie mięśnia sercowego, ostry zespół wieńcowy i niewydolność serca [84]. Nierzadko u hospitalizowanych pacjentów obserwuje się ostre uszkodzenie nerek, których wystąpienie znacząco wpływa na śmiertelność [85]. Natomiast do rzadziej występujących powikłań COVID-19 należy: zespół post-COVID, ostre uszkodzenie wątroby, nagłe zatrzymanie krążenia, powikłany przebieg ciąży (w tym poronienie, poród przedwczesny, zakażenie noworodka), wstrząs septyczny oraz powikłania neurologiczne (głównie drgawki, stan padaczkowy, encefalopatia, zapalenie mózgu i zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, zmiany demielinizacyjne, neuropatia obwodowa, parkinsonizm, miopatia, zespół Guillain-Barre-go, demencja) [86 – 91]. Bardzo rzadko obserwuje się natomiast powikłania takie jak: wstrząs septyczny, rozsiane wykrzepianie wewnątrznaczyniowe, odmę opłucnową, zespół uwalniania cytokin, zakażenia grzybicze, ostre uszkodzenie trzustki, pierwotna małopłytkowość immunologiczna, zapalenie tarczycy (w tym również autoimmunologiczne), powikłania gastroenterologiczne (zwiększona aktywność transaminaz, niedrożność jelit, ostre niedokrwienie krezki, krwawienie z przewodu pokarmowego) [92 – 103].

Niestety, w 19% przypadków zakażenie wirusem SARS-CoV-2 wiąże się z koinfekcją zazwyczaj wirusową (najczęściej wirus grypy i RSV), rzadziej bakteryjną (głównie *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*) i grzybiczą (najczęściej *Aspergillus*) [104, 105]. Dlatego u pacjentów o pogarszającym się przebiegu lub nietypowych objawach, należy rozważyć pobranie płwociny oraz krwi celem wykluczenia koinfekcji [106]. Choroba COVID-19 może przebiegać podobnie jak inne infekcje wirusowe, albo przypominać choroby infekcyjne górnych i dolnych dróg oddechowych związane z innymi czynnikami etiologicznymi. W różnicowaniu należy uwzględnić m.in. bakteryjne zapalenie płuc, grypę, chorobę przeziębieniową, zakażenie wirusem RSV, zachłystowe zapalenie płuc, zapalenie płuc wywołane przez *Pneumocystis jirovecii*, bliskowschodni zespół oddechowy (MERS), zakażenie wirusem ptasiej grupy A (N7N9 oraz H5N1), gruźlicę płuc czy też gorączkę neutropeniczną [107, 108].

1.5. Czynniki ryzyka zakażenia i ciężkiego przebiegu COVID-19

Dotychczas zidentyfikowano wiele różnych czynników ryzyka zakażenia i ciężkiego przebiegu COVID-19. WHO i CDC opublikowały niezależnie szeroką listę czynników ryzyka, wśród których należy wymienić przede wszystkim:

- Kontakt z osobą zakażoną – mogą to być przypadki bezobjawowe, jak również objawowe [109];
- Przebywanie w zamkniętych pomieszczeniach – do zakażenia może dochodzić w zamkniętych przestrzeniach w miejscu pracy, zamieszkania lub spędzania czasu wolnego [109];
- Wiek - Ryzyko hospitalizacji i śmierci wzrasta wraz z wiekiem. Choć nie ma dowodów na to, że istnieje konkretny próg wiekowy, w którym ryzyko znacznie wzrasta, to uważa się, że osoby starsze w wieku powyżej 65 lat są narażone na zwiększone ryzyko infekcji i ciężkiego przebiegu choroby (największą częstość występowania ciężkich skutków ubocznych stwierdzono u pacjentów w wieku powyżej 85 lat) [110]. Wśród młodzieży stwierdzono podobną podatność na infekcje jak u dorosłych. Natomiast wykazano, że dzieci mają mniejszą podatność niż pozostałe grupy wiekowe. W przeciwieństwie do dorosłych, dzieci nie wydają się być obarczone większym ryzykiem ciężkiej choroby ze względu na wiek lub płeć.

Dla porównania ryzyko śmierci jest 340 razy wyższe u osób w wieku 85 lat i starszych w porównaniu z osobami w wieku 18–29 lat [111];

- Płeć - wśród mężczyzn ryzyko infekcji, hospitalizacji, ciężkości choroby, przyjęcia na oddział intensywnej terapii i śmierci jest wyższe [112];
- Pochodzenie etniczne - osoby należące do mniejszości rasowych bądź etnicznych mogą być w różnym stopniu narażone na zakażenie i ciężkość choroby. Niektóre badania potwierdzają związek rasy latynoskiej, rasy czarnej, rdzennych mieszkańców Alaski, rdzennych Indian oraz mieszkańców Wysp Pacyfiku, z większym ryzykiem zakażenia i ciężkiego przebiegu COVID-19 [113];
- Pobyt w ośrodkach opieki długoterminowej – osoby przebywające w domach seniorów, zakładach opiekuńczych są bardziej narażeni na zakażenie i ciężki przebieg choroby;
- Obecność chorób współistniejących – jest to bardzo heterogenny czynnik ryzyka, w której można wyszczególnić m.in. takie choroby jak: otyłość (i/lub brak aktywności fizycznej), choroby sercowo-naczyniowe (szczególnie nadciśnienie tętnicze), cukrzyca, przewlekłe choroby układu oddechowego, przewlekła choroba nerek, przewlekła choroba wątroby, choroby onkologiczne (w szczególności nowotwór płuc, ale również pacjenci którzy zakończyli leczenie onkologiczne w ciągu 3 miesięcy przed rozpoznaniem COVID-19), choroby hematologiczne (m.in. nowotwory, anemia sierpowata, talasemia), pacjenci z obniżoną odpornością (wrodzoną, nabytą, związaną z zakażeniem HIV, indukowaną immunosupresją farmakologiczną np. po przeszczepie narządów), choroby naczyniowe naczyń mózgowych (w tym przebyty udar), zaburzenia psychiczne (m.in. depresja, schizofrenia, demencja, uzależnienie od substancji psychoaktywnych), niepełnosprawność (w tym zespół Downa, porażenie mózgowe, wady wrodzone, nadpobudliwość psychoruchowa, niepełnosprawność intelektualna, urazy rdzenia kręgowego) [114]. Wszystkie wspomniane choroby wiążą się z większym ryzykiem wystąpienia i ciężkiego przebiegu COVID-19;
- Cięża – kobiety w ciąży znajdują się w grupie zwiększonego ryzyka wystąpienia ciężkiego przebiegu COVID-19 [115];

- Nikotyzm – czynne palenie papierosów, a nawet zaprzestanie palenia wiąże się z cięższym przebiegiem COVID-19 i koniecznością hospitalizowania w warunkach oddziałów intensywnej terapii zakończonych zgonem [116].
- Innymi, niezależnymi czynnikami ryzyka, które mają mniejsze znaczenie, lecz są wymieniane w literaturze to m.in.: niedobór witaminy D, stosowanie przewlekłe inhibitorów pompy protonowej, choroba Parkinsona, dna moczanowa, dyslipidemia, choroby autoimmunologiczne (np. reumatoidalne zapalenie stawów, nieswoiste choroby zapalne jelit, łuszczyca, choroby zapalne naczyń, stwardnienie rozsiane, choroby tkanki łącznej tj. toczeń rumieniowaty układowy, zespół Sjogrena, twardzina układowa, zapalenie wielomięśniowe i zapalenie skórno-mięśniowe i układu mięśniowo-szkieletowego), choroby tarczycy, okres okołoperacyjny, grupa krwi A i B, czynniki środowiskowe i geograficzne (klimat i szerokość geograficzna, zanieczyszczenie powietrza, obszary wielkomiejskie lub ubogie) [117 – 128].

1.6. Diagnostyka

Pełna diagnostyka zakażenia wirusem SARS-CoV-2 oraz ocena ciężkości choroby opiera się na szerokiej diagnostyce laboratoryjnej i obrazowej.

1.6.1. Identyfikacja wirusa

Wczesne rozpoznanie i szybka diagnoza są niezbędne, aby zapobiec dalszemu rozprzestrzenianiu się choroby i zapewnieniu odpowiedniej opieki medycznej. W razie podejrzenia COVID-19, w szczególności wśród pacjentów z typowymi objawami lub jeśli dana osoba miała kontakt z podejrzanym lub potwierdzonym przypadkiem, należy wykonać test w kierunku zakażenia wirusem SARS-CoV-2 [76]. Należy pamiętać, że u niektórych pacjentów mogą nie występować objawy przedmiotowe lub podmiotowe choroby układu oddechowego przebiegającej z gorączką - choć w większości krajów nie zaleca się już powszechnych badań przesiewowych osób bez objawów. Należy również zachować szczególną ostrożność w przypadku dzieci i młodzieży z ostrymi objawami żołądkowo-jelitowymi i objawami zapalenia serca, gdyż to mogą być jedne objawy zakażenia wirusem SARS-CoV-2 [129]. Celem identyfikacji czynnika etiologicznego

zakażenia wirusem SARS-CoV-2 należy rozważyć wykonanie testu antygenowego lub genetycznego RT-LAMP, bądź RT-PCR.

Badania antygenowe - opierają się o dostępne w badaniu antygeny powierzchniowe wirusa i w praktyce testy te najczęściej wykrywają antygen S. Są dostępne różne metody immunochemiczne, chemiluminescencyjne, czy immunochromatograficzne. Są one mniej czułe niż RT-PCR, lecz wynik testu jest już możliwy nawet po kilkunastu minutach. Wynik dodatni jest zazwyczaj stwierdzany w trakcie wysokiej replikacji wirusa. Wynik ujemny, natomiast, powinien być zweryfikowany metodą molekularną, szczególnie wtedy, gdy istnieje duże ryzyko zakażenia. Zaletą tych testów jest szybkość uzyskiwanego wyniku, dlatego ich szczególne znaczenie obserwujemy w badaniach przesiewowych dużej grupy pacjentów lub tam, gdzie ważne jest pilne włączenie odpowiednich środków kontroli i zapobiegania zakażeniom [130];

Badania molekularne – metoda polega na wykrywaniu materiału genetycznego wirusa. Jako złoty standard uznaje się reakcję odwrotnej transkrypcji i reakcja łańcuchowa polimerazy (RT-PCR), rzadziej można stosować również metody izotermiczne (techniki LAMP). W badaniu molekularnych można stwierdzić obecność różnych białek np. N, E, S, RdRP, ORF1ab i zalecane jest wykrycie przynajmniej 2 białek typowych dla wirusa, celem postawienia rozpoznania. Materiałem do badania jest zazwyczaj wymaz z nosogardzieli, rzadziej aspirat tchawiczy (TTA), popłuczyny oskrzelowo-pęcherzykowe (BAL), nieindukowana plwocina czy też ślina. Wynik powinien być dostępny w czasie nieprzekraczającym 1 doby (lecz w trakcie trwania pandemii i niewystarczającym zasobów diagnostycznych okres ten mógł być wydłużony). Ze względu na wysoką czułość, nie zaleca się wykonywania powtórnie testu, chyba że istnieje duże prawdopodobieństwo zakażenia stwierdzone na podstawie obrazu klinicznego pacjenta, stwierdzono nasilenie objawów klinicznych ze strony układu oddechowego, lub istnieje możliwość pobrania materiału z dolnych dróg oddechowych. Trzeba brać pod uwagę również dość istotną zmienność genetyczną wirusa, dlatego Światowa Organizacja Zdrowia zaleca badanie przesiewowe najpierw pod kątem białka E, a następnie białka RdRp. Lepiej jest mieć co najmniej jeden obszar chroniony i jeden unikalny region w celu ochrony przed skutkami dryfu genetycznego, co jest szczególnie istotne, gdy wirus rozwija się w nowej populacji [131].

Badania serologiczne oznaczanie swoistych przeciwciał w klasie IgG i IgM należy traktować uzupełniająco (wyjątek PIMS-TS). Samo oznaczenie IgG należy rozważyć celem populacyjnych badań epidemiologicznych i w ramach oceny odpowiedzi poszczepiennej u osób z niedoborami odporności lub podczas leczenia immunosupresyjnego. Ze względu na powszechność szczepień przeciwko wirusowi SARS-CoV-2, przeciwciała mogą być obecne nie tylko u osób, które miały kontakt z wirusem, ale również u osób zaszczepionych. Biorąc pod uwagę badania serologiczne, w którym dochodzi do różnicowania stężenia przeciwciał anty-S i anty-N, można w przybliżeniu domniemywać status immunologiczny pacjenta, gdyż przeciwciała anty-S pojawiają się zarówno po szczepieniu, jak i przechorowaniu, natomiast anty-N wyłącznie po przechorowaniu pacjenta [131, 132].

Ze względu na samoograniczający się charakter replikacyjny wirusa, nie zaleca się wykonywania testów stwierdzających eradykację, a jako okres zakaźności uznaje się zazwyczaj 7-10 dni od wystąpienia objawów [133]. Powyżej tego okresu istnieje możliwość ciężkiego przebiegu COVID-19 związanego z burzą cytokinową, niż bezpośrednią reakcją organizmu na przetrwałe wiriony w komórkach organizmu [134].

1.6.2. Odchylenia w diagnostyce laboratoryjnej, obrazowej oraz ocena ciężkości przebiegu COVID-19

W obliczu wysokiego zagrożenia wirusem, jego szybkiej transmisji i nadmiernego obciążenia systemów ochrony zdrowia na całym świecie, kluczowym wyzwaniem od początku pandemii stała się szybka identyfikacja osób narażonych na ryzyko ciężkiego przebiegu COVID-19. Celem jest umożliwienie natychmiastowej interwencji medycznej, zwłaszcza gdy systemy ochrony zdrowia są nadmiernie obciążone, a konieczna jest skuteczna priorytyzacja dostępu do usług medycznych dla tej grupy chorych. Wśród badań, które pozwalają na oszacowanie ciężkości zakażenia, rozległości zmian oraz ocenić ryzyko ciężkiego przebiegu COVID-19 można wymienić między innymi badania laboratoryjne, badania obrazowe i pomiary wydolności oddechowej organizmu (gazometria, saturacja tlenu):

- Badania laboratoryjne: zazwyczaj w morfologii stwierdzana jest limfopenia, leukocytoza, leukopenia, małopłytkowość, zmniejszona liczba eozynofiliów;

niedokrwistość. W badaniach biochemicznych z odchyień widoczne są: podwyższona aktywność enzymów wątrobowych; dehydrogenazy mleczanowej; podwyższone stężenie bilirubiny całkowitej; kreatynina i mocznika w surowicy; hipoalbuminemia; różne zaburzenia elektrolitowe (w tym zazwyczaj hipokaliemię i hiponatremię) [62, 135, 136]. Markery stanu zapalnego mogą być również podwyższone: w tym CRP, prokalcytonina (co utrudnia różnicowanie z infekcjami bakteryjnymi), IL-6 i ferrytyna [137, 138]. Nieprawidłowości są również stwierdzane w panelu czynnościowym tarczycy (podwyższone TSH; niski poziom wolnego T3 lub T4) [139]. Często obecne są zaburzenia krzepnięcia krwi, a do najczęstszych należy: podwyższone stężenie D-dimeru, wydłużony czas protrombinowy, podwyższony fibrynogen, wydłużony INR [140]. Wśród biomarkerów sercowych możliwe jest podwyższone stężenie kinazy kreatynowej mięśnia sercowego, peptydu natriuretycznego B, N-końcowego fragmentu peptydu natriuretycznego typu B i troponiny sercowej [141]. Podwyższonych parametrów może być znacznie więcej, w tym w szczególności cytokiny i chemokiny prozapalnych biorące udział w burzy cytokinowej. Natomiast nawet 62% pacjentów o bezobjawowym przebiegu może mieć prawidłowe parametry laboratoryjne [142].

- RTG klatki piersiowej: niezbędna metoda diagnostyczna, która powinna być przeprowadzona u wszystkich pacjentów, celem potwierdzenia bądź wykluczenia zakażenia dolnych dróg oddechowych wirusem SARS-CoV-2. U około 74% pacjentów w momencie rozpoznania na zdjęciu RTG klatki piersiowej stwierdza się nieprawidłowe wyniki. Najczęstsze nieprawidłowości to zmętnienie typu matowej szyby i zagęszczania w tkance płucnej. Czasami u pacjentów zakażonych COVID-19 widoczne jest również nieregularne międzyzrazikowe pogrubienie opłucnej i wysięk w jamie opłucnej [143].
- TK klatki piersiowej: charakteryzuje się większą czułością w wykrywaniu zmian zapalnych w porównaniu z RTG klatki piersiowej. Zazwyczaj zmiany występują obustronnie i rozmieszczają się obwodowo, głównie w dolnych płatach płuc. Opisuje się to jako zacienienie o charakterze typu matowej szyby, zagęszczenia śródmiąższowe, możliwe wystąpienie objawu odwróconego halo, czasami również występowanie zmian guzkowych, tworzenie jam, powiększenie węzłów chłonnych

oraz obecność płynu w jamie opłucnej [144]. Nieprawidłowe wyniki tomografii komputerowej klatki piersiowej zgłoszono u aż 97% hospitalizowanych pacjentów [145].

- **USG płuc:** ultrasonografia tkanki płuc pozwala stwierdzić zmiany mięszone płuc i ich ewentualną dynamikę. Najczęściej stwierdzane są linie B. W ultrasonografii można również stwierdzić pogrubienie linii przegrodowych, ogniska konsolidacyjne, wysięk opłucnowy, bronchogram powietrzny i odmę opłucnową [146]. Badanie ultrasonograficzne jest czułe, ale nie swoiste w diagnostyce COVID-19. Dlatego badanie ultrasonograficzne może mieć większą użyteczność w wykluczaniu Covid-19 niż w odróżnianiu go od innych przyczyn chorób układu oddechowego [147]. Może być również przydatny przy segregacji pacjentów na oddziale ratunkowym [148].
- **Echokardiografia:** dedykowane badanie w przypadku stwierdzenia zapalenia mięśnia sercowego w przebiegu COVID-19, dzięki której można ocenić zaburzenia kurczliwości mięśnia sercowego [149].
- **Saturacja krwi tętniczej:** pulsoksymetria może ujawnić niedotlenienie/hipoksemię (tj. nasycenie tlenem do 94% lub do 88% w przypadku przewlekłej choroby płuc), są to jednak bardzo sztywnie ustawione wartości, gdyż na wynik saturacji wpływa wiele zmiennych np. słabe krążenie tętnicze, pigmentacja skóry, grubość skóry, temperatura skóry, aktualne palenie tytoniu, używanie lakieru do paznokci [150, 151]. Saturacja krwi tętniczej często koreluje z pogorszeniem stanu klinicznego pacjenta i progresją choroby w obrębie dróg oddechowych [152].
- **Gazometria:** W celu oceny nasilenia choroby, stopnia niewydolności oddechowej lub ustalenia priorytetów pacjenta do przyjęcia na oddział intensywnej terapii, konieczne jest przeprowadzenie gazometrii. W wynikach tej analizy można zauważyć głównie niskie ciśnienie parcjalne tlenu, gromadzenie się dwutlenku węgla oraz cechy kwasicy [153].
- **Posiew:** należy pobierać próbki krwi i płwociny do posiewu od pacjentów z ciężką lub krytyczną chorobą, aby wykluczyć inne przyczyny infekcji dolnych dróg oddechowych i posocznicy, zwłaszcza u pacjentów z nietypowym wywiadem

epidemiologicznym. Jeśli to możliwe, próbki należy pobrać przed rozpoczęciem empirycznego podawania antybiotyków [154].

- Histopatologia tkanki płucnej: w biopsji tkanki płucnej można zaobserwować nacieki jednojądrzastych komórek zapalnych w przestrzeniach śródmiąższowych, błony szkliste i zniszczone pneumocyty. Taki obraz sugeruje występowanie patologii związanej z obecnością wirusa [155].

1.6.3. Biomarkery prognostyczne w COVID-19

Uwzględnienie samych czynników ryzyka nie daje jasnej odpowiedzi na temat możliwego ciężkiego przebiegu choroby. Celem oceny pacjentów z COVID-19 od początku pandemii poszukiwano różnych markerów laboratoryjnych, które pomogłyby oszacować wyjściowe ryzyko ciężkiego przebiegu i w progresji choroby, konsekwencji intensyfikacji terapii lub też hospitalizacji w warunkach intensywnej terapii. Biomarker opisuje się jako molekułę, którą można obiektywnie zmierzyć i ocenić jako wskaźnik normalnych procesów biologicznych i patologicznych lub reakcji farmakologicznych na interwencję terapeutyczną [156]. Biomarkery w COVID-19 mogą mieć znaczenie w następujących obszarach: wczesne wykrycie choroby, ocena ciężkości choroby, identyfikacja wysokiego ryzyka, właściwy dobór terapii, ocena odpowiedzi na terapię oraz prognozyka stanu i wyników pacjenta. Do pierwszego odkrycia możliwych biomarkerów wymagana jest solidna praktyczna wiedza z zakresu patofizjologii, która obejmuje świadomość tego, co wirus robi z organizmem i jak organizm na niego reaguje. Ze względu na różnorodny charakter choroby COVID-19, który nie ogranicza się wyłącznie do układu oddechowego, poszukuje się markerów diagnostycznych z różnych układów, które posiadałyby największe predyspozycje diagnostyczne oraz prognostyczne.

Wśród powszechnie dostępnych metod laboratoryjnych, które szacują ciężki przebieg COVID-19 można wymienić między innymi: stężenie D-dimerów powyżej 1000 ng/ml, białka CRP powyżej 100 mg/l, dehydrogenazy mleczanowej powyżej 245 U/l, troponin sercowych powyżej 2X górnej granicy wartości referencyjnych, kinazy kreatynowej powyżej 2X górnej granicy wartości referencyjnych, ferrytyny powyżej 500 µg/l oraz limfopenii poniżej 800/µL [157]. W wielu badaniach opisano zróżnicowane poziomy różnych prozapalnych i przeciwzapalnych cytokin, chemokin i innych białek

w surowicy ciężko chorych pacjentów z COVID-19 i zaproponowano ich zastosowanie jako biomarkerów prognostycznych przebiegu infekcji SARS-CoV-2. Jednak w większości wcześniejszych badań analizowano jedynie kilka lub jeden domniemany biomarker, który często był niewystarczająco dokładny do zastosowania klinicznego [158, 159]. Chociaż wykazano, że szczepienia przeciwko COVID-19 chronią przed poważnymi skutkami choroby, musimy pamiętać, że globalny zasięg szczepień jest ograniczony, występują również spadki odporności, a występowanie nowych odmian wirusa w dalszym ciągu stanowią przeszkody w zapobieganiu, co podkreśla potrzebę skutecznych technik leczenia COVID-19. Wahania polegające na ucieczce spod nadzoru immunologicznego, takie jak różne odmiany wariantu Omicron, również powodują, że większość przeciwciał monoklonalnych stosowanych obecnie w terapii lub profilaktyce poekspozycyjnej u różnych osób z grupy ryzyka ciężkiego przebiegu COVID-19 jest nieskuteczna. Ze względu na niedobór skutecznych terapii przeciwko COVID-19 niezwykle istotny jest wybór czułych i swoistych biomarkerów, które pozwolą na identyfikację pacjentów obarczonych najwyższym ryzykiem rozwoju ciężkiego lub krytycznego przebiegu choroby i zapobieganie jej postępowi poprzez wczesne leczenie.

2. CEL PRACY

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

3. KOPIE OPUBLIKOWANYCH PRAC

The role of the neutrophil-lymphocyte ratio in predicting poor outcomes in COVID-19 patients

Raymond Farah^{1,2} , Rola Khamisy-Farah^{2,3*} , Kacper Dziedzic⁴ , Ewa Skrzypek⁵ ,
Michał Pruc^{6,7} , Nicola Luigi Bragazzi⁸ , Lukasz Szarpak^{4,9} , Mahmoud Jomah² 

¹Department of Medicine B, Ziv Medical Center, Safed, Israel

²Azrieli Faculty of Medicine, Safed, Bar-Ilan University, Israel

³Clalit Health Service, Akko, Israel

⁴Department of Clinical Research and Development, LUXMED Group, Warsaw, Poland

⁵Department of Medical Ethics and History of Medicine, Medical University of Warsaw, Poland

⁶Department of Public Health, International European University, Kyiv, Ukraine

⁷Research Unit, Polish Society of Disaster Medicine, Warsaw, Poland

⁸Department of Mathematics and Statistics, University of York, Toronto, ON, Canada

⁹Henry JN Taub Department of Emergency Medicine, Baylor College of Medicine, Houston, TX, United States

Abstract

Background: This study examines how the neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) predicts coronavirus disease 2019 (COVID-19) hospitalization, severity, length, and mortality in adult patients.

Methods: A study was done using a retrospective, single-center, observational design. A total of 400 patients who were admitted to the Ziv Medical Center (Safed, Israel) from April 2020 to December 2021 with a confirmed diagnosis of COVID-19 through RT-PCR testing were included in the analysis. Two complete blood count laboratory tests were conducted for each patient. The first test was administered upon admission to the hospital, while the second test was conducted prior to the patient's discharge from the hospital or a few days before their death.

Results: Four hundred patients were included in the study, 206 (51.5%) males and 194 (48.5%) females. The mean age was 64.5 ± 17.1 years. In the group of cases, there were 102 deaths, and 296 survivors were recorded, with a fatality rate of 25.5%. The median NLR was 6.9 ± 5.8 at the beginning of hospitalization and 15.1 ± 32.9 at the end of hospitalization ($p < 0.001$). The median length of hospital stay was 9.4 ± 8.8 days. NLR in the fatality group was 34.0 ± 49.9 compared to 8.4 ± 20.4 in the survivor group ($p < 0.001$). Comparison between the NLR at the time of admission of the patient and before discharge/death was 6.9 ± 5.8 vs. 15.1 ± 32.9 ($p < 0.001$).

Conclusions: The analyses conducted revealed a statistically significant correlation between the NLR and the severity, mortality rates, and the duration of hospitalization. The consideration of NLR should commence during the initial phases of the disease when assessing individuals afflicted with COVID-19. (Cardiol J 2024; 31, 3: 374–380)

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2, severity, neutrophil-lymphocyte ratio (NLR)

Address for correspondence: Ewa Skrzypek, PhD, MD, Department of Medical Ethics and History of Medicine, Medical University of Warsaw, ul. Zwirki i Wigury 61, 02–091 Warszawa, Poland, tel: +48604075561, e-mail: ewa.skrzypek@wum.edu.pl

Received: 14.11.2023

Accepted: 7.12.2023

Early publication date: 27.12.2023

*Equally contributed as first author

This article is available in open access under Creative Commons Attribution-Non-Commercial-No Derivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0) license, allowing to download articles and share them with others as long as they credit the authors and the publisher, but without permission to change them in any way or use them commercially.

Introduction

The etiological agent accountable for the global pandemic, initially detected in Wuhan, China, in 2020, has been identified as severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) [1, 2]. Although most patients displayed mild to moderate symptoms and achieved a favorable outcome, a minority of individuals diagnosed with coronavirus disease 2019 (COVID-19) demonstrated severe manifestations such as pneumonia, pulmonary edema, coagulation abnormalities including disseminated intravascular coagulation, acute respiratory distress syndrome, septic shock, or multiple organ failures [3–6]. The severity of these instances required patients to be admitted to the intensive care unit and, in certain cases, led to fatalities [7]. The development of a severe manifestation of COVID-19 primarily occurs as a result of hyperinflammatory responses [8–11]. The process of viral replication occurring at an accelerated rate, resulting in cellular harm and the initiation of inflammatory reactions, serves to attract macrophages and monocytes [12, 13]. These immune cells then proceed to generate cytokines and chemokines, which in turn give rise to cytokine storms and heightened immune responses. The inflammatory response can serve as a means to evaluate the extent and intensity of the disease [11, 14]. The inflammatory response can be used as a diagnostic tool to determine the severity and scope of COVID-19. Serum lactate dehydrogenase [15], ferritin [16], C-reactive protein [17], D-dimer [18], and interleukin-6 are representative examples of inflammatory markers that have demonstrated a robust association with elevated susceptibility to severe COVID-19 [15, 16, 19]. Neutrophils and lymphocytes are integral cellular constituents of the immune system, and their involvement in the pathophysiology of various diseases is of paramount importance [20, 21]. Monitoring the levels of these cells in the bloodstream can yield valuable insights into the health status of patients who are admitted to the hospital. Elevated concentrations of neutrophils in the circulatory system can function as a reliable marker for increased oxidative stress, particularly in populations that are more vulnerable, such as critically ill patients afflicted with COVID-19 [22, 23]. The severity of the disease is exacerbated by the excessive presence of reactive oxygen species, which contribute to lung tissue damage, thrombosis promotion, and impairment of red blood cell functionality [24, 25]. A positive correlation has been observed between reduced

concentrations of lymphocytes and increased levels of oxidative stress. This phenomenon can be attributed to the production of different anti-inflammatory cytokines, including interleukins and interferon-gamma, by lymphocytes [26].

The neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) is a recognized marker for assessing inflammatory responses. It is calculated by dividing the count of neutrophils by the count of lymphocytes, typically obtained from a peripheral blood sample [27]. Extensive research has established the NLR as a supplementary indicator for critical care-associated disorders and systemic diseases. Studies have shown that a high NLR is an efficient predictor of an unfavorable outcome [28, 29]. To maximize the utilization of resources, it is imperative to proactively identify individuals who are more likely to develop severe illnesses. Early identification of warning signs and red flags associated with severe COVID-19 is of paramount importance in facilitating timely intervention, potentially leading to reduced mortality rates, improved recovery rates, and shortened hospitalization periods. The NLR parameter, derived from blood count analysis, holds potential as a noteworthy indicator for the purposes of diagnosing and managing risk stratification. Consequently, the objective of this study is to assess the predictive significance of the NLR in ascertaining the severity, length of hospital stay, and fatality rates among adult patients admitted to the hospital due to COVID-19 by using retrospective data.

Methods

The study was with the Declaration of Helsinki, and ethical approval to proceed with this study was granted by the Hospital Ethical Review Board of the Ziv Medical Center (Safed, Israel; Approval no. 0061-20-16). The requirement for written informed consent from patients was waived because of the study's retrospective nature.

We included 400 patients who were admitted to the hospital with a diagnosis of COVID-19 between April 2020 and December 2021. Patients in the study had to be 18 years of age or older and were admitted to the hospital with a confirmed COVID-19 diagnosis by testing positive for SARS-CoV-2 using RT-PCR. They also had to have a complete blood count (CBC) done within 24 hours of being diagnosed and two CBC lab tests, one when they were admitted to the hospital and the other before they were discharged or a few days before they died. Exclusion criteria included COVID-19

patients who were managed on an outpatient basis or pediatric patients. Clinical information was collected during hospitalization by attending physicians. Patient data, including demographic, clinical, and laboratory data, laboratory examinations, and outcomes were collected from electronic medical records and analyzed. Intrahospital mortality was defined as all-cause mortality during hospitalization.

Venous blood samples were obtained within 24 hours after admission to the Emergency Medicine Department. As an institutional protocol, blood withdrawn from the patients was collected into an EDTA-containing tube for complete blood count evaluation and into a dry tube for biochemical analysis. All the samples collected for analysis were studied within half an hour of the blood withdrawal. White blood count and differential counts were measured. An automatic Coulter analyzer (Beckman Coulter LH 750, Fullerton, CA, USA) was used to count the total number of white blood cells, neutrophils, monocytes, lymphocytes, eosinophils, hemoglobin, platelets, and monocytes.

For categorical variables, summary tables provided the sample size, and absolute and relative frequencies. For continuous variables, summary tables provided the arithmetic mean (M) and standard deviation (SD). Pearson's chi-squared was applied to test the correlations for the categorical parameters. Pearson correlations provided the power of the correlation between the continuous variables. Multiple logistic regression was applied to test the difference between the last status and correlations between the study parameters examined, with adjustments for confounders. A two-sided p-value of 0.05 or less was considered statistically significant. Statistical analysis was performed by using SPSS Statistics, Version 24.0. (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) and Prism software version 8 (GraphPad software, Inc.).

Results

A total of 400 patients who were hospitalized with COVID-19 and had a CBC done within 48 hours of diagnosis were included in this study. In total, 206 (51.5%) of the study participants were males and 194 (48.5%) were females. The mean age was 64.5 ± 17.1 years (range 20–105 years). Full patient characteristics are included in Table 1.

According to CBC analysis, the average total leucocyte count of the study population was $8.4 \pm 12.6/\mu\text{L}$ at the beginning or hospitalization and $11.1 \pm 11.5/\mu\text{L}$ near the end of hospitalization, and the mean platelet count was $207 \pm 94/\mu\text{L}$.

The mean absolute lymphocyte count was $1.6 \pm 6.9/\mu\text{L}$ at the beginning of hospitalization and $2.2 \pm 10.4/\mu\text{L}$ near the end of hospitalization ($p < 0.001$). The mean absolute neutrophil count was $5.7 \pm 3.6/\mu\text{L}$ at the beginning of hospitalization and $8.4 \pm 6.9/\mu\text{L}$ near the end of hospitalization ($p < 0.001$). The median NLR was 6.9 ± 5.8 at the beginning of hospitalization and 15.1 ± 32.9 at the end of hospitalization ($p < 0.001$; Table 2).

The median length of hospital stay was 9.4 ± 8.8 (range 1–64 days). There were 102 (25.5%)

Table 1. Baseline characteristics of the study population.

Variables	
Age [year]	64.5 ± 17.1 , 20–105
Gender:	
Male	206 (51.5%)
Female	194 (48.5%)

Data are shown as mean $\pm$ standard deviation, range, and number (percentage).

Table 2. Laboratory parameters for two measurement periods.

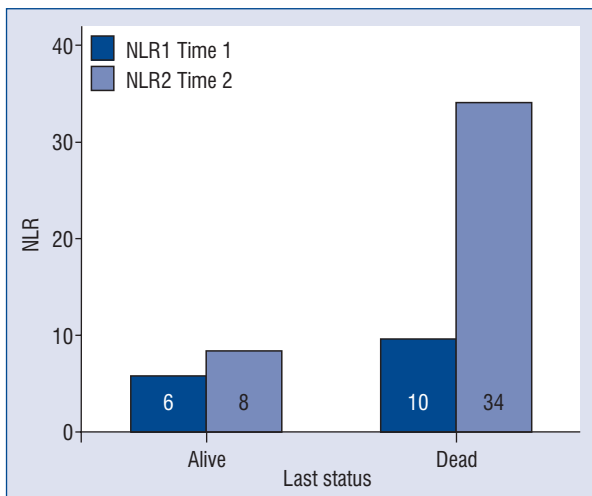
Variables	N	Time 1	Time 2	P-value
Neutrophils	386	5.7 ± 3.6	8.4 ± 6.9	< 0.001
Lymphocytes	386	1.6 ± 6.9	2.2 ± 10.4	< 0.001
NLR	385	6.9 ± 5.8	15.1 ± 32.9	< 0.001
WBC	386	8.4 ± 12.6	11.1 ± 11.5	< 0.001
Hemoglobin [g/dL]	385	12.7 ± 2.1	11.6 ± 2.3	< 0.001
Platelets	383	207 ± 94	246 ± 129	< 0.001
Eosinophils [%]	386	0.48 ± 0.81	0.50 ± 0.84	0.497
Monocytes [%]	386	5.6 ± 4.0	4.9 ± 4.1	< 0.001

NLR — neutrophil-lymphocyte ratio; WBC — white blood count

Table 3. Patient outcomes.

Variables	
Days in hospital	9.4 ± 8.8, 1–64
Last status:	
Alive	296 (74.0%)
Dead	102 (25.5%)
Missing data	2 (0.5%)

Data are shown as mean ± standard deviation, range, and number (percentage)

**Figure 1.** Neutrophil-lymphocyte ratio level (NLR) for two measurements with attention to patient status.

mortalities during the study period, 296 (74%) patients survived the illness, and data were missing for the other 2 patients (Table 3). This analysis showed that there was a significant association between NLR and length of hospital stay and mortality. According to the results, we took the second CBC analysis towards the end of the hospitalization

period and made a correlation between NLR and the final status of the patient; this analysis showed that the mean NLR in the fatality group was 34.0 ± 49.9 compared to 8.4 ± 20.4 in the survivor group, which is statistically significant with $p < 0.001$. This supports our hypothesis, which indicates a correlation between higher NLR and severity of COVID-19 infection and mortality (Table 4).

The following table shows a comparison between the NLR at the time of admission of the patient (Time 1) and before discharge/death (Time 2). According to this analysis, at time 1 the average of NLR was 6.9 ± 5.8 , while at time 2 the average NLR was 15.1 ± 32.9 , which is statistically significant ($p < 0.001$; Fig. 1).

Discussion

COVID-19 is a highly contagious illness that poses a significant and ongoing risk to global public health. The phenomenon under discussion has exhibited rapid proliferation across numerous nations globally. While most patients experience a self-limiting and mild illness, those who develop severe or critical cases exhibit a less favorable prognosis [30]. The binding of SARS-CoV-2 to the ACE2 receptors in the alveoli results in the initiation of an inflammatory response, thereby triggering the release of inflammatory factors [31]. This, in turn, activates the immune system, ultimately culminating in the occurrence of a cytokine storm. A multitude of theoretical frameworks have been posited regarding the immune response of NLR in the context of COVID-19 infection. Neutrophils are integral to the activation of the immune system through the release of reactive oxygen species, which possess the capability to induce damage to cellular DNA [32]. Consequently, this impairment promotes the liberation of viruses from the

Table 4. Laboratory parameters according to last patient status.

Variables	Alive	Dead	P-value
Neutrophils	6.5 ± 4.5	13.6 ± 9.3	< 0.001
Lymphocytes	2.6 ± 12.1	1.0 ± 1.3	< 0.001
NLR	8.4 ± 20.4	34.0 ± 49.9	< 0.001
WBC	9.6 ± 11.6	15.5 ± 1.0	< 0.001
Hemoglobin [g/dL]	12.2 ± 2.0	10.0 ± 2.5	< 0.001
Platelets	269 ± 129	183 ± 103	< 0.001
Eosinophils [%]	0.57 ± 0.88	0.30 ± 0.71	< 0.001
Monocytes [%]	5.1 ± 4.4	4.1 ± 3.0	0.001

NLR — neutrophil-lymphocyte ratio; WBC — white blood count

cells that have been infected. Following this, the viruses that have been released become the focus of immune responses mediated by antibodies. Moreover, neutrophils play a crucial role in the initiation of the production of various cytokines and effector molecules. Nonetheless, it is important to note that while the virus itself activates lymphocytes, systemic inflammation, specifically high levels of interleukin 6, lowers the number of lymphocytes and weakens cellular immunity [33]. Hence, an elevated NLR is suggestive of the extent of inflammation. The findings of our study indicate a statistically significant correlation between disease severity and the mean NLR. Specifically, as the severity of the disease increases, there is a notable increase in the NLR value. Notably, individuals with mild cases of the disease exhibit the lowest NLR values, and they tend to recover from the illness with a shorter duration of hospitalization. Based on our research, the NLR demonstrated reliability in accurately predicting the onset of severe and critical medical conditions at an early stage. Notably, the most substantial discrepancy in average NLR was observed between the group of patients who recovered and those who died from the disease. In support of these findings, a meta-analysis of 20 studies conducted in China demonstrated that the NLR serves as an independent prognostic marker for distinguishing between severe and non-severe cases of COVID-19 [34]. Moreover, the findings of a meta-analysis conducted on individuals diagnosed with COVID-19 indicated that increased levels of NLR upon admission were linked to a significantly elevated risk of mortality, with a relative increase of 174% [35]. Our findings provide further evidence supporting the hypothesis that NLR serves as an economical, reliable, and easily accessible indicator for predicting the severity and fatality of COVID-19. The marker in question is a simple and objective way to show which patients are more likely to get a serious illness and die. Still, it is important to note that even a lower mean NLR can be seen as a worrying rate when applied to different groups, like hospitalized patients. This is because there is a strong link between this NLR level and long-term, low-grade systemic inflammation, which includes diabetes, obesity, heart disease, and kidney and heart disease [36]. Moreover, it is important to highlight that there is a persistent upward trend in the population of individuals who have been vaccinated [37]. It is noteworthy that all currently available vaccines play a pivotal role in eliciting a substantial immune response, thus providing

a means to efficiently control the infection [38]. The efficacy of vaccination in mitigating the transmission and impact of the COVID-19 virus has been well established. The initiation of an immune response through vaccination can lead to two main outcomes: the production of antibodies by specialized cells and the formation of memory B and T cells, which are responsible for maintaining durable immunity against pathogens. After the completion of the entire immunization regimen, including the administration of the booster dose, it is expected that there will be a significant increase in the overall count of lymphocytes [39, 40]. This increase can be attributed to the stimulation of the maturation process of memory B and T cells. Therefore, it is possible that the NLR may not possess significant utility as a laboratory indicator in individuals who have undergone COVID-19 vaccination.

Limitations of the study

This study incorporates certain limitations that need to be acknowledged. Firstly, its scope is confined to a specific population and timeframe, which may influence the generalizability of the results. There is also the possibility of systematic and random errors affecting the data collected and its interpretation. Environmental and genetic variables, which may vary, also contribute to the limitations of this study. The methodology, although carefully selected, may have inherent imperfections impacting the conclusions drawn. The potential interference of other variables, not considered in the study, but which may affect the observed phenomena, should also be taken into account. Lastly, the interpretation of the findings is limited by current scientific knowledge and available technologies, underscoring the need for further research to validate and expand upon these results.

Conclusions

The analyses conducted revealed a statistically significant correlation between the NLR and the severity of disease, mortality rate, and duration of hospitalization. The consideration of NLR should commence during the initial phases of the disease when assessing individuals afflicted with COVID-19.

Article information and declarations

Data availability statement: The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author (E.S.).

Ethics statement: The institutional review board of the Ziv Medical Center (Safed, Israel) approved the analysis (ethical committee ruling number: 0061-20-16).

Author contributions: Conceptualization, R.F., R.K.F., K.D.; methodology, R.F., R.K.F., K.D.; software, N.L.B.; validation, K.D., M.J., L.S.; formal analysis, K.D., N.L.B.; investigation, R.F., R.K.F., M.J.; resources, R.F., R.K.F., M.J.; data curation, K.D., N.L.B., L.S.; writing — original draft preparation, K.D., M.L.B.; writing — review and editing, all authors; visualization, N.L.B.; supervision, R.F., N.L.B., K.D., L.S.; project administration, R.F., R.K.F. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Acknowledgments: Not applicable.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Supplementary material: Not applicable.

References

- Smereka J, Szarpak L, Filipiak K. Modern medicine in COVID-19 era. *Disaster Emerg Med J.* 2020; 5(2): 103–105, doi: [10.5603/demj.a2020.0012](#).
- Dziedziatkowski T, Szarpak L, Filipiak KJ, et al. COVID-19 challenge for modern medicine. *Cardiol J.* 2020; 27(2): 175–183, doi: [10.5603/CJ.a2020.0055](#), indexed in Pubmed: [32286679](#).
- Hernandez Acosta RA, Esquer Garrigos Z, Marcelin JR, et al. COVID-19 pathogenesis and clinical manifestations. *Infect Dis Clin North Am.* 2022; 36(2): 231–249, doi: [10.1016/j.idc.2022.01.003](#), indexed in Pubmed: [35636898](#).
- Katipoğlu B, Sönmez LÖ, Vatansev H, et al. Can hematological and biochemical parameters fasten the diagnosis of COVID-19 in emergency departments? *Disaster Emerg Med J.* 2020; 5(4): 175–181, doi: [10.5603/demj.a2020.0039](#).
- Szarpak L, Pruc M, Filipiak KJ, et al. Myocarditis: A complication of COVID-19 and long-COVID-19 syndrome as a serious threat in modern cardiology. *Cardiol J.* 2022; 29(1): 178–179, doi: [10.5603/CJ.a2021.0155](#), indexed in Pubmed: [34811716](#).
- Dubey L, Dorosh O, Dubey N, et al. COVID-19-induced coagulopathy: Experience, achievements, prospects. *Cardiol J.* 2023; 30(3): 453–461, doi: [10.5603/CJ.a2022.0123](#), indexed in Pubmed: [36588310](#).
- Karim S, Eidizadeh M, Kazemi M, et al. Risk factors related to COVID-19 survival and mortality: a cross-sectional-descriptive study in regional COVID-19 registry in Fasa, Iran. *Disaster Emerg Med J.* 2023, doi: [10.5603/demj.a2023.0017](#).
- Hu B, Huang S, Yin L. The cytokine storm and COVID-19. *J Med Virol.* 2021; 93(1): 250–256, doi: [10.1002/jmv.26232](#), indexed in Pubmed: [32592501](#).
- Nasheda S, Navolokina A, Hrytsan I. Biomarkers levels indicate COVID-19 severity and fatality. *Disaster Emerg Med J.* 2023; 8(2): 122–123, doi: [10.5603/demj.a2023.0007](#).
- Matuszewski M, Afolabi AA, Ilesanmi OS, et al. Associations between Interleukin-4 and COVID-9 severity: A systematic review and meta-analysis. *J Health Soc Sci.* 2022; 7(4): 381–396, doi: [10.19204/2022/SSCT4](#).
- Szarpak L, Nowak B, Kosior D, et al. Cytokines as predictors of COVID-19 severity: evidence from a meta-analysis. *Pol Arch Intern Med.* 2021; 131(1): 98–99, doi: [10.20452/pamw.15685](#), indexed in Pubmed: [33219785](#).
- Fajgenbaum DC, June CH, Fajgenbaum DC, et al. Cytokine storm. *N Engl J Med.* 2020; 383(23): 2255–2273, doi: [10.1056/NEJMr2026131](#), indexed in Pubmed: [33264547](#).
- Knoll R, Schultze JL, Schulte-Schrepping J. Monocytes and macrophages in COVID-19. *Front Immunol.* 2021; 12: 720109, doi: [10.3389/fimmu.2021.720109](#), indexed in Pubmed: [34367190](#).
- Matuszewski M, Szarpak L, Pruc M. A comprehensive review and meta-analysis of the relationships between interleukin-7 levels and COVID-9 severity. *J Health Soc Sci.* 2023; 8(1): 33–44, doi: [10.19204/2023/acmp3](#).
- Fialek B, Pruc M, Smereka J, et al. Diagnostic value of lactate dehydrogenase in COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Cardiol J.* 2022; 29(5): 751–758, doi: [10.5603/CJ.a2022.0056](#), indexed in Pubmed: [35762075](#).
- Szarpak L, Zaczynski A, Kosior D, et al. Evidence of diagnostic value of ferritin in patients with COVID-19. *Cardiol J.* 2020; 27(6): 886–887, doi: [10.5603/CJ.a2020.0171](#), indexed in Pubmed: [33346371](#).
- Symonets Y, Tuboltseva O, Al-Jeabory M, et al. C-reactive protein in COVID-19 patients. *Disaster Emerg Med J.* 2023; 8(2): 124–125, doi: [10.5603/demj.a2023.0012](#).
- Kilic M, Hokenek UD. Association between D-dimer and mortality in COVID-19 patients: a single center study from a Turkish hospital. *Disaster Emerg Med J.* 2022; 7(4): 225–230, doi: [10.5603/demj.a2022.0039](#).
- Ruetzler K, Szarpak L, Ładny JR, et al. D-dimer levels predict COVID-19 severity and mortality. *Kardiol Pol.* 2021; 79(2): 217–218, doi: [10.33963/KP.15830](#), indexed in Pubmed: [33635034](#).
- Selders GS, Fetz AE, Radic MZ, et al. An overview of the role of neutrophils in innate immunity, inflammation and host-biomaterial integration. *Regen Biomater.* 2017; 4(1): 55–68, doi: [10.1093/rb/rbw041](#), indexed in Pubmed: [28149530](#).
- Zhou Y, Zhang M, Wu X, et al. Platelet-albumin-bilirubin score and neutrophil-to-lymphocyte ratio predict intensive care unit admission in patients with end-stage kidney disease infected with the Omicron variant of COVID-19: a single-center prospective cohort study. *Ren Fail.* 2023; 45(1): 2199097, doi: [10.1080/0886022X.2023.2199097](#), indexed in Pubmed: [37051667](#).
- Laforge M, Elbim C, Frère C, et al. Tissue damage from neutrophil-induced oxidative stress in COVID-19. *Nat Rev Immunol.* 2020; 20(9): 515–516, doi: [10.1038/s41577-020-0407-1](#), indexed in Pubmed: [32728221](#).
- Draxler A, Blaschke A, Binar J, et al. Age-related influence on DNA damage, proteomic inflammatory markers and oxidative stress in hospitalized COVID-19 patients compared to healthy controls. *Redox Biol.* 2023; 67: 102914, doi: [10.1016/j.redox.2023.102914](#), indexed in Pubmed: [37832397](#).
- Russo A, Tellone E, Barreca D, et al. Implication of COVID-19 on erythrocytes functionality: red blood cell biochemical implications and morpho-functional aspects. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(4), doi: [10.3390/ijms23042171](#), indexed in Pubmed: [35216286](#).

25. Georgieva E, Ananiev J, Yovchev Y, et al. COVID-19 complications: oxidative stress, inflammation, and mitochondrial and endothelial dysfunction. *Int J Mol Sci.* 2023; 24(19), doi: [10.3390/ijms241914876](https://doi.org/10.3390/ijms241914876), indexed in Pubmed: 37834324.
26. Chen L, Deng H, Cui H, et al. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget.* 2017; 9(6): 7204–7218, doi: [10.18632/oncotarget.23208](https://doi.org/10.18632/oncotarget.23208), indexed in Pubmed: 29467962.
27. Buonacera A, Stancanelli B, Colaci M, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio: an emerging marker of the relationships between the immune system and diseases. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(7), doi: [10.3390/ijms23073636](https://doi.org/10.3390/ijms23073636), indexed in Pubmed: 35408994.
28. Saliccioli JD, Marshall DC, Pimentel MAF, et al. The association between the neutrophil-to-lymphocyte ratio and mortality in critical illness: an observational cohort study. *Crit Care.* 2015; 19(1): 13, doi: [10.1186/s13054-014-0731-6](https://doi.org/10.1186/s13054-014-0731-6), indexed in Pubmed: 25598149.
29. Huang Z, Fu Z, Huang W, et al. Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio in sepsis: A meta-analysis. *Am J Emerg Med.* 2020; 38(3): 641–647, doi: [10.1016/j.ajem.2019.10.023](https://doi.org/10.1016/j.ajem.2019.10.023), indexed in Pubmed: 31785981.
30. Ciccullo A, Borghetti A, Zileri Dal Verme L, et al. GEMELLI AGAINST COVID Group. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and clinical outcome in COVID-19: a report from the Italian front line. *Int J Antimicrob Agents.* 2020; 56(2): 106017, doi: [10.1016/j.ijantimicag.2020.106017](https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106017), indexed in Pubmed: 32437920.
31. Xu Z, Shi L, Wang Y, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med.* 2020; 8(4): 420–422, doi: [10.1016/S2213-2600\(20\)30076-X](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30076-X), indexed in Pubmed: 32085846.
32. Harbort CJ, Soeiro-Pereira PV, von Bernuth H, et al. Neutrophil oxidative burst activates ATM to regulate cytokine production and apoptosis. *Blood.* 2015; 126(26): 2842–2851, doi: [10.1182/blood-2015-05-645424](https://doi.org/10.1182/blood-2015-05-645424), indexed in Pubmed: 26491069.
33. Chan L, Karimi N, Morovati S, et al. The roles of neutrophils in cytokine storms. *Viruses.* 2021; 13(11): 2318, doi: [10.3390/v13112318](https://doi.org/10.3390/v13112318), indexed in Pubmed: 34835125.
34. Chan AS, Rout A. Use of neutrophil-to-lymphocyte and platelet-to-lymphocyte ratios in COVID-19. *J Clin Med Res.* 2020; 12(7): 448–453, doi: [10.14740/jocmr4240](https://doi.org/10.14740/jocmr4240), indexed in Pubmed: 32655740.
35. Simadibrata DM, Calvin J, Wijaya AD, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio on admission to predict the severity and mortality of COVID-19 patients: A meta-analysis. *Am J Emerg Med.* 2021; 42: 60–69, doi: [10.1016/j.ajem.2021.01.006](https://doi.org/10.1016/j.ajem.2021.01.006), indexed in Pubmed: 33453617.
36. Santos HO, Delpino FM, Veloso OM, et al. Elevated neutrophil-lymphocyte ratio is associated with high rates of ICU mortality, length of stay, and invasive mechanical ventilation in critically ill patients with COVID-19: NRL and severe COVID-19. *Immunol Res.* 2023 [Epub ahead of print], doi: [10.1007/s12026-023-09424-x](https://doi.org/10.1007/s12026-023-09424-x), indexed in Pubmed: 37768500.
37. Goel R, Apostolidis S, Painter M, et al. Distinct antibody and memory B cell responses in SARS-CoV-2 naïve and recovered individuals after mRNA vaccination. *Sci Immunol.* 2021; 6(58), doi: [10.1126/sciimmunol.abi6950](https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abi6950).
38. Gozhenko A, Szarpak L, Jaguszewski M, et al. COVID-19 vaccine — third dose, booster dose? What is it and is it necessary? *Disaster Emerg Med J.* 2021; 6(4): 208–209, doi: [10.5603/demj.a2021.0027](https://doi.org/10.5603/demj.a2021.0027).
39. Jarjour NN, Masopust D, Jameson SC. T cell memory: understanding COVID-19. *Immunity.* 2021; 54(1): 14–18, doi: [10.1016/j.immuni.2020.12.009](https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.12.009), indexed in Pubmed: 33406391.
40. DiPiazza AT, Graham BS, Ruckwardt TJ. T cell immunity to SARS-CoV-2 following natural infection and vaccination. *Biochem Biophys Res Commun.* 2021; 538: 211–217, doi: [10.1016/j.bbrc.2020.10.060](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.10.060), indexed in Pubmed: 33190827.

