

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΔΗ

Τίτλος: «Μελέτη βιοχημικών και γενετικών παραμέτρων που σχετίζονται με το χρόνιο σύνδρομο κόπωσης και μεταβολικές διαταραχές σε ασθενείς που έχουν λάβει εξιτήριο μετά από νοσηλεία για νόσο COVID-19»

Υποψήφιος Διδάκτωρ – Μαυρουδής Παναγιώτης

Επιβλέπων Καθηγητής- κ. Ευάγγελος Μανωλόπουλος

Μέλη Συμβουλευτικής επιτροπής

- Καθηγητής κ. Ευάγγελος Μανωλόπουλος
- Αναπληρωτής Καθηγητής κ. Πασχάλης Στειρόπουλος
- Καθηγητής κ. Αχιλλέας Γραβάνης

Εισαγωγή-Σκοπός: Ο ιός SARS-CoV2, στον οποίο οφείλεται η νόσος COVID-19, εξαπλώθηκε ταχέως σε όλη την υφήλιο από το 2020 έως σήμερα προκαλώντας πίεση στα συστήματα υγείας παγκοσμίως, με τον αριθμό των ασθενών καθώς επίσης και τον αριθμό των θανάτων να βαίνει καθημερινώς αυξανόμενος [1]. Το προφίλ των ασθενών που νοσούν σοβαρά από νόσο COVID-19 και χρήζουν νοσηλείας σε τμήμα COVID-19, ακόμα και αν δεν χρειασθούν διασωλήνωση και νοσηλεία σε ΜΕΘ δεν έχει πλήρως διερευνηθεί [2]. Κάποιες μελέτες επιχείρησαν να συγκρίνουν το μεταβολικό προφίλ ασθενών με COVID-19 σε σχέση με υγιείς μάρτυρες, ωστόσο δεν διευκρινίζεται το στάδιο και η βαρύτητα της νόσου [3,4]. Η παχυσαρκία συνδέεται με πιο σοβαρή νόσο σε ασθενείς νεότερους των 60 ετών [5] ενώ εξετάζεται ο ρόλος του λιπώδους ιστού στη δυνατότητα ενεργοποίησης της ανοσιακής φλεγμονώδους απάντησης έναντι του ιού SARS-CoV-2 [6]. Αρκετοί από τους ασθενείς αναπτύσσουν σύνδρομο post-covid μετά την οξεία νόσηση. Λίγα είναι γνωστά σχετικά με τους ανοσιακούς παράγοντες που μπορεί να σχετίζονται με την ανάπτυξη ενός μεταλοιμώδους συνδρόμου με χρονίζουσα συμπτωματολογία συμβατή με χρόνια κόπωση μετά από νόσηση από COVID-19 [7,8]. Δεν υπάρχουν αξιόπιστοι δείκτες προγνωστικών παραγόντων για την ανάπτυξη χρονίζοντων συμπτωμάτων COVID-19. Η παρούσα μελέτη έχει ως σκοπό την εργαστηριακή ανίχνευση μεταβολικών και γενετικών παραμέτρων που μπορεί να σχετίζονται με χρονίζουσα συμπτωματολογία, απότοκο της νόσου COVID-19 σε ασθενείς που νοσηλεύθηκαν σε κλινική COVID-19 και την συσχέτιση τους με τα κλινικά δεδομένα βαρύτητας της νόσου κατά την προηγηθείσα νοσηλεία.

