

# Utjecaj omjera neutrofila i limfocita u predikciji smrtnog ishoda pacijenata s COVID-19 infekcijom

---

Rakonić, Barbara

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:870771>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-16**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**

**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**SVEUČILIŠNI PRIJEDIPLOMSKI STUDIJ MEDICINSKO**

**LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA**

**Barbara Rakonić**

**UTJECAJ OMJERA NEUTROFILA I  
LIMFOCITA U PREDIKCIJI SMRTNOG  
ISHODA PACIJENATA S COVID-19  
INFEKCIJOM**

**Završni rad**

**Osijek, 2024.**

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**

**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**SVEUČILIŠNI PRIJEDIPLOMSKI STUDIJ MEDICINSKO**

**LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA**

**Barbara Rakonić**

**UTJECAJ OMJERA NEUTROFILA I  
LIMFOCITA U PREDIKCIJI SMRTNOG  
ISHODA PACIJENATA S COVID-19  
INFEKCIJOM**

**Završni rad**

**Osijek, 2024.**

Rad je ostvaren u: Klinika za infektologiju, KBC Osijek

Mentor rada: doc. dr. sc. Sanja Mandić, mag. med. biochem., spec. med. biokemije

Neposredni voditelj: Luka Švitek, dr. med.

Rad sadrži 26 stranica, tri tablice i jednu sliku.

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>1.1. Teški akutni respiratorni sindrom koronavirus 2 (SARS-CoV-2)</b> .....	1
1.1.1. Kliničke manifestacije bolesti COVID-19 .....	2
<b>1.2. Neutrofili</b> .....	3
<b>1.3. Limfociti</b> .....	4
<b>1.4. Omjer neutrofila i limfocita</b> .....	5
<b>2. HIPOTEZA</b> .....	6
<b>3. CILJEVI</b> .....	7
<b>4. ISPITANICI I METODE</b> .....	8
<b>4.1. Ustroj studije</b> .....	8
<b>4.2. Ispitanici</b> .....	8
<b>4.3. Metode</b> .....	9
<b>4.4. Dijagnostičke metode</b> .....	9
4.4.1. Kompletna krvna slika (KKS).....	9
4.4.2. PCR testiranje COVID-19 bolesti .....	9
4.4.3. Imunokromatografski test na SARS-CoV-2 virus .....	10
<b>4.5. Statističke metode</b> .....	11
<b>5. REZULTATI</b> .....	12
<b>6. RASPRAVA</b> .....	16
<b>7. ZAKLJUČAK</b> .....	19
<b>8. SAŽETAK</b> .....	20
<b>9. SUMMARY</b> .....	21
<b>10. LITERATURA</b> .....	22
<b>11. ŽIVOTOPIS</b> .....	26

## 1. UVOD

### 1.1. Teški akutni respiratorni sindrom koronavirus 2 (SARS-CoV-2)

U proteklih nekoliko godina, globalna pandemija bolesti uzrokovane koronavirusom 19 (engl. *Coronavirus Disease 2019*), skraćeno COVID-19, ozbiljno je testirala učinkovitost i izdržljivost zdravstvenih sustava, gospodarstva i društva u cjelini. Pandemija je uzrokovala značajne promjene u načinu života ljudi i globalnoj ekonomiji. Također, došlo je do značajnih promjena u načinu funkcioniranja zdravstvenog sustava. Mnoge države uvele su *lockdown* (prev. zatvaranje), mjere socijalne distance i masovno testiranje kako bi suzbile širenje virusa. Zdravstveni radnici suočili su se s bezbrojnim izazovima u pružanju adekvatne skrbi pacijentima.

Koronavirus (lat. *Coronaviridae*) je prvi put identificiran 1960-ih godina kao zoonotski RNA virus sposoban prenijeti se sa životinja na ljude, uzrokujući respiratorne i crijevne infekcije. Do sada je poznato sedam koronavirusa koji mogu zaraziti ljude, od kojih četiri uzrokuju obične prehlade s blagim simptomima poput vrućice i upale grla (1). Ipak, koronavirusi su privukli globalnu pozornost tek tijekom izbijanja teškog akutnog respiratornog sindroma (SARS) između 2002. i 2003. godine, kada je zaraženo više od 8000 ljudi, s približno 9,6 % smrtnih ishoda (2). Kasnije se pojavila još jedna epidemija – Bliskoistočni respiratorni sindrom (MERS-*Middle East respiratory syndrome*) 2012. godine, sa smrtnosti od oko 34,4 % (3).

Treći, najopasniji koronavirus, poznat kao SARS-CoV-2 (engl. *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*), identificiran je po prvi put u prosincu 2019. u kineskom gradu Wuhanu (4). Nastala bolest, COVID-19, manifestira se u raznolikim kliničkim oblicima, od blagih simptoma do ozbiljnih respiratornih komplikacija, često s fatalnim ishodom.

Prema izvješćima Svjetske zdravstvene organizacije (engl. *World Health Organization*, WHO) do srpnja 2024. godine, evidentirano je više od 775 milijuna potvrđenih slučajeva COVID-19, od kojih je više od 7 milijuna rezultiralo smrtonosnim ishodom. Prosječna stopa smrtnosti iznosi 0,9 %, čime je ova pandemija izazvala značajan utjecaj na stabilnost medicinskih sustava i globalnu ekonomiju (5). S obzirom na ozbiljnost situacije i kompleksnost bolesti, istraživači su se usmjerili na identifikaciju markera koji mogu poboljšati dijagnostiku, predviđanje težine

bolesti te pravovremeno i učinkovito liječenje pacijenata zaraženih ovim virusom. Pandemija COVID-19 predstavljala je globalni izazov te je prisilila medicinsku zajednicu na brzu reakciju i odgovor na nove i nepoznate izazove koje je ovaj virus stavio pred nju. U tom kontekstu, pouzdani i lako dostupni biomarkeri bili su od neprocjenjive važnosti. Parametri rutinske analize krvi jedni su od najčešće provedenih laboratorijskih testova u kliničkoj praksi jer su brzi, jednostavni i ekonomični te odražavaju stanje upale u organizmu. Oni su od ključne važnosti za ranu dijagnozu COVID-19 i procjenu prognoze bolesti. Hematološki markeri, poput omjera neutrofila i limfocita (engl. *neutrophil to lymphocyte ratio*, NLR), izdvajaju se kao potencijalni alat za procjenu težine bolesti te omogućuju bolju prilagodbu terapije pacijentovim potrebama. (6)

#### 1.1.1. Kliničke manifestacije bolesti COVID-19

Prema WHO, bolest COVID-19 se klasificira prema težini simptoma i kliničkom stanju pacijenta u četiri glavne kategorije. To su blaga, umjerena, ozbiljna i kritična. Klasifikacija se provodi kako bi se osigurala adekvatna medicinska intervencija i prilagodili terapijski pristupi na temelju težine bolesti.

