



УНИВЕРЗИТЕТ У ПРИШТИНИ СА ПРИВРЕМЕНИМ
СЕДИШТЕМ У КОСОВСКОЈ МИТРОВИЦИ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

Бобан З. Столић

ПОВЕЗАНОСТ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ЗА
ГЛУТАТИОН ТРАНСФЕРАЗУ СА ТЕЖИНОМ
КЛИНИЧКЕ СЛИКЕ КОД
ХОСПИТАЛИЗОВАНИХ БОЛЕСНИКА СА
COVID-19 ИНФЕКЦИЈОМ

Докторска дисертација

Косовска Митровица, 2026.



UNIVERSITY OF PRIŠTINA TEMPORARY SETTLED IN
KOSOVSKA MITROVICA
FACULTY OF MEDICINE

Boban Z. Stolić

ASSOCIATION OF GLUTATHIONE
TRANSFERASE GENE POLYMORPHISM WITH
SEVERITY OF CLINICAL MANIFESTATIONS IN
HOSPITALIZED PATIENTS WITH COVID-19
INFECTION

Doctoral thesis

Kosovska Mitrovica, 2026.

ПОДАЦИ О ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Наслов: Повезаност полиморфизма гена за глутатион трансферазу са тежином клиничке слике код хоспитализованих болесника са *COVID-19* инфекцијом

Научна област: Инфективне болести

Ментор: Проф.др Наташа Катанић, Доц.др Марија Милић

Чланови комисије за одбрану дисертације:

1. Проф.др Наташа Катанић, ментор, Медицински факултет у приштини са привременим седиштем у Косовској Митровици
2. Доц.др Марија Милић, коментор, Медицински факултет у приштини са привременим седиштем у Косовској Митровици
3. Проф.др Бојан Јоксимовић, члан, Медицински факултет у Фочи

Датум одбране _____

ЗАХВАЛНИЦА

Завршетак овог рада представља круну мог досадашњег професионалног пута, али овај успех није само мој. Он је резултат подршке, разумевања и заједничког труда многих људи којима дугујем неизмерну захвалност.

Посебну захвалност дугујем мојим менторкама, које сматрам својим искреним пријатељима, Проф.др Наташи Катанић и Доц.др Марији Милић. Хвала вам на непоколебљивом стрпљењу, стручном вођењу и поверењу које сте ми указали. Ваши савети, критике и подстицаји били су ми неопходан путоказ током целокупног истраживачког процеса, али и рада. Сигуран сам да и у годинама које долазе, биће још доста рада, али и дружења, обилазака и путовања.

С дубоким поштовањем и пијететом сећам се покојног Проф.др Радослава Катанића, као особе која је увек имала вере у мој рад и који ме је увео у свет науке. Његова интелектуална ширина и првобитна подршка поставили су темељ овом раду. Иако није дочекао његов завршетак, надам се да би био поносан на постигнуте резултате.

Највећи ослонац у мом животу су моји родитељи. Хвала вам што сте ме научили вредностима рада и образовања, што сте веровали у мене, чак и онда када сам ја сумњао. Ваша безусловна љубав и подршка су темељ сваког мог успеха.

На крају, неизмерно хвала мојој породици-мојој супрузи и сину. Ви сте мој мир, моја снага и смисао свега што радим. Хвала вам на сваком сату који сте ми поклонили док сам био отсутан због мог посла, мог истраживања и на разумевању које сте имали за мој напоран рад. Овај докторат је подједнако и ваш.

ПОВЕЗАНОСТ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ЗА ГЛУТАТИОН ТРАНСФЕРАЗУ СА ТЕЖИНОМ КЛИНИЧКЕ СЛИКЕ КОД ХОСПИТАЛИЗОВАНИХ БОЛЕСНИКА СА COVID-19 ИНФЕКЦИЈОМ

САЖЕТАК

Клиничка слика COVID-19 је веома варијабилна, од благе до критичне болести. Оксидативни стрес има кључну улогу у патогенези, а *GSTM1* и *GSTT1* нулти генотипови могу нарушити антиоксидативну одбрану и погоршати инфламаторни одговор. Циљ студије био је испитати повезаност *GSTM1* и *GSTT1* нултих генотипова са тежином болести и нивоима цитокина код хоспитализованих пацијената са COVID-19. Студијом пресека обухваћено је 137 пацијената (јул–септембар 2020), стратификованих у благу ($n=67$) и тешку ($n=70$) групу. Генотипови су одређени мултиплекс PCR, а цитокини проточном цитометријом. Коришћене су логистичка и линеарна регресија, уз прилагођавање за старост, пол, хипертензију и дијабетес. *GSTT1* нулти генотип је био независно повезан са тешком клиничком сликом (AOR = 2,56; 95% CI: 1,08–6,07; $p = 0,032$). Пацијенти са тешком клиничком сликом имали су значајно повишене нивое IL-6 (75,6%, $p = 0,008$), TNF- α (69,4%, $p = 0,005$), IL-17A (54,4%, $p = 0,016$) и IFN- γ (10,1%, $p = 0,021$). У мултиваријантној анализи, *GSTT1* нулти генотип је предвиђао повишене нивое IL-6 ($\beta = 52,6$, $p = 0,003$), TNF- α ($\beta = 13,8$, $p = 0,002$), IL-17A ($\beta = 2,4$, $p = 0,001$) и IFN- γ ($\beta = 56,4$, $p = 0,012$). *GSTM1* нулти генотип је показао сличне, али слабије повезаности. Комбиновани оба нулта генотипа показао је најјаче повезаности, али због малог броја пацијената ($n = 10$) резултате треба тумачити опрезно. *GSTT1* нулти генотип је значајно повезан са тешком клиничком сликом COVID-19 и повишеним IL-6, TNF- α , IL-17A и IFN- γ , што указује на улогу генетски нарушене антиоксидативне одбране у хиперинфламацији.

Кључне речи: *GSTM1*; *GSTT1*; COVID-19; тежина болести; цитокини; оксидативни стрес

ASSOCIATION OF GLUTATHIONE TRANSFERASE GENE POLYMORPHISMS WITH SEVERITY OF CLINICAL MANIFESTATIONS IN HOSPITALIZED PATIENTS WITH COVID-19 INFECTION

ABSTRACT

The clinical course of COVID-19 is highly variable, from mild to critical illness. Oxidative stress plays a key role in pathogenesis, and *GSTM1* and *GSTT1* null genotypes may impair antioxidant defense and exacerbate inflammation. The main aim of this study was to investigate the association of *GSTM1* and *GSTT1* null genotypes with disease severity and cytokine levels in hospitalized COVID-19 patients. This cross-sectional study enrolled 137 patients (July–September 2020), stratified into mild (n=67) and severe (n=70) groups. Genotypes were determined by multiplex PCR, cytokines by flow cytometry. Logistic and linear regression were used, adjusted for age, sex, hypertension, and diabetes. The *GSTT1* null genotype was independently associated with severe COVID-19 (AOR = 2.56, 95% CI: 1.08–6.07, p = 0.032). Severe patients exhibited significantly elevated levels of IL-6 (75.6%, p = 0.008), TNF- α (69.4%, p = 0.005), IL-17A (54.4%, p = 0.016), and IFN- γ (10.1%, p = 0.021). In multivariate analysis, the *GSTT1* null genotype predicted elevated IL-6 (β = 52.6, p = 0.003), TNF- α (β = 13.8, p = 0.002), IL-17A (β = 2.4, p = 0.001), and IFN- γ (β = 56.4, p = 0.012). The *GSTM1* null genotype showed similar but weaker associations. The combined both null genotype showed the strongest associations, but due to the small number of patients (n = 10), these results should be interpreted with caution. The *GSTT1* null genotype is significantly associated with severe COVID-19 and elevated IL-6, TNF- α , IL-17A, and IFN- γ , suggesting a role for genetically impaired antioxidant defense in hyperinflammation.

Key words: *GSTM1*; *GSTT1*; COVID-19; disease severity; cytokines; oxidative stress

САДРЖАЈ

1. УВОД.....	1
1.1. Пандемија COVID-19	1
1.1.1. Етиологија, патогенеза и цитокинска олуја код пацијената са COVID-19	3
1.1.2. Епидемиологија и фактори ризика COVID-19.....	8
1.1.3. Клиничка слика COVID-19.....	9
1.1.4. Дијагностика COVID-19	13
1.1.5. Мере превенције и ширења инфекције.....	20
1.1.6. Лечење COVID-19	21
1.2. Полиморфизми појединачног нуклеотида гена	24
1.2.1. Глутатион трансферазе.....	26
2. ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА	31
3. ХИПОТЕЗА.....	32
4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ	33
4.1. Примарна студија као извор података и узорка крви за допунске анализе.....	33
4.1.1. Тип студије, место и период истраживања	33
4.1.3. Инструменти истраживања.....	34
4.2. Подаци који су се користили за истраживање у оквиру ове докторске дисертације ...	35
4.2.2. Анализа цитокина.....	38
4.3. Статистичка обрада података	39
5. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА.....	42
5.1. Социодемографске, клиничке и лабораторијске карактеристике укупне кохорте болесника са COVID-19 инфекцијом	42
5.2. Повезаност социодемографских, клиничких и лабораторијских карактеристика са тежином клиничке слике COVID-19.....	54
5.3. Учесталост полиморфизма GSTM1 и GSTT1 и њихова повезаност са тежином клиничке слике COVID-19	70
5.4. Повезаност полиморфизма GSTM1 и GSTT1 са лабораторијским параметрима (комплетна крвна слика, биохемијски параметри, коагулациони параметри и инфламаторни маркери)	72
5.5. Повезаност GSTM1 и GSTT1 генотипова са серумским нивоима проинфламаторних и антиинфламаторних цитокина.....	77
5.6. Повезаност полиморфизма GSTM1 и GSTT1 са применом терапије и исходом лечења	85
6. ДИСКУСИЈА	89
6.1. Повезаност GSTT1 нултог генотипа са тежином клиничке слике COVID-19	89
6.2. Повезаност комбинованих нултих генотипова са тежином клиничке слике	91
6.3. Повезаност социодемографских и клиничких фактора са тежом клиничком сликом .	92
6.4. Повезаност лабораторијских параметара са тежом клиничком сликом	94

6.5. Повезаност GSTM1 и GSTT1 нултих генотипова са лабораторијским параметрима ..	95
6.6. Повезаност GSTM1 и GSTT1 нултих генотипова са серумским нивоима цитокина ...	97
6.7. Повезаност GSTM1 и GSTT1 нултих генотипова са примењеном терапијом и исходом лечења	100
7. ЗАКЉУЧАК.....	103
8. ЛИТЕРАТУРА.....	105
БИОГРАФИЈА.....	125
БИБЛИОГРАФИЈА	126
Изјава о ауторству	127
Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада	128
Изјава о коришћењу	129

1. УВОД

1.1. Пандемија COVID-19

Коронавируси су не-сегментни РНК (рибонуклеинска киселина) вируси који припадају фамилији *Coronaviridae*. Корона вируси су животињског порекла, а први пут су изоловани код људи 1960-их година када су добили и име по структури шиљастих протеина на њиховој површини који су критични за њихову инфективност (1, 2). Примарно најчешће изоловани коронавируси код људи (*HCoV-229E*, *HCoV-OC43*, *HCoV-HL63*, *HCoV-HKU1*), изазивају благе респираторне симптоме сличне „обичној прехлади“ (3).

Већина хуманих инфекција коронавирусима је блага, међутим, епидемије изазване са бетакоронавирусима, тешким акутним респираторним синдромом коронавирусом (енгл. *severe acute respiratory syndrome coronavirus*, SARS-CoV) и Средње Источним респираторним синдромом коронавирусом (енгл. *Middle East respiratory syndrome coronavirus*, MeRS-CoV), који су се појавили 2002, односно 2012. године (4), заразнији су и опаснији по живот, посебно код новорођенчади, старијих особа и имунокомпромитованих пацијената. SARS и MERS епидемије изазвале су морталитет код више од 10% инфицираних са SARS-CoV (5) и 37% инфицираних са MERS-CoV (6, 7).

У децембру 2019. године, појавила се серија случајева вирусне пнеумоније непознатог узрока у Вухану, Хубеи, у Кини (8). Прегледајући историју примљених особа, уочено је да је већина примљених пацијената радила или живела на локалној пијаци морских плодова Хуанан и око ње. Код ових пацијената се у раној фази пнеумоније развио тешки акутни респираторни синдром (енгл. *severe acute respiratory syndrome*, SARS) и неки пацијенти су имали додатне компликације као што су тешка акутна респираторна инсуфицијенција и тешки акутни респираторни синдром дистреса (енгл. *acute respiratory distress syndrome*, ARDS) (9).

Детаљном секвенционом анализом из узорака доњег респираторног тракта 7. јануара 2020. године Кинески центар за контролу и превенцију болести (енгл. *Chinese Center for Disease Control and Prevention*, CCDC) идентификовао је нови вирус који се назива SARS-CoV-2 (8). Вирус се брзо проширио на све континенте преносећи се директним контактом са оболелом особом или путем респираторних капљица (10, 11). Болест изазвана новим SARS-CoV-2 вирусом у складу са годином када је откривена добила је назив Коронавирусна болест 2019 (COVID-19).

Светска здравствена организација (енгл. *World Health Organization*, WHO) 9. фебруара 2020. године објавила је ново име за епидемију као 2019 – нова коронавирусна

болест (2019-nCoV), која је касније преименована и данас позната као COVID-19. Такође, исти дан (9. јануара) пријављен је први морталитет од COVID-19. Осим Кине, Министарство јавног здравља Тајланда је 13. јануара 2020. године пријавило свој први лабораторијски потврђен случај COVID-19. Истог дана, Министарство здравља, рада и социјалног старања Јапана и Републике Кореје пријавила је свој први случај COVID-19. Занимљиво је да су оба идентификована случаја на Тајланду и у Јапану увезени случајеви из Вухана у Кини (12).

На основу података пријављених до 26. јануара 2020. године, Светска здравствена организација је објавила свој шести извештај о ситуацији о пандемији COVID-19, у којем је пријављено 29 потврђених случајева широм света у десет различитих земаља осим Кине. Од ових 29 позитивних случајева, 26 случајева је имало историју путовања у град Вухан у Кини, док остала 3 нису имала историју путовања у Вухан. Међутим, даље истраживање ова три конкретна пацијента открило је да је један пацијент у Аустралији имао директан контакт са особом позитивном на COVID-19 из Вухана. Исто тако, још једна особа у Вијетнаму такође је имала директан контакт са његовим оцем, особом позитивном на COVID-19 која је недавно путовала у Вухан. Овај пренос SARS-CoV-2 на особе које немају директну историју путовања у Вухан од њихових блиских контаката и породичних особа које су биле у близини града Вухана, јасно је доказао да се SARS-CoV-2 може пренети са једне заражене особе на другу здраву неинфицирану особу (13).

У периоду од 210 дана (30 недеља), овај веома заразни вирус изазвао је преко 761.779 смртних случајева широм света, а смртни случајеви настављају да расту на дневној бази. Стога су се стратешка спремност и ефикасне мере јавног здравља сматрале највећом потребом за обуздавање ове глобалне пандемије (13).

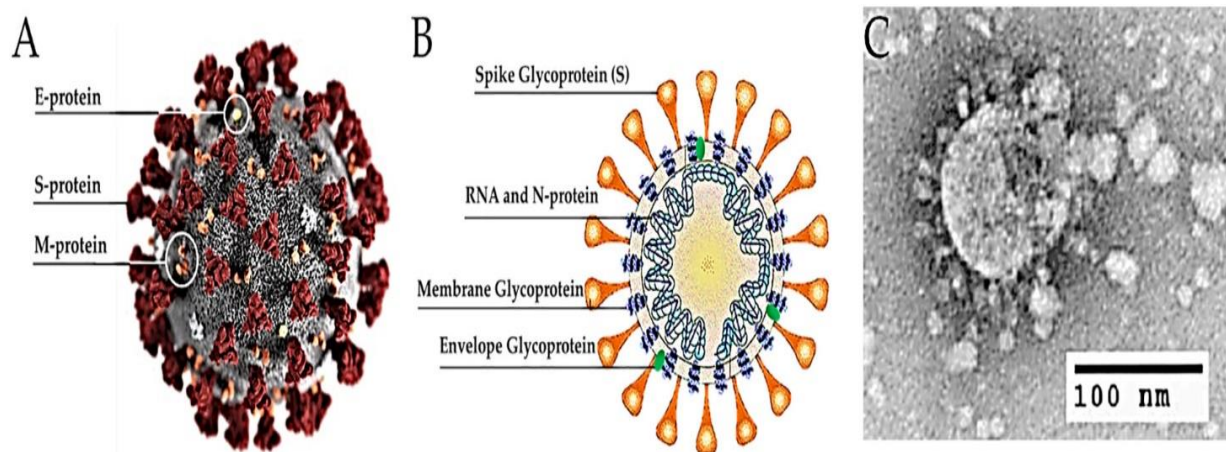
Светска здравствена организација је 11. марта 2020. године означила COVID-19 као глобалну пандемију пошто је до тог датума било око 118.000 потврђених случајева позитивних на SARS-CoV-2 и 4.291 потврђен смртни случај настао као последица COVID-19 у 110 земаља света (14).

SARS-CoV-2 се преноси са особе на особу на неколико начина, углавном капљично, што отежава обуздавање његовог ширења у заједници (15).

1.1.1. Етиологија, патогенеза и цитокинска олуја код пацијената са COVID-19

Коронавируси су класификовани у четири главне групе: алфа (α), бета (β), гама (γ) и делта (δ). Коронавируси су омотани, позитивни једноланчани велики РНК вируси који могу да заразе људе, али и широк спектар животиња (16). Први хумани коронавируси идентификовани су средином шездесетих година прошлог века (17). Коронавирусе су први пут описали 1966. године Тирел и Биное, који су гајили вирусе код пацијената са прехладом (16). Коронавируси су велика породица вируса који су уобичајени код људи и многих различитих врста животиња (на пример, мачака, слепих мишева). Већина људи је заражена овим вирусима у неком тренутку свог живота. Уобичајени људски коронавируси обично изазивају благе инфекције горњих дисајних путева као што је обична прехлада. Међутим, неке варијанте могу изазвати благе симптоме сличне грипу (18).

SARS-CoV-2 кодира четири главна структурна протеина: шиљак (С), мембрански (М), омотач (Е) и протеин нуклеокапсида (Н). С протеин је главни транс-мембрански гликопротеин који посредује у везивању рецептора и уласку вируса. (17) Илустрација вириона SARS-CoV-2и структуре SARS-CoV-2(18), приказана је на Слици 1.



Слика 1. Структура SARS-CoV-2. (А) Илустрација вириона SARS-CoV-2 креираног у Центрима за контролу и превенцију болести (енгл. Centers for Disease Control and Prevention, CDC). Шиљци на спољној ивици вирусних честица изгледају као круна, дајући болести карактеристично име. (Б) Шематски приказ структуре SARS-CoV-2. Има четири структурна протеина, С (шиљак или спајк), Е (омотач), М (мембрана) и Н (нуклеокапсид) протеина; Н протеин држи РНК геном, а С, Е и М протеини заједно стварају вирусни омотач. (Ц) Електронска микроскопска слика танког пресека SARS-CoV-2 унутар цитоплазме инфициране ћелије, која приказује сферне честице и попречне пресеке кроз вирусни нуклеокапсид. Преузето из Сохраби и сар. (19).

Коронавируси су добили име по карактеристичној особини њиховог С протеина, који подсећа на хало ефекат који се види у помрачењу сунца или изглед налик круни под електронским микроскопом (20). С протеин има грубо цилиндричан облик и јако је гликозилисан (15), кодира и поседује функције везивања и фузије рецептора. Коронавирус користи свој С протеин, као главну мету за неутрализацију антитела, да се веже за специфичне рецепторе и посредује у фузији мембране и уласку вируса. То је тримерни протеин, састављен од три испреплетена ланца који имају идентичне секвенце аминокиселина, од којих се сваки назива протомер (20).

Патологија и патогенеза COVID-19 у почетку је била недовољно позната али је врло брзо откривено да вирус улази у ћелију преко вирусних рецептора на површини ћелија доводећи до инфекције. Вирус улази у ћелије преко ангиотензин-конвертујући ензим 2 (енгл. *angiotensin converting enzyme 2*, ACE2) рецептора који је један од главних рецептора SARS-CoV-2 вируса и који је експримиран на ћелијама многих органа и ткива, као и преко CD209L и CD209 рецептора који служе као алтернативни рецептори за SARS-CoV-2 (21, 22).

Током репликације вируса, SARS-CoV-2 користи ензиме протеазе домаћина да ковалентно везује шећере на бочне ланце аспарагина у близини површине протеина (23). Да би се постигла фузија, С протеин треба да буде поцепан протеазама присутним у ћелији домаћина. Домаћини сопствене протеазе за разбијање пептидне везе пресецају С протеин на одређеним местима, а конформационе промене омогућавају да дође до фузије (24).

Штавише, доступност протеаза на циљним ћелијама у великој мери одређује да ли коронавируси улазе у ћелије кроз плазма мембрану или ендоцитозом (25). Протеолитичко цепање С гликопротеина такође одређује да ли вирус може да пређе врсте, на пример, са слепих мишева на људе (26). Процес је критичан јер омогућава да се секвенце фузије открију. Природа ћелијске протеазе која цепа С гликопротеин варира у зависности од коронавируса (27).

Патофизиологија ARDS од стране SARS-CoV-2 има сличности са ванболничким пнеумонијама узрокованим са другим вирусима и бактеријама (28). Након иницијалне инфекције, прогресија акутне болести може бити подељена на 3 фазе (фаза ране инфекције, плућна фаза и фаза хиперинфламације) са значајним преклапањем. У раној фази долази до продукције цитокина, при чему права цитокинска олуја која доводи до имунски посредованог оштећења већине органа у организму настаје у хиперинфламационој фази (29). У раној фази инфекције, вирусна репликација доводи до директног оштећења ткива зараженог вирусом, а у касној фази, инфициране ћелије домаћина покрећу имунски одговор регрутовањем Т лимфоцита, моноцита и неутрофила. На тај начин долази до јаког имунског одговора званог синдром

цитокинске олује који се карактерише неконтролисаним повећањем продукције проинфламаторних цитокина (30).

Неконтролисана продукција проинфламаторних цитокина, интерлеукина (енгл. *Interleukin*), IL-6, IL-2, IL-7, IL-1 β и фактора некрозе тумора α (енгл. *tumor necrosis factor*, TNF- α) код пацијената са COVID-19 доводи до настанка цитокинске олује чија је последица повећан ризик од генерализованог повећања капиларне пропустљивости, хиперкоагулабилности/тромбофилије (5, 31-33).

Патофизиологија SARS-CoV или MERS-CoV и даље није у потпуности разјашњена. Раније студије су показале повећане концентрације проинфламаторних цитокина у серуму (IL-1 β , IL-6, IL-12 и интерферона (IFN)- γ) и њихову значајну позитивну корелацију са тежином пнеумонија пацијената инфицираних са SARS-CoV (34). Инфекција са MERS-CoV је, такође, индуковала повишене концентрације проинфламаторних цитокина као што су IL-15, IL-17, IFN- γ и TNF- α (35).

Такође, TNF- α и IL-1 β су главни медијатори који врше инхибиторну контролу активности система коагулације (30). Скорије студије су показале повећане концентрације проинфламаторних цитокина у серуму (IL-1 β , IL-6, IL-12 и IFN- γ) и њихову значајну позитивну повезаност са тежином пнеумонија пацијената инфицираних са SARS-CoV (34).

Хуанг и сар. (5) у својој студији код пацијената из Вухана са COVID-19 утврдили су високе концентрације IL-1 β , IFN- γ , IL-10 и моноцитног хемотаксичног протеина 1 (енгл. *Monocyte Chemoattractant Protein-1*, MCP1), највероватније услед активације Т-помоћног 1 (енгл. *T-helper*, Th1) имунског одговора. Такође, пацијенти лечени на интензивној нези су имали значајно више концентрације грнудационог фактора стимулације колонија (енгл. *Granulocyte colony stimulating factor*, G-CSF), IL-10, MCP1 и TNF- α у односу на пацијенте који нису лечени на интензивној нези, што сугерише да је цитокинска олуја била удружена са тежином и прогресијом болести. Међутим, COVID-19 инфекција је индуковала секрецију и Т-хелпер 2 (Th2) антиинфламаторних цитокина (IL-4 и IL-10) који супримирају инфламаторни процес, што се значајно разликује од инфекције са SARS-CoV (34).

Цитокинска олуја доводи до развоја ARDS и озбиљног затајења функције више органа тј. мултиорганске дисфункције (енгл. *Multiple organ dysfunction syndrome*, MODS), што се дешава као последица напада од стране пробуђеног сопственог имуног система оболеле особе и коначно долази до смрти, након интензивног стварања и деловања високих концентрација цитокина током целог времена болести (5, 31–33).

Интерлеукин 6 може индуковати експресију великог броја ткивних фактора на мононуклеарним ћелијама, што може имати за последицу активацију хиперкоагулабилности/тромбофилије и стварање тромбина (30). Такође, TNF- α и IL-1 β

су главни медијатори који врше инхибиторну контролу активности система коагулације (30).

Разумевање молекуларне имунолошке патогенезе COVID-19 има кључну улогу у истраживању генетски засноване индивидуалне осетљивости. Кључни делови молекуларне имунолошке патогенезе су одређени као (36):

- Улазак и репликација коронавируса,
- Презентација антигена током инфекције корона вирусом,
- Хуморални и ћелијски имуни одговор,
- Цитокинска олуја у COVID-19, и
- Избегавање имунитета на COVID-19.

Недавно су механизам уласка SARS-CoV-2 у организам и његова репликација детаљније истражени. Други делови патогенезе COVID-19 су и даље претпостављени из експерименталних истраживања или клиничких испитивања SARS-а и MERS-а. Патолошке промене у респираторном тракту или ендотелне дисфункције могу бити мултифакторске и настају услед директне инфламације изазване вирусом, поремећаја регулације цитокина и коагулопатије (37). Патолошке промене на плућима су главне карактеристике тешке клиничке форме COVID-19. Ови патолошки налази се описују као замућења од брушеног стакла, едем плућа и синдром акутног респираторног дистреса (38).

Када су у питању плућа, SARS-CoV-2 вирус доводи до повећања васкуларне пермеабилности и каснијег развоја плућног едема код пацијената са тешком формом COVID-19 услед ендотелитиса, микротромбоза и периваскуларне инфламације изазване директним дејством вируса, дисрегулације ренин-ангиотензин-алдостерон система, активације пута каликреин-брадикинин који повећава васкуларну пермеабилност, појачане контракције епителних ћелија и везивањем вируса за рецепторе сличне Толу (енгл. *Toll-Like Receptors*, TLR) који индукује ослобађање про-IL-1 β посредника запаљења и фиброзе плућа (33, 39–41).

Иако је респираторни систем главна мета SARS-CoV-2 вируса и други системи органа су погођени (гастроинтестинални тракт (ГИ), хепатобилијарни, кардиоваскуларни, бубрези и централни нервни систем), а оштећења настају као последица комбинације више механизма као што су директна вирусна токсичност, исхемија изазвана васкулитисом, тромбоза, поремећај имунолошке регулације и дисрегулација система ренин-ангиотензин-алдостерон (42). Иако је добро познато да је COVID-19 повезан са стањем хиперкоагулабилности, тачни механизми који доводе до активације коагулационог система су непознати и вероватно настају услед директног

вирусом посредованог оштећења васкуларног ендотела или оштећења изазваног цитокинима, што доводи до активације тромбоцита, моноцита и макрофага, уз повећану експресију вон Виллебрандовога фактора и фактора VIII који резултира стварањем тромбина и формирање фибринског угрушка (43).

Велики број пацијената са тешким обликом COVID-19 има коагулационе поремећаје који имитирају друге системске коагулопатије које су удружене са дисеминованом интраваскуларном коагулацијом и тромботским микроангипатијама, али код пацијената са COVID-19, коагулопатија има неке посебне карактеристике (44, 45). Коагулопатија код пацијената са COVID-19 је удружена са повећаним ризиком од смрти (45), а такође, показано је да пацијенти са тешким обликом ове инфекције често развијају венске и артеријске тромбоемболијске компликације (46, 47). Најкарактеристичнији лабораториски налази код пацијената са тешком COVID-19 пнеумонијом и коагулопатијом су повишене концентрације Д-димера које су доказано лош прогностички фактор, релативно мало смањење у броју тромбоцита и продужење протромбинског времена (45, 48). Управо најновији клинички подаци указују да бројни COVID-19 пацијенти који су у критичном стању умиру од MODS управо изазваним свим овим поремећајима у организму који настају након инфекције (49). Оксидативни стрес може бити додатни фактор који доприноси патогенези MODS-а због уочене повезаности повишених нивоа реактивних једињења кисеоника и азота у плазми особе са MODS-ом (50).

Патогенеза COVID-19 и фактори који доприносе развоју тешке клиничке форме болести још увек су недовољно јасни. Сматра се да је SARS-CoV-2 повезан са развојем оксидативног стреса (ОС) који покреће производњу цитокина, упалу и друге патофизиолошке активности (51). Оксидативни стрес се дефинише као поремећај равнотеже антиоксиданата и прооксиданата у биолошком систему (52), а током ОС производе се високо реактивни облици молекула кисеоника/азота као што су хидроксил, супероксид анјон, азот оксид и нитрат анјон, који оштећују деоксирибонуклеинску киселину (DNK, протеине и липиде у ћелијама, што је у основи патогенезе респираторних вирусних инфекција укључујући инфекцију SARS-CoV-2 (52-54). Делгадо-Роше и Места сугеришу да ОС заједно са ћелијама урођеног имунитета утиче на развој тешких оштећења у плућима COVID-19 оболелих особа, стимулишући стварање фактора транскрипције, као што је некротизирајући фактор, што доводи до погоршања про-инфламаторног одговора домаћина (54).

1.1.2. Епидемиологија и фактори ризика COVID-19

Према подацима Светске здравствене организације до јула 2024. године 777.686.716 особа је оболело, док је преко 7.054.093 особа умрло од последица COVID-19 у свету (55), док је дато укупно 13,499,983,736 доза вакцина против COVID-19 (56). Према истраживањима из 2020. године 87% пацијената били су одрасли између 30 и 79 година, 1% била су деца у узрасту мањем од 9 година, 1% била су деца узраста од 10 до 19 година, и 3% били су одрасли људи старији од 80 година (57).

Пацијенти са COVID-19 су главни извор инфекције, а пацијенти са тешком клиничком сликом се сматрају заразним од благих. Асимптоматски заражене особе или пацијенти у инкубацији који не показују знакове или симптоме респираторне инфекције за које је доказано да ослобађају заразни вирус, такође могу бити потенцијални извори инфекције (58). Поред тога, узорци узети од пацијената опорављених од COVID-19 континуирано показују позитиван тест потврђен техником ланчане полимеризације у реалном времену (енгл. *real time polymerase chain reaction*, RT-PCR) (59), што никада није виђено у историји људских заразних болести. Другим речима, асимптоматски заражене особе и пацијенти у инкубацији или опорављени од COVID-19 могу представљати озбиљне изазове за превенцију и контролу болести (60).

COVID-19 се сматра врстом заразне болести која се самоограничава, а већина случајева са благим симптомима може да се опорави за 1–2 недеље. Инфекција SARS-CoV-2 може изазвати пет различитих исхода: асимптоматски заражене особе (1,2%); благи до средњи случајеви (80,9%); тешки случајеви (13,8%); критичан случај (4,7%); и смрт (2,3% у свим пријављеним случајевима) (61). Новије студије показују да је удео асимптоматске инфекције код деце млађе од 10 година чак 15,8% (62).

Фактори ризика за настанак тешких облика болести COVID-19 су старије животно доба, гојазност, претходне хроничне болести и стања (33, 63). Студије су показале да су особе свих узраста подложне инфекцији изазваној SARS-CoV-2 вирусом, али да је код старијих особа регистрована већа стопа оболевања и хоспитализација (57). Такође, умирање и други нежељени клинички исходи су били чешћи код старијих особа оболелих од COVID-19, а посебно оних који су имали пријављене коморбидитете (64). Утврђено је да је старост један од главних фактора ризика развоја ARDS-а (однос шанси, енгл. *Odds ratio* (OR)=3,26) и смртог исхода (OR=6,17) код оболелих од COVID-19 (65). На основу података из литературе уочено је да је у поређењу са узрастом 18–29 година, ризик од смрти био 25 пута већи код особа узраста 50–64 године, 60 пута више у старосној доби 65–74 године, 140 пута више у старосној доби од 75–84 године и 340 пута више код особа старијих од 85 година (66).

У ранијим фазама избијања сматрало се да је SARS-CoV-2 неефикасан у случају преношења са човека на човека у поређењу са претходним епидемијама SARS-CoV и MERS-CoV (67). Међутим, тренутна перцепција о SARS-CoV-2 је била сведок потпуног преокрета јер је утврђено да је инфекција веома заразна и брзо преносива. Неколико појединаца је позитивно тестирано на COVID-19 уз само 15–50 секунди изложености на јавним местима као што су пијаце поврћа и болнице. Ови пацијенти нису имали историју излагања подручјима избијања и контакта са пацијентима са симптомима. Овакви инциденти појединаца који су се заразили инфекцијом SARS-CoV-2 за неколико секунди открили су озбиљну забринутост због високе стопе инфективности и преносивости за разлику од његових претходника SARS-CoV и MERS-CoV (68, 69).

Важно је напоменути да су и слепи мишеви и панголини продавани живи или мртви, било легално или илегално на влажним пијацама у Вухану, што би могао бити главни разлог за појаву пандемије COVID-19. Ове влажне пијаце, које продају месо мртвих и живих животиња, пружају погодно окружење за пренос бактерија и вируса из различитих телесних течности попут крви, урина и измета закланих животиња. Штавише, лоша хигијенска пракса коју прате ове мокре пијаце могу бити кључни фактор који је допринео пандемији COVID-19 (70, 71).

Даље, преношење ове инфекције у великој мери зависи од различитих путева преноса са човека на човека који укључује директан контакт са ваздушним капљицама које заражене особе ослобађају током разговора, кашљања и кијања. Овај начин преноса респираторних капљица сматра се главним путем вирусног преноса код инфекције COVID-19 (72).

Брзо ширење SARS-CoV-2 делимично је последица механизма преноса вирусног агенса. Разумевање динамике преноса ширења заразе је кључно, пружајући увид у епидемиолошко ширење, спровођење мера контроле епидемије и утврђивање ефикасности таквих мера контроле (15).