Ασθενείς –Μέθοδοι: Ασθενείς οι οποίοι έχουν νοσηλευθεί στην Κλινική COVID-19 του ΓΝ Πειραιώς « ΤΖΑΝΕΙΟ» από 1-9-2020 και μετά και οι οποίοι έχουν λάβει εξιτήριο για το σπίτι τους επανεξετάζονται μετά από τουλάχιστον ένα μήνα. Στο ιατρείο επανεκτίμησης που λειτουργεί στα ΤΕΠ του Νοσοκομείου οι ασθενείς θα εξετάζονται από την ομάδα ιατρών της κλινικής COVID-19 (Παθολόγο, Παθολόγο-Λοιμωξιολόγο, Καρδιολόγο, Πνευμονολόγο) με σκοπό την εκτίμηση της φυσικής κατάστασης, της καρδιοαναπνευστικής λειτουργίας τους μετά τη νόσο και της χορήγησης ανάλογης συμβουλευτικής υποστήριξης. Ταυτόχρονα, θα γίνουν σωματικές μετρήσεις (μετρήσεις ύψους, βάρους, δείκτη μάζας σώματος, περιφέρειας μέσης και γλουτών) και μέτρηση ποσοστού λίπους στο σώμα. Στα πλαίσια της αξιολόγησης ρουτίνας θα μετρώνται σε δείγματα αίματος: Hct (%), Hgb (g/dl), WBC (κ/μl), ΤΚΕ (mm/1h), CRP (mg/lt), φερριτίνη (ng/ml), TSH (mIU/L), Vitamin D3 (ng/ml), AST (U/L), ALT (U/L), ALP (U/L), γGT (U/L), ουρία (mg/dl), κρεατινίνη (mg/dl), HbA1c (%), HDL (mg/dl), LDL (mg/dl) και τριγλυκερίδια (mg/dl) στο Βιοχημικό εργαστήριο του Νοσοκομείου, γενική αίματος στο Αιματολογικό εργαστήριο του Νοσοκομείου και αντίσωμα ορού για SARS-CoV-2 στο Μικροβιολογικό εργαστήριο του Νοσοκομείου. Μετά από έγγραφη συγκατάθεση του κάθε ασθενούς στην ίδια αιμοληψία θα λαμβάνονται και δύο δείγματα ανά ασθενή: 1) φιαλίδιο 3ml αίματος εκ του οποίου μετά από φυγοκέντρηση θα προκύπτει ορός 2ml και 2) 2 φιαλίδια EDTA 2ml. Τα δείγματα αυτά θα αποστέλλονται στη συνέχεια στο Εργαστήριο Φαρμακολογίας του τμήματος Ιατρικής του Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης για την ταυτοποίηση γενετικών πολυμορφισμών καθώς επίσης και επιγενετικών αλλαγών σε γονίδια σχετιζόμενα με τη βαρύτητα της νόσου αλλά και του χρόνιου συνδρόμου κόπωσης απότοκου της νόσου COVID-19.

Καταληκτικά σημεία: Η παρούσα διδακτορική διατριβή θα μελετήσει

- Την συσχέτιση των κλινικών και εργαστηριακών ευρημάτων με τη βαρύτητα της νόσου και με το χρόνιο σύνδρομο κόπωσης ως απότοκο της νόσου COVID-19.

- Την συσχέτιση της ποιότητας ζωής των ασθενών αυτών, όπως αυτή πηγάζει από την απάντηση ερωτηματολογίου SF-36, με τη βαρύτητα της νόσου και με το χρόνιο σύνδρομο κόπωσης ως απότοκο της νόσου COVID-19.
- Την συσχέτιση της αναπνευστικής και καρδιολογικής λειτουργίας των ασθενών αυτών με τη χρήση σπιρομετρικού και υπερηχογραφικού ελέγχου με τη βαρύτητα της νόσου και με το χρόνιο σύνδρομο κόπωσης ως απότοκο της νόσου COVID-19.
- Την συσχέτιση των αποτελεσμάτων μέτρησης λιποκινών (σύστημα αδιπνονεκτίνης) με την ανάπτυξη ή όχι χρόνιου συνδρόμου κόπωσης ως απότοκο της νόσου COVID-19.
- Την συσχέτιση των αποτελεσμάτων της μοριακής γενετικής ανάλυσης με τη βαρύτητα της νόσου και με το χρόνιο σύνδρομο κόπωσης ως απότοκο της νόσου COVID-19.