Blagi tip COVID-19 karakterizira blaga klinička slika u kojoj su simptomi, kao što su vrućica, kašalj i umor minimalni. Pacijenti s ovim oblikom bolesti obično nemaju značajnih problema s disanjem ili ozbiljnijih simptoma, što omogućava njihovo liječenje kod kuće uz praćenje, a simptomi prolaze kroz dva tjedna. Umjereni tip bolesti uključuje prisutnost simptoma poput povišene tjelesne temperature, kašlja i drugih respiratornih simptoma, dok se na kompjuterskoj tomografiji (CT-u) prsnog koša može uočiti upala pluća. Ovi pacijenti često zahtijevaju medicinsku njegu i praćenje, iako obično ne doživljavaju teže oblike respiratornih problema. (7)

U istraživanju koje su proveli Xia i sur. klasificirali su pacijente s ozbiljnim i kritičnim oblikom COVID-19 prema sljedećim kriterijima. Pacijenti s ozbiljnim tipom COVID-19 imaju frekvenciju disanja 30 ili više u minuti, saturaciju kisika veću od 93 % u mirovanju, parcijalni tlak kisika u arterijskoj krvi manji ili jednak 300 mm Hg te napredovanje lezije u plućima u opsegu većem od 50 % unutar 24-48 sati na CT-u. Kritično bolesni pacijenti imaju respiratorno

zatajenje koje zahtijeva mehaničku ventilaciju, pojava šoka ili disfunkciju drugih organa koja zahtijeva intenzivnu njegu u jedinici intenzivnog liječenja (JIL). Pacijenti u ovoj fazi bolesti suočavaju se s ozbiljnim komplikacijama koje zahtijevaju kompleksnu i sveobuhvatnu medicinsku intervenciju. (8)

Razumijevanje ovih kliničkih varijacija ključno je za pravovremeno prepoznavanje različitih stupnjeva bolesti, što doprinosi poboljšanju ishoda liječenja i optimalnom korištenju zdravstvenih resursa.

## 1.2. Neutrofili

Neutrofili su vrsta bijelih krvnih stanica koje su važan dio imunološkog sustava i pomažu tijelu u borbi protiv infekcija. Kada mikroorganizmi, kao što su bakterije ili virusi, uđu u tijelo, neutrofili su među prvim imunološkim stanicama koje odgovaraju. Oni nastaju u koštanoj srži i putuju kroz krv, tkiva i limfne čvorove do mjesta infekcije, gdje uništavaju mikroorganizme. Fagocitiraju ih i otpuštaju enzime koji ih ubijaju, a također pojačavaju odgovor drugih imunoloških stanica (9).

Neutrofili čine od 50 % do 80 % svih bijelih krvnih stanica u tijelu. Neutrofilija je stanje povećanog broja neutrofila, a neutropenija stanje sniženog broja neutrofila. Cirkulirajući neutrofili su zreli neutrofili u tranzitu iz koštane srži u perifernu krv. Životni vijek neutrofila je u koštanoj srži ljudi približno deset dana, dok je u krvi njihov poluzivot kraći od 8 sati (10). Proizvodnja, proliferacija, diferencijacija i ulazak neutrofila u perifernu krv strogo su regulirani citokinima i kontrolirani različitim faktorima transkripcije i rasta (11). Uobičajeni uzroci visokog broja neutrofila uključuju infekcije, upale, ozljede, određene vrste leukemije i reakcije na lijekove. Također, način života može značajno utjecati na rizik od nastanka neutrofilije. Neki od čimbenika su pušenje, izloženost stresu, razina tjelovježbe itd. (12). Uzroci niskog broja neutrofila uključuju infekcije, kemoterapiju, poremećaje koštane srži, nedostatak vitamina i autoimune bolesti (13).

Nedavna su istraživanja uočila značajan porast broja neutrofila kod pacijenata s COVID-19 (14,15). Chen i sur. (16) su pokazali da su pacijenti s teškim ili kritičnim oblikom COVID-19 pri prijemu imali znatno veći broj neutrofila nego pacijenti s blagim ili srednje teškim oblikom



COVID-19. Osim toga, povišen broj neutrofila povezan je s povećanom težinom bolesti i lošijom prognozom. Slično tome, Chiang i sur. su primijetili da značajno povišen broj neutrofila može poslužiti kao pokazatelj za procjenu težine bolesti (17).

### 1.3. Limfociti

Limfociti su vrsta bijelih krvnih stanica koje igraju ključnu ulogu u našem imunološkom sustavu, pomažući tijelu u borbi protiv bolesti i infekcija. Imunološki sustav je vrlo složena mreža koja uključuje imunološke stanice, limfne čvorove, limfno tkivo i limfne organe. Razlikujemo dvije glavne vrste limfocita: T limfocite (T stanice) i B limfocite (B stanice). Kada dođu u kontakt s antigenom (stranim tijelom), neki limfociti se pretvaraju u memorijske stanice koje omogućuju brzu reakciju pri ponovnom susretu s istim antigenom. T i B stanice međusobno surađuju, svaka sa specifičnom funkcijom. T stanice kontroliraju imunološki odgovor tijela i direktno napadaju i uništavaju zaražene stanice i tumorske stanice, dok B stanice proizvode antitijela protiv virusa, bakterija i drugih stranih napadača. Odgovor B stanica na antigen može biti primarni, kada prvi put naiđu na antigen, ili sekundarni, kada se ponovno susretnu s istim antigenom, što omogućuje brži i efikasniji odgovor. Limfociti se razvijaju u koštanoj srži, a zatim sazrijevaju i cirkuliraju kroz krvotok te se nalaze u svim dijelovima limfnog sustava. Neki od njih putuju do timusne žlijezde i postaju T stanice, dok drugi putuju do limfnih čvorova i organa, gdje postaju B stanice. Normalan broj limfocita varira ovisno o dobi, rasi, spolu, nadmorskoj visini i životnom stilu. Kod odraslih, normalni raspon je između 1000 i 4800 limfocita po mikrolitru krvi. Povećan broj limfocita, poznat kao limfocitoza, obično je znak infekcije ili bolesti, dok smanjen broj limfocita, poznat kao limfocitopenija, može biti uzrokovan ozbiljnim stanjima poput HIV-a, tuberkuloze, virusnog hepatitisa, autoimunih bolesti ili nuspojavama kemoterapije i zračenja (18).