SEX- AND GENDER-SPECIFIC DIFFERENCES IN THE INFLAMMATORY RESPONSE TO COVID-19: THE ROLE OF THE NEUTROPHIL-TO-LYMPHOCYTE RATIO

Kacper Dziedzic¹ , Michal Pruc² , Mazlum Kilic³ , Rohat Ah⁴ , Murat Yildirim^{5, 6} ,
Lukasz Szarpak^{1, 7} , Kamil Safiejko⁸ , Rola Khamisy-Farah^{9, 10} ,
Francesco Chirico¹¹ , Nicola Luigi Bragazzi¹² 

¹Department of Clinical Research and Development, LUX MED Group, Warsaw, Poland

²Department of Public Health, International European University, Kyiv, Ukraine

³Department of Emergency Medicine, Fatih Sultan Mehmet Education and Research Hospital, Istanbul, Türkiye

⁴Department of Emergency Medicine, Kartal Dr. Lütfi Kırdar City Hospital, Istanbul, Türkiye

⁵Department of Psychology, Faculty of Science and Letters, Ağrı İbrahim Çeçen University, Türkiye

⁶Graduate Studies and Research, Lebanese American University, Beirut, Lebanon

⁷Henry JN Taub Department of Emergency Medicine, Baylor College of Medicine Houston, Houston, TX, USA

⁸Research Unit, Maria Skłodowska-Curie Białystok Oncology Center, Białystok, Poland

⁹Clalit Health Services, Akko, Israel

¹⁰Azrieli Faculty of Medicine, Bar-Ilan University, Safed, Israel

¹¹Post-Graduate School of Occupational Health, Università Cattolica del Sacro Cuore, Rome, Italy

¹²Department of Mathematics and Statistics, Laboratory for Industrial and Applied Mathematics (LIAM), York University, Toronto, Canada

ABSTRACT

INTRODUCTION: The neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) is a simple blood test marker used to predict the severity of COVID-19. The study aimed to describe the correlation between neutrophil-to-lymphocyte ratio sex- and gender-specific differences in the inflammatory response to COVID-19.

MATERIAL AND METHODS: This retrospective observational study was conducted with patients diagnosed with COVID-19 in the emergency department of a tertiary hospital between January 1, 2022, and May 31, 2022. The receiver operating characteristic (ROC) area under the curve (AUC) analysis was conducted to verify NLR predictive capacity.

RESULTS: The study population consisted of 47% women and 53% men with a mean age of 72.42 years. Women were significantly older than men on average. At admission, 73% of patients were classified as nonsevere, while 27% were severe. Overall, 63% of patients survived the infection.

CONCLUSIONS: There were slight but not statistically significant differences in neutrophil counts between men and women. However, there were significant differences in lymphocyte counts and the NLR, with women having higher lymphocyte counts and men having higher NLR. The study found very weak correlations between age and neutrophil counts, lymphocyte counts, and NLR, suggesting no strong relationship between age and these variables. Patients with severe disease had higher neutrophil counts and NLR but lower lymphocyte counts compared to nonsevere patients. Survivors had lower neutrophil counts and NLR but higher lymphocyte counts compared to those who did not survive. NLR was a significant predictor of both admission status and survivor status, with ROC AUC values indicating its predictive capacity. These findings highlight the potential importance of NLR as a biomarker in predicting disease severity and survival in patients.

KEYWORDS: biomarkers; inflammation; immune system; COVID-19; sex- and gender-specific differences

Disaster Emerg Med J 2023; 8(4): 234–242

CORRESPONDING AUTHOR:

Kacper Dziedzic

Department of Clinical Research and Development, LUX MED Group, Warsaw, Poland, e-mail: kacper.c.dziedzic@gmail.com

Received: 12.11.2023 Accepted: 26.11.2023 Early publication date: 12.12.2023

This article is available in open access under Creative Commons Attribution-Non-Commercial-No Derivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0) license, allowing to download articles and share them with others as long as they credit the authors and the publisher, but without permission to change them in any way or use them commercially.

INTRODUCTION

The neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) is a biomarker obtained by dividing the count of neutrophils by the count of lymphocytes, both of which are types of white blood cells measured through a routine complete blood count (CBC) test [1, 2]. This ratio, just like the platelet-to-lymphocyte ratio and the lymphocyte-to-monocyte ratio, has gained attention as a potential prognostic and diagnostic tool in various medical conditions, including infections, inflammatory diseases, and cancer [3–6]. It reflects the balance between the innate (neutrophils) and adaptive (lymphocytes) immune responses [7].

In the context of COVID-19, caused by the SARS-CoV-2 virus, the NLR has been studied for its predictive value concerning disease severity and outcomes [8, 9]. During the COVID-19 pandemic, healthcare systems worldwide have been overwhelmed [10], and there has been an urgent need for simple, rapid, and cost-effective methods to stratify patients based on their risk of developing severe disease or complications [11, 12].

The neutrophil-to-lymphocyte ratio fits well into this need due to its ease of calculation from a CBC, a test that is widely available and frequently performed on patients presenting with infections. Elevated NLR values have been associated with a hyperinflammatory state, which is a hallmark of severe COVID-19 [13]. This state can lead to a cascade of complications, including acute respiratory distress syndrome (ARDS), multiorgan failure, and death [14].

Numerous studies have indicated that patients with higher NLR values upon admission or during hospitalization tend to have worse outcomes than those with lower values. The link between these two things is thought to be caused by the neutrophilic inflammatory response and lymphopenia, which is a drop in lymphocytes that happens a lot during viral infections and is especially noticeable in severe COVID-19 cases. By using NLR as a predictor, doctors may be able to find patients who are more likely to get worse quickly. This can help them decide whether to admit them to the hospital or intensive care unit (ICU) and start aggressive therapy [15]. Furthermore, monitoring NLR values over time may provide insights into a patient's response to treatment and disease progression.

Nevertheless, while NLR is promising, it is not without limitations. Stress, smoking, corticosteroid use, and other comorbidities that may affect neu-

trophil or lymphocyte counts can all have an impact on the ratio. Moreover, the threshold values for “high” NLR that correlate with adverse COVID-19 outcomes can vary across populations and individual patient factors, making standardization challenging. It is also essential to consider NLR within the broader context of a patient's clinical presentation and in conjunction with other laboratory markers and imaging findings. Neutrophil-to-lymphocyte ratio should be one component of a multifaceted assessment rather than a standalone indicator. Given the dynamic nature of COVID-19 and the immune response it elicits, ongoing research is crucial to further delineate the role of NLR in COVID-19 [16, 17]. This includes investigating whether interventions that modulate the immune response can impact NLR and, by extension, patient outcomes.

As of March 2023, the world has witnessed several waves of COVID-19, with different variants of the virus causing varying degrees of illness [18, 19]. Vaccination efforts have been successful in reducing the incidence of severe disease, but breakthrough infections and cases in unvaccinated individuals continue to occur. In this evolving scenario, the potential role of NLR as a prognostic tool remains relevant, particularly in regions with limited healthcare resources.

The NLR has emerged as a potential biomarker for predicting the severity of COVID-19. Its predictive value lies in its ability to reflect the inflammatory state of a patient and to be easily derived from a common blood test. While promising, NLR should be used judiciously, in conjunction with other clinical indicators, to inform patient management decisions. Continuous research and validation in diverse populations are necessary to solidify the role of NLR in the management of COVID-19 and possibly other infectious diseases in the future. In this article, the utility of NLR was examined as a predictor of COVID-19 severity in a sample of patients with COVID-19. The study aimed to describe the correlation between neutrophil-to-lymphocyte ratio sex- and gender-specific differences in the inflammatory response to COVID-19.

MATERIAL AND METHODS

The present retrospective observational study was conducted in the Emergency Department of the Kartal Dr. Lütfi Kırdar City Hospital (Istanbul, Türkiye). The institutional review board approved the

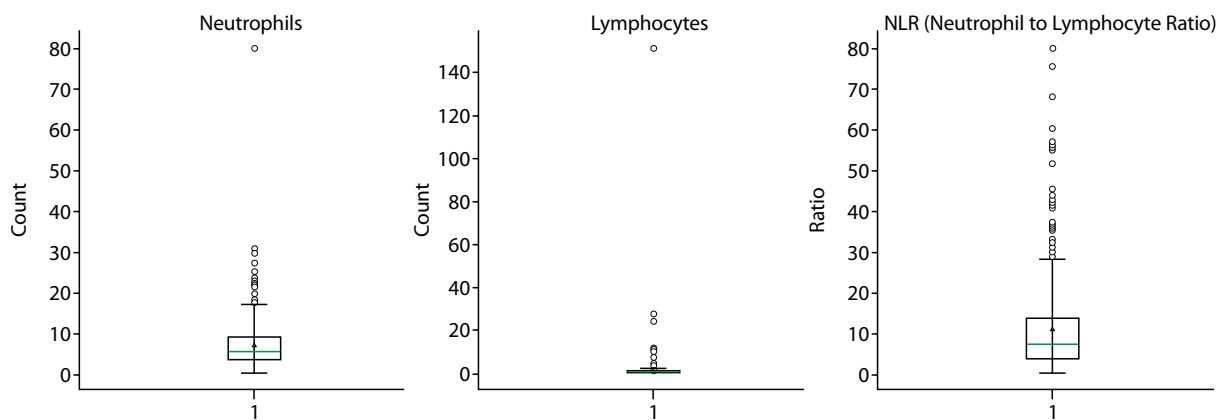


FIGURE 1. Neutrophil, lymphocyte, and neutrophil-to-lymphocyte ratio values in the study population

analysis and granted a waiver of consent (ethical committee ruling number: 2022/514/228/25, date: 30.06.2022). This research included all individuals aged 18 years and older who were diagnosed with COVID-19 and sought medical attention at the emergency department between January 1, 2022, and May 31, 2022. The determination of the COVID-19 diagnostic was made in accordance with the recommendations provided by the World Health Organization (WHO). Data was collected using the digital records of the Hospital Information Management System. When the research participants went to the emergency room, their vital signs, chronic illnesses, and the results of lab tests, such as the levels of neutrophils and lymphocytes, were recorded in a standard way. This information included their age and gender. The study excluded patients who had a negative reverse transcription-polymerase chain reaction test result, patients whose mortality status was unclear, patients who were referred from another institution, and patients for whom neutrophil and lymphocyte levels were unavailable.

Before proceeding with statistical analysis, data were visually inspected for capturing potential outliers. Continuous variables were computed as means and standard deviations, while categorical parameters were calculated as percentages. Student's t-test or its non-parametric version (the Mann-Whitney U test) was used to shed light on eventual differences in terms of sex/gender, age, admission, and survivor status. Receiver operating characteristic (ROC) analysis for verifying NLR's predictive capacity in predicting admission and survivor status.

RESULTS

Out of 513 subjects, 239 (47%) and 274 (53%) were women and men, respectively. Mean age was 72.42 ± 13.46 years [median 74 years (IQR 14)] (Supplementary Fig. 1). Women were slightly older [73.77 ± 14.78 years, median 76 (IQR 16)] than men [71.21 ± 12.16 years (IQR 13)]. This difference was statistically significant ($p=0.00065$).

At the admission, 376 patients (73%) were non-severe, while 137 (27%) were severe; 63% survived the infection, whereas 37% died. Neutrophils, lymphocytes, and NLR were $7.23 \pm 5.83 \times 10^3/\mu\text{L}$, $1.57 \pm 6.97 \times 10^3/\mu\text{L}$, and 9.86 ± 10.60 , respectively (Fig. 1). If in terms of sex/gender, only a borderline difference for neutrophils could be computed ($p = 0.087$), with values slightly higher in men ($7.29 \times 10^3/\mu\text{L}$ vs $7.20 \times 10^3/\mu\text{L}$), sex-specific differences were significant for lymphocytes ($p = 0.00000138$), with values higher in women ($1.96 \times 10^3/\mu\text{L}$ vs $1.20 \times 10^3/\mu\text{L}$), and NLR ($p = 0.0000171$), with values higher in men (11.24 vs 8.42) (Fig. 2).

The Spearman's rho correlation coefficients between age and neutrophils, lymphocytes, and NLR were -0.018765 , 0.034798 , and -0.035239 . These values suggest that there is very little to no monotonic relationship between age and each of the other three variables under study. The correlation coefficients are very close to zero, indicating that as age increases, there is no consistent increase or decrease in the values of neutrophils, lymphocytes, or the NLR that would suggest a strong relationship (Fig. 3).

Stratifying according to admission status, neutrophil levels were higher in severe patients (9.94 vs 6.24 , $p = 1.65 \times 10^{-12}$), while lymphocyte concentrations

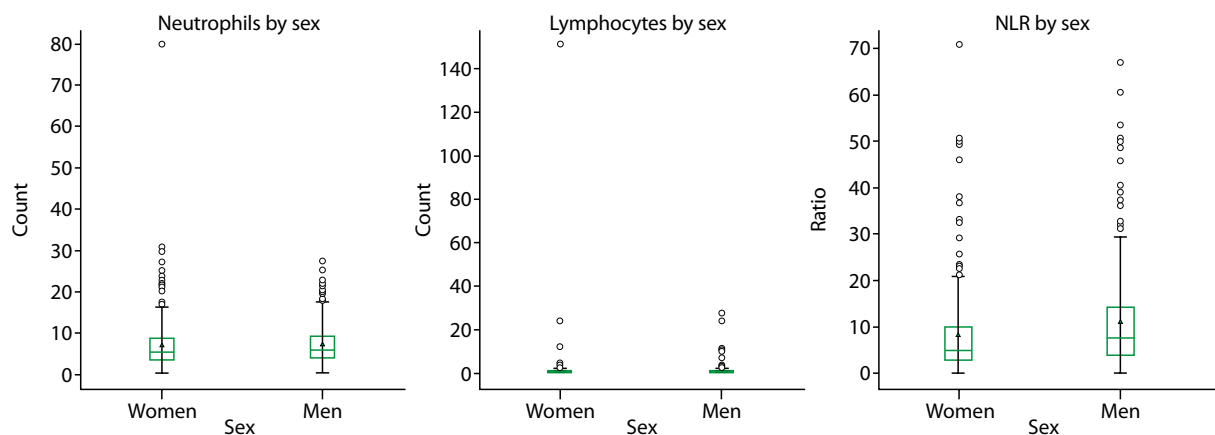


FIGURE 2. Neutrophil, lymphocyte and neutrophil-to-lymphocyte ratio values in the study population stratified by sex/gender

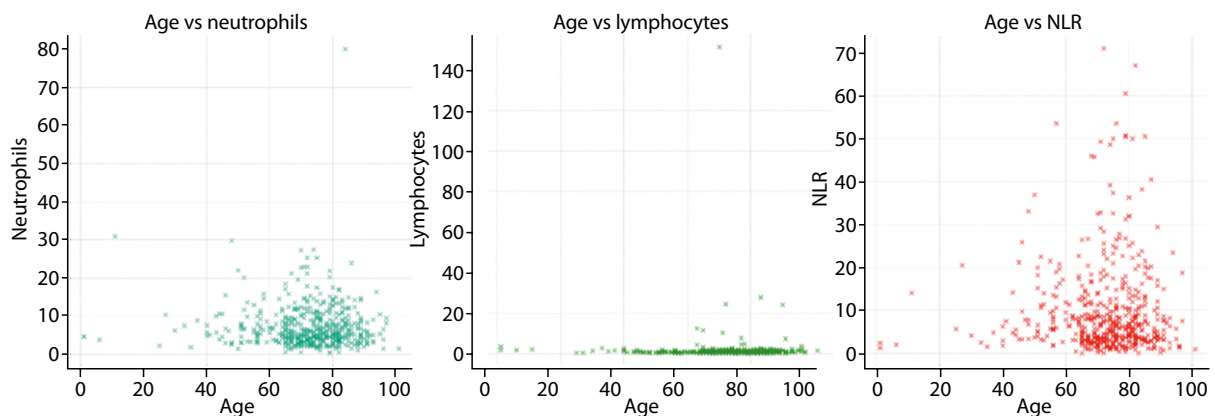


FIGURE 3. Scatterplots showing the lack of correlation between age and neutrophil, lymphocyte levels, and neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) values in the study population

were lower (1.35 vs 2.18, $p = 0.0139$). Neutrophil-to-lymphocyte ratio was elevated in severe individuals (14.81 vs 8.06, $p = 3.94 \times 10^{-9}$), as shown in Figure 4.

Similar trends could be obtained when stratifying based on survivor status. Mean neutrophil levels were lower in survivors (6.31 vs 8.78, 1.82×10^{-10}), while mean lymphocyte concentrations were higher (1.98 vs 1.33, $p = 0.0088$). Mean NLR was significantly elevated in survivors (12.64 vs 8.21, $p = 8.47 \times 10^{-9}$), as shown in Figure 5.

In conclusion, NLR was a significant predictor of admission (with a ROC AUC of 0.76 [95% CI 0.61–0.72]) and survivor status (with a ROC AUC of 0.65 [95% CI 0.60–0.70]), as pictorially reported in Figures 6 and 7.

Stratifying by sex/gender (Fig. 8), the mean ROC AUC value for NLR in predicting admission status was 0.70 in males and 0.64 in females, whilst the ROC AUC value for NLR in predicting survivor status was 0.64 in male subjects and 0.65 in female subjects. While ROC AUC values were higher in men for admission status, they were comparable for survivor status.

Stratifying according to median age (Fig. 9), no impact of age could be detected. Receiver operating characteristic AUC values for NLW in predicting admission (0.67 and 0.66 for older and younger subjects, respectively) and survivor status (0.65 and 0.67) were comparable, without any statistically significant difference.

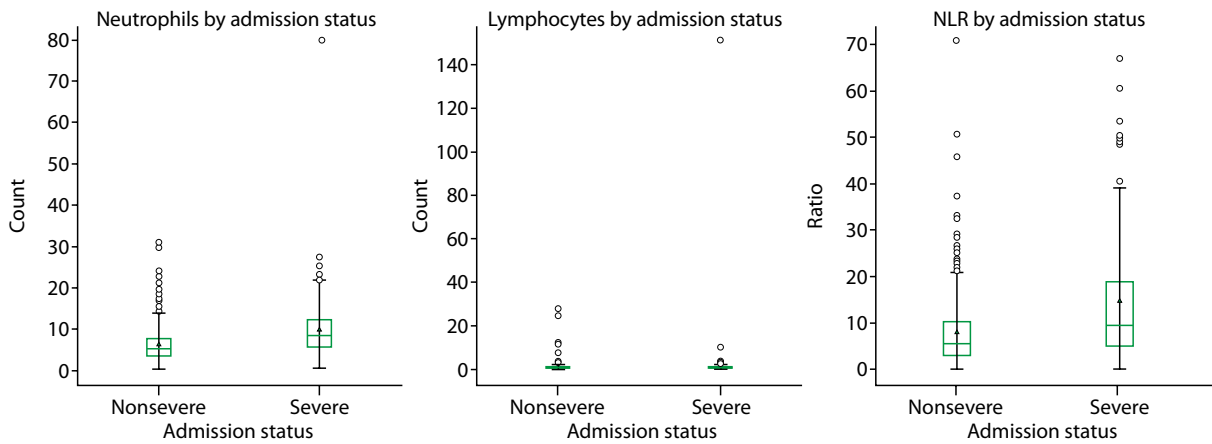


FIGURE 4. Neutrophil, lymphocyte and neutrophil-to-lymphocyte ratio values in the study population stratified by admission status

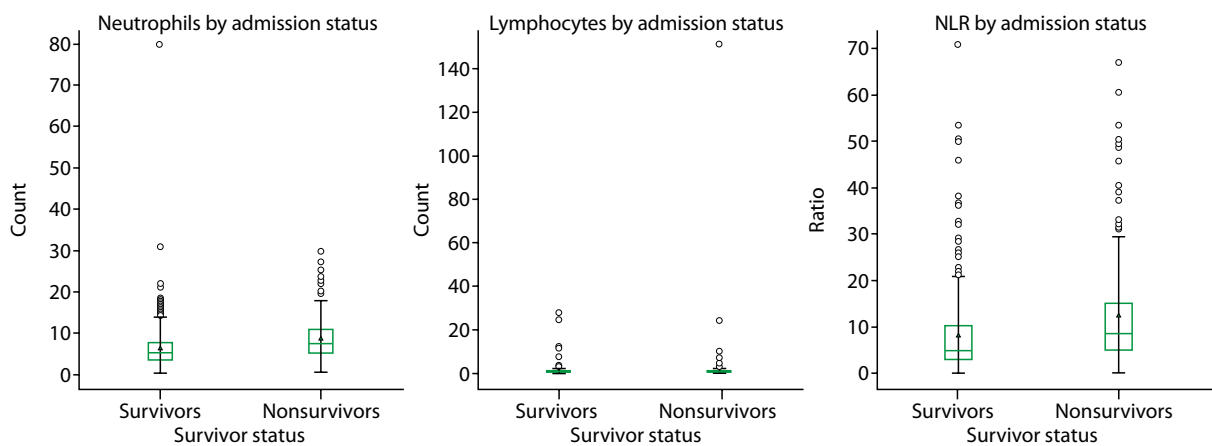


FIGURE 5. Neutrophil, lymphocyte and neutrophil-to-lymphocyte ratio values in the study population stratified by survivor status

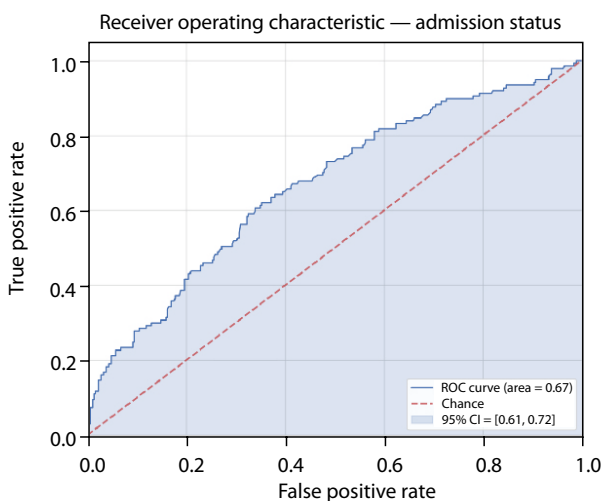


FIGURE 6. Receiver operating characteristic (ROC) analysis for neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) in predicting admission status

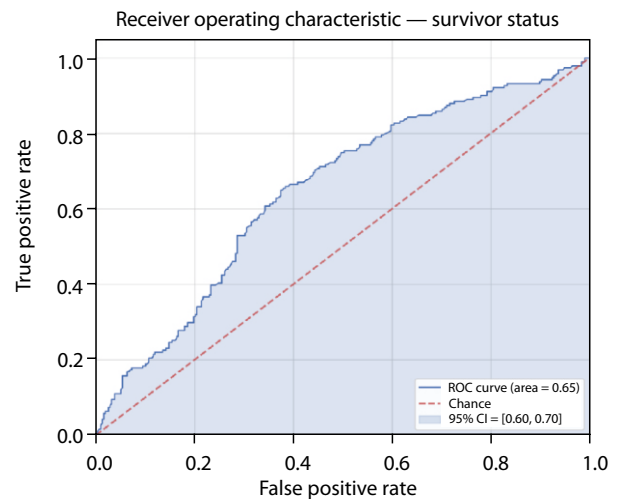


FIGURE 7. Receiver operating characteristic (ROC) analysis for neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) in predicting survivor status

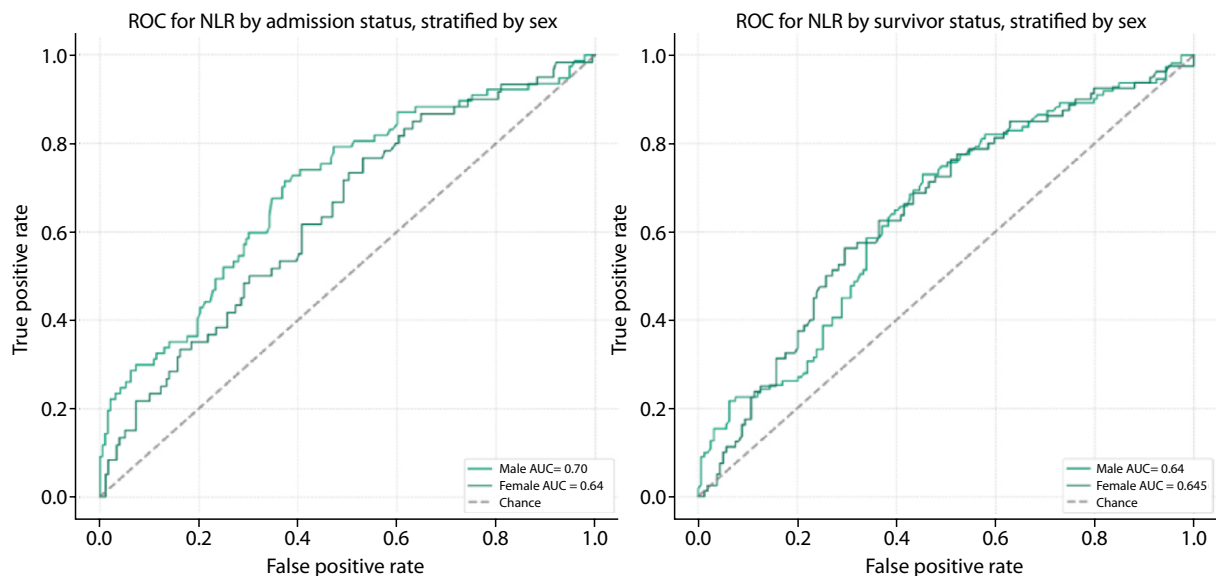


FIGURE 8. Receiver operating characteristic (ROC) analysis for Neutrophil-to-Lymphocyte ratio (NLR) in predicting admission and survivor status stratified by sex/gender; AUC — area under the curve

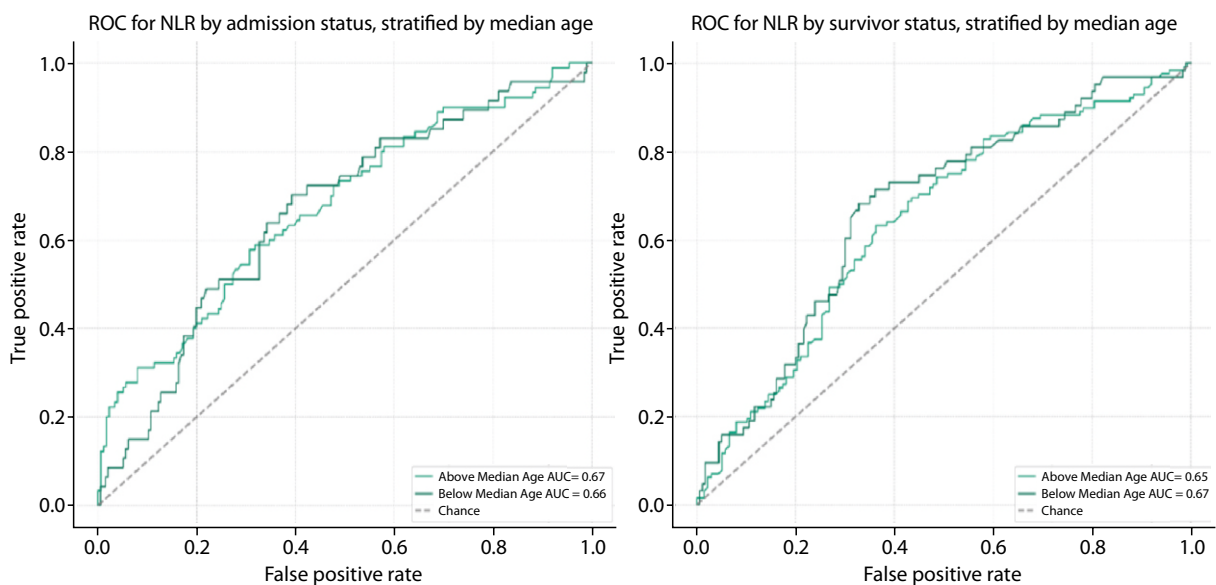


FIGURE 9. Receiver operating characteristic (ROC) analysis for Neutrophil-to-Lymphocyte ratio (NLR) in predicting admission and survivor status stratified by median age; AUC — area under the curve

DISCUSSION

During the COVID-19 outbreak, NLR has emerged as a significant, simple, and cost-effective blood test marker for predicting the severity of COVID-19, reflecting the body's inflammatory response to infection. Higher NLR values indicate an increased risk of severe outcomes. Its utility is especially pronounced in settings with limited resources, but caution is advised when interpreting NLR due to variability across

different populations and other influencing factors. It should be integrated with additional clinical data to inform patient management decisions effectively. The statistical analysis of NLR, using the ROC AUC, validates its predictive ability. In the present study population, with an almost equal representation of women and men and a mean age of over 72 years, findings indicated that women were generally older than men. At the time of hospital admission, the

majority of patients were in a nonsevere condition, and about two-thirds survived their COVID-19 infection. Although there was a slight, non-significant difference in neutrophil counts between sexes, significant differences were observed in lymphocyte counts and NLR — women had higher lymphocyte counts and men had higher NLR. Age showed a very weak correlation with neutrophils, lymphocytes, and NLR, suggesting that age might not be a strong determinant of these measures. When stratifying patients by severity at admission and survivorship, clear patterns emerged: severe patients and non-survivors had higher neutrophils and NLR but lower lymphocytes compared to their counterparts. These trends underscore the value of NLR as a biomarker for assessing disease severity and survival prospects in patients with COVID-19.

The Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio is a measure derived from a standard CBC test [1, 20]. It compares the levels of neutrophils, which increase in response to infection and stress, to lymphocytes, which can decrease in the context of a systemic inflammatory response. A higher NLR thus suggests a body under significant stress from an infection like COVID-19, indicating a possible shift towards a more severe disease state [21]. The predictive power of NLR for COVID-19 severity is particularly valuable because it is a readily available test that can be done quickly and at a low cost, making it accessible even in resource-limited settings [22].

Of note, gender differences were found in the inflammatory response to COVID-19. The present study's findings on the slight differences in neutrophil counts between genders, although not statistically significant, may indicate subtle variances in how men's and women's immune systems react to COVID-19. Significantly higher lymphocyte counts in women and higher NLR in men could point to a more robust inflammatory response in men, which has been observed in other studies. This could be related to hormonal differences or other genetic and immunological factors that influence how each gender responds to infections.

In terms of the correlation between age and inflammatory markers, the very weak correlations between age and the inflammatory markers (neutrophils, lymphocytes, and NLR) suggest that, unlike many other diseases where age is a strong risk factor, age alone does not significantly influence these particular immune response markers in COVID-19 patients [20, 23]. This could mean that the body's

inflammatory response to COVID-19 is similar across different ages or that other factors, such as comorbidities or previous health status, are more important in determining these levels than age itself.

In terms of associations between clinical outcomes and NLR, in patients with severe disease, higher neutrophil counts and NLR and lower lymphocyte counts were observed. This aligns with the understanding that a severe infection can lead to an elevated neutrophil response and lymphocyte depletion, which is reflected in an increased NLR [24]. Conversely, survivors tended to have lower neutrophil counts and NLR but higher lymphocyte counts [22]. This suggests that a balanced immune response with less inflammation (as indicated by a lower NLR) is associated with better outcomes.

As such, NLR can play a key role in clinical decision-making. The present study further reinforces the role of NLR as an integral part of clinical decision-making. Since NLR is associated with disease severity and survival, it could potentially guide interventions, risk stratification, and monitoring. The ROC AUC values for NLR in predicting admission status and survival status show that it has good discriminative ability, although it's not perfect. In clinical practice, NLR should be one of several factors considered when assessing a patient's condition, used in conjunction with other clinical signs, symptoms, and tests.

In terms of implications for healthcare systems, especially those facing resource constraints, NLR offers a practical metric for quickly identifying patients at higher risk of severe disease [25, 26]. This can be crucial for triaging patients, optimizing the allocation of limited resources, and initiating timely treatments that could potentially reduce the risk of adverse outcomes. In conclusion, the results illuminate the utility of NLR in managing COVID-19 by providing a simple and cost-effective tool for assessing disease severity. They also underscore the need for careful interpretation of NLR values, considering the influence of gender, age, and clinical context. As the understanding of COVID-19 evolves, so too will the strategies for utilizing such biomarkers in patient care.

CONCLUSIONS

There were slight but not statistically significant differences in neutrophil counts between men and women. However, there were significant differences in lymphocyte counts and the NLR, with women

having higher lymphocyte counts and men having higher NLR. The study found very weak correlations between age and neutrophil counts, lymphocyte counts, and NLR, suggesting no strong relationship between age and these variables. Patients with severe disease had higher neutrophil counts and NLR but lower lymphocyte counts compared to non-severe patients. Survivors had lower neutrophil counts and NLR but higher lymphocyte counts compared to those who did not survive. NLR was a significant predictor of both admission status and survivor status, with ROC AUC values indicating its predictive capacity. These findings highlight the potential importance of NLR as a biomarker in predicting disease severity and survival in patients.

Article information and declarations

Author contributions

Conceptualization, K.D.; methodology, K.D., M.K., R.A.; software, K.D., N.L.B. and L.S.; validation, M.Y., K.D. and L.S.; formal analysis, K.D., N.L.B.; investigation, M.K. and R.K.; resources, K.D., M.K., R.A.; data curation, K.D., N.L.B. and L.S.; writing — original draft preparation, K.D. and M.L.B.; writing — review and editing, all authors; visualization, K.D., N.L.B., L.S.; supervision, F.C., N.L.B., K.D., and L.S.; project administration, K.D. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding

This research received no external funding.

Institutional review board statement

The institutional review board of the Kartal Dr Lütfi Kırdar City Hospital (Istanbul, Türkiye) approved the analysis (ethical committee ruling number: 2022/514/228/25, date: 30.06.2022).

Informed consent statement

Not applicable.

Data availability statement

The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author (K.D.).

Acknowledgements

The study was supported by the World Academic Council of Emergency Medicine and by the Polish Society of Disaster Medicine.

Conflicts of interest

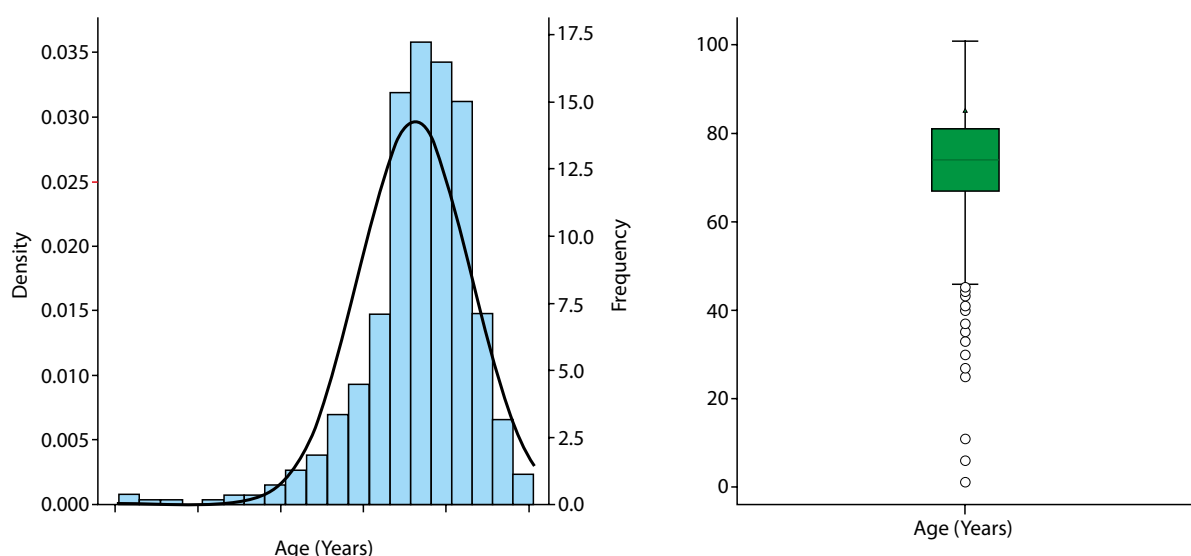
The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

- Buonacera A, Stancanelli B, Colaci M, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio: an emerging marker of the relationships between the immune system and diseases. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(7), doi: [10.3390/ijms23073636](#), indexed in Pubmed: [35408994](#).
- Kilic M, Hokenek UD. Association between D-dimer and mortality in COVID-19 patients: a single center study from a Turkish hospital. *Disaster Emerg Med J.* 2022; 7(4): 225–230, doi: [10.5603/demj.a2022.0039](#).
- Gong P, Liu Y, Gong Y, et al. The association of neutrophil to lymphocyte ratio, platelet to lymphocyte ratio, and lymphocyte to monocyte ratio with post-thrombolysis early neurological outcomes in patients with acute ischemic stroke. *J Neuroinflammation.* 2021; 18(1): 51, doi: [10.1186/s12974-021-02090-6](#), indexed in Pubmed: [33610168](#).
- Matuszewski M, Szarpak L, Pruc M, et al. Platelet-to-lymphocyte ratio as a prognostic biomarker for COVID-19 severity: a single center retrospective data analysis and systematic review with meta-analysis of 187 studies. *Disaster Emerg Med J.* ; 2023, doi: [10.5603/demj.96811](#).
- Li W, Hou M, Ding Z, et al. Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio in stroke: a systematic review and meta-analysis. *Front Neurol.* 2021; 12: 686983, doi: [10.3389/fneur.2021.686983](#), indexed in Pubmed: [34630275](#).
- Cupp MA, Cariolou M, Tzoulaki I, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio and cancer prognosis: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies. *BMC Med.* 2020; 18(1): 360, doi: [10.1186/s12916-020-01817-1](#), indexed in Pubmed: [33213430](#).
- Platini H, Ferdinand E, Kohar K, et al. Neutrophil-to-Lymphocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio as prognostic markers for advanced non-small-cell lung cancer treated with immunotherapy: a systematic review and meta-analysis. *Medicina (Kaunas).* 2022; 58(8): 1069, doi: [10.3390/medicina58081069](#), indexed in Pubmed: [36013536](#).
- Parthasarathi A, Padukudru S, Arunachal S, et al. The role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in risk stratification and prognostication of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Vaccines (Basel).* 2022; 10(8), doi: [10.3390/vaccines10081233](#), indexed in Pubmed: [36016121](#).
- Sarkar S, Khanna P, Singh AK. The impact of neutrophil-lymphocyte count ratio in COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *J Intensive Care Med.* 2022; 37(7): 857–869, doi: [10.1177/08850666211045626](#), indexed in Pubmed: [34672824](#).
- Smereka J, Szarpak L. COVID 19 a challenge for emergency medicine and every health care professional. *Am J Emerg Med.* 2020; 38(10): 2232–2233, doi: [10.1016/j.ajem.2020.03.038](#), indexed in Pubmed: [32241630](#).
- Ruetzler K, Szarpak L, Filipiak K, et al. The COVID-19 pandemic — a view of the current state of the problem. *Disaster Emerg Med J.* 2020; 5(2): 106–107, doi: [10.5603/demj.a2020.0015](#).

12. Szarpak Ł, Nowak B, Kosior D, et al. Cytokines as predictors of COVID-19 severity: evidence from a meta-analysis. *Pol Arch Intern Med.* 2021; 131(1): 98–99, doi: [10.20452/pamw.15685](https://doi.org/10.20452/pamw.15685), indexed in Pubmed: [33219785](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33219785/).
13. Fernandez-Botran R, Furmanek S, Ambadapoodi RS, et al. Association and predictive value of biomarkers with severe outcomes in hospitalized patients with SARS-CoV-2 infection. *Cytokine.* 2022; 149: 155755, doi: [10.1016/j.cyto.2021.155755](https://doi.org/10.1016/j.cyto.2021.155755), indexed in Pubmed: [34773859](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34773859/).
14. Sayah W, Berkane I, Guermache I, et al. Interleukin-6, procalcitonin and neutrophil-to-lymphocyte ratio: potential immune-inflammatory parameters to identify severe and fatal forms of COVID-19. *Cytokine.* 2021; 141: 155428, doi: [10.1016/j.cyto.2021.155428](https://doi.org/10.1016/j.cyto.2021.155428), indexed in Pubmed: [33550165](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33550165/).
15. Zahorec R, Hulin I, Zahorec P. Rationale use of neutrophil-to-lymphocyte ratio for early diagnosis and stratification of COVID-19. *Bratisl Lek Listy.* 2020; 121(7): 466–470, doi: [10.4149/BLL_2020_077](https://doi.org/10.4149/BLL_2020_077), indexed in Pubmed: [32989997](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32989997/).
16. Jimeno S, Ventura PS, Castellano JM, et al. Prognostic implications of neutrophil-lymphocyte ratio in COVID-19. *Eur J Clin Invest.* 2021; 51(1): e13404, doi: [10.1111/eci.13404](https://doi.org/10.1111/eci.13404), indexed in Pubmed: [32918295](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32918295/).
17. Faria SS, Fernandes PC, Silva MJ, et al. The neutrophil-to-lymphocyte ratio: a narrative review. *Ecancermedicalscience.* 2016; 10: 702, doi: [10.3332/ecancer.2016.702](https://doi.org/10.3332/ecancer.2016.702), indexed in Pubmed: [28105073](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28105073/).
18. Miyashita K, Hozumi H, Furuhashi K, et al. Changes in the characteristics and outcomes of COVID-19 patients from the early pandemic to the delta variant epidemic: a nationwide population-based study. *Emerg Microbes Infect.* 2023; 12(1): 2155250, doi: [10.1080/22221751.2022.2155250](https://doi.org/10.1080/22221751.2022.2155250), indexed in Pubmed: [36469641](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36469641/).
19. Chen YH, Cheuh YN, Chen CM, et al. Epidemiological characteristics of the three waves of COVID-19 epidemic in Taiwan during April 2022 to March 2023. *J Formos Med Assoc.* 2023; 122(11): 1174–1182, doi: [10.1016/j.jfma.2023.05.027](https://doi.org/10.1016/j.jfma.2023.05.027), indexed in Pubmed: [37301691](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37301691/).
20. Yang AP, Liu JP, Tao WQ, et al. The diagnostic and predictive role of NLR, d-NLR and PLR in COVID-19 patients. *Int Immunopharmacol.* 2020; 84: 106504, doi: [10.1016/j.intimp.2020.106504](https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106504), indexed in Pubmed: [32304994](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32304994/).
21. Palladino M. Complete blood count alterations in COVID-19 patients: a narrative review. *Biochem Med (Zagreb).* 2021; 31(3): 030501, doi: [10.11613/BM.2021.030501](https://doi.org/10.11613/BM.2021.030501), indexed in Pubmed: [34658642](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34658642/).
22. Ponti G, Maccaferri M, Ruini C, et al. Biomarkers associated with COVID-19 disease progression. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2020; 57(6): 389–399, doi: [10.1080/10408363.2020.1770685](https://doi.org/10.1080/10408363.2020.1770685), indexed in Pubmed: [32503382](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32503382/).
23. Battaglini D, Lopes-Pacheco M, Castro-Faria-Neto HC, et al. Laboratory biomarkers for diagnosis and prognosis in COVID-19. *Front Immunol.* 2022; 13: 857573, doi: [10.3389/fimmu.2022.857573](https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.857573), indexed in Pubmed: [35572561](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35572561/).
24. Borges L, Pithon-Curi TC, Curi R, et al. COVID-19 and neutrophils: the relationship between hyperinflammation and neutrophil extracellular traps. *Mediators Inflamm.* 2020; 2020: 8829674, doi: [10.1155/2020/8829674](https://doi.org/10.1155/2020/8829674), indexed in Pubmed: [33343232](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33343232/).
25. Gustine JN, Jones D. Immunopathology of hyperinflammation in COVID-19. *Am J Pathol.* 2021; 191(1): 4–17, doi: [10.1016/j.ajpath.2020.08.009](https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2020.08.009), indexed in Pubmed: [32919977](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32919977/).
26. Cesta MC, Zippoli M, Marsiglia C, et al. Neutrophil activation and neutrophil extracellular traps (NETs) in COVID-19 ARDS and immunothrombosis. *Eur J Immunol.* 2023; 53(1): e2250010, doi: [10.1002/eji.202250010](https://doi.org/10.1002/eji.202250010), indexed in Pubmed: [36239164](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36239164/).

SUPPLEMENTARY MATERIAL



SUPPLEMENTARY FIGURE 1. Age of the study population: histogram showing the frequency and density of the various age groups (left), and boxplot showing the distribution of the age groups (right)

BREAKING DOWN THE CLOTTING CONUNDRUM: ANALYZING THE ROLE OF PLASMA TISSUE PLASMINOGEN ACTIVATOR IN COVID-19 PATIENTS THROUGH A SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS

Kacper Dziedzic¹, Mansur Rahnema-Hezavah², Monika Tomaszewska¹, Agnieszka Szarpak³,
Aleksandra Gasecka⁴, Krzysztof Kuleta⁴, Oliwia Fidali⁴, Michał Pruc^{5, 6}, Aleksander Ostenda⁷,
Magdalena Wierzbniak-Stronska⁷, Aldona Kubica⁸, Francesco Chirico⁹

¹Department of Clinical Research and Development, LUX MED Group, Warsaw, Poland

²Chair and Department of Oral Surgery, Medical University of Lublin, Poland

³Institute of Outcomes Research, Maria Skłodowska-Curie Medical Academy, Warsaw, Poland

⁴1st Chair and Department of Cardiology, Medical University of Warsaw, Poland

⁵Research Unit, Polish Society of Disaster Medicine, Warsaw, Poland

⁶Department of Public Health, International Academy of Ecology and Medicine, Kyiv, Ukraine

⁷Faculty of Medicine, Academy of Silesia, Katowice, Poland

⁸Department of Cardiac Rehabilitation and Health Promotion, *Collegium Medicum*, Nicolaus Copernicus University, Bydgoszcz, Poland

⁹Post-Graduate School of Occupational Health, Università Cattolica del Sacro Cuore, Rome, Italy

ABSTRACT

INTRODUCTION: The SARS-CoV-2 virus pandemic has been a global challenge for medical services in terms of patient care and early prognosis of hospitalized patients' situations. Early identification and classification of COVID-19 patients in hospitals is critical for optimal management. The purpose of this study is to compile existing data on tissue plasminogen activator (tPA) concentrations in COVID-19 patients.

MATERIAL AND METHODS: A systematic review and meta-analysis were carried out in accordance with the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) Guidelines. Qualified articles were found systematically using relevant databases such as PubMed Central, Scopus, EMBASE, and the Cochrane databases until May 4th, 2023.

RESULTS: Tissue plasminogen activator levels among COVID-19 positive vs negative patients T-PA levels among COVID-19 positive vs negative patients varied and amounted to 26.67 ± 40.65 vs 4.68 ± 3.83 , respectively (SMD = 2.49; 95% CI: 1.85 to 3.14; $p < 0.001$). The mean t-PA level among patients requiring ICU admission was 24.06 ± 12.44 , compared to 16.55 ± 10.01 for patients not treated in the ICU (SMD = 0.69; 95% CI: -0.68 to 2.05; $p = 0.32$). Moreover, t-PA levels among severe COVID-19 compared to non-severe were 11.89 ± 9.05 and 16.87 ± 20.39 , respectively (SMD = 2.74; 95% CI: -0.71 to 6.19; $p = 0.12$). The t-PA values were, respectively: 15.33 ± 8.01 for patients who survived hospital discharge, and 19.04 ± 11.88 for patients who died in hospital due to COVID-19 (SMD = -0.50; 95% CI: -2.45 to 1.44; $p = 0.61$).

CONCLUSIONS: According to this meta-analysis, the key conclusion of this study is that COVID-19 infection is connected to t-PA levels. Nonetheless, extensive prospective studies addressing the possible diagnostic relevance of t-PA as a marker of COVID-19 severity are required to corroborate the presented results.

CORRESPONDING AUTHOR:

Agnieszka Szarpak, Maria Skłodowska-Curie Medical Academy, Żelaznej Bramy Square 10, 00–136, Warsaw, Poland
e-mail: a.szarpak@covinfo.pl, phone: +48791221241

Submitted: 24.08.2023 Accepted: 30.08.2023 Published online: 14.09.2023

This article is available in open access under Creative Commons Attribution-Non-Commercial-No Derivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0) license, allowing to download articles and share them with others as long as they credit the authors and the publisher, but without permission to change them in any way or use them commercially.

KEYWORDS: tissue plasminogen activator; t-PA; COVID-19; SARS-CoV-2; coagulopathy*Disaster Emerg Med J 2023; 8(4): 207–215*

INTRODUCTION

Since 2019, the global healthcare system has faced a significant challenge in caring for patients and predicting outcomes due to the SARS-CoV-2 pandemic [1, 2]. There are many unknown pathomechanisms behind the complications of the virus, influencing disease severity, and mortality amongst the patients who received modified effective therapy [3]. Research emphasizes the significant role of the disturbed balance between the pro- and anticoagulant systems [4–9]. Even with prophylactic and therapeutic anticoagulation, thromboembolic complications are frequently observed [10, 11] along with markedly increased lysis resistance and prolonged diurnal lysis [12].

Many studies have focused on investigating the concentration of various biomarkers related to endothelial, inflammatory, and coagulation responses during COVID-19 [13–21]. The infection-induced pro-inflammatory environment results in endothelial dysfunction, which may lead to an imbalance between pro-coagulation and anti-coagulation factors. Elevated levels of tissue plasminogen activator (t-PA), and its inhibitor, plasminogen activation inhibitor 1 (PAI-1), fibrinogen, von Willebrand factor, as well as the receptor for interleukin-33, have been revealed in patients plasma. The combination of the biomarkers has also been evaluated as a prognostic factor for thrombosis and mortality [22]. More interestingly, despite the increased level of tPA, hypofibrinolysis as well as hypercoagulability have been observed [8]. The observations prompt further investigation into the impact of specific biomarkers on each other's activities and their influence on COVID-19 clinical outcomes.

Tissue-type plasminogen activator (tPA) and its inhibitor, plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), are crucial components of the plasminogen activator-plasmin system [23, 24]. The imbalance between tPA and PAI-1 results in dysregulation of fibrinolysis and thrombotic complications [25]. Tissue plasminogen activator is the most extensively studied plasminogen activator and is commonly used clinically as a thrombolytic therapy [26]. The majority of diseases, including viral infections, impact the vascular endothelium and result in impaired function [27]. This endothelial dysfunction causes a decrease in the fibrinolytic activity of the cells, which increases the likelihood of developing blood clots [28].

Thromboembolic complications have the potential to be fatal, particularly in COVID-19 patients with a high risk of such events. It is crucial to evaluate possible risk factors that are predictors of disease progression and detect changes in the coagulation pathway. The purpose of this investigation is to review existing data on the concentration of tPA levels in COVID-19 patients and perform a meta-analysis to evaluate the correlation between tPA levels and COVID-19 disease, its severity, the likelihood of admission to the intensive care unit, and patients survival.

MATERIAL AND METHODS

This study was intended as a systematic review and meta-analysis and was carried out in compliance with the recommendations of the Cochrane Collaboration Group [29] and the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses (PRISMA) standards (Tab. S1). [30]. This study protocol was submitted to PROSPERO (CRD42022380249).

Search strategy and study selection

Two independent reviewers (K.D. and M.P.) carried out the literature search. We searched PubMed Central, Scopus, EMBASE, and the Cochrane Collaboration Library for all relevant studies from January 2020 to May 4th, 2023. We used the phrases “tissue plasminogen activator” OR “t-PA” AND “SARS-CoV-2” OR “new coronavirus” OR “COVID-19” in our search. In addition, the reference lists of the included publications were manually examined for additional studies that were not found in the database search. EndNote X9 was used to import the titles and abstracts found in the database search (Clarivate Analytics, Philadelphia, USA).

Inclusion and exclusion criteria

The adopted inclusion criteria were as follows: (1) original articles; (2) COVID-19 patients in various clinical conditions: mild, moderate, severe, or critical; as well as COVID-19 patients who survive to hospital discharge or deceased; (4) all types of observational studies: cohort, cross-sectional, case-control, longitudinal; and (5) full-text articles available in English. The following were the exclusion criteria: (1) studies that did not fit the aforementioned criteria;

(2) article types such as letters, conference papers, posters, editorials, review articles, and meta-analyses.

Data extraction

Two reviewers (M.P. and K.D.) independently evaluated the data extraction procedure, and disagreements concerning the selection criteria were argued and resolved by consensus among all authors. A pre-defined form was used to retrieve data from the included research.

Quality assessment

Three researchers (K.D., A.O., and M.P.) independently conducted the quality evaluation procedure. Any differences were also settled through discussion among all researchers. The Newcastle-Ottawa scale (NOS) was developed to assess the methodological quality of observational studies with its design. The studies were evaluated as poor, moderate, and high quality according to the NOS criteria, with ratings of 0–3, 4–6, and 7–9, respectively. In addition, if there are more than 10 trials in a single meta-analysis, we do funnel plot tests for asymmetry to evaluate potential publication bias.

Statistical analysis

The STATA software (version 14, StataCorp LLC, College Station, TX, USA) and the RevMan software (version 5.4, The Cochrane Collaboration, Copenhagen, Denmark) were used for all meta-analyses. To generate forest plots of continuous data and examine differences in t-PA concentrations between COVID-19 patients with severe vs non-severe groups or survivor vs. non-survivor status during follow-up, standard mean differences (SMD) and 95% confidence intervals (CIs) were determined. A *p* value of 0.05 was judged statistically significant. When t-PA levels were provided as medians with an interquartile range, Hozo's method for estimating means and standard deviations was utilized [31]. The *p* value of the *Q* test and the I^2 statistic were used to assess study heterogeneity. A fixed-effects model was adopted since an I^2 of 50% was regarded as exhibiting low or moderate heterogeneity. We also ran a sensitivity analysis to evaluate how each study influenced the pooled estimate.