Βιβλιογραφικές παραπομπές

1. WHO. Coronavirus disease (COVID-19) dashboard. 2021. Accessed 5 January 2021. Available at <https://covid19.who.int/>.
2. Berber E, Sumbria D, Rouse BT. Could targeting immunometabolism be a way to control the burden of COVID-19 infection? *Microb Infect* 2021;<https://doi.org/10.1016/j.micinf.2021.104780>
3. Gardinassi LG, Souza COS, Sales-Campos H, Fonseca SG. Immune and metabolic signatures of COVID-19 revealed by transcriptomics data reuse. *Front Immunol* 2020;11.
4. Thomas T, Stefanoni D, Reisz JA, Nemkov T, Bertolone L, Francis RO, et al. COVID-19 infection alters kynurenine and fatty acid metabolism, correlating with IL-6 levels and renal status. *JCI insight* 2020;5
5. Lighter J, Phillips M, Hochman S, Sterling S, Johnson D, Francois F, et al. Obesity in 568 patients younger than 60 years is a risk factor for COVID-19 hospital admission. *Clin Infect Diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*,2020;71:896-7.
6. Ryan PM, Caplice NM. Is Adipose Tissue a Reservoir for Viral Spread, Immune Activation and Cytokine Amplification in Coronavirus Disease 2019? *Obesity* 2020;28:1191-4.
7. Files JK, Boppana S, Perez MD, Sarkar S, Lowman KE, Qin K, et al. Sustained cellular immune dysregulation in individuals recovering from SARS-CoV-2 infection. *J clin Invest* 2021;131.
8. Weerahandi H, Hochman KA, Simon E, Blaum C, Chodosh J, Duan E, et al. Post-discharge health status and symptoms in patients with severe COVID-19 *J Gen Inter Med* doi: 10.1007/s11606-020-06338-4
9. E. Wood, K.H. Hall and W. Tate, Role of mitochondria, oxidative stress and the response to antioxidants in myalgia-encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome: A possible approach to SARS-CoV-2 'long-haulers'?, *Chronic Diseases and Translational Medicine*, <https://doi.org/10.1016/j.cdtm.2020.11.002>

PhD Thesis

Title: «Evaluation of biochemical and genetic factors related to chronic fatigue syndrome and metabolic disorders in patients who have been discharged after hospitalization for COVID-19 disease»

PhD Candidate – Panagiotis Mavroudis

Supervisor Professor – Evangelos Manolopoulos

Supervisor Committee

- Professor Evangelos Manolopoulos
- Professor Paschalis Steiropoulos
- Professor Achilleas Gravanis

Introduction: The SARS-CoV2 virus, which causes the COVID-19 disease, has spread rapidly around the world since 2020, putting pressure on health care systems worldwide, because of increasing morbidity and mortality [1]. The profile of patients with severe COVID-19 disease who need hospitalization, even if they do not require intubation and ICU treatment, has not been fully investigated [2]. Some studies have attempted to compare the metabolic profile of patients with COVID-19 with that of healthy controls, although the stage and severity of the disease are not specified [3, 4]. Obesity is associated with more severe course of the disease in patients younger than 60 years of age [5]. The role of the adipose tissue in the ability to activate the immune response against the SARS-CoV2 virus has been investigated [6]. Many patients develop post-COVID syndrome at least 4 weeks after the onset of the acute illness. Little is known about the immune factors that may be associated with the development of an infectious syndrome compatible with chronic fatigue following acute COVID-19 disease [7, 8]. There are no reliable predictors of the development of the chronic COVID-19 symptoms. The aim of the study is to detect the metabolic and the genetic parameters that may be associated to chronic fatigue syndrome and their correlation with the clinical data on the disease severity in patients who were previously hospitalized in COVID-19 wards.