Prema smjernicama za dijagnozu i liječenje COVID-19 (19), u ranoj fazi bolesti broj bijelih krvnih stanica može biti normalan, dok je broj limfocita često smanjen. Istraživanja, poput onog kojeg su proveli Tan i suradnici (20), pokazuju da je postotak limfocita obrnuto proporcionalan težini bolesti te da može služiti kao prediktor prognoze. Ova otkrića sugeriraju da promjene u perifernoj krvi pacijenata zaraženih SARS-CoV-2 mogu pružiti važne informacije za dijagnozu, liječenje i prognozu bolesti.

#### 1.4. Omjer neutrofila i limfocita

Jedan od važnih izazova u liječenju COVID-19 jest razlikovanje između pacijenata s blagim i teškim oblikom bolesti te pravovremeno predviđanje rizika od smrtonosnog ishoda. Hematološki biomarkeri, među kojima se ističe omjer neutrofila i limfocita (NLR), postali su predmetom intenzivnog istraživanja kao potencijalnog pokazatelja sistemskog upalnog odgovora i ozbiljnosti bolesti. NLR je lako dostupan biomarker koji se može izračunati iz diferencijalne krvne slike. Prediktivna uloga NLR-a potvrđena je u različitim bolestima, uključujući ulcerozni kolitis, dijabetes melitus, kardiovaskularne bolesti, tiroiditis i funkcionalne poremećaje crijeva (21-25). Štoviše, brojne studije upućuju da je NLR pouzdan prediktor progresije COVID-19 te da je povišeni NLR povezan s visokom smrtnošću (26-28).

Ovaj rad ima za cilj istražiti važnost hematoloških biomarkera, s naglaskom na NLR, u predikciji smrtnog ishoda pacijenata zaraženih SARS-CoV-2. Važnost ovakvih istraživanja postavlja se u kontekstu potrebe za preciznijim dijagnostičkim alatima, personaliziranim terapijskim pristupima te kvalitetnijim trijažiranjem pacijenata.

## **2. HIPOTEZA**

Omjer neutrofila i limfocita u krvi bolesnika s COVID-19 infekcijom može pomoći u predviđanju smrtnog ishoda.

### **3. CILJEVI**

Glavni cilj:

Cilj je ovog istraživanja analizirati prognostičku vrijednost omjera neutrofila i limfocita (NLR) u pacijenata zaraženih virusom SARS-CoV-2.

Specifični ciljevi:

1. Ispitati razliku omjera neutrofila i limfocita među pacijentima koji su preživjeli u odnosu na pacijente koji su imali smrtni ishod.
2. Odrediti graničnu vrijednost omjera neutrofila i limfocita u predviđanju smrtnog ishoda.
3. Odrediti specifičnost i osjetljivost omjera neutrofila i limfocita u predviđanju smrtnog ishoda.

## **4. ISPITANICI I METODE**

### **4.1. Ustroj studije**

Ovo je istraživanje presječna studija s povijesnim podacima.

### **4.2. Ispitanici**

Podaci o ispitanicima prikupljeni su iz Laboratorijskog informacijskog sustava (LIS) i medicinske dokumentacije pacijenata koji su liječeni u Klinici za infektologiju Kliničkog bolničkog centra (KBC) Osijek. Istraživanje je provedeno na 125 pacijenata starijih od 18 godina, oba spola, hospitaliziranih u razdoblju od prosinca 2021. do veljače 2022. godine. Uzorci su zaprimljeni i obrađeni u Odjelu za hitnu laboratorijsku dijagnostiku i analitičku toksikologiju Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Osijek. U istraživanje su bili uključeni pacijenti koji su prethodno primljeni i obrađeni u ambulanti Klinike za infektologiju te potom otpušteni ili liječeni u Klinici za infektologiji i/ili u Klinici za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje. Svi su pacijenti imali potvrđen COVID-19, dijagnosticiran polimeraza lančanom reakcijom (PCR) ili imunokromatografskim testom na SARS-CoV-2.

Istraživanje je provedeno u skladu s etičkim smjernicama i principima Deklaracije iz Helsinkija. Podatci su prikupljeni i analizirani uz poštivanje privatnosti i povjerljivosti pacijenata. Svi osobni identifikatori su uklonjeni kako bi se osigurala anonimnost podataka. Dobivena je odgovarajuća etička suglasnost od relevantnog etičkog povjerenstva za provedbu retrospektivne analize.

### **4.3. Metode**

U ovom radu je provedena retrospektivna analiza medicinskih podataka s fokusom na parametre krvne slike, neutrofile i limfocite te njihov omjer. Prikupljeni podaci uključuju informacije o pacijentima s COVID-19 iz bolničkog informacijskog sustava (BIS), uključujući osnovne demografske podatke (dob, spol), laboratorijske nalaze po prijemu u bolnicu te podatke o ishodu liječenja (preživjeli ili smrtni ishod bolesnika).