RESULTS

Study characteristics

Based on the above-mentioned inclusion criteria, we identified 1,548 reports and screened their summa-

ries for eligibility after removing duplicates. 683 articles were screened according to their titles and abstracts. Full-text screening was performed on 27 studies, and data for 13 studies were extracted for this meta-analysis [4–6, 8–10, 12, 22, 25, 32–35]. A flow chart of the literature search and study selection is presented in Figure 1. Among the included trials, nine studies reported the t-PA values among COVID-19 positive vs negative patients. Four studies reported the correlation coefficient between t-PA concentration and ICU admission as well as COVID-19 survivability. In turn, three studies referred to the levels of t-PA between severe and non-severe courses of COVID-19.

The systematic review included articles published between 2020 and 2022, comprising a total of 948 COVID-19 participants. Baseline characteristics of selected studies are presented in Table 1. The study quality assessed by using the NOS scores was ≥ 7 for all included trials (Tab. 1).

Meta-analysis

Nine trials reported t-PA levels among COVID-19 positive vs negative patients [4–6, 9, 12, 14, 22, 32, 35]. t-PA levels among those groups varied and amounted to 26.67 ± 40.65 vs 4.68 ± 3.83 , respectively (SMD = 2.49; 95% CI: 1.85 to 3.14; $p < 0.001$; Fig. 2).

The mean t-PA level among patients requiring ICU admission was 24.06 ± 12.44 , compared to 16.55 ± 10.01 for patients not treated in ICU (SMD = 0.69; 95% CI: –0.68 to 2.05; $p = 0.32$; Fig. S1) [5, 8, 12, 22]. Moreover, t-PA levels among severe COVID-19 compared to non-severe was 11.89 ± 9.05 and 16.87 ± 20.39 , respectively (SMD = 2.74; 95% CI: –0.71 to 6.19; $p = 0.12$; Fig. S2) [9, 32, 35].

Only four trials reported t-PA levels in surviving and dead COVID-19 patients [25, 33, 34]. The t-PA values were respectively: 15.33 ± 8.01 for patients who survived to hospital discharge, and 19.04 ± 11.88 for patients who died in hospital due to COVID-19 (SMD = –0.50; 95% CI: –2.45 to 1.44; $p = 0.61$; Fig. S3).

DISCUSSION

In this systematic review and meta-analysis of 14 studies, including patients from 8 countries, we evaluated the serum t-PA levels of patients infected with COVID-19. Our aim was to assess its correlation with patients' clinical outcomes.

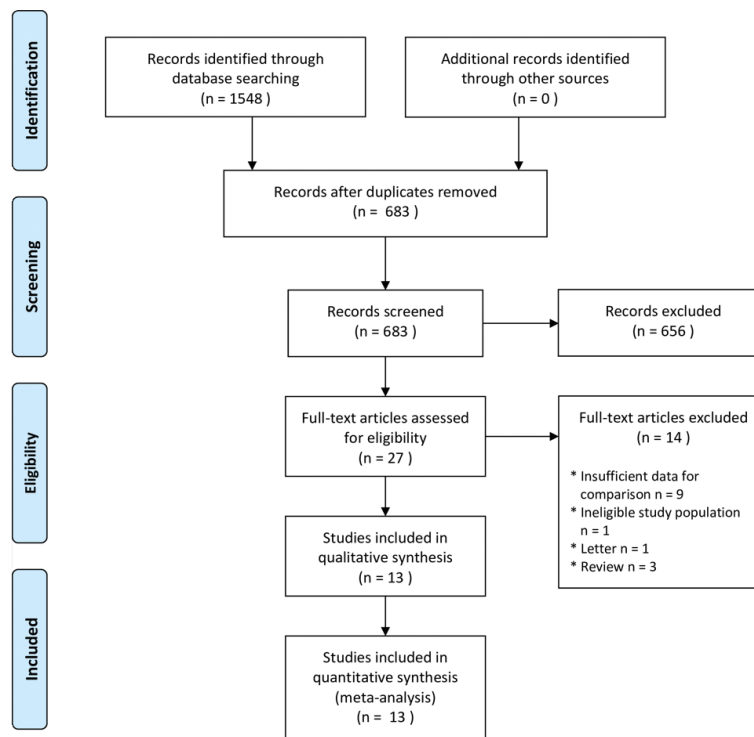


FIGURE 1. Flow diagram of the search strategy and study selection

Due to the dramatic situation of patients as well as medical professionals' work overload during the COVID-19 pandemic, we consider it paramount to identify sensitive biomarkers supporting the diagnostics and treatment processes of the most severe patients. Such information might play a key role in the allocation of limited resources and therefore contribute to appropriate patient management.

As hypercoagulability appears to be an essential hallmark of COVID-19 [36], evaluating markers of coagulation seems reasonable. Normally, there is an equilibrium between coagulation and fibrinolysis. Any imbalance between them might trigger serious conditions. Enhanced coagulation may lead, for instance, to thrombosis, stroke, or myocardial infarction, while hyperfibrinolysis might result in anomalous bleeding [37]. Furthermore, on histopathological examinations of lung specimens from COVID-19 patients with severe disease, fibrin-based occlusions of small vessels have been described as a result of increased blood coagulation [38, 39]. It is also proven that COVID-19 patients present not only hypercoagulability but also impaired fibrinolysis [8]. Coagulopathy in SARS-CoV-2 infection is multifactorial and accompanied by endothelial cell, neutrophil, and platelet activation, in addition to compensatory fibrinolysis. Various mechanisms

have been suggested as the reason for coagulation disorders [9].

Changes in the equilibrium between the levels of t-PA and PAI-1 can indicate the procoagulant state brought on by endothelial activation [40]. t-PA is an enzyme responsible for the conversion of plasminogen into plasmin, which constitutes a part of the clot formation process. Despite being a fibrinolytic mediator, t-PA is found to be higher in COVID-19 patients with poor outcomes. This paradox may be explained by the contribution of PAI-1. PAI-1, a major inhibitor of t-PA, can be released from damaged endothelium simultaneously with t-PA [9]. Numerous studies mention an increased plasma level of PAI-1 in COVID-19 patients with poor outcomes [9, 12, 41]. High PAI-1 levels might overcome the fibrinolytic system despite the increased release of t-PA by facilitating the dissociation of t-PA from the surface of vascular endothelial cells (VES). Therefore, cell surface-associated fibrinolytic potential would be decreased [8, 42] and the state mentioned by Hammer as t-PA resistance would occur [12]. These hemostatic abnormalities are exacerbated by the severity of the disease and strongly correlate with proinflammatory status, demonstrating the link between coagulation and inflammation. Both t-PA and PAI-1 release are enhanced by proinflammatory stimuli [5] (Fig. 3).

Table 1. Baseline characteristics of included trials

Study	Country	Study design	Study groups	No. of patients	Age	Sex, male	NOS
Cabrera-Garcia et al., 2022	USA	Prospective cohort study	ICU	47	61	28	8
			Non-ICU	16	59	8	
			COVID-19 (+)	63	60 (55–69)	36	
			COVID-19 (–)	43	45 (30–61)	20	
Cugno et al., 2021	Italy	Single center cohort study	Severe	46	NS	NS	8
			Non-severe	102	NS	NS	
			COVID-19 (+)	148	63 (26–92)	87	
			COVID-19 (–)	27	55 (34–78)	19	
Damián-Vázquez et al., 2022	Mexico	Single center cohort study	Severe	28	53.5 (17.4)	23 (82.1)	8
			Non-severe	37	44.7 (12.4)	19 (51.4)	
			COVID-19 (+)	65		42	
			COVID-19 (–)	10	46.2 (13.5)	7 (70.0)	
Francischetti et al., 2021	USA	Single center cross-sectional study	Severe	26	66 (34–78)	14 (53.8)	8
			Non-severe	40	47 (22–65.2)	19 (47.5)	
			COVID-19 (+)	66		33	
			COVID-19 (–)	9	47 (23–51)	5 (55.0)	
Gualtierotti et al., 2022	Italy	Single center cohort study	Survivors	57	68.2 (15.5)	34 (59.6)	7
			Non-survivors	8	79.8 (5.6)	3 (37.5)	
Hammer et al., 2021	Germany	Retrospective observational descriptive study	ICU	20	60 (55–75)	18	8
			Non-ICU	9	44 (14–76)	4	
			COVID-19 (+)	29		22	
			COVID-19 (–)	11	38 (25–47)	6	
Kelliher et al., 2022	Ireland	Single center cohort study	COVID-19 (+)	14	69.7 (16.9)	7	8
			COVID-19 (–)	11	61.6 (15.6)	3	
Marchetti et al., 2022	Italy	Two-center prospective study	ICU	46	62 (9)	35	8
			Non-ICU	55	71 (12)	38	
			COVID-19 (+)	101	NS	NS	
			COVID-19 (–)	108	NS	NS	
Nougier et al., 2020	France	Retrospective cohort study	ICU	48	62.8 (13.1)	NS	7
			Non-ICU	30	60.2 (14.6)	NS	
Ranucci et al., 2020	Italy	Prospective study	Survivors	8	59.6 (53.8–63.4)	7 (87.5)	8
			Non-survivors	12	69.4 (63.6–72.3)	9 (75.0)	
Sehgal et al., 2021	India	Prospective study	Survivors	59	NS	36	8
			Non-survivors	9	NS	7	
Whyte et al. 2022	UK	Prospective study	COVID-19 (+)	113	60.8 (12.6)	66 (58.4)	8
			COVID-19 (–)	24	64.4 (18.3)	10 (41.7)	
Zuo et al., 2021	USA	Prospective study	COVID-19 (+)	118	61 (17)	64	7
			COVID-19 (–)	30	NS	NS	

NOS — Newcastle Ottawa Scale; NS — not specified

Recent studies have already described hypercoagulability and resistance to fibrinolysis [4]. It is worth mentioning that besides thrombosis, there

is research that mentions bleeding events and literature data on hemorrhagic complications in COVID-19 patients during hospitalization [4, 5].

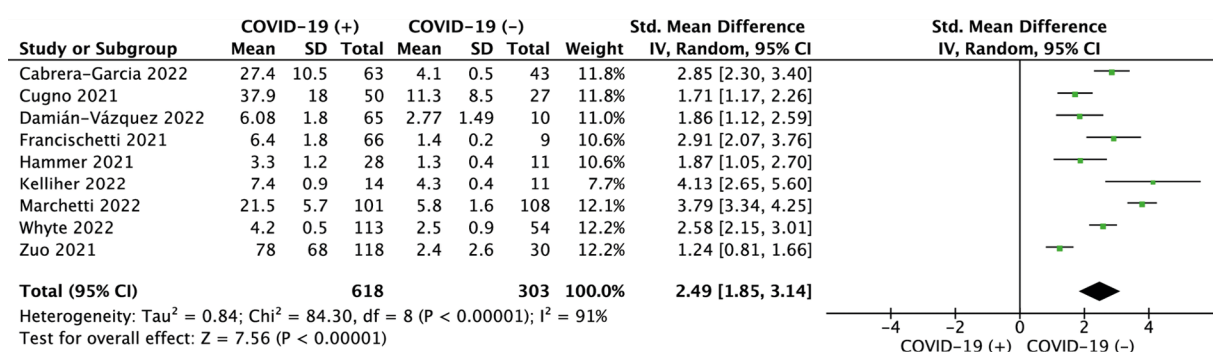


FIGURE 2. Forest plot of tPA levels among COVID-19 positive vs negative patients. The center of each square represents the standardized mean differences for individual trials, and the corresponding horizontal line stands for a 95% confidence interval. The diamonds represent pooled results

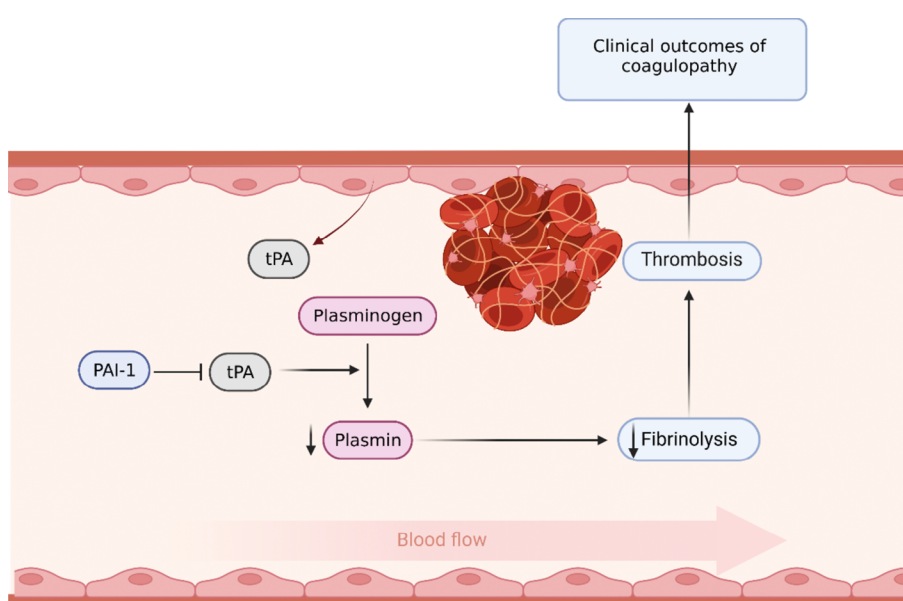


FIGURE 3. A visualization illustrating the effects of tissue plasminogen activator (tPA)

Extremely high levels of tPA enhance fibrinolysis and are associated with mortality in some individuals, which confirms the presence of a subset of patients that may favor fibrinolysis [6]. Since COVID-19 infection is associated with increased thrombotic risk, prophylactic antithrombotic treatment has been highly recommended. We would like to pay attention to a subset of individuals who favor fibrinolysis and suggest targeted and individualized treatment based on the patient's clinical presentation and diagnostic findings. We believe that the risk of bleeding should always be taken into account. On the other hand, anticoagulant therapy alone might turn out to be less effective in decomposing fibrin clusters because of increased plasma levels of PAI-1 in COVID-19 patients, and more complex treatment may be required [22].

The results of our meta-analysis show the potential clinical role of tPA in patients with COVID-19. Results showed that tPA is significantly higher in COVID-19-positive individuals than in healthy individuals 26.67 ± 40.65 vs 4.68 ± 3.83 , respectively ($p < 0.001$). Considering that high levels of t-PA correlate with SARS-CoV-2 infection, this marker may potentially be a tool for the early identification of patients most likely to benefit from early antiviral therapy. Assessment of t-PA plasma levels may also be useful in identifying patients who might be at risk of enhanced fibrinolysis caused by extremely high t-PA levels, as mentioned before.

Our study shows the role of tPA in the prediction of ICU admission in patients with COVID-19. The mean t-PA level among patients requiring ICU admission was 24.06 ± 12.44 ,

compared to 16.55 ± 10.01 for patients not treated in ICU ($p = 0.32$). This meta-analysis also shows the potential use of tPA as a prognostic marker of survival in patients with COVID-19. The t-PA values were respectively: 15.33 ± 8.01 for patients who survived hospital discharge and 19.04 ± 11.88 for patients who died in hospital due to COVID-19 ($p = 0.61$). However, we observed lower plasma concentrations of tPA in severe cases compared to non-severe COVID-19 positive cases (11.89 ± 9.05 and 16.87 ± 20.39 ; $p = 0.12$). Studies that do show significant plasma t-PA level differences between ICU and non-ICU patients [9] or between patients presenting severe and non-severe symptoms [10] have been performed; nevertheless, in our study, these differences didn't reach statistical significance. A biomarker cannot be translated into clinical practice and guidelines for treatment until it is proven to have a significant impact; therefore, the potential use of plasma t-PA levels as a biomarker of disease severity in COVID-19 needs further investigation.

Future studies about tPA concentration are needed to determine the cutoff points for clinical outcomes. This study should be valuable for the ongoing debate on coagulation biomarkers in COVID-19 since it analyzes and summarizes a set of research findings and comes up with conclusions based on the complex assessment of a large cohort.

Limitations

Our meta-analysis should be interpreted with caution due to some limitations. We included mostly prospective studies, which may constitute a risk of introducing bias. Additionally, hospital inpatients and those in critical care may have received higher prophylactic doses of thromboprophylaxis, potentially influencing test results. Other studies were limited by small sample sizes or could not provide longitudinal data. Enrollment of patients in different stages and severity of lung disease leads to heterogeneity, which may influence the interpretation of test results. Therefore, to confirm the findings presented, it is necessary to conduct thorough future studies that investigate whether t-PA can serve as a diagnostic indicator of the severity of COVID-19.

CONCLUSIONS

According to this meta-analysis, the key conclusion of this study is that COVID-19 infection is connected

to t-PA levels. We indicated its potential usage as a COVID-19 biomarker and demonstrated its possible value in the diagnostic process. Nonetheless, extensive prospective studies addressing the possible diagnostic relevance of t-PA as a marker of COVID-19 severity are required to corroborate the presented results.

Article information and declarations

Data availability statement

The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author (A.S.).

Ethics statement

The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author (A.S.).

Author contributions

Conceptualization — K.D.; methodology — K.D. and M.P.; software — K.D., M.P. and A.S.; validation — K.D., M.P., A.O. and A.S.; formal analysis — K.D., M.W.S. and A.S.; investigation — K.D.; resources — K.S. and L.S.; data curation — K.D., M.T., A.S., M.P. and M.W.S.; writing: original draft preparation — K.D., M.P., A.G., K.K., O.F., A.O.; writing: review and editing — K.D., M.R.H., M.T., A.S., A.G., K.K., O.F., M.P., A.K., A.O., M.W.S. and F.C.; visualization — K.D. and A.S.; supervision — K.D. and F.C.; project administration — K.D. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding

This research received no external funding.

Acknowledgments

Not applicable.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Supplementary material

The Supplementary Material for this article can be found online at: https://journals.viamedica.pl/disaster_and_emergency_medicine/article/view/97097

REFERENCES

1. Dzieciatkowski T, Szarpak L, Filipiak KJ, et al. COVID-19 challenge for modern medicine. *Cardiol J.* 2020; 27(2): 175–183, doi: [10.5603/CJ.a2020.0055](https://doi.org/10.5603/CJ.a2020.0055), indexed in Pubmed: [32286679](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32286679/).

2. Tazerji SS, Shahabinejad F, Tokasi M, et al. Global data analysis and risk factors associated with morbidity and mortality of COVID-19. *Gene Rep.* 2022; 26: 101505, doi: [10.1016/j.genrep.2022.101505](https://doi.org/10.1016/j.genrep.2022.101505), indexed in Pubmed: [35071820](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35071820/).
3. Dubey L, Dorosh O, Dubey N, et al. COVID-19-induced coagulopathy: Experience, achievements, prospects. *Cardiol J.* 2023; 30(3): 453–461, doi: [10.5603/CJ.a2022.0123](https://doi.org/10.5603/CJ.a2022.0123), indexed in Pubmed: [36588310](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36588310/).
4. Whyte CS, Simpson M, Morrow GB, et al. The suboptimal fibrinolytic response in COVID-19 is dictated by high PAI-1. *J Thromb Haemost.* 2022; 20(10): 2394–2406, doi: [10.1111/jth.15806](https://doi.org/10.1111/jth.15806), indexed in Pubmed: [35780481](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35780481/).
5. Marchetti M, Gomez-Rosas P, Russo L, et al. Fibrinolytic proteins and factor XIII as predictors of thrombotic and hemorrhagic complications in hospitalized COVID-19 patients. *Front Cardiovasc Med.* 2022; 9: 896362, doi: [10.3389/fcvm.2022.896362](https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.896362), indexed in Pubmed: [35757331](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35757331/).
6. Zuo Yu, Warnock M, Harbaugh A, et al. Plasma tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in hospitalized COVID-19 patients. *Sci Rep.* 2021; 11(1): 1580, doi: [10.1038/s41598-020-80010-z](https://doi.org/10.1038/s41598-020-80010-z), indexed in Pubmed: [33452298](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33452298/).
7. Ibañez C, Perdomo J, Calvo A, et al. High D dimers and low global fibrinolysis coexist in COVID19 patients: what is going on in there? *J Thromb Thrombolysis.* 2021; 51(2): 308–312, doi: [10.1007/s11239-020-02226-0](https://doi.org/10.1007/s11239-020-02226-0), indexed in Pubmed: [32671609](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32671609/).
8. Nougier C, Benoit R, Simon M, et al. Hypofibrinolytic state and high thrombin generation may play a major role in SARS-CoV2 associated thrombosis. *J Thromb Haemost.* 2020; 18(9): 2215–2219, doi: [10.1111/jth.15016](https://doi.org/10.1111/jth.15016), indexed in Pubmed: [32668058](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32668058/).
9. Francischetti IMB, Toomer K, Zhang Y, et al. Upregulation of pulmonary tissue factor, loss of thrombomodulin and immunothrombosis in SARS-CoV-2 infection. *EClinicalMedicine.* 2021; 39: 101069, doi: [10.1016/j.eclinm.2021.101069](https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2021.101069), indexed in Pubmed: [34377969](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34377969/).
10. Kelliher S, Weiss L, Cullivan S, et al. Non-severe COVID-19 is associated with endothelial damage and hypercoagulability despite pharmacological thromboprophylaxis. *J Thromb Haemost.* 2022; 20(4): 1008–1014, doi: [10.1111/jth.15660](https://doi.org/10.1111/jth.15660), indexed in Pubmed: [35102689](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35102689/).
11. Gurbel PA, Tantry US, Storey RF. International COVID-19 thrombosis biomarkers colloquium: COVID-19 diagnostic tests. *J Thromb Thrombolysis.* 2021; 52(4): 992–998, doi: [10.1007/s11239-021-02465-9](https://doi.org/10.1007/s11239-021-02465-9), indexed in Pubmed: [34021852](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34021852/).
12. Hammer S, Häberle H, Schlensak C, et al. Severe SARS-CoV-2 infection inhibits fibrinolysis leading to changes in viscoelastic properties of blood clot: a descriptive study of fibrinolysis in COVID-19. *Thromb Haemost.* 2021; 121(11): 1417–1426, doi: [10.1055/a-1400-6034](https://doi.org/10.1055/a-1400-6034), indexed in Pubmed: [33634444](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33634444/).
13. Fialek B, De Roquetaillade C, Pruc M, et al. Systematic review with meta-analysis of mid-regional pro-adrenomedullin (MR-proADM) as a prognostic marker in Covid-19-hospitalized patients. *Ann Med.* 2023; 55(1): 379–387, doi: [10.1080/07853890.2022.2162116](https://doi.org/10.1080/07853890.2022.2162116), indexed in Pubmed: [36607317](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36607317/).
14. Battaglini D, Lopes-Pacheco M, Castro-Faria-Neto HC, et al. Laboratory biomarkers for diagnosis and prognosis in COVID-19. *Front Immunol.* 2022; 13: 857573, doi: [10.3389/fimmu.2022.857573](https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.857573), indexed in Pubmed: [35572561](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35572561/).
15. Kilic M, Hokenek UD. Association between D-dimer and mortality in COVID-19 patients: a single center study from a Turkish hospital. *Disaster Emerg Med J.* 2022; 7(4): 225–230, doi: [10.5603/demj.a2022.0039](https://doi.org/10.5603/demj.a2022.0039).
16. Matuszewski M, Ładny J, Rafique Z, et al. Prediction value of soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) in COVID-19 patients - a systematic review and meta-analysis. *Ann Agric Environ Med.* 2023; 30(1): 142–147, doi: [10.2644/aaem/160084](https://doi.org/10.2644/aaem/160084), indexed in Pubmed: [36999867](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36999867/).
17. Matuszewski M, Szarpak L, Rafique Z, et al. Prediction value of KREBS von den lungen-6 (KL-6) biomarker in COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Med.* 2022; 11(21), doi: [10.3390/jcm11216600](https://doi.org/10.3390/jcm11216600), indexed in Pubmed: [36362828](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36362828/).
18. Matuszewski M, Reznikov Y, Pruc M, et al. Prognostic performance of cystatin C in COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Int J Environ Res Public Health.* 2022; 19(21), doi: [10.3390/ijerph192114607](https://doi.org/10.3390/ijerph192114607), indexed in Pubmed: [36361485](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36361485/).
19. Kerget B, Kerget F, Koçak AO, et al. Are serum interleukin 6 and surfactant protein D levels associated with the clinical course of COVID-19? *Lung.* 2020; 198(5): 777–784, doi: [10.1007/s00408-020-00393-8](https://doi.org/10.1007/s00408-020-00393-8), indexed in Pubmed: [32918573](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32918573/).
20. Fialek B, Pruc M, Smereka J, et al. Diagnostic value of lactate dehydrogenase in COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Cardiol J.* 2022; 29(5): 751–758, doi: [10.5603/CJ.a2022.0056](https://doi.org/10.5603/CJ.a2022.0056), indexed in Pubmed: [35762075](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35762075/).
21. Fialek B, Yanvarova O, Pruc M, et al. Systematic review and meta-analysis of serum amyloid A prognostic value in patients with COVID-19. *Disaster Emerg Med J.* 2022; 7(2): 107–113, doi: [10.5603/demj.a2022.0021](https://doi.org/10.5603/demj.a2022.0021).
22. Cabrera-Garcia D, Miltiades A, Yim P, et al. Plasma biomarkers associated with survival and thrombosis in hospitalized COVID-19 patients. *Int J Hematol.* 2022; 116(6): 937–946, doi: [10.1007/s12185-022-03437-2](https://doi.org/10.1007/s12185-022-03437-2), indexed in Pubmed: [35994163](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35994163/).
23. Belen Apak FB, Yuce G, Topcu DI, et al. Coagulopathy is initiated with endothelial dysfunction and disrupted fibrinolysis in patients with COVID-19 disease. *Indian J Clin Biochem.* 2023; 38(2): 220–230, doi: [10.1007/s12291-023-01118-3](https://doi.org/10.1007/s12291-023-01118-3), indexed in Pubmed: [36816717](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36816717/).
24. Douin DJ, Shaefi S, Brenner SK, et al. Tissue plasminogen activator in critically ill adults with COVID-19. *Ann Am Thorac Soc.* 2021; 18(11): 1917–1921, doi: [10.1513/AnnalsATS.202102-127RL](https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.202102-127RL), indexed in Pubmed: [33872546](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33872546/).
25. Sehgal T, Gupta N, Kohli S, et al. A prospective study of specialized coagulation parameters in admitted COVID-19 patients and their correlation with acute respiratory distress syndrome and outcome. *Cureus.* 2021; 13(8): e17463, doi: [10.7759/cureus.17463](https://doi.org/10.7759/cureus.17463), indexed in Pubmed: [34589359](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34589359/).

26. Longstaff C, Kolev K. Basic mechanisms and regulation of fibrinolysis. *J Thromb Haemost.* 2015; 13 Suppl 1: S98–105, doi: [10.1111/jth.12935](https://doi.org/10.1111/jth.12935), indexed in Pubmed: [26149056](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26149056/).
27. Rajendran P, Rengarajan T, Thangavel J, et al. The vascular endothelium and human diseases. *Int J Biol Sci.* 2013; 9(10): 1057–1069, doi: [10.7150/ijbs.7502](https://doi.org/10.7150/ijbs.7502), indexed in Pubmed: [24250251](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24250251/).
28. Suzuki Y, Yasui H, Brzoska T, et al. Surface-retained tPA is essential for effective fibrinolysis on vascular endothelial cells. *Blood.* 2011; 118(11): 3182–3185, doi: [10.1182/blood-2011-05-353912](https://doi.org/10.1182/blood-2011-05-353912), indexed in Pubmed: [21791417](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21791417/).
29. Higgins JPT, Thomas J, Chandler J, et al., editors. *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions version 6.0* [updated 2019 Jul]. Cochrane; <https://training.cochrane.org/handbook> (24.08.2023).
30. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ.* 2021; 372: n71, doi: [10.1136/bmj.n71](https://doi.org/10.1136/bmj.n71), indexed in Pubmed: [33782057](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33782057/).
31. Hozo SP, Djulbegovic B, Hozo I. Estimating the mean and variance from the median, range, and the size of a sample. *BMC Med Res Methodol.* 2005; 5: 13, doi: [10.1186/1471-2288-5-13](https://doi.org/10.1186/1471-2288-5-13), indexed in Pubmed: [15840177](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15840177/).
32. Cugno M, Meroni PL, Gualtierotti R, et al. Complement activation and endothelial perturbation parallel COVID-19 severity and activity. *J Autoimmun.* 2021; 116: 102560, doi: [10.1016/j.jaut.2020.102560](https://doi.org/10.1016/j.jaut.2020.102560), indexed in Pubmed: [33139116](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33139116/).
33. Gualtierotti R, Tafuri F, Rossio R, et al. Lung ultrasound findings and endothelial perturbation in a COVID-19 low-intensity care unit. *J Clin Med.* 2022; 11(18), doi: [10.3390/jcm11185425](https://doi.org/10.3390/jcm11185425), indexed in Pubmed: [36143072](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36143072/).
34. Ranucci M, Sitzia C, Baryshnikova E, et al. Covid-19-Associated coagulopathy: biomarkers of thrombin generation and fibrinolysis leading the outcome. *J Clin Med.* 2020; 9(11): 3487, doi: [10.3390/jcm9113487](https://doi.org/10.3390/jcm9113487), indexed in Pubmed: [33126772](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33126772/).
35. Damián-Vázquez G, García-Larragoiti N, Cano-Méndez A, et al. Recent findings on platelet activation, vWF multimers and other thrombotic biomarkers associated with critical COVID-19. *Clin Applied Thrombosis/Hemostasis.* 2022; 28: 1–10, doi: [10.1177/10760296221135792](https://doi.org/10.1177/10760296221135792).
36. Iba T, Levy JH, Levi M, et al. Coagulopathy in COVID-19. *J Thromb Haemost.* 2020; 18(9): 2103–2109, doi: [10.1111/jth.14975](https://doi.org/10.1111/jth.14975), indexed in Pubmed: [32558075](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32558075/).
37. Chapin JC, Hajjar KA. Fibrinolysis and the control of blood coagulation. *Blood Rev.* 2015; 29(1): 17–24, doi: [10.1016/j.blre.2014.09.003](https://doi.org/10.1016/j.blre.2014.09.003), indexed in Pubmed: [25294122](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25294122/).
38. Fox SE, Akmatbekov A, Harbert JL, et al. Pulmonary and cardiac pathology in African American patients with COVID-19: an autopsy series from New Orleans. *Lancet Respir Med.* 2020; 8(7): 681–686, doi: [10.1016/S2213-2600\(20\)30243-5](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30243-5), indexed in Pubmed: [32473124](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32473124/).
39. Xu Z, Shi L, Wang Y, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med.* 2020; 8(4): 420–422, doi: [10.1016/S2213-2600\(20\)30076-X](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30076-X), indexed in Pubmed: [32085846](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32085846/).
40. Shapiro NI, Schuetz P, Yano K, et al. The association of endothelial cell signaling, severity of illness, and organ dysfunction in sepsis. *Crit Care.* 2010; 14(5): R182, doi: [10.1186/cc9290](https://doi.org/10.1186/cc9290), indexed in Pubmed: [20942957](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20942957/).
41. Suzuki Y, Mogami H, Ihara H, et al. Unique secretory dynamics of tissue plasminogen activator and its modulation by plasminogen activator inhibitor-1 in vascular endothelial cells. *Blood.* 2009; 113(2): 470–478, doi: [10.1182/blood-2008-03-144279](https://doi.org/10.1182/blood-2008-03-144279), indexed in Pubmed: [18922856](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18922856/).
42. Al-Farabi MJ, Nugraha RA, Marsudi BA, et al. Biomarkers of endothelial dysfunction and outcomes in coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients: A systematic review and meta-analysis. *Microvasc Res.* 2021; 138: 104224, doi: [10.1016/j.mvr.2021.104224](https://doi.org/10.1016/j.mvr.2021.104224), indexed in Pubmed: [34273359](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34273359/).

BREAKING DOWN THE CLOTTING CONUNDRUM: ANALYZING THE ROLE OF PLASMA TISSUE PLASMINOGEN ACTIVATOR IN COVID-19 PATIENTS THROUGH A SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS

Kacper Dziedzic¹, Mansur Rahnama-Hezavah², Monika Tomaszewska¹, Agnieszka Szarpak³,
Aleksandra Gasecka⁴, Krzysztof Kuleta⁴, Oliwia Fidal⁴, Michał Pruc^{5, 6}, Aleksander Ostenda⁷,
Magdalena Wierzbniak-Stronska⁷, Aldona Kubica⁸, Francesco Chirico⁹

¹Department of Clinical Research and Development, LUX MED Group, Warsaw, Poland

²Chair and Department of Oral Surgery, Medical University of Lublin, Poland

³Institute of Outcomes Research, Maria Skłodowska-Curie Medical Academy, Warsaw, Poland

⁴1st Chair and Department of Cardiology, Medical University of Warsaw, Poland

⁵Research Unit, Polish Society of Disaster Medicine, Warsaw, Poland

⁶Department of Public Health, International Academy of Ecology and Medicine, Kyiv, Ukraine

⁷Faculty of Medicine, Academy of Silesia, Katowice, Poland

⁸Department of Cardiac Rehabilitation and Health Promotion, *Collegium Medicum*, Nicolaus Copernicus University, Bydgoszcz, Poland

⁹Post-Graduate School of Occupational Health, Università Cattolica del Sacro Cuore, Rome, Italy

Supplementary Material

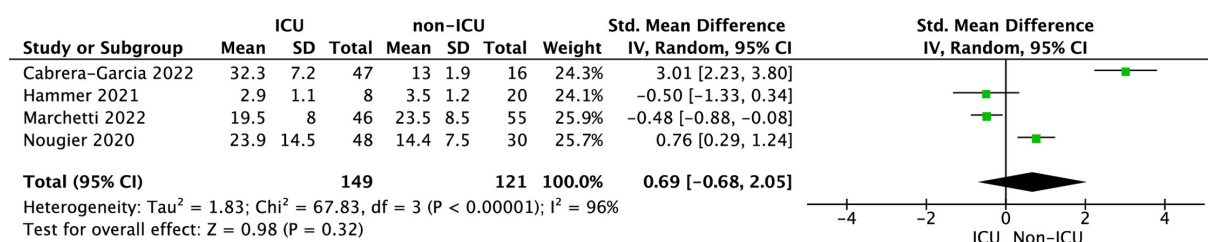


Figure S1. Forest plot of tPA levels among COVID-19 ICU vs non-ICU patients. The center of each square represents the standardized mean differences for individual trials, and the corresponding horizontal line stands for a 95% confidence interval. The diamonds represent pooled results

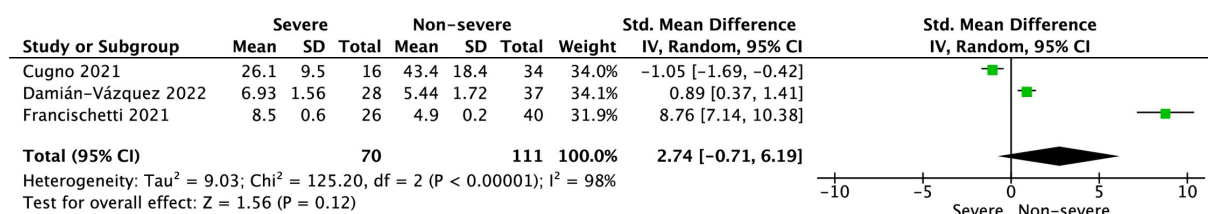


Figure S2. Forest plot of tPA levels among COVID-19 severe vs non-severe patients. The center of each square represents the standardized mean differences for individual trials, and the corresponding horizontal line stands for a 95% confidence interval. The diamonds represent pooled results

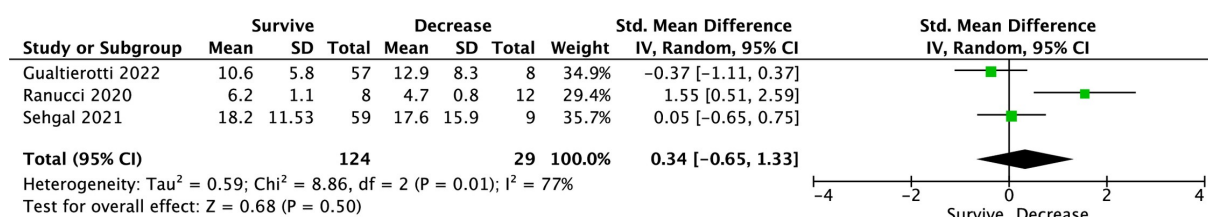


Figure S3. Forest plot of tPA levels among COVID-19 surviving vs deceased patients. The center of each square represents the standardized mean differences for individual trials, and the corresponding horizontal line stands for a 95% confidence interval. The diamonds represent pooled results

Systematic Review in Internal Medicine and COVID-19

A systematic review and meta-analysis of the association between galectin-3 levels and clinical outcomes in COVID-19 patients

Kacper DZIEDZIC¹, Kavita BATRA^{2*}, Michal PRUC³, Monika TOMASZEWSKA⁴, Krzysztof KUREK⁵, Murat YILDIRIM⁶, Mahmood BAHRAMIZADEH⁷, Francesco CHIRICO⁸, Nicola Luigi BRAGAZZI⁹, Hicham KHABBACHE¹⁰, Aldo SITIBONDO¹¹, Lukasz SZARPAK^{12#}, Gabriella NUCERA^{13#}

Affiliations:

¹Department of Clinical Research and Development, LUXMED Group, 02-676 Warsaw, Poland. E-mail: dzikac5@gmail.com. **ORCID:** 0000-0001-8930-2221.

² Department of Medical Education and Office of Research, Kirk Kerkorian School of Medicine at UNLV, University of Nevada, Las Vegas, United States of America. E-mail: kavita.batra@unlv.edu. **ORCID:** 0000-0002-0722-0191.

³Department of Public Health, International European University, 03187 Kyiv, Ukraine. E-mail: m.pruc@ptmk.org. **ORCID:** 0000-0002-2140-9732.

⁴Department of Clinical Research and Development, LUXMED Group, 02-676 Warsaw, Poland. E-mail: m.tomaszewska@ptmk.org.

⁵Department of Clinical Research and Development, LUXMED Group, 02-676 Warsaw, Poland. E-mail: k.kurek@ptmk.org (K.K.).

⁶Department of Psychology, Agri Ibrahim Cecen University, Turkey. Graduate Studies and Research, Lebanese American University, Beirut, Lebanon. E-mail: muratyildirim@agri.edu.tr. **ORCID:** 0000-0003-1089-1380.

⁷Orthotics and Prosthetics Department, University of Social Welfare and Rehabilitation Sciences, Tehran, Iran. E-mail: ma.bahramizadeh@uswr.ac.ir **ORCID:** 0000-0002-4486-5204.

⁸Post-Graduate School of Occupational Health, Università Cattolica del Sacro Cuore, Rome, Italy. Health Service Department, Italian State Police, Ministry of the Interior, Milan, Italy. E-mail: francesco.chirico@unicatt.it. **ORCID:** 0000-0002-8737-4368.

⁹Human Nutrition Unit (HNU), Department of Food and Drugs, Medical School, Building C, Via Volturno, 39, 43125 Parma, Italy E-mail: nicolaluigi.bragazzi@unipr.it **ORCID:** 0000-0001-8409-868X.

¹⁰Department of Psychology, Faculty of Arts and Human Sciences Fès-Saïss, Sidi Mohamed Ben Abdellah University, Fez-Morocco. E-mail: hichamcogn@gmail.com. **ORCID:** 0000-0001-9587-2829.

¹¹Infectious Disease Unit, University Hospital of Messina, Italy. E-mail: aldo.sitibondo@gmail.com. **ORCID:** 0009-0000-8534-8767.

¹²Institute of Outcomes Research, Maria Skłodowska-Curie Medical Academy, Warsaw, Poland. Maria Skłodowska-Curie Białystok Oncology Center, Białystok, Poland. Henry JN Taub Department of Emergency Medicine, Baylor College of Medicine Houston, Houston, TX, United States. Department of Clinical Research and Development, LUXMED Group, 02-676 Warsaw, Poland E-mail: lukasz.szarpak@gmail.com. **ORCID:** 0000-0002-0973-5455.

¹³Department of Emergency, Fatebenefratelli Hospital, ASST Fatebenefratelli and Sacco, Milan, Italy. E-mail: gabriella.nucera@asst-fbf-sacco.it. ORCID: 0000-0003-1425-0046.

Last Co-authorship

***Corresponding author:**

Dr Kavita Batra, Office of Research, Kirk Kerkorian School of Medicine at UNLV, University of Nevada, Las Vegas, United States of America. E-mail: kavita.batra@unlv.edu.

Abstract

Introduction: Galectin-3 is a β -galactoside-binding lectin with several roles in the immune-inflammatory response. The aim of this systematic review and meta-analysis was to explain the prognostic value of Galectin-3 on COVID-19 severity and mortality from the existing literature. **Methods:** PubMed/MEDLINE, EMBASE, SCOPUS, and the Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL) databases were surveyed up to November 10, 2023, for studies reporting data on Galectin-3 levels and the severity and mortality of patients with COVID-19. We performed frequentist random-effects network meta-analysis and presented the standard mean difference (SMD) and 95% confidence interval (CI).

Results: Galectin-3 levels among patients with and without COVID-19 varied with the following values: 15.73 ± 13.03 vs. 8.72 ± 5.82 pg/mL, respectively (SMD = 2.59; 95%CI: 1.52 to 3.67; $p < 0.001$). Galectin-3 levels were also statistically different between COVID-19 patients who were severe and those who were not (18.83 ± 15.5 pg/mL vs. 12.43 ± 10.29 pg/mL; SMD = 2.64; 95%CI: 1.45 to 3.83; $p < 0.001$), as well as between COVID-19 patients who survived and those who died (6.24 ± 6.74 pg/mL vs. 13.72 ± 15.92 pg/mL; SMD = -1.79; 95%CI: -2.78 to -0.80; $p < 0.001$).

Discussion: Galectin-3 seems to be a useful predictive biomarker of COVID-19 outcomes and needs further evaluation.

Take-home message: This meta-analysis found that Galectin-3 levels are significantly higher in COVID-19 patients and correlate with disease severity and mortality. This suggests that galectin-3 could be a valuable biomarker for predicting COVID-19 outcomes, warranting further investigation for clinical application.

Keywords: Biomarker; COVID-19; Coronavirus disease 2019; endothelial cells; Galectin-3; Gal-3; mortality; SARS-CoV-2; severe acute respiratory syndrome coronavirus 2.

Cite this paper as: Dziedzic K, Batra K, Pruc M, Tomaszewska M, Kurek K, Yildirim M, Bahramizadeh M, Chirico F, Bragazzi NL, Khabbache H, Sitibondo A, Szarpak L, Nucera G. A systematic review and meta-analysis of the association between galectin-3 levels and clinical outcomes in COVID-19 patients. *J Health Soc Sci*. 2023; 8(4):282-294. Doi: 10.19204/2023/SYST3.

Received: 10 September 2023; Accepted: 05 December 2023; Published: 15 December 2023.

INTRODUCTION

The global health community continues to prioritize coronavirus disease 2019 (COVID-19) as its severity can fluctuate and pose a significant risk to patients who require hospitalization [1, 2]. Individuals experiencing severe manifestations of COVID-19 demonstrate altered responses to infection, fluctuations in immunological cytokine concentrations, diminished lymphocyte count,

extensive inflammation, compromised endothelial cell functionality, excessive blood coagulation, and lung tissue injury [3–5]. In this specific context, the evaluation of indicators related to severe infection holds importance as it facilitates the decision making on the basis of clinical prognosis [6]. Furthermore, alongside the presence of hyperinflammation, it was noted earlier in the pandemic that individuals afflicted with COVID-19 exhibited an elevated propensity for thrombotic events and thromboembolism [7,8]. COVID-19-related coagulopathy encompasses various pathophysiological mechanisms, including but not limited to endothelial dysfunction, platelet hyperreactivity, neutrophil extracellular traps, and complement system activation [9,10]. The pathophysiology of COVID-19 involves the participation of various thrombogenicity markers, such as those associated with platelet activation, coagulation, and fibrinolysis [11–13]. Therefore, identification of predictive biomarkers for the purpose of categorizing a patient's condition holds potential value in terms of facilitating in-hospital care and optimizing treatment strategies for high-risk patients.

Galectin-3, a constituent of the galectin family, is a protein that binds to carbohydrates and is localized on the cellular membranes of heart, Kidney, blood vessels, and macrophages. Galectins are a class of lectins that exhibit a high affinity for β -galactoside-containing molecules. They are ubiquitously expressed and are involved in regulating intercellular and extracellular matrix interactions in various organisms. Furthermore, galectins play a pivotal role in the processes of inflammation and fibrosis [14]. It was also shown that galectin-3 plays a key role in activating platelets and causing thrombi in patients [15]. Galectins play several important roles in biology, including controlling immune cell activity, helping tissues grow back, and various developmental processes [16]. Furthermore, an increased concentration of galectin-3 was found to be correlated with the presence of interstitial lung abnormalities and demonstrated a potential involvement in the initial phases of pulmonary fibrosis as well as in other pulmonary diseases [17, 18]. The secretion of this substance is primarily observed in macrophages, endothelial cells, and epithelial cells. Galectin-3 plays a pivotal role in viral infections and is implicated in the induction of interleukin-1 β , interleukin-6, and tumor necrosis factor- α secretion [19,20]. In this background, this systematic review and meta-analysis aims to synthesize an evidence to explain the prognostic value of Galectin-3 on COVID-19 severity and mortality.

METHODS

Protocol and registration

This review and meta-analysis were performed using the guidance of the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis (PRISMA) statement [21]. This study was reported in the International Prospective Register of Systematic Reviews (PROSPERO) database (Registration no.: CRD42023480215).

Search strategy and study selection

A literature search for all relevant studies was performed in PubMed/MEDLINE, EMBASE, SCOPUS, and the Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL) databases. Studies comparing Galectin-3 levels among different COVID-19 patients' statuses (severe vs. non-severe and survive vs. deceased) were selected for this systematic review and meta-analysis. A distinct and efficient search methodology was utilized for each individual database. For this purpose, we search terms: "SARS-CoV-2" OR "COVID-19" OR "novel coronavirus" OR "severe acute respiratory syndrome coronavirus 2" OR "nCoV" and "Galectin-3" OR "Galectin 3" OR "Gal-3". We expanded our search efforts by utilizing the "related articles" feature and conducting an extensive exploration of unpublished literature. This involved examining the reference lists of all included studies and existing traditional systematic reviews. Additionally, we explored gray literature sources such as Google Scholar to gather information on the effects of SARS-CoV-2 infection on OHCA outcomes. Endnote (X7 for Windows, Clarivate Analytics, Philadelphia, PA, USA) was used to consolidate search results, and duplicates were deleted. To streamline the process, duplicate results were first eliminated. Subsequently, two authors independently assessed the relevance of the remaining articles based on their abstracts. The investigators then thoroughly reviewed those articles that met the predetermined criteria. Articles meeting the criteria were included in the study. The final selection of

studies was determined by unanimous agreement among all investigators, with any disagreements resolved through consensus. Finally, the full texts of the remaining articles were evaluated in accordance with the established inclusion and exclusion criteria. The initial searches were conducted on September 11, 2023, and were repeated on November 10, 2023 to locate newly published studies.

Eligibility criteria

We included all research articles in adult patients diagnosed with COVID-19 with information on galectin-3 levels and clinical grouping or outcome of the clinically validated definition of mortality, or COVID-19 severity. The following types of articles were excluded: non-English articles, duplicate publications, or articles other than original research (e.g., editorials, commentaries, letters to editors, review articles, case reports, or series). Please see the figure 1 below that explains the detailed inclusion criteria.

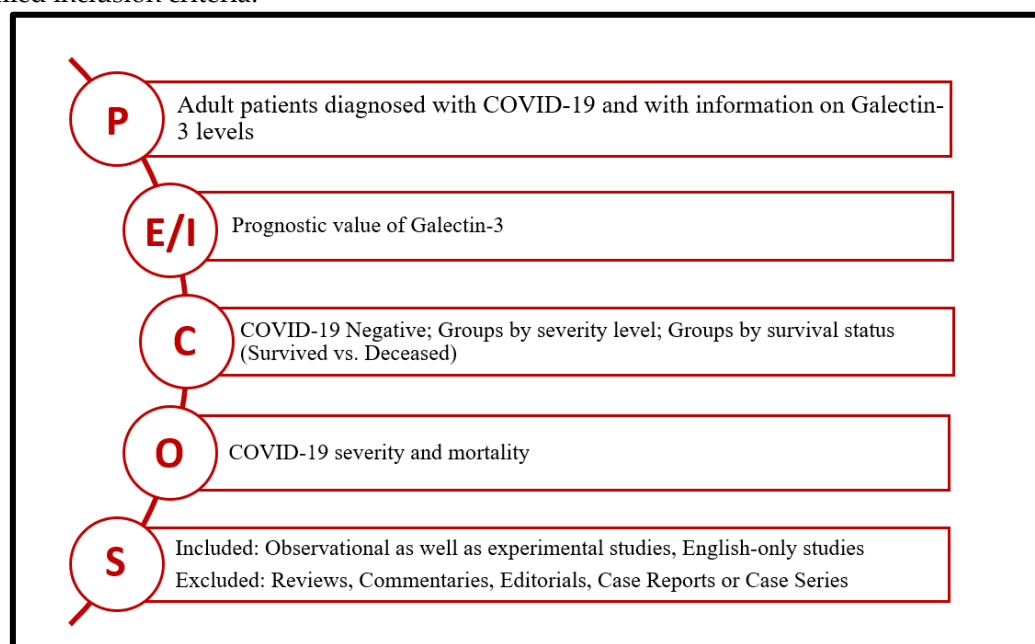


Figure 1. PECOS Framework of the study.

Data extraction

K.D. and M.P. independently extracted the data from each study using an Excel sheet with a customized format. All authors reached a consensus to resolve the differences between the two independent authors. The extracted data included: author names, country, year of publication, study design, sample size, mean age, male gender percentage, body mass index (BMI), and Galectin-3 levels. Finally, data were then imported for analysis in Review Manager version 5.4 (Cochrane Collaboration, Copenhagen, Denmark).

Quality of the included studies

Two authors (K.D. and F.C.) independently evaluated methodological quality and bias risk for publications that satisfied the inclusion criteria. The quality assessment of the included studies was done using the Newcastle-Ottawa Scale (NOS). NOS judged the study's quality using an eight-item scale divided into three areas: the choice of participants, the ability to compare, and the ability to find the desired outcome [22]. The NOS for cross-sectional and case-control studies has a maximum overall score of nine and a minimum score of zero. Studies with NOS scores of 7 or more were considered high-quality. A third author reviewed and resolved any discrepancies in the NOS.

Data synthesis and statistical analysis

A meta-analysis was performed if two or more of the included studies reported data on the outcomes of interest. Data processing and statistical analysis were conducted using Review Manager. The incidence of dichotomous data was calculated using the odds ratio (OR) with a 95% CI and analyzed using the Mantel-Haenszel technique. The standard mean difference (SMD) with a 95%

confidence interval (CI) was used to represent continuous outcomes. If the median was reported, the published methods by Hozo et al. were used to estimate the mean [23]. A conventional pairwise meta-analysis was conducted using the standardized mean difference. Heterogeneity was tested by using Cochran's Q statistic, which was calculated by means of H and I-squared (I^2) indices. The I^2 statistical measure was used to describe the percentage of variation across the included studies due to heterogeneity. Conventionally, I^2 values of 0–25% indicate low heterogeneity, 26–75% indicate moderate heterogeneity, and 76–100% indicate substantial heterogeneity [24]. Random effects models were used in all analyses, regardless of heterogeneity, as evidence suggests that they provide more robust outcome measures compared to the fixed effects models [25]. Publication bias was checked with a funnel plot, and the objective diagnostic test was conducted with Egger's correlation and Begg's regression tests. Assessment of publication bias of the rest of the pooled estimates was not possible because of an insufficient number of studies, since at least 10 studies are required to assess publication bias [26]. The p-values were two-tailed, and statistical significance was set at 0.05. Additionally, a sensitivity analysis by leave-one-out was performed to investigate the impact of each study on the overall pooled estimate. This systematic review and meta-analysis were conducted in compliance with the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses (PRISMA) statement [24].

Search strategy

Four independent reviewers (M.P., A.H., A.B., and M.M.) searched four main electronic databases (Web of Science, PubMed, Scopus, and the Cochrane Central Register of Controlled Trials) from January 1st, 2020 to September 2nd, 2022, to find papers investigating the prognostic significance of interleukin-7 in COVID-19-hospitalized adults. Google Scholar was used in addition to the online database search. For each source, a unique and suitable search approach was used. We were using the following search terms: "interleukin 7" OR "IL-7" AND "SARS-CoV-2" OR "COVID-19" OR "novel coronavirus". The EndNote application was used to handle the search results (version X7; Thomson Reuters). References for related papers were also examined.

Study selection

Original studies that reported IL-7 levels in COVID-19 patients on at least one or more of the following outcomes, like COVID-19 severity, were included. Original English-language articles were included. The exclusion criteria for the meta-analysis were as follows: (1) studies containing pediatric patients' data; (2) case reports, editorials, conference papers, and reviews; (3) studies published in languages other than English; and (4) studies without the research parameters needed for meta-analysis. Two reviewers (M.M. and M.P.) independently looked at the search criteria and compared the titles and abstracts of the papers found by the databases. Following that, the same reviewers obtained the complete texts of all potentially pertinent papers and independently evaluated them. If there was a disagreement about which literature articles to choose, it was talked out with another reviewer (A.N.).

Data extraction

Two investigators (M.M. and M.P.) worked separately to choose studies that matched the aforementioned inclusion criteria. Data extraction disagreements were resolved by conversation with another reviewer (A.N.). A prepared form was used to collect the data. The data retrieved comprised publication characteristics (for example, first author name, year of publication, research design), population data (for example, number of participants, age, male sex), and IL-7 levels in designated groups (COVID-19 positive and negative patients; mild and moderate COVID-19 severity groups; severe and non-severe COVID-19).