Methods: Patients, who have been hospitalized at the COVID-19 ward of the General Hospital of Piraeus 'Tzaneio' since 1-9-2020 and have been discharged and re-examined after at least one month. At the COVID-19 re-assessment outpatient clinic of the hospital, the patients will be examined by the COVID-19 ward's medical team (Internist, Specialist in Infectious Diseases, Cardiologist, Pulmonologist) with the aim to evaluate their physical condition, the cardiorespiratory function after the disease and to provide the appropriate counselling support. At the same time body measurements will be performed (such as height, weight, BMI, waist circumference), as well as body fat percentage measurement. As part of the routine evaluation, laboratory parameters will be tested in the patients' blood samples including: Hct (%), Hgb (g/dl), WBC (k/ μ l), ESR (mm/1h), CRP (mg/l), Ferritin (ng/ml), TSH (mIU/L), Vitamin D3 (ng/ml), AST (U/L), ALT (U/L), ALP (U/L), γ GT (U/L), Urea (mg/dl), Creatinine (mg/dl), HbA1c (%), HDL (mg/dl), LDL (mg/dl) and triglyceride (mg/dl) level. Moreover blood sampling will be performed for measurement of IgG RDB (BAU) serum antibodies against SARS-CoV2 in the hospital's microbiology laboratory. After completing the written inform each patient will be included into the current study: blood puncture will be done to take, two blood samples will be obtained per patient: 1) a vial of 3ml of blood from which serum of 2ml will be extracted after centrifugation and 2) two vials of EDTA of 2ml. Both samples will be stored at -80°C in the refrigerator of the Microbiology Department of the hospital. Then, these samples will then be sent to the Laboratory of Pharmacology of the Department of Medicine of the Democritus University of Thrace for molecular analysis of genes potentially related to genetic polymorphisms, as well as epigenetic changes indicative of the severity of the disease and the chronic fatigue syndrome in patients presenting symptoms and signs of post and long COVID-19 syndrome.

Conclusions: The aim of the current PhD study is summarized as follows:

- The correlation of clinical and laboratory findings during the post-COVID period with the severity of the disease during hospitalization and the presence and duration of chronic fatigue syndrome after discharge.

- The correlation of the quality of life of these patients, as that derives from the answers to the SF-36 questionnaire, with the severity of the disease and with the chronic fatigue syndrome as a result of COVID-19.
- The correlation of respiratory and cardiac function of these patients assessed by the use of spirometry and echocardiography, with the severity of the disease during hospitalization and with the chronic fatigue syndrome as a result of COVID-19.
- The correlation of lipokin measurement (adiponectin system) with the chronic fatigue syndrome as a result of COVID-19.
- The correlation of the results of the molecular genetic analysis with the severity of the disease during hospitalization and with the chronic fatigue syndrome as a result of COVID-19.

References

1. WHO. Coronavirus disease (COVID-19) dashboard. 2021. Accessed 5 January 2021. Available at <https://covid19.who.int/>.
2. Berber E, Sumbria D, Rouse BT. Could targeting immunometabolism be a way to control the burden of COVID-19 infection? *Microb Infect* 2021;<https://doi.org/10.1016/j.micinf.2021.104780>
3. Gardinassi LG, Souza COS, Sales-Campos H, Fonseca SG. Immune and metabolic signatures of COVID-19 revealed by transcriptomics data reuse. *Front Immunol* 2020;11.
4. Thomas T, Stefanoni D, Reisz JA, Nemkov T, Bertolone L, Francis RO, et al. COVID-19 infection alters kynurenine and fatty acid metabolism, correlating with IL-6 levels and renal status. *JCI insight* 2020;5
5. Lighter J, Phillips M, Hochman S, Sterling S, Johnson D, Francois F, et al. Obesity in 568 patients younger than 60 years is a risk factor for COVID-19 hospital admission. *Clin Infect Dis : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*,2020;71:896-7.
6. Ryan PM, Caplice NM. Is Adipose Tissue a Reservoir for Viral Spread, Immune Activation and Cytokine Amplification in Coronavirus Disease 2019? *Obesity* 2020;28:1191-4.
7. Files JK, Boppana S, Perez MD, Sarkar S, Lowman KE, Qin K, et al. Sustained cellular immune dysregulation in individuals recovering from SARS-CoV-2 infection. *J Clin Invest* 2021;131.
8. Weerahandi H, Hochman KA, Simon E, Blaum C, Chodosh J, Duan E, et al. Post-discharge health status and symptoms in patients with severe COVID-19 *J Gen Inter Med* doi: 10.1007/s11606-020-06338-4
9. E. Wood, K.H. Hall and W. Tate, Role of mitochondria, oxidative stress and the response to antioxidants in myalgia-encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome: A possible approach to SARS-CoV-2 'long-haulers'?, *Chronic Diseases and Translational Medicine*, <https://doi.org/10.1016/j.cdtm.2020.11.002>