1.1.3. Клиничка слика COVID-19

Клиничка слика COVID-19 инфекције креће се од асимптоматских или лаких облика са респираторним симптомима: повишеном телесном температуром (88%), умором (70%), сувим кашљем (67,7%), анорексијом (40%), недостатком даха, отежаним дисањем, губитком чула укуса и мириса или у тежим облицима долази до развоја упале

плућа (пнеумоније), ARDS, мултиорганске инсуфицијенције па и смрти (73). Фактори ризика за настанак тешких облика болести COVID-19 су старије животно доба, гојазност, претходне хроничне болести и стања (33, 63).

Просечно време инкубације процењено је на 5,2 дана. Лабораторијски налази крви показали су нормалну или смањену (25%) белу крвну слику (леукопенију) и лимфопенију (65%). Студија Гуан и сарадника (74) показала је да је укупно 98% пацијената на пријему у хитној служби било подвргнуто компјутеризованој томографији (СТ) грудног коша. Типични налази СТ-а грудног коша пацијената на пријему били су билатерална консолидација више лобуларних и субсегменталних делова плућа. Анализа 1324 лабораторијски потврђених случајева на SARS-CoV-2 показала је да грозница (87,9%) и кашаљ (67,7%) и даље представљају најчешће симптоме, а дијареја је симптом који се ретко јавља. Примећена је лимфопенија код 82,1% пацијената примљених у хитну службу (74).

На основу клиничких симптома, лабораторијских и радиографских налаза, хемодинамских и функционалних параметара клиничка слика COVID-19 се класификује као:

- асимптоматска или пресимптоматска инфекција: особе са позитивним тестом на SARS-CoV-2 без икаквих клиничких симптома који указују на COVID-19,
- блага болест: особе који имају симптоме COVID-19, као што су грозница, кашаљ, бол у грлу, малаксалост, главобоља, бол у мишићима, мучнина, повраћање, дијареја, аносмија или дисгеузија, али без кратког даха или абнормалног налаза на снимку плућа,
- умерена болест: особе са клиничким симптомима COVID-19 или радиолошким доказима болести доњих дисајних путева и са сатурацијом кисеоника (SpO_2) $\geq 94\%$ при спонтаном самосталном дисању,
- тешка болест: особе које имају SpO_2 мањи од 94% при самосталном дисању, однос парцијалног притиска артеријског кисеоника и фракције удахнутог кисеоника (PaO_2/FiO_2) мањи од 300, изражену тахипнеју са респираторном фреквенцијом већом од 30 удисаја/ мин, или инфилтрате плућа који су већи од 50% укупне запремине плућа,
- критична болест: особе са акутном респираторном инсуфицијенцијом, септичким шоком или дисфункцијом више органа. Пацијенти са тешком болешћу COVID-19 могу постати критично болесни са развојем ARDS и то обично недељу дана након појаве симптома (75).

Под ARDS-ом се подразумева тешка новонастала респираторна инсуфицијенција или погоршање већ постојеће, а према берлинској дефиницији на основу степена хипоксије, при чему је референтни параметар $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ или P/F однос ARDS се класификује на:

- благи ARDS: $200 \text{ mmHg} < \text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 300 \text{ mmHg}$ код пацијената који нису на механичкој вентилацији или код пацијената који се лече NIV коришћењем позитивног притиска на крају издисаја (PEEP) или континуираног позитивног притиска у дисајним путевима (CPAP) $\geq 5 \text{ cm H}_2\text{O}$,
- умерени ARDS: $100 \text{ mmHg} < \text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 200 \text{ mmHg}$,
- тешки ARDS: $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 100 \text{ mmHg}$ (76).

Иако већина пацијената са COVID-19 преодминантно има симптоме инфекције респираторног система, код одређеног броја пацијената болест прогредира до тешке системске болести, која се карактерише високом температуром која је резистентна на уобичајено лечење, пнеумонијом и респираторном инсуфицијенцијом због ARDS-а, циркулаторним шоком и мултиплом органском дисфункцијом, при чему је ARDS најчешћи узрок смрти код ових пацијената (77).

Велики број доказа показује да одређени број пацијената са тешким обликом COVID-19 има синдром цитокинске олује, тј. да током имунског одговора на вирусну инфекцију долази до претеране продукције проинфламаторних цитокина. Такође, познато је и да неки од ових цитокина активирају коагулационе путеве што има за последицу мултиорганско оштећење (5, 30). Након иницијалне инфекције, прогресија акутне болести може бити подељена на 3 фазе (фаза ране инфекције, плућна фаза и фаза хиперинфламације) за значајним преклапањем. У раној фази долази до продукције цитокина, при чему права цитокинска олуја која доводи до имунски посредованог оштећења већине органа у организму настаје у хиперинфламационој фази (29).

Неки пацијенти упркос томе што су асимптоматски или са минималним симптомима имају смањена читавања пулсне оксиметрије. Ово стање се назива „тиха“ или „апатична хипоксија“ (78, 79). Ови пацијенти показују релативно нормалну усклађеност плућа са недостатком диспнеје, али са ниским нивоом засићености крви кисеоником који указује на озбиљну респираторну инсуфицијенцију, па се стога сматрају „тихи“. Такви пацијенти са пнеумонијом COVID-19 са тихом хипоксијом не могу се категорисати према типичној дефиницији ARDS-а, јер пацијенти са типичним ARDS-ом показују смањену усклађеност плућа и тешку хипоксемију (13).

Ова „тиха хипоксија“ може се сматрати клиничком индикацијом за одређивање статуса пацијената који су под повећаним ризиком од изненадне декомпензације која

води до смрти. Извештаји хитне медицинске помоћи и болнички извештаји сугеришу да су епидемије COVID-19 повезане са тихом хипоксемијом у одсуству диспнеје са ниским нивоом засићења кисеоником (80). Високу инциденцију тихе хипоксемије треба решити благовременим откривањем и ефикасним стратегијама клиничког лечења. Чека се даље разумевање и поузданији подаци да би се проценила улога и утицај „тихе хипоксије“ у раној идентификацији и прецизном лечењу пацијената са ARDS-ом повезаним са COVID-19 (13).

Међутим, COVID-19 није само болест која захвата плућа већ у тешком клиничком облику SARS-CoV-2 доводи до мултиорганског оштећења у чијој се основи налази да створени проинфламаторни цитокини доводе до појаве хиперкоагулабилности/тромбофилије и тромботске микроангиопатије код ових пацијената (28). Колики је значај настанка тромбоемболије као акутне компликације код пацијената са COVID-19 показују подаци Викман и сар. (81) који су урадили 12 консекутивних легалних аутопсија код пацијената са COVID-19 и утврдили да су две трећине пацијената умрли као последица плућне емболије, са или без постојања дубоке венске тромбозе, иако у историји ови пацијенти нису имали венску тромбоемболију. Објављен водич од стране невладине организације Одељења за здравље и социјалну негу (енгл. *National Health Service, NHS*) наводи да након прележане акутне инфекције COVID-19 код пацијената долази до настанка дуготрајних респираторних проблема као што су хронични кашаљ, фиброзна болест плућа, бронхиектазије и плућна васкуларна болест (39).

Најчешће кардиоваскуларне компликације које се јављају код пацијената са COVID-19 су акутни коронарни синдром, аритмије и флукуације крвног притиска. Инциденција аритмије још увек није јасно приказана иако се очекује да буде присутна код тешких облика болести и у том случају се јављају тахиаритмија, брадиаритмија и асистолија (82). У студији из Вухана, кардиоваскуларне компликације, укључујући и инфаркт миокарда су допринеле 40% морталитету, самостално или у комбинацији са респираторном инсуфицијенцијом (77).

Такође, према метаналитичкој студији у којој је анализирано 22 опсервационе кохортне студије (83) са укупно 17.391 болесника са COVID-19 је утврђено да је учесталост претходно постојеће хроничне бубрежне инсуфицијенције (ХБИ) била 5,2% а терминалне ХБИ 2,3%, а да је током праћења као последица SARS-CoV-2 инфекције дошло до настанка електролитног дизбаланса тј. хиперкалијемije код 12,5% пацијената са COVID-19, код 11% пацијената је настала акутна бубрежна инсуфицијенција и 6,8% пацијената је захтевало трансплантацију бубрега (83).

У студији Мао и сар. (84), рађеној код 214 болесника са тешким и благим обликом COVID-19, утврђено је да 78 (36,4%) пацијената има неуролошке симптоме, а болесници са тежим у односу на благи облик болести (40 [45,5%] у односу на 38

[30,2%]) чешће имају неуролошку симптоматологију као што су цереброваскуларна болест, поремећај свести и оштећења скелетне мускулатуре.

Тежа клиничка форма болести је чешће регистрована код мушкараца, старијих особа, или/и особа са пријављеним хроничним обољењима, односно коморбидитетима. Животно угрожавајуће форме болести подразумевају развој респираторне инсуфицијенције, сепсе, септичког шока и мултиорганску дисфункцију са последичним смртним исходом (85).

Пацијенти са тешком/критичном формом COVID-19 поред тога што су већински били старији имали су чешће коморбидитете и то најчешће карцином, хроничну болест бубрега, јетре или плућа, деменцију или друге неуролошке болести, дијабетес типа 1 или типа 2, гојазност, болест коронарних артерија, висок ниво крвног притисака (хипертензија) или друга срчана стања, вирус хумане имунодефицијенције (ХИВ), депресију (66). Процењено је да 1,7 милијарди људи у свету (22% светске популације) има најмање једну хроничну болест која би могла повећати ризик од развоја теже клиничке слике након заразе SARS-CoV-2 вирусом (86).

Према мета-анализи 160 студија из Северне Америке, Европе и западног Пацифика (87), дијабетес (OR 1,2–2,0), срчана инсуфицијенција (OR 1,3–3,3), хронична опструктивна болест плућа (OR 1,12–2,2), деменција (OR 1,4–7,7), цироза јетре (OR 3,2–5,9), активни карцином (OR распон 1,6–4,7) били су повезани са већим ризиком од развоја тешких симптома и смртног исхода код оболелих од COVID-19. Повезаност између ХИВ-а и нежељених исхода COVID-19 показала је регионалну хетерогеност, са повећаним ризиком од смрти узроковане COVID-19 у Африци (OR 1,7) (87).

1.1.4. Дијагностика COVID-19

Ране процене су се у великој мери ослањале на генетске тестове, који су златни стандард за дијагностиковање COVID-19, из спутума или брисева носа. Међутим, ови тестови дају само јасну слику активне инфекције, нису тачан одраз могућих прошлих инфективних догађаја. Поред генетских тестова, користи се и серолошко тестирање које може да укаже да ли је појединац био инфициран у прошлости, на основу одговора антитела (50, 88).

Кристијан Дорстен и сар. Направили су један од најранијих метода рада као одговор на епидемију (89). Тим се успоставио тачан, осетљив и специфичан RT-PCR протокол који детектује присуство SARS-CoV-2. Каснија истраживања, укључујући

компаративну студију Нала и његових сарадника, потврдила су његову одличну осетљивост (90). Значајна карактеристика овог пионирског рада била је да су тестови дизајнирани без приступа било каквим стварним узорцима генома SARS-CoV-2 или узорцима пацијената, ослањајући се на информације о геному добијене од кинеских истраживача и технологију синтетичких нуклеинских киселина. Недавно је објављено занимљиво поређење између два комерцијално доступна комплекта за тестирање – TakMan™ 2019-nCoV Assay Kit v1 (ThermoFisher) и 2019-nCoV CDC kPCR Probe Assay (Integrated DNA Technologies), а резултати указују да је први тест способан да поуздано открије присуство SARS-CoV-2 у узорцима назофарингеалног бриса без икаквих корака екстракције RNK (91).

Већина дијагностичких уређаја који се ослањају на RT-PCR базирану амплификацију има велики број мана што захтева или анализу узорка или пречишћене узорке нуклеинске киселине, корак који укључује додатне реагенсе, продужено време тестирања, људске грешке и трошкове, поред значајних компромиса на терену – применљивост теста. Подложно даљој валидацији, горњи резултат представља потенцијални напредак за брзу и приступачну дијагнозу у окружењима са ниским ресурсима, омогућавајући развој приступачних уређаја за пружање помоћи. Поред тога, док се назофарингеални/орофарингеални брисеви препоручују за технике прикупљања узорка за тестирање на SARS-CoV-2, они представљају висок ризик од излагања здравствених радника великом броју потенцијално заражених појединаца, поред тога што изазивају нелагодност код пацијената. Предложена је алтернатива у облику узорка пљувачке као неинванзивне методе прикупљања узорка за решавање ових проблема (92).

Неколико студија је, такође, указало на одговорност техника заснованих на RT-PCR. Док неке публикације и *in vitro* тестови могу извести одличне параметре учинка, клиничка испитивања и повратне информације изазивају неколико црвених заставица. Најелементарнији пример овога је пријављен у случају када су два пацијента заражена са SARS-CoV-2 вратила негативне резултате RT-PCR, што је навело ауторе да предложи СТ скенирање грудног коша као суштински део клиничке дијагнозе (93). Слични проблеми са високом стопом лажно негативних RT-PCR тестирања на пацијентима током прогресије болести и лечења су такође пријављени одвојено (94). Таква запажања су промовисала препоруке за укључивање клиничких параметара као што је дијагноза СТ скенирања као фактора које треба узети у обзир поред горе наведених тестова приликом доношења одлука о отпуштању пацијента, евалуацији опоравка односно одговора на протоколе лечења. Ретроспективна студија дошла је до сличних закључака у корист СТ скенирања, приписујући 97,2% осетљивости на СТ, у поређењу са 83,3% коришћењем RT-PCR (95).

Неколико студија је нагласило потенцијал СТ скенирања грудног коша као одрживе дијагностичке технике, јер се настојало на томе да се формулише стандардни

скуп тачно одређених карактеристика које указују на инфекцију са SARS-CoV-2. Мета-аналитичке студије инфицираних пацијената су показале да су најчешћи клинички симптоми COVID-19 грозница, кашаљ, бол у грудима, умор и диспнеја, заједно са главним карактеристикама снимања као што је билатерална пнеумонија (96). У једној од студија на узорку од две стотине пацијената уочене су билатералне пнеумоније и на периферији и у доњем делу плућа у преко 94,98% случајева (97).

Поред тога, замућења од брушеног стакла и васкуларно побољшање идентификовани су као карактеристични потписи COVID-19, као и фиброза, ваздух, заробљавање и задебљање интерлобуларног септума. Вреди напоменути да су учињена веома подударна запажања међу различитим кохортама пацијената, а опште слагање између њих је показатељ свестраности предложене технике и широког спектра применљивости (98).

Штавише, подаци СТ скенирања засновани на временској тачки могу бити непроцењив алат за процену прогресије болести, одговора на лечење, развоја компликација и разумевања патофизиологије болести (99). Поред тога, осмишљена је и платформа заснована на вештачкој интелигенцији која користи неуронску мрежу за процену рендгенских слика и аутоматски детектује позитивне узорке заражене са SARS-CoV-2 са тачношћу од 97,82%. Искориштавање напретка компјутерске науке за медицинску дијагностику може послужити као суштинско средство за стандардизацију и убрзање процеса тестирања пацијената са COVID-19 (100).

Очигледна предност антитела у односу на амплификацију нуклеинских киселина је већа специфичност, тачност, као и брзо време тестирања јер не захтева дуготрајне кораке амплификације, нити укључује гломазне процесе екстракције односно пречишћавања. Недавни извештај је, такође, нагласио да титар антитела може бити поузданији показатељ инфекција са SARS-CoV-2, посебно за асимптоматске и сумњиве носиоце који дају негативне RT-PCR резултате (101).

Класични ензимски имуносорбентни тест (енгл. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*, ELISA) може се лако прилагодити да служи као тест за откривање SARS-CoV-2. Сходно томе, ово је коришћено против рекомбинантних вирусних нуклеокапсидних протеина и рекомбинантних вирусних спајк протеина, који су коришћени за детекцију нивоа имуноглобулина (Ig)-М и IgG (102). Ова студија је утврдила да би тест базиран на спајк протеину био осетљивији за откривање IgM (102).

На сличан начин, упоредни учинак метода заснованих на ELISA и златни имунохроматографски есеј (енгл. *gold immunochromatographic assay*, GICA) такође је процењен. Уочено је брзо време тестирања и висока осетљивост да серолошки тестови представљају супериорну алтернативу RT-PCR-у због лакоће узимања узорака (крв, која представља минималан ризик за здравствено особље у поређењу са узорцима брисева) и

ниске стопе лажно негативних резултата. С тим у вези, коришћен је ефикасан уређај за дијагностичко тестирање који је комбиновао платформу за тестирање IgG - IgM са временом тестирања од петнаест минута (103).

Иако је пренамена унакрсних реактивних антитела из веома сличних врста као што је SARS-CoV одржива идеја, занимљив извештај примећује неке замке (104). Упркос релативном идентитету између SARS-CoV и SARS-CoV-2, аутори истичу да веома моћна антитела која неутралишу SARS-CoV циљају на рецепторе (као што су CP3014 и m396) не успевају да ангажују SARS-CoV-2 спајк протеин.

Ово указује да ефикасно управљање новим патогенима може захтевати развој нових антитела и да би те стратегије засноване на хомологији за пренамену постојећих терапеутика требало ригорозно проверити (104).

Међутим, претерано ослањање на приступе засноване на антителима је непрактично. Дизајнирање сонди нуклеинске киселине је далеко једноставнији процес и процес који се много брже може применити. Такође, откривање антитела може бити тешко у раним стадијумима инфекције, све док се у циркулацији не акумулира значајан титар IgG/IgM. Ово може допринети значајним лажно негативним стопама током великих скрининга, посебно када периодично узимање узорака и продужено посматрање испитаника можда нису изводљиви (105).

Отуда, упркос истакнутим предностима техника заснованих на антителима, као што је горе дискутовано, неколико комплета за анализу и протокола за тестирање на терену остало је у домену метода заснованих на PCR амплификацији. Сходно томе, наш предмет фокуса за следећи одељак биће једна таква недавно развијена технологија, изотермно појачање посредовано петљом (енгл. *Loop-mediated isothermal amplification*, LAMP) (105).

Протоколи засновани на RT-LAMP-у омогућавају ефикасно амплификацију нуклеинских киселина на температури једне тачке. Ова карактеристика га чини јаким кандидатом за директне примене на терену, пошто је укључивање корака термичког циклуса у PCR тестове традиционално значајно ограничење за уређаје на месту пружања неге. Урођене предности LAMP-а нису ограничене само на изотермну операбилност. Ова робусна техника функционише ефикасно чак и са припремама сирових узорака, у поређењу са традиционалним PCR методама, а такође нуди веома високу ефикасност амплификације пошто није ограничена прагом удвостручавања по циклусу (105, 106).

Постоје два конкретна теста, од којих оба извештавају о способности колориметријског откривања, што је велика благодат за уређаје на месту пружања неге. Тим који предводе Ди Лиу и Јинг Јуан пријавио је RT-LAMP тестове за откривање SARS-CoV-2, са генима ORF1ab и С ген као примарне-сонде (107).

Рад захтева потпуну детекцију у року од 60 минута, користећи колориметријски систем за детекцију који користи флуоресцентни калцеин, где промена боје из наранџасте у зелену указује на позитивне реакције (визуелно уочљиве голим оком). Још један покушај Ренфеи Луа и сарадника који укључује примарне циљане на RdRp, користи крезол црвену (индикаторску боју осетљиву на рН) за читавање теста (108).

Пошто даље појачање може прогресивно променити рН пуфера из алкалног у кисели, промена боје из бордо у наранџасто/жуту сигнализује позитивну реакцију. Ове иновације у методологији читавања тестова подразумевају значајан напредак јер омогућавају да чак и необучени здравствени радници администрирају, спроводе и тумаче дијагностичке тестове (105).

Технике у развоју: реактивни полимери и системи засновани на CRISPR/Cas. Овај одељак је посвећен неколико неконвенционалних метода детекције, које је могло послужити као свестрана платформа у будућности. Први је реактивни уређај за калемљење полимера који користи антитела за детекцију dsRNK. Погодан полимером обложен површински реактиван поли (пентафлуорофенил ацетат) у овом случају се користи за имобилизацију J2 антитела на површини. Након припреме платформе, може се директно применити за детекцију dsRNK јер J2 антитела могу специфично да вежу молекуле dsRNK. Основна предност, у овом случају, јесте да је везивање антитела независно од секвенце; стога платформа може послужити као универзална јединица за откривање вируса (109).

Међутим, може се приметити да такви приступи који одговарају свима пате од инхерентног недостатка специфичности. У овом случају, природа детекције независна од секвенце сугерише велику могућност лажних позитивних резултата. Такав сценарио би захтевао секундарне тестове користећи успостављене протоколе за поуздане потврде дијагнозе, чиме би се техника заснована на J антителима поставила као потенцијални прелиминарни корак скрининга, а не као самосталан ентитет (109).

Друга велика иновација укључује употребу техника заснованих на CRISPR/Cas за детекцију вирусних нуклеинских киселина. Недавно су такви системи за детекцију засновани на CRISPR/Cas-у, посебно SHERLOCK и DETECTR, пријављени као дијагностички алати у настајању. Основни принцип укључује активацију одговарајуће Cas варијанте (Cas13 за SHERLOCK, Cas12a за DETECTR) везивањем одговарајуће циљне секвенце (ssRNK или mRNK за Cas13 и dsDNK за Cas12a), што омогућава Cas варијантама да промискуитетно цепају и деградирају околину, ssRNK и ssDNK (110).

SsRNK/ssDNK намењена за последњу реакцију може бити спојена са флуорофором који се може угасити, који производи сигнал који се може квантификовати након што се ослободи цепањем. Дакле, детекција тачне циљне секвенце је назначена читавањем теста у облику флуоресцентног сигнала. Овај систем

омогућава брзо и тачно откривање узорака вирусне РНК, пошто њихово појачање (заједно са одговарајућим модификацијама према коришћеном систему) може омогућити прецизно циљање и детекцију помоћу теста заснованог на Cas описаном горе. Ова изузетна способност је недавно демонстрирана коришћењем система DETECTR као дијагностичког алата за инфекције SARS-CoV-2 у брзом тесту бочног протока који укључује RT-LAMP користећи узорке назалних брисева (110).

Иако је RT-PCR стандардна дијагностичка метода за COVID-19, СТ представља важан дијагностички параметар за процену тежине клиничке слике COVID-19 (111). Неки стручњаци су мишљења да пацијенте са типичним СТ налазима а негативним резултатом RT-PCR теста треба изоловати и сматрати COVID-19 оболелима јер резултати RT-PCR могу бити лажно негативни (95).

У поређењу са класичним рентгенским (RTG) снимцима, СТ снимци имају предност попречног снимања грудног коша високе резолуције и тачан приказ обима и опсега плућних лезија. Обостране, мултипле, кружне или сливене зоне дензитета „млечног стакла”, доминантно локализоване субплеурално, периферно и постериорно, обично најобимније у доњим режњевима, представљају типичну СТ презентацију COVID-19 пнеумоније, а у каснијем стадијуму се могу развити и консолидације (95, 112). Процена обима и тежине пнеумоније дијагностиковане СТ-ом и RTG-ом врши се применом различитих система, а најчешће применом скоринг система тежине СТ налаза (енгл. *CT Severity Scoring System*) (111).

На основу овог система бодовања, процењује се захваћеност сваког од пет лобуса плућа на скали од 0 до 5, при чему 1 бод подразумева да је инфламаторним променама захваћено мање од 5% паренхима лобуса; 2 бода да је захваћено између 5% и 25%; 3 бода да је захваћено између 26 и 49%; 4 бода да је захваћено између 50-75%; а 5 бодова да је упалом захваћено више од 75% паренхима лобуса. На тај начин, укупан број бодова, тј. СТ скор, може да се креће од 0 до 25 (111).

Сложенији системи бодовања комбинују процену процентуалне захваћености паренхима плућа, у сегментима или лобусима, са типом запаљенских промена, при чему консолидација носи двоструко већи број бодова у односу на промене дензитета „млечног стакла“. Стога се множењем броја бодова за сваки плућни лобус и сабирањем тих бодова добијају веће вредности укупног, као и максималног скорa, у односу на претходни систем бодовања. Корелациона анализа је открила значајну повезаност између вредности индекса упале плућа и број лимфоцита, број моноцита, Ц-реактиван протеин (енгл. *C-reactive protein, CRP*), прокалцитонина, тачније свих фактора запаљења, као и дана од почетка болести и висине телесне температуре (113).

Средња вредност скорa радиографије је у већини студија била у негативној корелацији са индексом оксигенације, а пацијенти са абнормалним налазом на плућима

су били старији, са већом учесталошћу коморбидитета, израженом грозницом, кашљем, искашљавањем и главобољом, нижим нивоима лимфоцита, албумина, натријума у серуму и вишим нивоима укупног билирубина, креатин киназе, лактат дехидрогеназе и CRP-а. Виши скор радиографије на пријему представљао је предиктор тешке/критичне форме болести код хоспитализованих COVID-19 пацијената, мањег волумена плућа и пријема у јединицу интензивне неге (114). Билатерална пнеумонија на СТ-у је била у корелацији са дужим трајањем хоспитализације (115).

Поред почетног епидемиолошког надзора и постављања дијагнозе COVID-19, медицинска лабораторија има важну улогу у праћењу здравственог стања оболелих. Рутинска лабораторијска испитивања (биохемијска, хематолошка и имунохемијска) критична су за процену тежине COVID-19, идентификацију одговарајуће алтернативне терапије и праћење одговора на лечење (116).

Бројне студије су анализирале разлике у биохемијским, хематолошким, коагулационим и инфламаторним маркерима у односу на тежину клиничке слике COVID-19. Биохемијски параметри као што су аланин аминотрансфераза (ALT), аспартат аминотрансфераза (AST), лактат дехидрогеназа (LDH), феритин и CRP су значајно повећани код пацијената са тешком формом COVID-19 у поређењу са благом. Прогресија COVID-19 од благе ка тешкој или критичној форми болести праћена је смањењем албумина, преалбумина и лимфоцита, а повећањем вредности LDH, CRP, неутрофила и леукоцита. Поред ових маркера, инфламаторни цитокини укључујући IL-10, TNF-а и IL-2R, производ разградње фибриногена (FDP), Д-димер, протромбинско вријеме (PT) и однос неутрофила и лимфоцита (NLR), такође, значајно расту са погоршањем клиничке слике COVID-19 пацијената (116).

Нивои IL-2, IL-2R, IL-6, IL-7 и TNF-а су били већи код пацијената на интензивној нези у поређењу са пацијентима који нису били на интензивној нези (117). Интерлеукин-10 је такође био виши код тешко оболелих COVID-19 пацијената и код пацијената са секундарном инфекцијом и сепсом (117). Већа количина вируса у серуму је у корелацији са повећаним нивоима IL-6 (до 100 pg/mL) и већим морталитетом код критично оболелих пацијената (116).

Специфично, код критично оболелих пацијената који су се лечили у јединици интензивног лечења је регистровано прогресивно смањење броја лимфоцита са рекурентном лимфопенијом, смањен број тромбоцита, смањен број еозинофила, повећање вредности ензима јетре, повећан прокалцитонин, повишен CRP, повишен IL-6, смањење параметара реналне функције и висок укупни билирубин у серуму (116). Неутрофилија је фактор повезан са већим ризиком од развоја ARDS-а (OR=1,14) и смртним исходом (OR=1,08) (73).

Неке студије су откриле већи удео пацијената са тромбоцитопенијом код теже оболелих (118) и број тромбоцита је био нижи код пацијената који су преминули у односу на оне који су се опоравили од COVID-19 (119, 120). Међутим, друге студије нису откриле значајне разлике у средњем броју тромбоцита између пацијената на интензивној нези и оних који се нису лечили на интензивној нези, нити код особа које су преминуле и оних који су се опоравили од COVID-19 (82). Удео повишеног Д-димера који указује на абнормалности коагулације и фибринолизе постепено се повећавао како је тежина клиничке слике код COVID-19 пацијената прогресирала, и био је виши код пацијената који су преминули у поређењу са онима који су се опоравили (82, 119).

Код пацијената са тешком формом COVID-19, биомаркери оштећења срца и мишића (укључујући нивое срчаног тропонина), ензими јетре (ALT и AST), биомаркери оштећења бубрега (уреа у крви, креатинин) и индикатори коагулације су такође били значајно повишени, што указује на могућност вирусног миокардитиса, оштећење срца и отказивање више органа као што су бубрези или јетра (118, 121).

1.1.5. Мере превенције и ширења инфекције

Са циљем превенције и одбране од епидемије све земље света биле су приморане да уведу строге здравствене мере. У Србији први случај обољења од COVID-19 забележен је 6. марта 2020. године, а ванредно стање је уведено 15. марта 2020. године. Универзитети, школе и вртићи су престали са радом. Часови за млађу децу су организовани преко телевизијских станица. Велики број људи је био принуђен да ради од куће, а велики број продавница и институција је затворено. Особама старијим од 65 година је забрањено да излазе из кућа, осим викендом од 4 до 7 сати ујутру за куповину намирница, док је у периоду од 17 до 5 сати свима био забрањен излазак из кућа. Од 29. марта 2020. године свима је забрањен излазак из кућа током викенда. Од почетка априла 2020. године је почело попуштање мера (122).

Превентивне мере које подразумевају ношење заштитне опреме, физичко и социјално дистанцирање, комплексна медицинска тестирања и карантинску изолацију, што додатно због евентуалне стигматизације оболелих повећава психичко оптерећења и може довести до настанка хроничног стреса који представља фактор ризика за анксиозност и депресију (123). Налази из Кине, где је епидемија првобитно регистрована, указали су да је више од 25% становништва доживело умерене до озбиљне нивое симптома стреса или узнемирености као реакције на COVID-19 (124).

Страх од инфекције SARS-CoV-2 и потенцијалне смрти, као и промена у начину живота услед социјалне изолације и поштовања осталих превентивних мера значајно је утицала на квалитет живота људи у свету и на њихово ментално здравље. Опсег пандемије довео је до страха и забринутости, не само због могућности заразе и потенцијалних губитака људских живота, већ и због социјалних и економских последица. Ово су значајни психолошки стресори за читаву популацију, а социјална изолација због губитка структуриране едукације и рада такође је претила да погорша ментално здравље (125).

Међутим, и поред примене ових превентивних мера пандемија се није заустављала. Кључна мера у контроли пандемије COVID-19 је масовна имунизација. Заједнички напори научника и здравствених радника, великог броја различитих истраживачких група и фармацеутских компанија у свету, Светске здравствене организације и других непрофитних здравствених установа, заједно са владама многих држава, довели су до развоја већег броја вакцина против COVID-19, чија је примена кроз глобални програм вакцинације довела до скорог завршетка пандемије и повратка света у токове пре пандемије (126).

Око две трећине популације света (67%) вакцинисано је примарном серијом вакцине против COVID-19 (са две дозе код вакцина са дводозним режимом давања или једном дозом код AstraZeneca и Johnson & Johnson вакцина), док је 32% вакцинисано са најмање једном бустер дозом (127).

1.1.6. Лечење COVID-19

Клиничари треба да процене респираторни статус пацијента укључујући ментални статус и респираторни напор (нпр. рад дисања, брзину дисања), а не само засићење кисеоником, када одређују потребу за терапијском интервенцијом. Пацијентима са благом хипоксемијом услед SARS-CoV-2, али без доказа постојања респираторне инсуфицијенције која захтева хитну ендотрахеалну интубацију, може се обезбедити додатни кисеоник (128). Пацијенти са инфекцијом са SARS-CoV-2 су под високим ризиком од акутне респираторне инсуфицијенције која захтева механичку вентилацију. Међу хоспитализованим пацијентима са COVID-19, 10–20% захтева пријем у јединицу интензивне неге, а 3–10% захтева интубацију и механичку вентилацију (129).

Терапија кисеоником и лечење симптома представљају основу терапије, док се за пацијенте са респираторном инсуфицијенцијом користи механичка вентилација. Стратегија терапије у виду примене кисеоника може помоћи пацијентима, уз помоћ назалне каниле може се започети са 6 L/мин (130). Ако се стање пацијента не побољша са назалном канилом, даљи кораци укључују Вентури маску до 50% или маску без поновног дисања до 15 L/мин, *non-rebreather* при 15 L/мин поред назалне каниле при 6 L/мин, назална канила високог протока (енгл. *High-Flow Nasal Cannula*, HFNC), а затим неинвазивна вентилација (енгл. *Non Invasive Ventilation*, NIV) (131).

Међу стратегијама лечења заснованим на медикаментозној терапији, велику пажњу су добили антивирусни лек широког спектра хлорокин и његов дериват хидроксихлорокин. Већ у фебруару 2020. године и ремдесивир и хлорокин су идентификовани као потенцијални инхибитори SARS-CoV-2 *in vitro* (132). Ремдесивир, потенцијални кандидат против еболе, SARS-CoV и MERS-CoV, јесте аналог аденозина који инхибира репликацију вируса. С друге стране, хлорокин циља ендозомалну фузију тако што подиже ендозомални рН, уз ометање гликозилације ACE2 (133).

Образложење за коришћење хлорокина је додатно потпомогнуто низом могућих антивирусних ефекторских функција. Чини се да ова инхибиција везивања и уласка вируса објашњава очигледну ефикасност хлорокина и његовог деривата хидроксихлорокина против инфекција SARS-CoV-2 (133).

Међутим, важно је препознати да су докази о клиничким предностима ових веома популарних лекова спорни у најбољем случају, а непоздани у најгорем. Док се за хидроксихлорокин и азитромицин раније тврдило да су потенцијално ефикасни лекови против инфекција SARS-CoV-2, извјештајна студија је од тада била под критикама због недостатка контролне групе и непотпуних дескриптора стварних клиничких исхода и критеријума за укључивање пацијената (134). Одвојено рандомизовано испитивање које је укључило 62 пацијента је, међутим, пријавило статистички значајан позитиван ефекат лечења хидроксихлорокином у ублажавању симптома пацијената (135). Ове тврдње су поништене са три додатна извјештаја, од којих ниједан не закључује било какву значајну корист од ове методе лечења (136–138).

Нова група лекова који су коришћени у терапији су кортикостероиди, који су недавно изазвали велико интересовање у контексту приступа лечењу COVID-19. У почетку је владала сумња у погледу употребе кортикостероида, с обзиром на њихову склоност да изазову нежељене реакције код тешко болесних пацијената, међутим докази из новијих клиничких испитивања и мета-анализа наговештавале су значајне користи од ових лекова за лечење критично болесних пацијената. Ово је довело до све већег залагања за примену кортикостероида као водећих кандидата у глобалним напорима против COVID-19 (139–141).

Поред лечења лековима, терапија конвалесцентном плазмом (КП) заговара се као клинички ефикасна пракса. Поступак подразумева коришћење крвне плазме добијене од опорављених пацијената као адаптивне имунолошке терапије за критичне случајеве. Основни принцип рада је да донорска плазма садржи висок титар антитела која су ефикасна против патогена, па стога пружа јачање имунитета примаоцу. КП се заговара као алтернативна терапија за инфекције SARS-CoV-2 (142), а терапеутска размена плазме је препоручена као одговарајућа стратегија за суочавање са често повезаним ARDS (143).