Quality and risk of bias assessment

Five reviewers (M.M., A.B., A.H., M.P., and Y.S.) independently assessed the risk of bias in the individual studies. Inconsistencies were resolved through the consensus of all researchers involved in the data extraction process. We used the Newcastle-Ottawa scale (NOS) [25] to measure the methodological quality of observational studies based on their design. The NOS score was divided into three levels: low, moderate, and high quality. The NOS values were 0–5, 6–7, and 8–9. If there are

more than 10 studies in a single analysis, we do funnel plot analyses for asymmetry to explore probable publication bias.

Statistical analysis

This meta-analysis was carried out according to the Cochrane Handbook. We use RevMan software (ver. 5.4, Cochrane Collaboration, UK) to analyze data. We utilized standardized mean differences (SMDs) as the impact metric with 95% confidence intervals to assess IL-7 levels (CIs). When IL-7 values were presented as medians with an interquartile range, Hozo's algorithm was used to calculate approximate means and standard deviations [26]. Heterogeneity was quantified using Cochran's Q statistics and Higgins' index (I^2), with 25%, 50%, and 75% indicating moderate, substantial, and significant heterogeneity [24]. A random effects model was employed for all analyses; a fixed effects model was only used where specified in the results section for datasets with very low heterogeneity. To give quantitative proof, the Egger's test was performed. The significance level was set at P 0.05.

RESULTS

Literature search

The work flow of the process of study selection is demonstrated in Figure 2. A total of 351 articles were found in the initial database search. Of these, 183 studies remained after removing duplicate publications and screening through titles and abstracts. Among those, we identified 25 articles for full text review. Ultimately, all 18 studies with 2530 patients were included for review [27–44]. Table 1 shows the characteristics and risk of bias assessment of the included studies, respectively. Their overall quality was good. Studies originated in Italy, India, Turkey, Spain, Serbia, Switzerland, Mexico, Poland, Turkey, and the United States. Africa, Asia, Australia, Europe, North America, and South America. Table 1 shows the characteristics (such as sex, age, and BMI) of the patient populations of the studies included in the meta-analysis.

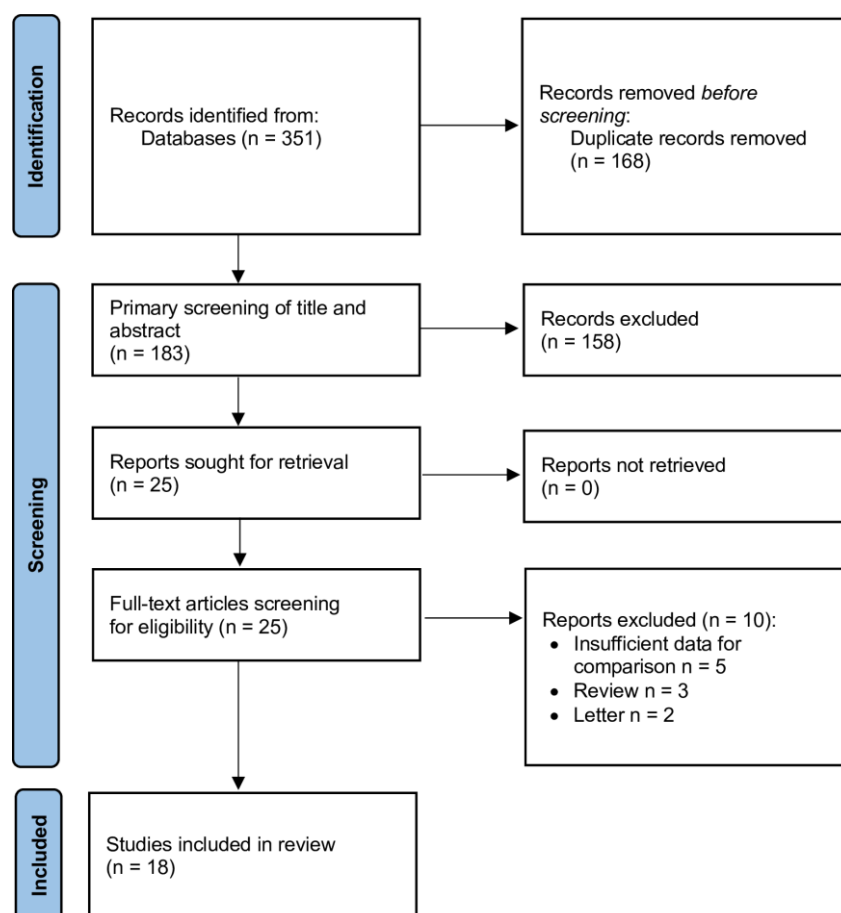


Figure 2. PRISMA study flow diagram.

Table 1. Baseline characteristics of included trials.

Study	Country	Study design	Study group	No. of participants	Age	Sex, male	BMI	NOS score
Baykan et al., 2021	Turkey	PS	COV-19 (+)	136	62.2 ± 14.7	67 (49.3)	NS	8
			COV-19 (-)	40	58.2 ± 9.3	16 (40.0)	NS	
Baykiz et al., 2022	Turkey	PS	Severe	48	63.08 ± 15.2	29 (60.4)	NS	8
			Non-severe	20	58.3 ± 11.9	16 (80.0)	NS	
			Survive	36	58.94 ± 13.4	22 (61.1)	NS	
			Decreased	32	64.75 ± 15.1	23 (71.9)	NS	
Berber et al., 2023	Turkey	PS	COV-19 (+)	78	58.8 ± 13.8	46 (59)	29.8 ± 5.8	9
			COV-19 (-)	40	55.0 ± 9.8	22 (55)	24.9 ± 2.9	
			Survive	58	57.3 ± 13.9	34 (58.6)	30.0 ± 6.2	
			Decreased	20	65.2 ± 10.3	12 (60.0)	29.0 ± 4.1	
Bruni et al., 2022	Switzerland	PS	COV-19 (+)	95	64 (52-75)	61 (64)	NS	8
			COV-19 (-)	75	71 (59-80)	42 (56)	NS	
Cervantes-Alvarez et al., 2022	Mexico	PS	COV-19 (+)	156	51.83 ± 12.73	107 (68.6)	29.39 (26.80-33.12)	9
			COV-19 (-)	10	NS	NS	NS	
			Severe	54	54.63 ± 11.52	42 (39.3)	29.35 (26.79-32.89)	
			Non-severe	102	50.97 ± 13.92	65 (60.7)	29.42 (26.80-33.40)	
Chen et al., 2021	Taiwan	RS	COV-19 (+)	55	46.8 ± 16.0	29 (52.7)	NS	8
			COV-19 (-)	31	40.2 ± 7.2	6 (19.4)	NS	
			Severe	24	NS	NS	NS	
			Non-severe	31	NS	NS	NS	
Erich et al., 2021	Turkey	PS	COV-19 (+)	44	54.6 ± 21.6	25 (56.8)	NS	8
			COV-19 (-)	42	39.3 ± 11.3	15 (35.7)	NS	
Gajovic et al., 2023	Serbia	RS	Severe	140	66.3±1.3	95 (67.9)	NS	8
			Non-severe	140	56.4±1.4	65 (46.4)	NS	
Karsli et al., 2022	Turkey	PS	COV-19 (+)	100	65.2 ±12.9	40 (40.0)	NS	8
			COV-19 (-)	50	65.32±16.1	19 (38.0)	NS	
			Severe	60	65.8±12.67	22 (36.7)	NS	
			Non-severe	40	64.05±13.5	18 (45.0)	NS	
Kazancioglu et al., 2021	Turkey	RS	Severe	29	NS	NS	NS	7
			Non-severe	55	NS	NS	NS	
			Control	56	NS	NS	NS	
Kusnierz-Cabala et al., 2021	Poland	PS	Severe	9	NS	NS	NS	7
			Non-severe	61	NS	NS	NS	
Mithradas et al., 2023	India	PS	COV-19 (+)	19	46.07 ± 7.19	NS	NS	7
			COV-19 (-)	20	39.47 ± 4.29	NS	NS	

Ozcan et al., 2022	Turkey	PS	Severe	64	56.9 ± 15.41	38 (59.37)	NS	8
			Non-severe	111	54.66 ± 15.34	60 (54.05)	NS	
Portacci et al., 2021	Italy	RS	Survive	101	63 (53.3-72)	30 (76.9)	NS	9
			Decreased	39	81 (71-86)	68 (67.3)	NS	
Puccini et al., 2023	Germany	RS	COV-19 (+)	55	69 (55-76)	38 (69.1)	26.7 (24.7- 30.7)	9
			COV-19 (-)	35	73 (58-81)	20 (57.1)	25.1 (22.9- 28.5)	
Rodríguez- Tomàs et al., 2021	Spain	RS	COV-19 (+)	126	71 (58-83)	30 (66.7)	NS	9
			COV-19 (-)	45	84 (75-89)	38 (76.0)	NS	
Tawiah et al., 2022	US	PS	Survive	308	57.8 ± 16.7	180 (58.4)	30.0±9.18	8
			Decreased	50	72.1 ± 14.8	30 (60.0)	28.2±7.94	
Turnic et al., 2022	Serbia	PS	Survive	32	46:50 ± 13:84	22 (68.7)	NS	7
			Decreased	15	72:53 ± 9:95	11 (73.3)	NS	

Note: BMI = body mass index; NOS = Newcastle Ottawa scale; NS = not specified; PS = prospective study; RS = retrospective study.

Meta-analysis of included studies

Ten studies provided data on the rate of Galectin-3 levels among patients with and without COVID-19. Pooled analysis showed that Galectin-3 levels among patients with and without COVID-19 varied and amounted to: 15.73±13.03 vs. 8.72±5.82 pg/mL, respectively (SMD = 2.59; 95%CI: 1.52 to 3.67; $p < 0.001$; Figure 3).

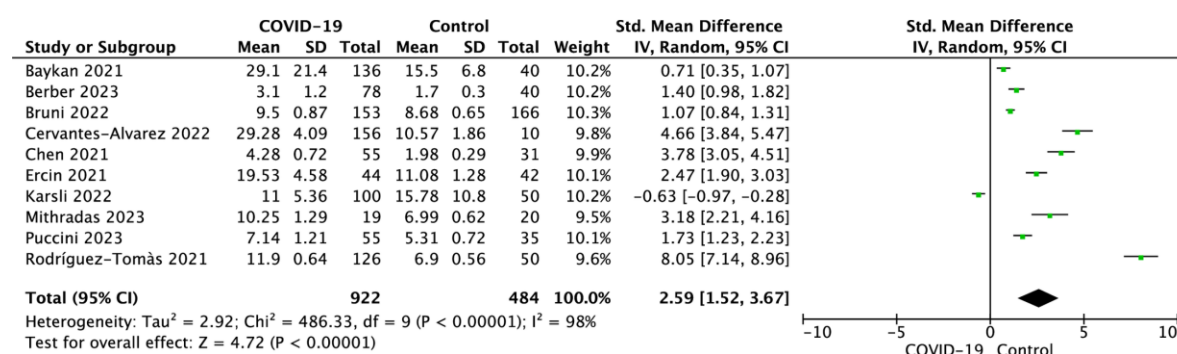


Figure 3. Forest plot of Galectin-3 levels among COVID-19 and control patients measured at baseline. The center of each square represents the standardized mean differences for individual trials, and the corresponding horizontal line stands for a 95% confidence interval. The diamonds represent pooled results.

Pooled analysis of Galectin-3 levels among patients was 18.83±15.5 pg/mL in COVID-19 severe group, compared to 12.43±10.29 pg/mL in non-severe patients (SMD = 2.64; 95%CI: 1.45 to 3.83; $p < 0.001$; Figure 4).

Four studies reported galectin-3 levels among COVID-19 patients who survive vs. deceased. Pooled analysis was 6.24±6.74 vs. 13.72±15.92 pg/mL (SMD = -1.79; 95%CI: -2.78 to -0.80; $p < 0.001$; Figure 5). The results from the sensitivity analysis did not alter the direction.

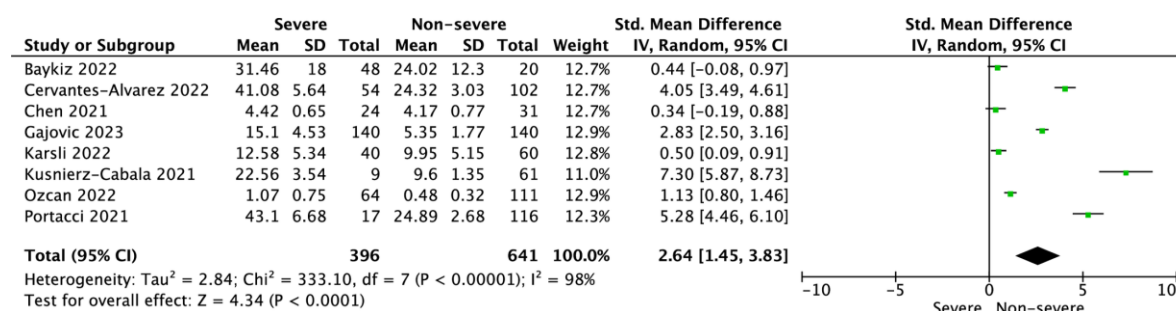


Figure 4. Forest plot of Galectin-3 levels among severe vs. non-severe COVID-19 patients measured at baseline. The center of each square represents the standardized mean differences for individual trials, and the corresponding horizontal line stands for a 95% confidence interval. The diamonds represent pooled results.

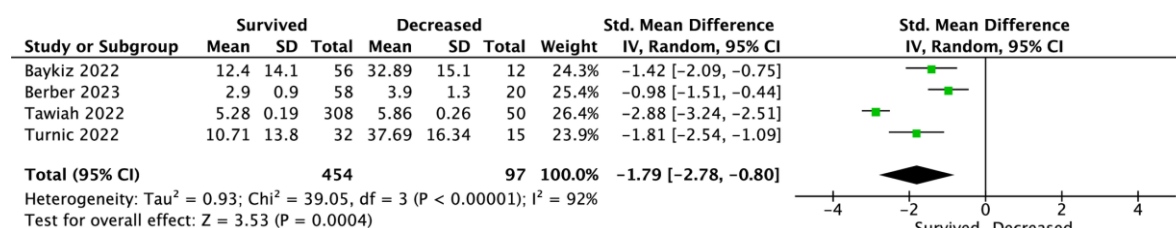


Figure 5. Forest plot of Galectin-3 levels among survived vs. decreased COVID-19 patients measured at baseline. The center of each square represents the standardized mean differences for individual trials, and the corresponding horizontal line stands for a 95% confidence interval. The diamonds represent pooled results.

DISCUSSION

Our meta-analysis showed that the Galectin-3 concentration value among the severe group was statistically significantly higher compared to non-severe patients (18.83 ± 15.5 pg/mL vs. 12.43 ± 10.29 pg/mL, $p < 0.001$). Of note, a statistically significant difference in Galectin-3 concentration also occurred among patients with and without COVID-19 (15.73 ± 13.03 vs. 8.72 ± 5.82 pg/mL, $p < 0.001$, respectively). Although only four studies compared survived vs. died, statistical significance was obtained between the cohorts (6.24 ± 6.74 vs. 13.72 ± 15.92 pg/mL, $p < 0.001$). To sum up, the results of our meta-analysis indicate that Galectin-3 may be a potential diagnostic and prognostic biomarker for patients with COVID-19 infection.

The results of our meta-analysis are partially consistent with the previously published meta-analysis from 2023. Behnoush et al. showed, similarly to ours, that patients with COVID-19 have statistically significantly higher Galectine-3 values compared to healthy controls. However, the above-mentioned meta-analysis did not show a statistically significant difference in the Galectine-3 value between severe and non-severe patients. What is worth noting is that the work by Behnoush et al. showed a tendency towards higher levels of Galectin-3 in severe COVID-19 patients compared to non-severe cases [45]. Moreover, contrary to our meta-analysis, Zhan et al. identified no statistically significant difference in Galectin-3 values between severe vs. mild/moderate cohorts [46]. A significant limitation in analyzing data regarding the severity of COVID-19 is the different approach to definitions. For example, Cervantes-Alvarez defined a severe outcome as the need for invasive mechanical ventilation as well as in-hospital death [31]. Moreover, the introduction of more subclasses within severity, e.g., mild, moderate, or severe, leads to even more prominent heterogeneity and interpretation difficulties. Mortality is usually defined as in-hospital mortality, which makes it easier to compare results. Still, the results from Berber et al. are similar to ours. They found that a cut-off of 2.8 ng/ml could predict death with an acceptable 80% sensitivity but an unacceptable 57% specificity [29].

Interestingly, galectin inhibitors, due to their blocking pro-inflammatory and pro-fibrotic properties, are a new class of drugs currently in the clinical trial phase that can be used in the treatment of COVID-19. The DEFINE clinical trial (phase Ib/IIa) confirmed that GB0139, a potent inhaled thiogalactoside galectin-3, is well tolerated by patients, i.e., that the number of adverse reactions was similar between the group of patients receiving the GB0139 molecule and the so-called therapeutic standard (standard of care, SOC alone), 40 vs. 35, respectively. Among patients receiving GB0139, five adverse events were considered by investigators to be potentially related to the investigational medicinal product [47]. It is worth noting that the GB0139 molecule is undergoing extensive research (NCT02257177 and NCT03832946) in another therapeutic indication, idiopathic pulmonary fibrosis (IPF). However, further clinical trials involving a larger number of patients, including those with severe COVID-19, are needed to demonstrate whether the molecule can actually modify inflammation or fibrotic changes in the course of COVID-19 [48]. Moreover, an inhibitor of galectin-3 (Gal-3), in addition to its therapeutic properties, may prevent the transmission of COVID-19. ProLectin-M (PL-M), a Gal-3 antagonist, based on phase II results, proved to be safe, well-tolerated, and effective in reducing viral loads and rapid viral clearance [49].

The search for biomarkers that can predict the severity of COVID-19 remains an important theoretical and clinical problem. Fukui revealed that finding a biomarker that can be a good predictor of outcomes in the severe group is particularly difficult. Biomarkers such as C-reactive protein (CRP), presepsin (PSP), lactate dehydrogenase (LDH), and aspartate aminotransferase (AST) turned out to be good predictors of prognosis among less severe cases [50]. The economic issue is also important: the determination of biomarkers such as CRP or AST is much cheaper than in the case of more advanced biomarkers (e.g., Galectin-3). Biomarkers of inflammation, such as the previously mentioned CRP, are particularly useful in the prediction of outcomes among patients diagnosed with COVID-19 [51]. When looking for a useful predictive biomarker, the influence of ethnicity and gender should also be taken into account. Commonly used pro-inflammatory biomarkers, such as CRP, may be subject to bias; e.g., CRP values observed in men are usually higher at baseline [52]. Ethnicity also matters; one study found that among Asian and Caucasian patients, the CRP value among non-survivors was higher than among survivors. This correlation was not observed among black and Hispanic ethnicities [53]. Complex pro-inflammatory biomarkers, such as neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR), platelet-lymphocyte ratio (PLR), or monocyte-lymphocyte ratio, may be less sensitive to issues of ethnicity and gender, although risks may also arise here. Unfortunately, Galectin-3 also appears to be susceptible to bias in this context. McEvoy et al. showed that Galectin-3 may be a useful biomarker for prognostication of death among patients with heart failure, but only among whites [54]. More attention is clearly needed to further evaluate the predictive properties of Galectin-3 in both ethnic and gender contexts.

Apart from the above-mentioned limitations regarding the variance in the definition of COVID-19 severity, some limitations will still be highlighted here. A standard limitation is the issue of cutoff, which allows stratification of patients with respect to outcomes. Another issue is the issue of standardizing the methods for determining Galectin-3. Moreover, the studies included in this meta-analysis were conducted over time, during which the therapeutic standard changed. The impact of this standard of care on the level of Galectin-3 cannot be determined; e.g., the use of strong treatment-modifying inflammatory activity could have influenced the value of Galectin-3. Some of the research may also have been conducted at the beginning of the pandemic, where staff shortages and a limited ability to introduce standardized research processes may have limited the usefulness of samples or influenced selection bias. Finally, the diagnostic properties of Galectin-3 are currently limited in practical applications due to the increasing number and types of diagnostic tests. Also, in the case of differential diagnosis, the value of Galectin-3 also increases in the course of other inflammatory and fibrotic diseases.

CONCLUSION

The findings of our study highlight galectin-3 as a promising predictive biomarker for COVID-19 outcomes, revealing its potential in guiding clinical decisions. However, this conclusion warrants

further scrutiny. Future research should delve into the applicability of galectin-3 as a universally reliable biomarker, transcending ethnic and gender-based variations. It's crucial to investigate if galectin-3 maintains its predictive accuracy across diverse ethnic groups and genders, considering the variations in genetic makeup and physiological responses. This broader approach will ensure that the use of galectin-3 as a biomarker in COVID-19 can be effectively and equitably implemented in global healthcare, providing a more inclusive and accurate tool for managing the disease across different populations.

Author Contributions: Conceptualization: MM; methodology: MM, LS; software: MP, MM, LS; validation: MM, FC, AB, AH, MY; formal analysis: MM, MP, LS; investigation: MM, MP, LS, NB, AN, KK, FC, YS, MY, AH, AS; resources: MM, LS; data curation: MM, MP, LS, NB, GN, AN, KK, FC, YS, MY, AH, AS; writing—original draft preparation: MM, MP, LS, NB, AN, KK, FC, YS, MY, AH, AS; writing—review and editing: MM, MP, LS, NB, AN, KK, FC, GN, YS, MY, AH, AS; visualization: MM, LS; supervision: LS and FC; project administration: MM. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: None

Acknowledgements: None

Conflicts of Interest: None

Data Availability Statement: Some or all data and models that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Publisher's Note: Edizioni FS stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliation.

References

1. Smereka J, Szarpak L, Filipiak KJ. Modern Medicine in the COVID-19 Era. *Disaster Emerg Med J*. 2020; 5:103-105.
2. Dzieciatkowski T, Szarpak L, Filipiak KJ, Jaguszewski M, Ladny JR, Smereka J. COVID-19 challenge for modern medicine. *Cardiol J*. 2020;27:175-183.
3. Matuszewski M, Pruc M, Szarpak L, Navolokina A, Kiezun K, Chirico F, et al. *J Health Soc Sci*. 2023;8:33-44.
4. Boechat JL, Chora I, Morais A, Delgado L. The immune response to SARS-CoV-2 and COVID-19 immunopathology - Current perspectives. *Pulmonology*. 2021;27:423-437.
5. Matuszewski M, Afolabi AA, Ilesanmi OS, Pruc M, Navolokina A, Al-Jeabory M, et al. Associations between interleukin-4 and COVID-19 severity: A systematic review and meta-analysis. *J Health Soc Sci*. 2022;7:381-396.
6. Yaman E, Demirel B, Yilmaz A, Avci S, Szarpak L. Retrospective evaluation of laboratory findings of suspected paediatric COVID-19 patients with positive and negative RT-PCR. *Disaster Emerg Med J*. 2021;6:97-103.
7. Szarpak L, Nowak B, Kosior D, Zaczynski A, Filipiak KJ, Jaguszewski MJ. Cytokines as predictors of COVID-19 severity: evidence from a meta-analysis. *Pol Arch Intern Med*. 2021;131:98-99.
8. Gullupinar B, Saglam C, Yavru EV, Aksoy EE, Koran S, Evrin T, et al. New hematological parameters as early diagnosis and prognostic markers in critically patients. *Disaster Emerg Med J*. 2022;7:100-106.
9. Dubey L, Dorosh O, Dubey N, Doan S, Kozishkurt O, Duzenko O, et al. COVID-19-induced coagulopathy: experience, achievements, prospects. *Cardiol J*. 2023;30:453-461.
10. Fialek B, Yanvarova O, Pruc M, Gasecka A, Skrobucha A, Boszko M, et al. Systematic review and meta-analysis of serum amyloid a prognostic value in patients with COVID-19. *Disaster Emerg Med J*. 2022; 7:107-113.
11. Dziedzic K, Rahnama-Hezavah M, Tomaszewska M, Szarpak A, Gasecka A, Kuleta K, et al. Breaking down the clotting conundrum: analyzing the role of plasma tissue plasminogen activator in COVID-19 patients through a systematic review and meta-analysis *Disaster Emerg Med J*. doi: 10.5603/demj.97097.
12. Matuszewski M, Szarpak L, Pruc M, Pedrycz-Wieczorska A, Kilic M, Ak R, et al. Platelet-to-lymphocyte ratio as a prognostic biomarker for COVID-19 severity: a single center retrospective data analysis and systematic review with meta-analysis of 187 studies *Disaster Emerg Med J*. doi: 10.5603/demj.96811.

13. Mroueh A, Fakih W, Carmona A, Trimaille A, Matsushita K, Marchandot B, et al. COVID-19 promotes endothelial dysfunction and thrombogenicity: role of proinflammatory cytokines/SGLT2 prooxidant pathway. *J Thromb Haemost*. 2023;S1538-7836(23)00724-9.
14. Flisiak R, Horban MA, Jaroszewicz J, Kozielowicz D, Mastalerz-Migas A, Owczuk R, et al. Management of SARS-CoV-2 infection: recommendations of the Polish Association of Epidemiologists and Infectiologists as of February 23, 2022. *Pol Arch Intern Med*. 2022;132:16230.
15. Chen Y, Fu W, Zheng Y, Yang J, Liu Y, Qi Z, et al. Galectin 3 enhances platelet aggregation and thrombosis via Dectin-1 activation: A translational study. *Eur Heart J*. 2022;43:3556-3574.
16. Kuśnierz-Cabala B, Maziarz B, Dumnicka P, Dembiński M, Kapusta M, Bociaga-Jasik M, et al. Diagnostic Significance of Serum Galectin-3 in Hospitalized Patients with COVID-19-A Preliminary Study. *Biomolecules*. 2021;11:1136.
17. Mackinnon AC, Gibbons MA, Farnworth SL, Leffler H, Nilsson UJ, Delaine T, et al. Regulation of transforming growth factor- β 1-driven lung fibrosis by galectin-3. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012;185:537-546.
18. Ho JE, Gao W, Levy D, Santhanakrishnan R, Araki T, Rosas IO, et al. Galectin-3 Is Associated with Restrictive Lung Disease and Interstitial Lung Abnormalities. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016;194:77-83.
19. Garcia-Revilla J, Deierborg T, Venero JL, Boza-Serrano A. Hyperinflammation and fibrosis in severe COVID-19 patients: Galectin-3, a target molecule to consider. *Front Immunol*. 2020;11:2069.
20. Arciniegas E, Carrillo LM, Salgado A. Potential role of galectin-glycan lattices in SARS-CoV-2 infection and pathogenesis: A hypothesis. *Explor Res Hypothesis Med*. 2021;6:142-145.
21. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*. 2021;372:n71.
22. Stang A. Critical evaluation of the Newcastle-Ottawa scale for the assessment of the quality of nonrandomized studies in meta-analyses. *Eur J Epidemiol*. 2010;25:603-605.
23. Hozo SP, Djulbegovic B, Hozo I. Estimating the mean and variance from the median, range, and the size of a sample. *BMC Med Res Methodol*. 2005;5:13.
24. Fletcher J. What is heterogeneity and is it important? *BMJ*. 2007;334:94-96.
25. Tufanaru C, Munn Z, Stephenson M, Aromataris E. Fixed or random effects meta-analysis? Common methodological issues in systematic reviews of effectiveness. *Int J Evid Based Healthc*. 2015; 13(3):196-207. doi: 10.1097/XEB.0000000000000065.
26. Valentine JC, Pigott TD, Rothstein HR. How many studies do you need? A primer on statistical power for meta-analysis. *J Educ Behav Stat*. 2010;35:215-247.
27. Baykan KE, Şebini E, Karaşahin Ö, Baykan AR, Cerrah S, Göğebakan H, et al. Galectin-3: can it be a diagnostic tool for pneumonia in covid-19 patients? *Turk J Med Sci*. 2021;51:2256-2262.
28. Baykiz D, Emet S, Ayduk-Govdeli E, Kaytaz M, Yavuz ML, Karaca-Ozer P, et al. Galectin-3 as a Novel Biomarker for Predicting Clinical Outcomes in Hospitalized COVID-19 Patients. *Clin Lab*. 2022;68:12.
29. Berber NK, Geçkil AA, Altan NÖ, Kıran TR, Otlı Ö, Erdem M. et al. Efficacy of serum apelin and galectin-3 as potential predictors of mortality in severe COVID-19 patients. *J Med Virol*. 2023;95: e28494.
30. Bruni F, Charitos P, Lampart M, Moser S, Siegemund M, Bingisser R, et al. Complement and endothelial cell activation in COVID-19 patients compared to controls with suspected SARS-CoV-2 infection: A prospective cohort study. *Front. Immunol*. 2022;13:941742.
31. Cervantes-Alvarez E, la Rosa NL, la Mora MS, Valdez-Sandoval P, Palacios-Jimenez M, Rodriguez-Alvarez F, et al. Galectin-3 as a potential prognostic biomarker of severe COVID-19 in SARS-CoV-2 infected patients. *Sci Rep*. 2022;12:1856.
32. Chen PK, Lan JL, Huang PH, Hsu JL, Chang CK, Tien N, et al. Interleukin-18 Is a Potential Biomarker to Discriminate Active Adult-Onset Still's Disease From COVID-19. *Front Immunol*. 2021;12:719544.
33. Ercin U, Aribas ET, Tuncbilek S, Kaya C, Sepici Dincel A, Bilgihan A, et al. Comparison of biochemical and immunological biomarker levels of patients with COVID-19 with healthy individuals. *Turk J Biochem*. 2021;46:367-375.
34. Gajovic N, Markovic SS, Jurisevic M, Jovanovic M, Arsenijevic N, Mijailovic Z, et al. Galectin-3 as an important prognostic marker for COVID-19 severity. *Sci Rep*. 2023 Jan 26;13(1):1460. doi: 10.1038/s41598-023-28797-5.
35. Karsli E, Anabarli Metin D, Canacik O, Sabirli R, Kaymaz B, Kurt O, et al. Galectin-3 as a Potential Prognostic Biomarker for COVID-19 Disease: A Case-Control Study. *Cureus*. 2022 Sep 5;14(9):e28805. doi: 10.7759/cureus.28805.
36. Kazancioglu S, Yilmaz FM, Bastug A, Ozbay BO, Aydos O, Yücel Ç, et al. Assessment of Galectin-1, Galectin-3, and Prostaglandin E2 Levels in Patients with COVID-19. *Jpn J Infect Dis*. 2021 Nov 22;74(6):530-536. doi: 10.7883/yoken.JJID.2021.020.

37. Kusnierz-Cabal B, Maziarz B, Dumnicka P, Dembin'ski M, Kapusta M, Bocia ga-Jasik M, et al. Diagnostic Significance of Serum Galectin-3 in Hospitalized Patients with COVID-19—A Preliminary Study. *Biomolecules*. 2021;11:1136. <https://doi.org/10.3390/biom11081136>.
38. Mithradas N, Sudhakar U, Rajaram V, Ram SV, Ravindram N, Warriar DV, et al. Evaluation of Salivary Galectin-3 Level and its Potential Role in Increasing the Severity of COVID-19 Infection in Patients with Periodontitis. *World J Dent*. 2023;14(1):3–8.
39. Özcan S, Dönmez E, Yavuz ST, Ziyrek M, İnce O, Küçük HS, et al. Prognostic significance of serum galectin-3 in hospitalized patients with COVID-19. *Cytokine*. 2022 Oct;158:155970. doi: 10.1016/j.cyto.2022.155970.
40. Portacci A, Diaferia F, Santomasi C, Dragonieri S, Boniello E, Di Serio F, et al. Galectin-3 as prognostic biomarker in patients with COVID-19 acute respiratory failure. *Respir Med*. 2021 Oct;187:106556. doi: 10.1016/j.rmed.2021.106556.
41. Puccini M, Jakobs K, Reinshagen L, Friebe J, Schencke PA, Ghanbari E, et al. Galectin-3 as a Marker for Increased Thrombogenicity in COVID-19. *Int J Mol Sci*. 2023;24:7683. <https://doi.org/10.3390/ijms24097683>.
42. Rodríguez-Tomás E, Iftimie S, Castañé H, Baiges-Gaya G, Hernández-Aguilera A, González-Viñas M, et al. Clinical Performance of Paraoxonase-1- Related Variables and Novel Markers of Inflammation in Coronavirus Disease-19. A Machine Learning Approach. *Antioxidants*. 2021;10:991. <https://doi.org/10.3390/antiox10060991>.
43. Tawiah K, Jackson L, Omosule C, Ballman C, Shahideh B, Scott MG, Murtagh G, Farnsworth CW. Serial cardiac biomarkers for risk stratification of patients with COVID-19. *Clin Biochem*. 2022 Sep;107:24-32. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2022.06.002.
44. Turnic TN, Popadic V, Klasnja S, Sekulic A, Nikolic N, Zivkovic V, et al. Bradykinin and Galectin-3 in Survived and Deceased Patients with COVID-19 Pneumonia: An Increasingly Promising Biochemical Target. *Oxid Med Cell Longev*. 2022 Oct 27;2022:7920915. doi: 10.1155/2022/7920915.
45. Behnouth AH, Khalaji A, Alemohammad SY, Kalantari A, Cannavo A, Dimitroff CJ. Galectins can serve as biomarkers in COVID-19: A comprehensive systematic review and meta-analysis. *Front Immunol*. 2023;14:1127247. doi:10.3389/fimmu.2023.1127247.
46. Zhan K, Wang L, Lin H, Fang X, Jia H, Ma X. Novel inflammatory biomarkers in the prognosis of COVID-19. *Ther Adv Respir Dis*. 2023; 17:17534666231199679. doi:10.1177/17534666231199679.
47. Gaughan EE, Quinn TM, Mills A, Bruce AM, Antonelli J, MacKinnon AC, et al. An Inhaled Galectin-3 Inhibitor in COVID-19 Pneumonitis: A Phase Ib/Ia Randomized Controlled Clinical Trial (DEFINE). *Am J Respir Crit Care Med*. 2023; 207(2):138-149. doi:10.1164/rccm.202203-0477OC.
48. Reddy K, Nichol A, McAuley DF. Galectin-3 Inhibition in COVID-19. *Am J Respir Crit Care Med*. 2023;207(2):118-120. doi:10.1164/rccm.202209-1758ED.
49. Sigamani A, Mayo KH, Miller MC, Chen-Walden H, Reddy S, Platt D. An Oral Galectin Inhibitor in COVID-19-A Phase II Randomized Controlled Trial. *Vaccines (Basel)*. 2023;11(4):731. doi:10.3390/vaccines11040731.
50. Fukui S, Ikeda K, Kobayashi M, Nishida K, Yamada K, Horie S, et al. Predictive prognostic biomarkers in patients with COVID-19 infection. *Mol Med Rep*. 2023; 27(1):15. doi:10.3892/mmr.2022.12902.
51. Mahat RK, Panda S, Rathore V, Swain S, Yadav L, Sah SP. The dynamics of inflammatory markers in coronavirus disease-2019 (COVID-19) patients: a systematic review and meta-analysis. *Clin Epidemiol Glob Health*. 2021; 11:100727. doi: 10.1016/j.cegh.2021.100727.
52. Cheng R, Liu C, Yang J, Yang Y, Chen R, Ding X, et al. Sex differences in the incidence and risk factors of myocardial injury in COVID-19 patients: a retrospective cohort study. *Front Physiol*. 2021; 12:632123. doi: 10.3389/fphys.2021.632123.
53. Go RC, Nyirenda T, Bojarian M, Hosseini DK, Kim K, Rahim M, et al. Racial/ethnic disparities on inflammation and response to methylprednisolone in severe COVID-19 pneumonia. *BMC Infect Dis*. 2022; 22(1):254. doi: 10.1186/s12879-022-07237-1.
54. McEvoy JW, Chen Y, Halushka MK, Christenson E, Ballantyne CM, Blumenthal RS, et al. Galectin-3 and Risk of Heart Failure and Death in Blacks and Whites. *J Am Heart Assoc*. 2016; 5(5):e003079. doi:10.1161/JAHA.115.003079.



© 2023 by the authors. This is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

Systematic Review in Immunology and COVID-19

Serum-soluble ST2 as a novel biomarker for COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis

Kacper DZIEDZIC¹, Lukasz SZARPAK², Michal PRUC³, Damian SWIECZKOWSKI⁴, Gabriella NUCERA⁵, Kavita BATRA⁶, Hicham KHABBACHE⁷, Mahmood BAHRAMIZADEH⁸, Murat YILDRIM⁹, Aldo SITIBONDO¹⁰, Sagar GALWANKAR¹¹, Eryka KARBOWSKA¹², Krzysztof KUREK¹³, Monika TOMASZEWSKA^{14,*}

Affiliations:

¹ Department of Clinical Research and Development, LUXMED Group, 02-676 Warsaw, Poland; Research Unit, Polish Society of Disaster Medicine, 02-676 Warsaw, Poland. Email: dzikac5@gmail.com. **ORCID:** 0000-0001-8930-2221.

² Colorectal Cancer Unit, Maria Skłodowska-Curie Białystok Oncology Center, 15-027 Białystok, Poland; Department of Clinical Research and Development, LUXMED Group, 02-676 Warsaw, Poland; Henry JN Taub Department of Emergency Medicine, Baylor College of Medicine Houston, Houston, TX, United States. Email: lukasz.szarpak@gmail.com. **ORCID:** 0000-0002-0973-5455.

³ Department of Clinical Research and Development, LUXMED Group, Warsaw, Poland; Department of Public Health, International European University, Kyiv, Ukraine. Email: m.pruc@ptmk.org. **ORCID:** 0000-0002-2140-9732.

⁴ Department of Toxicology, Faculty of Pharmacy, Medical University of Gdansk, 80-416 Gdansk, Poland. Email: d.swieczkowski@gumed.edu.pl. **ORCID:** 0000-0002-5648-4652.

⁵ Department of Emergency, Fatebenefratelli Hospital, ASST Fatebenefratelli and Sacco, Milan, Italy. Email: gabriella.nucera@asst-fbf-sacco.it. **ORCID:** 0000-0003-1425-0046.

⁶ Department of Medical Education and Office of Research, Kirk Kerkorian School of Medicine at UNLV, University of Nevada, Las Vegas, United States. Email: kavita.batra@unlv.edu. **ORCID:** 0000-0002-0722-0191.

⁷ Department of Psychology, Faculty of Arts and Human Sciences Fès-Saïss, Sidi Mohamed Ben Abdellah University, Fez-Morocco. Email: hichamcogn@gmail.com. **ORCID:** 0000-0001-9587-2829.

⁸ Orthotics and Prosthetics Department, University of Social Welfare and Rehabilitation Sciences, Tehran, Iran. Email: mbzoandp@gmail.com. **ORCID:** 0000-0002-4486-5204.

⁹ Department of Psychology, Agri Ibrahim Cecen University, Turkey. Email: muratyildirim@agri.edu.tr. **ORCID:** 0000-0003-1089-1380.

¹⁰ Infectious Disease Unit, University Hospital of Messina, Italy. Email: aldo.sitibondo@gmail.com. **ORCID:** 0009-0000-8534-8767.

¹¹ Emergency Medicine Department, Florida State University College of Medicine, Sarasota, United States. Email: gcsagar@yahoo.com. **ORCID:** 0009-0007-4530-9107.

¹² Colorectal Cancer Unit, Maria Skłodowska-Curie Białystok Oncology Center, 15-027 Białystok, Poland. Email: e.karbowska@ptmk.org. **ORCID:** 0000-0001-8469-9485.

¹³ Clinical Research and Development, LUXMED Group, Postępu 21C str., 02-676 Warsaw, Poland. Email: k.kurek@ptmk.org. **ORCID:** 0000-0001-7173-005X.

¹⁴ Clinical Research and Development, LUXMED Group, Postępu 21C str., 02-676 Warsaw, Poland. Email: m.tomaszewska@ptmk.org. ORCID: 0000-0001-9913-2406.

***Corresponding Author:**

Monika Tomaszewska, PhD, RN; Clinical Research and Development, LUXMED Group, Postępu 21C str., 02-676 Warsaw, Poland. E-mail: m.tomaszewska@ptmk.org. ORCID: 0000-0001-9913-2406.

Abstract

Introduction: While numerous biomarkers have demonstrated a link with the prognosis in patients with COVID-19, their practical applicability is constrained due to deficiencies in specificity, inadequate sensitivity, or a limited dynamic response. The objective of this systematic review and meta-analysis was to evaluate the role of the circulating soluble ST2 (sST2) levels as a predictive marker for the severity and mortality associated with COVID-19.

Methods: A systematic search was conducted in PubMed/MEDLINE, EMBASE, SCOPUS, and the Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL) databases until October 11, 2023 using well-defined search strategy. The occurrence of binary outcomes was determined through the computation of odds ratios (OR) with a 95% confidence interval (CI), employing the Mantel-Haenszel method. For continuous outcomes, the standard mean difference (SMD), along with a 95% CI, was the chosen metric. Pooled analysis was conducted using Stata version 17 (Stata Corp) and Review Manager v. 5.4 software (RevMan). The level of statistical significance was set at $p < 0.05$.

Results: Nine studies, including 1732 patients, met the eligibility criteria. A pooled analysis across trials indicates that sST2 levels are remarkably elevated in COVID-19 patients compared to non-COVID-19 individuals (39.3 ± 44.23 vs. 6.74 ± 6.25 ; $SMD = 3.52$; 95%CI: 1.72 to 5.32), significantly higher in severe than non-severe cases (94.07 ± 74.71 vs. 25.53 ± 7.36 ; $SMD = 3.87$; 95%CI: 2.69 to 5.05), and vary between survivors and non-survivors (43.18 ± 21.54 vs. 119.11 ± 113.98 ; $SMD = -2.84$; 95%CI: -4.49 to -1.19), with substantial differences in means and confidence intervals reported across these groups ($p < 0.001$).

Discussion: The evidence presented herein highlights sST2 as a promising biomarker for the assessment of COVID-19 severity and prognosis. Its correlation with mortality and severe disease phenotypes positions it as a potential target for therapeutic modulation and a candidate for inclusion in prognostic models.

Take-home message: The meta-analysis identifies serum-soluble ST2 as a significant biomarker for assessing the severity and predicting mortality in COVID-19 patients, demonstrating its potential for guiding clinical decisions and treatment strategies.

Keywords: SARS-CoV-2; COVID-19; biomarker; prediction; sST2; Soluble ST2.

Cite this paper as: Dziedzic K, Szarpak L, Pruc M, Swieczkowski D, Nucera G, Batra K, Khabbache H, Bahramizadeh M, Yildirim M, Sitibondo A, Galwankar S, Karbowska E, Kurek K, Tomaszewska M. Serum-soluble ST2 as a novel biomarker for COVID-19 severity and mortality: a systematic review and meta-analysis. *J Health Soc Sci* 2024;9(1):86-99. Doi: 10.19204/2024/SRMS3

Received: 03 December 2023

Accepted: 25 February 2024

Published: 15 March 2024

INTRODUCTION

The COVID-19 pandemic has cast an enduring shadow over the world. The emergence of the COVID-19 pandemic caused by the SARS-CoV-2 virus has resulted in an unprecedented global health crisis, presenting an urgent need for effective strategies to manage and mitigate its impact on individuals and healthcare systems worldwide [1 – 3]. As we grapple with the ongoing pandemic, one of the critical questions that demands answers is our capacity to predict the trajectory and severity of COVID-19 [4]. Since the pandemic's emergence, there has been an urgent requirement to discover reliable diagnostic and predictive methods that can assist healthcare professionals in quickly evaluating the severity of the illness and forecasting its progression [5–7].

As we try to understand how this complicated illness develops and what might happen, biomarkers can help us a lot by providing important information. Biomarkers are molecular or biochemical indicators that reflect underlying physiological or pathological processes within the body [8]. These markers provide valuable insights into disease mechanisms, progression, and responses to therapeutic interventions [9]. In our effort to understand how biomarkers can predict COVID-19, it's important to know that scientists and doctors from around the world are working collaboratively across borders to investigate this issue [10,11].

In the context of COVID-19, several diagnostic methods, e.g., biomarkers, are routinely employed to assess the severity of COVID-19, among others high-sensitivity C-reactive protein, D-dimers, procalcitonin, ferritin, lymphocyte and haemoglobin count, interleukins, lactate dehydrogenase, aminotransferases, blood creatinine, creatine kinase, erythrocyte sedimentation rate, blood urea nitrogen, and platelet count [5,7,12–17]. These molecular signposts not only aid in diagnosis and prognosis but also hold the potential to guide therapeutic interventions [18–20]. Additionally, a wide range of lesser-known markers, particularly those with relevance in cardiology, have been explored in the context of COVID-19 [21,22]. These emerging bio-markers may offer valuable insights into the intricate cardiovascular implications of the disease.

Cardiac biomarkers, such as soluble interleukin 33 receptor (ST2), high-sensitivity troponin I (hs-TnI), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), endothelial activation and stress index (EASIX) have garnered attention in the context of COVID-19 [21–23]. Hs-TnI, a sensitive indicator of cardiac injury, may signal myocardial stress among severe COVID-19 cases [21,22]. VCAM-1 reflects immune response and inflammation and is being studied for its potential role in assessing disease severity [21]. EASIX is emerging as a biomarker of endothelial activation and stress, shedding light on the vascular implications of COVID-19 [23]. However, in this publication, all the attention will be devoted to ST2, which resides on cell surfaces, manages immune responses, and navigates inflammatory processes [24]. While it has gained recognition for its significant involvement in various cardiovascular conditions [25], its prospective utility as a predictive biomarker within the framework of COVID-19 has increasingly captured the focus of rigorous research efforts [21–34]. Furthermore, combining the ST2 biomarker with other imaging studies, such as the Lung Ultrasound Zaragoza score (LUZ-score) provides a rapid and effective means of assessing the severity of COVID-19 [35]. The LUZ-score specialized lung ultrasound examination that allows for quick and efficient evaluation of lung involvement in the disease [33,35]. ST2 potential utility as a predictive biomarker in the realm of viral infections, particularly COVID-19, remains a subject of our research.

Understanding the prognostic significance of ST2 in COVID-19 has substantial implications for both clinical practice and research. Our analysis will provide an evidence of ST2's potential as a predictive biomarker. By summarizing our results with prior studies, we aspire to discern whether ST2's predictive prowess remains consistent across diverse populations, clinical settings, and methodological approaches. If ST2 levels prove to be indicative of disease severity and outcomes, clinicians could potentially use this biomarker to stratify patients based on risk, enabling more tailored treatment plans and efficient resource allocation. Additionally, these findings will expand our understanding of the complex immunological and inflammatory responses elicited by SARS-CoV-2 infection. In this backdrop, this systematic review and meta-analysis aim to evaluate soluble ST2 as a biomarker for the prognosis of COVID-19 severity and mortality.

METHODS

This systematic review and meta-analysis was registered in the PROSPERO (International Prospective Register of Systematic Reviews) database under registration number CRD42023480208 and followed the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses (PRISMA) standards [37].

Search strategy

Source electronic databases: PubMed/MEDLINE, EMBASE, SCOPUS, and the Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL).

Time frame: The search included all articles published in English up to October 11, 2023, across all databases, with no time restrictions. For each dataset, studies were identified using specific keywords.

Study types: The original articles published in peer-reviewed academic journals were included

Search strategy: Specific keywords. such as "SARS-CoV-2" OR "COVID-19" OR "novel coronavirus" OR "severe acute respiratory syndrome coronavirus 2" OR "nCOV" and "suppressor tumorigenicity biomarker 2" OR "ST2". In addition, the reference lists of the selected articles were manually screened for potentially relevant studies that could have been missed in the electronic databases.

Eligibility criteria

All research papers involving adult patients diagnosed with COVID-19 that provided data on ST2 levels along with clinical categorization or outcomes defined by validated clinical criteria for mortality or severity of COVID-19 were included in our study. We excluded certain types of publications: those not written in English, duplicates, and articles that were not original research (such as editorials, commentaries, letters to editors, review articles, case reports, or series).

Data extraction and risk of bias assessment

Two authors independently (K.D. and M.P.) extracted data from the studies, utilizing a specifically designed Excel spreadsheet for this task. To address any discrepancies between their findings, all authors collaborated to reach a unified decision. The data compiled encompassed various details: names of authors, country of origin, publication year, design of the study, size of the sample, average age, percentage of male participants, body mass index (BMI), and levels of suppressor tumorigenicity biomarker 2.

Two researchers (K.D. and F.C.) independently assessed the methodological integrity and potential for bias in qualifying studies. They employed the Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for appraising the quality of these studies. This scale operates on a nine-point system, categorizing the

assessment into three domains: participant selection, comparability, and outcome determination [38]. The scoring system for the NOS in cross-sectional and case-control studies ranges from zero to a maximum of nine points. Studies that achieved a score of 7 or above on the NOS were deemed to be of high quality. In instances of disagreement regarding the NOS scoring, a third researcher (L.S.) was brought in to mediate and resolve these differences.

Statistical analysis

The studies were pooled using Stata version 17 (Stata Corp., College Station, Texas, USA) and Review Manager 5.4 (Cochrane Collaboration in Copenhagen, Denmark). A comprehensive synthesis of data was undertaken when at least two studies in the review provided information regarding the outcomes being examined. The occurrence of binary outcomes was determined through the computation of odds ratios (OR) with a 95% confidence interval (CI), employing the Mantel-Haenszel method. For continuous outcomes, the standard mean difference (SMD), along with a 95% CI, was the chosen metric. In cases where only the median was available, the approach outlined by Hozo and colleagues was applied to estimate the average [39]. The standard mean difference was also the basis for a traditional pairwise meta-analysis. The presence of heterogeneity among studies was assessed using Cochran's Q statistic, calculated with H and I² indices. The I² statistic was specifically used to quantify the proportion of variation attributable to heterogeneity across studies. Generally, I² values are interpreted as follows: 0–25% suggests low heterogeneity, 26–75% indicates a moderate level, and 76–100% points to a high degree of heterogeneity [40].

All analyses used random effects models by default, even when there was a lot of variation. This was because there was evidence that these models were more reliable in terms of outcomes than fixed effects models [41]. The examination of publication bias involved the use of a funnel plot, supplemented by Egger's correlation and Begg's regression tests for more objective analysis. However, assessing publication bias in other aggregated findings was not feasible due to the limited number of studies; a minimum of 10 studies is needed for such an assessment [42]. Statistical testing was based on two-tailed p-values, with the threshold for significance set at 0.05. Furthermore, a sensitivity analysis, excluding one study at a time, was conducted to evaluate the influence of individual studies on the overall aggregated result.

RESULTS

Study characteristics

An initial retrieval yielded 275 unique records. Once the duplicate entries were removed and five more records found through manual reference searching were added, the titles, abstracts, and full texts of these studies were looked at to see if they were relevant. This process culminated in the identification of 21 potentially pertinent publications. From this subset, 12 studies were subsequently excluded following a more detailed evaluation (Figure 1). Ultimately, a total of nine studies, including 1732 patients, met the eligibility criteria and were incorporated into the systematic review and meta-analysis [21,26–30,33,34,43].

Table 1 shows the characteristics and risk of bias assessment of the included studies, respectively. Studies originated in Italy, the USA, Spain, Norway, the Republic of Korea, Germany, and China. Table 1 also shows the baseline characteristics of the patient populations of the studies included in the meta-analysis.

Figure 1. Flowchart detailing selection and screening of the studies included in this review.