### **4.4. Dijagnostičke metode**

#### 4.4.1. Kompletna krvna slika (KKS)

Analiza KKS napravljena je na uređaju Sysmex XN-2000 (Sysmex Corporation, Kobe, Japan). Ovaj uređaj temelji se na optičkom principu te koristi naprednu tehnologiju laserske difrakcije i fluorescentne analize kako bi precizno brojao i analizirao različite vrste krvnih stanica. Uređaj automatski generira rezultate. Osim broja crvenih krvnih stanica, bijelih krvnih stanica i trombocita, računa i različite indekse, kao što su srednji volumen eritrocita (MCV), srednji sadržaj hemoglobina u eritrocitu (MCH), i srednja koncentracija hemoglobina u eritrocitu (MCHC) (29).

#### 4.4.2. PCR testiranje COVID-19 bolesti

Testiranje na COVID-19 koristi modificiranu verziju PCR-a poznatu kao kvantitativna polimerazna lančana reakcija (qPCR). U ovom postupku dodaju se fluorescentne boje kako bi se izmjerila količina genetskog materijala u uzorku. Postupak započinje prikupljanjem uzoraka pomoću brisa iz nosa ili cijevi za slinu. Virus SARS-CoV-2, koristi RNA kao svoj genetski materijal. Prvi korak u testiranju je pretvorba RNA u dvostruku DNA kroz proces reverzne transkripcije, nakon čega se dva lanca DNA odvajaju. Nakon toga, primeri se pričvršćuju na krajeve DNA lanaca. Primeri su dizajnirani da se specifično vežu za sekvence virusa, čime se

osigurava da se amplificira samo virusna DNA. Kada se primeri pričvrste, novi komplementarni lanci DNA se produžuju duž uzorka, a fluorescentne boje se vežu za DNA, što omogućava praćenje uspješne duplikacije. Na kraju ovog procesa nastaju dvije identične kopije virusne DNA, a ciklus se ponavlja 20-30 puta kako bi se stvorilo stotine kopija DNA koje odgovaraju virusnoj RNA SARS-CoV-2 (30).

#### 4.4.3. Imunokromatografski test na SARS-CoV-2 virus

Imunokromatografski test na SARS-CoV-2 virus predstavlja brzu dijagnostičku metodu koja se koristi za otkrivanje prisutnosti antigena ili antitijela na virus SARS-CoV-2. Ovaj test je poznat i kao brzi test i temelji se na principu imunokromatografije. Testiranje započinje uzimanjem uzorka, koji može biti bris iz nosa, bris iz grla ili uzorak krvi, ovisno o vrsti testa. U slučaju seroloških testova, uzorak krvi koristi se za otkrivanje prisutnosti antitijela koja se stvaraju kao odgovor na infekciju, dok antigeni testovi koriste uzorke sluzi ili sline za otkrivanje samog virusa. Na test traku ili karticu nanosi se uzorak, koji migrira duž testnog područja. Ako su prisutni antigeni virusa SARS-CoV-2, oni se vežu za specifična antitijela koja su nanosena na traku. Ova veza može uključivati označene molekule, kao što su koloidno zlato, koje reagiraju s antigenom i stvaraju vidljivu obojenu liniju na test traci. Linija označava pozitivan rezultat, što znači da je antigen virusa prisutan u uzorku. Svi imunokromatografski testovi uključuju kontrolnu liniju koja služi kao indikacija ispravnosti izvedbe testa (31,32).

#### **4.5. Statističke metode**

Kategorijski podatci su predstavljeni apsolutnim i relativnim frekvencijama. Normalnost raspodjele kontinuiranih podataka ispitala se Shapiro – Wilkovim testom. Kontinuirani podatci opisani su medijanom i granicama interkvartilnog raspona. Za testiranje razlika s obzirom na ishod liječenja koristio se Mann Whitney U test (s iskazanom razlikom i 95 % rasponom pouzdanosti). Logističkom regresijom ispitalo se je li omjer neutrofila/limfocita značajan čimbenik u predikciji smrtnog ishoda. Analiza krivuljom operativnih karakteristika ROC (engl. *Receiver Operating Characteristic*) korištena je za određivanje optimalne granične vrijednosti (engl. *cut-off value*), površine ispod ROC krivulje (engl. *area under the curve*, AUC), specifičnosti i osjetljivosti omjera neutrofila/limfocita u razlikovanju pacijenata koji su preživjeli u odnosu na pacijente sa smrtnim ishodom. Sve P vrijednosti su dvostrane. Razina značajnosti postavljena je na  $\alpha = 0,05$ .

U statističkoj obradi podataka koristio se statistički program MedCalc® Statistical Software version 22.018 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2024).



## 5. REZULTATI

Istraživanje je provedeno na 125 bolesnika s potvrđenom SARS-CoV-2 infekcijom, od kojih je 57 (45,6 %) muškaraca i 68 (54,4 %) žena. Medijan dobi bolesnika je 76 godina, u rasponu od 22 do najviše 93 godine.

Medijan duljine hospitalizacije je 9 dana. Tijekom liječenja kisik je bio potreban kod 114 (91,2 %) bolesnika, a njih 29 (23,2 %) je premješteno u JIL. S obzirom na ishod liječenja, negativan ishod (smrt) imalo je 38 (30,4 %) bolesnika (Tablica 1).

Tablica 1. Opća obilježja i tijek bolesti bolesnika

	Broj (%) bolesnika
Spol	
Muškarci	57 (45,6)
Žene	68 (54,4)
Dob (godine) [Medijan (raspon)]	76 (22-93)
Duljina hospitalizacije (dani) [Medijan (interkvartilni raspon)]	9 (6 – 13)
U liječenju potreban kisik	114 (91,2)
Boravio u JIL-u	29 (23,2)
Ishod	
Preživjeli	87 (69,6)
Preminuli	38 (30,4)

S obzirom na ishod liječenja, nema značajnih razlika u većini laboratorijskih vrijednosti. Bolesnici koji su preživjeli imaju značajno viši raspon vrijednosti eozinofila u odnosu na bolesnike sa smrtnim ishodom (Mann Whitney U test,  $P = 0,02$ ). Omjer neutrofila/ limfocita ne razlikuje se značajno s obzirom na ishod liječenja bolesnika (Tablica 2).