Почетни узорак од четири пацијента утврдио је да КП може имати терапеутске користи за критично болесне пацијенте (144). Док су сва четири пацијента показала прогресију ка негативним RT-PCR резултатима, аутори студије наглашавају да би било тешко искључити збуњујуће факторе, као и ефекте додатне потпорне неге и третмана као што су антивирусни лекови и интравенски имуноглобулин. Слична студија која је укључивала кохорту од десет пацијената показала је да дозе КП могу или повећати или одржати постојеће нивое неутрализујућих антитела код прималаца (145). Поред тога, примећено је да се клинички симптоми прогресивно побољшавају, што је довело до одсуства виремије. Студија наглашава два друга значајна исхода – један, да се чинило да примаоци добро толеришу КП без нежељених реакција, и други, да је трансфузија КП ублажила упалу. Важно је напоменути, међутим, да ове студије треба даље допунити ригорозним и контролисаним клиничким испитивањима како би се умањили ефекти спољашњих фактора, као и да би се успоставили одговарајући протоколи за терапију КП у вези са дозом, трајањем и другим одговарајућим параметрима (105).

Међу неколико компликација повезаних са инфекцијама SARS-CoV-2, реакције цитокинске олује, које су нуспроизвод имунолошке хиперактивације и губитка регулаторне контроле над проинфламаторним цитокинима, представљају велики ризик за преживљавање пацијената и могу довести до брзог погоршања здравља пацијената (146). Предузети су велики напори да се безбедно управља овим стањем. На пример, предложена је употреба лека антагониста IL-6 рецептора као што је тоцилизумаб, пошто је IL-6 идентификован као кључни покретач одговора на цитокинску олују (147). Још један рад који су објавили Мехта и сарадници (30), такође, препоручују методе циљане на IL-6 рецептор. Они препоручују приступ лечењу који се бори против хиперинфламације. Препоручено је неколико стратегија помоћу којих се могу решити одговори цитокинске олује, укључујући употребу већ поменутог антагонисте рецептора IL-6 тоцилизумаба. Глициретинска киселина, други инхибитор сигнализације IL-6 и сигнални трансдуктор и активатор транскрипције (енгл. *signal transducer and activator of transcription*, STAT)-3, предложени су као потенцијални кандидати. Поред тога, наведено је да примена инфузије мезенхималних матичних ћелија због имуномодулаторног и антиинфламаторног потенцијала ових ћелија може имати добар ефекат у лечењу пацијената са COVID-19 (148).

Предложен је и алтернативни приступ управљању одговором на цитокинску олују у облику система за вештачко пречишћавање крви. У суштини, ово укључује коришћење екстерног подешавања за третман са филтрацијом и третманом за модулацију различитих фактора и хемокина одговорних за оркестрирање проинфламаторног одговора. Ово се може постићи употребом медијатора за уклањање инфламације и разменом плазме. У исто време, могу се користити јединице за континуирану венску хемофилтрацију, као што је показано за успешно обуздавање одговора на цитокинску олују код критично погођених пацијената са gripом H7N9 (149). Предности терапије за пречишћавање крви за ублажавање сличних симптома код пацијената заражених SARS-CoV-2 такође је показала студија из Вухана која је укључивала три пацијента (150).

1.2. Полиморфизми појединачног нуклеотида гена

Поред соматских мутација које погађају гене циљног ткива и које су непосредно одговорне за процес трансформација ћелија, задњих година пажњу истраживача све више заокупљују и последице мутације гена, а то су наследне (герминативне) промене које су део генетичке конституције сваког појединца и представљају погодан тло за штетно деловање спољашњих фактора, а у питању су DNK полиморфизми (151, 152).

DNK полиморфизми су варијације наследне основе (нуклеотидна разноликост), које постоје код здравих људи, а дефинишу се као однос броја различитих база према укупном броју базних парова генома који се пореде (151–154).

Још увек није потпуно јасно како DNK полиморфизми утичу на коначни протеински производ и фенотип јединке. Данас се интензивно истражује улога DNK полиморфизма као могућих маркера генетичке предиспозиције за развој различитих болести. Људска наследна основа, или геном, састоји се од отприлике 3 милијарде базних парова у хаплоидном сету и садржи између 20.000 до 25.000 гена, који су лоцирани на 23 пара хромозома. Иако гени чине само 10 до 15% генома, у 90% случајева имају улогу у кодирању протеина и RNK. Преостали део генома садржи секвенце чија тачна функција још није потпуно разјашњена. Разноликост наследне основе такође се назива нуклеотидна варијабилност и дефинише се као однос броја различитих база према укупном броју базних парова генома који се пореде. Параметар хетерозиготности π омогућава процену вероватноће да ће нуклеотиди на одређеној позицији бити присутни у хетерозиготном облику (поређењем два случајно одабрана хромосома у циљаној популационој групи). Процењено је да је хетерозиготност у људском геному око 7.51×10^{-4} , што одговара појави 7,51 различитих нуклеотида на

сваких 10.000 базних парова. Варирање за аутосоме креће се између 5,19 и 8,79 различитих нуклеотида на 10.000 базних парова. Хетерозиготност за полне хромозоме је знатно нижа. На пример, за X хромосом износи око 4,69, док за Y хромосом износи 1,51 различитих нуклеотида на 10.000 базних парова (155).

Као што је већ наглашено, варијације у људској наследној основи које су честе у популацији називају се полиморфизми. Да би нека варијација била сматрана полиморфизмом, потребно је да се алелна форма јавља са фреквенцијом већом од 1%, односно да је учесталост хетерозигота већа од 2%. Алелне форме са фреквенцијом мањом од 1% сматрају се ретким варијантама, док оне са фреквенцијом већом од 10% чине уобичајене варијанте. Полиморфизми могу бити неактивни (тихи полиморфизми) или могу имати функционалне последице. Ове последице могу се манифестовати кроз промењену каталитичку функцију, стабилност или ниво експресије кодираног протеина. Полиморфизми се могу јавити у кодирајућим секвенцама гена, али и у регулаторним регионима гена, где обично утичу на ниво експресије протеина. Такође, полиморфизми у некодирајућим регионима могу утицати на стабилност или процесирање информационе рибонуклеинске киселине (iRNK) (155).

Главни типови полиморфизма укључују:

1. SNP – полиморфизми појединачних нуклеотида (енгл. *single nucleotide polymorphism*),
2. Del/ins – делеције или инсерције целих гена или делова гена,
3. VNTR – варијабилан број тандемских понављања (енгл. *variable number of tandem repeats*) (155).

SNP представљају варијацију у секвенци DNK тј. на одређеном месту у геному код неких особа се налази један нуклеотид, а код других други (156). Њихово познавање је важно како би се боље дефинисали патофизиолошки механизми настанка мултифакторских обољења као и склоност ка развоју теже клиничке слике обољења (укључујући и COVID-19) (151, 152). DNK полиморфизми се срећу у апсолутно свим генима хуманог генома, а њихово присуство у људском генотипу може да одреди мању или већу склоност ка развоју различитих болести, као и тежини њихове клиничке слике (151–154).

1.2.1. Глутатион трансферазе

Глутатион С-трансферазе (GST) јесу суперфамилија мултифункционалних изоензима који катализују коњугацију глутатиона (GSH) са електрофилним једињењима, што резултира ћелијском детоксикацијом неколико ендогених и екзогених једињења (157). Глутатион С-трансферазе имају важну улогу у детоксикацији организма од различитих канцерогена, лекова и продуката оксидативног стреса. Наиме, *GST* учествују у метаболизму различитих ксенобиотика, укључујући лекове, али и канцерогене, тако што каталишу везивање глутатиона са овим једињењима, при чему се формирају хидросолубилни и мање токсични производи који могу да се излучују из организма путем урина или жучи (158, 159).

У ткиву сисара, препознато је осам различитих класа цитосолних *GST* ензима, као што су алфа (α)-*GSTA*, му (μ)-*GSTM*, пи (π)-*GSTP*, омега (ω)-*GSTO*, тема (θ)-*GSTT*, сигма (σ)-*GSTS*, капа (κ)-*GSTK* и зета (ζ)-*GSTZ* (160). Чланови μ (*GSTM1*: MIM: 600436) и θ (*GSTT1*: MIM: 138350) најчешћа су варијанта *GST* гена, који се налазе на хромосому 1p13.3 и 22q11.23 (161, 162). Хомозиготна делеција (нулти генотип) гена *GSTM1* (*GSTM1* $-/-$) и *GSTT1* (*GSTT1* $-/-$) повезана је са губитком активности ензима и повећава ризик од неколико мултифакторских болести повезаних са оксидативним стресом, укључујући кардиоваскуларне и респираторне болести (163, 164).

Гени глутатион С-трансферазе T1 (*GSTT1*, MIM: 600436) и M1 (*GSTM1*, MIM: 138350) показују делециони полиморфизам, алел нула. Хомозиготност за нулте алеле резултира недостатком одговарајуће активности ензима, што повећава ризик од плућне фиброзе, једне од најозбиљнијих компликација болести COVID-19. Дакле, нулти генотип *GSTT1* се може сматрати предиктором морбидитета и морталитета од COVID-19 у различитим географским регионима (165). Разлика у подложности и морталитету од COVID-19 може се објаснити присуством недостатка витамина Д услед различитог метаболизма витамина Д оркестрираног ДБП полиморфизмима rs7041 и rs4588 (166, 167). Карциолу Батур Ј. описао је генетску предиспозицију за вирусну инфекцију у недостатку витамина Д и такође открио значајну корелацију између полиморфизма rs7041, преваленције COVID-19 и стопе морталитета. Међутим, није пронађена значајна корелација између преваленције (на милион) и морталитета (на милион) на rs4588 локусу (168). Хем оксигеназа-1 (ХО-1) потенцијална је мета код COVID-19. Синг Д. и сарадници, на основу студија других аутора, сугерисали су кључну улогу индукције ХО-1 у коагулацији изазваној упалом, уоченој код пацијената са COVID-19. ХО-1 генетски полиморфизми, посебно понављање ГТ динуклеотида у промоторском региону, регулишу индуцибилност (тј. транскрипцију) ХО-1 на реактивне врсте кисеоника (РОС). Утврђено је да су појединци са већим (ГТ)_n понављањима подложнији болестима које укључују ендотел кардиоваскуларног

система, посебно код дијабетеса и гојазности. С обзиром на везу између присуства ГТ понављања у региону промотора ХО-1 и тежине болести у различитим стањима као што су акутна повреда плућа, тромбоемболија и дијабетес, неопходно је одредити дужину понављања ГТ код пацијената са тешким COVID-ом-19 (169, 170).

У поређењу са источноазијском популацијом, европске популације показују нижу учесталост *GSTT1* нултог генотипа. Земље са нижом учесталошћу *GSTT1* нултог генотипа показују већи морталитет и смртност због инфекције SARS-CoV-2, али нису повезани са повећаном преваленцијом COVID-19. На овај начин, нулти генотип *GSTT1* може се сматрати предиктором морталитета и смртности случајева COVID-19. Ова повезаност са исходом COVID-19, али не и са висином стопе преваленције COVID-19, може се објаснити чињеницом да је *GSTT1* укључен у процес ћелијске детоксикације (165).

GSTT1 припада суперфамилији *GST*, укључених у катализу реакција коњугације реактивних интермедијера електрофилних једињења са цитосолним глутатионом. За разлику од *GSTM1*, показана је већа експресија *GSTT1* у плућном ткиву. Ген *GSTT1* карактерише делецијски полиморфизам, а ови *GSTT1* нулти генотипови су повезани са повећаним ризиком од неколико мултифакторских болести повезаних са оксидативним стресом (171).

Познато је да су ризични фактори повезани са тешким обликом болести COVID-19 старији узраст, мушки пол и хроничне болести попут дијабетеса, хипертензије, астме и гојазности. Међутим, појава тешког облика болести и смртни исход код претходно здравих, млађих појединаца, без познатих коморбидитета, подстакнула је велики број истраживања евентуалне повезаности између генетских параметара и градијента клиничке манифестације болести (172). Патогенетски механизми и клиничка примењивост генетских фактора као предиктора развоја тешког облика COVID-19 и морталитета је анализирана у великом броју студија применом метода молекуларне биологије као што сусеквенцирање генома, ексома или одређених гена тј. целогеномским истраживањима (енгл. *genome wide association studies*, GWAS) (173).

Глутатион С-трансферазе породица ензима има значајну улогу у ћелијској детоксикацији, а *GSTT1* и *GSTM1* генски полиморфизми доводе до комплетне делеције гена (нултог генотипа) која резултира потпуним одсуством ензимске активности *GSTT1* и *GSTM1*. Због тога, особе са избрисаним алелом имају већи ризик за развој великог броја болести повезаних са ОС (174).

Литературни подаци недвосмислено показују да *GSTT1* и *GSTM1* нулти генотипови повећавају ризик за неколико мултифакторских болести које су повезане са ОС за који је познато да представља важан проблем код вирусних респираторних инфекција. Плућна фиброза је једна од најважнијих компликација COVID-19, а повезана

је са ОС (165). Истраживања показују да мелатонин може смањити ОС код пацијената са COVID-19. Са друге стране, активност GST је значајно повећана код експерименталних животиња третираних са мелатонином (175). У студији Садат и сарадника је доказана повезаност између *GSTT1* полиморфизма и исхода COVID-19. Аутори су показали да нулти генотип *GSTT1* може бити предиктор морталитета од COVID-19 и да је овај генотип повезан са већим ризиком за настанак ОС, који може имати значајну улогу у осетљивости према инфекцији са SARS-CoV-2 (165). Такође, у овој студији рађеној на Источно-Азијској популацији је показано да су на том простору значајно већи број COVID-19 позитивних случајева био код особа које су носиоци *GSTT1* нултог генотипа у односу на појединце који нису имали нулти генотип (165). Међутим, у литератури има јако мало података о повезаности *GSTM1* полиморфизма са COVID-19, као и предиктивном значају *GSTT1* и *GSTM1* генских полиморфизма на тежину клиничке слике пацијената са COVID-19.

Патогенеза тешког облика COVID-19 покреће се нерегулисаним имуним одговором домаћина, који кулминира прекомерним ослобађањем проинфламаторних цитокина – феноменом широко познатим као „цитокинска олуја“ (176). Ово хиперинфламаторно стање карактеришу повишени нивои интерлеукина-6 (IL-6), фактора некрозе тумора-алфа (TNF- α), интерферон-гама (IFN- γ) и IL-17A, који доприносе ендотелној дисфункцији, васкуларном цурењу и широко распрострањеном оштећењу ткива (177, 178). Идентификовано је неколико фактора ризика за тешку болест, укључујући напредне године, мушки пол и коморбидитете као што су хипертензија и дијабетес мелитус (179–181). Међутим, значајан број пацијената без ових конвенционалних фактора ризика и даље напредује ка тешкој болести, што указује на то да додатни генетски фактори домаћина могу утицати на подложност тешкој форми COVID-19 (182).

Оксидативни стрес се појавио као критична компонента у патофизиологији COVID-19 (54). Инфекција SARS-CoV-2 покреће прекомерну производњу реактивних врста кисеоника (РОС) кроз активацију фагоцитних ћелија и митохондријску дисфункцију, што доводи до неравнотеже између оксиданаса и антиоксидативних одбрамбених механизма (183, 184). Ово проксидативно окружење не само да олакшава вирусну репликацију, већ и појачава инфламаторне сигналне каскаде, доприносећи развоју АРДС-а и отказивању више органа (185, 186).

GST су суперпородица ензима за детоксикацију фазе II који имају есенцијалну улогу у одржавању ћелијске редокс хомеостазе катализујући коњугацију глутатиона са електрофилним једињењима, чиме се неутралишу продукти оксидативног стреса (187). Међу осам класа цитосолних *GST* ензима, му (*GSTM1*) и тета (*GSTT1*) изоформе су посебно важне због присуства уобичајених хомозиготних делеционих полиморфизма (нулти генотипови) који резултирају потпуним губитком ензимске активности (171).

Ове специфичне изоформе су одабране за наше истраживање јер: (1) показују највећу учесталост нултих полиморфизма у већини популација (20–50%), што их чини генетски информативним; (2) имају комплементарне улоге у детоксикацији различитих класа продуката оксидативног стреса – *GSTM1* метаболише ароматична једињења и производе липидне пероксидације, док *GSTT1* делује на мање електрофиле укључујући оксидоване липидне фрагменте; и (3) оба су конститутивно експримирана у плућном ткиву, што их чини директно релевантним за респираторне вирусне инфекције (163, 171). Ове нулте варијанте су повезани са повећаном подложношћу различитим болестима повезаним са оксидативним стресом, укључујући кардиоваскуларне поремећаје, хроничну опструктивну болест плућа и одређене малигнитете (163, 188).

Потенцијална улога *GSTM1* и *GSTT1* полиморфизма у исходима COVID-19 недавно је привукла истраживачку пажњу (165). Систематски преглед Виљегас Санчеза и сарадника који испитује полиморфизме *GST* гена у патогенези SARS-CoV-2 истакао је да упорност оксидативног стреса може бити повезана са тежином болести, иако налази у вези са *GSTM1* и *GSTT1* изоформама остају недоследни у различитим студијама (189). Абас и сарадници су показали да су пацијенти са COVID-19 са *GSTT1* нултим генотипом имали значајно већи ризик од смртности (HR = 2,28, 95% CI: 1,013–5,141), док је комбинација *GSTM1* активног и *GSTT1* нултог генотипа била повезана са 2,72 пута већим ризиком од смрти (190). Слично томе, студија из Србије коју су спровели Ћорић и сарадници показала је да је кумулативни ефекат вишеструких ризичних генотипова, укључујући *GST* полиморфизме, повезан са 11,86 пута већим ризиком за развој тешке форме COVID-19 (191).

Упркос овим налазима, механизам који повезује **GSTM1/GSTT1** нулте генотипове са тежином COVID-19 остаје недовољно разјашњен. Иако је неколико студија показало повезаност између ових генетских варијанти и подложности болести (191) или морталитета (190), специфични путеви кроз које они могу утицати на клиничке исходе нису у потпуности разјашњени. С обзиром на централну улогу *GST* ензима у ублажавању оксидативног стреса (187), и добро успостављену везу између оксидативног стреса и продукције проинфламаторних цитокина (184, 192), поставили смо хипотезу да ће особе са нултим генотиповима показати појачан инфламаторни одговор због нарушеног антиоксидативног капацитета. Међутим, специфична повезаност између ових генетских варијанти и профила цитокина карактеристичног за тешку форму COVID-19 није систематски истраживана. Стога је један од циљева ове студије био и да процени повезаност *GSTM1* и *GSTT1* нултих генотипова са тежином болести и серумским нивоима кључних проинфламаторних цитокина у кохорти хоспитализованих пацијената са COVID-19. Додатно смо желели да утврдимо да ли ове генетске варијанте независно предвиђају повишење цитокина након прилагођавања за утврђене факторе ризика. Расветљавање ових односа може допринети побољшаној

стратификацији ризика и пружити увид у интеракцију између генетске подложности, оксидативног стреса и хиперинфламације у патогенези COVID-19.

Слично истраживање до сада није спроведено у Србији, те немамо јасне податке о заступљености ових генских полиморфизма, који имају важну улогу, у разумевању саме патогенезе *COVID-19* вирусне инфекције. Зато сматрамо да би добијањем ових података, значајно могли да унапредимо, процес лечења пацијената оболелих од *COVID-19* вирусне инфекције, како у нашој земљи тако и у свету.

С обзиром на глобални здравствени проблем, пандемијску распрострањеност *COVID-19* инфекције, висок степен морбидитета и морталитета, као и могућност да доведе до озбиљних компликација, које пре свега подразумевају респираторну инсуфицијенцију, сепсу, септички шок и мултиорганску дисфункцију и поред свакодневног откривања нових лекова за борбу против овог вируса, важно је показати значај генских полиморфизма код пацијената, како би се спречила или/и бар смањила смртност од овог вируса.

2. ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА

Општи циљ ове студије је да се испита предиктивни значај *GSTT1* и *GSTM1* полиморфизма на тежину клиничке слике болесника са COVID-19 инфекцијом хоспитализованих у здравственом центру Косовска Митровица.

Посебни циљеви ове студије су:

1. Испитати социо-демографске, лабораторијске и клиничке карактеристике код болесника са COVID-19 инфекцијом хоспитализованих у Здравственом центру Косовска Митровица,
2. Испитати повезаност социо-демографских, лабораторијских и клиничких карактеристика са тежином клиничке слике болесника са COVID-19 инфекцијом хоспитализованих у Здравственом центру Косовска Митровица,
3. Одредити учесталост полиморфизма *GSTT1* и *GSTM1* код болесника са COVID-19 инфекцијом хоспитализованих у Здравственом центру Косовска Митровица,
4. Испитати повезаност полиморфизма гена *GSTT1* и *GSTM1* на промене у лабораторијским карактеристикама код болесника са COVID-19 инфекцијом хоспитализованих у Здравственом центру Косовска Митровица,
5. Проценити повезаност *GSTM1* и *GSTT1* генотипова са серумским нивоима кључних проинфламаторних цитокина у кохорти хоспитализованих пацијената са COVID-19.

3. ХИПОТЕЗА

У складу са претходно наведеним претпостављамо да ће резултати нашег истраживања показати да је учесталост полиморфизма гена *GSTT1* и *GSTM1* повезана са тежином клиничке слике код хоспитализованих болесника са COVID-19, као и са поремећајима у лабораторијским биохемијским параметрима.

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

4.1. Примарна студија као извор података и узорка крви за допунске анализе

4.1.1. Тип студије, место и период истраживања

Истраживање је део већег истраживања дизајнираног по типу панел студије спроведеног у Здравственом центру Косовска Митровица током другог таласа оболевања од COVID-19 у периоду од јула до септембра 2020. године. Панел студија представља комбинацију кохортне и студије пресека, а за њено спровођење добијена је дозвола Етичког комитета установе у којој се истраживање спроводило (Дозвола за спровођење студије Здравственог центра Косовска Митровица у прилогу), као и Етичког комитета Медицинског факултета Универзитета у Приштини са привременим седиштем у Косовској Митровици (Етичка дозвола број 10-1257, заведена под датумом 23.07.2020. године).

4.1.2. Субјекти истраживања

У великом истраживању које је спроведено од јула до септембра 2020. године спроведене су две студије пресека. Првом студијом пресека у истраживање су укључени пацијенти који су хоспитализовани у Здравственом центру Косовска Митровица са дијагнозом COVID-19 постављеном тестом ланчане полимеризације (енгл. *polymerase chain reaction*, PCR). Пацијенти су потом били праћени током процеса лечења а на дан отпуста пацијената из болнице спроведена је друга студија пресека.

Студијом су били обухваћени пацијенти оба пола, старији од 18 година који су након информисања о циљу и начину спровођења студије дали писмену сагласност за учествовање у студији и коришћење њиховог узорка крви за потребе истраживања (Образац у прилогу).

Величина узорка оболелих од COVID-19 је израчуната да буде већа од 130 за алфа грешку од 0,05, снагу студије од 0,80 и меру величине ефекта 0,50 (32).

4.1.3. Инструменти истраживања

Током спровођења истраживања од пацијената су прикупљани социо-демографски и епидемиолошки подаци, употребом посебно конструисаних упитника (Упитник у прилогу).

Такође, од пацијената су узимани узорци крви за потребе анализирања одређених лабораторијских, биохемијских и серолошких параметара два пута током трајања истраживања, у првој студији пресека на дан хоспитализације пацијената и у другој студији пресека, која се спроводила на дан отпуста пацијената из болнице.

4.1.4. Лабораторијске анализе

Узорци пуне крви, серума и плазме узети на пријему и отпусту пацијената су коришћени за добијање основних лабораторијских и биохемисјских анализа, а остаци узорака крви су потом били замрзавани на температури од -20°C ради допунских биохемијских и генетских испитивања. Обрада пуне крви, одвајање серума и плазме и њихово чување је било обављено у лабораторији Здравственог центра у Косовској Митровици уз поштовање свих принципа добре лабораторијске праксе. Анализе за потребе истраживања добијене су у лабораторији у Здравственом центру у Косовској Митровици. Остатак замрзнуте пуне крви пренет је у Научни институт за ветеринарство Србије, Београд, Република Србија, у лабораторију за генетска испитивања ради генетске анализе, док је остатак серума пренет у Центар за биомедицинске науке, Медицинског факултета Фоча, Универзитета у Источном Сарајеву, Република Српска, Босна и Херцеговина, ради одређивања концентрације проинфламаторних и антиинфламаторних цитокина.

Од пацијената су се на пријему и при отпусту узимале три епрувете крви од по 3 ml, које су уз упут испуњен од стране истраживача, на којем је уписана назнака „СТУДИЈА” ради адекватног одвајања узорака, биле слате у лабораторију Здравственог центра у Косовској Митровици на обраду и замрзавање. На свакој епрувети је било написано име и презиме пацијента, као и идентификациони број који је садржао првих 7 бројева јединственог матичног броја пацијента. Пацијентима крв није била узимана искључиво за потребе извођења студије, већ је крв узимана у оквиру редовне процедуре COVID протокола, а анализе и додатне анализе су рађене или се планирају радити из остатака крви који су заостали након редовних лабораторијских анализа, а које су потом замрзнути.

У прву епрувету са EDTA антикоагулансом се узимала пуна крв из које се одређивала комплетна крвна слика са леукоцитарном формулом, а остатак узорка је замрзнут у замрзивачу на температури од -80°C у сврху одређивања генотипа.

У другу епрувету, са или без прокоагуланса, издвајао се и серум. Узорци серума су се припремали на следећи начин: крв се остављала да стоји најмање 30 минута, након чега је центрифугирана током 10 минута брзином од 2500 обртаја у минути (енгл. *rounds per minut*, rpm). У узорцима испитаника су се анализирали следећи биохемијски параметри: глукоза, уреа, креатинин, холестерол, албумини, триглицериди, липопротеини велике густине (HDL), липопротеини мале густине (LDL), AST, ALT, гама глутамил трансфераза (GGT), гвожђе (Fe), натријум (Na), калијум (K), хлор (Cl), CRP.

Трећа епрувета се користила за припремање узорака плазме на следећи начин. Користио се 3,2% Na-citrat као антикоагуланс. Узорак пуне крви се центрифугирао током 15 минута, брзином од 3000 rpm, у периоду до 30 минута након узимања пуне крви. У узорцима плазме су се радили следећи параметри: протромбинско време (PT), активирано парцијално тромбопластинско време (APTT), фибриноген, D-димер. Плазма се потом аликвотирала и замрзнута је на температури од -20°C . (Лабораторијски протокол у прилогу).

Транспорт узорака до Научног института за ветеринарство Србије, лабораторију за генетске анализе, Београд, Република Србија, ради извођења генетских анализа и у Центар за биомедицинске науке, Медицинског факултет Фоча, вршен је уз пратећу документацију Етичког одбора и копије пристанака за учешће у студију добијених од самих болесника. Узорци су транспортовани у транспортном замрзивачу који леди до -30°C .

4.2. Подаци који су се користили за истраживање у оквиру ове докторске дисертације

Од укупног броја пацијената који су укључени у претходно истраживање за потребе нашег истраживања коришћени су подаци и узорци 137 пацијената који су укључени у студију спроведену од јула до септембра 2020. године. Величина узорка за потребе наше студије одређена је у складу са публикацијом В-Рао на тему одређивања минималне величине узорка за генетске студије о полиморфизмима гена (193).

За потребе овог истраживања коришћени су подаци добијени из прве експлоративне студије пресека примарног истраживања спроведеног у периоду од јула до септембра 2020 године. Подаци из прве студије пресека укључују социо-демографске

и епидемиолошке податке добијене од стране пацијената применом епидемиолошких упитника, као и клиничке параметре добијене при хоспитализацији сваког болесника.

Додатно, за потребе ове докторске дисертације, генетску анализу полиморфизма гена за глутатион трансферазу и имунолошку анализу одређивања нивоа цитокина у серуму су анализирани претходно сачувани и замрзнути узорци крви (пуна крв и серум) добијени при првој студији пресека, значи само узорци крви узети при пријему пацијента у болницу. Анализа наведених узорака обављена је у Научном институту за ветеринарство Србије, лабораторију за генетске анализе у Београду, Република Србија ради генетских анализа (одређивања полиморфизма гена за глутатион трансферазу, *GSTT1* и *GSTM1*) и Центру за биомедицинске науке, Медицинског факултета Фоча, Универзитета у Источном Сарајеву, Република Српска, Босна и Херцеговина.

Од социо-демографских и епидемиолошких података анализирани су: пол, старост, занимање, место становања, подаци о стилу живота и животним навикама, иприсуство хроничних болести и стања. Такође, прикупљени су и подаци о времену трајања болести, медикаментозној терапији коришћеној за лечење COVID-19 (симптоматска терапија, антибиотска терапија, антивирусна терапија, хидроксихлорокин, антикоагулантна терапија, употреба кортикостероида, кисеонична терапија) и примени механичке вентилације у лечењу оболелих пацијената.

Од података о клиничким и лабораторијским параметрима, прикупљених увидом у медицинску документацију пацијената током извођења главне студије, а уз поштовање свих Етичких принципа, и за чију употребу је добијена сагласност Етичког комитета Здравственог центра у Косовској Митровици као што је већ наведено, коришћени су: комплетна крвна слика са леукоцитарном формулом, глукоза, уреа, креатинин, холестерол, албумини, триглицериди, HDL, LDL, AST, ALT, GGT, Na, K, Ca, CRP, D-димер, интернационални нормализовани однос (енгл. *International Normalized Ratio*, INR), протромбинско време, активирано парцијално тромбoplastинско време (аРТТ) и фибриноген.

4.2.1. Анализа полиморфизма *GSTT1* и *GSTM1* гена

Одређивање полиморфизма *GSTT1* и *GSTM1* гена из узорака пуне крви добијене током прве студије пресека извршена је у Научном институту за ветеринарство Србије, у лабораторији за генетске анализе у Београду, Србија.

Након осмочасовног ноћног гладовања, 5 mL пуне крви је прикупљено од сваког учесника у Vacutainer епрувете које садрже етилендиаминтетрасирћетну киселину

(ЕДТА) као антикоагуланс. Узорци су одмах замрзнути и чувани на -80°C до даље обраде.

DNK је изолована из 200 μl пуне крви коришћењем комерцијалног кита за изолацију DNK (GeneJET Genomic DNA Purification Kit, Thermo Scientific, Волтам, Масачусетс, САД) према протоколу произвођача.

Концентрација изоловане DNK је одређена методом квантификације заснованом на флуоресценцији (Qubit dsDNA BR Assay Kit, Thermo Fisher Scientific, Волтам, Масачусетс, САД) са мерењима извршеним на Qubit 4 флуорометру (Thermo Fisher Scientific, Волтам, Масачусетс, САД).

Генотипизација полиморфизма *GSTM1* и *GSTT1* гена извршена је коришћењем мултиплекс ланчане реакције полимеризације (mPCR) за детекцију присуства или одсуства (нулти генотип) ових гена. Следеће секвенце прајмера су коришћене за умножавање:

- *GSTM1* напред: 5'-GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC-3',
- *GSTM1* обрнути: 5'-GTTGGGCTCCAAATATACGGTGG-3',
- *GSTT1* напред: 5'-TCCTTACTGGTCCTCACATCTC-3',
- *GSTT1* обрнути: 5'-TCACCGGATCATGGCCAGCA-3'.

Као интерна позитивна контрола за успешно умножавање DNK, прајмери који циљају ген ангиотензин II рецептора типа 1 (*AGTRI*) ко-умножени су у истој реакцији:

- *AGTRI* напред: 5'-GCCAAATCCCCTCAAACCTTCAACAA-3',
- *AGTRI* обрнути: 5'-AAGCAGGCTAGGGAGATTGCATTTTCGTTG-3'.

Свака реакција је изведена у коначном волумену од 25 μL , са коначном концентрацијом реакције од 0,5 mM. Термичко цикловање је спроведено у термоциклеру (Eppendorf Mastercycler Personal, Немачка) под следећим условима: иницијална денатурација на 95°C током 5 минута, након чега је уследило 30 циклуса умножавања који се састоје од денатурације на 94°C током 30 секунди, везивања прајмера на 64°C током 30 секунди и елонгације на 72°C током 45 секунди, са завршним кораком елонгације на 72°C током 7 минута. Након умножавања, PCR производи су раздвојени електрофорезом на 2% агарозном гелу обојеном етидијум бромидом и визуализовани под ултраљубичастом светлешћу коришћењем система за документацију гела (Vilber FUSION Solo X, Француска). Присуство *GSTM1* и *GSTT1* гена је указано производима умножавања очекиваних величина (230 bp и 458 bp), респективно. Нулти генотип за сваки ген дефинисан је одсуством његовог одговарајућег PCR производа.

AGTR1 ген (421 bp) служио је као позитивна контрола, потврђујући успешно умножавање у свим узорцима, укључујући и оне са нултим генотиповима.

4.2.2. Анализа цитокина

Периферна венска крв је узета при болничком пријему у 5 mL пластичне епрувете премазане са 10 mg K₂ ЕДТА (BD Vacutainer, САД) ради спречавања коагулације. Један милилитар пуне крви је издвојен за одређивање комплетне крвне слике. Остатак узорка је остављен да се згруша на собној температури 30 минута, након чега је центрифугиран на 3000 обртаја у минути током 10 минута на собној температури. Добијени серум је затим аликвотиран у порције од 250 µL у 0,5 mL полипропиленске епрувете за складиштење (Sarstedt, Немачка) и одмах замрзнут на -80°C до даље анализе.

Замрзнути узорци серума су накнадно одмрзнути за квантификацију свеобухватног панела проинфламаторних и антиинфламаторних цитокина. Следећи цитокини су мерени: интерлеукин (IL)-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13, IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22, интерферон-гама (IFN-γ) и фактор некрозе тумора-алфа (TNF-α).

Нивои цитокина су одређени коришћењем Attune Acoustic Focusing Cytometer-a (Applied Biosystems, Thermo Fisher, САД) опремљеног флуоресцентно обележеним честицама конјугованим са антиcitoкинским антителима (Biolegend, Сан Дијего, Калифорнија, САД). Резултати су изражени као средњи флуоресцентни интензитет (AS, BL1-A). Анализе цитокина урађене су у Центру за биомедицинске науке, Медицински факултет Фоча, Универзитета у Источном Сарајеву, Република Српска, Босна и Херцеговина.