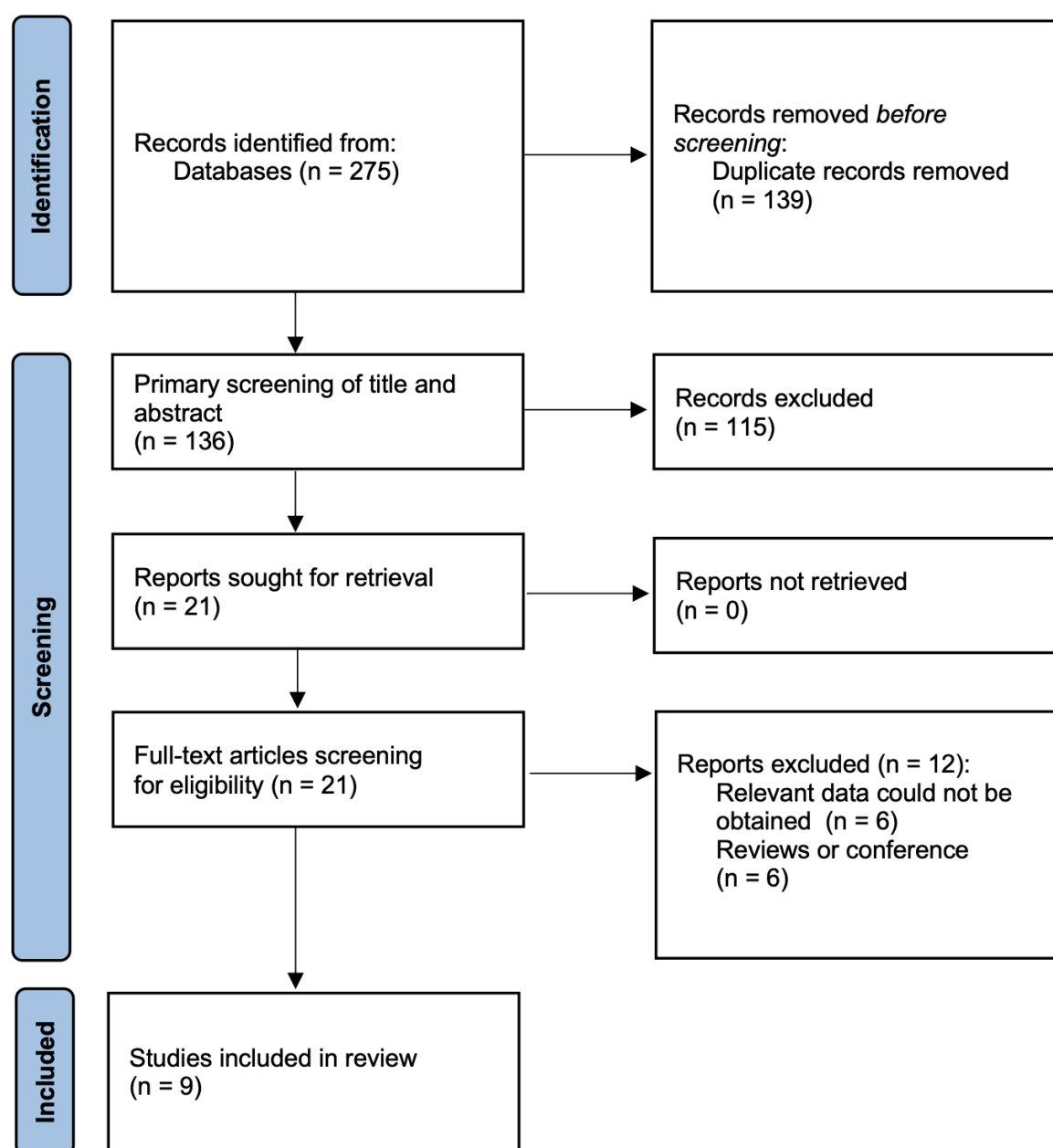


Table 1. Baseline characteristics of included trials (N=9 studies)

Study	Country	Study design	Study group	No.	Age, years	Sex, male	NOS score
Alladina et al., 2021	USA	Retrospective study	Severe	72	60.3 ± 12.7	45	8
			Non-severe	77	61.0 ± 16.3	50	
			Survived	42	57.1 ± 12.8	25	
			Decreased	30	64.6 ± 11.2	20	
	Spain		Severe	46	NS	NS	8

Arnaldos-Carrillo et al., 2023		Prospective observational study	Non-severe	449	NS	NS	
			Survived	450	55.9 [44.1, 69]	234 (52.1)	
			Decreased	45	77.0 [64, 82.0]	28 (62.2)	
Cabrera-Garcia et al., 2022	USA	Prospective cohort study	COVID-19	63	NS	NS	
			Non-COVID-19	43	NS	NS	
			Severe	47	61	28 (59.6%)	
			Non-severe	16	59	8 (50.0%)	
Motloch et al., 2022	Italy	Prospective study	Survived	269	59 (49; 66)	108 (41.9%)	8
			Decreased	11	73 (61; 82)	6 (55.0%)	
Omeland et al., 2021	Norway	Prospective study	Severe	35	NS	NS	7
			Non-severe	88	NS	NS	
			Survived	115	NS	NS	
			Decreased	8	NS	NS	
Park et al., 2023	Republic of Korea	Retrospective study	Severe	14	NS	NS	7
			Non-severe	38	NS	NS	
			Survived	40	NS	NS	
			Decreased	12	NS	NS	
Sabbatinelli et al., 2023	Italy	Retrospective cohort study	Survived	141	85(82–89)	48 (34.0%)	8
			Decreased	50	90(85–93)	21 (42.0%)	
Wendt et al., 2021	Germany	Prospective study	Survived	177	74 (62–83)	94 (53.11%)	8
			Decreased	44	80.5 (74–86)	28 (63.64%)	
Zeng et al., 2020	China	Prospective study	COVID-19	77	69 (24–88)	48 (62.3%)	9
			Non-COVID-19	38	52 (23–69)	20 (52.6%)	
			Severe	41	62 (29–88)	28 (68.3%)	
			Non-severe	36	54 (22–86)	20 (55.6%)	

Note: DM = diabetes mellitus; NS = not specified;

Outcomes

Pooled analysis of two trials [26, 33] showed that sST2 levels were statistically significantly higher in COVID-19 compared to non-COVID-19 patients and were 39.3 ± 44.23 and 6.74 ± 6.25 , respectively (SMD = 3.52; 95%CI: 1/72 to 5.32; $p < 0.001$). Six studies reported sST2 levels among severe vs. non-severe COVID-19 patients. Pooled analysis showed that ST2 levels were statistically significantly higher in the severe group compared to the non-severe COVID-19 group and were 94.07 ± 74.71 vs. 25.53 ± 7.36 , respectively (SMD=3.87; 95%CI: 2.69 to 5.05; $p < 0.001$; Figure 2).

Pooled analysis of sST2 levels among COVID-19 patients who survived vs. decreased varied and amounted to 43.18 ± 21.54 and 119.11 ± 113.98 , respectively (SMD = -2.84; 95%CI: -4.49 to -1.19; $p < 0.001$; Figure 3).

Figure 2. Forest plot of sST2 levels among severe vs. non-severe COVID-19 patients. The center of each square represents the mean differences for individual trials, and the corresponding horizontal line stands for a 95% confidence interval. The diamonds represent pooled results.

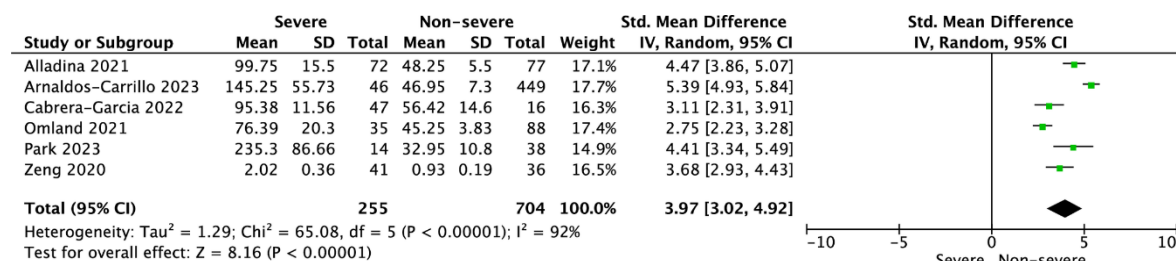
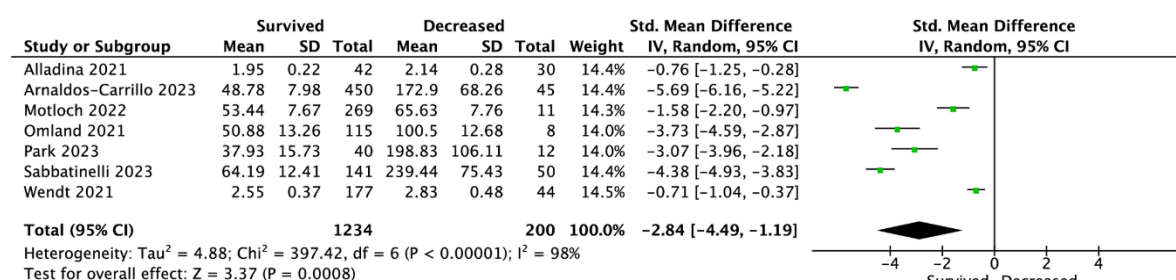


Figure 3. Forest plot of sST2 levels among survived vs. deceased COVID-19 patients. The center of each square represents the mean differences for individual trials, and the corresponding horizontal line stands for a 95% confidence interval. The diamonds represent pooled results.



DISCUSSION

Our meta-analysis brings to the forefront the crucial role of ST2 as a biomarker in the clinical landscape of COVID-19. The elevation of serum ST2 levels in patients with COVID-19, particularly in severe cases and those resulting in mortality, sheds light on its potential involvement in the intricate pathophysiological pathways of the disease. This discussion aims to elaborate on these findings, contextualize them within the broader scope of current research, and address the clinical and prognostic implications of ST2 in the management of COVID-19.

The etiology of COVID-19 is characterized by a complex immunological response that begins with a phase of viral proliferation and culminates in an exacerbated inflammatory response for a portion of the affected population [44]. Such a cascade of inflammation is instrumental in the pathogenesis of acute respiratory distress syndrome (ARDS), multi-organ dysfunction, and, in extreme instances, mortality. It has been found that ST2, a member of the interleukin-1 receptor family, can show signs of systemic inflammation and myocardial strain. It splits into two types: a membrane-bound type called ST2L and a soluble type called sST2. The soluble type acts as a fake receptor for interleukin-33 (IL-33), which helps control the inflammatory environment.

This narrative of ST2's role in COVID-19, augmented by rigorous academic discourse and empirical substantiation, affords a deeper understanding of its implications in clinical settings. The ensuing paragraphs will delve into the nuanced interplay between ST2 and COVID-19 pathogenesis,

explicate the prognostic significance of ST2 levels, and examine the biomarker's potential to inform therapeutic strategies and clinical outcomes.

In the milieu of COVID-19, the pathophysiological significance of elevated soluble ST2 (sST2) levels has been posited to be an indicator of an amplified state of systemic inflammation. The mechanistic underpinnings of this hypothesis are anchored in the biological interactions of sST2 with its functional ligand, interleukin-33 (IL-33) [45]. IL-33 is a cytokine released consequent to cellular injury, acting as an alarmin that potentiates the immune system's responsivity. Scholarly investigations have elucidated that in the setting of COVID-19, where the immune response can become aberrantly hyperactive, the accrual of sST2 may represent a homeostatic countermeasure, endeavoring to mitigate this hyperactivity. The elevation of sST2 ostensibly functions by sequestering IL-33, thus curtailing its bioavailability for interaction with the membrane-bound ST2 ligand (ST2L) on immunocytes [25,26,46]. This sequestration ostensibly tempers the IL-33-mediated signaling cascades that would otherwise exacerbate the inflammatory response. Ergo, the heightened serum concentrations of sST2 observed in the severest COVID-19 contingents could be emblematic of a physiological attempt to attenuate the dysregulated immune dynamics characteristic of the disease's grave manifestations. This nuanced understanding of the sST2-IL-33 axis in the context of COVID-19 not only expands the biomolecular narrative of the disease but also augments the potential repertoire of biomarkers for gauging disease severity and therapeutic response.

The essence of a biomarker's prognostic utility is encapsulated in its capacity to forecast clinical endpoints, navigate therapeutic courses, and surveil the trajectory of a disease's progression. In line with this discussion, our meta-analysis results, along with supporting evidence from Omland et al. [34], show a strong link between sST2 levels and the range of disease severity and death in COVID-19 cohorts. This correlative potency of sST2, particularly in the context of intensive care unit (ICU) admissions and mortality rates, predicates its potential utility as a prognostic adjunct to be employed in concert with an array of clinical parameters. Such integration could efficaciously enhance the identification of patients predisposed to adverse outcomes. Using sST2 in this predictive framework could give clinicians the knowledge to ahead of time sort risk profiles, wisely distribute medical resources, and find the right level of patient monitoring, which would lead to better clinical management paradigms.

The fact that soluble ST2 (sST2) is linked to a number of inflammatory, coagulative, and cardiovascular markers not only gives us a better idea of how it plays a role in the development of COVID-19, but it also supports its potential as a multidimensional biomarker. The fact that severe COVID-19 symptoms are often accompanied by a heightened inflammatory response and coagulopathy, both of which are expected to make clinical outcomes worse, suggests that sST2 plays a key role in the underlying pathophysiological processes. Additionally, the fact that high sST2 levels are linked to signs of thromboembolic events and myocardial distress shows how useful it is for letting us know how bad the damage is to the whole body. This suggests that sST2 may be a sign of the thrombo-inflammatory effects that come with having a severe disease. This integrative biomarker profile of sST2 therefore emerges as a quintessential element in the paradigm of biomarker-guided management of COVID-19, furnishing clinicians with a tool that potentially transcends the capabilities of traditional single-axis markers.

The corroborative evidence substantiating the utility of soluble ST2 (sST2) as a biomarker beckons its judicious assimilation into clinical practice, warranting a deliberate and methodical approach. The incorporation of sST2 level determinations into the standard laboratory protocol for patients hospitalized with COVID-19 is proposed, with the caveat that such measurements should be meticulously interpreted. It is important to recognize that sST2 levels can be affected by other factors, especially cardiovascular diseases that were already present, which can make their true clinical significance harder to understand [47,48]. Also, it is vital to quickly and accurately find the sST2 thresholds that can be used in clinical settings, meaning that they can reliably tell the difference between the different levels of disease severity and predict the course of the disease in the COVID-19 setting [49,50]. These endeavors to refine the clinical applicability of sST2 will enhance its prognostic precision and cement its status as an integral component of patient assessment and management [51-54].

Our study, albeit insightful, is not without limitations. The pooled analysis, while robust, is derived from a limited number of studies and populations. Larger studies with diverse cohorts are essential to validating our findings. Additionally, the dynamic nature of sST2 levels during the course of the COVID-19 infection and the impact of therapeutic interventions on these levels warrant further investigation. Future research should aim to unravel the temporal changes in sST2 levels in relation to disease progression, therapeutic responses, and recovery. Longitudinal studies could show if the drop in sST2 levels is linked to better health, proving that it is a useful tool for tracking the progression of a disease. Moreover, mechanistic studies are needed to understand the role of the IL-33/ST2 axis in the immunopathology of COVID-19.

CONCLUSION

The evidence presented herein highlights sST2 as a promising biomarker for the assessment of COVID-19 severity and prognosis. Its correlation with mortality and severe disease phenotypes positions it as a potential target for therapeutic modulation and a candidate for inclusion in prognostic models.

Author Contributions: Conceptualization: KD, LS.; methodology: KD, and LS; software: MP, LS.; validation: LS, GN, SG, and KK; formal analysis, LS, KD, AK; investigation: KD, LS, MP, DS, AK and GN; resources: KD, LS; data curation: KD, LS, MP, DS, AK and GN; writing—original draft preparation: KD, LS, MP, DS, MT, and KK; writing—review and editing, all authors; visualization: KD, LS; supervision: LS; project administration: MM. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: None

Acknowledgments: Study supported by World Academic Council of Emergency Medicine (WACEM).

Conflicts of Interest: None

Data Availability Statement: Some or all data and models that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Publisher's Note: Edizioni FS stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliation.

References

1. Smereka J, Szarpak L, Filipiak KJ. Modern medicine in COVID-19 era. *Disaster Emerg Med J*. 2020; 5:103-105.
2. Zafar M. Impact of the COVID-19 on the Health System and Healthcare Workers: A Systematic Review. *Health Scope*. 2022;11: e123211.
3. Ruetzler K, Szarpak L, Filipiak KJ, Ladny JR, Smereka J. The COVID-19 pandemic — a view of the current state of the problem. *Disaster Emerg Med J*. 2020; 5:106-107.
4. Bielski K, Szarpak A, Jaguszewski MJ, Kopiec T, Smereka J, Gasecka A, et al. The Influence of COVID-19 on Out-Hospital Cardiac Arrest Survival Outcomes: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Med*. 2021; 10:5573.
5. Gao Y, Li T, Han M, Li X, Wu D, Xu Y, et al. Diagnostic utility of clinical laboratory data determinations for patients with the severe COVID-19. *J Med Virol*. 2020; 92:791–796.
6. Mudatsir M, Fajar JK, Wulandari L, Soegiarto G, Ilmawan M, Purnamasari Y, et al. Predictors of COVID-19 severity: a systematic review and meta-analysis. *F1000Res*. 2021; 9:1–26.
7. Velavan TP, Meyer CG. Mild versus severe COVID-19: Laboratory markers. *Int J Infect Dis*. 2020; 95:304-307.
8. Puntmann VO. How-to guide on biomarkers: Biomarker definitions, validation and applications with examples from cardiovascular disease. *Postgrad Med J*. 2009; 85:538–545.
9. Song P, Karako T. Scientific solidarity in the face of the COVID-19 pandemic: researchers, publishers, and medical associations. *Glob Health Med*. 2020; 2:56–59.
10. Saxena N, Gupta P, Raman R, Rathore AS. Role of data science in managing COVID-19 pandemic. *Indian Chem Eng*. 2020; 62:385–395.
11. Semiz S. COVID19 biomarkers: What did we learn from systematic reviews? *Front Cell Infect Microbiol*. 2022; 12:1–15.
12. Dziedzic K, Pruc M, Kilic M, Ahj R, Yildirim M, Szarpak L, et al. Sex- and gender-specific differences in the inflammatory response to COVID-19: the role of the neutrophil-to-lymphocyte ratio. *Disaster Emerg Med J*. 2023; 8:234-242.
13. Matuszewski M, Ładny J, Rafique Z, Peacock F, Pruc M, Gasecka A, et al. Prediction value of soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) in COVID-19 patients - a systematic review and meta-analysis. *Ann Agric Environ Med*. 2023; 30:142-147.
14. Dubey L, Lytvyn H, Dorosh O, Dubey N, Kozlova O, Pruc M, et al. The pathogenesis of COVID-19: Hypercoagulation and D-dimer in thrombotic complications. *J Health Soc Sci*. 2023;8(1):45-58.
15. Matuszewski M, Szarpak L, Pruc M, Pedrycz-Wieczorska A, Kilic M, Ak R, et al. Platelet-to-lymphocyte ratio as a prognostic biomarker for COVID-19 severity: a single center retrospective data analysis and systematic review with meta-analysis of 187 studies. *Disaster Emerg Med J*. 2023; 8:198-206.
16. Fialek B, Pruc M, Smereka J, Jas R, Rahnema-Hezavah M, Denegri A, et al. Diagnostic value of lactate dehydrogenase in COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Cardiol J*. 2022; 29:751-758.
17. Matuszewski M, Afolabi AA, Ilesanmi OS, Pruc M, Navolokina A, Al-Jeabory M, et al. Associations between Interleukin-4 and COVID-19 severity: A systematic review and meta-analysis. *J Health Soc Sci*. 2022;7(4):381-396.
18. Bivona G, Agnello L, Ciaccio M. Biomarkers for prognosis and treatment response in covid-19 patients. *Ann Lab Med*. 2021; 41:540–548.

19. Kermali M, Khalsa RK, Pillai K, Ismail Z, Harky A. The role of biomarkers in diagnosis of COVID-19 - A systematic review. *Life Sci.* 2020; 254:117788.
20. Szarpak Ł, Nowak B, Kosior D, Zaczynski A, Filipiak KJ, Jaguszewski MJ. Cytokines as predictors of COVID-19 severity: evidence from a meta-analysis. *Pol Arch Intern Med.* 2021; 131:98-99.
21. Motloch LJ, Jirak P, Gareeva D, Davtyan P, Gumerov R, Lakman I, et al. Cardiovascular Biomarkers for Prediction of in-hospital and 1-Year Post-discharge Mortality in Patients With COVID-19 Pneumonia. *Front Med.* 2022; 9:906665.
22. Li P, Wu W, Zhang T, Wang Z, Li J, Zhu M, et al. Implications of cardiac markers in risk-stratification and management for COVID-19 patients. *Crit Care.* 2021;25:158.
23. Luft T, Wendtner CM, Kosely F, Radujkovic A, Benner A, Korell F, et al. EASIX for Prediction of Outcome in Hospitalized SARS-CoV-2 Infected Patients. *Front Immunol.* 2021; 12:1-9.
24. Chen WY, Tsai TH, Yang JL, Li LC. Therapeutic Strategies for Targeting IL-33/ST2 Signalling for the Treatment of Inflammatory Diseases. *Cell Physiol Biochem.* 2018; 49:349-358.
25. Sun Y, Pavey H, Wilkinson I, Fisk M. Role of the IL-33/ST2 axis in cardiovascular disease: A systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE.* 2021; 16:1-11.
26. Zeng Z, Hong XY, Li Y, Chen W, Ye G, Li Y, et al. Serum-soluble ST2 as a novel biomarker reflecting inflammatory status and illness severity in patients with COVID-19. *Biomark Med.* 2020; 14:1619-1629.
27. Wendt R, Lingitz MT, Laggner M, Mildner M, Traxler D, Graf A, et al. Clinical Relevance of Elevated Soluble ST2, HSP27 and 20S Proteasome at Hospital Admission in Patients with COVID-19. *Biol.* 2021;10: 1186.
28. Alladina JW, Giacona FL, White EB, Brait KL, Abe EA, Michelhaugh SA, et al. Soluble Suppression of Tumorigenicity-2 Associates with Ventilator Dependence in Coronavirus Disease 2019 Respiratory Failure. *Crit Care Explor.* 2021;3: e0480.
29. Arnaldos-Carrillo M, Noguera-Velasco JA, Martínez-Ardil IM, Riquelme-Pérez A, Cebreiros-López I, Hernández-Vicente Á, et al. Value of increased soluble suppressor tumorigenicity biomarker 2 (sST2) on admission as an indicator of severity in patients with COVID-19. *Med Clin (Barc).* 2023; 161:185-191.
30. Park M, Hur M, Kim H, Lee CH, Lee JH, Kim HW, et al. Soluble ST2 as a Useful Biomarker for Predicting Clinical Outcomes in Hospitalized COVID-19 Patients. *Diagnostics.* 2023; 13:1-16.
31. Samchuk OO, Chetaikina AV, Kapustynskiy OO, Kapustynska OS, Matolinets NV, Denysenko NV, et al. SST2 and NT-proBNP biomarkers in prediction of COVID-19. *Emerg Med.* 2023; 19:176-180.
32. Sánchez-Marteles M, Rubio-Gracia J, Peña-Fresneda N, Garcés-Horna V, Gracia-Tello B, Martínez-Lostao L, et al. Early measurement of blood sst2 is a good predictor of death and poor outcomes in patients admitted for covid-19 infection. *J Clin Med.* 2021; 10:3534.
33. Cabrera-Garcia D, Miltiades A, Yim P, Parsons S, Elisman K, Mansouri MT, et al. Plasma biomarkers associated with survival and thrombosis in hospitalized COVID-19 patients. *Int J Hematol.* 2022; 116:937-946.
34. Omeland T, Prebensen C, Jonassen C, Svensson M, Berdal JE, Seljeflot I, et al. Soluble ST2 concentrations associate with in-hospital mortality and need for mechanical ventilation in unselected patients with COVID-19. *Open Heart.* 2021;8:e001884.
35. Rubio-Gracia J, Sánchez-Marteles M, Garcés-Horna V, Martínez-Lostao L, Ruiz-Laiglesia F, Crespo-

- Aznarez S, et al. Multiple approaches at admission based on lung ultrasound and biomarkers improves risk identification in covid-19 patients. *J Clin Med*. 2021; 10:1–11.
36. Dell'Aquila P, Raimondo P, Racanelli V, De Luca P, De Matteis S, Pistone A, et al. Integrated lung ultrasound score for early clinical decision-making in patients with COVID-19: results and implications. *Ultrasound J*. 2022; 14:4–11.
37. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*. 2021;372: n71.
38. Stang A. Critical evaluation of the Newcastle-Ottawa scale for the assessment of the quality of nonrandomized studies in meta-analyses. *Eur J Epidemiol*. 2010; 25:603-605.
39. Hozo SP, Djulbegovic B, Hozo I. Estimating the mean and variance from the median, range, and the size of a sample. *BMC Med Res Methodol*. 2005;5:13.
40. Fletcher J. What is heterogeneity and is it important? *BMJ*. 2007; 334:94-96.
41. Tufanaru C, Munn Z, Stephenson M, Aromataris E. Fixed or random effects meta-analysis? Common methodological issues in systematic reviews of effectiveness. *Int J Evid Based Healthc*. 2015; 13:196-207.
42. Valentine JC, Pigott TD, Rothstein HR. How many studies do you need? A primer on statistical power for meta-analysis. *J Educ Behav Stat*. 2010; 35:215-247.
43. Sabbatinelli J, Di Rosa M, Giuliani A, Domenichelli M, Bonfigli AR, Sarzani R, et al. Serum levels of soluble suppression of tumorigenicity 2 (sST2) and heart-type fatty acid binding protein (H-FABP) independently predict in-hospital mortality in geriatric patients with COVID-19. *Mech Ageing Dev*. 2023; 216:111876.
44. Boechat JL, Chora I, Morais A, Delgado L. The immune response to SARS-CoV-2 and COVID-19 immunopathology - Current perspectives. *Pulmonology*. 2021; 27:423-437.
45. Furci F, Murdaca G, Allegra A, Gammeri L, Senna G, Gangemi S. IL-33 and the Cytokine Storm in COVID-19: From a Potential Immunological Relationship towards Precision Medicine. *Int J Mol Sci*. 2022; 23:14532.
46. Griesenauer B, Paczesny S. The ST2/IL-33 Axis in Immune Cells during Inflammatory Diseases. *Front Immunol*. 2017; 8:475.
47. Ragusa R, Basta G, Del Turco S, Caselli C. A possible role for ST2 as prognostic biomarker for COVID-19. *Vascul Pharmacol*. 2021; 138:106857.
48. Nucera G, Chirico F, Raffaelli V, Marino P. Current challenges in COVID-19 diagnosis: a narrative review and implications for clinical practice. *Ital J Med*. 2021; 15:129-134.
49. Chirico F, Nucera G, Szarpak L. COVID-19 mortality in Italy: The first wave was more severe and deadly, but only in Lombardy region. *J Infect*. 2021 Jul;83(1):e16. doi: 10.1016/j.jinf.2021.05.006. Epub 2021 May 14.
50. Chirico F, Nucera G, Magnavita N. Estimating case fatality ratio during COVID-19 epidemics: Pitfalls and alternatives. *J Infect Dev Ctries*. 2020;14(5):438-439. Published 2020 May 31. doi:10.3855/jidc.12787.
51. Chirico F, Nucera G, Szarpak L, Zaffina S. The cooperation between occupational and public health stakeholders has a decisive role in the battle against the COVID-19 pandemic. *Disaster Med Public Health Prep*. 2021 Dec 23:1-2. doi: 10.1017/dmp.2021.375. Epub ahead of print.

52. Chirico F, Nucera G, Ilesanmi O, Afolabi A, Pruc M, Szarpak L. Identifying asymptomatic cases during the mass COVID-19 vaccination campaign: insights and implications for policy makers. *Future Virol.* 2021 Nov. doi: 10.2217/fvl-2021-0243. Epub 2021 Dec 15.
53. Magnavita N, Sacco A, Nucera G, Chirico F. First aid during the COVID-19 pandemic. *Occup Med (Oxford Med).* 2020 Oct 1;70(7):458-460. doi:10.1093/occmed/kqaa148.
54. Chirico F, Nucera G, Magnavita N. Hospital infection and COVID-19: Do not put all your eggs on the “swab” tests. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2021; 42:372–373. <https://doi.org/10.1017/ice.2020.254>.



© 2024 by the authors. This is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)



Surfactant Protein-D (SP-D) serum levels as a predictor of COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis

Kacper DZIEDZIC¹, Monika TOMASZEWSKA², Michal PRUC³, Gabriella NUCERA⁴, Damian SWIECZKOWSKI⁵, Maciej KOSELAK⁶, Lukasz SZARPAK^{7*}

¹Department of Clinical Research and Development, LUXMED Group, Warsaw, Poland. E-mail: k.dziedzic@ptmk.org ORCID: 0000-0001-8930-2221

Cite this paper as: Dziedzic K, Tomaszewska M, Pruc M, Nucera G, Swieczkowski D, Koselak M, Szarpak L. Surfactant Protein-D (SP-D) serum levels as a predictor of COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis. *Adv Med Psychol Public Health*. 2024;1(4):174-184. Doi: 10.5281/zenodo.11075270

²Department of Clinical Research and Development, LUXMED Group, Warsaw, Poland. E-mail: monika.tomaszewska@luxmed.pl ORCID: 0000-0001-9913-2406

³Department of Clinical Research and Development, LUXMED Group, Warsaw, Poland; Department of Public Health, International European University, Kyiv, Ukraine. E-mail: m.pruc@ptmk.org ORCID: 0000-0002-2140-9732

⁴Fatebenefratelli Hospital, Milano, Italy. E-mail: gabriellannucera@gmail.com ORCID: 0000-0003-1425-0046

⁵Department of Toxicology, Faculty of Pharmacy, Medical University of Gdansk, Poland; Department of Clinical Research and Development, LUXMED Group, Warsaw, Poland. E-mail: d.swieczkowski@gumed.edu.pl ORCID: 0000-0002-5648-4652

⁶Institute of Outcomes Research, Maria Skłodowska-Curie Medical Academy, Warsaw, Poland. E-mail: m.koselak@ptmk.org ORCID: 0000-0003-3945-4344

⁷Department of Clinical Research and Development, LUXMED Group, Warsaw, Poland; Research Unit, Maria Skłodowska-Curie Białystok Oncology Center, Warsaw, Poland; Institute of Outcomes Research, Maria Skłodowska-Curie, Warszawa, Poland; Henry JN Taub Department of Emergency Medicine, Baylor College of Medicine, Houston, TX, USA. E-mail: lukasz.szarpak@gmail.com ORCID: 0000-0002-0973-5455

*Correspondence

Received: 10 February 2024

Revised: 15 April 2024

Accepted: 25 April 2024

Abstract

Introduction: This study investigates the diagnostic and prognostic potential of Surfactant Protein D (SP-D), in distinguishing COVID-19 patients from healthy controls and predicting outcomes in infected individuals. Through a comprehensive systematic review and meta-analysis, we aim to elucidate the role of SP-D in the clinical management of COVID-19, addressing a crucial gap in current biomarker research.

Methods: We searched PubMed, Embase, Web of Science, and Scopus, for articles published in English up to January 21, 2024. We employed a systematic review and meta-analysis approach, searching multiple databases for studies that measured SP-D levels in COVID-19 patients and healthy controls. The inclusion criteria were strictly defined to ensure the selection of studies with high-quality data, and statistical analyses were performed to assess the diagnostic and prognostic value of SP-D in the context of COVID-19.

Results: Twelve studies were included in this systematic review and meta-analysis. Pooled analysis showed that SP-D levels among those groups of patients varied and amounted to 44.38 ± 74.71 vs. 21.29 ± 31.8 , respectively (SMD = 1.39; 95%CI: 0.35 to 2.43; $p=0.009$). Pooled

analysis of SP-D values among severe and non-severe COVID-19 patients was 58.28 ± 101.8 and 94.69 ± 114.22 respectively (SMD = 0.44; 95%CI: -0.78 to 1.66; $p=0.48$). SP-D levels also did not detect statistically significant differences in COVID-19 patients who survived and died in the hospital (27.18 ± 16.4 vs. 29.12 ± 14.14 ; SMD = 0.07; 95%CI: -0.28 to 0.42; $p=0.70$).

Conclusions: Results of the current systematic review and meta-analysis indicated that SP-D may be a good marker for differentiating patients with COVID-19 from healthy patients, but it does not provide prognostic value among patients with COVID-19. Further studies are needed to confirm the results.

Take-home message: The systematic review and meta-analysis conducted on circulating pneumoproteins, specifically SP-D, in the context of COVID-19, suggests that SP-D can differentiate between COVID-19 patients and healthy individuals but lacks prognostic value for outcomes among those with COVID-19. This indicates a need for further research to explore and confirm the diagnostic capabilities of SP-D and other pneumoproteins in COVID-19.

Keywords: ARDS; COVID-19; meta-analysis; mortality; Surfactant Protein-D; severity.

INTRODUCTION

The search for diagnostic and prognostic biomarkers among patients diagnosed with COVID-19 is an important area of scientific research in the period since the outbreak of the pandemic. Efforts to find optimal diagnostic and prognostic biomarkers did not cease once the pandemic was under control [1]. Biomarkers are intended to facilitate the prediction and stratification of patients with COVID-19, i.e., to select populations with an increased risk, thus the likelihood of a more aggressive course of the disease, an increased chance of admission to hospital, the need for care in intensive care units, or indicate an increased risk of risk of death [2,3]. Due to the fact that in severe cases of COVID-19, an increased response of the immune system is observed, sometimes leading to a cytokine storm, many of the biomarkers are derived from indicators of inflammation, e.g. neutrophil count, neutrophil-to-lymphocyte ratio or C-reactive protein (CRP) [4 – 6]. Especially the latter, CRP, is extremely useful in distinguishing severe vs. non-severe course of COVID-19. A high CRP value allowed for the prediction of the risk of low oxygen saturation or an increased risk of hospitalisation. This family of biomarkers also includes interleukins, e.g. IL-6 [7 – 9]. Other groups of biomarkers may indicate potential multi-organ damage in the course of COVID-19, e.g. transaminases or lactate dehydrogenase (LDH) [10,11]. Another group of biomarkers are those that are supposed to indicate response to treatment, which is particularly important in the case of COVID-19, due to the fact that insufficient response to treatment should be noticed quickly and lead to modification of therapy, including intensification of current treatment [12,13].

Ke et al. defined pneumoproteins as lung-specific proteins released from the lungs as a result of tissue damage [14]. Some pneumoproteins are not only present on the surface of the respiratory system, but also penetrate the circulation and can be detected in the blood. Previously, pneumoproteins have been investigated for their usefulness as prognostic biomarkers in chronic obstructive pulmonary disease (e.g., surfactant protein-D, SP-D; club cell secretory protein-16, CC-16) [15,16]. Park et al. showed that a reduction in CC-16 concentration in COPD patients was associated with an accelerated reduction in the respiratory fraction FEV1 over a 9-year period [17]. Moreover, Lomas et al. showed that the mean level of SP-D was increased in the population of COPD patients compared to current smokers and people who smoked in the past; in both comparison groups, no airflow obstruction was identified [18]. However, further research is required to assess the usefulness

of pneumoproteins in selected patient populations. This need is indicated, among others, by: study conducted by Jeon et al. among HIV-infected individuals [15]. Due to the fact that lung damage occurs in the course of COVID-19, pneumoproteins can potentially be used as diagnostic and prognostic biomarkers, as indicated by preliminary studies. In addition to the pneumoproteins mentioned above, important from the point of view of potential prognostic and diagnostic properties in the course of COVID-19 are: Krebs von den Lungen-6 (KL-6), surface protein A (SP-A) and advanced glycation end-products (RAGEs) [14].

Taking into consideration all, the aim of the current study is to conduct systematic review and meta-analysis of circulating in blood pneumoproteins in the context of their usefulness as prognostic and diagnostic biomarkers in COVID-19 on the example of SP-D.

METHODS

A systematic review was conducted using the guidelines outlined in the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis (PRISMA) statement [19]. The study was preregistered in the International Prospective Register of Systematic Review (PROSPERO) with the registration number CRD42024510643.

Data sources and search strategy

Two independent reviewers (K.D. and M.P.) conducted a thorough screening of all records identified in the initial search. The screening process involved evaluating the relevance of the records based on their titles, abstracts, and full texts. Conflicts between the two reviewers were resolved by discussion among all the authors. We searched PubMed, Embase, Web of Science, and Scopus, for articles published in English from January 01, 2020, until January 21, 2024. Search in the aforementioned databases, we employed combinations of Medical Subject Heading: “Pulmonary Surfactant Associated Protein D” OR “surfactant protein D” OR „SP-D” AND “coronavirus” OR “corona-virus” OR “COVID” OR “COVID 19” OR “COVID-19” OR “COVID19” OR “Coronavirus disease 2019” OR “nCOV” OR “novel coronavirus” OR “new coronavirus” OR “2019-nCoV” OR “SARS-CoV2” OR “Sars-CoV-2 infection” OR “severe-acute-respiratory-syndrome-related coronavirus 2”.

Following the elimination of duplicates, two autonomous researchers (K.D. and M.T.) examined the titles and abstracts of the acquired papers to find articles that satisfied the inclusion criteria. Subsequently, the complete text of the chosen articles was obtained and assessed. In the event of divergent opinions, a consensus was formed or a third researcher (KA) was consulted to make a decision. Every article obtained was compared to prevent any possible duplication. In addition, the reference lists of the collected publications and relevant reviews were manually examined to identify any other potential articles.

Inclusion criteria and study eligibility

Trials were considered eligible for analysis if they met the following criteria: (1) reported quantitative measures of plasma SP-D in individuals with the COVID-19 and in healthy controls, severe vs. non-severe COVID-19 patients as well as survive vs. non-survive COVID-19 patients; (2) reported original data; and (3) were not case reports due to low sample size. We excluded duplicated studies or multiple publications of the same study. We also excluded basic research, review articles, conference papers, editorials, case reports, non-human research studies, incorrect subject studies, non-English studies and studies of unavailable data.

Data extraction

For each eligible article, 2 reviewers (K.D. and G.N.) independently extracted data using a standard data collection sheet, which included demographic information about study participants, methodological information (e.g., first author name, origin country, study design), and information about SP-D levels. Discussions with the third researcher (KA) helped to resolve any disagreements. Corresponding authors of select studies were contacted in cases of missing data.

Quality assessment

Two researchers (K.D. and M.T.) independently rated risk of bias using the Newcastle-Ottawa quality assessment scale [20]. Different opinion in the eligibility and quality assessment of the records were resolved by discussion with the senior investigator (L.S.). For case-control studies, this comprised the determination of (1) adequate case definition, (2) representativeness of cases, (3) selection of control, (4) definition of control, (5) comparability of case and control groups, (6) exposure, (7) whether there were identical exposure methods for cases and controls, and (8) nonresponse rate. We used the conventional cut-off values to code a NOS ≥ 7 as high, 5-6 as moderate and 4 as low-quality studies.

Statistical analysis

The statistical analysis was performed in accordance with the recommendations of the Cochrane Collaboration and the standards for reporting the quality of meta-analyses [21]. All statistical analyses were two-sided, with statistical significance attained by a P-value < 0.05 . The mean and standard deviation (SD) of all parameters were extracted from the included articles for continuous and binary data. When the continuous outcome was reported as median, range, and interquartile range, we estimated means and standard deviations using the formula described by Hozo et al. [22]. A random-effects meta-analysis model based on inverse-variance approach in RevMan software (version 5.4, Nordic Cochrane Centre, Cochrane Collaboration, Denmark) was used to pool the data. Standardized mean differences (SMDs) in the form of Hedges' g (and 95% Confidence Intervals [CIs]) were used to calculate the difference between the levels. The Q value and I^2 were used to test the heterogeneity. $P < 0.10$ was considered to indicate heterogeneity between combined studies. I^2 values of 0–25% indicated no heterogeneity, 25–50% indicated mild heterogeneity, 50–75% indicated moderate heterogeneity, and 75–100% indicated major heterogeneity [23]. In case of more than 10 studies were combined in the meta-analysis, a funnel plot would be used to assess the publication bias by Egger's test. Funnel plots were visually inspected for potential outliers which were analyzed using the leave-one-out meta-analysis method in STATA 17.0. All analyses were based on previous published studies; thus no ethical approval and patient consent were required.

RESULTS

Study selection and characteristics of the included studies

A total of 916 records were found from the literature and two more were identified from references of included articles. After duplicate removal, another 372 were considered irrelevant and excluded from further analysis following abstract and title review, leaving 35 studies for full-text review. Further, 23 studies were excluded from analysis for not reporting plasma SP-D levels. A total of 12 publications met all inclusion criteria and were included in the meta-analysis [24 – 35]. The data used for the present analysis are derived from a total of 892 subjects. The participants were postmenopausal women from China, Germany, Indonesia, Japan, Turkey, Republic of Korea and Russia. A detailed description of all meta-analyzed studies can be found in Tables 1. Detailed NOS scores are presented in the Table 1 for all 12 studies that were meta-analyzed. Upon performing quality assessments for these studies, all studies were of high quality.

Findings from the meta-analysis

Five studies reported SP-D levels among COVID-19 patients and control group. Pooled analysis showed that SP-D levels among those groups of patients varied and amounted to 44.38 ± 74.71 vs. 21.29 ± 31.8 , respectively (SMD = 1.39; 95%CI: 0.35 to 2.43; $p=0.009$; Figure 2).

Pooled analysis of SP-D values among severe and non-severe COVID-19 patients was 58.28 ± 101.8 and 94.69 ± 114.22 respectively (SMD = 0.44; 95%CI: -0.78 to 1.66; $p=0.48$). SP-D levels also did not detect statistically significant differences in COVID-19 patients who survived and died in the hospital (27.18 ± 16.4 vs. 29.12 ± 14.14 ; SMD = 0.07; 95%CI: -0.28 to 0.42; $p=0.70$).

Figure 1. PRISMA checklist.

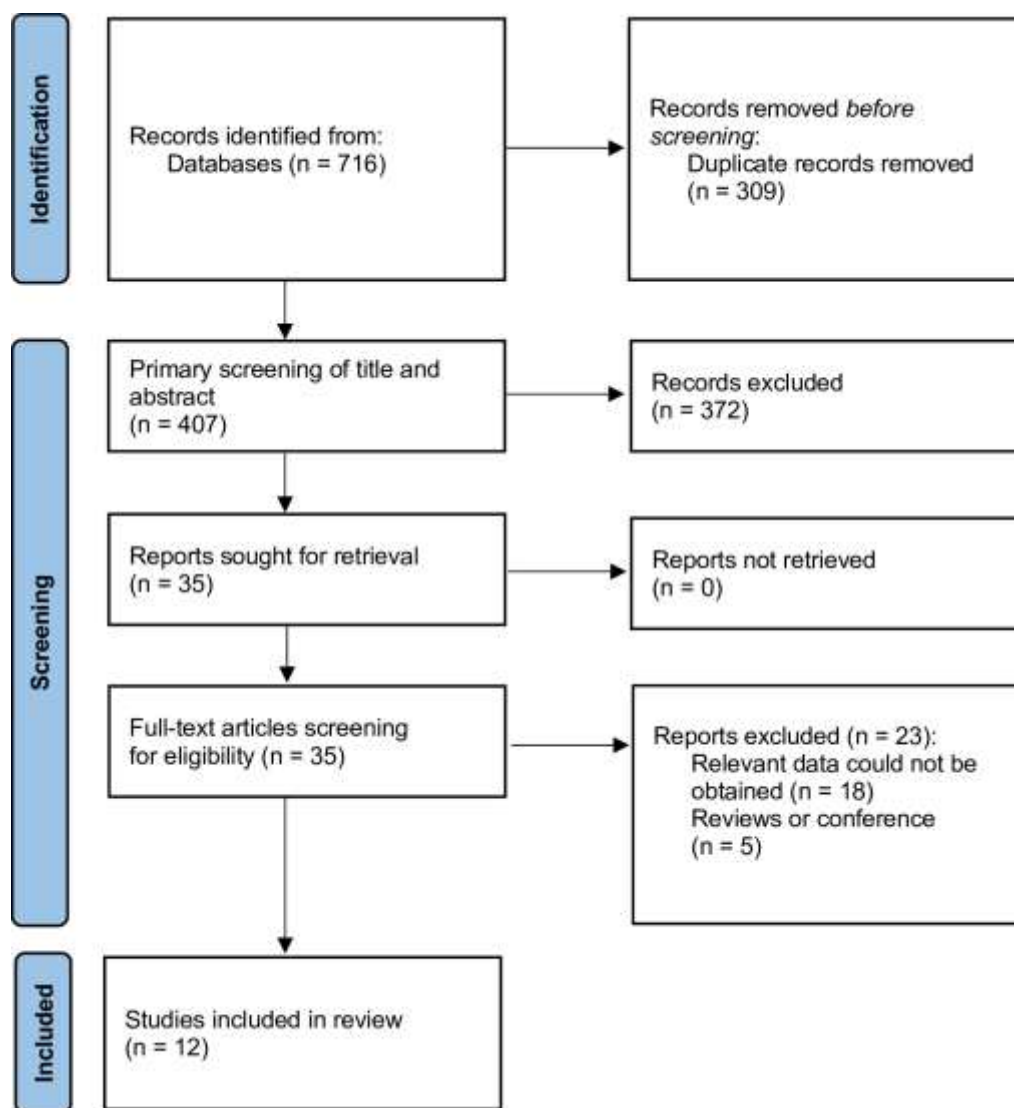


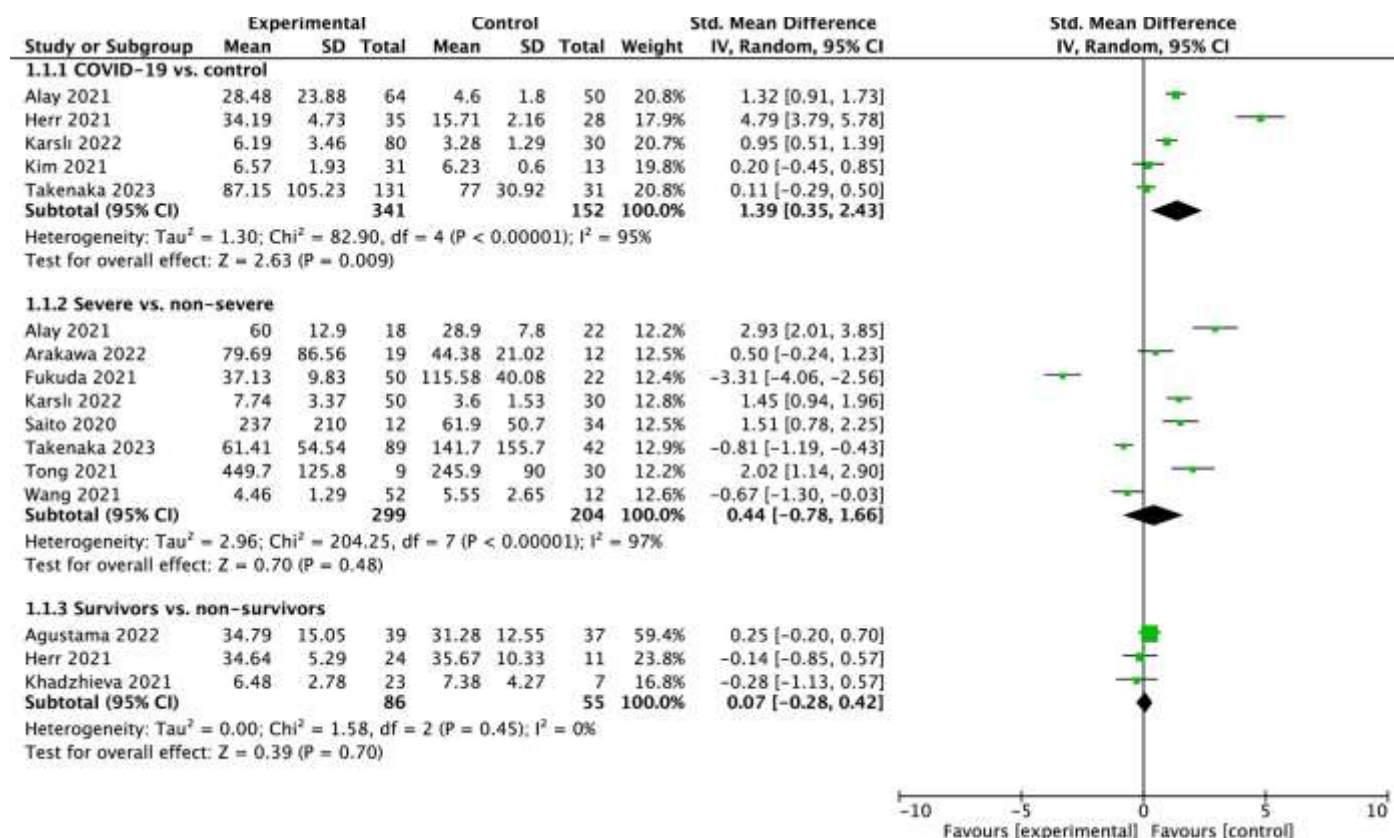
Table 1. Baseline characteristics of included trials.

Study	Country	Study design	Study group	No. of patients	Age	Sex, male	BMI	NOS score
Agustama et al., 2022	Indonesia	PS	Survivors	39	55.56±12.96	25 (64.1)	26.4±1.6	8
			Non-survivors	37	49.43±10.29	21 (56.8)	25.7±1.3	
Alay et al., 2021	Turkey	PS	COVID-19	64	55.17 ± 16.1	29 (45.3)	NS	7
			Control	50	NS	21 (42.0)	NS	
Arakawa et al., 2022	Japan	RS	Severe	12	54.75±10.96	9	NS	7
			Non-severe	12	50.75±15.88	7	NS	
Fukuda et al., 2021	Japan	PS	Severe	22	61.93±3.08	18	24.7±1.6	8
			Non-severe	50	41.93±7.08	30	23.0±1.9	

Herr et al., 2021	Germany	PS	COVID-19	35	63.86±3.18	26	27.08±1.31	8
			Control	28	62.42±2.14	28 (100)	26.3±0.99	
			Survivors	24	NS	NS	NS	
			Non-survivors	11	NS	NS	NS	
Karasi et al., 2022	Turkey	PS	COVID-19	80	50.6 ± 2.2	37	NS	8
			Control	30	50.3 ± 1.4	14	NS	
			Severe	50	50.8 ± 2.5	21	NS	
			Non-severe	30	50.8 ± 2.5	16	NS	
Khadzhieva et al., 2021	Russia	RS	Survivors	90	46.6 ± 2.5	49 (58.3%)	30.8 ± 1.4	8
			Non-survivors	19	62.8 ± 3.8	11 (61.1%)	29.1 ± 1.4	
Kim et al., 2021	Republic of Korea	PS	COVID-19	31	NS	NS	NS	8
			Control	13	NS	NS	NS	
Saito et al., 2020	Japan	PS	Severe	12	65.1 ± 10.7	7	24.5 ± 4.2	9
			Non-severe	34	49.6 ± 15.7	14	23.0 ± 4.1	
Takenaka et al., 2023	Japan	RS	Severe	89	51.6 ± 4.3	49	NS	8
			Non-severe	42	43.3 ± 5.9	20	NS	
Tong et al., 2021	China	PS	Severe	9	57.5 ± 8.1	4	NS	8
			Non-severe	30	44.5 ± 7.5	16	NS	
Wang et al., 2021	China	RS	Severe	12	55.7 ± 5.1	9	NS	8
			Non-severe	52	41.7 ± 5.2	26 (50.0%)	NS	

Note: BMI = body mass index; NOS = Newcastle Ottawa scale; PS = prospective study; RS = retrospective study

Figure 2. Forest plot of SP-D levels among (A) COVID-19 and non-COVID-19 patients; (B) severe and non-severe COVID-19 patients; (C) survivors and non-survivors COVID-19 patients. The center of each square represents the stanarized mean differences for individual trials, and the corresponding horizontal line stands for a 95% confidence interval. The diamonds represent pooled results.



DISCUSSION

Research conducted so far indicates an ambiguous role of pneumoproteins as prognostic and diagnostic biomarkers in the course of COVID-19. A meta-analysis conducted by Ke et al. showed that the SP-D level is higher among COVID-19 patients compared to healthy individuals. Moreover, the level of SP-D is lower among patients with mild to moderate COVID-19 compared to patients with severe disease. The above-mentioned meta-analysis identified a number of limitations, including: limited number of studies performed, lack of geographical representativeness or insufficient information regarding fluctuations in the level of pneumoproteins (including SP-D) depending on the time of measurement, e.g., so there is no sufficient information how the level changes between admission to hospital vs. levels in the subsequent days of hospitalization. These limitations remain in place [14].

As already mentioned, severe COVID-19 may be associated with significant damage to the endothelium in the lungs. Reducing endothelial damage, either due to a less severe course of the disease or by improving health, is associated with a reduction in pneumoproteins, including SP-D. Hence, the results of the mentioned meta-analysis seem to be biologically valid since the level of SP-D was higher in COVID-19 patients compared to healthy controls and statistically increases among patients with severe COVID-19 [24]. An important limitation of SP-D is the fact that in many chronic diseases, such as COPD, the level of SP-D is increased before the onset of COVID-19, which is due to chronic damage to the endothelium

in the respiratory system as the consequence of chronic illness. As a result of the course of COVID-19, this value increases, but chronic disease may be a confounding factor in studies. We cannot underestimate this risk of bias due to the fact that a more severe course of COVID-19 is observed among patients with chronic diseases [36]. In the context of COVID-19 usefulness, Choreño-Parra et al. conclude that SP-D is a significantly better prognostic biomarker for pandemic influenza than COVID-19 [37]. On the other hand, Togashi et al. showed that both KL-6 and SP-D enable the differentiation of patients with pneumonia resulting from COVID-19 infection (COVID-19 pneumonia) from COVID-19 pneumonia-like diseases. This distinction at an early stage of the therapeutic process may be crucial to the success of treatment [38].

SP-D has been studied widely as a potential diagnostic and prognostic biomarker in respiratory diseases. A meta-analysis conducted by Wang et al., which included 17 studies and 4639 patients, showed that the level of SP-D is increased in patients with COPD compared to healthy individuals. Additionally, during COPD exacerbation, increased SP-D levels were observed compared to patients with a stable clinical picture [39]. More difficulties have been observed in assessing the usefulness of SP-D as a prognostic and diagnostic biomarker in Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF). A meta-analysis performed by Wang et al. showed a lack of statistical significance between the level of SP-D in patients with IPF compared to patients with non-IPF interstitial lung disease (ILD), which significantly limits the usefulness of the biomarker. However, in the mentioned meta-analysis, it was shown that the level of SP-D is statistically higher in patients with IPF compared to patients with lung infection or healthy controls. Furthermore, SPD has been shown to have some prognostic properties, more precisely higher levels of SPD correlated with an increased risk of death [40].

In turn, other studies indicate that in the case of some diseases (connective tissue disease), other pneumoproteins have a greater diagnostic potential than SP-D, e.g. KL-6 (Krebs von den Lungen-6) [41,42]. The latter biomarker, KL-6, appears to be particularly useful in identifying patients with severe lung injury in the course of COVID-19 [43]. The potential usefulness of the SP-D biomarker is very broad, and in addition to those mentioned above, it includes, among others: assessment of the efficiency of preoperative pulmonary rehabilitation in patients with lung cancer [44], early diagnosis of radiation pneumonitis [45] or assessment of lung injury after coronary artery bypass surgery [46].

The main problem when assessing the usefulness of a biomarker in clinical practice is determining the so-called cut-off. In the case of SP-D, a diagnostic cut off was proposed for the severity of Acute respiratory distress syndrome in the course of COVID-19 at the level of 44.24 ng/mL with a sensitivity of 92.3% and specificity of 94.1% [47].

Attention should be paid to the limitations of this meta-analysis. A relatively small number of studies that met the inclusion and exclusion criteria were included. A rigorous approach helps maintain internal validity. Additionally, a small amount of research has specifically targeted SP-D; SP-D was often one of many biomarkers measured without being the main purpose of the study. The studies were also characterized by high heterogeneity in design, e.g. the comparison group was sometimes based on patients with another disease of the respiratory system, and sometimes on healthy controls. There is also a lack of randomized trials designed to prospectively evaluate the prognostic properties.