Tablica 2. Razlike u laboratorijskim vrijednostima s obzirom na ishod liječenja

	Medijan (interkvartilni raspon)		95 % raspon pouzdanosti	P*
	Preživio	Preminuo		
Leukociti (x10 <sup>9</sup> /L)	6,8 (5,3 – 9,4)	7,8 (5,3 – 11,9)	-1,0 do 1,9	0,68
Neutrofili (%)	76 (65 – 86)	79 (73 – 87)	-1 do 8	0,10
Limfociti (%)	15 (8 – 25)	12 (7 – 17)	-6 do 1	0,12
Nesegmentirani (%)	0 (0 – 2)	0 (0 – 1)	0 do 0	0,56
Monociti (%)	8 (5 – 10)	6 (5 – 9)	-2 do 1	0,39
Bazofili (%)	0 (0 – 0) [min 0 max 1]	0 (0 – 0) [min 0 max 0]	0 do 0	0,06
Eozinofili (%)	0 (0 – 0) [min 0 max 7]	0 (0 – 0) [min 0 max 0]	0 do 0	<b>0,02</b>
Omjer neutrofili/limfociti (NLR)	4,88 (2,89 – 10,97)	6,70 (4,38 – 11,5)	-0,32 do 2,91	0,12

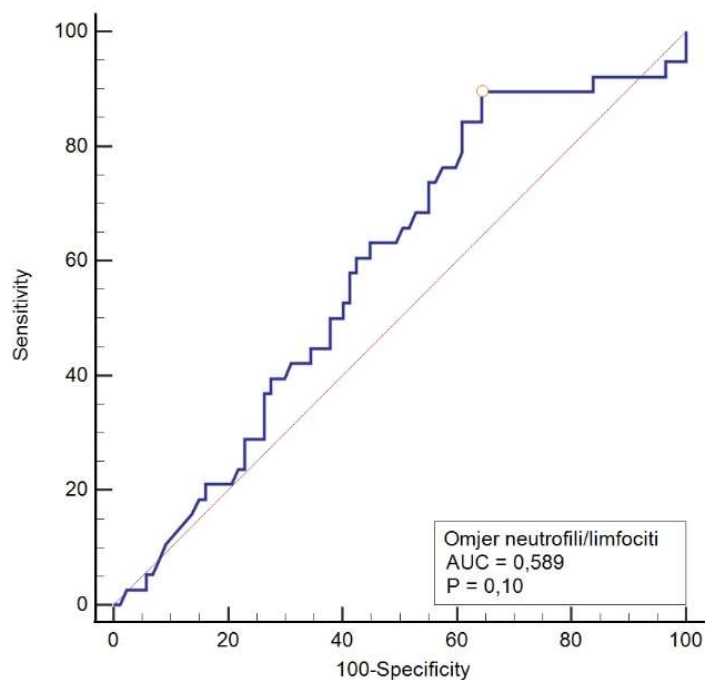
\*Mann Whitney U test

Da bi se procijenila dijagnostička vrijednost omjera neutrofila/ limfocita korištena je metoda izračuna ROC krivulje kojom se stupnjevito mijenjaju vrijednosti koje razlučuju ispitanike s negativnim ishodom liječenja i bez njega. Mijenjana je točka razlučivanja za pojedinu skupinu bolesnika (engl. *cut-off point*), kako bi se stvaranjem ROC-krivulje moglo objektivno utvrditi koja vrijednost najbolje razlučuje uspoređene skupine. U ovim podacima, omjer neutrofila/ limfocita nije se pokazao značajnim dijagnostičkim pokazateljem smrtnog ishoda bolesnika (Tablica 3. i Slika 1).

Tablica 3. Dijagnostička vrijednost omjera neutrofila/limfocita s obzirom na negativan ishod liječenja (smrt)

	AUC	95 % raspon pouzdanosti	Osjetljivost	Specifičnost	Točka razlučivanja	Youden index	P vrijednost
NLR	0,589	0,497 – 0,676	89,5	35,6	>3,55	0,251	0,10

AUC – površina ispod krivulje (engl. *Area under the ROC curve*); NLR – omjer neutrofila/limfociti (engl. *neutrophil to lymphocyte ratio*)



Slika 1. ROC analiza omjera neutrofila/ limfocita kao dijagnostičkog pokazatelja negativnog ishoda liječenja

Logističkom regresijom ispitala se prediktivna vrijednost omjera neutrofila/ limfocita na vjerojatnost nastanka negativnog ishoda (smrti) bolesnika. Uočava se da omjer neutrofila/ limfocita nije značajan prediktor u predikciji negativnog ishoda bolesnika (Tablica 4).

Tablica 4. Omjer neutrofilu/ limfocitu kao dijagnostički pokazatelj negativnog ishoda (smrt)

	$\beta$	Wald	P vrijednost	Omjer rizika (OR)	95 % raspon pouzdanosti
Omjer neutrofilu/ limfocitu (NLR)	0,004	0,05	0,82	1,004	0,97 do 1,04

$\beta$  – koeficijent regresije

## 6. RASPRAVA

Pandemija COVID-19, uzrokovana virusom SARS-CoV-2, predstavlja jedan od najvećih javnozdravstvenih izazova suvremenog doba. Prepoznavanje prognostičkih markera koji mogu predvidjeti tijek i ishod bolesti važno je za pravovremeno i adekvatno liječenje i bolji ishod bolesti.

U ovom radu analizirana je prognostička vrijednost omjera neutrofila i limfocita (NLR) kod hospitaliziranih pacijenata s COVID-19. NLR je predložen kao potencijalni marker upalnog odgovora koji bi mogao pomoći u predviđanju smrtnog ishoda kod pacijenata zaraženih SARS-CoV-2. Razmotrena je razlika u vrijednostima NLR-a između pacijenata koji su preživjeli bolest i onih koji su preminuli.

Istraživanjem je analizirano 125 pacijenata s potvrđenom SARS-CoV-2 infekcijom, od kojih je 87 (69,6 %) COVID-19 pozitivnog ishoda (preživjelo), a 38 (30,4 %) COVID-19 negativnog ishoda (smrt) (Tablica 1).