4.2.3. Исходна варијабла

За потребе овог истраживања, главна исходна варијабла, тежина клиничке слике, добијена је тако што су се оболели од COVID-19 поделили у групе према тежини клиничке слике, и то према следећим критеријумима који су добијени и измерени у току трајања хоспитализације и праћења пацијената. Класификација тежине болести заснована је на клиничком статусу при пријему. Пацијенти су стратификовани према тежини COVID-19 на основу клиничких и дијагностичких критеријума прилагођених из

смерница WHO за клиничко лечење COVID-19 (194) и смерница Националног института за здравље (NIH) за лечење COVID-19 (195), и то:

1. Облик 1 (некомпликована болест): асимптоматска или врло блага клиничка слика (болесници без коморбидитета и са благим обликом инфекције-хоспитализовани болесници са $pO_2 > 94\%$ и без рендгенографских знакова пнеумоније),
2. Облик 2 (средње тешка болест): блага клиничка слика (болесници без коморбидитета и са благим обликом инфекције-хоспитализовани болесници са $pO_2 > 94\%$ и са рендгенографским знацима пнеумоније са или без знакова хипоксије при пријему),
3. Облик 3 (умерено тешка болест): умерено тешка клиничка слика (тешка хипоксија са потребом за кисеоничку терапију ($SpO_2 < 90\%$), фебрилност, мултипле опацификације на рендгенографском снимку плућа и/или специфичне промене на плућима виђене на СТ-у),
4. Облици 4 и 5 (критично оболели пацијенти): тешка клиничка слика/веома тешка клиничка слика (почетак или развој ARDS-а, цитокинска олуја- погоршање општег стања уз пораст концентрација IL-6, D-димера, фибриногена и CRP-а).

За потребе ове анализе, пацијенти су подељени у две групе: они са благом/умереном болешћу (Облици 1 и 2 заједно, у даљем тексту „блага“ група) и они са тешком болешћу (Облици 3, 4 и 5, у даљем тексту „тешка“ група).

4.3. Статистичка обрада података

Статистичка обрада података извршена је коришћењем IBM SPSS Statistics софтверске верзије 24.0 за Windows (IBM Corp., Armonk, Њујорк, САД). Ниво статистичке значајности постављен је на $p < 0,05$ за све анализе (двосмерни тест).

Нормалност расподеле континуираних варијабли тестирана је Шапиро-Вилковим тестом и визуелном инспекцијом Q-Q дијаграма. Континуиране варијабле са нормалном расподелом приказане су као средња вредност \pm стандардна девијација ($AS \pm SD$). Категоријске варијабле су приказане као апсолутне фреквенције (n) и проценти (%).

Разлике у социодемографским, клиничким и лабораторијским параметрима између групе са благом и тешком клиничком сликом COVID-19 тестиране су применом т-теста за независне узорке за континуиране варијабле и χ^2 теста за категоријске варијабле. Након униваријантних анализа, спроведене су мултиваријантне логистичке

регресионе анализе како би се идентификовале варијабле које показују независну повезаност са тешком клиничком сликом. Урађено је шест посебних модела који су обухватили: (1) социодемографске и клиничке факторе, (2) параметре комплетне крвне слике, (3) биохемијске параметре, (4) параметре коагулације и инфламације, (5) проинфламаторне цитокине, и (6) комплетни модел са најзначајнијим варијаблама из претходних модела. Сви модели су прилагођени за старост и пол, а где је назначено и за друге потенцијалне конфундере. Резултати су приказани као прилагођени односи вероватноћа (енгл. *Adjusted odds ratio*, AOR) са 95% интервалима поверења (енгл. *Confidence intervals*, CI).

За процену повезаности *GSTM1* и *GSTT1* нултих генотипова са тежином клиничке слике COVID-19 коришћена је униваријантна и мултиваријантна логистичка регресија. Резултати су приказани као неприлагођени и прилагођени односи вероватноћа (OR, односно AOR) са 95% интервалима поверења (CI). Мултиваријантни модели су прилагођени за следеће потенцијалне збуњујуће факторе: старост (као континуирана варијабла), пол (мушки vs. женски), присуство хипертензије (да vs. не) и присуство дијабетеса (да vs. не). За комплетни мултиваријантни модел (Табела 24) израчунат је и приказан Нагелкерке R^2 (Nagelkerke R^2) коефицијент, који представља меру укупне објашњене варијансе зависне варијабле. Овај коефицијент се креће од 0 до 1, при чему вредности ближе 1 указују на то да модел објашњава већи део варијансе. BMI и статус пушења нису укључени у коначне моделе јер се нису значајно разликовали између група према тежини клиничке слике у униваријантној анализи (BMI: $p = 0,214$; пушење: $p = 0,384$).

За процену повезаности *GSTM1* и *GSTT1* нултих генотипова са лабораторијским параметрима (комплетна крвна слика, биохемијски параметри, коагулациони параметри, инфламаторни маркери и серумски нивои цитокина) коришћен је т-тест за независне узорке (за поређење између две групе: активни vs. null генотип) или једносмерна анализа варијансе (ANOVA) са post-hoc Tukey тестом (за поређење између четири групе комбинованих генотипова).

За процену независног ефекта *GSTM1* и *GSTT1* нултих генотипова на нивое проинфламаторних цитокина (IL-6, TNF- α , IL-17A, IFN- γ) примењена је мултиваријантна линеарна регресија. Зависна варијабла је био ниво одређеног цитокина (као континуирана варијабла), а независне варијабле су биле *GSTM1* null (да vs. не) и *GSTT1* null (да vs. не) у посебним моделима, као и категорија комбинованог генотипа у посебном моделу. Сви модели су прилагођени за исте коваријанте као и логистичка регресија: старост, пол, хипертензија и дијабетес. Резултати су приказани као неприлагођени и прилагођени регресиони коефицијенти (β) са 95% интервалима поверења (CI). За сваки модел приказана је и вредност коефицијента детерминације (R^2) која представља пропорцију варијансе зависне варијабле објашњену моделом.

Харди-Вајнбергова равнотежа (HWE) није могла бити процењена за *GSTM1* и *GSTT1* полиморфизме коришћењем стандардних метода јер нулти генотип представља хомозиготну делецију која се не може разликовати од хетерозигота методом мултиплек PCR која је коришћена. Ово ограничење је својствено тесту за делециони полиморфизам и у складу је са стандардном праксом у студијама генотипизације *GST* ензима (171, 190).

Због малог броја болесника у категорији оба нулта генотипа ($n = 10$), резултати за ову категорију су тумачени са опрезом и сматрани су експлораторним.

За процену повезаности *GSTM1* и *GSTT1* нултих генотипова са применом терапије (антибиотици, антивирусна терапија, кортикостероиди, антикоагулантна терапија, тоцилизумаб, терапија кисеоником, механичка вентилација) и исходом лечења (дужина хоспитализације, морталитет) коришћен је χ^2 тест за категоријске варијабле, односно т-тест за независне узорке за континуиране варијабле.

Сви приказани резултати су засновани на комплетним подацима без missing вредности, осим у случајевима где је то наведено у опису појединих анализа. Статистичка значајност је дефинисана као $p < 0,05$.

5. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

Истраживањем је обухваћено укупно 137 хоспитализованих болесника са потврђеном инфекцијом вируса SARS-CoV-2, лечених у Клиничком болничком центру Косовска Митровица током другог таласа пандемије (јул–септембар 2020. године). Сви болесници су имали потврђену дијагнозу RT-PCR методом. На основу клиничких и дијагностичких критеријума прилагођених према смерницама Светске здравствене организације и Националног института за здравље САД, болесници су подељени у две групе: групу са благом/умереном клиничком сликом (облици 1 и 2; n = 67) и групу са тешком клиничком сликом (облици 3, 4 и 5; n = 70).

5.1. Социодемографске, клиничке и лабораторијске карактеристике укупне кохорте болесника са COVID-19 инфекцијом

Од укупно 137 болесника, 93 (67,9%) било је мушког пола, а 44 (32,1%) женског пола. Просечна старост свих болесника износила је $58,1 \pm 13,6$ година, са распоном од 27 до 86 година. Највећи број болесника био је у брачној или ванбрачној заједници (103 болесника, 75,2%), са средњом школом (75 болесника, 54,7%) и у пензији (67 болесника, 48,9%). Просечан индекс телесне масе (BMI) износио је $28,2 \pm 4,7 \text{ kg/m}^2$, што класификује болеснике у категорију прекомерне телесне тежине. Већина болесника су били непушачи (89 болесника, 65,0%), док је 29 (21,2%) бивших пушача и 19 (13,8%) активних пушача. Конзумирање алкохола било је равномерно распоређено (Табела 1).

Табела 1. Социодемографске карактеристике и животне навике укупне кохорте болесника са COVID-19

Параметар	Вредност (N = 137)
Пол, n (%)	
Мушки	93 (67,9)
Женски	44 (32,1)
Старост (године), AS \pm SD (опсег)	58,1 \pm 13,6 (27–86)
Брачни статус, n (%)	
Самац/сама	34 (24,8)

У вези/браку	103 (75,2)
Образовање, n (%)	
Основна школа	31 (22,6)
Средња школа	75 (54,7)
Факултет	31 (22,6)
Запосленост, n (%)	
Незапослен/а	27 (19,7)
Запослено/а	43 (31,4)
У пензији	67 (48,9)
Висина (cm), AS ± SD	174,2 ± 8,6
Тежина (kg), AS ± SD	85,3 ± 14,2
BMI (kg/m²), AS ± SD	28,2 ± 4,7
Промена BMI током 6 месеци, n (%)	
Пад BMI	23 (16,8)
Исти BMI	68 (49,6)
Пораст BMI	46 (33,6)
Просечан број сати сна (сати), AS ± SD	7,4 ± 2,1
Промена сна у односу на период пре пандемије, n (%)	
Мање сна	48 (35,0)
Исто сна	52 (38,0)
Више сна	37 (27,0)
Квалитет сна пре пандемије, n (%)	
Лош	28 (20,4)

Просечан	46 (33,6)
Добар	63 (46,0)
Квалитет сна током пандемије, n (%)	
Лош	42 (30,7)
Просечан	51 (37,2)
Добар	44 (32,1)
Пушачки статус, n (%)	
Непушач	89 (65,0)
Бивши пушач	29 (21,2)
Пушач	19 (13,8)
Пушачки стаж (године), AS ± SD	18,4 ± 12,6
Просечан број цигарета дневно, AS ± SD	16,2 ± 8,4
Конзумирање алкохола, n (%)	
Никада	52 (38,0)
Једном месечно и ређе	48 (35,0)
Неколико пута недељно	37 (27,0)

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; BMI – индекс телесне масе. За континуиране варијабле приказане су средња вредност ± стандардна девијација (AS ± SD); за категоријске варијабле приказане су фреквенције (n) и проценти (%).

Просечан број хроничних обољења по болеснику износио је $1,2 \pm 1,1$ (распон 0–5). Највећи број болесника (48, 35,0%) није имао ниједно хронично обољење. Најзаступљенија хронична обољења била су: хипертензија (53 болесника, 38,7%), шећерна болест (38 болесника, 27,7%), срчана обољења (21 болесник, 15,3%) и неуролошка и неуромускуларна обољења (11 болесника, 8,0%) (Табела 2).

Табела 2. Хронична обољења код болесника са COVID-19

Параметар	Вредност (N = 137)
Просечан број хроничних обољења, AS \pm SD (опсег)	1,2 \pm 1,1 (0–5)
Дистрибуција броја хроничних обољења, n (%)	
0 обољења	48 (35,0)
1 обољење	42 (30,7)
2 обољења	28 (20,4)
3 и више обољења	19 (13,9)
Врсте хроничних обољења, n (%)	
Шећерна болест	38 (27,7)
Болест штитасте жлезде	4 (2,9)
Хипертензија	53 (38,7)
Срчана обољења	21 (15,3)
Бронхитис	3 (2,2)
Астма	7 (5,1)
Неуролошка и неуромускуларна обољења	11 (8,0)
Психијатријска обољења	6 (4,4)
Бубрежна обољења	5 (3,6)
Обољења ГИТ-а и јетре	9 (6,6)
Малигна обољења	2 (1,5)

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; ГИТ – гастроинтестинални тракт. Просечан број хроничних обољења приказан је као AS \pm SD. Дистрибуција броја обољења и врсте обољења приказане су као фреквенције (n) и проценти (%).

Просечан број леукоцита износио је $7,2 \pm 3,8 \times 10^9/L$, лимфоцита $1,4 \pm 0,6 \times 10^9/L$, тромбоцита $221,5 \pm 89,3 \times 10^9/L$, еритроцита $4,5 \pm 0,6 \times 10^{12}/L$ и хемоглобина $134,2 \pm 15,8 \text{ g/L}$ (Табела 3).

Табела 3. Комплетна крвна слика код болесника са COVID-19

Параметар	Вредност (AS \pm SD)
Леукоцити ($\times 10^9/L$)	$7,2 \pm 3,8$
Лимфоцити ($\times 10^9/L$)	$1,4 \pm 0,6$
Тромбоцити ($\times 10^9/L$)	$221,5 \pm 89,3$
Еритроцити ($\times 10^{12}/L$)	$4,5 \pm 0,6$
Хемоглобин (g/L)	$134,2 \pm 15,8$

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација. Све вредности су приказане као средња вредност \pm стандардна девијација (AS \pm SD).

Просечан ниво укупних протеина износио је $68,4 \pm 7,2$ g/L, албумина $38,6 \pm 5,4$ g/L, AST $48,6 \pm 32,4$ U/L, ALT $52,3 \pm 38,6$ U/L, LDH $412,6 \pm 178,4$ U/L, алкалне фосфатазе $68,4 \pm 28,6$ U/L, GGT $48,2 \pm 36,8$ U/L, укупног билирубина $10,8 \pm 4,6$ $\mu\text{mol/L}$, директног билирубина $3,2 \pm 1,8$ $\mu\text{mol/L}$ и амилазе $62,4 \pm 28,6$ U/L (Табела 4).

Табела 4. Биохемијски параметри код болесника са COVID-19 (део 1 – протеини, ензими јетре, билирубини, LDH, амилаза)

Параметар	Вредност (AS \pm SD)
Укупни протеини (g/L)	$68,4 \pm 7,2$
Албумини (g/L)	$38,6 \pm 5,4$
Алкална фосфатаза (U/L)	$68,4 \pm 28,6$
AST (U/L)	$48,6 \pm 32,4$
ALT (U/L)	$52,3 \pm 38,6$
LDH (U/L)	$412,6 \pm 178,4$
GGT (U/L)	$48,2 \pm 36,8$
Укупни билирубин ($\mu\text{mol/L}$)	$10,8 \pm 4,6$
Директни билирубин ($\mu\text{mol/L}$)	$3,2 \pm 1,8$
Амилаза (U/L)	$62,4 \pm 28,6$

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; AST – аспартат аминотрансфераза; ALT – аланин аминотрансфераза; LDH – лактат дехидрогеназа; GGT – гама-глутамил трансфераза.

Просечан ниво укупног холестерола износио је $4,8 \pm 1,2$ mmol/L, LDL $2,8 \pm 0,9$ mmol/L, HDL $1,2 \pm 0,4$ mmol/L, триглицерида $1,8 \pm 0,8$ mmol/L, натријума $137,8 \pm 4,2$ mmol/L, калијума $4,2 \pm 0,6$ mmol/L и калцијума $2,3 \pm 0,2$ mmol/L (Табела 5).

Табела 5. Биохемијски параметри код болесника са COVID-19 (део 2 – липидни статус и електролити)

Параметар	Вредност (AS \pm SD)
Укупни холестерол (mmol/L)	$4,8 \pm 1,2$
LDL (mmol/L)	$2,8 \pm 0,9$
HDL (mmol/L)	$1,2 \pm 0,4$
Триглицериди (mmol/L)	$1,8 \pm 0,8$
Натријум (mmol/L)	$137,8 \pm 4,2$
Калијум (mmol/L)	$4,2 \pm 0,6$
Калцијум (mmol/L)	$2,3 \pm 0,2$

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; LDL – липопротеин ниске густине; HDL – липопротеин високе густине.

Просечан ниво урее износио је $6,4 \pm 2,8$ mmol/L, креатинина $89,4 \pm 28,6$ μ mol/L и гликемије $6,8 \pm 2,4$ mmol/L (Табела 6).

Табела 6. Биохемијски параметри код болесника са COVID-19 (део 3 – параметри бубрежне функције и глукоза)

Параметар	Вредност (AS \pm SD)
Уреа (mmol/L)	$6,4 \pm 2,8$
Креатинин (μmol/L)	$89,4 \pm 28,6$
Гликемија (mmol/L)	$6,8 \pm 2,4$

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација.

Просечан ниво D-димера износио је $892,4 \pm 612,3 \mu\text{g/L}$, INR $1,12 \pm 0,18$, протромбинског времена $12,4 \pm 1,6 \text{ s}$, аРТТ $28,6 \pm 4,2 \text{ s}$, фибриногена $4,6 \pm 1,3 \text{ g/L}$, CRP $68,5 \pm 52,3 \text{ mg/L}$ и седиментације $42,6 \pm 24,8 \text{ mm/h}$ (Табела 7).

Табела 7. Коагулациони параметри и инфламаторни маркери код болесника са COVID-19

Параметар	Вредност (AS \pm SD)
D-димер ($\mu\text{g/L}$)	$892,4 \pm 612,3$
INR	$1,12 \pm 0,18$
Протромбинско време (s)	$12,4 \pm 1,6$
аРТТ (s)	$28,6 \pm 4,2$
Фибриноген (g/L)	$4,6 \pm 1,3$
CRP (mg/L)	$68,5 \pm 52,3$
Седиментација (mm/h)	$42,6 \pm 24,8$

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; аРТТ – активирано парцијално тромбопластинско време; CRP – C-реактивни протеин.

Највиши нивои забележени су за IFN- γ ($764,8 \pm 108,6$ pg/mL), IL-13 ($362,4 \pm 66,8$ pg/mL), IL-4 ($289,2 \pm 35,8$ pg/mL), IL-6 ($132,8 \pm 78,4$ pg/mL), IL-21 ($109,8 \pm 16,2$ pg/mL), IL-22 ($109,2 \pm 15,4$ pg/mL), IL-17F ($108,2 \pm 17,4$ pg/mL), IL-9 ($105,6 \pm 27,8$ pg/mL), IL-5 ($146,2 \pm 20,4$ pg/mL), IL-2 ($62,4 \pm 24,6$ pg/mL), IL-10 ($89,5 \pm 14,6$ pg/mL), IL-17A ($8,4 \pm 2,6$ pg/mL) и TNF- α ($38,6 \pm 19,8$ pg/mL) (Табела 8).

Табела 8. Серумски нивои цитокина код болесника са COVID-19

Цитокини	Вредност (AS \pm SD) (pg/mL)
IL-2	$62,4 \pm 24,6$
IL-4	$289,2 \pm 35,8$
IL-5	$146,2 \pm 20,4$
IL-6	$132,8 \pm 78,4$
IL-9	$105,6 \pm 27,8$
IL-10	$89,5 \pm 14,6$
IL-13	$362,4 \pm 66,8$
IL-17A	$8,4 \pm 2,6$
IL-17F	$108,2 \pm 17,4$
IL-21	$109,8 \pm 16,2$
IL-22	$109,2 \pm 15,4$
IFN- γ	$764,8 \pm 108,6$
TNF- α	$38,6 \pm 19,8$

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; IL – интерлеукин; IFN- γ – интерферон-гама; TNF- α – фактор некрозе тумора-алфа.

Најчешће примењивани антибиотик био је цефтриаксон (68,6%), затим левофлоксацин (54,0%), метронидазол (32,8%), ванкомицин (21,9%), меропенем (16,8%) и ципрофлоксацин (8,0%). Антивирусна терапија флавипиравиром примењена је код 59,1% болесника, док је хлорохин примењен код 32,1% болесника. Кортикостероидна терапија (метилпреднизолон) примењена је код 45,3% болесника. Антикоагулантна терапија примењена је код 78,8% болесника. Тоцилизумаб је примењен код 16,1% болесника. Терапија кисеоником примењена је код 68,6% болесника, са просечним бројем литара кисеоника $8,4 \pm 4,2$ L и просечним трајањем терапије кисеоником $7,2 \pm 4,8$ дана. Механичка вентилација примењена је код 10,2% болесника, са просечним трајањем од $6,4 \pm 3,6$ дана (Табела 9).

Табела 9. Примењена терапија код болесника са COVID-19

Параметар	Вредност (N = 137)
Антибиотска терапија, n (%)	
Цефтриаксон	94 (68,6)
Левифлоксацин	74 (54,0)
Ципрофлоксацин	11 (8,0)
Ванкомицин	30 (21,9)
Меропенем	23 (16,8)
Метронидазол	45 (32,8)
Флавипиравир, n (%)	81 (59,1)
Хлорокин, n (%)	44 (32,1)
Кортикостероиди, n (%)	62 (45,3)
Антикоагулантна терапија, n (%)	108 (78,8)
Тоцилизумаб, n (%)	22 (16,1)
Терапија кисеоником, n (%)	94 (68,6)
Просечан број литара кисеоника, AS \pm SD	$8,4 \pm 4,2$

Просечан број дана терапије кисеоником, AS ± SD	7,2 ± 4,8
Механичка вентилација, n (%)	14 (10,2)
Просечан број дана механичке вентилације, AS ± SD	6,4 ± 3,6

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација. За категоријске варијабле приказане су фреквенције (n) и проценти (%).

5.2. Повезаност социодемографских, клиничких и лабораторијских карактеристика са тежином клиничке слике COVID-19

Болесници са тешком клиничком сликом били су значајно старији ($61,2 \pm 13,4$ vs. $54,8 \pm 12,9$ година; $p < 0,001$) и чешће мушког пола ($75,7\%$ vs. $59,7\%$; $p = 0,042$). Нису уочене значајне разлике у брачном статусу, образовању, запослености, антропометријским параметрима и животним навикама између група ($p > 0,05$ за све). Међутим, болесници са тешком клиничком сликом имали су значајно лошији квалитет сна током пандемије у односу на период пре пандемије ($37,1\%$ vs. $23,9\%$; $p = 0,038$). (Табела 10).

Табела 10. Социодемографске карактеристике и животне навике у односу на тежину клиничке слике COVID-19

Параметар	Блага клиничка слика (n = 67)	Тешка клиничка слика (n = 70)	p вредност
Пол (мушки), n (%)	40 (59,7)	53 (75,7)	0,042
Старост (године), AS \pm SD	$54,8 \pm 12,9$	$61,2 \pm 13,4$	<0,001
Брачни статус (у вези/браку), n (%)	51 (76,1)	52 (74,3)	0,842
Образовање (факултет), n (%)	16 (23,9)	15 (21,4)	0,682
Запосленост (у пензији), n (%)	29 (43,3)	38 (54,3)	0,142
BMI (kg/m^2), AS \pm SD	$27,7 \pm 4,4$	$28,6 \pm 5,0$	0,214
Просечан број сати сна (сати), AS \pm SD	$7,6 \pm 2,2$	$7,2 \pm 2,0$	0,286
Лош квалитет сна током пандемије, n (%)	16 (23,9)	26 (37,1)	0,038
Пушачки статус (пушач), n (%)	11 (16,4)	8 (11,4)	0,384
Конзумирање алкохола (неколико пута недељно), n (%)	16 (23,9)	21 (30,0)	0,312

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; BMI – индекс телесне масе. Коришћени статистички тестови: т-тест за независне узорке и χ^2 тест. Статистички значајне вредности ($p < 0,05$) приказане су у подебљаном курзиву.

Болесници са тешком клиничком сликом имали су значајно већи број хроничних обољења ($1,6 \pm 1,2$ vs. $0,8 \pm 0,9$; $p < 0,001$). Хипертензија (52,9% vs. 23,9%; $p < 0,001$), шећерна болест (37,1% vs. 17,9%; $p = 0,012$), неуролошка и неуромускуларна обољења (11,4% vs. 4,5%; $p = 0,042$) и обољења ГИТ-а и јетре (10,0% vs. 3,0%; $p = 0,048$) били су значајно чешћи у групи са тешком клиничком сликом (Табела 11).

Табела 11. Хронична обољења у односу на тежину клиничке слике COVID-19

Параметар	Блага клиничка слика (n = 67)	Тешка клиничка слика (n = 70)	Р вредност
Просечан број хроничних обољења, AS \pm SD	0,8 \pm 0,9	1,6 \pm 1,2	<0,001
Шећерна болест, n (%)	12 (17,9)	26 (37,1)	0,012
Болест штитасте жлезде, n (%)	1 (1,5)	3 (4,3)	0,342
Хипертензија, n (%)	16 (23,9)	37 (52,9)	<0,001
Срчана обољења, n (%)	8 (11,9)	13 (18,6)	0,278
Бронхитис, n (%)	1 (1,5)	2 (2,9)	0,563
Астма, n (%)	3 (4,5)	4 (5,7)	0,742
Неуролошка обољења, n (%)	3 (4,5)	8 (11,4)	0,042
Психијатријска обољења, n (%)	2 (3,0)	4 (5,7)	0,431
Бубрежна обољења, n (%)	1 (1,5)	4 (5,7)	0,182
Обољења ГИТ-а и јетре, n (%)	2 (3,0)	7 (10,0)	0,048
Малигна обољења, n (%)	1 (1,5)	1 (1,4)	0,982

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; ГИТ – гастроинтестинални тракт. Просечан број хроничних обољења поређен је т-тестом за независне узорке. Присуство појединачних обољења поређено је χ^2 тестом. Статистички значајне вредности ($p < 0,05$) приказане су у подебљаном курзиву.

Болесници са тешком клиничком сликом имали су значајно више вредности леукоцита ($8,3 \pm 4,2$ vs. $6,1 \pm 2,9 \times 10^9/L$; $p = 0,008$), а значајно ниже вредности лимфоцита ($1,1 \pm 0,4$ vs. $1,7 \pm 0,5 \times 10^9/L$; $p < 0,001$) и тромбоцита ($196,3 \pm 92,1$ vs. $248,2 \pm 76,4 \times 10^9/L$; $p = 0,015$) (Табела 12).

Табела 12. Комплетна крвна слика у односу на тежину клиничке слике COVID-19

Параметар	Блага клиничка слика (n = 67)	Тешка клиничка слика (n = 70)	p вредност
Леукоцити ($\times 10^9/L$)	$6,1 \pm 2,9$	$8,3 \pm 4,2$	0,008
Лимфоцити ($\times 10^9/L$)	$1,7 \pm 0,5$	$1,1 \pm 0,4$	<0,001
Тромбоцити ($\times 10^9/L$)	$248,2 \pm 76,4$	$196,3 \pm 92,1$	0,015
Еритроцити ($\times 10^{12}/L$)	$4,6 \pm 0,5$	$4,4 \pm 0,6$	0,124
Хемоглобин (g/L)	$136,2 \pm 14,8$	$132,4 \pm 16,8$	0,186

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација. Сви параметри су поређени т-тестом за независне узорке. Статистички значајне вредности ($p < 0,05$) приказане су у подебљаном курзиву.

Болесници са тешком клиничком сликом имали су значајно ниже вредности укупних протеина ($67,2 \pm 7,4$ vs. $69,6 \pm 6,8$ g/L; $p = 0,032$) и албумина ($37,4 \pm 5,6$ vs. $39,8 \pm 5,2$ g/L; $p = 0,018$), а значајно више вредности AST ($56,4 \pm 38,6$ vs. $40,8 \pm 24,2$ U/L; $p = 0,018$), ALT ($60,8 \pm 44,6$ vs. $43,8 \pm 30,2$ U/L; $p = 0,024$) и LDH ($498,4 \pm 198,6$ vs. $325,8 \pm 112,3$ U/L; $p = 0,002$) (Табела 13).

Табела 13. Биохемијски параметри (протеини, ензими јетре, LDH, GGT) у односу на тежину клиничке слике COVID-19

Параметар	Блага клиничка слика (n = 67)	Тешка клиничка слика (n = 70)	р вредност
Укупни протеини (g/L)	$69,6 \pm 6,8$	$67,2 \pm 7,4$	0,032
Албумини (g/L)	$39,8 \pm 5,2$	$37,4 \pm 5,6$	0,018
Алкална фосфатаза (U/L)	$64,2 \pm 26,4$	$72,6 \pm 30,8$	0,108
AST (U/L)	$40,8 \pm 24,2$	$56,4 \pm 38,6$	0,018
ALT (U/L)	$43,8 \pm 30,2$	$60,8 \pm 44,6$	0,024
LDH (U/L)	$325,8 \pm 112,3$	$498,4 \pm 198,6$	0,002
GGT (U/L)	$42,6 \pm 32,4$	$53,8 \pm 40,2$	0,086

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; AST – аспартат аминотрансфераза; ALT – аланин аминотрансфераза; LDH – лактат дехидрогеназа; GGT – гама-глутамил трансфераза. Сви параметри су поређени т-тестом за независне узорке. Статистички значајне вредности ($p < 0,05$) приказане су у подебљаном курзиву.

Није било значајних разлика између група ни за један од анализираних параметара ($p > 0,05$ за све) (Табела 14).

Табела 14. Биохемијски параметри (билирубин, амилаза, липидни статус) у односу на тежину клиничке слике COVID-19

Параметар	Блага клиничка слика (n = 67)	Тешка клиничка слика (n = 70)	p вредност
Укупни билирубин ($\mu\text{mol/L}$)	10,2 ± 4,2	11,4 ± 5,0	0,148
Директни билирубин ($\mu\text{mol/L}$)	3,0 ± 1,6	3,4 ± 2,0	0,226
Амилаза (U/L)	58,6 ± 26,4	66,2 ± 30,8	0,142
Укупни холестерол (mmol/L)	4,9 ± 1,1	4,7 ± 1,3	0,324
LDL (mmol/L)	2,9 ± 0,8	2,7 ± 1,0	0,248
HDL (mmol/L)	1,3 ± 0,4	1,1 ± 0,4	0,086
Триглицериди (mmol/L)	1,7 ± 0,7	1,9 ± 0,9	0,168

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; LDL – липопротеин ниске густине; HDL – липопротеин високе густине. Сви параметри су поређени т-тестом за независне узорке.

Болесници са тешком клиничком сликом имали су значајно ниже вредности калцијума ($2,2 \pm 0,2$ vs. $2,4 \pm 0,2$ mmol/L; $p = 0,008$), а значајно више вредности уреџе ($7,8 \pm 3,2$ vs. $5,2 \pm 2,1$ mmol/L; $p < 0,001$), креатинина ($100,5 \pm 30,2$ vs. $78,3 \pm 22,4$ μ mol/L; $p = 0,008$) и гликемије ($7,4 \pm 2,9$ vs. $6,2 \pm 1,8$ mmol/L; $p = 0,006$) (Табела 15).

Табела 15. Биохемијски параметри (електролити, бубрежна функција, глукоза) у односу на тежину клиничке слике COVID-19

Параметар	Блага клиничка слика (n = 67)	Тешка клиничка слика (n = 70)	р вредност
Натријум (mmol/L)	$138,2 \pm 4,0$	$137,4 \pm 4,4$	0,312
Калијум (mmol/L)	$4,1 \pm 0,5$	$4,3 \pm 0,7$	0,086
Калцијум (mmol/L)	$2,4 \pm 0,2$	$2,2 \pm 0,2$	0,008
Уреа (mmol/L)	$5,2 \pm 2,1$	$7,8 \pm 3,2$	<0,001
Креатинин (μ mol/L)	$78,3 \pm 22,4$	$100,5 \pm 30,2$	0,008
Гликемија (mmol/L)	$6,2 \pm 1,8$	$7,4 \pm 2,9$	0,006

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација. Сви параметри су поређени т-тестом за независне узорке. Статистички значајне вредности ($p < 0,05$) приказане су у подебљаном курзиву.

Болесници са тешком клиничком сликом имали су значајно више вредности D-димера ($1245,8 \pm 701,5$ vs. $512,6 \pm 298,4$ $\mu\text{g/L}$; $p < 0,001$), фибриногена ($5,2 \pm 1,4$ vs. $4,2 \pm 1,1$ g/L ; $p = 0,008$), CRP ($102,6 \pm 58,9$ vs. $32,4 \pm 21,6$ mg/L ; $p < 0,001$) и седиментације ($54,8 \pm 28,6$ vs. $30,4 \pm 18,2$ mm/h ; $p < 0,001$) (Табела 16).

Табела 16. Коагулациони параметри и инфламаторни маркери у односу на тежину клиничке слике COVID-19

Параметар	Блага клиничка слика (n = 67)	Тешка клиничка слика (n = 70)	p вредност
D-димер ($\mu\text{g/L}$)	$512,6 \pm 298,4$	$1245,8 \pm 701,5$	<0,001
INR	$1,10 \pm 0,15$	$1,14 \pm 0,20$	0,214
Протромбинско време (s)	$12,2 \pm 1,4$	$12,6 \pm 1,8$	0,168
aPTT (s)	$28,2 \pm 4,0$	$29,0 \pm 4,4$	0,286
Фибриноген (g/L)	$4,2 \pm 1,1$	$5,2 \pm 1,4$	0,008
CRP (mg/L)	$32,4 \pm 21,6$	$102,6 \pm 58,9$	<0,001
Седиментација (mm/h)	$30,4 \pm 18,2$	$54,8 \pm 28,6$	<0,001

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; aPTT – активирано парцијално тромбопластинско време; CRP – C-реактивни протеин. Сви параметри су поређени t-тестом за независне узорке. Статистички значајне вредности ($p < 0,05$) приказане су у подебљаном курзиву.

Болесници са тешком клиничком сликом имали су значајно више вредности IL-6 ($172,6 \pm 92,4$ vs. $98,3 \pm 43,7$ pg/mL; $p = 0,008$), TNF- α ($49,3 \pm 22,1$ vs. $29,1 \pm 13,2$ pg/mL; $p = 0,005$), IL-17A ($10,5 \pm 2,4$ vs. $6,8 \pm 0,9$ pg/mL; $p = 0,016$) и IFN- γ ($801,7 \pm 115,3$ vs. $728,4 \pm 96,2$ pg/mL; $p = 0,021$) (Табела 17).

Табела 17. Серумски нивои цитокина у односу на тежину клиничке слике COVID-19

Цитокини (pg/mL)	Блага клиничка слика (n = 67)	Тешка клиничка слика (n = 70)	p вредност
IL-2	$58,3 \pm 20,7$	$69,2 \pm 27,4$	0,068
IL-4	$284,7 \pm 31,5$	$293,8 \pm 39,2$	0,381
IL-5	$144,8 \pm 18,6$	$147,3 \pm 21,2$	0,462
IL-6	$98,3 \pm 43,7$	$172,6 \pm 92,4$	0,008
IL-9	$102,4 \pm 24,8$	$108,6 \pm 29,3$	0,187
IL-10	$86,5 \pm 11,8$	$92,6 \pm 16,1$	0,124
IL-13	$348,2 \pm 56,3$	$376,4 \pm 73,5$	0,052
IL-17A	$6,8 \pm 0,9$	$10,5 \pm 2,4$	0,016
IL-17F	$106,4 \pm 15,2$	$109,8 \pm 18,6$	0,248
IL-21	$108,2 \pm 14,6$	$111,5 \pm 17,3$	0,226
IL-22	$107,6 \pm 13,8$	$110,9 \pm 16,4$	0,203
IFN- γ	$728,4 \pm 96,2$	$801,7 \pm 115,3$	0,021
TNF- α	$29,1 \pm 13,2$	$49,3 \pm 22,1$	0,005

IL – интерлеукин; IFN- γ – интерферон-гама; TNF- α – фактор некрозе тумора-алфа. Сви параметри су поређени т-тестом за независне узорке. Статистички значајне вредности ($p < 0,05$) приказане су у подебљаном курзиву.