CONCLUSIONS

Results of the current systematic review and meta-analysis indicated that SP-D may be a good marker for differentiating patients with COVID-19 from healthy patients, but it does not provide prognostic value among patients with COVID-19. Further studies are needed to confirm the results.

Author Contributions: Conceptualization: K.D.; methodology: K.D. and L.S.; software: L.S.; validation: K.D.; formal analysis, K.D. and L.S.; investigation: K.D., M.T., M.P., G.N., D.S. and L.S.; resources: K.D. and L.S.; data curation: K.D.; writing—original draft preparation: K.D.; writing—review

and editing, K.D., M.T., M.P., G.N., D.S., M.K., A.R. and L.S.; visualization: K.D.; supervision: L.S. and K.D.; project administration: K.D.. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Acknowledgments: None.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Disclaimer/Publisher's Note: The Publisher remains neutral regarding jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations. Additionally, the Publisher is not responsible for the accuracy, completeness, or validity of the content of scientific articles published herein. This statement exempts the Publisher from any responsibility regarding the content of scientific articles, which is solely the responsibility of the authors and peer reviewers.

References

1. Bivona G, Agnello L, Ciaccio M. Biomarkers for Prognosis and Treatment Response in COVID-19 Patients. *Ann Lab Med.* 2021; 41(6):540-548.
2. Battaglini D, Lopes-Pacheco M, Castro-Faria-Neto HC, Pelosi P, Rocco PRM. Laboratory Biomarkers for Diagnosis and Prognosis in COVID-19. *Front Immunol.* 2022; 13:857573.
3. Fialek B, De Roquetaillade C, Pruc M, Navolokina A, Chirico F, Ladny JR, et al. Systematic review with meta-analysis of mid-regional pro-adrenomedullin (MR-proADM) as a prognostic marker in Covid-19-hospitalized patients. *Ann Med.* 2023; 55(1):379-387.
4. Liu J, Li S, Liu J, Liang B, Wang X, Wang H, et al. Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients. *EBioMedicine.* 2020;55:102763.
5. Dziedzic K, Pruc M, Kilic M, Ak R, Yildirim M, Szarpak L, et al. Sex- and gender-specific differences in the inflammatory response to COVID-19: the role of the neutrophil-to-lymphocyte ratio. *Disaster Emerg Med J.* 2023;8(4):234-242.
6. Matuszewski M, Szarpak L, Pruc M, Pedrycz-Wieczorska A, Kilic M, Ak R, et al. Platelet-to-lymphocyte ratio as a prognostic biomarker for COVID-19 severity: a single center retrospective data analysis and systematic review with meta-analysis of 187 studies. *Disaster Emerg Med J.* 2023;8(4):198-206.
7. Zeng F, Huang Y, Guo Y, Yin M, Chen X, Xiao L, et al. Association of inflammatory markers with the severity of COVID-19: A meta-analysis. *Int J Infect Dis.* 2020;96:467-474.
8. Szarpak L, Nowak B, Kosior D, Zaczynski A, Filipiak KJ, Jaguszewski MJ. Cytokines as predictors of COVID-19 severity: evidence from a meta-analysis. *Pol Arch Intern Med.* 2021;131(1):98-99.
9. Xie J, Covassin N, Fan Z, Singh P, Gao W, Li G, et al. Association Between Hypoxemia and Mortality in Patients With COVID-19. *Mayo Clin Proc.* 2020;95(6):1138-1147.
10. Fialek B, Pruc M, Smereka J, Jas R, Rahnama-Hezavah M, Denegri A, et al. Diagnostic value of lactate dehydrogenase in COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Cardiol J.* 2022;29(5):751-758.
11. Szarpak L, Ruetzler K, Safiejko K, Hampel M, Pruc M, Kanczuga-Koda L, et al. Lactate dehydrogenase level as a COVID-19 severity marker. *Am J Emerg Med.* 2021;45:638-639.
12. Beltrão FEL, Beltrão DCA, Carvalhal G, Beltrão FEL, Brito ADS, Capistrano KHRD, et al. Thyroid Hormone Levels During Hospital Admission Inform Disease Severity and Mortality in COVID-19 Patients. *Thyroid.* 2021;31(11):1639-1649.
13. Gilad V, De Marzo V, Guglielmi G, Bona RD, Giovinazzo S, Pescetelli F, et al. Cardiac point-of-care ultrasound in hospitalized coronavirus disease-2019 patients: findings and association with outcome. *J Cardiovasc Med (Hagerstown).* 2022;23(1):e3-e7.
14. Ke Y, Zhu Y, Chen S, Hu J, Chen R, Li W, et al. Clinical Utility of Circulating Pneumoproteins as Diagnostic and Prognostic Biomarkers in COVID-19: A Systematic Review and Meta-analysis. *Infect Dis Ther.* 2022;11(5):1981-1998.

15. Jeon D, Chang EG, McGing M, Hartman-Filson M, Sommers M, Lewis E, et al. Pneumoproteins are associated with pulmonary function in HIV-infected persons. *PLoS One*. 2019;14(10):e0223263.
16. Tiezzi M, Morra S, Seminerio J, Van Muylem A, Godefroid A, Law-Weng-Sam N, et al. SP-D and CC-16 Pneumoproteins' Kinetics and Their Predictive Role During SARS-CoV-2 Infection. *Front Med (Lausanne)*. 2022 Feb 8;8:761299.
17. Park HY, Churg A, Wright JL, Li Y, Tam S, Man SF, et al. Club cell protein 16 and disease progression in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;188(12):1413-1419. doi:10.1164/rccm.201305-0892OC.
18. Lomas DA, Silverman EK, Edwards LD, Locantore NW, Miller BE, Horstman DH, et al. Serum surfactant protein D is steroid sensitive and associated with exacerbations of COPD. *Eur Respir J*. 2009;34(1):95-102.
19. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*. 2021; 372:n71.
20. Stang A. Critical evaluation of the Newcastle-Ottawa scale for the assessment of the quality of nonrandomized studies in meta-analyses. *Eur J Epidemiol*. 2010; 25:603-605.
21. Higgins JP, Altman DG, Gotzsche PC, Jüni P, Moher D, Oxman AD, et al. The Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias in randomised trials. *BMJ*. 2011;343:d5928.
22. Hozo SP, Djulbegovic B, Hozo I. Estimating the mean and variance from the median, range, and the size of a sample. *BMC Med Res Methodol*. 2005;5:13.
23. Higgins JP, Thompson SG. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis, *Stat Med*. 2002;21(11):1539–1558.
24. Agustama A, Surgean VA, Utariani A. Correlation of Surfactant Protein-D (SP-D) Serum Levels with ARDS Severity and Mortality in Covid-19 Patients in Indonesia. *Acta Med Acad*. 2022;51(1):21-28.
25. Alay H, Laloglu E. The role of angiopoietin-2 and surfactant protein-D levels in SARS-CoV-2-related lung injury: A prospective, observational, cohort study. *J Med Virol*. 2021;93(10):6008-6015.
26. Arakawa N, Matsuyama S, Matsuoka M, Kitamura I, Miyashita K, Kitagawa Y, et al. Serum stratifin and presepsin as candidate biomarkers for early detection of COVID-19 disease progression. *J Pharmacol Sci*. 2022;150(1):21-30.
27. Fukuda Y, Homma T, Inoue H, Onitsuka C, Ikeda H, Goto Y, et al. Downregulation of type III interferons in patients with severe COVID-19. *J Med Virol*. 2021;93(7):4559-4563.
28. Herr C, Mang S, Mozafari B, Guenther K, Speer T, Seibert M, et al. Distinct Patterns of Blood Cytokines Beyond a Cytokine Storm Predict Mortality in COVID-19. *J Inflamm Res*. 2021;14:4651-4667.
29. Karsli E, Sabirli R, Goren T, Kemanci A, Karis D, Turkcuer I, et al. Evaluation of the relationship between surfactant protein D levels and COVID-19 clinical severity: a case-control study. *Pam Med J*. 2023;16:137-147.
30. Khadzhieva MB, Gracheva AS, Ershov AV, Chursinova YV, Stepanov VA, Avdeikina LS, et al. Biomarkers of Air-Blood Barrier Damage In COVID-19. *Obshchaya Reanimatologiya=General Reanimatology*. 2021;17(3):16–31.
31. Kim W-Y, Kweon OJ, Cha MJ, Baek MS, Choi S-H. Dexamethasone may improve severe COVID-19 via ameliorating endothelial injury and inflammation: A preliminary pilot study. *PLoS ONE*. 2021;16(7): e0254167.
32. Saito A, Kuronuma K, Moniwa K, Kodama K, Takahasi S, Takahashi H, et al. Serum surfactant protein A and D may be novel biomarkers of COVID-19 pneumonia severity. *ResearchSquare*. 2020. doi: 10.21203/rs.3.rs-29567/v1.
33. Takenaka H, Saito A, Kuronuma K, Moniwa K, Nishikiori H, Takahashi S, et al. The Soluble Lectin Families as Novel Biomarkers for COVID-19 Pneumonia. *In Vivo*. 2023;37(4):1721-1728.
34. Tong M, Xiong Y, Zhu C, Xu H, Zheng Q, Jiang Y, et al. Serum surfactant protein D in COVID-19 is elevated and correlated with disease severity. *BMC Infect Dis*. 2021;21(1):737.
35. Wang H, Chen L, Zhang Y, Liu L, Xu M, Gao Y, et al. Detection of serum KL-6 and SARS-CoV-2 antibody in patients with coronavirus disease 2019 and the diagnostic value in severe disease. *ResearchSquare*. 2021. doi: 10.21203/rs.3.rs-125188/v2.

36. Kerget B, Kerget F, Koçak AO, Kızıltunç A, Araz Ö, Uçar EY, et al. Are Serum Interleukin 6 and Surfactant Protein D Levels Associated with the Clinical Course of COVID-19? *Lung*. 2020;198(5):777-784.
37. Choreño-Parra JA, Jiménez-Álvarez LA, Ramírez-Martínez G, Cruz-Lagunas A, Thapa M, Fernández-López LA, et al. Expression of Surfactant Protein D Distinguishes Severe Pandemic Influenza A(H1N1) from Coronavirus Disease 2019. *J Infect Dis*. 2021;224(1):21-30.
38. Togashi Y, Kono Y, Okuma T, Shioiri N, Mizushima R, Tanaka A, et al. Surfactant protein D: A useful biomarker for distinguishing COVID-19 pneumonia from COVID-19 pneumonia-like diseases. *Health Sci Rep*. 2022;5(3):e622. Published 2022 Apr 25. doi:10.1002/hsr2.622.
39. Wang H, Li F, Huang H, Wu F, Chen L, Zhang D, et al. Serum Surfactant Protein D is a Potential Biomarker for Chronic Obstructive Pulmonary Disease: a Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Lab*. 2019; 65(12):10.7754/Clin.Lab.2019.190539.
40. Wang K, Ju Q, Cao J, Tang W, Zhang J. Impact of serum SP-A and SP-D levels on comparison and prognosis of idiopathic pulmonary fibrosis: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(23):e7083.
41. Zhong D, Wu C, Bai J, Hu C, Xu D, Wang Q, et al. Comparative diagnostic efficacy of serum Krebs von den Lungen-6 and surfactant D for connective tissue disease-associated interstitial lung diseases: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2020;99(16):e19695.
42. Matuszewski M, Szarpak L, Rafique Z, Peacock FW, Pruc M, Szwed P, et al. Prediction Value of KREBS Von Den Lungen-6 (KL-6) Biomarker in COVID-19 Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Med*. 2022;11(21):6600.
43. Pramana Witarto A, Samarta Witarto B, Er Putra AJ, Pramudito SL, Rosyid AN. Serum Krebs von den Lungen-6 for Predicting the Severity of COVID-19 Lung Injury: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Iran Biomed J*. 2021;25(6):381-389.
44. Huang J, Lai Y, Gao K, Wang Y, Du H, Su J, et al. Surfactant Protein-D: A sensitive predictor for efficiency of preoperative pulmonary rehabilitation. *Int J Surg*. 2017;41:136-142.
45. Sasaki R, Soejima T, Matsumoto A, Maruta T, Yamada K, Ota Y, et al. Clinical significance of serum pulmonary surfactant proteins a and d for the early detection of radiation pneumonitis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2001;50(2):301-307.
46. Engels GE, Gu YJ, van Oeveren W, Rakhorst G, Mariani MA, Erasmus ME. The utility of lung epithelium specific biomarkers in cardiac surgery: a comparison of biomarker profiles in on- and off-pump coronary bypass surgery. *J Cardiothorac Surg*. 2013;8:4.
47. Jayadi, Airlangga PS, Kusuma E, Waloejo CS, Salinding A, Lestari P. Correlation between serum surfactant protein-D level with respiratory compliance and acute respiratory distress syndrome in critically ill COVID-19 Patients: A retrospective observational study. *Int J Crit Illn Inj Sci*. 2022;12(4):204-210.



Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open-access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

4. PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Zbiór prac dotyczących wartości diagnostycznej i predykcyjnej wybranych biomarkerów w odniesieniu do SARS-CoV-2 składa się z sześciu publikacji oryginalnych opublikowanych w recenzowanych czasopismach naukowych [160 – 165]. Dwie spośród przytoczonych prac wchodzących w skład monotematycznego cyklu publikacji to badania retrospektywne, zaś pozostałe cztery publikacje zostały zaprojektowane i przeprowadzone jako przeglądy systematyczne z meta-analizami.

Celem pierwszej pracy było określenie wartości współczynnika neutrofilii do limfocytów w predykcji przeżywalności pacjentów z COVID-19 [160]. W tym celu zaprojektowano i przeprowadzono jednośrodkowe retrospektywne badanie obserwacyjne - przeanalizowano dane medyczne 400 pacjentów hospitalizowanych w Ziv Medical Center (Safed, Izrael) z powodu zakażenia COVID-19. Analizie poddano pacjentów hospitalizowanych w okresie od kwietnia 2020 do grudnia 2021. Do badania włączono pacjentów powyżej 18 roku życia, którzy przyjęci byli do szpitala z powodu COVID-19 i uzyskali pozytywny wynik na obecność SARS-CoV-2 metodą real time RT-PCR. Wśród kryteriów wykluczenia z badania należy wymienić pozaszpitalne leczenie infekcji jak również infekcję u pacjentów pediatrycznych.

Celem drugiej pracy było określenie różnic w odpowiedzi zapalnej względem płci i wieku pacjentów w odniesieniu do COVID-19 [161]. Podobnie jak pierwsze badanie, to również zostało zaprojektowane i przeprowadzone w oparciu o charakter retrospektywny. W niniejszym badaniu analizowano dane medyczne 513 pacjentów hospitalizowanych z powodu COVID-19 w okresie od stycznia do maja 2022 roku w Oddziale Ratunkowym Szpitala Kartal Dr. Lutfi Kirdar City (Stambuł, Turcja). W badaniu uwzględniono wszystkie osoby w wieku powyżej 18 roku życia, u których zdiagnozowano COVID-19 i były poddane leczeniu w oddziale ratunkowym. Pacjenci z ujemnym wynikiem testu metodą real time RT-PCR, pacjenci skierowani i przetransportowani do innej placówki medycznej oraz pacjenci, u których poziomy neutrofilii i limfocytów były niedostępne zostali wykluczeni z badania.

Badanie trzecie zostało zaprojektowane jako przegląd systematyczny i meta-analiza mający na celu określenie wartości predykcyjnej tkankowego aktywatora plazminogenu (tPA) względem ciężkości przebiegu COVID-19. W tym celu wykorzystano protokół PRISMA

(Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses). Dodatkowo protokół badania został zarejestrowany w międzynarodowej bazie prospektywnie rejestrowanych przeglądów systematycznych PROSPERO (nr. CRD42022380249). Na potrzeby badania dokonano przeszukania następujących baz danych: PubMed Central, Scopus, EMBASE oraz bazy Cochrane w poszukiwaniu artykułów dotyczących analizowanego zagadnienia. Ostatnie przeszukanie baz danych miało miejsce 4 maja 2023 roku. W wyniku przeszukania baz danych zidentyfikowano 1548 pozycji piśmienniczych, spośród których w wyniku procesu selekcji finalnie zaklasyfikowano do meta-analizy trzynaście badań obejmujących łącznie 984 pacjentów z zakażeniem COVID-19. Ocena ryzyka stroniczości poszczególnych badań została oceniona za pomocą Newcastle-Ottawa Scale (NOS) [166]. Meta-analiza została wykonana z wykorzystaniem oprogramowania STATA (wersja 14, StataCorp LLC, College Station, TX, USA) oraz oprogramowania RevMan (wersja 5.4, The Cochrane Collaboration, Kopenhaga, Dania).

Celem czwartego badania było porównanie wartości predykcyjnej białka ST2 w aspekcie ciężkości przebiegu i śmiertelności COVID-19. Badanie również zaprojektowano i przeprowadzono jako przegląd systematyczny i meta-analiza. Dodatkowo protokół badania został prospektywnie zarejestrowany w bazie PROSPERO (nr rejestracji: CRD42023480208). W niniejszym badaniu wykonano przeszukanie piśmiennictwa w oparciu o cztery bazy danych (PubMed/Medline, EMBASE, Scopus oraz Cochrane). Ostatnie przeszukanie baz danych odbyło się 11 października 2023 roku. Przeszukanie prowadzono w oparciu o kombinacje słów związanych z infekcją SARS-CoV-2 oraz białkiem ST2. Badania odnoszące się do pacjentów dorosłych z COVID-19, które zawierały dane dotyczące poziomów ST2 w grupach klasyfikujących pod względem ciężkości przebiegu bądź śmiertelności COVID-19 były włączane do meta-analizy. Badania napisane w innym języku niż język angielski oraz artykuły typów takich jak: edytoriale, listy do redakcji, komentarze, artykuły poglądowe, opisy przypadku zostały wyłączone z meta-analizy. Uzyskane dane przeanalizowano pod kątem poziomów ST2 a ciężkością i śmiertelnością COVID-19. Przeszukanie baz danych wykazało 275 publikacji, spośród których dziewięć obejmujących 1732 pacjentów zostało finalnie włączonych do badania. Ocena ryzyka stroniczości poszczególnych badań została również oceniona za pomocą Newcastle-Ottawa Scale (NOS) [166]. Analizy statystyczne wykonano przy użyciu oprogramowania STATA oraz oprogramowania RevMan.

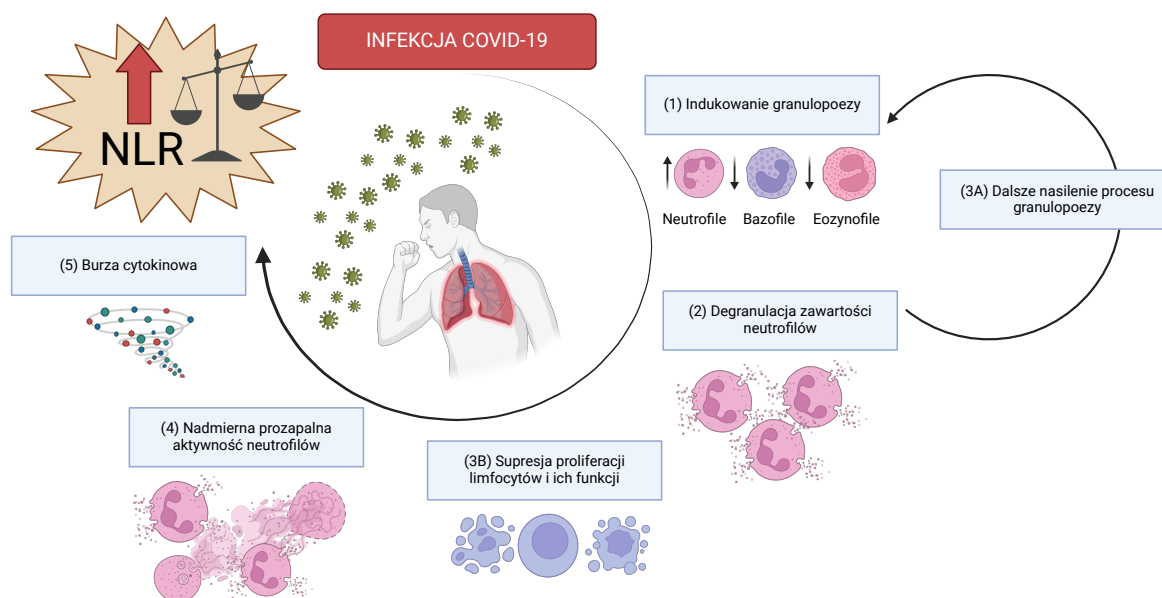
Piąta praca zaprojektowana i przeprowadzona również jako przegląd systematyczny i meta-analiza miała na celu określenie przydatności stosowania galektyny-3 jako markera diagnostycznego i prognostycznego w kontekście zakażenia COVID-19. Protokół badania został zarejestrowany prospektywnie w bazie PROSPERO (CRD42023480215) i nie był poddawany zmianom podczas prowadzenia badania. Na potrzeby niniejszego badania przeszukano cztery bazy bibliograficzne (PubMed/MEDLINE, EMBASE, Scopus oraz bazę Cochrane Central Register of Controlled Trials – CENTRAL). Finalnie przeszukanie niniejszych baz danych miało miejsce 10 listopada 2023 roku. W tym celu wykorzystano jako słowa kluczowe różne formy nazewnicze odnoszące się do samego zakażenia SARS-CoV-2 i choroby COVID-19 oraz Galektyny-3. Jako kryteria włączenia zastosowano pacjentów dorosłych ze zdiagnozowanym COVID-19 gdzie podawane były wartości galektyny-3, zaś sami pacjenci byli podzieleni względem ciężkości COVID-19 lub była podana grupa kontrolna pacjentów bez COVID-19. Podobnie jak w poprzednio opisanym artykule, do kryteriów wyłączenia z badania zaliczono: artykuły napisane w innym języku niż angielski, oraz takie typy artykułów jak: artykuły redakcyjne, komentarze, listy do redakcji, artykuły pogładowe czy też opisy przypadków. Do analizy włączono finalnie 18 badań (z łączną liczbą 2530 pacjentów), które zostały następnie poddane ocenie za pomocą skali NOS oraz przeanalizowane z wykorzystaniem programu RevMan.

Szósta praca wchodząca w skład monotematycznego cyklu publikacji stanowiących rozprawę doktorską miała na celu określenie roli białka powierzchniowo czynnego D (SP-D) jako markera diagnostycznego i prognostycznego u pacjentów z COVID-19. W tym celu poddano przeszukaniu bazy: PubMed, Embase, Web of Science oraz Scopus. Zawężono przeszukanie do publikacji napisanych w języku angielskim, zaś okres przeszukania obejmował okres od stycznia 2020 do stycznia 2024 roku. Zarówno kryteria włączenia i wyłączenia z meta-analizy były sformułowane analogicznie jak w przypadku poprzedniego badania. Protokół niniejszego badania został również prospektywnie zarejestrowany w bazie PROSPERO (CRD42024510643). W ocenie ryzyka stronnicości poszczególnych badań zastosowano skalę NOS, zaś sama analiza statystyczna była wykonana z wykorzystaniem programów RevMan oraz STATA.

W badaniu pierwszym analizowano znaczenie predykcyjne wskaźnika neutrofili do limfocytów (NLR) [160]. Wskaźnik ten zyskuje coraz większe uznanie jako wartościowy marker predykcyjny ciężkości przebiegu COVID-19 [167 – 169]. Jego rola w ocenie stanu

zapalnego, który jest kluczowym elementem patogenezы COVID-19 sprawia, że jest to narzędzie o dużym potencjale klinicznym. Wyniki badań przeprowadzonych w różnych ośrodkach medycznych na całym świecie potwierdzają, że wyższy poziom NLR jest związany z cięższym przebiegiem COVID-19 oraz wyższym ryzykiem zgonu [170, 171].

Warto w tym miejscu przyrzeć się mechanizmom biologicznym, które stoją za NLR jako markerem stanu zapalnego (Rycina 2). Neutrofile i limfocyty to dwa kluczowe typy białych krwinek zaangażowane w odpowiedź immunologiczną [172 – 174]. Neutrofile są pierwszymi komórkami układu odpornościowego, które reagują na infekcje i są odpowiedzialne za fagocytozę patogenów. Wzrost liczby neutrofili jest zazwyczaj związany z ostrym stanem zapalnym. Limfocyty, z drugiej strony, odgrywają kluczową rolę w odpowiedzi adaptacyjnej, w tym w produkcji przeciwciał i pamięci immunologicznej.



Rycina 2. Korelacja wartości NLR a mechanizmu odpowiedzi zapalnej w trakcie infekcji COVID-19. Źródło: Opracowanie własne.

Spadek liczby limfocytów jest często obserwowany w stanach ciężkich zakażeń wirusowych, w tym COVID-19, co może wynikać z inwazji wirusa na limfocyty lub z wyczerpania ich rezerw w wyniku przewlekłej aktywacji układu odpornościowego. Badania pokazują, że pacjenci z podwyższonym NLR mają większe ryzyko wystąpienia burzy cytokinowej. Warto również zwrócić uwagę na znaczenie NLR w przewidywaniu ciężkości choroby i długości hospitalizacji. Badanie pierwsze ponadto wykazało, że NLR jest

cennym wskaźnikiem w przewidywaniu hospitalizacji i ciężkości COVID-19, co może być związane z wystąpieniem wspomnianej burzy cytokinowej.

Badania wykazują, że pacjenci z COVID-19, którzy mają wyższy NLR, doświadczają bardziej nasilonych objawów choroby oraz mają gorsze rokowanie. Wyniki z badania pierwszego, wykazały NLR na poziomie 8,4 u pacjentów, którzy przeżyli oraz u pacjentów, którzy zmarli, są złym czynnikiem rokowniczym [160]. W badaniu drugim dotyczącym również wartości predykcyjnej NLR wykazano, iż w kontekście płci różnice w wartościach neutrofilii były graniczne ($p = 0.087$) z wyższymi wartościami u mężczyzn ($7.29 \times 10^3/\mu\text{L}$ vs $7.20 \times 10^3/\mu\text{L}$), natomiast różnice w wartościach limfocytów były znaczące na korzyść kobiet ($1.96 \times 10^3/\mu\text{L}$ vs $1.20 \times 10^3/\mu\text{L}$; $p < 0.001$) oraz w wartościach NLR, które były wyższe u mężczyzn (11.24 vs 8.42) ($p < 0.001$). NLR okazał się znaczącym predyktorem zarówno statusu hospitalizacji (ROC AUC 0.76 [95% CI 0.61–0.72]), jak i statusu przeżycia (ROC AUC 0.65 [95% CI 0.60–0.70]). Analiza według płci wykazała, że wartości pole pod krzywą (ROC AUC) dla NLR w przewidywaniu statusu hospitalizacji wynosiły 0.70 u mężczyzn i 0.64 u kobiet, natomiast w przewidywaniu statusu przeżycia wartości wynosiły odpowiednio 0.64 u mężczyzn i 0.65 u kobiet. Na przykład, badanie przeprowadzone przez Simadibrata i współpracowników wykazało, że NLR na poziomie przyjęcia do szpitala jest silnym predyktorem ciężkości choroby oraz śmiertelności u pacjentów z COVID-19 [175]. Ponadto wyniki te były szczególnie zauważalne u mężczyzn [175]. Dodatkowo, badanie opublikowane w czasopiśmie "Scientific Reports" również potwierdziło wyższe poziomy NLR u mężczyzn, które były skorelowane z gorszymi wynikami klinicznymi w przypadku COVID-19. Autorzy zwrócili uwagę na różnice płci w kontekście odpowiedzi zapalnej, co może wyjaśniać wyższe ryzyko ciężkiego przebiegu choroby u mężczyzn [176]. Inne badania również potwierdzają te wyniki, sugerując, że NLR jest niezawodnym wskaźnikiem stanu zapalnego i może być używany do przewidywania wyniku choroby [177, 178].

Wskaźnik NLR jest również używany w innych sytuacjach klinicznych jako marker stanu zapalnego. Na przykład, jest on stosowany w ocenie ryzyka w chorobach nowotworowych, gdzie wysoki NLR jest często związany z gorszym rokowaniem [179]. Z kolei inne badania sugerują, że NLR może być używany jako wskaźnik do monitorowania stanu zdrowia pacjentów z różnymi chorobami przewlekłymi, co podkreśla jego uniwersalność i potencjał kliniczny [180, 181]. Dodatkowo, badania wskazują, że

dynamiczne zmiany w NLR i wskaźniku płytek krwi do limfocytów (PLR) mogą być użyteczne w przewidywaniu ciężkości COVID-19 i mogą pomóc w monitorowaniu progresji choroby. Badanie przeprowadzone przez Asperges i wsp. wykazało, że te wskaźniki mogą być stosowane do oceny stanu zapalnego i ryzyka u pacjentów z COVID-19, co może pomóc w podejmowaniu decyzji klinicznych dotyczących intensywności leczenia [182].

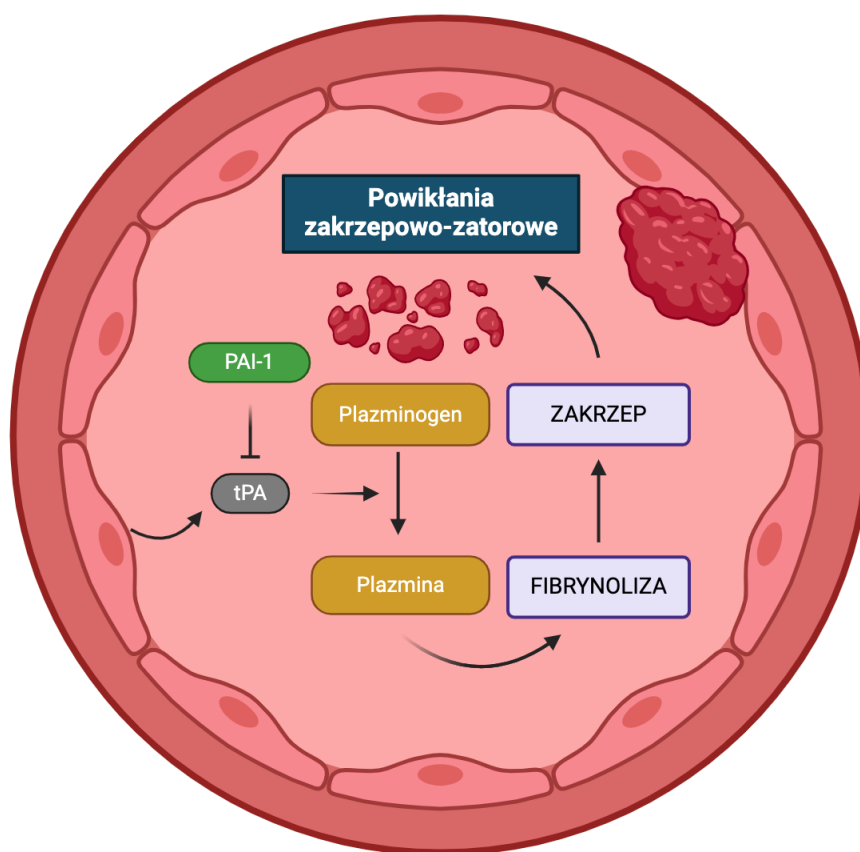
Badanie przeprowadzone przez Regolo i wsp. sugeruje, że NLR może być używany jako wskaźnik do przewidywania ciężkości przebiegu choroby, co jest zgodne z wynikami moich badań [168].

W kontekście globalnej pandemii COVID-19 jak i przyszłych potencjalnych pandemii, możliwość szybkiej i dokładnej oceny stanu pacjentów jest kluczowa dla skutecznego zarządzania opieką zdrowotną. NLR jako wskaźnik stanu zapalnego, może być używany do szybkiej oceny ryzyka i podejmowania decyzji klinicznych dotyczących intensyfikacji leczenia. Jest to szczególnie ważne w kontekście ograniczonych zasobów medycznych i potrzeby szybkiej identyfikacji pacjentów o wysokim ryzyku, którzy mogą wymagać bardziej intensywnej opieki medycznej.

Podsumowując rozważania na temat NLR, wskaźnik ten jest wartościowym narzędziem w ocenie ciężkości COVID-19 z kilku powodów. Po pierwsze, odzwierciedla on stan zapalny, który jest kluczowym elementem patogenezы COVID-19. Po drugie, badania pokazują, że wyższy NLR jest związany z większym ryzykiem ciężkości choroby i wyższym wskaźnikiem śmiertelności. Po trzecie, NLR jest łatwy do uzyskania i interpretacji, co sprawia, że jest to narzędzie o dużym potencjale klinicznym. Jednakże dalsze badania są potrzebne, aby lepiej zrozumieć mechanizmy związane z NLR i jego rolę w patogenezы COVID-19, ale dotychczasowe wyniki są obiecujące i sugerują, że NLR jest cennym narzędziem w ocenie ryzyka i monitorowaniu pacjentów z infekcjami wirusowymi, w tym SARS-CoV-2.

Kolejnym potencjalnym markerem poddanym analizie jest tkankowy aktywator plazminogenu (t-PA), który odgrywa kluczową rolę w procesie fibrynolizy, przekształcając plazminogen w plazminę, która rozkłada skrzepy fibrynowe. W kontekście infekcji COVID-19, rola t-PA na poziomie immunologicznym jest złożona i ma znaczenie diagnostyczne. U pacjentów z COVID-19 obserwuje się zaburzenia hemostazy, w tym zwiększoną aktywność fibrynolityczną. Zwiększone poziomy t-PA mogą prowadzić do nadmiernej fibrynolizy, co jest obserwowane u pacjentów z ciężkim przebiegiem COVID-

19. Z drugiej strony, obecność inhibitora t-PA (PAI-1) może prowadzić do zaburzeń równowagi hemostatycznej, co skutkuje skłonnością do zakrzepów [183, 184]. t-PA może wpływać na reakcje zapalne poprzez aktywację plazminy, która z kolei degradowuje białka macierzy pozakomórkowej działając tym samym na przebieg odpowiedzi immunologicznej (Rycina 3). Plazmina ma zdolność aktywacji komplementu i uwalniania cytokin prozapalnych, co może pogarszać stan zapalny w płucach pacjentów z COVID-19 [185]. Wysokie poziomy t-PA były obserwowane u pacjentów z ciężkim przebiegiem COVID-19 i mogą być wskaźnikiem złego rokowania. Jednakże, jego wartość prognostyczna jest ograniczona ze względu na brak jednoznacznych dowodów na korelację z wynikiem choroby.



Rycina 3. Rola tPA w procesie fibrynolizy i zapobieganiu powikłaniom zakrzepowo-zatorowym.
Źródło: Opracowanie własne.

Poziomy t-PA są istotnie podwyższone u pacjentów hospitalizowanych z COVID-19, ale ich zmienność i współistnienie z innymi czynnikami uniemożliwiają jednoznaczne wnioski [185, 186]. Rola t-PA w infekcji COVID-19 jest wielowymiarowa. Z jednej strony, t-PA uczestniczy w procesach fibrynolitycznych, wpływając na ryzyko zakrzepów i krwawień,

z drugiej strony, może modulować odpowiedź zapalną poprzez aktywację plazminy i degradację białek macierzy pozakomórkowej.

Poziomy t-PA w przeprowadzonej meta-analizie u pacjentów z COVID-19 mogą służyć jako marker diagnostyczny, ale nie mają wartości predykcyjnej dla ciężkości przebiegu choroby. Na podstawie dostępnych wyników badań, poziomy t-PA w grupach pacjentów z COVID-19 i grupą kontrolną wynosił odpowiednio $26,67 \pm 40,65$ vs. $4,68 \pm 3,83$ (SMD = 2,49; 95% CI: 1,85 do 3,14; $p < 0,001$). Średni poziom t-PA u pacjentów wymagających przyjęcia na oddział intensywnej terapii wynosił $24,06 \pm 12,44$, w porównaniu do $16,55 \pm 10,01$ u pacjentów, którzy nie byli leczeni na oddziale intensywnej terapii (SMD = 0,69; 95% CI: -0,68 do 2,05; $p = 0,32$). Ponadto poziomy t-PA wśród pacjentów z ciężkim przebiegiem COVID-19 w porównaniu do łagodnych przypadków wynosił $11,89 \pm 9,05$ i $16,87 \pm 20,39$ odpowiednio (SMD = 2,74; 95% CI: -0,71 do 6,19; $p = 0,12$). Tylko cztery badania wykazały poziomy t-PA u pacjentów, którzy przeżyli i zmarli z powodu COVID-19. Wartości t-PA wynosiły odpowiednio: $15,33 \pm 8,01$ dla pacjentów, którzy przeżyli hospitalizację, oraz $19,04 \pm 11,88$ dla pacjentów, którzy zmarli w szpitalu z powodu COVID-19 (SMD = -0,50; 95% CI: -2,45 do 1,44; $p = 0,61$). Badania przeprowadzone przez Cabrera-Garcia i wsp. wykazały, że poziomy t-PA i czynnika von Willebranda (vWF) mogą pełnić rolę predykcyjną w patofizjologii COVID-19, jednak ich wyniki nie były jednoznaczne. W analizie poziomów biomarkerów w osoczu, pacjenci z ciężkim przebiegiem COVID-19 mieli znacząco wyższe poziomy t-PA i vWF w porównaniu do pacjentów z łagodnym przebiegiem, co sugerowało ich potencjalną wartość prognostyczną [188]. Badanie przeprowadzone przez Shirai i wsp. analizujące markery koagulacji i fibrynolizy jako predyktory przeżywalności COVID-19, wykazało średnie poziomy t-PA na poziomie $22,3 \pm 7,8$ ng/mL u pacjentów, którzy zmarli, w porównaniu do $16,7 \pm 5,4$ ng/mL u tych, którzy przeżyli do wypisu ze szpitala [188]. Z kolei Puccini i wsp. zaobserwowali, że poziomy t-PA są wyższe u pacjentów z COVID-19, co może wskazywać na zwiększoną zakrzepowość. Poziomy t-PA wynosił średnio $28,6 \pm 9,7$ ng/mL u pacjentów z ciężkim przebiegiem COVID-19 [189]. Z kolei w badaniach przeprowadzonych przez Wynants i wsp., które obejmowały 606 modeli prognostycznych związanych z pandemią COVID-19, wykazano, że większość modeli miała niską wartość predykcyjną. Analiza tych modeli wykazała, że poziomy t-PA były stosowane w niektórych z nich, ale ich skuteczność

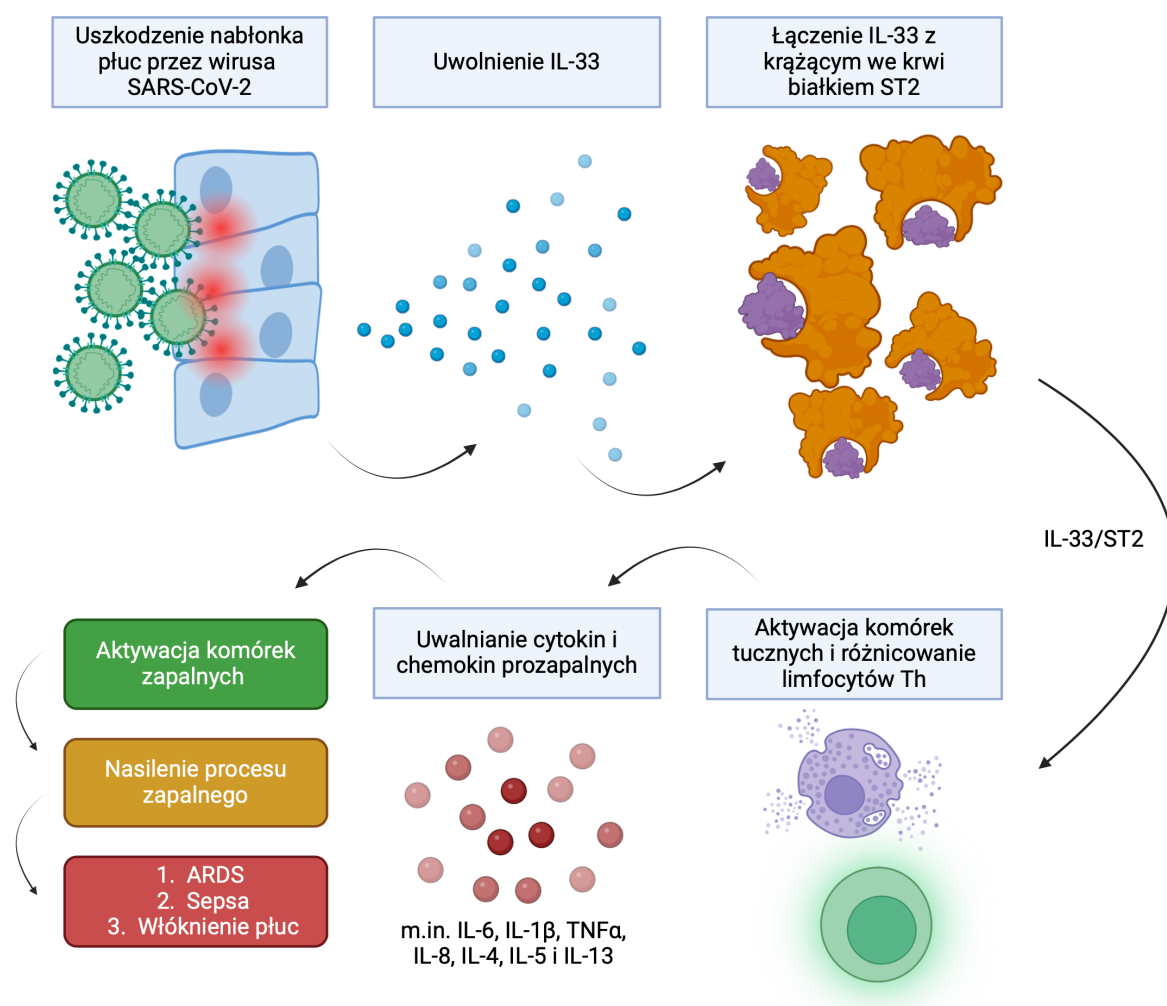
prognostyczna była ograniczona ze względu na brak spójności wyników i niską czułość w przewidywaniu ciężkości przebiegu COVID-19 [190].

Choć t-PA może być używany jako marker diagnostyczny wskazujący na zaburzenia hemostazy u pacjentów z COVID-19, jego wartość prognostyczna dla ciężkości przebiegu choroby jest ograniczona i wymaga dalszych badań.

Białko ST-2 (znane również jako receptor IL-1RL1) jest obecnie badane jako potencjalny biomarker diagnostyczny i prognostyczny w kontekście COVID-19. Jego wartość wynika z charakterystyki jako mediatora odpowiedzi zapalnej oraz jego związków z uszkodzeniami tkanek. ST-2 jest głównym receptorem dla cytokiny IL-33, która jest uwalniana w odpowiedzi na uszkodzenia komórkowe i tkankowe, typowe dla infekcji wirusowych, w tym SARS-CoV-2 [191]. IL-33 działa jako alarmowy cytokin tym samym pełni istotną rolę w inicjacji odpowiedzi immunologicznej poprzez aktywację komórek immunologicznych, takich jak limfocyty Th2, mastocyty oraz makrofagi [192]. Po połączeniu IL-33 z receptorem ST-2 na powierzchni komórek, inicjowane są szlaki sygnalizacyjne, w tym szlaki MAPK (mitogen-activated protein kinase) i NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), które z kolei prowadzą do produkcji prozapalnych cytokin, takich jak IL-6 i IL-8 [191, 192] (Rycina 4).

ST-2 może być użyteczne jako narzędzie diagnostyczne, ponieważ jego poziomy są statystycznie istotnie wyższe u pacjentów z COVID-19 w porównaniu do osób bez tej choroby. Przeprowadzona analiza pt. „Serum-soluble ST2 as a novel biomarker of COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis” wykazała, że poziomy rozpuszczalnego w surowicy ST-2 (sST2) były znacznie wyższe u pacjentów z COVID-19 (39.3 ± 44.23) w porównaniu do pacjentów bez COVID-19 (6.74 ± 6.25) (SMD = 3.52; 95% CI: 1.72 do 5.32; $p < 0.001$). Wyniki te sugerują, że ST-2 może być użyteczny do różnicowania pacjentów z COVID-19 od tych bez tej choroby. ST-2 wykazuje również potencjał jako marker prognostyczny, ponieważ jego poziomy są związane z ciężkością przebiegu COVID-19 oraz przeżywalnością pacjentów. Sześć badań analizowało poziomy sST2 u pacjentów z ciężkim i łagodnym przebiegiem COVID-19. Analiza zbiorcza wykazała, że poziomy ST-2 były statystycznie istotnie wyższe w grupie pacjentów z ciężkim przebiegiem choroby (94.07 ± 74.71) w porównaniu do grupy z łagodnym przebiegiem (25.53 ± 7.36) (SMD=3.87; 95% CI: 2.69 do 5.05; $p < 0.001$). Ponadto, analiza poziomów sST2 u pacjentów, którzy przeżyli, w porównaniu do tych, którzy zmarli, wykazała, że poziomy sST2 były znacznie

wyższe u pacjentów, którzy zmarli (119.11 ± 113.98) w porównaniu do tych, którzy przeżyli (43.18 ± 21.54) (SMD = -2.84; 95% CI: -4.49 do -1.19; $p < 0.001$).



Rycina 4. Mechanizm działania osi IL-33/ST2 w odpowiedzi zapalnej na infekcję SARS-CoV-2.
Źródło: Opracowanie własne.

Wartość diagnostyczna i prognostyczna ST-2 w COVID-19 wynika z kilku mechanizmów. Po pierwsze, ST-2 jest receptorem dla IL-33, cytokiny związanej z odpowiedzią zapalną. W kontekście infekcji SARS-CoV-2, odpowiedź zapalna odgrywa kluczową rolę w patogenezie choroby. Zwiększone poziomy ST-2 mogą być wynikiem intensywnej odpowiedzi zapalnej i uszkodzeń tkanek, co jest charakterystyczne dla cięższych przypadków COVID-19 [193, 194]. Po drugie, poziomy ST-2 są podwyższone w odpowiedzi na uszkodzenia tkanek i stres, które są często obserwowane u pacjentów z ciężkim przebiegiem COVID-19, zwłaszcza u tych, którzy wymagają intensywnej terapii

lub wentylacji mechanicznej. Wysokie poziomy ST-2 mogą odzwierciedlać stopień uszkodzeń płuc oraz innych tkanek, co może tłumaczyć jego wartość prognostyczną [195, 196]. Po trzecie, rola ST-2 w odpowiedzi immunologicznej również przyczynia się do jego wartości diagnostycznej i prognostycznej. Jako część układu IL-33/ST2, odgrywa ważną rolę w regulacji odpowiedzi immunologicznej, w tym w odpowiedzi na infekcje wirusowe. Zmiany w poziomach ST-2 mogą zatem odzwierciedlać stan układu odpornościowego pacjenta oraz jego zdolność do radzenia sobie z infekcją SARS-CoV-2 [197]. Badania wykazały, że poziomy sST2 są podwyższone w surowicy pacjentów z ciężkim przebiegiem COVID-19 w porównaniu do tych z łagodnym przebiegiem, co sugeruje jego potencjał jako marker prognostyczny [198]. W jednym z badań przeprowadzonych przez Gil-Bernabe et al., poziomy sST2 wynosiły średnio 98.4 ± 76.5 ng/ml u pacjentów z ciężkim przebiegiem COVID-19, podczas gdy u pacjentów z łagodnym przebiegiem były znacznie niższe [197]. Kolejne badanie autorstwa Mueller et al. potwierdziło te wyniki, pokazując, że poziomy sST2 były wyższe u pacjentów wymagających intensywnej terapii (112.5 ± 89.6 ng/ml) w porównaniu do tych, którzy nie wymagali takiego leczenia [198]. W badaniu Gadre i wsp. wykazano, że sST2 może być używany do przewidywania ryzyka zgonu u pacjentów z COVID-19. W ich analizie, pacjenci, którzy zmarli, mieli średnio wyższe poziomy sST2 (130.2 ± 120.1 ng/ml) w porównaniu do tych, którzy przeżyli (45.3 ± 30.2 ng/ml) [199]. Podsumowując, ST-2 posiada zarówno wartość diagnostyczną, jak i prognostyczną w kontekście COVID-19. Jego podwyższone poziomy są związane z obecnością infekcji SARS-CoV-2 oraz z ciężkością przebiegu choroby i przeżywalnością pacjentów. Mechanizmy, które stoją za tymi obserwacjami, obejmują związek z odpowiedzią zapalną, uszkodzeniami tkanek oraz odpowiedzią immunologiczną. Dlatego ST-2 może być użytecznym narzędziem w diagnostyce i prognozowaniu przebiegu COVID-19.

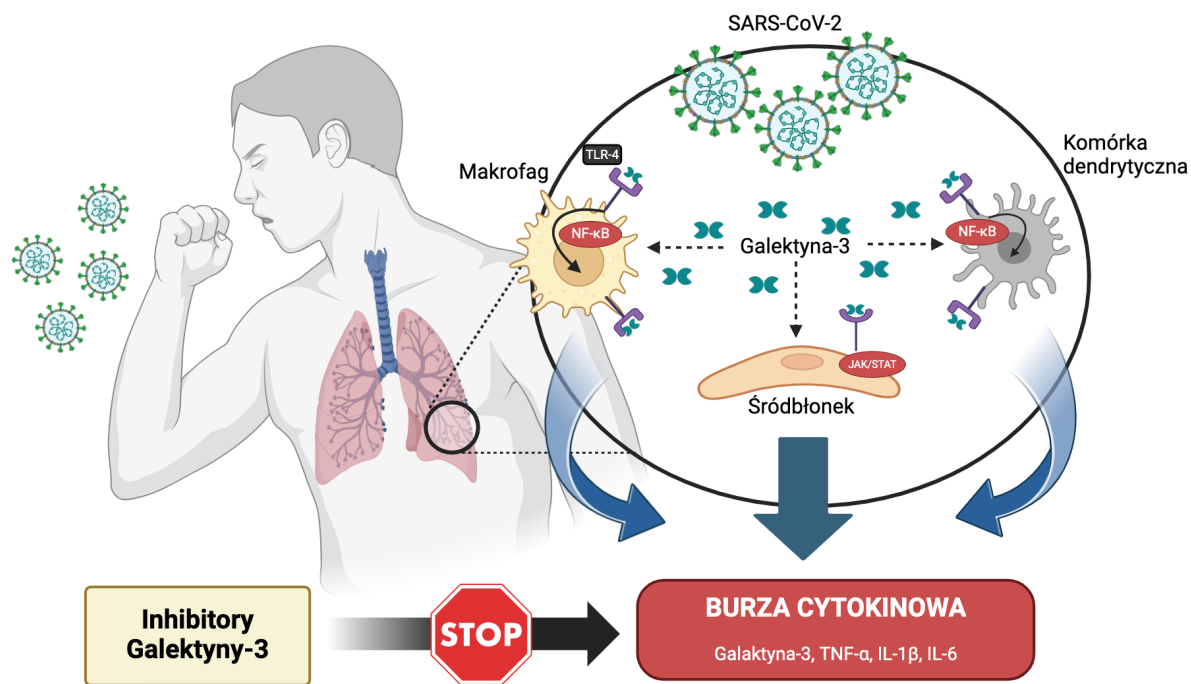
Kolejnym biomarkerem poddanym analizie w odniesieniu do niniejszego cyklu publikacyjnego jest galektyna-3 (Gal-3), która jest białkiem z rodziny galektyn, a jej funkcje w układzie immunologicznym są szeroko rozpoznawane i zbadane [200]. Ekspresja galektyny-3 możliwa jest przez wiele różnych typów komórek, takich jak komórki zapalne, fibroblasty, komórki nabłonkowe oraz komórki nowotworowe. Jej rola w immunologii obejmuje zarówno regulację procesów zapalnych, jak i modulację odpowiedzi immunologicznej.

Gal-3 pełni istotną rolę w modulacji procesów zapalnych poprzez oddziaływanie z różnymi komórkami i cząsteczkami sygnalizacyjnymi. Wykazano, że może wpływać na aktywację makrofagów, kluczowych dla odporności wrodzonej, oraz na migrację neutrofili, co jest istotne w reakcjach zapalnych. Dodatkowo, Gal-3 wiąże się z peptydoglikanami na powierzchni komórek oraz białkami macierzy pozakomórkowej, takimi jak kolagen, co umożliwia jej regulowanie procesów adhezji komórkowej, migracji i przylegania. W kontekście odpowiedzi immunologicznej Gal-3 może wpływać na różnorodne komórki układu odpornościowego, w tym limfocyty T, B oraz komórki dendrytyczne. Jest zaangażowana w regulację produkcji cytokin, takich jak interleukiny (np. IL-6, IL-10) oraz chemokiny, co jest kluczowe dla koordynacji odpowiedzi zapalnej i immunologicznej organizmu [201, 202].

Gal-3 jest również badana w kontekście nowotworów, gdzie jej ekspresja może wpływać na proliferację komórek nowotworowych, ich zdolność do migracji i inwazji, oraz interakcje z komórkami układu odpornościowego w mikrośrodkowisku nowotworowym [203, 204].