Prosječna dob pacijenata je bila 72 godine, medijan dobi bolesnika je bio 76 godina, s rasponom od 22 do 93 godine. Ovi podaci pokazuju da su pacijenti bili širokog dobnog raspona, ali s pretežnom zastupljenošću starijih osoba, što je u skladu s poznatim informacijama da starija populacija ima veći rizik od teških ishoda bolesti, među koje spada i COVID-19 (33).

Od 125 pacijenata 57 (45,6 %) su bili muškarci, dok je 68 (54,4 %) bilo žena. Detaljnija analiza pokazuje da je među pacijentima koji su preživjeli 34 muškaraca (39,1 %) i 53 žena (60,9 %). Među pacijentima koji su umrli, 23 su bila muškarci (60,5 %), dok je 15 bilo žena (39,5 %). To pokazuje kako su unatoč većem broju žena koje su zaražene, muškarci ti koji imaju veći postotak smrtnosti.

Duljina hospitalizacije bila je u prosjeku 9 dana. Duljina hospitalizacije varirala je u značajnom rasponu, od najmanje dva do najviše 41 dan, što ukazuje na različite težine slučajeva i kompleksnost liječenja. Tijekom liječenja, kisik je bio potreban za 114 (91,2 %) bolesnika, a 29 pacijenata (23,2 %) je premješteno u jedinicu intenzivnog liječenja (JIL). Ovaj visoki postotak potrebe za kisikom ukazuje na to da je terapija kisikom bila ključna komponenta liječenja za gotovo sve pacijente. Potreba za kisikom je pokazatelj ozbiljnosti bolesti i potrebom za dodatnom podrškom u održavanju oksigenacije organizma.

Analiza omjera neutrofila i limfocita (NLR) pri prijemu u bolnicu pokazala je da nema značajnih razlika ( $P=0,12$ ) u vrijednostima omjera između preživjelih i preminulih COVID-19 bolesnika. Medijan NLR-a za preživjele pacijente bio je 4,88, dok je za pacijente sa smrtnim ishodom iznosio 6,70. Iako postoji trend višeg NLR-a kod pacijenata sa smrtnim ishodom, razlika nije statistički značajna.

Da bi se procijenila dijagnostička vrijednost NLR-a, korištena je ROC analiza. Rezultati su pokazali da NLR nije značajan dijagnostički pokazatelj negativnog ishoda liječenja s AUC vrijednošću od 0,589, što je ispod praga od 0,7, koji se obično smatra prihvatljivim za dijagnostičke testove. Osjetljivost i specifičnost NLR-a također nisu bili zadovoljavajući u ovom istraživanju. Naime, pacijenti koji su boravili u JIL-u imali su neznatno više NLR vrijednosti, no te razlike nisu bile dovoljno značajne da bi se moglo reći da NLR pouzdano razlikuje pacijente prema težini bolesti. Ovo može biti rezultat nekoliko faktora, uključujući heterogenost u težini bolesti, različite terapije koje su pacijenti primali, kao i relativno mali uzorak istraživanja koji može ograničiti statističku snagu analiza. Za razliku od naših rezultata, istraživanje koje su proveli Mallappa i sur. pokazalo je statistički značajnu razliku NLR-a među pacijentima sa smrtnim ishodom u usporedbi s preživjelim pacijentima te su zaključili kako NLR može biti važan parametar u predviđanju smrtnosti kod COVID-19 infekcija. Među ispitivanim parametrima (D-dimeri, kreatinin, laktat-dehidrogenaza (LDH), feritin, C-reaktivni protein (CRP), omjer trombocita i limfocita (PLR), sistemski upalni indeks (SII), apsolutni broj limfocita (ALC) i apsolutni broj neutrofila (ANC)), NLR je imao najveće područje ispod krivulje (AUC) u ROC analizi i pokazao se kao najbolji prediktivni parametar (34).

Prognostička vrijednost NLR-a za različite bolesti, uključujući COVID-19, spomenuta je u studiji koja je pokazala da povišeni NLR može biti povezan s težim kliničkim ishodima kod bolesti poput sepse i određenih vrsta raka (35). U kontekstu COVID-19, neka istraživanja sugeriraju da povišeni NLR može biti indikator težeg ishoda bolesti, uključujući potrebu za intenzivnom njegom i povećanu smrtnost (36) te da je povišeni NLR jedan od neovisnih prediktora smrtnosti hospitaliziranih pacijenata s COVID-19, što potvrđuje istraživanje koje su proveli Khatib i sur. (37).

Xiaoming Li i sur., su proveli ispitivanje na 2967 pacijenata i pokazali su kako NLR može pomoći kliničarima u ranom prepoznavanju potencijalno teških slučajeva, provođenju rane trijaže i pravovremenom započinjanju učinkovitog liječenja, što može smanjiti ukupnu smrtnost od COVID-19 (38). Slično, Mallappa i sur. su istraživanjem koje je provedeno na 422 ispitanika pokazali povišenu razinu NLR-a u smrtonosnim slučajevima COVID-19 infekcije u usporedbi s preživjelim slučajevima (39).

Istraživanje koje su proveli Lionte i sur. (40) pokazalo je da su ovi parametri i njihova povezanost s čimbenicima rizika od smrtnosti varirali ovisno o varijanti virusa kojom su pacijenti bili zaraženi. Međutim, njihova studija naglašava važnost upalnih parametara kao što su omjer neutrofila i limfocita (NLR), omjer monocita i limfocita (MLR), C-reaktivni protein (CRP) i nekoliko drugih u prepoznavanju teških slučajeva.

Vjerojatno je da je razina upalnog odgovora kod COVID-19 varijabilna podložna mnogim faktorima, uključujući genetsku predispoziciju, imunološki status pacijenata te razne komorbiditete koji mogu utjecati na upalni odgovor. Genetske varijacije mogu imati važnu ulogu u tome kako pojedinac reagira na virusnu infekciju, uključujući sposobnost imunološkog sustava da kontrolira upalu. Imunološki status, uključujući prethodne infekcije, stanje cijepljenosti i eventualnu imunosupresiju, također može značajno modificirati upalni odgovor. Zbog toga bi buduća istraživanja trebala uzeti u obzir ove varijable kako bi se bolje razumjela uloga NLR-a u predviđanju težine bolesti i kako bi se moglo preciznije prilagoditi kliničke smjernice za različite populacije pacijenata.