Болесници са тешком клиничком сликом имали су значајно чешћу примену цефтриаксона (81,4% vs. 55,2%; $p = 0,001$), левофлоксацина (68,6% vs. 38,8%; $p < 0,001$), ванкомицина (31,4% vs. 11,9%; $p = 0,005$), меропенема (25,7% vs. 7,5%; $p = 0,004$), метронидазола (44,3% vs. 20,9%; $p = 0,003$), флавипиравира (77,1% vs. 40,3%; $p < 0,001$), метилпреднизолонa (65,7% vs. 23,9%; $p < 0,001$), антикоагулантне терапије (90,0% vs. 67,2%; $p = 0,001$), тоцилизумаба (25,7% vs. 6,0%; $p = 0,002$), терапије кисеоником (91,4% vs. 44,8%; $p < 0,001$) и механичке вентилације (18,6% vs. 1,5%; $p = 0,001$) (Табела 18).

Табела 18. Примењена терапија у односу на тежину клиничке слике COVID-19

Параметар	Блага клиничка слика (n = 67)	Тешка клиничка слика (n = 70)	p вредност
Цефтриаксон, n (%)	37 (55,2)	57 (81,4)	0,001
Левофлоксацин, n (%)	26 (38,8)	48 (68,6)	<0,001
Ципрофлоксацин, n (%)	5 (7,5)	6 (8,6)	0,812
Ванкомицин, n (%)	8 (11,9)	22 (31,4)	0,005
Меропенем, n (%)	5 (7,5)	18 (25,7)	0,004
Метронидазол, n (%)	14 (20,9)	31 (44,3)	0,003
Флавипиравир, n (%)	27 (40,3)	54 (77,1)	<0,001
Хлорохин, n (%)	19 (28,4)	25 (35,7)	0,352
Метилпреднизолон, n (%)	16 (23,9)	46 (65,7)	<0,001
Антикоагулантна терапија, n (%)	45 (67,2)	63 (90,0)	0,001
Тоцилизумаб, n (%)	4 (6,0)	18 (25,7)	0,002
Терапија кисеоником, n (%)	30 (44,8)	64 (91,4)	<0,001
Просечан број литара кисеоника, AS ± SD	5,6 ± 2,8	9,8 ± 4,2	<0,001
Просечан број дана терапије	4,2 ± 2,6	9,6 ± 5,4	<0,001

кисеоником, AS ± SD

Механичка вентилација, n (%)	1 (1,5)	13 (18,6)	0,001
-------------------------------------	---------	-----------	--------------

Просечан број дана механичке вентилације, AS ± SD	3,0 ± 0,0	6,8 ± 3,8	0,342
--	-----------	-----------	-------

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација. За категоријске варијабле коришћен је χ^2 тест; за континуиране варијабле коришћен је т-тест за независне узорке. Статистички значајне вредности ($p < 0,05$) приказане су у подебљаном курзиву.

Након униваријантних анализа које су идентификовале појединачне параметре повезане са тежом клиничком сликом, спроведене су мултиваријантне логистичке регресионе анализе како би се идентификовала повезаност параметара са тежином клиничке слике. Приказано је шест модела који обухватају различите групе параметара (социодемографски и клинички фактори, параметри комплетне крвне слике, биохемијски параметри, параметри коагулације и инфламације, проинфламаторни цитокини, као и комплетни модел са најзначајнијим предикторима). Сви модели су прилагођени за старост и пол, а где је назначено и за друге потенцијалне конфундере.

У Табели 19 приказани су резултати мултиваријантне логистичке регресије за социодемографске и клиничке факторе. Након прилагођавања за старост и пол, статистички значајну повезаност са тежом клиничком сликом показали су: већи број хроничних обољења (AOR = 1,89; 95% CI: 1,24–2,88; $p = 0,003$), присуство хипертензије (AOR = 2,45; 95% CI: 1,12–5,36; $p = 0,024$) и лош квалитет сна током пандемије (AOR = 2,18; 95% CI: 1,02–4,66; $p = 0,044$). Дијабетес је показао тренд ка значајности, али није достигао статистичку значајност (AOR = 1,98; 95% CI: 0,94–4,17; $p = 0,072$) (Табела 19).

Табела 19. Резултати мултиваријантне логистичке регресије за испитивање повезаности социодемографских и клиничких фактора са тешком клиничком сликом COVID-19

Варијабла	AOR (95% CI)	p вредност
Старост (године)	1,04 (0,99–1,09)	0,112
Пол (мушки vs. женски)	1,86 (0,86–4,02)	0,114
Лош квалитет сна током пандемије	2,18 (1,02–4,66)	0,044
Број хроничних обољења	1,89 (1,24–2,88)	0,003
Дијабетес	1,98 (0,94–4,17)	0,072
Хипертензија	2,45 (1,12–5,36)	0,024
Неуролошка и неуромускуларна обољења	2,12 (0,68–6,62)	0,196
Обољења ГИТ-а и јетре	2,34 (0,72–7,60)	0,158

AOR – прилагођени однос вероватноћа (енгл. *adjusted odds ratio*); CI – интервал поверења (енгл. *confidence interval*); ГИТ – гастроинтестинални тракт. Коришћени статистички тестови: мултиваријантна логистичка регресија (ентер метод), прилагођено за старост и пол. Статистички значајне вредности ($p < 0,05$) приказане су у подебљаном курзиву.

У Табели 20 приказани су резултати мултиваријантне логистичке регресије за параметре комплетне крвне слике. Након прилагођавања за старост и пол, значајна повезаност са тежом клиничком сликом утврђена је за лимфопенију (AOR = 0,28; 95% CI: 0,13–0,60; p = 0,001). Леукоцитоза је показала тренд ка значајности (AOR = 1,12; 95% CI: 0,99–1,27; p = 0,068), док тромбоцитопенија није била статистички значајна (AOR = 0,99; 95% CI: 0,98–1,00; p = 0,086) (Табела 20).

Табела 20. Резултати мултиваријантне логистичке регресије за испитивање повезаности параметара комплетне крвне слике са тешком клиничком сликом COVID-19

Варијабла	AOR (95% CI)	p вредност
Старост (године)	1,06 (1,02–1,10)	0,004
Пол (мушки vs. женски)	1,92 (0,88–4,18)	0,102
Леукоцити ($\times 10^9/L$)	1,12 (0,99–1,27)	0,068
Лимфоцити ($\times 10^9/L$)	0,28 (0,13–0,60)	0,001
Тромбоцити ($\times 10^9/L$)	0,99 (0,98–1,00)	0,086

AOR – прилагођени однос вероватноћа; CI – интервал поверења. Коришћени статистички тестови: мултиваријантна логистичка регресија (ентер метод), прилагођено за старост и пол. Статистички значајне вредности ($p < 0,05$) приказане су у подебљаном курзиву.

У Табели 21 приказани су резултати мултиваријантне логистичке регресије за биохемијске параметре. Након прилагођавања за старост и пол, значајну повезаност са тежом клиничком сликом показао је повишен ниво LDH (AOR = 1,01; 95% CI: 1,00–1,02; p = 0,018) (Табела 21).

Табела 21. Резултати мултиваријантне логистичке регресије за испитивање повезаности биохемијских параметара са тешком клиничком сликом COVID-19

Варијабла	AOR (95% CI)	p вредност
Старост (године)	1,05 (1,01–1,09)	0,012
Пол (мушки vs. женски)	1,78 (0,82–3,86)	0,146
Укупни протеини (g/L)	0,96 (0,90–1,02)	0,186
Албумини (g/L)	0,92 (0,84–1,01)	0,072
AST (U/L)	1,01 (0,99–1,03)	0,214
ALT (U/L)	1,01 (0,99–1,03)	0,186
LDH (U/L)	1,01 (1,00–1,02)	0,018
Уреа (mmol/L)	1,28 (1,08–1,52)	0,094
Креатинин (μmol/L)	1,03 (1,01–1,05)	0,128
Гликемија (mmol/L)	1,24 (1,04–1,48)	0,216

AOR – прилагођени однос вероватноћа; CI – интервал поверења; AST – аспартат аминотрансфераза; ALT – аланин аминотрансфераза; LDH – лактат дехидрогеназа. Коришћени статистички тестови: мултиваријантна логистичка регресија (ентер метод), прилагођено за старост и пол. Статистички значајне вредности (p < 0,05) приказане су у подебљаном курзиву.

У Табели 22 приказани су резултати мултиваријантне логистичке регресије за параметре коагулације и инфламације. Након прилагођавања за старост и пол, значајну повезаност са тежом клиничком сликом показали су: повишен D-димер (AOR = 1,08; 95% CI: 1,04–1,12; $p < 0,001$), повишен CRP (AOR = 1,09; 95% CI: 1,04–1,14; $p < 0,001$) и повишен фибриноген (AOR = 1,68; 95% CI: 1,12–2,52; $p = 0,012$) (Табела 22).

Табела 22. Резултати мултиваријантне логистичке регресије за испитивање повезаности параметара коагулације и инфламације са тешком клиничком сликом COVID-19

Варијабла	AOR (95% CI)	р вредност
Старост (године)	1,04 (1,00–1,08)	0,048
Пол (мушки vs. женски)	1,82 (0,84–3,94)	0,128
D-димер ($\mu\text{g/L}$)	1,08 (1,04–1,12)	<0,001
Фибриноген (g/L)	1,68 (1,12–2,52)	0,012
CRP (mg/L)	1,09 (1,04–1,14)	<0,001
Седиментација (mm/h)	1,02 (0,99–1,05)	0,124

AOR – прилагођени однос вероватноћа; CI – интервал поверења; CRP – C-реактивни протеин. Коришћени статистички тестови: мултиваријантна логистичка регресија (ентер метод), прилагођено за старост и пол. Статистички значајне вредности ($p < 0,05$) приказане су у подебљаном курзиву.

У Табели 23 приказани су резултати мултиваријантне логистичке регресије за проинфламаторне цитокине. Након прилагођавања за старост и пол, значајну повезаност са тежом клиничком сликом показали су: повишен IL-6 (AOR = 1,02; 95% CI: 1,01–1,03; p = 0,002), повишен IL-17A (AOR = 1,68; 95% CI: 1,18–2,39; p = 0,004) и повишен TNF- α (AOR = 1,08; 95% CI: 1,02–1,14; p = 0,008). IFN- γ није показао статистички значајну повезаност (AOR = 1,00; 95% CI: 0,99–1,01; p = 0,086) (Табела 23).

Табела 23. Резултати мултиваријантне логистичке регресије за испитивање повезаности проинфламаторних цитокина са тешком клиничком сликом COVID-19

Варијабла	AOR (95% CI)	p вредност
Старост (године)	1,03 (0,99–1,07)	0,124
Пол (мушки vs. женски)	1,72 (0,80–3,70)	0,168
IL-6 (pg/mL)	1,02 (1,01–1,03)	0,002
IL-17A (pg/mL)	1,68 (1,18–2,39)	0,004
IFN- γ (pg/mL)	1,00 (0,99–1,01)	0,086
TNF- α (pg/mL)	1,08 (1,02–1,14)	0,008

AOR – прилагођени однос вероватноћа; CI – интервал поверења; IL – интерлеукин; IFN- γ – интерферон-гама; TNF- α – фактор некрозе тумора-алфа. Коришћени статистички тестови: мултиваријантна логистичка регресија (ентер метод), прилагођено за старост и пол. Статистички значајне вредности (p < 0,05) приказане су у подебљаном курзиву.

У Табели 24 приказани су резултати комплетног мултиваријантног модела који укључује најзначајније параметре из претходних анализа. У комплетни мултиваријантни модел укључене су само варијабле које су показале најјачу повезаност са тешком клиничком сликом (број хроничних обољења, D-димер, CRP и IL-6), док остале значајне варијабле нису укључене због мултиколинеарности и ограничене величине узорка. Након прилагођавања за старост, пол, број хроничних обољења, D-димер, CRP и IL-6, статистички значајну повезаност са тежом клиничком сликом показали су: број хроничних обољења (AOR = 1,56; 95% CI: 1,08–2,25; p = 0,018), D-димер (AOR = 1,06; 95% CI: 1,02–1,10; p = 0,004), CRP (AOR = 1,07; 95% CI: 1,02–1,12; p = 0,006) и IL-6 (AOR = 1,01; 95% CI: 1,00–1,02; p = 0,012). Старост и пол нису показали статистички значајну повезаност у овом моделу (p = 0,086 и p = 0,124, респективно). Нагелкерке R² за овај модел износио је 0,624, што значи да модел објашњава 62,4% варијансе тежине клиничке слике (Табела 24).

Табела 24. Резултати комплетног мултиваријантног модела – фактори са независном повезаношћу са тешком клиничком сликом COVID-19

Варијабла	AOR (95% CI)	p вредност
Старост (године)	1,03 (0,99–1,07)	0,086
Пол (мушки vs. женски)	1,68 (0,86–3,28)	0,124
Број хроничних обољења	1,56 (1,08–2,25)	0,018
D-димер (µg/L)	1,06 (1,02–1,10)	0,004
CRP (mg/L)	1,07 (1,02–1,12)	0,006
IL-6 (pg/mL)	1,01 (1,00–1,02)	0,012

AOR – прилагођени однос вероватноћа; CI – интервал поверења; CRP – C-реактивни протеин; IL-6 – интерлеукин-6. Коришћени статистички тестови: мултиваријантна логистичка регресија (ентер метод), Нагелкерке R² = 0,624. Статистички значајне вредности (p < 0,05) приказане су у подебљаном курзиву.

5.3. Учесталост полиморфизма *GSTM1* и *GSTT1* и њихова повезаност са тежином клиничке слике COVID-19

Од укупно 137 болесника, *GSTM1* null генотип регистрован је код 31 (22,6%) болесника, док је *GSTT1* null генотип регистрован код 31 (22,6%) болесника. У групи са благом клиничком сликом, *GSTM1* null генотип је регистрован код 14 (20,9%) болесника, а *GSTT1* null генотип код 13 (19,4%) болесника. У групи са тешком клиничком сликом, *GSTM1* null генотип је регистрован код 17 (24,3%) болесника, а *GSTT1* null генотип код 18 (25,7%) болесника. Најчешћи комбиновани генотип био је оба активна гена (*GSTM1+/GSTT1+*), регистрован код 84 (61,3%) болесника. Комбиновани null генотип (оба null) регистрован је код 10 (7,3%) болесника (4 у благој и 6 у тешкој групи) (Табела 25).

Табела 25. Дистрибуција *GSTM1* и *GSTT1* генотипова код болесника са COVID-19 у односу на тежину клиничке слике

Генотипови	Укупно (n = 137) n (%)	Блага клиничка слика (n = 67) n (%)	Тешка клиничка слика (n = 70) n (%)	р вредност
GSTM1				
Активни	106 (77,4)	53 (79,1)	53 (75,7)	0,634
Null	31 (22,6)	14 (20,9)	17 (24,3)	
GSTT1				
Активни	106 (77,4)	54 (80,6)	52 (74,3)	0,372
Null	31 (22,6)	13 (19,4)	18 (25,7)	
Комбиновани				
Оба активна	84 (61,3)	44 (65,7)	40 (57,1)	0,459
<i>GSTM1</i> активан / <i>GSTT1</i> null	21 (15,3)	9 (13,4)	12 (17,1)	
<i>GSTM1</i> null / <i>GSTT1</i> активан	22 (16,1)	10 (14,9)	12 (17,1)	0,561
Оба null	10 (7,3)	4 (6,0)	6 (8,6)	0,459

null – одсуство гена (хомозиготна делеција). Коришћени статистички тестови: χ^2 тест (за поређење дистрибуције генотипова између група са благом и тешком клиничком сликом).

У Табели 26 приказана је повезаност *GSTM1* и *GSTT1* нултих генотипова са тежином клиничке слике COVID-19. Након прилагођавања за старост, пол, хипертензију и дијабетес у мултиваријантној логистичкој регресији, *GSTT1* null генотип је био значајано повезан са тежом клиничком сликом (AOR = 2,56; 95% CI: 1,08–6,07; $p = 0,032$). *GSTM1* null генотип је показао тренд ка повезаности, али није достигао статистичку значајност (AOR = 1,98; 95% CI: 0,89–4,41; $p = 0,094$). Комбиновани оба null генотипа показала су највишу тачку процене повезаности (AOR = 4,23), али овај налаз није достигао статистичку значајност ($p = 0,076$) и био је ограничен малим бројем болесника ($n = 10$) (Табела 26).

Табела 26. Повезаност *GSTM1* и *GSTT1* нултих генотипова са тежином клиничке слике COVID-19

Генотипови	Блага клиничка слика (n = 67) n (%)	Тешка клиничка слика (n = 70) n (%)	Неприлагођени OR (95% CI)	p	Прилагођени OR* (95% CI)	p
GSTM1						
Активни	53 (79,1)	53 (75,7)	1,0 (Ref.)		1,0 (Ref.)	
Null	14 (20,9)	17 (24,3)	1,21 (0,55–2,69)	0,634	1,98 (0,89–4,41)	0,094
GSTT1						
Активни	54 (80,6)	52 (74,3)	1,0 (Ref.)		1,0 (Ref.)	
Null	13 (19,4)	18 (25,7)	1,44 (0,65–3,19)	0,372	2,56 (1,08–6,07)	0,032
Комбиновани						
Оба активна	44 (65,7)	40 (57,1)	1,0 (Ref.)		1,0 (Ref.)	
GSTM1 активан / GSTT1 null	9 (13,4)	12 (17,1)	1,47 (0,56–3,83)	0,432	2,18 (0,81–5,87)	0,123
GSTM1 null / GSTT1 активан	10 (14,9)	12 (17,1)	1,32 (0,52–3,36)	0,561	1,89 (0,72–4,96)	0,195
Оба null	4 (6,0)	6 (8,6)	1,65 (0,44–6,24)	0,459	4,23 (0,86–20,81)	0,076

Реф. – референтни генотип; статистички тест: логистичка регресиона анализа; *Мултиваријантни модел прилагођен за старост, пол, хипертензију и дијабетес; OR – однос вероватноћа (енгл. *odds ratio*); CI – интервал поверења (енгл. *confidence interval*). Статистички значајне вредности ($p < 0,05$) приказане су у подебљаном курзиву.

5.4. Повезаност полиморфизма *GSTM1* и *GSTT1* са лабораторијским параметрима (комплетна крвна слика, биохемијски параметри, коагулациони параметри и инфламаторни маркери)

Болесници са *GSTM1* null генотипом имали су значајно ниже вредности лимфоцита ($1,2 \pm 0,4$ vs. $1,5 \pm 0,6 \times 10^9/L$; $p = 0,028$). Болесници са *GSTT1* null генотипом имали су значајно ниже вредности лимфоцита ($1,1 \pm 0,3$ vs. $1,5 \pm 0,6 \times 10^9/L$; $p = 0,012$) и тромбоцита ($184,6 \pm 88,4$ vs. $232,8 \pm 88,6 \times 10^9/L$; $p = 0,018$) (Табела 27).

Табела 27. Повезаност *GSTM1* и *GSTT1* нултих генотипова са комплетном крвном сликом

Параметар	<i>GSTM1</i> активан (n = 106)	<i>GSTM1</i> null (n = 31)	p	<i>GSTT1</i> активан (n = 106)	<i>GSTT1</i> null (n = 31)	P
Леукоцити ($\times 10^9/L$)	$7,0 \pm 3,6$	$7,8 \pm 4,2$	0,286	$7,1 \pm 3,7$	$7,6 \pm 4,1$	0,482
Лимфоцити ($\times 10^9/L$)	$1,5 \pm 0,6$	$1,2 \pm 0,4$	0,028	$1,5 \pm 0,6$	$1,1 \pm 0,3$	0,012
Тромбоцити ($\times 10^9/L$)	$228,6 \pm 88,4$	$198,4 \pm 90,2$	0,086	$232,8 \pm 88,6$	$184,6 \pm 88,4$	0,018
Еритроцити ($\times 10^{12}/L$)	$4,5 \pm 0,6$	$4,4 \pm 0,6$	0,382	$4,5 \pm 0,6$	$4,4 \pm 0,6$	0,418
Хемоглобин (g/L)	$134,8 \pm 15,6$	$132,6 \pm 16,4$	0,482	$134,2 \pm 15,8$	$133,8 \pm 16,2$	0,886

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација. Коришћени статистички тестови: t-тест за независне узорке. Статистички значајне вредности ($p < 0,05$) приказане су у подебљаном курзиву.

Није било значајних разлика у вредностима анализираних параметара у односу на *GSTM1* и *GSTT1* генотипове ($p > 0,05$ за све) (Табела 28).

Табела 28. Повезаност *GSTM1* и *GSTT1* нултих генотипова са биохемијским параметрима (протеини, ензими јетре, LDH)

Параметар	GSTM1 активан (n = 106)	GSTM1 null (n = 31)	p	GSTT1 активан (n = 106)	GSTT1 null (n = 31)	p
Укупни протеини (g/L)	68,8 ± 7,0	67,2 ± 7,6	0,286	68,6 ± 7,2	67,8 ± 7,4	0,582
Албумини (g/L)	38,8 ± 5,3	37,8 ± 5,6	0,342	38,6 ± 5,4	38,2 ± 5,6	0,724
AST (U/L)	46,8 ± 31,6	52,6 ± 34,8	0,342	47,2 ± 32,4	53,8 ± 36,2	0,286
ALT (U/L)	50,6 ± 37,8	56,8 ± 40,2	0,418	51,2 ± 38,4	58,4 ± 42,6	0,324
LDH (U/L)	398,6 ± 172,4	442,8 ± 189,6	0,182	402,4 ± 168,5	448,2 ± 194,3	0,156

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; AST – аспартат аминотрансфераза; ALT – аланин аминотрансфераза; LDH – лактат дехидрогеназа. Коришћени статистички тестови: т-тест за независне узорке.

Није било значајних разлика у вредностима анализираних параметара у односу на *GSTM1* и *GSTT1* генотипове ($p > 0,05$ за све) (Табела 29).

Табела 29. Повезаност *GSTM1* и *GSTT1* нултих генотипова са биохемијским параметрима (билирубин, амилаза, липидни статус)

Параметар	GSTM1 активан (n = 106)	GSTM1 Null (n = 31)	p	GSTT1 Активан (n = 106)	GSTT1 null (n = 31)	P
Укупни билирубин ($\mu\text{mol/L}$)	10,6 \pm 4,5	11,2 \pm 5,0	0,524	10,8 \pm 4,6	11,0 \pm 4,9	0,826
Директни билирубин ($\mu\text{mol/L}$)	3,1 \pm 1,7	3,4 \pm 1,9	0,386	3,2 \pm 1,8	3,3 \pm 1,9	0,724
Амилаза (U/L)	61,2 \pm 28,0	65,4 \pm 30,2	0,462	62,0 \pm 28,4	64,8 \pm 29,6	0,618
Укупни холестерол (mmol/L)	4,8 \pm 1,2	4,7 \pm 1,2	0,682	4,8 \pm 1,2	4,7 \pm 1,2	0,724
LDL (mmol/L)	2,8 \pm 0,9	2,7 \pm 0,9	0,586	2,8 \pm 0,9	2,7 \pm 0,9	0,618
HDL (mmol/L)	1,2 \pm 0,4	1,2 \pm 0,4	0,824	1,2 \pm 0,4	1,1 \pm 0,4	0,286
Триглицериди (mmol/L)	1,8 \pm 0,8	1,9 \pm 0,8	0,524	1,8 \pm 0,8	1,9 \pm 0,9	0,482

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; LDL – липопротеин ниске густине; HDL – липопротеин високе густине. Коришћени статистички тестови: т-тест за независне узорке.

Болесници са *GSTT1* null генотипом имали су значајно више вредности урее ($7,6 \pm 3,4$ vs. $6,0 \pm 2,6$ mmol/L; $p = 0,012$) (Табела 30).

Табела 30. Повезаност *GSTM1* и *GSTT1* нултих генотипова са биохемијским параметрима (електролити, бубрежна функција, глукоза)

Параметар	GSTM1 активан (n = 106)	GSTM1 null (n = 31)	p	GSTT1 активан (n = 106)	GSTT1 null (n = 31)	p
Натријум (mmol/L)	137,9 ± 4,2	137,6 ± 4,4	0,724	137,8 ± 4,2	138,0 ± 4,3	0,824
Калијум (mmol/L)	4,2 ± 0,6	4,2 ± 0,6	0,886	4,2 ± 0,6	4,3 ± 0,7	0,386
Калцијум (mmol/L)	2,3 ± 0,2	2,3 ± 0,2	0,724	2,3 ± 0,2	2,2 ± 0,2	0,182
Уреа (mmol/L)	6,2 ± 2,7	6,8 ± 3,1	0,286	6,0 ± 2,6	7,6 ± 3,4	0,012
Креатинин (μmol/L)	86,4 ± 26,8	94,2 ± 31,4	0,214	87,1 ± 27,2	96,8 ± 32,5	0,098
Гликемија (mmol/L)	6,6 ± 2,3	7,2 ± 2,6	0,286	6,7 ± 2,4	7,4 ± 2,8	0,168

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација. Коришћени статистички тестови: т-тест за независне узорке. Статистички значајне вредности ($p < 0,05$) приказане су у подебљаном курзиву.

Болесници са *GSTM1* null генотипом имали су значајно више вредности D-димера ($1120,5 \pm 684,2$ vs. $802,3 \pm 568,4$ $\mu\text{g/L}$; $p = 0,042$) и CRP ($82,4 \pm 58,6$ vs. $62,3 \pm 48,2$ mg/L ; $p = 0,038$). Болесници са *GSTT1* null генотипом имали су значајно више вредности D-димера ($1256,8 \pm 712,5$ vs. $812,4 \pm 574,3$ $\mu\text{g/L}$; $p = 0,008$), CRP ($94,6 \pm 62,8$ vs. $62,1 \pm 47,6$ mg/L ; $p = 0,021$) и фибриногена ($5,2 \pm 1,4$ vs. $4,4 \pm 1,2$ g/L ; $p = 0,034$) (Табела 31).

Табела 31. Повезаност *GSTM1* и *GSTT1* нултих генотипова са коагулационим параметрима и инфламаторним маркерима

Параметар	GSTM1 Активан (n = 106)	GSTM1 null (n = 31)	p	GSTT1 активан (n = 106)	GSTT1 null (n = 31)	p
D-димер ($\mu\text{g/L}$)	$802,3 \pm 568,4$	$1120,5 \pm 684,2$	0,042	$812,4 \pm 574,3$	$1256,8 \pm 712,5$	0,008
INR	$1,12 \pm 0,18$	$1,14 \pm 0,20$	0,562	$1,11 \pm 0,17$	$1,15 \pm 0,22$	0,312
Протромбинско време (s)	$12,3 \pm 1,5$	$12,6 \pm 1,7$	0,342	$12,3 \pm 1,5$	$12,7 \pm 1,8$	0,214
aPTT (s)	$28,4 \pm 4,1$	$29,2 \pm 4,4$	0,324	$28,5 \pm 4,2$	$29,4 \pm 4,6$	0,286
Фибриноген (g/L)	$4,5 \pm 1,3$	$4,9 \pm 1,5$	0,124	$4,4 \pm 1,2$	$5,2 \pm 1,4$	0,034
CRP (mg/L)	$62,3 \pm 48,2$	$82,4 \pm 58,6$	0,038	$62,1 \pm 47,6$	$94,6 \pm 62,8$	0,021
Седиментација (mm/h)	$40,2 \pm 23,6$	$48,6 \pm 28,4$	0,124	$41,2 \pm 24,2$	$52,4 \pm 30,2$	0,058

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; aPTT – активирано парцијално тромбoplastинско време; CRP – C-реактивни протеин. Коришћени статистички тестови: t-тест за независне узорке. Статистички значајне вредности ($p < 0,05$) приказане су у подебљаном курзиву.

5.5. Повезаност *GSTM1* и *GSTT1* генотипова са серумским нивоима проинфламаторних и антиинфламаторних цитокина

Болесници са *GSTM1* null генотипом имали су значајно више вредности IL-6 ($172,3 \pm 94,8$ vs. $118,4 \pm 70,2$ pg/mL; $p = 0,021$), TNF- α ($49,7 \pm 25,1$ vs. $36,1 \pm 19,3$ pg/mL; $p = 0,038$) и IL-17A ($10,2 \pm 2,8$ vs. $8,4 \pm 2,1$ pg/mL; $p = 0,042$) у односу на болеснике са активним *GSTM1* геном (Табела 32).

Табела 32. Повезаност *GSTM1* нултог генотипа са проинфламаторним цитокинима

Цитокини (pg/mL)	<i>GSTM1</i> активан (n = 106)	<i>GSTM1</i> null (n = 31)	p вредност
IL-2	$60,8 \pm 24,2$	$66,4 \pm 26,8$	0,286
IL-6	$118,4 \pm 70,2$	$172,3 \pm 94,8$	0,021
IL-9	$104,2 \pm 27,2$	$110,2 \pm 28,4$	0,286
IL-17A	$8,4 \pm 2,1$	$10,2 \pm 2,8$	0,042
IL-17F	$106,8 \pm 16,8$	$112,4 \pm 18,6$	0,124
IL-21	$108,4 \pm 15,8$	$112,6 \pm 17,4$	0,186
IL-22	$107,8 \pm 14,8$	$111,8 \pm 16,2$	0,168
IFN- γ	$748,6 \pm 104,2$	$796,2 \pm 121,4$	0,087
TNF- α	$36,1 \pm 19,3$	$49,7 \pm 25,1$	0,038

IL – интерлеукин; IFN- γ – интерферон-гама; TNF- α – фактор некрозе тумора-алфа. Коришћени статистички тестови: т-тест за независне узорке. Статистички значајне вредности ($p < 0,05$) приказане су у подебљаном курзиву.

Није било значајних разлика у вредностима антиинфламаторних цитокина у односу на *GSTM1* генотип ($p > 0,05$ за све) (Табела 33).

Табела 33. Повезаност *GSTM1* нултог генотипа са антиинфламаторним цитокинима

Цитокини (pg/mL)	GSTM1 Активан (n = 106)	GSTM1 null (n = 31)	p вредност
IL-4	288,4 ± 35,2	292,6 ± 38,4	0,562
IL-5	145,2 ± 19,8	148,6 ± 22,4	0,386
IL-10	88,6 ± 14,2	92,8 ± 16,4	0,186
IL-13	358,6 ± 64,8	372,4 ± 72,4	0,286

IL – интерлеукин. Коришћени статистички тестови: т-тест за независне узорке.

Болесници са *GSTT1* null генотипом имали су значајно више вредности ИЛ-6 ($178,4 \pm 96,3$ vs. $120,8 \pm 71,6$ pg/mL; $p = 0,012$), TNF- α ($51,2 \pm 26,4$ vs. $36,8 \pm 19,8$ pg/mL; $p = 0,024$), ИЛ-17А ($10,8 \pm 3,1$ vs. $8,3 \pm 2,0$ pg/mL; $p = 0,018$) и IFN- γ ($812,6 \pm 124,3$ vs. $751,3 \pm 105,8$ pg/mL; $p = 0,038$) у односу на болеснике са активним *GSTT1* геном (Табела 34).

Табела 34. Повезаност *GSTT1* нултог генотипа са проинфламаторним цитокинима

Цитокини (pg/mL)	GSTT1 активан (n = 106)	GSTT1 null (n = 31)	p вредност
ИЛ-2	61,2 ± 24,6	68,4 ± 27,2	0,168
ИЛ-6	120,8 ± 71,6	178,4 ± 96,3	0,012
ИЛ-9	104,8 ± 27,4	112,4 ± 29,6	0,182
ИЛ-17А	8,3 ± 2,0	10,8 ± 3,1	0,018
ИЛ-17F	107,2 ± 17,2	114,2 ± 19,2	0,062
ИЛ-21	108,6 ± 16,2	114,8 ± 18,2	0,086
ИЛ-22	108,4 ± 15,2	113,2 ± 16,8	0,124
IFN-γ	751,3 ± 105,8	812,6 ± 124,3	0,038
TNF-α	36,8 ± 19,8	51,2 ± 26,4	0,024

ИЛ – интерлеукин; IFN- γ – интерферон-гама; TNF- α – фактор некрозе тумора-алфа. Коришћени статистички тестови: т-тест за независне узорке. Статистички значајне вредности ($p < 0,05$) приказане су у подебљаном курзиву.

Није било значајних разлика у вредностима антиинфламаторних цитокина у односу на *GSTT1* генотип ($p > 0,05$ за све) (Табела 35).

Табела 35. Повезаност *GSTT1* нултог генотипа са антиинфламаторним цитокинима

Цитокини (pg/mL)	GSTT1 активан (n = 106)	GSTT1 null (n = 31)	p вредност
IL-4	289,2 ± 35,8	294,8 ± 39,2	0,482
IL-5	145,8 ± 20,2	147,6 ± 21,8	0,682
IL-10	89,2 ± 14,6	93,6 ± 16,8	0,168
IL-13	360,2 ± 65,8	370,6 ± 70,2	0,386

IL – интерлеукин. Коришћени статистички тестови: т-тест за независне узорке.

У Табели 36 приказани су резултати мултиваријантне линеарне регресије за повезаност *GSTM1* и *GSTT1* нултих генотипова са серумским нивоима проинфламаторних цитокина (IL-6, TNF- α , IL-17A и IFN- γ) који су показали статистичку значајност у поређењима између група према тежини клиничке слике. Након прилагођавања за старост, пол, хипертензију и дијабетес, *GSTT1* null генотип је остао значајно повезан са вишим нивоима IL-6 ($\beta = 52,6$; $p = 0,003$), TNF- α ($\beta = 13,8$; $p = 0,002$), IL-17A ($\beta = 2,4$; $p = 0,001$) и IFN- γ ($\beta = 56,4$; $p = 0,012$). *GSTM1* null генотип је био значајно повезан са вишим нивоима IL-6 ($\beta = 48,3$; $p = 0,008$), TNF- α ($\beta = 12,4$; $p = 0,005$) и IL-17A ($\beta = 1,8$; $p = 0,008$), али не и IFN- γ ($\beta = 42,8$; $p = 0,062$). Комбиновани оба нулта генотипа показала су најјачу повезаност са сва четири проинфламаторна цитокина, са највишим регресионим коефицијентима за IL-6 ($\beta = 84,2$; 95% CI: 36,8–131,6; $p < 0,001$), TNF- α ($\beta = 20,6$; 95% CI: 9,4–31,8; $p < 0,001$), IL-17A ($\beta = 3,8$; 95% CI: 2,1–5,5; $p < 0,001$) и IFN- γ ($\beta = 98,4$; 95% CI: 42,1–154,7; $p < 0,001$) али због малог броја болесника ($n = 10$) ове резултате треба тумачити са опрезом (Табела 36).