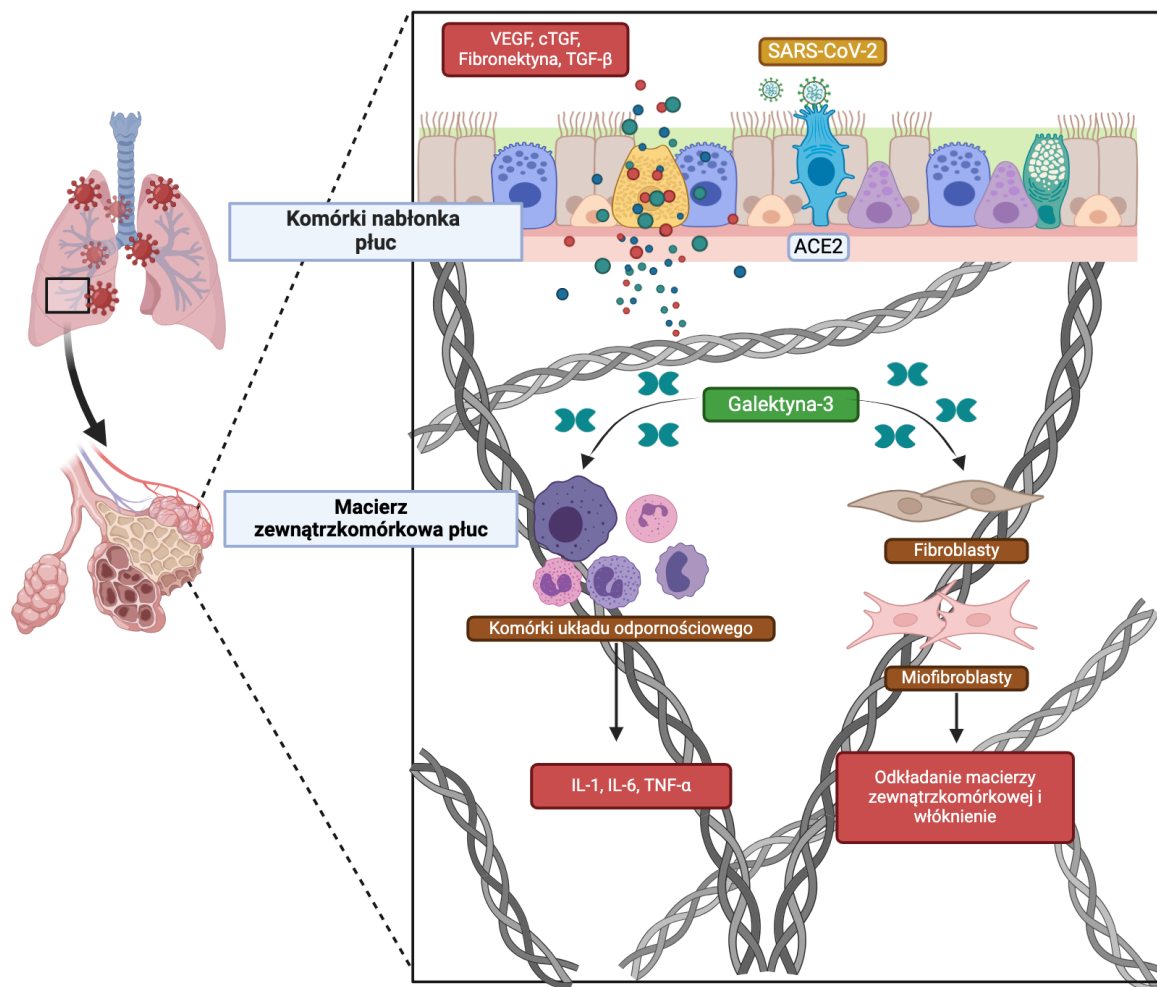
W przypadku chorób zakaźnych, takich jak COVID-19, rola Gal-3 może być istotna w regulacji odpowiedzi immunologicznej na patogeny wirusowe [205]. Może modulować zarówno odpowiedź wczesną (poprzez regulację produkcji cytokin prozapalnych), jak i odpowiedź późną, związana z procesami rekonwalescencji i gojeniem tkanek. Mechanizm działania galectyny-3 w kontekście COVID-19 obejmuje jej zdolność do wzmacniania odpowiedzi zapalnej oraz promowanie procesów fibrozy, które mogą prowadzić do uszkodzenia narządów i pogorszenia stanu pacjentów [200, 206]. Zwiększone wydzielanie galectyny-3 może być również związane z aktywacją komórek zapalnych, takich jak makrofagi i komórki dendrytyczne, co przyspiesza procesy zapalne w płucach i innych tkankach dotkniętych przez SARS-CoV-2.

Podczas ciężkiej infekcji SARS-CoV-2, zwiększone stężenia Gal-3 są obserwowane w makrofagach, monocytach i komórkach dendrytycznych. Gal-3, po wydzieleniu, może aktywować receptory TLR4 na powierzchni tych komórek, co prowadzi do wydzielania prozapalnych cytokin takich jak IL-1, IL-6 oraz TNF- α [201, 207]. Proces ten powoduje dalsze wydzielanie Gal-3, tworząc pętlę sprzężenia zwrotnego, która może przyczyniać się do rozwoju zjawiska burzy cytokinowej [137, 208, 209] (Rycina 5).



Rycina 5. Mechanizm działania Galektyny-3 w odpowiedzi zapalnej na infekcję SARS-CoV-2.
Źródło: Opracowanie własne.

Podczas infekcji SARS-CoV-2, w nabłonku płucnym obserwuje się transkrypcyjną regulację sprzyjającą wytwarzaniu VEGF, TGF- β oraz fibrynonektyny (FN), co tworzy środowisko sprzyjające włóknieniu tkanki [210]. Sekrecja Gal-3 przez makrofagi zwiększa ekspresję receptorów TGF- β na powierzchni fibroblastów. Aktywowane fibroblasty i miofibroblasty przez sygnalizację mediowaną TGF- β stymulują depozycję macierzy pozakomórkowej i kolagenu, co prowadzi do włóknienia. Indukowane przez Gal-3 cytokiny, takie jak IL-1, IL-6 i TNF- α , dodatkowo przyspieszają ten proces [211] (Rycina 6).



Rycina 6. Mechanizmy włóknienia płuc indukowane przez SARS-CoV-2.

Źródło: Opracowanie własne.

Gal-3, znana z swojej roli w procesach zapalnych i fibrozy [212, 213], może pełnić zatem istotną rolę jako marker diagnostyczny i predykcyjny w COVID-19, co potwierdzają wyniki z różnych badań naukowych.

W przeprowadzonej meta-analizie stwierdzono, że poziomy galektyny-3 były istotnie wyższe w grupie pacjentów z ciężkim przebiegiem choroby (średnio 18.83 ± 15.5 pg/mL) w porównaniu do pacjentów z łagodnym przebiegiem (średnio 12.43 ± 10.29 pg/mL) [163]. Wyniki te sugerują, że gal-3 może być użytecznym wskaźnikiem nasilenia stanu zapalnego i stopnia uszkodzenia tkanek w COVID-19, co może mieć praktyczne znaczenie kliniczne przy ocenie ciężkości choroby. Dodatkowo, analizując dane dotyczące przeżycia pacjentów z COVID-19 meta-analiza wykazała, że pacjenci, którzy zmarli z powodu choroby, mieli znacząco wyższe poziomy gal-3 (średnio 13.72 ± 15.92 pg/mL) w porównaniu do pacjentów, którzy przeżyli (średnio 6.24 ± 6.74 pg/mL) [163]. Niższe

poziomy gal-3 u pacjentów przeżywających mogą sugerować mniej intensywną reakcję zapalną oraz mniejsze ryzyko wystąpienia powikłań zagrażających życiu.

Uzyskane powyżej wyniki są zgodne z badaniami pokazującymi, że zwiększone poziomy gal-3 są związane z układową odpowiedzią hiper-zapalnością i uszkodzeniem wielonarządowym, co często obserwuje się w krytycznych przypadkach COVID-19 [214, 215]. Obecnie wykorzystanie gal-3 jako markera prognostycznego jest potwierdzona przez wiele badań [215, 216]. Karsli i wsp. wykazali znacznie wyższe stężenia galektyny-3 u pacjentów z krytycznym przebiegiem COVID-19 w porównaniu do pacjentów z łagodniejszym przebiegiem choroby, co wzmacnia wiarygodność stosowania galektyny-3 w ocenie przebiegu choroby [217].

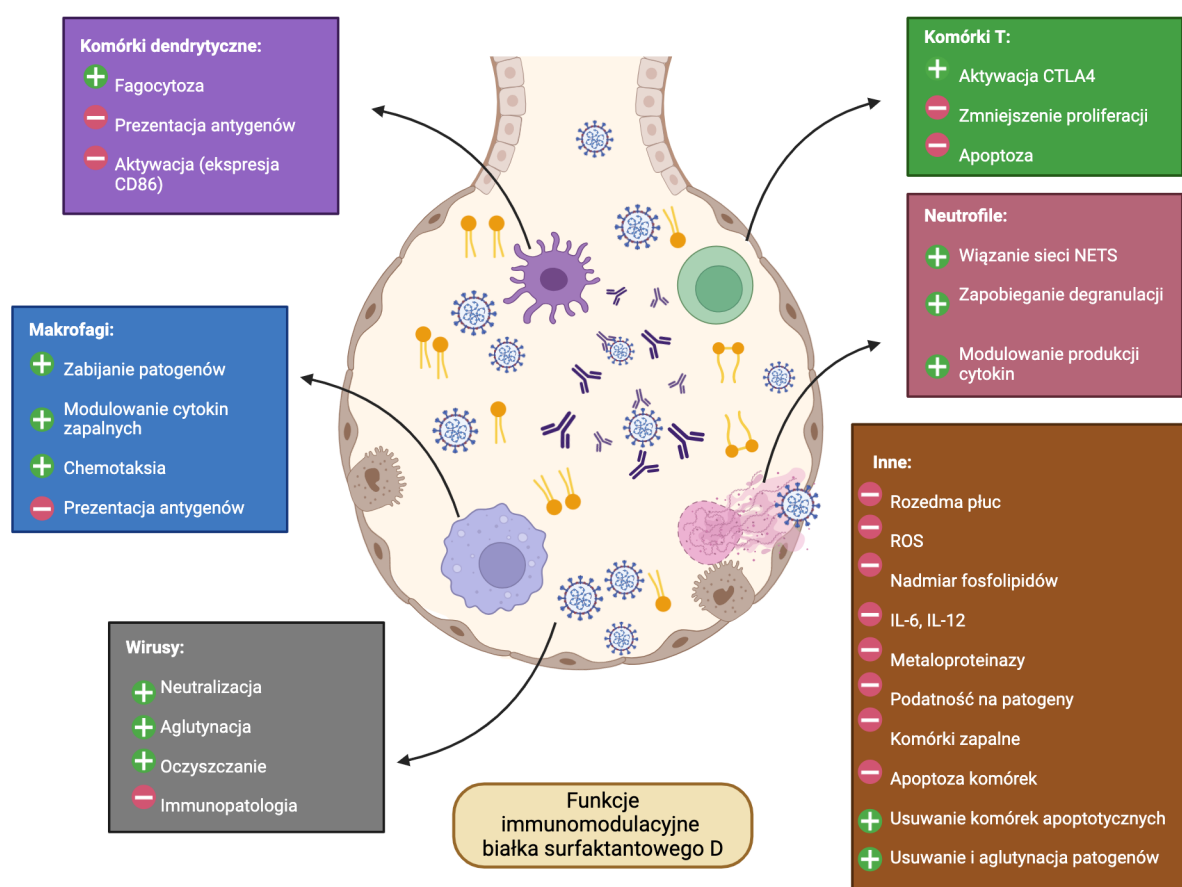
Podwyższone poziomy gal-3 wskazują na trwające procesy zapalne i włóknienie, które są kluczowymi cechami ciężkiego przebiegu COVID-19. Hiper-zapalna odpowiedź i wynikające z niej uszkodzenie tkanek i włóknienie są dobrze udokumentowane w ciężkich przypadkach, co dodatkowo uzasadnia stosowanie gal-3 jako markera tych zmian patologicznych [218].

Reasumując, badania wskazują na potencjalne zastosowanie galektyny-3 jako markera prognostycznego i diagnostycznego w COVID-19, co może mieć istotne znaczenie dla oceny ciężkości choroby oraz podejmowania decyzji terapeutycznych.

Białko powierzchniowo czynne D (SP-D) jest jednym z kluczowych składników układu odpornościowego, odgrywającym istotną rolę w ochronie płuc przed infekcją [219, 220] i zostało poddane ewaluacji w kolejnej pracy stanowiącej podstawę dysertacji doktorskiej. Rola SP-D jako elementu układu odpornościowego wykazana została zarówno w badaniach *in vitro* jak i również *in vivo* [221].

Na rycinie 7 przedstawiono mechanizmy w odniesieniu do których SP-D może być kluczowe w równoważeniu odpowiedzi zapalnej a tym samym łagodzeniu bądź zapobieganiu zmianom w płucach o podłożu immunologicznym. SP-D odgrywa rolę w zwiększeniu fagocytozy przez komórki dendrytyczne (DC) przy jednoczesnym zmniejszeniu prezentacji antygeny i aktywacji markerów kostymulujących. Ponadto odgrywa rolę w neutralizowaniu i aglutynacji wirusów oraz zmniejszeniu odpowiedzi zapalnej po kontakcie z wirusem grypy A, syncytialnym wirusem oddechowym (RSV) czy też ludzkim wirusem niedoboru odporności (HIV) [222]. Ponadto badania wykazują, iż SP-D odgrywa rolę w aglutynacji szkodliwych patogenów. Poprzez modulowanie produkcji

cytokin zapalnych przez makrofagi, chemotaksji makrofagów i zmniejszenie prezentacji antygenów powoduje redukcję patogenów. Dodatkowo odgrywa rolę w utrzymaniu limfocytów T w stanie hiporeaktywności w celu zwiększenia ekspresji CTLA4, modulowania apoptozy, zmniejszenia indukowanej alergenem produkcji cytokin Th2 oraz zmniejszenia proliferacji limfocytów T. Dodatkowo badania wykazały, iż SP-D reagując z neutrofilami moduluje produkcję cytokin, zapobiega degranulacji, jak również odgrywa rolę w tworzeniu eozynofilowych pułapek zewnątrzkomórkowych. W przypadku modelu zwierzęcego odnotowano również oddziaływanie SP-D na korygowanie fenotypu myszy, powodując zmniejszenie produkcji fosfolipidów, zmniejszeniu liczby komórek zapalnych oraz komórek nekrotycznych i apoptycznych, zmniejszanie poziomu reaktywnych form tlenu (ROS), oraz zmniejszanie poziomu cytokin prozapalnych (włączając w to interleukinę 6 i 12) [223 – 225].



Rycina 7. Immunomodulacyjne funkcje białka SP-D w odpowiedzi zapalnej na infekcję SARS-CoV-2.
Źródło: Opracowanie własne.

Dotyczy to zarówno wirusowego zapalenia płuc związanego z wirusami grypy i SARS-CoV-2 jak również samego zapalenia oskrzelików wywołanego przez wirus RSV [226].

W kontekście COVID-19, SP-D zostało zidentyfikowane jako marker diagnostyczny, co oznacza, że może pomóc w identyfikacji obecności choroby [227]. Niemniej jednak, istnieją ograniczenia w jego wykorzystaniu jako wskaźnika prognostycznego do oceny ciężkości przebiegu COVID-19. Powyższe zależności zostały potwierdzone w moim badaniu opublikowanym w „Advances in Medicine, Psychology and Public Health (AMPPH)” gdzie wykazano istotnie statystycznie wyższy poziom u pacjentów z COVID-19 aniżeli w grupie kontrolnej (44.38 ± 74.71 vs. 21.29 ± 31.8 ; SMD = 1.39; 95%CI: 0.35 – 2.43; $p=0.009$). Nie odnotowano natomiast istotnych zależności pomiędzy ciężkością przebiegu COVID-19 ($p=0.48$) jak również względem osób z COVID-19 które przeżyły infekcję i osób, które zmarły w szpitalu ($p=0.70$).

SP-D jest jednym z białek surfaktantu płucnego, które uczestniczy w odpowiedzi immunologicznej organizmu na infekcje wirusowe, w tym SARS-CoV-2 [222, 228, 229]. W badaniach wykazano, że poziom SP-D w surowicy mogą wzrosnąć u pacjentów z COVID-19, co sprawia, że jest on potencjalnym biomarkerem diagnostycznym. Zwiększone poziomy SP-D obserwowane są u pacjentów z COVID-19 w porównaniu do zdrowych osób. Podwyższenie poziomów tego białka może wynikać z uszkodzenia komórek nabłonka płucnego oraz reakcji zapalnej wywołanej infekcją SARS-CoV-2. Dla przykładu, w badaniu przeprowadzonym przez Gao i wsp. stwierdzono, że średni poziom SP-D w surowicy wynosił 146 ng/ml u pacjentów z COVID-19, w porównaniu do 52 ng/ml u zdrowej grupy kontrolnej [193]. W innym badaniu średnie poziomy SP-D wynosiły 118 ng/ml u pacjentów z COVID-19, co wskazuje na podobne tendencje wzrostowe [230]. Badania sugerują, że podwyższone poziomy SP-D mogą wskazywać na obecność zakażenia wirusowego w płucach. SP-D jest białkiem specyficznym dla płuc, co oznacza, że jego podwyższony poziom jest silnie związany z patologiami układu oddechowego. W kontekście COVID-19, jego specyficzność jako markera dla infekcji płucnej sprawia, że jest użyteczny w diagnozowaniu tej choroby, zwłaszcza w różnicowaniu od innych przyczyn infekcji dróg oddechowych.

Mimo że SP-D jest wartościowym markerem diagnostycznym, nie spełnia on kryteriów prognostycznych dotyczących oceny ciężkości przebiegu COVID-19. Istnieje kilka

przyczyn, które tłumaczą tę różnicę w jego zastosowaniu [230]. Badania wskazują, że mimo podwyższonych poziomów SP-D u pacjentów z COVID-19, nie ma jednoznacznej korelacji między poziomem SP-D a stopniem ciężkości choroby. Na przykład, w badaniu Zhang i wsp., nie wykazano istotnej różnicy w poziomach SP-D pomiędzy pacjentami z ciężkim i łagodnym przebiegiem COVID-19 [195]. Oznacza to, że poziomy SP-D nie odzwierciedla bezpośrednio ani intensywności stanu zapalnego, ani rozległości uszkodzeń płucnych. COVID-19 ma bardzo zmienny przebieg kliniczny, od łagodnych objawów po ciężkie przypadki wymagające intensywnej opieki medycznej [231, 232]. Poziom SP-D może odzwierciedlać jedynie aktualny stan zapalny i uszkodzenie płuc, nie będąc w stanie przewidzieć przyszłego przebiegu choroby, takich jak nagłe pogorszenie się stanu zdrowia czy rozwój powikłań. W badaniu przeprowadzonym przez Wu i wsp. wykazano, że mimo podwyższonych poziomów SP-D, jego wartości nie korelowały z wynikami innych wskaźników zapalnych, takich jak poziomy IL-6 czy CRP, które są bardziej związane z ciężkością przebiegu COVID-19 [196]. Ciężkość przebiegu COVID-19 zależy od wielu czynników, takich jak wiek pacjenta, obecność chorób współistniejących, odpowiedź immunologiczna oraz genetyczne predyspozycje. SP-D jest tylko jednym z wielu wskaźników zapalnych i jego poziom może być modulowany przez inne czynniki, co ogranicza jego przydatność w prognozowaniu przebiegu choroby.

Przeprowadzone badania pozwalają na sformułowanie następujących wniosków:

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

nowych wariantów wirusa, które przy tak szerokiej zakaźności i mutagenności mogą wciąż stanowić globalne zagrożenie.

5. OSWIADCZENIA AUTORÓW PUBLIKACJI

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Farah R, Khamisy-Farah R, Dziedzic K, Skrzypek E, Pruc M, Bragazzi NL, Szarpak L, Jomah M. The role of the neutrophil-lymphocyte ratio in predicting poor outcomes in COVID-19 patients. *Cardiol J.* 2024; 31(3):374-380. doi: 10.5603/cj.98214

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☒ koncepcja badania / conceptualization
- ☒ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☒ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☒ nadzór nad badaniem / supervision
- ☒ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 20%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.



Raymond Farah
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Farah R, Khamisy-Farah R, Dziedzic K, Skrzypek E, Pruc M, Bragazzi NL, Szarpak L, Jomah M. The role of the neutrophil-lymphocyte ratio in predicting poor outcomes in COVID-19 patients. *Cardiol J.* 2024; 31(3):374-380. doi: 10.5603/cj.98214

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☒ koncepcja badania / conceptualization
- ☒ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☒ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☒ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 20%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.

Rola Khamisy-Farah
.....
Rola Khamisy-Farah
(podpis / signature)

Dr n. med. Ewa Skrzypek

Warszawa, 08.07.2024

(Imię i nazwisko / forename and surname)

(miejsowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Farah R, Khamisy-Farah R, Dziedzic K, Skrzypek E, Pruc M, Bragazzi NL, Szarpak L, Jomah M. The role of the neutrophil-lymphocyte ratio in predicting poor outcomes in COVID-19 patients. *Cardiol J.* 2024; 31(3):374-380. doi: 10.5603/cj.98214

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określám na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażám zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.


Ewa Skrzypek
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Farah R, Khamisy-Farah R, Dziedzic K, Skrzypek E, Pruc M, Bragazzi NL, Szarpak L, Jomah M. The role of the neutrophil-lymphocyte ratio in predicting poor outcomes in COVID-19 patients. *Cardiol J.* 2024; 31(3):374-380. doi: 10.5603/cj.98214

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.


.....
Michał Pruc
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Farah R, Khamisy-Farah R, Dziedzic K, Skrzypek E, Pruc M, Bragazzi NL, Szarpak L, Jomah M. The role of the neutrophil-lymphocyte ratio in predicting poor outcomes in COVID-19 patients. *Cardiol J.* 2024; 31(3):374-380. doi: 10.5603/cj.98214

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☒ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☒ zarządzanie danymi / data curation
- ☒ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☒ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.



Nicola Luigi Bragazzi
(podpis / signature)

Prof. Łukasz Szarpak

Warszawa, 08.07.2024

.....
(imię i nazwisko / forename and surname)

.....
(miejscowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Farah R, Khamisy-Farah R, Dziedzic K, Skrzypek E, Pruc M, Bragazzi NL, Szarpak L, Jomah M. The role of the neutrophil-lymphocyte ratio in predicting poor outcomes in COVID-19 patients. *Cardiol J.* 2024; 31(3):374-380. doi: 10.5603/cj.98214

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☒ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☒ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.

Prof. dr hab. dr h.c. multi
ŁUKASZ SZARPAK, FERC
.....
Łukasz Szarpak
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

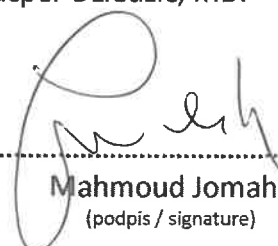
Farah R, Khamisy-Farah R, Dziedzic K, Skrzypek E, Pruc M, Bragazzi NL, Szarpak L, Jomah M. The role of the neutrophil-lymphocyte ratio in predicting poor outcomes in COVID-19 patients. *Cardiol J.* 2024; 31(3):374-380. doi: 10.5603/cj.98214

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☒ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.


.....
Mahmoud Jomah
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Pruc M, Kilic M, Ah R, Yildirim M, Szarpak L, Safiejko K, Khamisy-Farah R, Chirico F, Bragazzi NL. Sex- and gender-specific differences in the inflammatory response to COVID-19: the role of the neutrophil-to-lymphocyte ratio. Disaster Emerg Med J 2023; 8(4): 234–242. DOI: 10.5603/demj.98191

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.



.....
Michał Pruc
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Pruc M, Kilic M, Ah R, Yildirim M, Szarpak L, Safiejko K, Khamisy-Farah R, Chirico F, Bragazzi NL. Sex- and gender-specific differences in the inflammatory response to COVID-19: the role of the neutrophil-to-lymphocyte ratio. Disaster Emerg Med J 2023; 8(4): 234–242. DOI: 10.5603/demj.98191

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☒ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☒ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.



.....
Mazlum Kiliç
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

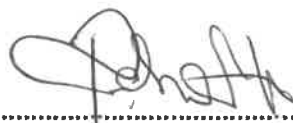
Dziedzic K, Pruc M, Kilic M, Ah R, Yildirim M, Szarpak L, Safiejko K, Khamisy-Farah R, Chirico F, Bragazzi NL. Sex- and gender-specific differences in the inflammatory response to COVID-19: the role of the neutrophil-to-lymphocyte ratio. Disaster Emerg Med J 2023; 8(4): 234–242. DOI: 10.5603/demj.98191

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☒ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☒ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określę na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażę zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.



Rohat Ah

(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Pruc M, Kilic M, Ah R, Yildirim M, Szarpak L, Safiejko K, Khamisy-Farah R, Chirico F, Bragazzi NL. Sex- and gender-specific differences in the inflammatory response to COVID-19: the role of the neutrophil-to-lymphocyte ratio. Disaster Emerg Med J 2023; 8(4): 234–242. DOI: 10.5603/demj.98191

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.

.....

Murat Yildirim
(podpis / signature)

Prof. Łukasz Szarpak

Warszawa, 08.07.2024

.....
(imię i nazwisko / forename and surname)

.....
(miejsowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Pruc M, Kilic M, Ah R, Yildirim M, Szarpak L, Safiejko K, Khamisy-Farah R, Chirico F, Bragazzi NL. Sex- and gender-specific differences in the inflammatory response to COVID-19: the role of the neutrophil-to-lymphocyte ratio. Disaster Emerg Med J 2023; 8(4): 234–242. DOI: 10.5603/demj.98191

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☒ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☒ wizualizacja wyników / visualization
- ☒ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.

Prof. dr hab. dr h.c. multi
ŁUKASZ SZARPAK, FERC
.....
Łukasz Szarpak
(podpis / signature)

Dr n. med. Kamil Safiejko

Białystok, 08.07.2024

.....
(imię i nazwisko / forename and surname)

.....
(miejsowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Pruc M, Kilic M, Ah R, Yildirim M, Szarpak L, Safiejko K, Khamisy-Farah R, Chirico F, Bragazzi NL. Sex- and gender-specific differences in the inflammatory response to COVID-19: the role of the neutrophil-to-lymphocyte ratio. Disaster Emerg Med J 2023; 8(4): 234–242. DOI: 10.5603/demj.98191

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określę na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.

.....
Kamil Safiejko
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Pruc M, Kilic M, Ah R, Yildirim M, Szarpak L, Safiejko K, Khamisy-Farah R, Chirico F, Bragazzi NL. Sex- and gender-specific differences in the inflammatory response to COVID-19: the role of the neutrophil-to-lymphocyte ratio. Disaster Emerg Med J 2023; 8(4): 234–242. DOI: 10.5603/demj.98191

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☒ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określę na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.


.....
Rola Khamisy-Farah
(podpis / signature)

Francesco Chirico, MD, PhD

Rome, Italy, 08.07.2024

(imię i nazwisko / forename and surname)

(miejsowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Pruc M, Kilic M, Ah R, Yildirim M, Szarpak L, Safiejko K, Khamisy-Farah R, Chirico F, Bragazzi NL. Sex- and gender-specific differences in the inflammatory response to COVID-19: the role of the neutrophil-to-lymphocyte ratio. Disaster Emerg Med J 2023; 8(4): 234–242. DOI: 10.5603/demj.98191

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☒ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określę na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.


Francesco Chirico
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Pruc M, Kilic M, Ah R, Yildirim M, Szarpak L, Safiejko K, Khamisy-Farah R, Chirico F, Bragazzi NL. Sex- and gender-specific differences in the inflammatory response to COVID-19: the role of the neutrophil-to-lymphocyte ratio. Disaster Emerg Med J 2023; 8(4): 234–242. DOI: 10.5603/demj.98191

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☒ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☒ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☒ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.



Nicola Luigi Bragazzi
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Rahnama-Hezavah M, Tomaszewska M, Szarpak A, Gasecka A, Kuleta K, Fidali O, Pruc M, Ostenda A, Wierzbniak-Stronska M, Kubica A, Chirico F. Breaking down the clotting conundrum: analyzing the role of plasma tissue plasminogen activator in COVID-19 patients through a systematic review and meta-analysis. Disaster Emerg Med J 2023;8(4):207-215. DOI: 10.5603/demj.97097

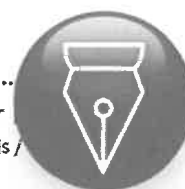
oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.

.....
Mansur
(podpis /



Signed by /
Podpisano przez:

.....
Mansur Rahnama-
Hezavah

Date / Data: 2024-
07-10 09:58

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

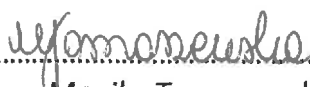
Dziedzic K, Rahnama-Hezavah M, Tomaszewska M, Szarpak A, Gasecka A, Kuleta K, Fidali O, Pruc M, Ostenda A, Wierzbniak-Stronska M, Kubica A, Chirico F. Breaking down the clotting conundrum: analyzing the role of plasma tissue plasminogen activator in COVID-19 patients through a systematic review and meta-analysis. Disaster Emerg Med J 2023;8(4):207-215. DOI: 10.5603/demj.97097

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☒ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.

.....

Monika Tomaszewska
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

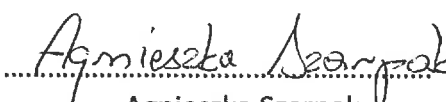
Dziedzic K, Rahnema-Hezavah M, Tomaszewska M, Szarpak A, Gasecka A, Kuleta K, Fidali O, Pruc M, Ostenda A, Wierzbniak-Stronska M, Kubica A, Chirico F. Breaking down the clotting conundrum: analyzing the role of plasma tissue plasminogen activator in COVID-19 patients through a systematic review and meta-analysis. Disaster Emerg Med J 2023;8(4):207-215. DOI: 10.5603/demj.97097

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☒ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☒ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określę na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.

.....

Agnieszka Szarpak
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Rahnama-Hezavah M, Tomaszewska M, Szarpak A, Gasecka A, Kuleta K, Fidali O, Pruc M, Ostenda A, Wierzbniak-Stronska M, Kubica A, Chirico F. Breaking down the clotting conundrum: analyzing the role of plasma tissue plasminogen activator in COVID-19 patients through a systematic review and meta-analysis. Disaster Emerg Med J 2023;8(4):207-215. DOI: 10.5603/demj.97097

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☒ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.

Aleksandra Gąsecka

.....
Aleksandra Gąsecka
(podpis / signature)

Krzysztof Kuleta

Warszawa, 08.07.2024

(imię i nazwisko / forename and surname)

(miejscowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

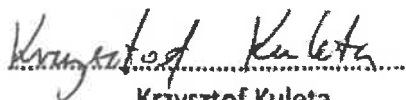
Dziedzic K, Rahnema-Hezavah M, Tomaszewska M, Szarpak A, Gasecka A, Kuleta K, Fidali O, Pruc M, Ostenda A, Wierzbniak-Stronska M, Kubica A, Chirico F. Breaking down the clotting conundrum: analyzing the role of plasma tissue plasminogen activator in COVID-19 patients through a systematic review and meta-analysis. *Disaster Emerg Med J* 2023;8(4):207-215. DOI: 10.5603/demj.97097

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejszej publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☒ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określę na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.


Krzysztof Kuleta
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Rahnema-Hezavah M, Tomaszewska M, Szarpak A, Gasecka A, Kuleta K, Fidali O, Pruc M, Ostenda A, Wierzbniak-Stronska M, Kubica A, Chirico F. Breaking down the clotting conundrum: analyzing the role of plasma tissue plasminogen activator in COVID-19 patients through a systematic review and meta-analysis. Disaster Emerg Med J 2023;8(4):207-215. DOI: 10.5603/demj.97097

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☒ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.


.....
Oliwia Fidali
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

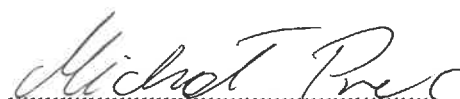
Dziedzic K, Rahnama-Hezavah M, Tomaszewska M, Szarpak A, Gasecka A, Kuleta K, Fidali O, Pruc M, Ostenda A, Wierzbniak-Stronska M, Kubica A, Chirico F. Breaking down the clotting conundrum: analyzing the role of plasma tissue plasminogen activator in COVID-19 patients through a systematic review and meta-analysis. Disaster Emerg Med J 2023;8(4):207-215. DOI: 10.5603/demj.97097

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☒ zarządzanie danymi / data curation
- ☒ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określę na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.



Michał Pruc
(podpis / signature)

Aleksander Ostenda, PhD

Katowice, 08.07.2024

(imię i nazwisko / forename and surname)

(miejscowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

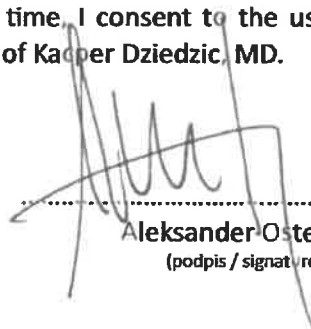
Dziedzic K, Rahnama-Hezavah M, Tomaszewska M, Szarpak A, Gasecka A, Kuleta K, Fidali O, Pruc M, Ostenda A, Wierzbnik-Stronska M, Kubica A, Chirico F. Breaking down the clotting conundrum: analyzing the role of plasma tissue plasminogen activator in COVID-19 patients through a systematic review and meta-analysis. Disaster Emerg Med J 2023;8(4):207-215. DOI: 10.5603/demj.97097

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☒ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.


Aleksander Ostenda
(podpis / signature)

Magdalena Wierzbnik-Strońska

Katowice, 08.07.2024

.....
(imię i nazwisko / forename and surname)

.....
(miejscowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Rahnama-Hezavah M, Tomaszewska M, Szarpak A, Gasecka A, Kuleta K, Fidali O, Pruc M, Ostenda A, Wierzbnik-Strońska M, Kubica A, Chirico F. Breaking down the clotting conundrum: analyzing the role of plasma tissue plasminogen activator in COVID-19 patients through a systematic review and meta-analysis. Disaster Emerg Med J 2023;8(4):207-215. DOI: 10.5603/demj.97097

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☒ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☒ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określám na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażám zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.

.....
Magdalena Wierzbnik-Strońska
(podpis / signature)

Podpisano przez / Signed by:
Magdalena Wierzbnik-Strońska
Data / Date: 2024.07.25 12:20
mSzofer

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Rahnama-Hezavah M, Tomaszewska M, Szarpak A, Gasecka A, Kuleta K, Fidali O, Pruc M, Ostenda A, Wierzbniak-Stronska M, Kubica A, Chirico F. Breaking down the clotting conundrum: analyzing the role of plasma tissue plasminogen activator in COVID-19 patients through a systematic review and meta-analysis. Disaster Emerg Med J 2023;8(4):207-215. DOI: 10.5603/demj.97097

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.


.....
Aldona Kubica
(podpis / signature)

Francesco Chirico, MD, PhD

Rome, Italy, 08.07.2024

(imię i nazwisko / forename and surname)

(miejsowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Rahnama-Hezavah M, Tomaszewska M, Szarpak A, Gasecka A, Kuleta K, Fidali O, Pruc M, Ostenda A, Wierzbniak-Stronska M, Kubica A, Chirico F. Breaking down the clotting conundrum: analyzing the role of plasma tissue plasminogen activator in COVID-19 patients through a systematic review and meta-analysis. Disaster Emerg Med J 2023;8(4):207-215. DOI: 10.5603/demj.97097

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☒ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.


Francesco Chirico
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Szarpak L, Pruc M, Swieczkowski D, Nucera G, Batra K, Khabbache H, Bahramizadeh M, Yildirim M, Sitibondo A, Galwankar S, Karbowska E, Kurek K, Tomaszewska M. Serum-soluble ST2 as a novel biomarker for COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis. J Health Soc Sci 2024, 9, 1, 86-99. Doi: 10.19204/2024/SRMS3

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☒ opracowanie metodologii / methodology
- ☒ analiza statystyczna / formal analysis
- ☒ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☒ zarządzanie danymi / data curation
- ☒ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – oryginal draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☒ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.

.....
Prof. dr hab. dr h.c. multi
ŁUKASZ SZARPAK, FERC
Łukasz Szarpak
(podpis / signature)

Lek. Michał Pruc

(imię i nazwisko / forename and surname)

Warszawa, 08.07.2024

(miejscowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Szarpak L, Pruc M, Swieczkowski D, Nucera G, Batra K, Khabbache H, Bahramizadeh M, Yildirim M, Sitibondo A, Galwankar S, Karbowska E, Kurek K, Tomaszewska M. Serum-soluble ST2 as a novel biomarker for COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis. J Health Soc Sci 2024, 9, 1, 86-99. Doi: 10.19204/2024/SRMS3

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☒ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☒ zarządzanie danymi / data curation
- ☒ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określę na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.



Michał Pruc
(podpis / signature)

Dr n. med. Damian Świeczkowski

Gdańsk, 08.07.2024

(imię i nazwisko / forename and surname)

(miejscowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Szarpak L, Pruc M, Swieczkowski D, Nucera G, Batra K, Khabbache H, Bahramizadeh M, Yildirim M, Sitibondo A, Galwankar S, Karbowska E, Kurek K, Tomaszewska M. Serum-soluble ST2 as a novel biomarker for COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis. J Health Soc Sci 2024, 9, 1, 86-99. Doi: 10.19204/2024/SRMS3

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☒ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☒ zarządzanie danymi / data curation
- ☒ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określám na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażám zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.



Damian Świeczkowski
(podpis / signature)

Gabriella Nucera, MD, PhD

Milan, Italy, 08.07.2024

(imię i nazwisko / forename and surname)

(miejscowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

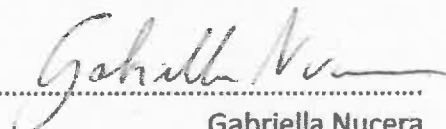
Dziedzic K, Szarpak L, Pruc M, Swieczkowski D, Nucera G, Batra K, Khabbache H, Bahramizadeh M, Yildirim M, Sitibondo A, Galwankar S, Karbowska E, Kurek K, Tomaszewska M. Serum-soluble ST2 as a novel biomarker for COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis. J Health Soc Sci 2024, 9, 1, 86-99. Doi: 10.19204/2024/SRMS3

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☒ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.


Gabriella Nucera
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Szarpak L, Pruc M, Swieczkowski D, Nucera G, Batra K, Khabbache H, Bahramizadeh M, Yildirim M, Sitibondo A, Galwankar S, Karbowska E, Kurek K, Tomaszewska M. Serum-soluble ST2 as a novel biomarker for COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis. J Health Soc Sci 2024, 9, 1, 86-99. Doi: 10.19204/2024/SRMS3

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☒ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.

Kavita Batra

Kavita Batra
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Szarpak L, Pruc M, Swieczkowski D, Nucera G, Batra K, Khabbache H, Bahramizadeh M, Yildirim M, Sitibondo A, Galwankar S, Karbowska E, Kurek K, Tomaszewska M. Serum-soluble ST2 as a novel biomarker for COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis. J Health Soc Sci 2024, 9, 1, 86-99. Doi: 10.19204/2024/SRMS3

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.

.....

Hicham Khabbache
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Szarpak L, Pruc M, Swieczkowski D, Nucera G, Batra K, Khabbache H, Bahramizadeh M, Yildirim M, Sitibondo A, Galwankar S, Karbowska E, Kurek K, Tomaszewska M. Serum-soluble ST2 as a novel biomarker for COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis. J Health Soc Sci 2024, 9, 1, 86-99. Doi: 10.19204/2024/SRMS3

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☒ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.


.....
Mahmood Bahramizadeh
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Szarpak L, Pruc M, Swieczkowski D, Nucera G, Batra K, Khabbache H, Bahramizadeh M, Yildirim M, Sitibondo A, Galwankar S, Karbowska E, Kurek K, Tomaszewska M. Serum-soluble ST2 as a novel biomarker for COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis. J Health Soc Sci 2024, 9, 1, 86-99. Doi: 10.19204/2024/SRMS3

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☒ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☒ zarządzanie danymi / data curation
- ☒ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.

.....

Murat Yildirim
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Szarpak L, Pruc M, Swieczkowski D, Nucera G, Batra K, Khabbache H, Bahramizadeh M, Yildirim M, Sitibondo A, Galwankar S, Karbowska E, Kurek K, Tomaszewska M. Serum-soluble ST2 as a novel biomarker for COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis. J Health Soc Sci 2024, 9, 1, 86-99. Doi: 10.19204/2024/SRMS3

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☒ zarządzanie danymi / data curation
- ☒ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – oryginal draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.



Aldo Sitibondo

(podpis / signature)

Prof. dr. Sagar Galwankar

Sarasota, FL, USA,
08.07.2024

.....
(imię i nazwisko / forename and surname)

.....
(miejscowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Szarpak L, Pruc M, Swieczkowski D, Nucera G, Batra K, Khabbache H, Bahramizadeh M, Yildirim M, Sitibondo A, Galwankar S, Karbowska E, Kurek K, Tomaszewska M. Serum-soluble ST2 as a novel biomarker for COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis. J Health Soc Sci 2024, 9, 1, 86-99. Doi: 10.19204/2024/SRMS3

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określám na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażám zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.

.....
Sagar Galwankar
(podpis / signature)

Lek. Eryka Karbowska

Białystok, 08.07.2024

.....
(imię i nazwisko / forename and surname)

.....
(miejscowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Szarpak L, Pruc M, Swieczkowski D, Nucera G, Batra K, Khabbache H, Bahramizadeh M, Yildirim M, Sitibondo A, Galwankar S, Karbowska E, Kurek K, Tomaszewska M. Serum-soluble ST2 as a novel biomarker for COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis. J Health Soc Sci 2024, 9, 1, 86-99. Doi: 10.19204/2024/SRMS3

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określám na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażám zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.

.....

Eryka Karbowska
(podpis / signature)

Dr n. med. Krzysztof Kurek

Warszawa, 08.07.2024

.....
(imię i nazwisko / forename and surname)

.....
(miejscowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Szarpak L, Pruc M, Swieczkowski D, Nucera G, Batra K, Khabbache H, Bahramizadeh M, Yildirim M, Sitibondo A, Galwankar S, Karbowska E, Kurek K, Tomaszewska M. Serum-soluble ST2 as a novel biomarker for COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis. J Health Soc Sci 2024, 9, 1, 86-99. Doi: 10.19204/2024/SRMS3

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☒ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☒ zarządzanie danymi / data curation
- ☒ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określám na nie więcej niż / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as no more than: 5%.

Jednocześnie wyrażám zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.



Krzysztof Kurek
(podpis / signature)

Dr n. o zdr. Monika Tomaszewska

Warszawa, 08.07.2024

.....
(imię i nazwisko / forename and surname)

.....
(miejscowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Szarpak L, Pruc M, Swieczkowski D, Nucera G, Batra K, Khabbache H, Bahramizadeh M, Yildirim M, Sitibondo A, Galwankar S, Karbowska E, Kurek K, Tomaszewska M. Serum-soluble ST2 as a novel biomarker for COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis. J Health Soc Sci 2024, 9, 1, 86-99. Doi: 10.19204/2024/SRMS3

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☒ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – oryginal draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.

.....

Monika Tomaszewska
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Batra K, Pruc M, Tomaszewska M, Kurek K, Yildirim M, Bahramizadeh M, Chirico F, Bragazzi NL, Khabbache H, Sitibondo A, Szarpak L, Nucera G. A systematic review and meta-analysis of the association between galectin-3 levels and clinical outcomes in COVID-19 patients. JHSS 2023;8(4):282-294. Doi: 10.19204/2023/SYST3

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.

Kavita Batra

Kavita Batra
(podpis / signature)

Lek. Michał Pruc

Warszawa, 08.07.2024

.....
(imię i nazwisko / forename and surname)

.....
(miejsowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Batra K, Pruc M, Tomaszewska M, Kurek K, Yildirim M, Bahramizadeh M, Chirico F, Bragazzi NL, Khabbache H, Sitibondo A, Szarpak L, Nucera G. A systematic review and meta-analysis of the association between galectin-3 levels and clinical outcomes in COVID-19 patients. JHSS 2023;8(4):282-294. Doi: 10.19204/2023/SYST3

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☒ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☒ zarządzanie danymi / data curation
- ☒ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.



Michał Pruc
(podpis / signature)

Dr n. o zdr. Monika Tomaszewska

Warszawa, 08.07.2024

.....
(imię i nazwisko / forename and surname)

.....
(miejscowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Batra K, Pruc M, Tomaszewska M, Kurek K, Yildirim M, Bahramizadeh M, Chirico F, Bragazzi NL, Khabbache H, Sitibondo A, Szarpak L, Nucera G. A systematic review and meta-analysis of the association between galectin-3 levels and clinical outcomes in COVID-19 patients. JHSS 2023;8(4):282-294. Doi: 10.19204/2023/SYST3

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☒ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.

.....

Monika Tomaszewska
(podpis / signature)

Dr n. med. Krzysztof Kurek

Warszawa, 08.07.2024

.....
(imię i nazwisko / forename and surname)

.....
(miejscowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Batra K, Pruc M, Tomaszewska M, Kurek K, Yildirim M, Bahramizadeh M, Chirico F, Bragazzi NL, Khabbache H, SiMbondo A, Szarpak L, Nucera G. A systematic review and meta-analysis of the association between galecMn-3 levels and clinical outcomes in COVID-19 patients. JHSS 2023;8(4):282-294. Doi: 10.19204/2023/SYST3

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejszej publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☒ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określę na nie więcej niż / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as no more than: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.

.....

Krzysztof Kurek
(podpis / signature)

Prof. dr. Murat Yildirim

Leicester, UK, 08.07.2024

.....
(imię i nazwisko / forename and surname)

.....
(miejscowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Batra K, Pruc M, Tomaszewska M, Kurek K, Yildirim M, Bahramizadeh M, Chirico F, Bragazzi NL, Khabbache H, Sitibondo A, Szarpak L, Nucera G. A systematic review and meta-analysis of the association between galectin-3 levels and clinical outcomes in COVID-19 patients. JHSS 2023;8(4):282-294. Doi: 10.19204/2023/SYST3

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.

.....

Murat Yildirim
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

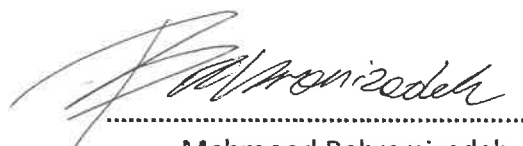
Dziedzic K, Batra K, Pruc M, Tomaszewska M, Kurek K, Yildirim M, Bahramizadeh M, Chirico F, Bragazzi NL, Khabbache H, Sitibondo A, Szarpak L, Nucera G. A systematic review and meta-analysis of the association between galectin-3 levels and clinical outcomes in COVID-19 patients. JHSS 2023;8(4):282-294. Doi: 10.19204/2023/SYST3

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.



Mahmood Bahramizadeh
(podpis / signature)

Francesco Chirico, MD, PhD

Rome, Italy, 08.07.2024

(imię i nazwisko / forename and surname)

(miejsowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Batra K, Pruc M, Tomaszewska M, Kurek K, Yildirim M, Bahramizadeh M, Chirico F, Bragazzi NL, Khabbache H, Sitibondo A, Szarpak L, Nucera G. A systematic review and meta-analysis of the association between galectin-3 levels and clinical outcomes in COVID-19 patients. JHSS 2023;8(4):282-294. Doi: 10.19204/2023/SYST3

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☒ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określę na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.


Francesco Chirico
(podpis / signature)

Prof. Nicola L. Bragazzi, MD, PhD

Parma, Italy, 08.07.2024

.....
(imię i nazwisko / forename and surname)

.....
(miejscowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Batra K, Pruc M, Tomaszewska M, Kurek K, Yildirim M, Bahramizadeh M, Chirico F, Bragazzi NL, Khabbache H, Sitibondo A, Szarpak L, Nucera G. A systematic review and meta-analysis of the association between galectin-3 levels and clinical outcomes in COVID-19 patients. JHSS 2023;8(4):282-294. Doi: 10.19204/2023/SYST3

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☒ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określám na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażám zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.



.....
Nicola Luigi Bragazzi
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Batra K, Pruc M, Tomaszewska M, Kurek K, Yildirim M, Bahramizadeh M, Chirico F, Bragazzi NL, Khabbache H, Sitibondo A, Szarpak L, Nucera G. A systematic review and meta-analysis of the association between galectin-3 levels and clinical outcomes in COVID-19 patients. JHSS 2023;8(4):282-294. Doi: 10.19204/2023/SYST3

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określę na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.

.....

Hicham Khabbache
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Batra K, Pruc M, Tomaszewska M, Kurek K, Yildirim M, Bahramizadeh M, Chirico F, Bragazzi NL, Khabbache H, Sitibondo A, Szarpak L, Nucera G. A systematic review and meta-analysis of the association between galectin-3 levels and clinical outcomes in COVID-19 patients. JHSS 2023;8(4):282-294. Doi: 10.19204/2023/SYST3

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☒ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.


Aldo Sitibondo
(podpis / signature)

Prof. Łukasz Szarpak

Warszawa, 08.07.2024

.....
(imię i nazwisko / forename and surname)

.....
(miejsowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Batra K, Pruc M, Tomaszewska M, Kurek K, Yildirim M, Bahramizadeh M, Chirico F, Bragazzi NL, Khabbache H, Sitibondo A, Szarpak L, Nucera G. A systematic review and meta-analysis of the association between galectin-3 levels and clinical outcomes in COVID-19 patients. JHSS 2023;8(4):282-294. Doi: 10.19204/2023/SYST3

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☒ koncepcja badania / conceptualization
- ☒ opracowanie metodologii / methodology
- ☒ analiza statystyczna / formal analysis
- ☒ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☒ zarządzanie danymi / data curation
- ☒ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☒ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określę na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 10%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.

Prof. dr hab. dr h.c. multi
ŁUKASZ SZARPAK, PERC
.....
Łukasz Szarpak
(podpis / signature)

Gabriella Nucera, MD, PhD

Milan, Italy, 08.07.2024

(imię i nazwisko / forename and surname)

(miejscowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

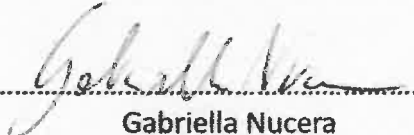
Dziedzic K, Batra K, Pruc M, Tomaszewska M, Kurek K, Yildirim M, Bahramizadeh M, Chirico F, Bragazzi NL, Khabbache H, Sitibondo A, Szarpak L, Nucera G. A systematic review and meta-analysis of the association between galectin-3 levels and clinical outcomes in COVID-19 patients. JHSS 2023;8(4):282-294. Doi: 10.19204/2023/SYST3

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☒ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☒ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.


Gabriella Nucera
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Tomaszewska M, Pruc M, Nucera G, Swieczkowski D, Koselak M, Szarpak L. Surfactant Protein-D (SP-D) serum levels as a predictor of COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis. Adv Med Psychol Public Health. 2024;1(4):174-184. Doi: 10.5281/zenodo.11075270

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☒ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.


Monika Tomaszewska
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Tomaszewska M, Pruc M, Nucera G, Swieczkowski D, Koselak M, Szarpak L. Surfactant Protein-D (SP-D) serum levels as a predictor of COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis. Adv Med Psychol Public Health. 2024;1(4):174-184. Doi: 10.5281/zenodo.11075270

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☒ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określę na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.



Michał Pruc

(podpis / signature)

Gabriella Nucera, MD, PhD

Milan, Italy, 08.07.2024

(imię i nazwisko / forename and surname)

(miejsowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

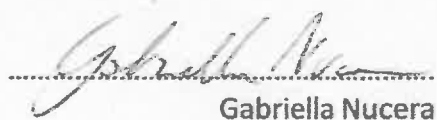
Dziedzic K, Tomaszewska M, Pruc M, Nucera G, Swieczkowski D, Koselak M, Szarpak L. Surfactant Protein-D (SP-D) serum levels as a predictor of COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis. Adv Med Psychol Public Health. 2024;1(4):174-184. Doi: 10.5281/zenodo.11075270

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☒ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.


Gabriella Nucera
(podpis / signature)

Dr n. med. Damian Świeczkowski

Gdańsk, 08.07.2024

(imię i nazwisko / forename and surname)

(miejscowość, data / place, date)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Tomaszewska M, Pruc M, Nucera G, Swieczkowski D, Koselak M, Szarpak L. Surfactant Protein-D (SP-D) serum levels as a predictor of COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis. Adv Med Psychol Public Health. 2024;1(4):174-184. Doi: 10.5281/zenodo.11075270

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☒ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określám na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażám zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.



Damian Świeczkowski
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Tomaszewska M, Pruc M, Nucera G, Swieczkowski D, Koselak M, Szarpak L. Surfactant Protein-D (SP-D) serum levels as a predictor of COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis. Adv Med Psychol Public Health. 2024;1(4):174-184. Doi: 10.5281/zenodo.11075270

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☐ opracowanie metodologii / methodology
- ☐ analiza statystyczna / formal analysis
- ☐ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☐ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.

Maciej Koselak
(podpis / signature)

OŚWIADCZENIE / STATEMENT

Jako współautor pracy / As co-author of the paper:

Dziedzic K, Tomaszewska M, Pruc M, Nucera G, Swieczkowski D, Koselak M, Szarpak L. Surfactant Protein-D (SP-D) serum levels as a predictor of COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis. Adv Med Psychol Public Health. 2024;1(4):174-184. Doi: 10.5281/zenodo.11075270

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie niniejsze publikacji obejmował / I declare that my own substantial contribution to the preparation of this manuscript included:

- ☐ koncepcja badania / conceptualization
- ☒ opracowanie metodologii / methodology
- ☒ analiza statystyczna / formal analysis
- ☒ zbieranie materiału badawczego / investigation
- ☐ zarządzanie danymi / data curation
- ☐ przygotowanie draftu manuskryptu / writing – original draft preparation
- ☒ przygotowanie ostatecznej formy manuskryptu / writing – review and editing
- ☐ wizualizacja wyników / visualization
- ☒ nadzór nad badaniem / supervision
- ☐ administrowanie projektem badania / project administration.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam na / I define my percentage contribution to the preparation of the publication as: 15%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako części rozprawy doktorskiej lekarza Kacpra Dziedzica / At the same time, I consent to the use of the aforementioned article as part of the doctoral thesis of Kacper Dziedzic, MD.