## **7. ZAKLJUČAK**

Iz provedenog istraživanja i dobivenih rezultata proizlaze sljedeći zaključci:

1. Nema statistički značajne razlike u omjeru neutrofila i limfocita (NLR) između preživjelih i preminulih pacijenata.
2. NLR se nije pokazao značajnim prognostičkim biljegom u predviđanju smrtnog ishoda pacijenata zaraženih SARS-CoV-2.
3. NLR je imao nisku specifičnost i osjetljivost u predviđanju smrtnog ishoda kod oboljelih od COVID-19.



## 8. SAŽETAK

### **Cilj istraživanja**

Cilj ovog istraživanja je procijeniti prognostičku vrijednost omjera neutrofila i limfocita (NLR) u predviđanju smrtnog ishoda pacijenata zaraženih virusom SARS-CoV-2.

### **Nacrt studije**

Istraživanje je provedeno kao presječna studija s povijesnim podacima.

### **Ispitanici i metode**

U istraživanje je uključeno 125 pacijenata u dobi od 22 do 93, hospitaliziranih u Klinici za infektologiju KBC-a Osijek od prosinca 2021. do veljače 2022. Analizirani su demografski i klinički podaci, uključujući NLR prilikom prijema.

### **Rezultati**

Od 125 pacijenata, 57 (45,6 %) su bili muškarci, a 68 (54,4 %) žene. Medijan dobi pacijenata bio je 76 godina. Ukupno 38 (30,4 %) pacijenata imalo je smrtni ishod. NLR nije pokazao značajnu razliku između preživjelih i umrlih pacijenata ( $P=0,12$ ), niti se pokazao značajnim prediktorom smrtnog ishoda ( $AUC=0,589$ ).

### **Zaključak**

Istraživanje nije potvrdilo prognostičku vrijednost NLR-a za predviđanje smrtnog ishoda kod pacijenata s COVID-19. Potrebna su daljnja istraživanja na većem broju pacijenata kako bi se utvrdila stvarna vrijednost NLR-a u kliničkoj praksi.

**Ključne riječi:** COVID-19, omjer neutrofila i limfocita, prognostički marker, smrtni ishod, hematološki biomarkeri.

## 9. SUMMARY

Title: Neutrophil/lymphocyte ratio in predicting the death outcome of patients with COVID-19 disease

### Objective

The aim of this study is to assess the prognostic value of the neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) in predicting the mortality outcome of patients infected with the SARS-CoV-2 virus.

### Study Design

The study was conducted as a cross-sectional study using historical data.

### Participants and Methods

The study included 125 patients aged 22 to 93, who were hospitalized at the Clinic for Infectious Diseases of the Clinical Hospital Center Osijek from December 2021 to February 2022. Demographic and clinical data, including NLR at admission, were analyzed.

### Results

Out of the 125 patients, 57 (45,6 %) were men and 68 (54,4 %) were women. The median age of patients was 76 years. A total of 38 (30,4 %) patients had a fatal outcome. NLR did not show a significant difference between survivors and non-survivors ( $P=0,12$ ), nor did it prove to be a significant predictor of mortality ( $AUC=0,589$ ).

### Conclusion

The study did not confirm the prognostic value of NLR for predicting mortality in COVID-19 patients. Further research with a larger number of patients is needed to determine the true value of NLR in clinical practice.

**Keywords:** COVID-19, neutrophil-to-lymphocyte ratio, prognostic marker, mortality outcome, hematological biomarkers.

## 10. LITERATURA

1. Kesheh MM, Hosseini P, Soltani S, Zandi M. An overview on the seven pathogenic human coronaviruses. *Rev Med Virol.* 2022 Mar.
2. Kuiken T, Fouchier R, Schutten M, et al. Newly discovered coronavirus as the primary cause of severe acute respiratory syndrome. *Lancet* 2003.
3. Killerby ME, Biggs HM, Midgley CM, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus transmission. *Emerg Infect Dis* 2020.
4. Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* 2020.
5. World Health Organization Health Emergencies Programme. WHO COVID-19 dashboard. Dostupno na adresi: <https://data.who.int/dashboards/covid19/cases>. Datum pristupa: 02.07.2024.
6. Wang C, Deng R, Gou L, et al. Preliminary study to identify severe from moderate cases of COVID-19 using combined hematology parameters. *Ann Transl Med.* 2020.
7. World Health Organization. Clinical management of COVID-19: interim guidance, 27 May 2020. Geneva: World Health Organization, 2020.
8. Xia W, Tan Y, Hu S, Li C, Jiang T. Predictive Value of Systemic Immune-Inflammation index and Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio in Patients with Severe COVID-19. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2022 Jan-Dec.
9. Lichtman MA, Chamberlain JK, Weed RI, Pincus A, Santillo PA. The regulation of the release of granulocytes from normal marrow. *Prog Clin Biol Res.* 1977.
10. Bonilla MC, Fingerhut L, Alfonso-Castro A, Mergani A, Schwennen C, von Köckritz-Blickwede M, de Buhr N. How Long Does a Neutrophil Live?-The Effect of 24 h Whole Blood Storage on Neutrophil Functions in Pigs. *Biomedicines.* 2020 Aug 8.
11. Hsieh MM, Everhart JE, Byrd-Holt DD, Tisdale JF, Rodgers GP. Prevalence of neutropenia in the U.S. population: age, sex, smoking status, and ethnic differences. *Ann Intern Med.* 2007 Apr 03.
12. Tak T, Tesselaar K, Pillay J, Borghans JA, Koenderman L. What's your age again? Determination of human neutrophil half-lives revisited. *J Leukoc Biol.* 2013 Oct.
13. National Cancer Institute at the National Institutes of Health. Neutrophil. Dostupno na adresi: <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/neutrophil>. Datum pristupa: 4.8.2024.