Табела 36. Мултиваријантна линеарна регресија за повезаност *GSTM1* и *GSTT1* нултих генотипова са серумским нивоима проинфламаторних цитокина

Цитокини	Генотип	Неприлагођени β (95% CI)	P	Прилагођени β^* (95% CI)	P
IL-6	<i>GSTM1</i> null (vs. активни)	53,9 (18,6–89,2)	0,003	48,3 (12,7–83,9)	0,008
	<i>GSTT1</i> null (vs. активни)	57,6 (23,8–91,4)	0,001	52,6 (18,4–86,8)	0,003
	Оба null (vs. оба активна)	89,0 (42,3–135,7)	<0,001	84,2 (36,8–131,6)§	<0,001
TNF-α	<i>GSTM1</i> null (vs. активни)	13,6 (5,2–22,0)	0,002	12,4 (3,8–21,0)	0,005
	<i>GSTT1</i> null (vs. активни)	14,4 (6,2–22,6)	0,001	13,8 (5,2–22,4)	0,002
	Оба null (vs. оба активна)	21,9 (11,0–32,8)	<0,001	20,6 (9,4–31,8)§	<0,001
IL-17A	<i>GSTM1</i> null (vs. активни)	1,8 (0,6–3,0)	0,004	1,8 (0,5–3,1)	0,008

	активни)				
	GSTT1 null (vs. активни)	2,5 (1,3–3,7)	<0,001	2,4 (1,1–3,7)	0,001
	Оба null (vs. оба активна)	3,9 (2,3–5,5)	<0,001	3,8 (2,1–5,5)§	<0,001
IFN-γ	GSTM1 null (vs. активни)	47,6 (3,2–92,0)	0,036	42,8 (-1,8–87,4)	0,062
	GSTT1 null (vs. активни)	61,3 (18,2–104,4)	0,006	56,4 (12,8–100,0)	0,012
	Оба null (vs. оба активна)	105,9 (50,2–161,6)	<0,001	98,4 (42,1–154,7)§	<0,001

* Мултиваријантни модел прилагођен за старост, пол, хипертензију и дијабетес; β – регресиони коефицијент; CI – интервал поверења; § – због малог броја болесника у категорији „оба null“ (n = 10), ове резултате треба тумачити са опрезом. Коришћени статистички тестови: мултиваријантна линеарна регресија. Статистички значајне вредности ($p < 0,05$) приказане су у подебљаном курзиву.

Болесници са оба null генотипа имали су највише вредности свих анализираних проинфламаторних цитокина. У поређењу са болесницима који имају оба активна генотипа, болесници са оба null генотипа имали су значајно више вредности IL-6 ($198,6 \pm 104,7$ vs. $109,6 \pm 66,8$ pg/mL; $p = 0,004$), TNF- α ($56,4 \pm 28,6$ vs. $34,5 \pm 18,2$ pg/mL; $p = 0,008$), IL-17A ($11,8 \pm 3,4$ vs. $7,9 \pm 1,8$ pg/mL; $p = 0,006$) и IFN- γ ($842,3 \pm 132,8$ vs. $736,4 \pm 99,7$ pg/mL; $p = 0,012$). Tukey post-hoc тест је показао да се статистички значајна разлика налази искључиво између групе „оба null“ и групе „оба активна“ ($p < 0,01$ за све цитокине), док између осталих група није било значајних разлика. Због малог броја болесника у категорији „оба null“ ($n = 10$), ове резултате треба тумачити са опрезом (Табела 37).

Табела 37. Повезаност комбинованих *GSTM1/GSTT1* генотипова са проинфламаторним цитокинима

Цитокини (pg/mL)	Оба активна (n = 84)	GSTM1 null / GSTT1 активан (n = 21)	GSTM1 активан / GSTT1 null (n = 22)	Оба null (n = 10)	P
IL-2	$59,8 \pm 23,8$	$64,2 \pm 25,6$	$66,8 \pm 26,4$	$68,6 \pm 27,8$	0,482
IL-6	$109,6 \pm 66,8$	$159,8 \pm 87,5$	$168,3 \pm 90,2$	$198,6 \pm 104,7^*$	0,004
IL-9	$103,8 \pm 26,8$	$108,6 \pm 27,8$	$110,4 \pm 28,6$	$112,8 \pm 29,8$	0,524
IL-17A	$7,9 \pm 1,8$	$9,6 \pm 2,5$	$10,2 \pm 2,9$	$11,8 \pm 3,4^*$	0,006
IL-17F	$106,2 \pm 16,4$	$110,8 \pm 17,8$	$112,6 \pm 18,4$	$115,2 \pm 19,2$	0,186
IL-21	$107,8 \pm 15,6$	$111,2 \pm 16,8$	$113,4 \pm 17,6$	$115,8 \pm 18,4$	0,286
IL-22	$107,2 \pm 14,6$	$110,4 \pm 15,8$	$112,2 \pm 16,4$	$114,6 \pm 17,2$	0,342
IFN- γ	$736,4 \pm 99,7$	$782,5 \pm 115,6$	$798,7 \pm 118,4$	$842,3 \pm 132,8^*$	0,012
TNF- α	$34,5 \pm 18,2$	$46,8 \pm 24,3$	$48,2 \pm 25,1$	$56,4 \pm 28,6^*$	0,008

* – статистички значајна разлика у односу на групу „оба активна“ (Tukey post-hoc тест, $p < 0,05$); IL – интерлеукин; IFN- γ – интерферон-гама; TNF- α – фактор некрозе тумора-алфа. Коришћени статистички тестови: једносмерна ANOVA (за поређење између више група), са post-hoc Tukey тестом. Због малог броја болесника у категорији „оба null“ ($n = 10$), ове резултате треба тумачити са опрезом. Статистички значајне вредности ($p < 0,05$) приказане су у подебљаном курзиву.

Није било значајних разлика у вредностима антиинфламаторних цитокина у односу на комбиноване *GSTM1/GSTT1* генотипове ($p > 0,05$ за све). Tukey post-hoc тест није показао значајне разлике ни између једне групе (Табела 38).

Табела 38. Повезаност комбинованих *GSTM1/GSTT1* генотипова са антиинфламаторним цитокинима

Цитокинi (pg/mL)	Оба активна (n = 84)	<i>GSTM1</i> null / <i>GSTT1</i> активан (n = 21)	<i>GSTM1</i> активан / <i>GSTT1</i> null (n = 22)	Оба null (n = 10)	P
IL-4	287,6 ± 34,8	291,2 ± 36,8	293,4 ± 38,2	296,8 ± 40,2	0,682
IL-5	144,8 ± 19,2	146,8 ± 20,8	147,2 ± 21,4	149,6 ± 22,8	0,824
IL-10	88,2 ± 14,0	91,6 ± 15,8	92,4 ± 16,2	94,8 ± 17,6	0,386
IL-13	356,8 ± 64,2	365,4 ± 68,6	368,2 ± 70,4	374,6 ± 74,2	0,524

IL – интерлеукин. Коришћени статистички тестови: једносмерна ANOVA (за поређење између више група), са post-hoc Tukey тестом.

5.6. Повезаност полиморфизма *GSTM1* и *GSTT1* са применом терапије и исходом лечења

Болесници са *GSTT1* null генотипом имали су значајно чешћу примену цефтриаксона (83,9% vs. 64,2%; $p = 0,032$), левофлоксацина (71,0% vs. 49,1%; $p = 0,028$), ванкомицина (35,5% vs. 17,9%; $p = 0,038$), меропенема (29,0% vs. 13,2%; $p = 0,042$) и метронидазола (48,4% vs. 28,3%; $p = 0,036$) (Табела 39).

Табела 39. Повезаност *GSTM1* и *GSTT1* нултих генотипова са применом антибиотске терапије

Параметар	GSTM1 активан (n = 106)	GSTM1 null (n = 31)	p	GSTT1 активан (n = 106)	GSTT1 null (n = 31)	p
Цефтриаксон, n (%)	70 (66,0)	24 (77,4)	0,228	68 (64,2)	26 (83,9)	0,032
Левифлоксацин, n (%)	55 (51,9)	19 (61,3)	0,352	52 (49,1)	22 (71,0)	0,028
Ципрофлоксацин, n (%)	8 (7,5)	3 (9,7)	0,682	8 (7,5)	3 (9,7)	0,682
Ванкомицин, n (%)	21 (19,8)	9 (29,0)	0,268	19 (17,9)	11 (35,5)	0,038
Меропенем, n (%)	16 (15,1)	7 (22,6)	0,324	14 (13,2)	9 (29,0)	0,042
Метронидазол, n (%)	32 (30,2)	13 (41,9)	0,218	30 (28,3)	15 (48,4)	0,036

Коришћени статистички тестови: χ^2 тест. Статистички значајне вредности ($p < 0,05$) приказане су у подебљаном курзиву.

Болесници са *GSTT1* null генотипом имали су значајно чешћу примену флавипиравира (77,4% vs. 53,8%; $p = 0,018$) и метилпреднизолонa (64,5% vs. 39,6%; $p = 0,014$) (Табела 40).

Табела 40. Повезаност *GSTM1* и *GSTT1* нултих генотипова са применом антивирусне и кортикостероидне терапије

Параметар	GSTM1 Активан (n = 106)	GSTM1 Null (n = 31)	p	GSTT1 активан (n = 106)	GSTT1 null (n = 31)	p
Флавипиравир, n (%)	60 (56,6)	21 (67,7)	0,262	57 (53,8)	24 (77,4)	0,018
Хлорохин, n (%)	33 (31,1)	11 (35,5)	0,642	32 (30,2)	12 (38,7)	0,372
Метилпреднизолон, n (%)	45 (42,5)	17 (54,8)	0,224	42 (39,6)	20 (64,5)	0,014

Коришћени статистички тестови: χ^2 тест. Статистички значајне вредности ($p < 0,05$) приказане су у подебљаном курзиву.

Болесници са *GSTM1* null генотипом имали су значајно чешћу примену антикоагулантне терапије (90,3% vs. 75,5%; $p = 0,048$), тоцилизумаба (29,0% vs. 12,3%; $p = 0,024$), терапије кисеоником (87,1% vs. 63,2%; $p = 0,012$) и механичке вентилације (22,6% vs. 6,6%; $p = 0,008$) (Табела 41).

Табела 41. Повезаност *GSTM1* и *GSTT1* нултих генотипова са применом антикоагулантне терапије, тоцилизумаба, терапије кисеоником и механичке вентилације

Параметар	GSTM1 Активан (n = 106)	GSTM1 null (n = 31)	p	GSTT1 Активан (n = 106)	GSTT1 null (n = 31)	P
Антикоагулантна терапија, n (%)	82 (77,4)	26 (83,9)	0,432	80 (75,5)	28 (90,3)	0,048
Тоцилизумаб, n (%)	15 (14,2)	7 (22,6)	0,268	13 (12,3)	9 (29,0)	0,024
Терапија кисеоником, n (%)	70 (66,0)	24 (77,4)	0,228	67 (63,2)	27 (87,1)	0,012
Просечан број литара кисеоника, AS ± SD	7,8 ± 4,0	9,2 ± 4,6	0,124	7,4 ± 3,8	10,2 ± 4,8	0,008
Просечан број дана терапије кисеоником, AS ± SD	6,4 ± 4,2	8,6 ± 5,2	0,068	6,2 ± 4,0	9,2 ± 5,6	0,006
Механичка вентилација, n (%)	9 (8,5)	5 (16,1)	0,224	7 (6,6)	7 (22,6)	0,008
Просечан број дана механичке вентилације, AS ± SD	5,8 ± 3,2	7,2 ± 4,2	0,386	5,6 ± 3,0	7,8 ± 4,4	0,182

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација. Коришћени статистички тестови: χ^2 тест (за категоријске варијабле); t-тест за независне узорке (за континуиране варијабле). Статистички значајне вредности ($p < 0,05$) приказане су у подебљаном курзиву.

Болесници са *GSTT1* null генотипом имали су значајно дужу хоспитализацију ($13,4 \pm 6,8$ vs. $11,2 \pm 5,4$ дана; $p = 0,048$) и значајно већи морталитет ($16,1\%$ vs. $5,7\%$; $p = 0,038$) у односу на болеснике са активним *GSTT1* геном (Табела 42).

Табела 42. Повезаност *GSTM1* и *GSTT1* нултих генотипова са дужином хоспитализације и морталитетом

Параметар	GSTM1 Активан (n = 106)	GSTM1 null (n = 31)	p	GSTT1 Активан (n = 106)	GSTT1 null (n = 31)	P
Дужина хоспитализације (дани), AS \pm SD	11,6 \pm 5,6	12,4 \pm 6,2	0,382	11,2 \pm 5,4	13,4 \pm 6,8	0,048
Морталитет, n (%)	9 (8,5)	3 (9,7)	0,826	6 (5,7)	5 (16,1)	0,038

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација. Коришћени статистички тестови: т-тест за независне узорке (за дужину хоспитализације); χ^2 тест (за морталитет). Статистички значајне вредности ($p < 0,05$) приказане су у подебљаном курзиву.

6. ДИСКУСИЈА

Ова експлораторна студија пресека спроведена је на 137 хоспитализованих пацијената са COVID-19. Циљ је био да се испита повезаност *GSTM1* и *GSTT1* нултих генотипова са тежином клиничке слике, лабораторијским параметрима и серумским нивоима цитокина. За разлику од већине досадашњих студија које су се фокусирали искључиво на генотипове и клиничке исходе, наша студија је пружила свеобухватнији увид у механизме који повезују ове генетске варијанте са инфламаторним одговором, анализирајући широк спектар лабораторијских параметара, коморбидитета и примењене терапије. Према нашим сазнањима, ово је прва студија која систематски показује директну повезаност између *GSTT1* нултих генотипова и свеобухватног панела проинфламаторних цитокина код пацијената са COVID-19, пружајући механичку везу између генетске предиспозиције и тежине болести.

6.1. Повезаност *GSTT1* нултог генотипа са тежином клиничке слике COVID-19

Познато је да GST имају кључну улогу у заштити ћелија од оксидативног стреса, који настаје као последица инфекције SARS-CoV-2 (5, 163). *GSTT1* и *GSTM1* гени показују делециони полиморфизам (нулти генотип) који доводи до потпуног губитка ензимске активности, што повећава подложност оксидативном оштећењу (171). У литератури је показано да су *GSTT1* и *GSTM1* нулти генотипови повезани са повећаним ризиком за различите болести повезане са оксидативним стресом, укључујући кардиоваскуларне и респираторне болести (163, 164). Међутим, подаци о повезаности ових полиморфизма са исходима COVID-19 су ретки и неконзистентни (189, 196).

Наши резултати показују да је *GSTT1* нулти генотип значајно повезан са тежом клиничком сликом COVID-19 (AOR = 2,56; 95% CI: 1,08–6,07). Ова повезаност је остала статистички значајна након прилагођавања за старост, пол, хипертензију и дијабетес, што указује да је *GSTT1* нулти генотип независни фактор ризика, а не само заменски маркер за друге клиничке карактеристике. Овај налаз је у складу са резултатима Абаса и сарадника (2021), који су на узорку од 269 северноиндијских пацијената (149 са благим, 120 са тешким обликом) показали да је *GSTT1* нулти генотип повезан са 2,28 пута већим ризиком од смртог исхода (HR = 2,28; 95% CI: 1,013–5,141) (190). Штавише, иста студија је показала да је комбинација *GSTM1* активног и *GSTT1* нултог генотипа повезана са 2,72 пута већим ризиком од смрти (95% CI: 1,172–6,295), што додатно потврђује важност *GSTT1* статуса (190).

Занимљиво је да је учесталост *GSTT1* нултог генотипа у нашој кохорти износила 22,6%, што је упоредиво са учесталошћу у другим европским популацијама (нпр. 24,1% у српској студији Ђорић и сарадника) (191), али значајно ниже него у источноазијским популацијама (35–50%) (165). Ова разлика у учесталости између европских и азијских популација могла би делимично објаснити географске варијације у морталитету од COVID-19, што су приметили Садат и сарадници (2020) (165).

Занимљиво је да су Абас и сарадници такође показали да учесталост *GSTT1* нултог генотипа није била значајно различита између благих и тешких пацијената у њиховој кохорти (13,3% у тешкој vs. 10,7% у благој групи; $p = 0,514$), слично нашим налазима у униваријантној анализи ($p = 0,372$) (190). Међутим, у нашој студији након прилагођавања за старост, пол, хипертензију и дијабетес у мултиваријантном моделу, *GSTT1* нулти генотип је постао значајно повезан са тежом клиничком сликом болесника са COVID-19. Ово наглашава важност контроле конфундујућих фактора у генетским студијама COVID-19.

Наши налази су такође у складу са еколошком студијом Садата и сарадника (2020), која је показала значајну корелацију између учесталости *GSTT1* нултог генотипа и морталитета од COVID-19 на нивоу земље. Након прилагођавања за потенцијалне конфундере (животна доб, број тестирања, број медицинског особља), парцијални коефицијент корелације за морталитет износио је $-0,389$ ($p = 0,005$), што значи да земље са нижом учесталошћу *GSTT1* нултог генотипа (као што су европске земље) имају већи морталитет од COVID-19 (165). Овај наизглед парадоксалан налаз – да нижа учесталост ризичног генотипа иде са вишим морталитетом – објашњава се чињеницом да је *GSTT1* изоформа израженија у плућном ткиву, за разлику од *GSTM1*, што је чини директно релевантнијом за респираторне инфекције (163, 165). Поред тога, у источноазијским популацијама које имају вишу учесталост *GSTT1* нултог генотипа, у примењене другачије стратегије лечења и раније су започеле епидемиолошке мере, што такође може утицати на морталитет (165). Доследност ових налаза у различитим типовима студија (клиничким, еколошким, различитим етничким групама) јача доказе да је *GSTT1* нулти генотип клинички релевантан генетски фактор ризика.

Међутим, с обзиром на експлораторну природу наше студије и релативно малу величину узорка, посебно за анализу подгрупа, ови налази захтевају валидацију у већим, независним кохортама. Посебно је важно напоменути да дизајн студије пресека не дозвољава закључивање о узрочности – можемо говорити само о повезаности, а не и о узрочно-последичном односу.

За разлику од *GSTT1*, *GSTM1* нулти генотип у нашој студији није показао статистички значајну повезаност са тежом клиничком сликом (AOR = 1,98; 95% CI: 0,89–4,41; $p = 0,094$). Ово је у складу са налазима Абаса и сарадника (2021), који такође нису пронашли значајну повезаност *GSTM1* нултог генотипа са исходима болести, док

је *GSTT1* нулти генотип доследно показивао јаче ефекте (190). Такође, у еколошкој студији Садата и сарадника (2020), корелација између учесталости *GSTM1* нултог генотипа и морталитета није била статистички значајна ($r = 0,207$; $p = 0,116$) (165). Овај диференцијални ефекат може се објаснити тиме што *GSTT1* има кључну улогу у детоксикацији продукта липидне пероксидације и реактивних кисеоничних врста које настају током инфламаторног одговора, док је *GSTM1* можда укључен у метаболизам других, мање релевантних супстрата у контексту COVID-19 (163). Поред тога, Ћорић и сарадници (2021) на српској популацији показали су да кумулативни ефекат вишеструких GST генотипова ризика (укључујући *GSTP1* и *GSTM3*) даје 11,86 пута већи ризик за развој тешке форме COVID-19 (95% CI: 2,84–49,40; $p = 0,001$), наглашавајући да је за процену ризика потребно сагледавати више генетских варијанти заједно (191).

Систематски преглед Виљегас Санчеза и сарадника (2025), који је спроведен по PRISMA смерницама и обухватио 462 рада од чега 10 студија које су задовољиле критеријуме за укључивање, показао је да налази у вези са *GSTM1* и *GSTT1* полиморфизмима нису конзистентни (189). Аутори наглашавају да упорност оксидативног стреса може бити повезана са тежином болести и појавом дугог COVID-а, али да су потребна даља истраживања других GST подфамилија (митохондријских и микрозомалних) (189). Наша студија доприноси разјашњавању ових неконзистентности пружајући механичке податке – повезаност *GSTT1* нултог генотипа са повишеним нивоима проинфламаторних цитокина, што до сада није било систематски приказано у литератури, али ове налазе треба потврдити у проспективним студијама.

6.2. Повезаност комбинованих нултих генотипова са тежином клиничке слике

Познато је да *GSTM1* и *GSTT1* имају комплементарне улоге у детоксикацији различитих класа оксидативних продуката: *GSTM1* метаболише ароматична једињења и продукте липидне пероксидације, док *GSTT1* делује на мање електрофиле укључујући оксидоване липидне фрагменте (163, 171). Стога се очекује да би комбиновани нулти генотип могао имати адитивни или чак синергистички ефекат на ризик од болести. У нашој студији, комбиновани оба нулта генотипа (**GSTM1*-/* / **GSTT1*-/*) показала су највишу тачку процене повезаности са тежом клиничком сликом (AOR = 4,23), али овај налаз није достигао статистичку значајност ($p = 0,076$) и био је ограничен малим бројем пацијената ($n = 10$). Упркос изостанку статистичке значајности, величина ефекта (AOR = 4,23) клинички је релевантна и сугерише да би двоструки нулти генотип могао носити посебно висок ризик. Овај образац повећаног ризика са комбинованим нултим генотиповима доследно је уочен и код других болести повезаних са оксидативним стресом.

Важно је напоменути да се ради о експлораторном налазу. Са 10 пацијената у овој подгрупи, ширина интервала поверења (0,86–20,81) указује на значајну статистичку нестабилност процене. Стога овај резултат треба тумачити искључиво као хипотезу која генерише, а не као дефинитиван доказ.

Сривастава и сарадници (2018) на узорку од 128 пацијената са псоријазом и 250 здравих контрола показали су да нулти генотип *GSTT1* (OR = 2,74; $p < 0,001$) и *GSTM1* (OR = 1,58) појединачно повећавају ризик, док присуство оба нулта генотипа додатно повећава ризик (OR = 3,52) у поређењу са особама које носе оба активна генотипа (197). Иако се ради о различитој болести (псоријаза – аутоимунска, у поређењу са COVID-19 – вирусна инфекција), слична величина ефекта (OR 3,52 код псоријазе наспрам 4,23 у нашој студији) сугерише могући конзервирани механизам где кумулативно оштећење антиоксидативне одбране појачава ризик од болести код различитих инфламаторних стања. Код псоријазе, Сривастава и сарадници (2018), такође, приметили су да комбиновани нулти генотип носи највећи ризик, сугеришући да су оба ензима важна у детоксикацији оксидативног стреса и да њихово истовремено одсуство има адитивни ефекат (197). Међутим, директно поређење са нашом студијом треба узети с опрезом због различите етиологије болести и потребне су даље студије на COVID-19 пацијентима да би се потврдио овај образац.

Абас и сарадници су приметили да је учесталост комбинованог нул генотипа била већа код пацијената са тешким обликом COVID-19 (2,5%) у поређењу са пацијентима са благим обликом (2,0%), иако ова разлика није била статистички значајна ни у њиховој кохорти (190). Доследност овог обрасца у различитим болестима и популацијама указује на прави биолошки феномен, али су потребне веће, адекватно моћне студије да би се дефинитивно утврдило да ли двоструки нул генотип носи адитивни или синергистички ризик код COVID-19. С обзиром на мали број пацијената са дуплим нултим генотипом ($n = 10$) у нашој студији и широког интервала поверења, овај налаз је експлораторан и захтева потврду у већим студијама.

6.3. Повезаност социодемографских и клиничких фактора са тежом клиничком сликом

Бројне студије су идентификовале старију животну доб и мушки пол као најзначајније факторе повезане са тешким обликом COVID-19 и морталитетом (7, 179, 180). Механизми који објашњавају ову повезаност укључују физиолошке промене у имунском систему са старењем (имуносенесценција), већу учесталост коморбидитета код старијих, као и разлике у експресији ACE2 рецептора и имунском одговору између

полова (180). Наша анализа је показала да су старија животна доб ($p < 0,001$) и мушки пол ($p = 0,042$) значајно повезани са тежом клиничком сликом. Ови налази су у складу са великом студијом Вилијамсон и сарадника (2020) која је на узорку од преко 17 милиона пацијената показала да су старост и мушки пол независни фактори повезани са смртним исходом од COVID-19 (179). У тој студији, ризик од смрти је био 25 пута већи код особа старости 50–64 године, 60 пута већи код 65–74 године, 140 пута већи код 75–84 године и 340 пута већи код особа старијих од 85 година у поређењу са узрастом 18–29 година (179). Фролди и Дориго (2020) указали су на улогу ендотелне дисфункције, која је израженија код старијих особа и мушкараца, у патогенези тешког облика COVID-19 (180).

Посебно је интересантан налаз да је лош квалитет сна током пандемије био значајно повезан са тежом клиничком сликом. Познато је да хронични стрес и поремећај сна могу довести до дисрегулације осовине хипоталамус-хипофиза-надбубрег и повећаног лучења кортизола, што за последицу има супресију имунског одговора и повећану подложност инфекцијама (123, 124). Ово је у складу са студијом Киу и сарадника (2020) која је показала да је више од 25% становништва Кине доживело умерене до озбиљне нивое симптома стреса или узнемирености као реакције на COVID-19 (124). Такође, Буршер и сарадници (2020) истакли су да социјална изолација, стрес и физичка неактивност могу створити зачарани круг који додатно погоршава ментално и физичко здравље (123). Међутим, због дизајна студије пресека, не можемо закључити да ли је лош квалитет сна узрок или последица теже болести – могуће је и да тежа болест доводи до лошијег квалитета сна, што је класичан пример обрнуте узрочности који се не може решити овим дизајном студије.

Од коморбидитета, у нашој студији хипертензија ($p < 0,001$) и дијабетес ($p = 0,012$) били су најзначајније повезани са тежом клиничком сликом. Механизми који објашњавају ову повезаност укључују повећану експресију ACE2 рецептора код пацијената са хипертензијом који користе ACE инхибиторе или блокаторе рецептора ангиотензина, као и хронично инфламаторно стање и ендотелну дисфункцију код дијабетичара (6, 7). Ово је у складу са мета-анализом Трескова-Шварбек и сарадника (2021) која је обухватила 160 студија и показала да су хипертензија (OR 1,2–2,0), дијабетес (OR 1,2–2,0), срчана инсуфицијенција (OR 1,3–3,3) и ХОБП (OR 1,12–2,2) значајно повезани са тежим исходима COVID-19 (87). Кларк и сарадници (2020) проценили су да 1,7 милијарди људи (22% светске популације) има најмање једну хроничну болест која може повећати ризик од развоја теже клиничке слике (86).

У нашој студији, неуролошка и неуромускуларна обољења ($p = 0,042$) и обољења ГИТ-а и јетре ($p = 0,048$) такође су била чешћа у групи са тешком клиничком сликом. SARS-CoV-2 је показао неуротропне карактеристике, а механизми оштећења централног нервног система укључују директну вирусну инвазију, цитокинску олују и тромботичке компликације (84). Ово је у складу са студијом Мао и сарадника (2020)

која је на 214 пацијената показала да 36,4% има неуролошке симптоме, при чему су болесници са тежим обликом болести чешће имали неуролошку симптоматологију (45,5% vs. 30,2%) (84). Оштећење јетре код COVID-19 може настати услед директног цитопатског ефекта вируса на хепатоците, системске инфламације, хипоксије или токсичног ефекта лекова (9). Студија Chen и сарадника (2020) на 99 пацијената показала је да је 15% имало повишене ALT и AST, указујући на оштећење јетре (9).

6.4. Повезаност лабораторијских параметара са тежом клиничком сликом

Код пацијената са COVID-19, лабораторијски параметри имају кључну улогу у процени тежине болести и прогнози. SARS-CoV-2 инфекција доводи до карактеристичних промена у комплетној крвној слици, укључујући лимфопенију, неутрофилију и тромбоцитопенију (116, 117). Лимфопенија настаје услед директног вирусног оштећења лимфоцита, апоптозе изазване цитокинском олујом и инхибиције лимфопоезе (5). Наши резултати су показали да су лимфопенија, тромбоцитопенија и леукоцитоза значајно повезани са тежом клиничком сликом. Ово је у складу са мета-анализом Хенри и сарадника (2020) која је обухватила 26 студија и показала да су лимфопенија, тромбоцитопенија и леукоцитоза значајно повезани са тешким обликом COVID-19 и морталитетом (117). Лимфопенија је у тој мета-анализи имала највећу осетљивост за разликовање тешких од благих случајева (AUC = 0,82). Гуан и сарадници (2020) у великој кохорти од 1099 пацијената показали су да је лимфопенија присутна код 83,2% пацијената на пријему (118).

COVID-19 је повезан са мултиорганским оштећењем, а биохемијски параметри су важни маркери оштећења јетре, бубрега и срца. SARS-CoV-2 може директно да инфицира хепатоците преко ACE2 рецептора, што доводи до повишења трансаминаза (5, 9). Такође, акутна бубрежна повреда може настати услед директне вирусне инфекције бубрежног ткива, цитокински посредоване инфламације, хипоперфузије или токсичног ефекта лекова (83). У нашој студији, повишени LDH, AST, ALT, уреа, креатинин и гликемија били су повезани са тежом клиничком сликом, док су ниски албумини и укупни протеини били чешћи у тешкој групи. Ови налази указују на оштећење јетре, бубрега и метаболичку дисрегулацију код тешког облика COVID-19. Међутим, важно је напоменути да ови биохемијски параметри нису специфични само за COVID-19 – они су општи маркери тежине било које тешке акутне болести, што ограничава њихову дијагностичку специфичност. Хуанг и сарадници (2020) показали су да су повишени LDH (OR = 2,36), AST (OR = 1,98) и ALT (OR = 1,76) били значајно повезани са потребом за интензивном негом код болесника са COVID-19 (5). Чен и сарадници (2020) на 99 пацијената показали су да 43% има повишене ALT, 39%

повишене AST, а 13% повишене укупне билирубине (9). Кунуцор и Лауканен (2020) у мета-анализи од 22 опсервационе кохортне студије са 17.391 пацијентом са COVID-19 показали су да је учесталост акутне бубрежне инсуфицијенције 11%, а да је 6,8% пацијената захтевало трансплантацију бубрега (83).

COVID-19 је повезан са коагулопатијом која подсећа на дисеминовану интраваскуларну коагулацију (DIC), са карактеристичним налазима – повишен D-димер, умерено продужен РТ и аРТТ, блага тромбоцитопенија и повишен фибриноген (45). Патофизиолошки механизми укључују активацију коагулационог система услед ендотелитиса изазваног директним вирусним деловањем, ослобађање инфламаторних цитокина који активирају ткивни фактор, те поремећај фибринолитичког система (43). Параметри коагулације и инфламације – повишени D-димер, фибриноген и CRP – били су повезани са тежом клиничком сликом, што потврђује присуство системске инфламације и хиперкоагулабилног стања. Танг и сарадници (2020) показали су да су пацијенти са COVID-19 и коагулопатијом (повишен D-димер, продужено протромбинско време, тромбоцитопенија) имали 4,6 пута већи ризик од смрти ($p = 0,001$) (45). Вичмен и сарадници (2020) на 12 консекутивних аутопсија показали су да су две трећине пацијената умрле као последица плућне емболије (81). Руан и сарадници (2020) на 150 пацијената показали су да су повишени D-димер ($OR = 1,04$) и CRP ($OR = 1,02$) били независни предиктори смртног исхода (77). Повишење фибриногена, као реактанта акутне фазе, додатно потврђује присуство системске инфламације код тешке форме COVID-19, али фибриноген и CRP нису специфични маркери – они су повишени у готово сваком инфламаторном стању, што ограничава њихову дијагностичку вредност у диференцијалној дијагнози (45).

6.5. Повезаност *GSTM1* и *GSTT1* нултих генотипова са лабораторијским параметрима

Ово је једна од ретких студија која је испитивала повезаност *GSTM1* и *GSTT1* нултих генотипова са широким спектром лабораторијских параметара код COVID-19. С обзиром на централну улогу GST ензима у заштити од оксидативног стреса, очекује се да носиоци нултих генотипова имају израженији инфламаторни одговор и последично веће вредности инфламаторних и коагулационих параметара (163, 171). Наши резултати показују да су пацијенти са *GSTT1* нултим генотипом имали више вредности D-димера, CRP и фибриногена, као и ниже вредности лимфоцита и тромбоцита у поређењу са пацијентима са активним *GSTT1* геном. Слични налази су забележени и за *GSTM1* нулти генотип, али са нешто слабијом повезаношћу. Ови резултати сугеришу да нулти генотипови, посебно *GSTT1*, могу бити повезани са

израженијом коагулопатијом и инфламацијом. Важно је напоменути да се ради о повезаности, а не о узрочности – могуће је да су повишени инфламаторни маркери последица теже болести, а не директно генетског статуса, или да постоје неки немерени конфондери који објашњавају ову повезаност (резидуални конфаундинг).

Повезаност између ГСТ полиморфизма и инфламаторних маркера примећена је и у другим болестима. Студија Милера и сарадника испитивала је интеракцију између GST генотипова и пушења на инфламаторне маркере у студији испитивања атеросклерозе у заједницама (енгл. *Atherosclerosis Risk in Communities*, ARIC) ($n = 15.792$). Открили да су учесници са *GSTM1* нултим генотипом и дугом историјом пушења (>20 година) имали највише нивое фибриногена, CRP и ICAM-1 (198). Ово показује да се веза између GST нул генотипова и повишених инфламаторних маркера протеже изван COVID-19 на друга хронична инфламаторна стања. Међутим, ARIC студија је посматрала хроничну, ниво-степен инфламацију код атеросклерозе, док се код COVID-19 ради о акутној, хиперакутној инфламацији. Могуће је да се исти генетски фактори различито манифестују у акутним наспрам хроничних инфламаторних стања, што треба имати на уму приликом поређења.