Prof. dr hab. dr h.c. mult
ŁUKASZ SZARPAK, FRC
.....
Łukasz Szarpak
(podpis / signature)

6. SPIS RYCIN

Rycina 1. Budowa wirionu SARS-CoV-2.	28
Rycina 2. Korelacja wartości NLR a mechanizmu odpowiedzi zapalnej w trakcie infekcji COVID-19.	116
Rycina 3. Rola tPA w procesie fibrylizacji i zapobieganiu powikłaniom zakrzepowozatorowym.....	119
Rycina 4. Mechanizm działania osi IL-33/ST2 w odpowiedzi zapalnej na infekcję SARS-CoV-2.....	122
Rycina 5. Mechanizm działania Galektyny-3 w odpowiedzi zapalnej na infekcję SARS-CoV-2.....	125
Rycina 6. Mechanizmy włóknienia płuc indukowane przez SARS-CoV-2.	126
Rycina 7. Immunomodulacyjne funkcje białka SP-D w odpowiedzi zapalnej na infekcję SARS-CoV-2.....	128

7. PISMIENNICTWO

1. Estola T. Coronaviruses, a new group of animal RNA viruses. *Avian Dis.* 1970; 14(2):330–6.
2. McIntosh K. Coronaviruses: a comparative review. In: Arber W, Haas R, Henle W, Hofschneider. *Current Topics in Microbiology and Immunology / Ergebnisse der Mikrobiologie und Immunitätsforschung*, Springer, Berlin 1974.
3. Arber W, Braun W, Haas R, Henle W, Hofschneider PH, Jerne NK. Koldovský P, Koprowski H, Maaløe O, Rott R, Schweiger HG, Sela M, Svruček L, Vogt PK, Wecker E. (redakcja) *Current topics in microbiology and immunology/Ergebnisse der Mikrobiologie und Immunitätsforschung*. Berlin: Springer; 1974. 87.
4. Kendall EJ, Bynoe ML, Tyrrell DA. Virus isolations from common colds occurring in a residential school. *Br Med J.* 1962; 2:82–6.
5. Hamre D, Procknow JJ. A new virus isolated from the human respiratory tract. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Soc Exp Biol Med.* 1966;121:190–3.
6. McIntosh K, Becker WB, Chanock RM. Growth in suckling-mouse brain of “IBV-like” viruses from patients with upper respiratory tract disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1967;58:2268–73.
7. McIntosh K, Dees JH, Becker WB, Kapikian AZ, Chanock RM. Recovery in tracheal organ cultures of novel viruses from patients with respiratory disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1967;57:933–40.
8. Gledhill AW, Niven JS. Latent virus as exemplified by mouse hepatitis virus (MHV). *Vet. Rev. Annot.* 1995, 1, 82-90.
9. Su S, Wong G, Shi W, I wsp. *Epidemiology, s. Trends Microbiol.* 2016; 24:490–502.
10. Zhu N, Zhang D, Wang W, I wsp. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* 2020; 382:727–33.
11. Zaki AM. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med.* 2012; 367:1814–20.

12. Al-Hazmi A. Challenges presented by MERS corona virus, and SARS corona virus to global health. *Saudi J Biol Sci.* 2016; 23:507-511.
13. SARS Team and Executive Committee, Council of State and Territorial Epidemiologists. SARS Investigative Team, CDC. <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5249a2.htm>
14. Mulabbi EN, Tweyongyere R, Wabwire-Mangen F, I wsp. Seroprevalence of human coronaviruses among patients visiting hospital-based sentinel sites in Uganda. *BMC Infect Dis.* 2021;21:585.
15. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol* 5, 536–544 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>
16. WHO news bulletin, 5th January 2020. <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2020-DON229>. 2020.
17. WHO COVID-19 Situation Report, 21 January 2020. <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200121-sitrep-1-2019-ncov.pdf>. 2020.
18. WHO COVID-19 Public Health Emergency of International Concern (PHEIC) Global research and innovation forum. [https://www.who.int/publications/m/item/covid-19-public-health-emergency-of-international-concern-\(pheic\)-global-research-and-innovation-forum](https://www.who.int/publications/m/item/covid-19-public-health-emergency-of-international-concern-(pheic)-global-research-and-innovation-forum). 2020.
19. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19: 11 March 2020. <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19—11-march-2020>. 2020.
20. World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-19) weekly epidemiological update and weekly operational update. Dec 2023 [internet publication].
21. Sun Z, Thilakavathy K, Kumar SS, I wsp. Potential factors influencing repeated SARS outbreaks in China. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2020; 17:1633. doi: 10.3390/IJERPH17051633.

22. Borsetti A, Scarpa F, Maruotti A, I wsp. The unresolved question on COVID-19 virus origin: The three cards game? *J Med Virol.* 2022; 94(4):1257-1260. doi: 10.1002/jmv.27519.
23. Garry RF. The evidence remains clear: SARS-CoV-2 emerged via the wildlife trade. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2022; 119(47):e2214427119. doi: 10.1073/pnas.2214427119.
24. Gong W, Parkkila S, Wu X, Aspatwar A. SARS-CoV-2 variants and COVID-19 vaccines: Current challenges and future strategies. *Int Rev Immunol.* 2023;42(6):393-414. doi: 10.1080/08830185.2022.2079642.
25. Shipulin GA, Savochkina Y, Shuryaeva AK, I wsp. Development and application of an RT–PCR assay for the identification of the delta and omicron variants of SARS-COV-2. *Heliyon.* 2023; 9(6):e16917. doi:10.1016/j.heliyon.2023.e16917
26. Zhang P. Advances in cryo-electron tomography and subtomogram averaging and classification. *Curr Opin Struct Biol.* 2019; 58:249-258. doi: 10.1016/j.sbi.2019.05.021.
27. Yao H, Song Y, Chen Y, I wsp. Molecular architecture of the SARS-CoV-2 virus. *Cell.* 2020; 183(3):730-738.e13. doi: 10.1016/j.cell.2020.09.018.
28. Liu C, Mendonça L, Yang Y, I wsp. The architecture of inactivated SARS-CoV-2 with postfusion spikes revealed by Cryo-EM and Cryo-ET. *Structure.* 2020; 28(11):1218-1224.e4. doi: 10.1016/j.str.2020.10.001.
29. Kumar S., Nyodu R, Maurya VK, Saxena SK. Morphology, genome organization, replication, and pathogenesis of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). 2020 : 23–31. doi: 10.1007/978-981-15-4814-7_3
30. Ke Z, Oton J, Qu K, I wsp. Structures and distributions of SARS-CoV-2 spike proteins on intact virions. *Nature.* 2020; 588(7838):498-502. doi: 10.1038/s41586-020-2665-2.
31. Watanabe Y, Allen JD, Wrapp D, McLellan JS, Crispin M. Crispin Site-specific glycan analysis of the SARS-CoV-2 spike. *Science.* 2020; 369(6501):330-333. doi: 10.1126/science.abb9983.
32. Turoňová B, Sikora M, Schürmann C, I wsp. In situ structural analysis of SARS-CoV-2 spike reveals flexibility mediated by three hinges. *Science.* 2020; 370(6513):203-8. doi: 10.1126/science.abd5223.

33. Mandala VS, McKay MJ, Shcherbakov AA, I wsp. Structure and drug binding of the SARS-CoV-2 envelope protein transmembrane domain in lipid bilayers. *Nat Struct Mol Biol.* 2020; 27(12):1202-8. doi: 10.1038/s41594-020-00536-8.
34. Nieto-Torres JL, DeDiego ML, Verdiá-Báguena C, i wsp. Severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein ion channel activity promotes virus fitness and pathogenesis. *PLoS Pathog.* 2014; 10(5):e1004077. doi: 10.1371/journal.ppat.1004077.
35. Mu J, Xu J, Zhang L, I wsp. SARS-CoV-2-encoded nucleocapsid protein acts as a viral suppressor of RNA interference in cells. *Sci China Life Sci.* 2020; 63(9):1413-1416. doi: 10.1007/s11427-020-1692-1.
36. Klein S, Cortese M, Winter SL, I wsp. SARS-CoV-2 structure and replication characterized by in situ cryo-electron tomography. *Nat Commun.* 2020; 11(1):5885. doi: 10.1038/s41467-020-19619-7.
37. Yao H, Song Y, Chen Y, I wsp. Molecular architecture of the SARS-CoV-2 virus. *Cell.* 2020; 183(3):730-8.e13. doi: 10.1016/j.cell.2020.09.018.
38. Osipiuk J, Azizi SA, Dvorkin S, I wsp. Structure of papain-like protease from SARS-CoV-2 and its complexes with non-covalent inhibitors. *Nat Commun.* 2021; 12(1):743. doi: 10.1038/s41467-021-21060-3.
39. Von Borowski RG, Trentin DS. Biofilms and Coronavirus Reservoirs: a Perspective Review. *Appl Environ Microbiol.* 2021; 87(18):e0085921. doi: 10.1128/AEM.00859-21.
40. Meyerowitz EA, Richterman A, Gandhi RT, I wsp. Transmission of SARS-CoV-2: a review of viral, host, and environmental factors. *Ann Intern Med.* 2021; 174(1):69-79. doi: 10.7326/M20-5008.
41. World Health Organization. Mask use in the context of COVID-19: interim guidance. Dec 2020 [internet publication].
42. Razani N, Malekinejad M, Rutherford GW. Clarification regarding "Outdoor transmission of SARS-CoV-2 and other respiratory viruses: a systematic review". *J Infect Dis.* 2021; 224(5):925-926. doi: 10.1093/infdis/jiab298.
43. Onakpoya IJ, Heneghan CJ, Spencer EA, I wsp. SARS-CoV-2 and the role of fomite transmission: a systematic review. *F1000Res.* 2021; 10:231. doi: 10.12688/f1000research.51592.2.

44. Jin XD, Li Y, Song YS, I wsp. Progress in research on the detection of the novel coronavirus in human samples of different groups. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020; 24(20):10879-84. doi: 10.26355/eurev_202010_23452.
45. Heeralall C, Ibrahim UH, Lazarus L, Gathiram P, Mackraj I. The effects of COVID-19 on placental morphology. *Placenta*. 2023; 138:88-96. doi: 10.1016/j.placenta.2023.05.009.
46. Martinez-Reviejo R, Tejada S, Cipriano A, I wsp. Solid organ transplantation from donors with recent or current SARS-CoV-2 infection: a systematic review. *Anaesth Crit Care Pain Med*. 2022; 41(4):101098. doi: 10.1016/j.accpm.2022.101098.
47. Xin H, Wong JY, Murphy C, I wsp. The incubation period distribution of coronavirus disease 2019 (COVID-19): a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2021; 73(12):2344-52. doi: 10.1093/cid/ciab501.
48. Wu Y, Kang L, Guo Z, i wsp. Incubation period of COVID-19 caused by unique SARS-CoV-2 strains: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Netw Open*. 2022; 5(8):e2228008. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2022.28008.
49. Cevik M, Tate M, Lloyd O, i wsp. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV viral load dynamics, duration of viral shedding, and infectiousness: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Microbe*. 2021; 2(1):e13-22. doi: 10.1016/S2666-5247(20)30172-5.
50. Aydillo T, Gonzalez-Reiche AS, Aslam S, et al. Shedding of viable SARS-CoV-2 after immunosuppressive therapy for cancer. *N Engl J Med*. 2020; 383(26):2586-8. doi: 10.1056/NEJMc2031670.
51. Szarpak L, Savytskyi I, Pruc M, i wsp. Variant lambda of the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 virus: A serious threat or the beginning of further dangerous mutations. *Cardiol J*. 2022; 29(1):176-7. doi: 10.5603/CJ.a2021.0121.
52. Dhawan M, Priyanka, Choudhary OP. Omicron SARS-CoV-2 variant: Reasons of emergence and lessons learnt. *Int J Surg*. 2022; 97:106198. doi: 10.1016/j.ijsu.2021.106198
53. World Health Organization. Weekly Epidemiological Update on COVID-19—29 December 2021 <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>.

54. Flores-Vega VR, Monroy-Molina JV, Jiménez-Hernández LE, et al. SARS-CoV-2 : Evolution and Emergence of New Viral Variants. *Viruses*. 2022; 14(4):653. doi: 10.3390/v14040653.
55. Lancet Respiratory Medicine. COVID-19: pathophysiology of acute disease. *Lancet Respir Med*. 2021; 9(6):545. doi: 10.1016/S2213-2600(21)00242-3.
56. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, I wsp. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*. 2020; 181(2):271-80.e8. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052.
57. V'kovski P, Kratzel A, Steiner S, Stalder H, Thiel V. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. *Nat Rev Microbiol*. 2021; 19(3):155-170. doi:10.1038/s41579-020-00468-6
58. Li E, Wang S, He W, I wsp. Clinical Characteristics of Immune Response in Asymptomatic Carriers and Symptomatic Patients With COVID-19. *Front Microbiol*. 2022; 13:896965. doi:10.3389/fmicb.2022.896965
59. National Institutes of Health. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) treatment guidelines. Dec 2023 [internet publication].
60. Jarczak D, Nierhaus A. Cytokine Storm-Definition, Causes, and Implications. *Int J Mol Sci*. 2022;23(19):11740. doi:10.3390/ijms231911740
61. Ackermann M, Kamp JC, Werlein C, I wsp. The fatal trajectory of pulmonary COVID-19 is driven by lobular ischemia and fibrotic remodelling. *EBioMedicine*. 2022; 85:104296. doi: 10.1016/j.ebiom.2022.104296.
62. Danwang C, Endomba FT, Nkeck JR, I wsp. A meta-analysis of potential biomarkers associated with severity of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Biomark Res*. 2020; 8:37. doi: 10.1186/s40364-020-00217-0.
63. Peiris S, Mesa H, Aysola A, I wsp. Pathological findings in organs and tissues of patients with COVID-19: a systematic review. *PLoS One*. 2021; 16(4):e0250708. doi: 10.1371/journal.pone.0250708.
64. Menezes RG, Rizwan T, Saad Ali S, I wsp. Postmortem findings in COVID-19 fatalities: a systematic review of current evidence. *Leg Med (Tokyo)*. 2022; 54:102001. doi: 10.1016/j.legalmed.2021.102001.

65. Sarkesh A, Daei Sorkhabi A, Sheykhsaran E, I wsp. Extrapulmonary clinical manifestations in COVID-19 patients. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2020; 103:1783. doi: 10.4269/AJTMH.20-0986.
66. World Health Organization (WHO). WHO Middle East respiratory syndrome: global summary and assessment of risk — 16 November 2022. WHO <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-MERS-RA-2022.1> (2022).
67. COVID-19 excess mortality collaborators. Estimating excess mortality due to the COVID-19 pandemic: a systematic analysis of COVID-19-related mortality, 2020–21. *Lancet* 2022; 399:1513–36.
68. Talla A, Vasaikar SV, Lemos MP, I wsp. Longitudinal immune dynamics of mild COVID-19 define signatures of recovery and persistence. *bioRxiv* [Preprint]. 2021 Aug 19:2021.05.26.442666. doi: 10.1101/2021.05.26.442666.
69. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72,314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA* 2020; 323:1239-42. doi: 10.1001/jama.2020.2648.
70. Chandel A, Leazer S, Alcover KC, I wsp. Intensive Care and Organ Support Related Mortality in Patients With COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Crit Care Explor.* 2023; 5(3):e0876. doi: 10.1097/CCE.0000000000000876.
71. Alimohamadi Y, Tola HH, Abbasi-Ghahramanloo A, I wsp. Case fatality rate of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *J Prev Med Hyg.* 2021; 62(2):E311-20. doi: 10.15167/2421-4248/jpmh2021.62.2.1627.
72. Qian Z, Lu S, Luo X, i wsp. Mortality and clinical interventions in critically ill patient with coronavirus disease 2019: a systematic review and meta-analysis. *Front Med (Lausanne).* 2021; 8:635560. doi: 10.3389/fmed.2021.635560.
73. Yu W, Guo Y, Zhang S, I wsp. Proportion of asymptomatic infection and nonsevere disease caused by SARS-CoV-2 Omicron variant: a systematic review and analysis. *J Med Virol.* 2022 Dec;94(12):5790-801. doi: 10.1002/jmv.28066.
74. Hoxha I, Agahi R, Bimbashi A, I wsp. Higher COVID-19 Vaccination Rates Are Associated with Lower COVID-19 Mortality: A Global Analysis. *Vaccines (Basel).* 2022;11(1):74. doi:10.3390/vaccines11010074

75. Tchicaya A, Lorentz N, Leduc K, de Lanchy G. COVID-19 mortality with regard to healthcare services availability, health risks, and socio-spatial factors at department level in France: A spatial cross-sectional analysis. *PLoS One*. 2021;16(9):e0256857. doi:10.1371/journal.pone.0256857
76. Luo X, Lv M, Zhang X, I wsp. Clinical manifestations of COVID-19: An overview of 102 systematic reviews with evidence mapping. *J Evid Based Med*. 2022; 15(3):201-15. doi: 10.1111/jebm.12483.
77. Almufarrij I, Munro KJ. One year on: an updated systematic review of SARS-CoV-2, COVID-19 and audio-vestibular symptoms. *Int J Audiol*. 2021; 60(12):935-45. doi: 10.1080/14992027.2021.1896793.
78. Akaishi T, Kushimoto S, Katori Y, I wsp. COVID-19 related symptoms during the SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529) variant surge in Japan. *Tohoku J Exp Med*. 2022; 258(2):103-10. doi: 10.1620/tjem.2022.J067.
79. Chavda VP, Bezbaruah R, Deka K, Nongrang L, Kalita T. The Delta and Omicron Variants of SARS-CoV-2: What We Know So Far. *Vaccines (Basel)*. 2022; 10(11):1926. doi: 10.3390/vaccines10111926.
80. Schultz CM, Burke LA, Kent DA. A systematic review and meta-analysis of the initial literature regarding COVID-19 symptoms in children in the United States. *J Pediatr Health Care*. 2023; 37(4):425-37. doi: 10.1016/j.pedhc.2023.02.006.
81. World Health Organization. COVID-19 disease in children and adolescents: scientific brief, 29 September 2021. Sep 2021 [internet publication].
82. Qamar MA, Afzal SS, Dhillon RA, I wsp. A global systematic review and meta-analysis on the emerging evidence on risk factors, clinical characteristics, and prognosis of multisystem inflammatory syndrome in adults (MIS-A). *Ann Med Surg (Lond)*. 2023; 85(9):4463-75. doi: 10.1097/MS9.0000000000000732.
83. Ruan Q, Yang K, Wang W, I wsp. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Med*. 2020; 46(5):846-8. doi: 10.1007/s00134-020-05991-x.
84. Sabatino J, De Rosa S, Di Salvo G, I wsp. Impact of cardiovascular risk profile on COVID-19 outcome: a meta-analysis. *PLoS One*. 2020; 15(8):e0237131. doi: 10.1371/journal.pone.0237131.

85. Raina R, Mahajan ZA, Vasistha P, I wsp. Incidence and outcomes of acute kidney injury in COVID-19: a systematic review. *Blood Purif.* 2022;51(3):199-212. doi: 10.1159/000514940.
86. World Health Organization. A clinical case definition of post COVID-19 condition by a Delphi consensus, 6 October 2021. Oct 2021 [internet publication].
87. Li G, Yang Y, Gao D, I wsp. Is liver involvement overestimated in COVID-19 patients? A meta-analysis. *Int J Med Sci.* 2021;18(5):1285-96. doi: 10.7150/ijms.51174.
88. Guerrero JI, Barragán LA, Martínez JD, I wsp. Central and peripheral nervous system involvement by COVID-19: a systematic review of the pathophysiology, clinical manifestations, neuropathology, neuroimaging, electrophysiology, and cerebrospinal fluid findings. *BMC Infect Dis.* 2021; 21(1):515. doi: 10.1186/s12879-021-06185-6.
89. Hayek SS, Brenner SK, Azam TU, I wsp. In-hospital cardiac arrest in critically ill patients with covid-19: multicenter cohort study. *BMJ.* 2020; 371:m3513. doi: 10.1136/bmj.m3513.
90. van Baar JAC, Kostova EB, Allotey J, I wsp. COVID-19 in pregnant women: a systematic review and meta-analysis on the risk and prevalence of pregnancy loss. *Hum Reprod Update.* 2024; 30(2):133-152. doi: 10.1093/humupd/dmad030.
91. Simbar M, Nazarpour S, Sheidaei A. Evaluation of pregnancy outcomes in mothers with COVID-19 infection: a systematic review and meta-analysis. *J Obstet Gynaecol.* 2023; 43(1):2162867. doi: 10.1080/01443615.2022.2162867.
92. Karakike E, Giamarellos-Bourboulis EJ, Kyprianou M, I wsp. Coronavirus disease 2019 as cause of viral sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Med.* 2021; 49(12):2042-57. doi: 10.1097/CCM.0000000000005195.
93. Song JC, Wang G, Zhang W, I wsp. Chinese expert consensus on diagnosis and treatment of coagulation dysfunction in COVID-19. *Mil Med Res.* 2020; 7(1):19. doi: 10.1186/s40779-020-00247-7.
94. Singh A, Singh Y, Pangasa N, I wsp. Risk factors, clinical characteristics, and outcome of air leak syndrome in COVID-19: a systematic review. *Indian J Crit Care Med.* 2021; 25(12):1434-45. doi: 10.5005/jp-journals-10071-24053.
95. Que Y, Hu C, Wan K, I wsp. Cytokine release syndrome in COVID-19: a major mechanism of morbidity and mortality. *Int Rev Immunol.* 2022; 41(2):217-230. doi: 10.1080/08830185.2021.1884248.

96. Hoenigl M, Seidel D, Carvalho A, I wsp. The emergence of COVID-19 associated mucormycosis: a review of cases from 18 countries. *Lancet Microbe*. 2022; 3(7):e543-e552. doi: 10.1016/S2666-5247(21)00237-8.
97. Arastehfar A, Carvalho A, van de Veerdonk FL, I wsp. COVID-19 associated pulmonary aspergillosis (CAPA): from immunology to treatment. *J Fungi (Basel)*. 2020; 6(2):91. doi: 10.3390/jof6020091.
98. Wang F, Wang H, Fan J, I wsp. Pancreatic injury patterns in patients with COVID-19 pneumonia. *Gastroenterology*. 2020; 159(1):367-70. doi: 10.1053/j.gastro.2020.03.055.
99. Bhattacharjee S, Banerjee M. Immune thrombocytopenia secondary to COVID-19: a systematic review. *SN Compr Clin Med*. 2020; 2(11):2048-58. doi: 10.1007/s42399-020-00521-8.
100. Meftah E, Rahmati R, Zari Meidani F, I wsp. Subacute thyroiditis following COVID-19: a systematic review. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023; 14:1126637. doi: 10.3389/fendo.2023.1126637.
101. Tatal E, Ozaras R, Leblebicioglu H. Systematic review of COVID-19 and autoimmune thyroiditis. *Travel Med Infect Dis*. 2022; 47:102314. doi: 10.1016/j.tmaid.2022.102314.
102. El Moheb M, Naar L, Christensen MA, I wsp. Gastrointestinal complications in critically ill patients with and without COVID-19. *JAMA*. 2020; 324(18):1899-901. doi: 10.1001/jama.2020.19400.
103. Marasco G, Maida M, Morreale GC, I wsp. Gastrointestinal bleeding in COVID-19 patients: a systematic review with meta-analysis. *Can J Gastroenterol Hepatol*. 2021; 2021:2534975. doi: 10.1155/2021/2534975.
104. Musuuza JS, Watson L, Parmasad V, I wsp. Prevalence and outcomes of co-infection and superinfection with SARS-CoV-2 and other pathogens: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2021; 16(5):e0251170. doi: 10.1371/journal.pone.0251170.
105. Cong B, Deng S, Wang X, I wsp. The role of respiratory co-infection with influenza or respiratory syncytial virus in the clinical severity of COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. *J Glob Health*. 2022 Sep 17;12:05040. doi: 10.7189/jogh.12.05040.

106. World Health Organization. Clinical management of COVID-19: living guideline, 18 August 2023. Aug 2023 [internet publication].
107. Prasad P, Ingerowski E, Peritz D, Burgin S. COVID-19. visualDX. Available at <https://www.visualdx.com/visualdx/diagnosis/covid-19?moduleId=101&diagnosisId=56622>. 2023; Accessed February 5, 2023.
108. Cascella M, Rajnik M, Aleem A, I wsp. Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19) [Updated 2023 Aug 18]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/>
109. World Health Organization. Public health surveillance for COVID-19: interim guidance. Jul 2022 [internet publication] <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-SurveillanceGuidance-2022.2>
110. CDC COVID-19 Response Team. Severe outcomes among patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19): United States, February 12 - March 16, 2020. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2020; 69(12):343-6.
111. Centers for Disease Control and Prevention. Underlying medical conditions associated with high risk for severe COVID-19: information for healthcare professionals. Feb 2023 [internet publication].
112. Pijls BG, Jolani S, Atherley A, I wsp. Temporal trends of sex differences for COVID-19 infection, hospitalisation, severe disease, intensive care unit (ICU) admission and death: a meta-analysis of 229 studies covering over 10M patients. F1000Res. 2022; 11:5. doi: 10.12688/f1000research.74645.1.
113. Magesh S, John D, Li WT, I wsp. Disparities in COVID-19 outcomes by race, ethnicity, and socioeconomic status: a systematic-review and meta-analysis. JAMA Netw Open. 2021; 4(11):e2134147. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2021.34147.
114. Underlying Medical Conditions Associated with Higher Risk for Severe COVID-19: Information for Healthcare Professionals <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/clinical-care/underlyingconditions.html>
115. Marshall M. Does covid-19 affect pregnancies? New Sci. 2023; 258(3441):14-5. doi: 10.1016/S0262-4079(23)00987-9.

- 116.Salehi Z, Motlagh Ghoochani BFN, Hasani Nourian Y, Jamalkandi SA, Ghanei M. The controversial effect of smoking and nicotine in SARS-CoV-2 infection. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2023 Jun 1;19(1):49. doi: 10.1186/s13223-023-00797-0.
- 117.Akbar MR, Wibowo A, Pranata R, I wsp. Low serum 25-hydroxyvitamin d (vitamin d) level is associated with susceptibility to COVID-19, severity, and mortality: a systematic review and meta-analysis. *Front Nutr*. 2021; 8:660420. doi: 10.3389/fnut.2021.660420.
- 118.Fatima K, Almas T, Lakhani S, I wsp. The use of proton pump inhibitors and COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Trop Med Infect Dis*. 2022; 7(3):37. doi: 10.3390/tropicalmed7030037.
- 119.Akiyama S, Hamdeh S, Micic D, I wsp. Prevalence and clinical outcomes of COVID-19 in patients with autoimmune diseases: a systematic review and meta-analysis. *Ann Rheum Dis*. 2021 Mar;80(3):384-91. doi: 10.1136/annrheumdis-2020-218946.
- 120.Giovanella L, Ruggeri RM, Ovčariček PP, I wsp. Prevalence of thyroid dysfunction in patients with COVID-19: a systematic review. *Clin Transl Imaging* 2021; 9(3):233-40. doi: 10.1007/s40336-021-00419-y.
- 121.Putri C, Hariyanto TI, Hananto JE, I wsp. Parkinson's disease may worsen outcomes from coronavirus disease 2019 (COVID-19) pneumonia in hospitalized patients: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression. *Parkinsonism Relat Disord*. 2021 Jun;87:155-61. doi: 10.1016/j.parkreldis.2021.04.019.
- 122.Topless RK, Gaffo A, Stamp LK, I wsp. Gout and the risk of COVID-19 diagnosis and death in the UK Biobank: a population-based study. *Lancet Rheumatol*. 2022 Apr;4(4):e274-81. doi: 10.1016/S2665-9913(21)00401-X.
- 123.Choi GJ, Kim HM, Kang H. The potential role of dyslipidemia in COVID-19 severity: an umbrella review of systematic reviews. *J Lipid Atheroscler*. 2020; 9(3):435-48. doi: 10.12997/jla.2020.9.3.435.
- 124.Doglietto F, Vezzoli M, Gheza F, I wsp. Factors associated with surgical mortality and complications among patients with and without coronavirus disease 2019 (COVID-19) in Italy. *JAMA Surg*. 2020; 155(8):691-702. doi: 10.1001/jamasurg.2020.2713.
- 125.Liu N, Zhang T, Ma L, i wsp. The impact of ABO blood group on COVID-19 infection risk and mortality: A systematic review and meta-analysis. *Blood Rev* 2021; 48:100785. doi: 10.1016/j.blre.2020.100785.

126. Yamamoto S, Saito M, Tamura A, I wsp. The human microbiome and COVID-19: a systematic review. *PLoS One*. 2021; 16(6):e0253293. doi: 10.1371/journal.pone.0253293.
127. Zheng HL, Guo ZL, Wang ML, I wsp. Effects of climate variables on the transmission of COVID-19: a systematic review of 62 ecological studies. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2021; 28(39):54299-316. doi: 10.1007/s11356-021-15929-5.
128. Ogen Y. Assessing nitrogen dioxide (NO₂) levels as a contributing factor to coronavirus (COVID-19) fatality. *Sci Total Environ*. 2020; 726:138605. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.138605.
129. Irfan O, Muttalib F, Tang K, Jiang L, Lassi ZS, Bhutta Z. Clinical characteristics, treatment and outcomes of paediatric COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child*. 2021; 106(5):440–8. doi: 10.1136/archdischild-2020-321385.
130. World Health Organization. Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection. Oct 2021 [internet publication].
131. World Health Organization. Diagnostic testing for SARS-CoV-2: interim guidance. Sep 2020
132. Watson J, Richter A, Deeks J. Testing for SARS-CoV-2 antibodies. *BMJ*. 2020 Sep 8;370:m3325. doi: 10.1136/bmj.m3325.
133. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/duration-isolation.html>
134. Mehta P, Fajgenbaum DC. Is severe COVID-19 a cytokine storm syndrome: a hyperinflammatory debate. *Curr Opin Rheumatol*. 2021; 33(5):419-430. doi:10.1097/BOR.0000000000000822
135. Chen D, Li X, Song Q, I wsp. Assessment of Hypokalemia and Clinical Characteristics in Patients With Coronavirus Disease 2019 in Wenzhou, China. *JAMA Netw Open*. 2020; 3(6):e2011122. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2020.11122.
136. Akbar MR, Pranata R, Wibowo A, Irvan, Sihite TA, Martha JW. The Prognostic Value of Hyponatremia for Predicting Poor Outcome in Patients With COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Med (Lausanne)*. 2021; 8:666949. doi: 10.3389/fmed.2021.666949.
137. Szarpak Ł, Nowak B, Kosior D, Zaczynski A, Filipiak KJ, Jaguszewski MJ. Cytokines as predictors of COVID-19 severity: evidence from a meta-analysis. *Pol Arch Intern Med*. 2021; 131(1):98-9. doi: 10.20452/pamw.15685.

- 138.Taneri PE, Gómez-Ochoa SA, Llanaj E, I wsp. Anemia and iron metabolism in COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Epidemiol.* 2020 Aug;35(8):763-773. doi: 10.1007/s10654-020-00678-5.
- 139.Ashrafi S, Hatami H, Bidhendi-Yarandi R, Panahi MH. The prevalence of thyroid disorders in COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. *BMC Endocr Disord.* 2024; 24(1):5. doi: 10.1186/s12902-023-01534-9.
- 140.Dubey L, Dorosh O, Dubey N, I wsp. COVID-19-induced coagulopathy: Experience, achievements, prospects. *Cardiol J.* 2023; 30(3):453-61. doi: 10.5603/CJ.a2022.0123.
- 141.Wungu CDK, Khaerunnisa S, Putri EAC, I wsp. Meta-analysis of cardiac markers for predictive factors on severity and mortality of COVID-19. *Int J Infect Dis.* 2021; 105:551-9. doi: 10.1016/j.ijid.2021.03.008.
- 142.Kronbichler A, Kresse D, Yoon S, I wsp. Asymptomatic patients as a source of COVID-19 infections: a systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis.* 2020; 98:180-6. doi: 10.1016/j.ijid.2020.06.052.
- 143.Sadiq Z, Rana S, Mahfoud Z, Raoof A. Systematic review and meta-analysis of chest radiograph (CXR) findings in COVID-19. *Clin Imaging.* 2021; 80:229-38. doi: 10.1016/j.clinimag.2021.06.039.
- 144.Garg M, Gupta P, Maralakunte M, I wsp. Diagnostic accuracy of CT and radiographic findings for novel coronavirus 2019 pneumonia: Systematic review and meta-analysis. *Clin Imaging.* 2021; 72:75–82. doi: 10.1016/j.clinimag.2020.11.021.
- 145.Sun P, Qie S, Liu Z, Ren J, Li K, Xi J. Clinical characteristics of hospitalized patients with SARS-CoV-2 infection: A single arm meta-analysis. *J Med Virol.* 2020; 92(6):612-7. doi: 10.1002/jmv.25735.
- 146.Gil-Rodríguez J, Pérez de Rojas J, Aranda-Laserna P, I wsp. Ultrasound findings of lung ultrasonography in COVID-19: A systematic review. *Eur J Radiol.* 2022; 148:110156. doi: 10.1016/j.ejrad.2022.110156.
- 147.Ebrahimzadeh S, Islam N, Dawit H, I wsp. Thoracic imaging tests for the diagnosis of COVID-19. *Cochrane Database Syst Rev.* 2022; 5(5):CD013639. doi: 10.1002/14651858.CD013639.pub5.
- 148.Jari R, Alfuraih AM, McLaughlan JR. The diagnostic performance of lung ultrasound for detecting COVID-19 in emergency departments: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Ultrasound.* 2022; 50(5):618-27. doi: 10.1002/jcu.23184.

- 149.Huang S, Vignon P, Mekontso-Dessap A, I wsp. Echocardiography findings in COVID-19 patients admitted to intensive care units: a multi-national observational study (the ECHO-COVID study). *Intensive Care Med.* 2022; 48(6):667-678. doi:10.1007/s00134-022-06685-2
- 150.O'Driscoll BR, Howard LS, Earis J, I wsp. BTS guideline for oxygen use in adults in healthcare and emergency settings. *Thorax.* 2017; 72(suppl 1):ii1-90. doi: 10.1136/thoraxjnl-2016-209729.
- 151.US Food and Drug Administration. Pulse oximeter accuracy and limitations: FDA safety communication. Nov 2023 [internet publication].
- 152.NHS England. Pulse oximetry to detect early deterioration of patients with COVID-19 in primary and community care settings. Oct 2022 [internet publication].
- 153.Sanghani H, Bansal S, Parmar V, Shah R. Study of Arterial Blood Gas Analysis in Moderate-to-Severe COVID-19 Patients. *Cureus.* 2022; 14(7):e26715. doi: 10.7759/cureus.26715.
- 154.Calabrese F, Lunardi F, Baldasso E, et al. Comprehensive bronchoalveolar lavage characterization in COVID-19 associated acute respiratory distress syndrome patients: a prospective cohort study. *Respir Res.* 2023; 24(1):152. doi: 10.1186/s12931-023-02464-9.
- 155.Cheung OY, Chan JWM, Ng CK, Koo CK. The spectrum of pathological changes in severe acute respiratory syndrome (SARS) Histopathology. 2004; 45:119–24. doi: 10.1111/J.1365-2559.2004.01926.X.
- 156.Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther.* 2001; 69:89–95. doi: 10.1067/mcp.2001113989
- 157.Interna Szczeklika 2022. / [red.prow.] Piotr Gajewski Kraków : Wydawnictwo Medycyna Praktyczna, 2022: 2758.
- 158.Abers MS, Delmonte OM, Ricotta EE, I wsp. An immune-based biomarker signature is associated with mortality in COVID-19 patients. *JCI Insight.* 2021; 6(1):e144455. doi: 10.1172/jci.insight.144455.
- 159.Semiz S. COVID19 biomarkers: What did we learn from systematic reviews? *Front Cell Infect Microbiol.* 2022; 12:1038908. doi: 10.3389/fcimb.2022.1038908.

160. Farah R, Khamisy-Farah R, Dziedzic K, I wsp. The role of the neutrophil-lymphocyte ratio in predicting poor outcomes in COVID-19 patients. *Cardiol J*. 2024; 31(3):374-80. doi: 10.5603/cj.98214.
161. Dziedzic K, Pruc M, Kilic M, I wsp. Sex- and gender-specific differences in the inflammatory response to COVID-19: the role of the neutrophil-to-lymphocyte ratio. *Disaster Emerg Med J* 2023; 8(4): 234–42. doi: 10.5603/demj.98191.
162. Dziedzic K, Rahnama-Hezavah M, Tomaszewska M, I wsp. Breaking down the clotting conundrum: analyzing the role of plasma tissue plasminogen activator in COVID-19 patients through a systematic review and meta-analysis. *Disaster Emerg Med J* 2023;8(4):207-15. DOI: 10.5603/demj.97097
163. Dziedzic K, Batra K, Pruc M, I wsp. A systematic review and meta-analysis of the association between galectin-3 levels and clinical outcomes in COVID-19 patients. *JHSS* 2023;8(4):282-94. Doi: 10.19204/2023/SYST3
164. Dziedzic K, Szarpak L, Pruc M, i wsp. Serum-soluble ST2 as a novel biomarker for COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis. *J Health Soc Sci* 2024, 9, 1, 86-99. Doi: 10.19204/2024/SRMS3
165. Dziedzic K, Tomaszewska M, Pruc M, I wsp. Surfactant Protein-D (SP-D) serum levels as a predictor of COVID-19 severity and mortality: A systematic review and meta-analysis. *Adv Med Psychol Public Health*. 2024;1(4):174-84. Doi: 10.5281/zenodo.11075270
166. Stang A. Critical evaluation of the Newcastle-Ottawa scale for the assessment of the quality of nonrandomized studies in meta-analyses. *Eur J Epidemiol*. 2010; 25(9): 603–5, doi: 10.1007/s10654-010-9491-z.
167. Ardestani SK, Salehi MR, Attaran B, I wsp. Neutrophil to Lymphocyte Ratio (NLR) and Derived NLR Combination: A Cost-effective Predictor of Moderate to Severe COVID-19 Progression. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2022; 21(3):241-53. doi: 10.18502/ijaai.v21i3.9798.
168. Regolo M, Vaccaro M, Sorce A, I wsp. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio (NLR) Is a Promising Predictor of Mortality and Admission to Intensive Care Unit of COVID-19 Patients. *J Clin Med*. 2022; 11(8):2235. doi: 10.3390/jcm11082235.

- 169.Liu L, Zheng Y, Cai L, I wsp. Neutrophil-to-lymphocyte ratio, a critical predictor for assessment of disease severity in patients with COVID-19. *Int J Lab Hematol*. 2021; 43(2):329-35. doi: 10.1111/ijlh.13374.
- 170.Iskandar A, Mayashinta DK, Robert R, I wsp. Correlation Between IL-8, C-Reactive Proteins (CRP) and Neutrophil to Lymphocyte Ratio (NLR) as Predictor of Mortality in COVID-19 Patients with Diabetes Mellitus Comorbidity. *Int J Gen Med*. 2023; 16:2349-54. doi: 10.2147/IJGM.S412070.
- 171.Awale RB, Singh A, Mishra P, I wsp. Routine hematology parameters in COVID-19: A predictor of disease severity and mortality. *J Family Med Prim Care*. 2022; 11(7):3423-9. doi: 10.4103/jfmpc.jfmpc_2453_21.
- 172.Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2013; 13(3):159-75. doi: 10.1038/nri3399.
- 173.Malech HL, DeLeo FR, Quinn MT. The Role of Neutrophils in the Immune System: An Overview. *Methods Mol Biol*. 2020; 2087:3-10. doi: 10.1007/978-1-0716-0154-9_1.
- 174.Kaufmann SHE. Immunology's Coming of Age. *Front Immunol*. 2019; 10:684. doi: 10.3389/fimmu.2019.00684.
- 175.Simadibrata DM, Calvin J, Wijaya AD, Ibrahim NAA. Neutrophil-to-lymphocyte ratio on admission to predict the severity and mortality of COVID-19 patients: A meta-analysis. *Am J Emerg Med*. 2021; 42:60-69. doi: 10.1016/j.ajem.2021.01.006.
- 176.Prozan L, Shusterman E, Ablin J, I wsp. Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio in COVID-19 compared with Influenza and respiratory syncytial virus infection. *Sci Rep*. 2021; 11(1):21519. doi: 10.1038/s41598-021-00927-x.
- 177.Rathod BD, Amle D, Khot RS, Prathipati KK, Joshi PP. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio as a Predictor of Disease Severity and Mortality in Coronavirus Disease 2019: Prospective Study From Central India. *Cureus*. 2022; 14(3):e23696. doi: 10.7759/cureus.23696.
- 178.Toori KU, Qureshi MA, Chaudhry A, Safdar MF. Neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) in COVID-19: A cheap prognostic marker in a resource constraint setting. *Pak J Med Sci*. 2021; 37(5):1435-9. doi: 10.12669/pjms.37.5.4194.
- 179.Sehgal SA, Malik G, Sachdeva A, I wsp. Pretreatment neutrophil-lymphocyte ratio (NLR): A felicitous prognostic marker in carcinoma lung. *J Cancer Res Ther*. 2023; 19(Suppl 2):S719-23. doi: 10.4103/jcrt.jcrt_688_22.

180. Wang Y, Ju M, Chen C, I wsp. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as a prognostic marker in acute respiratory distress syndrome patients: a retrospective study. *J Thorac Dis.* 2018; 10(1):273-82. doi: 10.21037/jtd.2017.12.131.
181. Zinellu A, Zinellu E, Mangoni AA, I wsp. Clinical significance of the neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio in acute exacerbations of COPD: present and future. *Eur Respir Rev.* 2022; 31(166):220095. doi: 10.1183/16000617.0095-2022.
182. Asperges E, Albi G, Zuccaro V, I wsp. Dynamic NLR and PLR in Predicting COVID-19 Severity: A Retrospective Cohort Study. *Infect Dis Ther.* 2023; 12(6):1625-40. doi: 10.1007/s40121-023-00813-1.
183. Seillier C, Hélie P, Petit G, I wsp. Roles of the tissue-type plasminogen activator in immune response. *Cell Immunol.* 2022; 371:104451. doi: 10.1016/j.cellimm.2021.104451.
184. Della-Morte D, Pacifici F, Ricordi C, I wsp. Low level of plasminogen increases risk for mortality in COVID-19 patients. *Cell Death Dis.* 2021; 12(8):773. doi: 10.1038/s41419-021-04070-3.
185. Yatsenko T, Rios R, Nogueira T, I wsp. Urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 complex as a serum biomarker for COVID-19. *Front Immunol.* 2024; 14:1299792. doi: 10.3389/fimmu.2023.1299792.
186. Medcalf RL, Keragala CB, Myles PS. Fibrinolysis and COVID-19: A plasmin paradox. *J Thromb Haemost.* 2020; 18(9):2118-22. doi: 10.1111/jth.14960.
187. Cabrera-Garcia D, Miltiades A, Yim P, I wsp. Plasma biomarkers associated with survival and thrombosis in hospitalized COVID-19 patients. *Int J Hematol.* 2022 Dec;116(6):937-946. doi: 10.1007/s12185-022-03437-2.
188. Shirai K, Ishikawa M, Kobayashi T, I wsp. High Plasma tPAPAI-1C Levels May Be Related to a Poor Prognosis in Patients with Severe or Critical COVID-19: A Single-Center Retrospective Study. *J Clin Med.* 2023; 12(5):2019. doi: 10.3390/jcm12052019.
189. Puccini M, Jakobs K, Reinshagen L, I wsp. Galectin-3 as a Marker for Increased Thrombogenicity in COVID-19. *Int J Mol Sci.* 2023; 24(9):7683. doi: 10.3390/ijms24097683.

190. Wynants L, Van Calster B, Collins GS, i wsp. Prediction models for diagnosis and prognosis of covid-19: systematic review and critical appraisal. *BMJ*. 2020; 369:m1328. doi: 10.1136/bmj.m1328.
191. Zhang Z, Tang L, Guo Y, I wsp. Development of Biomarkers and Prognosis Model of Mortality Risk in Patients with COVID-19. *J Inflamm Res*. 2024; 17:2445-2457. doi: 10.2147/JIR.S449497.
192. Schmitz J, Owyang A, Oldham E, i wsp. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity*. 2005; 23(5):479-90. doi: 10.1016/j.immuni.2005.09.015.
193. Gao L, Jiang D, Wen XS, I wsp. Clinical Findings in 111 Cases of SARS-CoV-2 Pneumonia and Analysis of Risk Factors for Critical and Mortal COVID-19: A Multi-Center Study. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi*. 2020;43(6):491-6.
194. Liu Y, Yang Y, Zhang C, I wsp. Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury. *Sci China Life Sci*. 2020; 63(3):364-74. doi: 10.1007/s11427-020-1643-8.
195. Zhang JJ, Dong X, Cao YY, I wsp. Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wuhan, China. *Allergy*. 2020;75(7):1730-41. doi: 10.1111/all.14238.
196. Wu C, Chen X, Cai Y, I wsp. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med*. 2020; 180(7):934-43. doi: 10.1001/jamainternmed.2020.0994.
197. Gil-Bernabe P, Muñoz-Fernandez AM, Palomino-Doza J, I wsp. Serum levels of soluble ST2 and outcome in COVID-19 patients. *Eur J Clin Invest*. 2021;51(3)
198. Mueller C, McDonald K, de Boer RA, I wsp. Soluble ST2 in the emergency department: risk stratification of acute heart failure patients. *J Am Coll Cardiol*. 2018;72(3):234-46.
199. Gadre SK, Sadeghi N, Mehta H, i wsp. Soluble ST2 in COVID-19: A Prognostic Marker in COVID-19 ARDS Patients. *Front Cardiovasc Med*. 2021;8:753657.
200. Dong R, Zhang M, Hu Q, I wsp. Galectin-3 as a novel biomarker for disease diagnosis and a target for therapy (Review). *Int J Mol Med*. 2018; 41(2):599-614. doi: 10.3892/ijmm.2017.3311.

201. Soares LC, Al-Dalahmah O, Hillis J, I wsp. Novel Galectin-3 Roles in Neurogenesis, Inflammation and Neurological Diseases. *Cells*. 2021; 10(11):3047. doi: 10.3390/cells10113047.
202. Liu Y, Zhao C, Meng J, I wsp. Galectin-3 regulates microglial activation and promotes inflammation through TLR4/MyD88/NF- κ B in experimental autoimmune uveitis. *Clin Immunol*. 2022; 236:108939. doi: 10.1016/j.clim.2022.108939
203. Wang L, Guo XL. Molecular regulation of galectin-3 expression and therapeutic implication in cancer progression. *Biomed Pharmacother*. 2016; 78:165-71. doi: 10.1016/j.biopha.2016.01.014.
204. Song L, Tang JW, Owusu L, Sun MZ, Wu J, Zhang J. Galectin-3 in cancer. *Clin Chim Acta*. 2014; 431:185-91. doi: 10.1016/j.cca.2014.01.019
205. Bouffette S, Botez I, De Ceuninck F. Targeting galectin-3 in inflammatory and fibrotic diseases. *Trends Pharmacol Sci*. 2023; 44(8):519-31. doi: 10.1016/j.tips.2023.06.001.
206. Sherpa MD, Sonkawade SD, Jonnala V, i wsp. Galectin-3 Is Associated with Cardiac Fibrosis and an Increased Risk of Sudden Death. *Cells*. 2023; 12(9):1218. doi: 10.3390/cells12091218.
207. Pedicillo MC, De Stefano IS, Zamparese R, I wsp. The Role of Toll-like Receptor-4 in Macrophage Imbalance in Lethal COVID-19 Lung Disease, and Its Correlation with Galectin-3. *Int J Mol Sci*. 2023; 24(17):13259. doi: 10.3390/ijms241713259.
208. Olszewska-Parasiewicz J, Szarpak Ł, Rogula S, i wsp. Statins in COVID-19 Therapy. *Life (Basel)*. 2021; 11(6):565. doi: 10.3390/life11060565.
209. Zanza C, Romenskaya T, Manetti AC, I wsp. Cytokine Storm in COVID-19: Immunopathogenesis and Therapy. *Medicina (Kaunas)*. 2022; 58(2):144. doi: 10.3390/medicina58020144.
210. Gallo V, Arienzo A, Iacobelli S, Iacobelli V, Antonini G. Gal-3BP in Viral Infections: An Emerging Role in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(13):7314. doi: 10.3390/ijms23137314.
211. Mendes-Frias A, Gallo V, Iacobelli V, I wsp. Galectin-3 binding protein stimulated IL-6 expression is impeded by antibody intervention in SARS-CoV-2 susceptible cell lines. *Sci Rep*. 2022; 12(1):17047. doi: 10.1038/s41598-022-20852-x.

- 212.Lu H, Shen J, Sun J, Sun J. Prognostic Value of Elevated Plasma Galectin-3 for Renal Adverse Events in Dialysis Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Altern Ther Health Med*. 2023; 29(8):86-91.
- 213.Xiong Y, Zhang Q. Prognosis value of galectin-3 in patients with dilated cardiomyopathy: a meta-analysis. *PeerJ*. 2024; 12:e17201. doi: 10.7717/peerj.17201.
- 214.Berber NK, Atlı S, Geçkil AA, I wsp. Diagnostic Value of Galectin-3 in Exacerbations of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Medicina (Kaunas)*. 2024; 60(4):529. doi: 10.3390/medicina60040529.
- 215.Sciacchitano S, Lavra L, Morgante A, I wsp. Galectin-3: One Molecule for an Alphabet of Diseases, from A to Z. *Int J Mol Sci*. 2018; 19(2):379. doi: 10.3390/ijms19020379.
- 216.Loizinski BM, Ta K, Dong Y. Emerging role of galectin 3 in neuroinflammation and neurodegeneration. *Neural Regen Res*. 2024; 19(9):2004-2009. doi: 10.4103/1673-5374.391181.
- 217.Karsli E, Anabarli Metin D, Canacik O, I wsp. Galectin-3 as a Potential Prognostic Biomarker for COVID-19 Disease: A Case-Control Study. *Cureus*. 2022; 14(9):e28805. doi: 10.7759/cureus.28805.
- 218.Li H, Li J, Xiao W, I wsp. The Therapeutic Potential of Galectin-3 in the Treatment of Intrahepatic Cholangiocarcinoma Patients and Those Compromised With COVID-19. *Front Mol Biosci*. 2021; 8:666054. doi: 10.3389/fmolb.2021.666054.
- 219.Pandit H, Madhukaran SP, Nayak A, Madan T. SP-A and SP-D in host defense against fungal infections and allergies. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2012; 4(2):651-61. doi: 10.2741/e406.
- 220.Kishore U, Greenhough TJ, Waters P, I wsp. Surfactant proteins SP-A and SP-D: structure, function and receptors. *Mol Immunol*. 2006; 43(9):1293-315. doi: 10.1016/j.molimm.2005.08.004.
- 221.Khamri W, Worku ML, Anderson AE, I wsp. Helicobacter infection in the surfactant protein D-deficient mouse. *Helicobacter*. 2007; 12(2):112-23. doi: 10.1111/j.1523-5378.2007.00480.x.
- 222.Watson A, Madsen J, Clark HW. SP-A and SP-D: Dual Functioning Immune Molecules With Antiviral and Immunomodulatory Properties. *Front Immunol*. 2021; 11:622598. doi: 10.3389/fimmu.2020.622598.

- 223.Arroyo R, Kingma PS. Surfactant protein D and bronchopulmonary dysplasia: a new way to approach an old problem. *Respir Res.* 2021; 22(1):141. doi: 10.1186/s12931-021-01738-4.
- 224.Lin KW, Jen KY, Suarez CJ, Crouch EC, Perkins DL, Finn PW. Surfactant protein D-mediated decrease of allergen-induced inflammation is dependent upon CTLA4. *J Immunol.* 2010; 184(11):6343-9. doi: 10.4049/jimmunol.0901947.
- 225.Pandit H, Thakur G, Koippallil Gopalakrishnan AR, I wsp. Surfactant protein D induces immune quiescence and apoptosis of mitogen-activated peripheral blood mononuclear cells. *Immunobiology.* 2016; 221(2):310-22. doi: 10.1016/j.imbio.2015.10.004.
- 226.Wert SE, Yoshida M, LeVine AM, I wsp. Increased metalloproteinase activity, oxidant production, and emphysema in surfactant protein D gene-inactivated mice. *Proc Natl Acad Sci* 2000; 97(11):5972–7. doi: 10.1073/pnas.100448997
- 227.Salvioni L, Testa F, Sulejmani A, I wsp. Surfactant protein D (SP-D) as a biomarker of SARS-CoV-2 infection. *Clin Chim Acta.* 2022; 537:140-145. doi: 10.1016/j.cca.2022.10.013.
- 228.Hartshorn KL. Role of surfactant protein A and D (SP-A and SP-D) in human antiviral host defense. *Front Biosci (Schol Ed).* 2010; 2(2):527-46. doi: 10.2741/s83.
- 229.Choreño-Parra JA, Jiménez-Álvarez LA, Ramírez-Martínez G, i wsp. Expression of Surfactant Protein D Distinguishes Severe Pandemic Influenza A(H1N1) from Coronavirus Disease 2019. *J Infect Dis.* 2021; 224(1):21-30. doi: 10.1093/infdis/jiab113.
- 230.Maddaloni L, Zullino V, Bugani G, i wsp. Could SP-A and SP-D Serum Levels Predict COVID-19 Severity? *Int J Mol Sci.* 2024; 25(11):5620. doi: 10.3390/ijms25115620.
- 231.Suma LS, Anand HS, Vinod Chandra SS. Nature inspired optimization model for classification and severity prediction in COVID-19 clinical dataset. *J Ambient Intell Humaniz Comput.* 2023; 14(3):1699-711. doi: 10.1007/s12652-021-03389-1.
- 232.Gong X, Khan A, Wani MY, Ahmad A, Duse A. COVID-19: A state of art on immunological responses, mutations, and treatment modalities in riposte. *J Infect Public Health.* 2023; 16(2):233-49. doi: 10.1016/j.jiph.2022.12.019.