14. Pastorek M, Dubrava M, Celec P. On the origin of Neutrophil Extracellular Traps in COVID-19 [J]. *Front Immunol*. 2022.
15. Gonzalez-Mosquera LF, Gomez-Paz S, Lam E, et al. Hematologic involvement as a predictor of Mortality in COVID-19 patients in a Safety Net Hospital [J]. *Kans J Med*. 2022.
16. Chen R, Sang L, Jiang M, et al. Longitudinal hematologic and immunologic variations associated with the progression of COVID-19 patients in China [J]. *J Allergy Clin Immunol*. 2020.
17. Chiang CC, Korinek M, Cheng WJ, et al. Targeting neutrophils to treat Acute Respiratory Distress Syndrome in Coronavirus Disease [J]. *Front Pharmacol*. 2020
18. Cleveland Clinic. Lymphocytes. Dostupno na adresi: <https://my.clevelandclinic.org/health/body/23342-lymphocytes>. Datum pristupa: 4.8.2024.
19. General Office of National Health Commission, Office of the State Administration of Traditional Chinese Medicine. New Coronavirus Pneumonia Diagnosis and Treatment Plan (Trial Version 6). Feb 18, 2020.
20. Tan L, Wang Q, Zhang DY, et al. Lymphopenia predicts disease severity of COVID-19: a descriptive and predictive study. medRxiv 2020.
21. Posul E, Yilmaz B, Aktas G, Kurt M. Does neutrophil-to-lymphocyte ratio predict active ulcerative colitis? *Wien Klin Wochenschr*. 2015.
22. Bilgin S, Aktas G, Zahid Kocak M, et al. Association between novel inflammatory markers derived from hemogram indices and metabolic parameters in type 2 diabetic men. *Aging Male*. 2020.
23. Afari ME, Bhat T. Neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) and cardiovascular diseases: an update. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2016.
24. Aktas G, Sit M, Dikbas O, et al. Elevated neutrophil-to-lymphocyte ratio in the diagnosis of Hashimoto's thyroiditis. *Rev Assoc Med Bras (1992)*. 2017.
25. Aktas G, Duman T, Atak B, et al. Irritable bowel syndrome is associated with novel inflammatory markers derived from hemogram parameters. *Fam Med Prim Care Rev*. 2020.
26. Lian J, Jin C, Hao S, Zhang X, Yang M, Jin X, Lu Y, Hu J, Zhang S, Zheng L, et al. High neutrophil-to-lymphocyte ratio associated with progression to critical illness in older patients with COVID-19: a multicenter retrospective study. *Aging (Albany NY)*. 2020.

27. Zhang JJ, Cao YY, Tan G, Dong X, Wang BC, Lin J, Yan YQ, Liu GH, Akdis M, Akdis CA et al: Clinical, radiological and laboratory characteristics and risk factors for severity and mortality of 289 hospitalized COVID-19 patients. *Allergy* 2020.
28. Fu J, Kong J, Wang W, Wu M, Yao L, Wang Z, Jin J, Wu D, Yu X. The clinical implication of dynamic neutrophil to lymphocyte ratio and D-dimer in COVID-19: A retrospective study in Suzhou China. *Thromb Res.* 2020.
29. Sysmex Europe SE. XN-2000. Dostupno na adresi: <https://www.sysmex-europe.com/products/products-detail/xn-2000/>. Datum pristupa: 22.8.2024.
30. National Human Genom Research Institute. Understanding COVID-19 PCR Testing. Dostupno na adresi: <https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/Understanding-COVID-19-PCR-Testing>. Datum pristupa: 5.8.2024.
31. Rong G, Zheng Y, Chen Y, Zhang Y, Zhu P, and Sawana M. COVID-19 Diagnostic Methods and Detection Techniques. 2022 Oct 3.
32. Creative Diagnostics. Immunochromatography Guide. Dostupno na adresi: <https://www.creative-diagnostics.com/Immunochromatography-guide.htm>. Datum pristupa: 5.8.2024.
33. National Health Council. Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Feb 29, 2020.
34. Mallappa S, Khatri A, Bn G, Kulkarni P. A Retrospective Analysis of the Importance of Biochemical and Hematological Parameters for Mortality Prediction in COVID-19 Cases. *Cureus.* 2022 Oct 10.
35. Melenotte C, Silvin A, Goubet AG, i sur.: Immune responses during COVID-19 infection. *Oncoimmunology.* 2020.
36. Ozdemir A, Kocak SY, Karabela SN, Yılmaz M: Can systemic immune inflammation index at admission predict in-hospital mortality in chronic kidney disease patients with SARS-CoV-2 infection?. *Nefrologia.* 2022.
37. Khatib MY, Ananthe Gowda DC, Elshafei MS, i sur.: Predictors of mortality and morbidity in critically ill COVID-19 patients: an experience from a low mortality country. *Health Sci Rep.* 2022.
38. Li X, Liu C, Mao Z, Xiao M, Wang L, Qi S, Zhou F. Predictive values of neutrophil-to-lymphocyte ratio on disease severity and mortality in COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care.* 2020 Nov 16.

39. Mallappa S, Khatri A, Bn G, Kulkarni P. A Retrospective Analysis of the Importance of Biochemical and Hematological Parameters for Mortality Prediction in COVID-19 Cases. *Cureus*. 2022 Oct 10.
40. Lionte C, Sorodoc V, Haliga RE, et al.: Inflammatory and cardiac biomarkers in relation with post-acute COVID-19 and mortality: what we know after successive pandemic waves. *Diagnostics (Basel)*. 2022.

## 11. ŽIVOTOPIS

### OPĆI PODACI:

Barbara Rakonić, studentica 3. godine Sveučilišnog prijediplomskog studija Medicinsko laboratorijske dijagnostike

Datum i mjesto rođenja: 04.10.2002., Vinkovci, Republika Hrvatska

Adresa stanovanja: Ivana Kozarca 57, Vinkovci, Republika Hrvatska

E-mail adresa: [barbara.rakonic@gmail.com](mailto:barbara.rakonic@gmail.com)

### OBRAZOVANJE::

- 2009.-2017.-Osnovna škola Ivana Mažuranića Vinkovci
- 2017.-2021. Gimnazija Matije Antuna Reljkovića Vinkovci
- 2021.-danas Medicinski fakultet Osijek, Sveučilišni prijediplomski studij Medicinsko laboratorijska dijagnostika