Штавише, Ђукић и сарадници су истраживали *GSTO1* и *GSTO2* полиморфизме код 255 пацијената са COVID-19 и открили да је *GSTO1C* алел повезан са повишеним нивоима CRP ($p = 0,035$), IL-6 ($p = 0,047$), Д-димера ($p = 0,014$) и LDH ($p = 0,002$) (199). Њихови налази допуњују наше показујући да више чланова породице GST утиче на инфламаторне и коагулационе параметре код COVID-19, сугеришући да ензимска породица GST у целини има важну улогу у модулацији одговора домаћина на инфекцију SARS-CoV-2.

Занимљиво је да у нашој студији нису уочене значајне разлике у вриједностима AST, ALT, LDH, билирубина, амилазе, липидног статуса и електролита у односу на *GSTM1* и *GSTT1* генотипове, што сугерише да ове генетске варијанте немају директан утицај на оштећење јетре, панкреаса или метаболизам липида – барем не на нивоу осјетљивости који ова студија може да детектује. Међутим, пацијенти са *GSTT1* нултим генотипом имали су више вриједности урее, што може указивати на већу повезаност са бубрежном дисфункцијом. Овај налаз је експлораторан и захтијева потврду у независним кохортама прије него што се могу извући било какви чврсти закључци. Ово је у складу са студијом Кунуор и Лауканен (2020) која је показала да је акутна бубрежна инсуфицијенција честа компликација COVID-19 (83), али је потребно даље истраживање да би се потврдила директна повезаност са *GSTT1* полиморфизмом.

6.6. Повезаност *GSTM1* и *GSTT1* нултих генотипова са серумским нивоима цитокина

Цитокинска олуја је један од главних механизма који доводи до тешке клиничке слике и мултиорганског оштећења код COVID-19 (4, 30, 176). SARS-CoV-2 инфекција активира инфламасом, што доводи до ослобађања IL-1 β , IL-6, TNF- α и других проинфламаторних цитокина (4, 176). Наша анализа 13 серумских цитокина потврдила је да тешки облик COVID-19 карактерише посебан проинфламаторни профил. Наша анализа потврдила је да тешки облик COVID-19 карактеришу значајно повишени нивои IL-6, TNF- α , IL-17A и IFN- γ ($p < 0,05$ за све). Ови налази су у складу са Марковићем и сарадницима, који су проучавали 265 пацијената са COVID-19 и открили да је повишен IL-6 снажно повезан са прогресијом болести (OR = 8,52, 95% CI: 2,36–30,77, $p = 0,001$) и да је повишен CRP такође предвиђао прогресију тежине болести (OR = 10,97, 95% CI: 3,08–39,10, $p < 0,001$) (200). Доследност IL-6 као предиктора у више студија наглашава његову централну улогу у патогенези COVID-19 и чини га потенцијалном метом за терапијску интервенцију. У плућима пацијената са COVID-19 повећана је ткивна експресија IL-17A, која је била повезана са тежином болести, пружајући хистопатолошку потврду наших серолошких налаза (201). Цитокини са антиинфламаторним или регулаторним функцијама, попут IL-4 и IL-10, нису се значајно разликовали између благих и тешких пацијената у нашој студији. Ово запажање сугерише да хиперинфламаторно стање у тешкој форми COVID-19 не произилази из глобалне дисрегулације свих цитокинских путева, већ из селективне преактивације специфичних проинфламаторних медијатора (178).

Оксидативни стрес, који настаје услед вирусне репликације и активације инфламаторних ћелија, додатно појачава ову каскаду преко активације NF- κ B сигналног пута (14, 185). Најважнији налаз наше експлоративне студије је примећена повезаност *GSTT1* нултог генотипа са повишеним нивоима проинфламаторних цитокина – IL-6, TNF- α , IL-17A и IFN- γ . Ова повезаност је остала значајна након прилагођавања за старост, пол, хипертензију и дијабетес. *GSTM1* нулти генотип је такође био повезан са повишеним IL-6, TNF- α и IL-17A, али не и са IFN- γ , мада су повезаности генерално биле јаче за *GSTT1* нулти генотип. Ови налази пружају механичку везу између генетског оштећења антиоксидативне одбране и хиперинфламације у COVID-19, што до сада није било директно приказано у литератури. Ипак, због дизајна студије пресека, не можемо закључити да нулти генотипови директно узрокују повишење цитокина – могуће је и обрнуто (да тешка болест, преко још увек непознатих механизма, утиче на експресију GST гена) или да постоји заједнички узрок који доводи и до одређеног генотипа и до повишених цитокина (нпр. неки трећи, немерени генетски фактор у неравнотежи повезаности).

Посебно, цитокини са антиинфламаторном или регулаторном функцијом, попут IL-4 и IL-10, нису се значајно разликовали између пацијената са благим и тешким обликом болести у нашој студији. Ово запажање сугерише да хиперинфламаторно стање код тешког облика COVID-19 не настаје услед глобалне дисрегулације свих цитокинских путева, већ услед селективне преактивације специфичних проинфламаторних медијатора (171). Ови налази су у складу и са хипотезом да генетско оштећење антиоксидативне одбране може допринети хиперинфламацији, али су потребне даље механистичке студије да би се утврдила узрочност.

Механизам којим нулти генотипови доводе до повишења проинфламаторних цитокина може се објаснити кроз неколико корака. Прво, GST ензими имају кључну улогу у неутрализацији продукта оксидативног стреса катализујући коњугацију глутатиона са електрофилним једињењима (171). Код особа са нултим генотиповима, овај капацитет је изгубљен, што доводи до акумулације реактивних кисеоничних врста и оксидативног оштећења (163). Друго, оксидативни стрес је моћан активатор инфламаторних сигналних путева, укључујући NF- κ B, који покреће транскрипцију проинфламаторних цитокина попут IL-6 и TNF- α (14, 185). Треће, студија Шљиванчанин Јаковљевић и сарадника (2019) на 50 жена са прееклампсијом и 50 здравих трудница у српској популацији показала је да је *GSTT1* нулти генотип повезан са повећаним IL-1 β ($p = 0,015$), док је *GSTM1* нулти генотип повезан са повећаним IL-6 ($p = 0,015$) (202). Ово је изузетно важно јер паралелно са нашим налазима показује генотип-специфичне обрасце цитокинске елевације, указујући на очуван биолошки механизам у различитим инфламаторним стањима (прееклампсија – стерилна инфламација, COVID-19 – вирусна инфекција). Међутим, поређење између ове две студије треба узети с опрезом због различитих узорака и методологија (202).

Ови налази показују да оштећена антиоксидативна одбрана доприноси хроничним инфламаторним болестима дисајних путева, пружајући преседан за наша запажања код COVID-19. Слично томе, код ХОБП, Динг и сарадници (188) мета-анализирали су GST полиморфизме и потврдили да и *GSTM1* нул ($OR = 1,38$, 95% CI: 1,12–1,70) и *GSTT1* нул ($OR = 1,28$, 95% CI: 1,02–1,61) генотипови повећавају подложност ка настанку ХОБП. Лакхдар и сарадници (203) показали су да комбиновани нул генотипови корелирају са значајно нижим антиоксидативним маркерима, укључујући глутатион пероксидазу ($p < 0,001$), глутатион редуктазу ($p = 0,026$) и укупан антиоксидативни статус ($p = 0,046$), пружајући директан доказ да GST нул генотипови доводе до мерљивих дефицита у антиоксидативном капацитету. Доследност ових налаза у различитим болестима – COVID-19, прееклампсији и ХОБП – сугерише да GST-посредована антиоксидативна одбрана представља фундаментални механизам који штити од инфламације без обзира на покретачки наддражај.

Запажање да је *GSTT1* нулти генотип повезан са повишењем IL-1 β код прееклампсије (202), док је повезан и са повишењем IL-6, TNF- α и IL-17A код COVID-

19, такође сугерише да специфични профил цитокина зависи од природе инфламаторног окидача (стерилна инфламација наспрам вирусне инфекције). Међутим, заједнички механизам вероватно укључује активацију NF-κB изазвану оксидативним стресом, која покреће вишеструке проинфламаторне цитокине (185). Преференцијално повишење одређених цитокина може одражавати експресију GST изоформи специфичну за тип ћелија или разлике у доминантним путевима оксидативног стреса активираним у свакој болести. Потребне су даље механистичке студије да би се разјасниле ове разлике.

Посебно је интересантна повезаност GSTT1 нултог генотипа са IL-17A. IL-17A је кључни цитокин у регрутацији неутрофила и развоју тешке инфламације у плућима (30, 201). Азеведо и сарадници (2021) показали су повећану експресију IL-17A у плућима пацијената са COVID-19, у корелацији са регрутацијом неутрофила и тежином болести. Показано је да оксидативни стрес промовише диференцијацију Th17 ћелија, што може објаснити како оштећен антиоксидативни капацитет усмерава Т-ћелијски одговор ка проинфламаторном фенотипу (201). Повишени нивои IL-17A код наших пацијената са *GSTT1* нул генотипом ($11,8 \pm 3,4$ pg/ml у обоје нул групи наспрам $7,9 \pm 1,8$ pg/ml у обоје активної групи, $p = 0,006$) подржавају ову хипотезу. Ови налази отварају могућност да инхибитори IL-17 (нпр. секукинумаб), који се тренутно користе код псоријазе (204), могу имати улогу код одабраних пацијената са COVID-19 са *GSTT1* нултим генотипом. Такође, студија Ђорић и сарадника (2021) показала је да носиоци *GSTM3* CC генотипа имају 2,5 пута већи ризик за развој тешког облика COVID-19 (95% CI: 1,13–5,61; $p = 0,024$), док комбинација *GSTP1* и *GSTM3* варијанти показује кумулативни ризик ($p = 0,001$ за подложност и $p = 0,025$ за тежину) (191). Ово додатно поткрепљује важност GST породице у модулацији инфламаторног одговора.

Лиу и сарадници (2022) у систематском прегледу и мета-анализи показали су да пацијенти са псоријазом лечени инхибиторима IL-17 немају повећан ризик од инфекције COVID-19 или хоспитализације, што сугерише да би ова класа лекова могла бити безбедна (204). Међутим, ово је само хипотеза заснована на опсервационим подацима – потребна су клиничка испитивања да би се тестирала ефикасност инхибитора IL-17 код пацијената са COVID-19 и специфичним генетским профилем.

Недавни систематски преглед Гупте и сарадника свеобухватно је анализирао људске генетске варијанте које доприносе подложности COVID-19 и тежини болести, наглашавајући да полиморфизми GST представљају важну компоненту генетске архитектуре домаћина која утиче на исходе COVID-19 (196). Наши налази доприносе овом растућем низу доказа пружајући специфичне механичке податке који повезују *GSTT1* нул генотип са повишењем цитокина.

Овај диференцијални ефекат између двије GST изоформе може одражавати њихову различиту супстратну специфичност и обрасце експресије у ткивима (171). *GSTT1* је посебно важан у детоксикацији продукта липидне пероксидације и реактивних

кисеоничних врста генерисаних током инфламаторних одговора (163). Занимљиво је да су Абас и сарадници такође открили да *GSTM1* нул сам по себи није био значајно повезан са исходима, док је *GSTT1* нул доследно показивао јаче ефекте (190).

6.7. Повезаност *GSTM1* и *GSTT1* нултих генотипова са примењеном терапијом и исходом лечења

Интензитет терапије код COVID-19 директно је повезан са тежином клиничке слике – пацијенти са тежим обликом болести захтевају агресивније лечење, укључујући антибиотску, антивирусну, кортикостероидну и антикоагулантну терапију, као и терапију кисеоником и механичку вентилацију (4, 176). Пацијенти са *GSTT1* нултим генотипом имали су чешћу примену већине терапијских модалитета, укључујући антибиотску, антивирусну, кортикостероидну, антикоагулантну терапију, тоцилизумаб, терапију кисеоником и механичку вентилацију. Ово је очекивано с обзиром да су ови пацијенти имали тежу клиничку слику, али због дизајна студије пресека не можемо закључити да су ови лекови „предиктори“ тежине болести. Уместо тога, њихова примена је највероватније последица, а не узрок тешке клиничке слике. Ипак, ови налази указују на то да су пацијенти са *GSTT1* нултим генотипом захтевали интензивније лечење, што је у складу са њиховом тежом клиничком сликом.

Дужина хоспитализације и морталитет су најважнији клинички исходи код COVID-19 (5, 190). Пацијенти са *GSTT1* нултим генотипом имали су дужу хоспитализацију и већи морталитет у поређењу са пацијентима са активним *GSTT1* геном. Ови налази су у складу са студијом Абас и сарадника (2021), која је показала повезаност *GSTT1* нултог генотипа са морталитетом (190), као и са студијом Ћорић и сарадника (2021) која је показала да кумулативни ефекат вишеструких GST генотипова ризика даје 11,86 пута већи ризик за тешки облик COVID-19 ($p = 0,001$) (191). Такође, Вичман и сарадници (2020) на аутопсијама показали су да је две трећине пацијената умрло од последица плућне емболије (81), што се може довести у везу са повишеним D-димером код *GSTT1* нултог генотипа. Међутим, због релативно малог броја смртних исхода (укупно 12, 8,8%), анализа морталитета има ограничену статистичку снагу, што је још једно ограничење наше студије.

Ова студија има неколико ограничења. Прво, дизајн студије пресека онемогућава процену узрочности и спречава закључивање о временским односима између генотипа и одговора цитокина; можемо показати повезаност, али не можемо утврдити да ли нулти генотипови директно узрокују повишење цитокина или други немерени фактори објашњавају примећене односе (резидуални конфаундинг). Друго, величина узорка је била ограничена за анализе подгрупа, посебно за категорију оба нулта генотипа ($n = 10$),

што је резултирало широким интервалима повјерења (нпр. AOR = 4,23, 95% CI: 0,86–20,81) и ограниченом статистичком снагом. Такође, за мултиваријантну анализу са 6–7 предиктора, препоручује се 10–15 догађаја по предиктору; са 70 тешких случајева, наш модел је на горњој граници прихватљивог, али не и прекомоћан. Стога налазе везане за оба нулта генотипа треба сматрати експлораторним и хипотезу-генеришућим, а не дефинитивним. Треће, нивои цитокина су мерени у једној временској тачки; лонгитудинална мјерења би пружила додатни увид у инфламаторну динамику и то да ли генотип утиче на путању промена цитокина током болести. Четврто, студија је спроведена у једној болници (Клинички болнички центар Косовска Митровица), што може ограничити генерализацију на друге популације са различитим демографским карактеристикама, протоколима лечења или генетским пореклом. Штавише, генерализација наших резултата је ограничена етничком хомогеношћу наше српске кохорте, јер је познато да учесталости алела *GSTM1* и *GSTT1* полиморфизма варирају међу различитим популацијама. Пето, нисмо директно мерили маркере оксидативног стреса (нпр. малондиалдехид, укупни антиоксидативни статус), што би пружило директнију везу између генотипа и оксидативног оштећења (203). Шесто, нисмо испитивали друге GST полиморфизме (*GSTP1*, *GSTO1*, *GSTO2*, *GSTM3*) који су укључени у тежину COVID-19 (199, 203) и који могу да интерагују са **GSTM1/GSTT1**. Седмо, нисмо испитивали интеракције гена и средине као што су професионалне изложености, загађење ваздуха или нутритивни статус, које могу модулисати инфламаторне ефекте GST нултих генотипова. Коначно, због експлораторне природе студије, потребна је валидација налаза у већим, независним кохортама пре него што се могу извући дефинитивни закључци.

Упркос наведеним ограничењима, наша студија има неколико важних предности и пружа значајан допринос разумевању генетских фактора у COVID-19. Прво, ово је једна од ретких студија која је истовремено испитала повезаност *GSTM1* и *GSTT1* нултих генотипова са широким спектром лабораторијских параметара, укључујући 13 цитокина, и пружила механичку везу између генетског оштећења антиоксидативне одбране и хиперинфламације. Друго, наши налази су у складу са студијама из различитих популација (индијској (190), српској (191, 202), међународној еколошкој студији (165)), што говори у прилог робусности налаза. Треће, показали смо генотип-специфичне обрасце – *GSTT1* нулти генотип је повезан са ширим спектром цитокина (укључујући IFN- γ) у поређењу са *GSTM1* нултим генотипом, што је у складу са њиховом различитом ткивном експресијом и супстратном специфичношћу (163, 171).

Будуће студије треба да се фокусирају на: (1) валидацију наших налаза у већим, мултицентричним кохортама са различитим етничким групама; (2) лонгитудинална мерења цитокина и маркера оксидативног стреса како би се утврдио временски след догађаја; (3) истраживање интеракција између различитих GST полиморфизма

(*GSTP1*, *GSTM3*, *GSTO1*) и њиховог кумулативног ефекта на исходе COVID-19 [191]; (4) механистичке студије на ћелијским моделима (нпр. CRISPR нокаут *GSTM1/GSTT1* у макрофагама или епителним ћелијама) како би се директно тестирало да ли губитак GST функције појачава продукцију цитокина у одговору на SARS-CoV-2 стимулусе; (5) клиничка испитивања која би истражила да ли антиоксидативна суплементација (нпр. N-ацетилцистеин) може бити посебно корисна код носилаца нултих генотипова.

Ако се потврде у већим студијама, наши експлораторни налази би могли имати неколико клиничких импликација. Прво, генотипизација *GSTT1* нултог полиморфизма би потенцијално могла допринети раној стратификацији ризика пацијената са COVID-19 при болничком пријему. Идентификовање појединаца са генетски одређеним ризиком за хиперинфламацију могло би водити агресивнијем праћењу и стратегијама ране интервенције, али то захтева проспективну валидацију. Друго, пацијенти са *GSTT1* нултим генотипом могли би бити кандидати за антиоксидативне терапије (нпр. N-ацетилцистеин, прекурсор глутатиона) или имуномодулаторне третмане усмерене на цитокине за које смо открили да су повишени. На пример, инхибитори IL-6 (тоцилизумаб) већ се користе код тешког облика COVID-19 (176, 205). Такође, повезаност са IL-17A отвара могућност да инхибитори IL-17 (нпр. секукиномаб), који се тренутно користе код аутоимуних болести (204), могу имати улогу код одабраних пацијената са COVID-19 са овим генетским профилем. Иако су резултати клиничких испитивања показали варијабилну ефикасност ових инхибитора (176, 205) наши резултати сугеришу да би пацијенти са *GSTT1* нултим генотипом могли представљати подгрупу која би могла имати посебну корист, али ову хипотезу треба тестирати у проспективним, генотип-стратификованим клиничким испитивањима пре него што се могу дати било какве клиничке препоруке. Треће, кумулативни ефекат вишеструких ризичних генотипова који су приметили Ћорић и сарадници (191) (OR = 11,86 за три генотипа ризика) и интеракције гена и околине које су приметили Милер и сарадници (198) сугеришу да би полигенски ризични резултати који укључују *GSTT1*, *GSTM1* и друге полиморфизме антиоксидативних гена (*GPX3*, *GSTO1*, *GSTP1*, *GSTM3*) могли пружити још јачу предиктивну вредност од анализе појединачних гена. Будуће студије треба да истраже да ли интеграција GST генотипизације са другим генетским маркерима побољшава моделе предвиђања ризика.

7. ЗАКЉУЧАК

На основу постављених циљева докторске дисертације, изводе се сљедећи закључци:

1. Болесници са тежом клиничком сликом COVID-19 били су старије животне доби и чешће мушког пола. Хипертензија, шећерна болест, неуролошка обољења и обољења гастроинтестиналног тракта и јетре били су значајно заступљенији у групи са тешком клиничком сликом.
2. Тешка клиничка слика COVID-19 повезана је са лимфопенијом, тромбоцитопенијом, леукоцитозом, повишеним вредностима LDH, урее, креатинина, гликемије, те сниженим вредностима албумина и укупних протеина.
3. Код болесника са тешком клиничком сликом утврђене су значајно више вредности D-димера, CRP-а, фибриногена, IL-6, IL-17A и TNF- α . У комплетном мултиваријантном моделу, број хроничних обољења, D-димер, CRP и IL-6 идентификовани су као фактори који показују независну повезаност.
4. Учесталост *GSTM1* нултог генотипа у испитиваној кохорти износила је 22,6%, а *GSTT1* нултог генотипа такође 22,6%. Комбиновани оба нулта генотипа регистрован је код 7,3% болесника.
5. *GSTT1* нулти генотип био је независно повезан са тежом клиничком сликом COVID-19, док *GSTM1* нулти генотип није показао статистички значајну повезаност.
6. Болесници са *GSTT1* нултим генотипом имали су значајно више вредности D-димера, CRP-а, фибриногена и урее, а значајно ниже вредности лимфоцита и тромбоцита у односу на болеснике са активним *GSTT1* геном.
7. Болесници са *GSTT1* нултим генотипом имали су значајно више серумске нивое IL-6, TNF- α , IL-17A и IFN- γ у односу на болеснике са активним *GSTT1* геном. Након прилагођавања за старост, пол, хипертензију и дијабетес, *GSTT1* нулти генотип је остао независни предиктор повишених нивоа ових цитокина.
8. Болесници са *GSTT1* нултим генотипом имали су значајно дужу хоспитализацију и значајно већи морталитет у односу на болеснике са активним *GSTT1* геном.
9. Комбиновани оба нулта генотипа показао је највишу тачку процјене повезаности са тешком клиничком сликом, али овај налаз због малог броја болесника треба тумачити опрезно као експлораторни.

10. *GSTT1* нулти генотип представља независни генетски фактор повезан са развојем тешке клиничке слике COVID-19, повишењем проинфламаторних цитокина и инфламаторних параметара, као и за лошији исход болести, што указује на механичку везу између генетски нарушене антиоксидативне одбране и хиперинфламаторног одговора у COVID-19.

8. ЛІТЕРАТУРА

1. Tyrrell D, Bynoe M. Cultivation of a novel type of common-cold virus in organ cultures. *British medical journal*. 1965;1(5448):1467.
2. Cui J, Li F, Shi Z-L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature reviews microbiology*. 2019;17(3):181-92.
3. Liu D, Liang J, Fung T. Human Coronavirus-229E,-OC43,-NL63, and-HKU1. Reference Module in Life Sciences. 2020: B978-0-12-809633-8.21501-X. doi: 10.1016. B978-0-12-809633-8.21501-X.
4. Fani M, Teimoori A, Ghafari S. Comparison of the COVID-2019 (SARS-CoV-2) pathogenesis with SARS-CoV and MERS-CoV infections. *Future Virology*. 2020;15(5):317-23.
5. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The lancet*. 2020;395(10223):497-506.
6. de Groot RJ, Baker SC, Baric RS, Brown CS, Drosten C, Enjuanes L, et al. Commentary: Middle east respiratory syndrome coronavirus (mers-cov): announcement of the coronavirus study group. *Journal of virology*. 2013;87(14):7790-2.
7. Zaki AM, Van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus AD, Fouchier RA. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *New England Journal of Medicine*. 2012;367(19):1814-20.
8. WHO. Coronavirus disease 2019(COVID-19) Weekly Operational Update on COVID-19 .pdf>, (14th September 2020) 2020 [
9. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *The lancet*. 2020;395(10223):507-13.
10. Mürbe D, Kriegel M, Lange J, Schumann L, Hartmann A, Fleischer M. Aerosol emission of adolescents voices during speaking, singing and shouting. *PLoS One*. 2021;16(2):e0246819.
11. Jayaweera M, Perera H, Gunawardana B, Manatunge J. Transmission of COVID-19 virus by droplets and aerosols: A critical review on the unresolved dichotomy. *Environmental research*. 2020;188:109819.

12. Boldog P, Tekeli T, Vizi Z, Dénes A, Bartha FA, Röst G. Risk assessment of novel coronavirus COVID-19 outbreaks outside China. *Journal of clinical medicine*. 2020;9(2):571.
13. Muralidar S, Ambi SV, Sekaran S, Krishnan UM. The emergence of COVID-19 as a global pandemic: Understanding the epidemiology, immune response and potential therapeutic targets of SARS-CoV-2. *Biochimie*. 2020;179:85-100.
14. Chilamakuri R, Agarwal S. COVID-19: characteristics and therapeutics. *Cells*. 2021;10(2):206.
15. Rahman S, Montero MTV, Rowe K, Kirton R, Kunik Jr F. Epidemiology, pathogenesis, clinical presentations, diagnosis and treatment of COVID-19: a review of current evidence. *Expert review of clinical pharmacology*. 2021;14(5):601-21.
16. Tyrrell D, Bynoe M. Cultivation of viruses from a high proportion of patients with colds. *Lancet*. 1966:76-7.
17. Centers for Disease Control and Prevention. Human Coronavirus Types. [Online].; 2020 [cited 2022 12 21. Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/types.html>.
18. Madjid M, Safavi-Naeini P, Solomon SD, Vardeny O. Potential effects of coronaviruses on the cardiovascular system: a review. *JAMA cardiology*. 2020;5(7):831-40.
19. Sohrabi C, Alsafi Z, O'Neill N, Khan M, Kerwan A, Al-Jabir A, et al. World Health Organization declares global emergency: A review of the 2019 novel coronavirus (COVID-19). *International journal of surgery*. 2020;76:71-6.
20. Duan L, Zheng Q, Zhang H, Niu Y, Lou Y, Wang H. The SARS-CoV-2 spike glycoprotein biosynthesis, structure, function, and antigenicity: implications for the design of spike-based vaccine immunogens. *Frontiers in immunology*. 2020;11:576622.
21. Zarandi PK, Zinatizadeh MR, Zinatizadeh M, Yousefi MH, Rezaei N. SARS-CoV-2: from the pathogenesis to potential anti-viral treatments. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021;137:111352.
22. Ragnoli B, Da Re B, Galantino A, Kette S, Salotti A, Malerba M. Interrelationship between COVID-19 and coagulopathy: pathophysiological and clinical evidence. *International journal of molecular sciences*. 2023;24(10):8945.
23. Watanabe Y, Bowden TA, Wilson IA, Crispin M. Exploitation of glycosylation in enveloped virus pathobiology. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 2019;1863(10):1480-97.

24. Barile E, Baggio C, Gambini L, Shiryayev SA, Strongin AY, Pellecchia M. Potential therapeutic targeting of coronavirus spike glycoprotein priming. *Molecules*. 2020;25(10):2424.
25. Tang T, Bidon M, Jaimes JA, Whittaker GR, Daniel S. Coronavirus membrane fusion mechanism offers a potential target for antiviral development. *Antiviral research*. 2020;178:104792.
26. Menachery VD, Dinnon III KH, Yount Jr BL, McAnarney ET, Gralinski LE, Hale A, et al. Trypsin treatment unlocks barrier for zoonotic bat coronavirus infection. *Journal of virology*. 2020;94(5):10.1128/jvi. 01774-19.
27. Millet JK, Whittaker GR. Host cell proteases: critical determinants of coronavirus tropism and pathogenesis. *Virus research*. 2015;202:120-34.
28. Jose RJ, Manuel A. COVID-19 cytokine storm: the interplay between inflammation and coagulation. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2020.
29. Siddiqi HK, Mehra MR. COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: A clinical–therapeutic staging proposal. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2020;39(5):405.
30. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ, et al. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet (London, England)*. 2020;395(10229):1033-4.
31. D'Elia RV, Harrison K, Oyston PC, Lukaszewski RA, Clark GC. Targeting the “cytokine storm” for therapeutic benefit. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2013;20(3):319-27.
32. Henderson LA, Canna SW, Schulert GS, Volpi S, Lee PY, Kernan KF, et al. On the alert for cytokine storm: Immunopathology in COVID-19. *Arthritis & Rheumatology*. 2020.
33. Bandyopadhyay D, Akhtar T, Hajra A, Gupta M, Das A, Chakraborty S, et al. COVID-19 pandemic: cardiovascular complications and future implications. *American Journal of Cardiovascular Drugs*. 2020:1-14.
34. Wong C, Lam C, Wu A, Ip W, Lee N, Chan I, et al. Plasma inflammatory cytokines and chemokines in severe acute respiratory syndrome. *Clinical & Experimental Immunology*. 2004;136(1):95-103.

35. Mahallawi WH, Khabour OF, Zhang Q, Makhdoum HM, Suliman BA. MERS-CoV infection in humans is associated with a pro-inflammatory Th1 and Th17 cytokine profile. *Cytokine*. 2018;104:8-13.
36. Li X, Geng M, Peng Y, Meng L, Lu S. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *Journal of pharmaceutical analysis*. 2020;10(2):102-8.
37. Cevik M, Kuppalli K, Kindrachuk J, Peiris M. Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2. *BMJ (Clinical research ed)*. 2020;371.
38. Gattinoni L, Chiumello D, Caironi P, Busana M, Romitti F, Brazzi L, et al. COVID-19 pneumonia: different respiratory treatments for different phenotypes? : Springer; 2020. p. 1099-102.
39. Fraser E. Long term respiratory complications of covid-19. *British Medical Journal Publishing Group*; 2020.
40. Troyer EA, Kohn JN, Hong S. Are we facing a crashing wave of neuropsychiatric sequelae of COVID-19? Neuropsychiatric symptoms and potential immunologic mechanisms. *Brain, behavior, and immunity*. 2020.
41. Mongioi LM, Barbagallo F, Condorelli RA, Cannarella R, Aversa A, La Vignera S, et al. Possible long-term endocrine-metabolic complications in COVID-19: lesson from the SARS model. *Endocrine*. 2020:1.
42. Coopersmith CM, Antonelli M, Bauer SR, Deutschman CS, Evans LE, Ferrer R, et al. The surviving sepsis campaign: research priorities for coronavirus disease 2019 in critical illness. *Critical care medicine*. 2021;49(4):598-622.
43. Abou-Ismaïl MY, Diamond A, Kapoor S, Arafah Y, Nayak L. The hypercoagulable state in COVID-19: Incidence, pathophysiology, and management. *Thrombosis research*. 2020;194:101-15.
44. Levi M, Scully M. How I treat disseminated intravascular coagulation. *Blood*. 2018;131(8):845-54.
45. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *Journal of thrombosis and haemostasis*. 2020;18(4):844-7.

46. Tang N, Bai H, Chen X, Gong J, Li D, Sun Z. Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. *Journal of thrombosis and haemostasis*. 2020;18(5):1094-9.
47. Thachil J, Tang N, Gando S, Falanga A, Cattaneo M, Levi M, et al. ISTH interim guidance on recognition and management of coagulopathy in COVID-19. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2020;18(5):1023-6.
48. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *The lancet*. 2020.
49. Toro-Pérez J, Rodrigo R. Contribution of oxidative stress in the mechanisms of postoperative complications and multiple organ dysfunction syndrome. *Redox Report*. 2021;26(1):35-44.
50. Ozma MA, Maroufi P, Khodadadi E, Köse Ş, Esposito I, Ganbarov K, et al. Clinical manifestation, diagnosis, prevention and control of SARS-CoV-2 (COVID-19) during the outbreak period. *Infez Med*. 2020;28(2):153-65.
51. Dawood AA. Dampening of proteomics activity associated with the COVID-19 patients afflicted with asthma based on gene expression pattern. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2024;101(1):133-42.
52. Yoshikawa T, You F. Oxidative Stress and Bio-Regulation. *International journal of molecular sciences*. 2024;25(6):3360.
53. Ntyonga-Pono M-P. COVID-19 infection and oxidative stress: an under-explored approach for prevention and treatment? *The Pan African Medical Journal*. 2020;35(Suppl 2).
54. Delgado-Roche L, Mesta F. Oxidative stress as key player in severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) infection. *Archives of medical research*. 2020;51(5):384-7.
55. World Health Organization. WHO COVID-19 dashboard: WHO; Available from: <https://data.who.int/dashboards/covid19/deaths?n=0> (accessed on 15th of July 2024).
56. World Health Organization. World Helath Organization Coronavirus (COVID-19) Dashbord. Dostupno 31.08.2023. godine na: <https://covid19.who.int/?adgroupsurvey={adgroupsurvey}&gclid=Cj0KCQjwusunBhCYARIs>

AFBsUP_oRI6_srf-

EY9tRaXo9Ln7gBlQrhqHh1i5YypoS5xSNMIA3MLkMsoaApKfEALw_wcB [

57. Bassetti M, Vena A, Giacobbe DR. The novel Chinese coronavirus (2019-nCoV) infections: Challenges for fighting the storm. Wiley Online Library; 2020. p. e13209.
58. Hoehl S, Rabenau H, Berger A, Kortenbusch M, Cinatl J, Bojkova D, et al. Evidence of SARS-CoV-2 infection in returning travelers from Wuhan, China. *New England Journal of Medicine*. 2020;382(13):1278-80.
59. Lan L, Xu D, Ye G, Xia C, Wang S, Li Y, et al. Positive RT-PCR test results in patients recovered from COVID-19. *Jama*. 2020;323(15):1502-3.
60. Jin Y, Yang H, Ji W, Wu W, Chen S, Zhang W, et al. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of COVID-19. *Viruses*. 2020;12(4):372.
61. Tabuchi K, Nishimura B, Nakamagoe M, Hayashi K, Nakayama M, Hara A. Ototoxicity: mechanisms of cochlear impairment and its prevention. *Current medicinal chemistry*. 2011;18(31):4866-71.
62. Lu X, Zhang L, Du H, Zhang J, Li YY, Qu J, et al. SARS-CoV-2 infection in children. *New England Journal of Medicine*. 2020;382(17):1663-5.
63. CDC. Assessing Risk Factors for Severe COVID-19 Illness: CDC; 2020 [Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/covid-data/investigations-discovery/assessing-risk-factors.html>].
64. Porcheddu R, Serra C, Kelvin D, Kelvin N, Rubino S. Similarity in case fatality rates (CFR) of COVID-19/SARS-COV-2 in Italy and China. *The Journal of Infection in Developing Countries*. 2020;14(02):125-8.
65. Wu C, Chen X, Cai Y, Zhou X, Xu S, Huang H, et al. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. *JAMA internal medicine*. 2020;180(7):934-43.
66. Center for Disease Control and Prevention. Underlying Medical Conditions Associated with Higher Risk for Severe COVID-19: Information for Healthcare Professionals. Updated Feb. 9, 2023. Dostupno na: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/clinical-care/underlyingconditions.html>. .
67. Gralinski LE, Menachery VD. Return of the Coronavirus: 2019-nCoV. *Viruses*. 2020;12(2):135.

68. Han Y, Yang H. The transmission and diagnosis of 2019 novel coronavirus infection disease (COVID-19): A Chinese perspective. *Journal of medical virology*. 2020;92(6):639-44.
69. Zheng Y-Y, Ma Y-T, Zhang J-Y, Xie X. COVID-19 and the cardiovascular system. *Nature reviews cardiology*. 2020;17(5):259-60.
70. Bale R. Trafficked pangolins can carry coronaviruses closely related to pandemic strain. *Scientific American*. 2020;322.
71. Malta M, Rimoin AW, Strathdee SA. The coronavirus 2019-nCoV epidemic: Is hindsight 20/20? *EClinicalMedicine*. 2020;20.
72. Wu D, Wu T, Liu Q, Yang Z. The SARS-CoV-2 outbreak: what we know. *International journal of infectious diseases*. 2020;94:44-8.
73. Control CfD, Prevention. Symptoms of coronavirus. Available at: (Accessed April 21, 2020) <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/symptoms.html> View in Article. 2020.
74. Guan W-j, Ni Z-y, Hu Y, Liang W-h, Ou C-q, He J-x, et al. Clinical characteristics of 2019 novel coronavirus infection in China. *MedRxiv*. 2020.
75. National Institutes of Health (NIH). COVID-19 Treatment Guidelines. Dostupno na: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/>. .
76. Force ADT, Ranieri V, Rubenfeld G, Thompson B, Ferguson N, Caldwell E, et al. Acute respiratory distress syndrome. *Jama*. 2012;307(23):2526-33.
77. Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Song J. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive care medicine*. 2020;46(5):846-8.
78. Gattinoni L, Coppola S, Cressoni M, Busana M, Rossi S, Chiumello D. COVID-19 does not lead to a “typical” acute respiratory distress syndrome. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2020;201(10):1299-300.
79. Wilkerson RG, Adler JD, Shah NG, Brown R. Silent hypoxia: a harbinger of clinical deterioration in patients with COVID-19. *The American journal of emergency medicine*. 2020;38(10):2243. e5-. e6.
80. Ding T, Wang X, Fu A, Xu L, Lin J. Anxiety and depression predict unfavorable survival in acute myeloid leukemia patients. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(43):e17314.

81. Wichmann D, Sperhake J-P, Lütgehetmann M, Steurer S, Edler C, Heinemann A, et al. Autopsy findings and venous thromboembolism in patients with COVID-19: a prospective cohort study. *Annals of internal medicine*. 2020.
82. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus–infected pneumonia in Wuhan, China. *Jama*. 2020;323(11):1061-9.
83. Kunutsor SK, Laukkanen JA. Renal complications in COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Annals of Medicine*. 2020:1-9.
84. Mao L, Wang M, Chen S, He Q, Chang J, Hong C, et al. Neurological manifestations of hospitalized patients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective case series study. 2020.
85. Cao J, Tu W-J, Cheng W, Yu L, Liu Y-K, Hu X, et al. Clinical features and short-term outcomes of 102 patients with coronavirus disease 2019 in Wuhan, China. *Clinical Infectious Diseases*. 2020;71(15):748-55.
86. Clark A, Jit M, Warren-Gash C, Guthrie B, Wang HH, Mercer SW, et al. Global, regional, and national estimates of the population at increased risk of severe COVID-19 due to underlying health conditions in 2020: a modelling study. *The Lancet Global Health*. 2020;8(8):e1003-e17.
87. Treskova-Schwarzbach M, Haas L, Reda S, Pilic A, Borodova A, Karimi K, et al. Pre-existing health conditions and severe COVID-19 outcomes: an umbrella review approach and meta-analysis of global evidence. *BMC medicine*. 2021;19:1-26.
88. Udugama B, Kadhiresan P, Kozlowski HN, Malekjahani A, Osborne M, Li VY, et al. Diagnosing COVID-19: the disease and tools for detection. *ACS nano*. 2020;14(4):3822-35.
89. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Eurosurveillance*. 2020;25(3):2000045.
90. Nalla AK, Casto AM, Huang M-LW, Perchetti GA, Sampoleo R, Shrestha L, et al. Comparative performance of SARS-CoV-2 detection assays using seven different primer-probe sets and one assay kit. *Journal of clinical microbiology*. 2020;58(6):10.1128/jcm.00557-20.

91. Scarabotto A, Balestro S, Gagliardi S, Trotti R. Comparison of Two RNA Extraction Methods for the Molecular Detection of SARS-CoV-2 from Nasopharyngeal Swab Samples. *Diagnostics* (Basel, Switzerland). 2022;12(7).
92. To KK, Tsang OT, Yip CC, Chan KH, Wu TC, Chan JM, et al. Consistent Detection of 2019 Novel Coronavirus in Saliva. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2020;71(15):841-3.
93. Li D, Wang D, Dong J, Wang N, Huang H, Xu H, et al. False-Negative Results of Real-Time Reverse-Transcriptase Polymerase Chain Reaction for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2: Role of Deep-Learning-Based CT Diagnosis and Insights from Two Cases. *Korean J Radiol*. 2020;21(4):505-8.
94. Li Y, Yao L, Li J, Chen L, Song Y, Cai Z, et al. Stability issues of RT-PCR testing of SARS-CoV-2 for hospitalized patients clinically diagnosed with COVID-19. *J Med Virol*. 2020;92(7):903-8.
95. Long C, Xu H, Shen Q, Zhang X, Fan B, Wang C, et al. Diagnosis of the Coronavirus disease (COVID-19): rRT-PCR or CT? *Eur J Radiol*. 2020;126:108961.
96. Cao B, Wang Y, Wen D, Liu W, Wang J, Fan G, et al. A Trial of Lopinavir-Ritonavir in Adults Hospitalized with Severe Covid-19. *The New England journal of medicine*. 2020;382(19):1787-99.
97. Dai H, Zhang X, Xia J, Zhang T, Shang Y, Huang R, et al. High-resolution Chest CT Features and Clinical Characteristics of Patients Infected with COVID-19 in Jiangsu, China. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*. 2020;95:106-12.
98. Hani C, Trieu NH, Saab I, Dangeard S, Bennani S, Chassagnon G, et al. COVID-19 pneumonia: A review of typical CT findings and differential diagnosis. *Diagnostic and interventional imaging*. 2020;101(5):263-8.
99. Bernheim A, Mei X, Huang M, Yang Y, Fayad ZA, Zhang N, et al. Chest CT Findings in Coronavirus Disease-19 (COVID-19): Relationship to Duration of Infection. *Radiology*. 2020;295(3):200463.
100. Apostolopoulos ID, Mpesiana TA. Covid-19: automatic detection from X-ray images utilizing transfer learning with convolutional neural networks. *Physical and engineering sciences in medicine*. 2020;43(2):635-40.

101. Long QX, Liu BZ, Deng HJ, Wu GC, Deng K, Chen YK, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nat Med.* 2020;26(6):845-8.
102. Liu W, Liu L, Kou G, Zheng Y, Ding Y, Ni W, et al. Evaluation of Nucleocapsid and Spike Protein-Based Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for Detecting Antibodies against SARS-CoV-2. *J Clin Microbiol.* 2020;58(6).
103. Li Z, Yi Y, Luo X, Xiong N, Liu Y, Li S, et al. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. *J Med Virol.* 2020;92(9):1518-24.
104. Tian X, Li C, Huang A, Xia S, Lu S, Shi Z, et al. Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus-specific human monoclonal antibody. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):382-5.
105. Sreepadmanabh M, Sahu AK, Chande A. COVID-19: Advances in diagnostic tools, treatment strategies, and vaccine development. *J Biosci.* 2020;45(1).
106. Zhou Y, Zhang L, Xie YH, Wu J. Advancements in detection of SARS-CoV-2 infection for confronting COVID-19 pandemics. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology.* 2022;102(1):4-13.
107. Yan C, Cui J, Huang L, Du B, Chen L, Xue G, et al. Rapid and visual detection of 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) by a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.* 2020;26(6):773-9.
108. Lu R, Wu X, Wan Z, Li Y, Zuo L, Qin J, et al. Development of a Novel Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification Method for Rapid Detection of SARS-CoV-2. *Virologica Sinica.* 2020;35(3):344-7.
109. Ku J, Kim S, Park J, Kim TS, Kharbash R, Shin EC, et al. Reactive Polymer Targeting dsRNA as Universal Virus Detection Platform with Enhanced Sensitivity. *Biomacromolecules.* 2020;21(6):2440-54.
110. Broughton JP, Deng X, Yu G, Fasching CL, Servellita V, Singh J, et al. CRISPR-Cas12-based detection of SARS-CoV-2. *Nature biotechnology.* 2020;38(7):870-4.
111. Đurić-Stefanović A. RADIOLOŠKA SLIKA COVID-19 PNEUMONIJE. *Srpski medicinski časopis Lekarske komore.* 2021;2(3).

112. Ye Z, Zhang Y, Wang Y, Huang Z, Song B. Chest CT manifestations of new coronavirus disease 2019 (COVID-19): a pictorial review. *European radiology*. 2020;30:4381-9.
113. Wu J, Wu X, Zeng W, Guo D, Fang Z, Chen L, et al. Chest CT findings in patients with coronavirus disease 2019 and its relationship with clinical features. *Investigative radiology*. 2020;55(5):257-61.
114. Zhang X, Cai H, Hu J, Lian J, Gu J, Zhang S, et al. Epidemiological, clinical characteristics of cases of SARS-CoV-2 infection with abnormal imaging findings. *International Journal of Infectious Diseases*. 2020;94:81-7.
115. Wu S, Xue L, Legido-Quigley H, Khan M, Wu H, Peng X, et al. Understanding factors influencing the length of hospital stay among non-severe COVID-19 patients: A retrospective cohort study in a Fangcang shelter hospital. *PLoS One*. 2020;15(10):e0240959.
116. Rasool G, Riaz M, Abbas M, Fatima H, Qamar MM, Zafar F, et al. COVID-19: Clinical laboratory diagnosis and monitoring of novel coronavirus infected patients using molecular, serological and biochemical markers: A review. *International journal of immunopathology and pharmacology*. 2022;36:03946320221115316.
117. Henry BM, De Oliveira MHS, Benoit S, Plebani M, Lippi G. Hematologic, biochemical and immune biomarker abnormalities associated with severe illness and mortality in coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2020;58(7):1021-8.
118. Guan W-j, Ni Z-y, Hu Y, Liang W-h, Ou C-q, He J-x, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *New England journal of medicine*. 2020;382(18):1708-20.
119. Liu Y, Sun W, Guo Y, Chen L, Zhang L, Zhao S, et al. Association between platelet parameters and mortality in coronavirus disease 2019: Retrospective cohort study. *Platelets*. 2020;31(4):490-6.
120. Yang X, Yang Q, Wang Y, Wu Y, Xu J, Yu Y, et al. Thrombocytopenia and its association with mortality in patients with COVID-19. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2020;18(6):1469-72.
121. Chen Z, Xu W, Ma W, Shi X, Li S, Hao M, et al. Clinical laboratory evaluation of COVID-19. *Clinica Chimica Acta*. 2021;519:172-82.

122. Sadiković S, Branovački B, Oljača M, Mitrović D, Pajić D, Smederevac S. Daily monitoring of emotional responses to the coronavirus pandemic in Serbia: A citizen science approach. *Frontiers in psychology*. 2020;11:2133.
123. Burtscher J, Burtscher M, Millet GP. (Indoor) isolation, stress, and physical inactivity: Vicious circles accelerated by COVID-19? *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2020;30(8):1544-5.
124. Qiu J, Shen B, Zhao M, Wang Z, Xie B, Xu Y. A nationwide survey of psychological distress among Chinese people in the COVID-19 epidemic: implications and policy recommendations. *General psychiatry*. 2020;33(2).
125. de Medeiros Carvalho PM, Moreira MM, de Oliveira MNA, Landim JMM, Neto MLR. The psychiatric impact of the novel coronavirus outbreak. *Psychiatry research*. 2020;286:112902.
126. Marković M. Imunski odgovor na SARS-CoV-2 i pregled vakcina protiv COVID-19. *Medicinski podmladak*. 2021;72(3):20-9.
127. World Health Organization. WHO COVID-19 dashboard. Dostupno na: <https://data.who.int/dashboards/covid19/deaths>. .
128. Wax RS, Christian MD. Practical recommendations for critical care and anesthesiology teams caring for novel coronavirus (2019-nCoV) patients. *Canadian Journal of Anesthesia/Journal canadien d'anesthésie*. 2020;67(5):568-76.
129. Van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN, et al. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *New England journal of medicine*. 2020;382(16):1564-7.
130. Whittle JS, Pavlov I, Sacchetti AD, Atwood C, Rosenberg MS. Respiratory support for adult patients with COVID-19. *Journal of the American College of Emergency Physicians Open*. 2020;1(2):95-101.
131. Brewster DJ, Chrimes N, Do TB, Fraser K, Groombridge CJ, Higgs A, et al. Consensus statement: Safe Airway Society principles of airway management and tracheal intubation specific to the COVID-19 adult patient group. *Med J Aust*. 2020;212(10):472-81.
132. Wang M, Cao R, Zhang L, Yang X, Liu J, Xu M, et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell research*. 2020;30(3):269-71.

133. Fantini J, Di Scala C, Chahinian H, Yahi N. Structural and molecular modelling studies reveal a new mechanism of action of chloroquine and hydroxychloroquine against SARS-CoV-2 infection. *International journal of antimicrobial agents*. 2020;55(5):105960.
134. Gautret P, Lagier J-C, Parola P, Meddeb L, Mailhe M, Doudier B, et al. Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. *International journal of antimicrobial agents*. 2020;56(1):105949.
135. Chen Z, Hu J, Zhang Z, Jiang S, Han S, Yan D, et al. Efficacy of hydroxychloroquine in patients with COVID-19: results of a randomized clinical trial. *medrxiv*. 2020:2020.03.22.20040758.
136. Silva Borba MG, Almeida Val FF, Sampaio VS, Araújo Alexandre MA, Melo GC, Brito M, et al. Chloroquine diphosphate in two different dosages as adjunctive therapy of hospitalized patients with severe respiratory syndrome in the context of coronavirus (SARS-CoV-2) infection: Preliminary safety results of a randomized, double-blinded, phase IIb clinical trial (CloroCovid-19 Study). *MedRxiv*. 2020:2020.04.07.20056424.
137. Magagnoli J, Narendran S, Pereira F, Cummings TH, Hardin JW, Sutton SS, et al. Outcomes of hydroxychloroquine usage in United States veterans hospitalized with Covid-19. *Med*. 2020;1(1):114-27. e3.
138. Mahévas M, Tran V-T, Roumier M, Chabrol A, Paule R, Guillaud C, et al. No evidence of clinical efficacy of hydroxychloroquine in patients hospitalised for COVID-19 infection and requiring oxygen: results of a study using routinely collected data to emulate a target trial. *medrxiv*. 2020:2020.04.10.20060699.
139. Halpin DM, Singh D, Hadfield RM. Inhaled corticosteroids and COVID-19: a systematic review and clinical perspective. *European Respiratory Journal*. 2020;55(5).
140. Ma Y, Zeng H, Zhan Z, Lu H, Zeng Z, He C, et al. Corticosteroid use in the treatment of COVID-19: a multicenter retrospective study in Hunan, China. *Frontiers in pharmacology*. 2020;11:1198.
141. Singh AK, Majumdar S, Singh R, Misra A. Role of corticosteroid in the management of COVID-19: A systemic review and a Clinician's perspective. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. 2020;14(5):971-8.

142. Chen L, Xiong J, Bao L, Shi Y. Convalescent plasma as a potential therapy for COVID-19. *The Lancet infectious diseases*. 2020;20(4):398-400.
143. Keith P, Day M, Perkins L, Moyer L, Hewitt K, Wells A. A novel treatment approach to the novel coronavirus: an argument for the use of therapeutic plasma exchange for fulminant COVID-19. *BioMed Central*; 2020. p. 1-3.
144. Zhang B, Liu S, Tan T, Huang W, Dong Y, Chen L, et al. Treatment with convalescent plasma for critically ill patients with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection. *Chest*. 2020;158(1):e9-e13.
145. Duan K, Liu B, Li C, Zhang H, Yu T, Qu J, et al. Effectiveness of convalescent plasma therapy in severe COVID-19 patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2020;117(17):9490-6.
146. Yang Y, Shen C, Li J, Yuan J, Yang M, Wang F, et al. Exuberant elevation of IP-10, MCP-3 and IL-1ra during SARS-CoV-2 infection is associated with disease severity and fatal outcome. *MedRxiv*. 2020:2020.03. 02.20029975.
147. Zhang C, Wu Z, Li J-W, Zhao H, Wang G-Q. Cytokine release syndrome in severe COVID-19: interleukin-6 receptor antagonist tocilizumab may be the key to reduce mortality. *International journal of antimicrobial agents*. 2020;55(5):105954.
148. Chen C, ZHANG X, JU Z, HE W. Advances in the research of cytokine storm mechanism induced by Corona Virus Disease 2019 and the corresponding immunotherapies. *Chinese journal of burns*. 2020:E005-E.
149. Zhang Y, Yu L, Tang L, Zhu M, Jin Y, Wang Z, et al. A promising anti-cytokine-storm targeted therapy for COVID-19: the artificial-liver blood-purification system. *Engineering (Beijing, China)*. 2021;7(1):11.
150. Ma J, Xia P, Zhou Y, Liu Z, Zhou X, Wang J, et al. Potential effect of blood purification therapy in reducing cytokine storm as a late complication of critically ill COVID-19. *Clinical Immunology (Orlando, Fla)*. 2020;214:108408.
151. Williams JG, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic acids research*. 1990;18(22):6531-5.

152. Orita M, Iwahana H, Kanazawa H, Hayashi K, Sekiya T. Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1989;86(8):2766-70.
153. Krivokapić Z, Pavlović-Marković A, Plješa-Ercegovac M, Simić T, Barišić G. Određivanje polimorfizama gena za glutation transferazu i biohemijskih markera kod bolesnika sa kolorektalnim karcinomom: Универзитет у Београду, Медицински факултет; 2020.
154. Ilić BB. Ispitivanje polimorfizama gena za metilentetrahidrofolat reduktazu, glutation transferazu, faktor nekroze tumora alfa i njegove receptore u epitelnim tumorima usne duplje. Универзитет у Београду. 2016.
155. Soni S, Kaur J, Kumar A, Chakravarti N, Mathur M, Bahadur S, et al. Alterations of rb pathway components are frequent events in patients with oral epithelial dysplasia and predict clinical outcome in patients with squamous cell carcinoma. *Oncology*. 2005;68(4-6):314-25.
156. Kirac I. Utvrđivanje učestalosti rizičnih genskih polimorfizama rs10795668 (LOC338591), rs16892766 (EIF3H), rs3802842.
157. Ginsberg G, Smolenski S, Hattis D, Guyton KZ, Johns DO, Sonawane B. Genetic polymorphism in glutathione transferases (GST): population distribution of GSTM1, T1, and P1 conjugating activity. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*. 2009;12(5-6):389-439.
158. Hayes JD, Strange RC. Glutathione S-transferase polymorphisms and their biological consequences. *Pharmacology*. 2000;61(3):154-66.
159. Dasari S, Ganjayi MS, Meriga B. Glutathione S-transferase is a good biomarker in acrylamide induced neurotoxicity and genotoxicity. *Interdisciplinary Toxicology*. 2018;11(2):115-21.
160. Sheehan D, Meade G, Foley VM, Dowd CA. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochemical journal*. 2001;360(1):1-16.
161. Daniel V. Glutathione S-transferases: gene structure and regulation of expression. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*. 1993;28(3):173-207.

162. Okcu MF, Selvan M, Wang L-E, Stout L, Erana R, Airewele G, et al. Glutathione S-transferase polymorphisms and survival in primary malignant glioma. *Clinical cancer research*. 2004;10(8):2618-25.
163. Allocati N, Masulli M, Di Ilio C, Federici L. Glutathione transferases: substrates, inhibitors and pro-drugs in cancer and neurodegenerative diseases. *Oncogenesis*. 2018;7(1):8.
164. Bowatte G, Lodge CJ, Perret JL, Matheson MC, Dharmage SC. Interactions of GST polymorphisms in air pollution exposure and respiratory diseases and allergies. *Current allergy and asthma reports*. 2016;16:1-9.
165. Saadat M. An evidence for correlation between the glutathione S-transferase T1 (GSTT1) polymorphism and outcome of COVID-19. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*. 2020;508:213.
166. Speeckaert MM, De Buyzere ML, Delanghe JR. Vitamin D binding protein polymorphism and COVID-19. *Journal of Medical Virology*. 2021;93(2).
167. Speeckaert MM, Delanghe JR. Vitamin D binding protein: a polymorphic protein with actin-binding capacity in COVID-19. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif)*. 2021;97:111347.
168. Karcioglu Batur L, Hekim N. The role of DBP gene polymorphisms in the prevalence of new coronavirus disease 2019 infection and mortality rate. *Journal of Medical Virology*. 2021;93(3):1409-13.
169. Singh D, Wasan H, Reeta K. Heme oxygenase-1 modulation: A potential therapeutic target for COVID-19 and associated complications. *Free Radical Biology and Medicine*. 2020;161:263-71.
170. Fakhouri EW, Peterson SJ, Kothari J, Alex R, Shapiro JI, Abraham NG. Genetic polymorphisms complicate COVID-19 therapy: pivotal role of HO-1 in cytokine storm. *Antioxidants*. 2020;9(7):636.
171. Bolt H, Thier R. Relevance of the deletion polymorphisms of the glutathione S-transferases GSTT1 and GSTM1 in pharmacology and toxicology. *Current drug metabolism*. 2006;7(6):613-28.
172. Choudhary S, Sreenivasulu K, Mitra P, Misra S, Sharma P. Role of genetic variants and gene expression in the susceptibility and severity of COVID-19. *Annals of laboratory medicine*. 2021;41(2):129-38.

173. Colona VL, Vasiliou V, Watt J, Novelli G, Reichardt JK. Update on human genetic susceptibility to COVID-19: susceptibility to virus and response. Springer; 2021. p. 1-8.
174. Kaltoum ABO. Mutations and polymorphisms in genes involved in the infections by covid 19: a review. *Gene reports*. 2021;23:101062.
175. Swiderska-Kołaczk G, Klusek J, Kołataj A. The effect of melatonin on glutathione and glutathione transferase and glutathione peroxidase activities in the mouse liver and kidney in vivo. *Neuroendocrinology Letters*. 2006;27(3).
176. Muzaffar U, Fakiruddin KS, Talebiashtiany Y, Abdullah S. Delving deeper in the eye of the hurricane: Immunopathogenesis & molecular characterization of cytokine storm in COVID-19, association with disease severity & the therapeutic regimens. *Cytokine*. 2025;195:157025.
177. Del Valle DM, Kim-Schulze S, Huang H-H, Beckmann ND, Nirenberg S, Wang B, et al. An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nature medicine*. 2020;26(10):1636-43.
178. Coperchini F, Chiovato L, Croce L, Magri F, Rotondi M. The cytokine storm in COVID-19: An overview of the involvement of the chemokine/chemokine-receptor system. *Cytokine & growth factor reviews*. 2020;53:25-32.
179. Williamson EJ, Walker AJ, Bhaskaran K, Bacon S, Bates C, Morton CE, et al. Factors associated with COVID-19-related death using OpenSAFELY. *Nature*. 2020;584(7821):430-6.
180. Frolidi G, Dorigo P. Endothelial dysfunction in Coronavirus disease 2019 (COVID-19): Gender and age influences. *Medical hypotheses*. 2020;144:110015.
181. Alkhalil E, Jarad B, Saleh T, Aldarwish W, Joujeh D. BioNTech/Pfizer (BNT162b2) COVID-19 mRNA vaccine: Manufacturing, immunogenicity, efficacy and safety. *Prospects in Pharmaceutical Sciences*. 2025;23(1):31-46.
182. 2 WgWglPGAASJKM, leader Mat, 1 Matmm-aMJ, Manuscript analyses team member: heritability m, supplements, PHEWAS Matm, et al. Mapping the human genetic architecture of COVID-19. *Nature*. 2021;600(7889):472-7.
183. Laforge M, Elbim C, Frère C, Hémadi M, Massaad C, Nuss P, et al. Tissue damage from neutrophil-induced oxidative stress in COVID-19. *Nature Reviews Immunology*. 2020;20(9):515-6.

184. Cecerska-Heryć E, Serwin N, Pius-Sadowska E, Głowacka K, Polikowska A, Goszka M, et al. Investigation of Antioxidant Enzymes (GST, GSH, R-GSSG) in Erythrocytes of COVID-19 Patients: A One-Month Observation. *Journal of Inflammation Research*. 2025;12783-800.
185. Chernyak B, Popova E, Prikhodko A, Grebenchikov O, Zinovkina L, Zinovkin R. COVID-19 and oxidative stress. *Biochemistry (Moscow)*. 2020;85(12):1543-53.
186. Sharif-Askari NS, Sharif-Askari FS, Mdkhana B, Alsayed HAH, Alsafar H, Alrais ZF, et al. Upregulation of oxidative stress gene markers during SARS-COV-2 viral infection. *Free Radical Biology and Medicine*. 2021;172:688-98.
187. Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR. Glutathione transferases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2005;45(1):51-88.
188. Ding Z, Wang K, Li J, Tan Q, Tan W, Guo G. Association between glutathione S-transferase gene M1 and T1 polymorphisms and chronic obstructive pulmonary disease risk: a meta-analysis. *Clinical genetics*. 2019;95(1):53-62.
189. Villegas Sánchez V, Chávez Pacheco JL, Palacios Arreola MI, Sierra-Vargas MP, Colín Godínez LA, Ahumada Topete VH, et al. A systematic review of genetic variants in glutathione S-Transferase genes and their dual role in SARS-CoV-2 pathogenesis: from acute respiratory complications to long COVID. *Antioxidants*. 2025;14(8):912.
190. Abbas M, Verma S, Verma S, Siddiqui S, Khan FH, Raza ST, et al. Association of GSTM1 and GSTT1 gene polymorphisms with COVID-19 susceptibility and its outcome. *Journal of Medical Virology*. 2021;93(9):5446-51.
191. Coric V, Milosevic I, Djukic T, Bukumiric Z, Savic-Radojevic A, Matic M, et al. GSTP1 and GSTM3 variant alleles affect susceptibility and severity of COVID-19. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2021;8:747493.
192. Crapo J. Oxidative stress as an initiator of cytokine release and cell damage. *European Respiratory Journal*. 2003;22(44 suppl):4s-6s.
193. B-Rao C. Sample size considerations in genetic polymorphism studies. *Human Heredity*. 2001;52(4):191-200.
194. Organization WH. Clinical management of COVID-19 patients: living guideline, 23 November 2021. 2022.

195. NIAID-RML C. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Treatment Guidelines. Nih gov Published. 2020.
196. Gupta K, Kaur G, Pathak T, Banerjee I. Systematic review and meta-analysis of human genetic variants contributing to COVID-19 susceptibility and severity. *Gene*. 2022;844:146790.
197. Srivastava DSL, Jain VK, Verma P, Yadav JP. Polymorphism of glutathione S-transferase M1 and T1 genes and susceptibility to psoriasis disease: A study from North India. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*. 2018;84:39.
198. Miller EA, Pankow JS, Millikan RC, Bray MS, Ballantyne CM, Bell DA, et al. Glutathione-S-transferase genotypes, smoking, and their association with markers of inflammation, hemostasis, and endothelial function: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. *Atherosclerosis*. 2003;171(2):265-72.
199. Djukić T, Stevanović G, Ćorić V, Bukumirić Z, Plješa-Ercegovac M, Matić M, Jerotić Dj, Ašanin M, Ercegovac M, Ranin J, Milošević I, Simić T, Savić-Radojević A. The association of glutathione transferase omega polymorphisms with laboratory inflammatory parameters in COVID-19 *Medicinska istraživanja* 2022; 55(1):59-66 DOI: 10.5937/medi55-38002.
200. Marković M, Ranin J, Bukumirić Z, Jerotić D, Savić-Radojević A, Plješa-Ercegovac M, et al. GPX3 variant genotype affects the risk of developing severe forms of COVID-19. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(22):16151.
201. Azevedo MLV, Zanchettin AC, Vaz de Paula CB, Motta Júnior JDS, Malaquias MAS, Raboni SM, et al. Lung Neutrophilic Recruitment and IL-8/IL-17A Tissue Expression in COVID-19. *Front Immunol*. 2021;12:656350.
202. Sljivancanin Jakovljević T, Kantić-Vucinić O, Nikolić N, Čarkić J, Soldatović I, Milasin J. Glutathione-S-transferase M1 polymorphism and pro-inflammatory cytokines tumour necrosis factor- α and interleukin-1 β are associated with preeclampsia in Serbian women. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2019;81(5):e13105.
203. Lakhdar R, Denden S, Mouhamed MH, Chalgoum A, Leban N, Knani J, et al. Correlation of EPHX1, GSTP1, GSTM1, and GSTT1 genetic polymorphisms with antioxidative stress markers in chronic obstructive pulmonary disease. *Experimental lung research*. 2011;37(4):195-204.

204. Liu M, Wang H, Liu L, Cui S, Huo X, Xiao Z, et al. Risk of COVID-19 infection, hospitalization and mortality in psoriasis patients treated with interleukin-17 inhibitors: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Immunology*. 2022;13:1046352.
205. Mahajan S, Mahajan S, Gusain A. Interleukins in COVID-19 and SARS-CoV-2 Variants: Immunopathogenesis, Therapeutic Perspectives and Vaccine-Induced Immune Responses. *International Journal of Molecular Sciences*. 2026;27(3):1391.

БИОГРАФИЈА

Др Бобан Столић, Специјалиста Инфектологије, ожењен из Београда, рођен 18. фебруара 1986. године у Приштини. Основно образовање и Средњу медицинску школу, завршио са одличним успехом и проглашен за ђака генерације. Дипломирао 26.11.2011. године на Медицинском факултету у Приштини са привременим седиштем у Косовској Митровици, на одсеку општа медицина, са просечном оценом 8,45. Докторске студије уписао 2011/2012 године, на Медицинском факултету у Приштини-Косовској Митровици, где је завршио и специјалистичке студије из Инфектологије 13.12.2018. године са одличним успехом. Од 2012. године, запошљен у КБЦ Приштина-Грачаница и то прво као Клинички лекар на Педијатрији, а од 2013. године, као Клинички лекар на Инфектологији, а по завршетку специјализације и као Инфектолог. Од 2013. године, у настави на Медицинском факултету у Приштини-Косовској Митровици, у звању Сарадник у настави, Сарадник клиничар и Асистент на катедри за Инфективне болести и Дерматовенерологију. Члан Савета Медицинског факултета у Приштини-Косовској Митровици у шестомесечном периоду. Ментор рада на 58-ом и 64-ом Конгресу студената биомедицинских наука Србије са интернационалним учешћем. По избијању епидемије 2020. године, *covid-19* вирусне инфекције, један од оснивача и организатора одељења и то као начелник и кординатор. Лекарска комора Србије, додељује ми диплому за велики допринос у борби против пандемије изазване *covid-19* вирусом 2021. године. 2021. године, уписао Субспецијалистичке студије из Гастроентерохепатологије на Медицинском факултету у Београду.

БИБЛИОГРАФИЈА

Др Бобан Столић

Радови категорије М23

1. **Boban Stolić**, Nataša Katanić, Bojan Joksimović, Jelena Filimonović, Ksenija Bojović, Aleksandar Pavlović, Jasmina Poluga, Nikolina Elez-Burnjaković, Biljana Mijović, Nenad Lalović, Milena Anđelković, Milica Milentijević, Siniša Ristić, Miloš Vasiljević, Alma Prtina, Miljan Adamović, Marija Milić. Association of GSTM1 and GSTT1 Null Genotypes with Disease Severity and Serum Cytokine Levels in Hospitalized COVID-19 Patients. COVID 2026, DOI: 10.3390/covid6040067
2. Aritonovic-Pribakovic Jelena, Katanic Natasa, Radevic Tatjana, Stojanovic-Tasic Mirjana, Kostic Mirjana, **Stolic Boban**, Radulovic Aleksandra, Minic Verica, Bojovic Ksenija, Katanic Radoslav. Serological status of childbearing-aged women for Toxoplasma gondii and cytomegalovirus in northern Kosovo and Metohia. Revista da sociedade brasileira de medicina tropical 2019, vol 52.
3. Stolic RV, Trajkovic GZ, Pavlovic V, Matijasevic IR, Jaksic MD, Mirkovic ZM, Smilic LjLJ, Milinic SB, Odalovic D, Vasic A, **Stolic BZ**. EFFECTS OF STRENGTH TRAINING PROGRAM ON MUSCLE MASS IN PATIENTS ON HEMODIALYSIS, ACTA MEDICA MEDITERRANEA, 2018, vol. 34, p1551-1556.

Радови категорије М52

1. **Stolić B**, Katanić R, Katanić N, Odalović D, Aritonović Pribaković J, Odalović A, Stolić A, Radomirović D, Vujačić M, Ilić V. Infekcije urinarnog trakta kod dece i rezistencija uzročnika na antimikrobne lekove. Praxis Medica 2018, vol. 47, Number 2.
2. Odalović A, Pavlica D, Katanić N, Parlić M, Aritonović J, Bukumirić Z, **Stolić B**. Prevalenca anti HBV i anti HCV antitela kod rizičnih grupa pacijenata. Praxis Medica 2018, vol. 47, Number 3.
3. Aritonović Pribaković J, Katanić N, Katanić R, Ilić A, Minić V, Relić M, Milić A, **Stolić B**. Faktori rizika za infekciju Toxoplasma gondii za žene u reproduktivnom period na teritoriji Severne Kosovske Mitrovice. Praxis Medica 2015, vol. 44, Number 4, 35-38.
4. Ničković V, Odalović A, Aritonović J, **Stolić B**. Komparacija kliničkih, biohemijskih i morfoloških parametara kod pacijenata sa hroničnim hepatitisom B. Praxis Medica 2017, vol. 46, Number 3-4, 13-17.

Радови презентовани на интернационалним конгресима:

1. Ničković V, Katanić N, Katanić R, Kocić B, Ranković Z, Jovanović M, Odalović A, Aritonović J, Kocić I, **Stolić B**. Epidemiological and clinical characteristics of chronic hepatitis B. 50 th Days of preventive medicine, International congress, Niš 2016.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а: **Бобан З. Столић**

број индекса: **71/11**

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Повезаност полиморфизма гена за глутатион трансферазу са тежином клиничке слике код хоспитализованих болесника са *covid-19* инфекцијом

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанта

У Косовској Митровици, 2026.

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора: **Бобан З. Столић**

Број индекса: **71/11**

Студијски програм: Докторске академске студије

Наслов рада: **Повезаност полиморфизма гена за глутатион трансферазу са тежином клиничке слике код хоспитализованих болесника са *covid-19* инфекцијом**

Ментор: Проф.др Наташа Катанић, Доц.др Марија Милић

Потписани/а: **Бобан З. Столић**

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Приштини, са привременим седиштем у Косовској Митровици.**

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Приштини, са привременим седиштем у Косовској Митровици.

Потпис докторанта

У Косовској Митровици, 2026.

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Приштини, са привременим седиштем у Косовској Митровици унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Повезаност полиморфизма гена за глутатион трансферазу са тежином клиничке слике код хоспитализованих болесника са *covid-19* инфекцијом

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Приштини са привременим седиштем у Косовској Митровици могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанта

У Косовској Митровици, 2026.

1. Ауторство - Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. Ауторство – без прераде. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.