

Tartu Ülikool

**Prognostiliste meetmete ning võimalike ravimeetodite
väljatöötamine raskekujuliste COVID-19 haigusjuhtumite
baasil**

RITA2/126 HOSPICOVI projekti lõpparuanne

Projekti algus: 01.02.2021

Projekti lõpp: 31.07.2022

Tartu 2022

Uuringu teostajad ja rahastajad

Uuringus oli esindatud Tartu Ülikooli kliinilise meditsiini, epidemioloogia ja statistika, immunoloogia, viroloogia ja geneetika alane kompetents koostöös Eesti haiglatega (AS Järvamaa Haigla, AS Lõuna-Eesti Haigla, AS Põlva Haigla, AS Valga Haigla, SA Narva Haigla, SA Ida-Viru Keskhaigla, SA Tartu Ülikooli Kliinikum, SA Viljandi Haigla, SA Hiiumaa Haigla, SA Kuressaare Haigla, SA Läänemaa Haigla, SA Pärnu Haigla, AS Lääne-Tallinna Keskhaigla, AS Rakvere Haigla, SA Põhja-Eesti Regionaalhaigla, SA Raplamaa Haigla ja SA Tallinna Lastehaigla), kus COVID-19 patsiente raviti.

Uuringu vastutav täitja: Joel Starkopf, Tartu Ülikooli anestezioloogia ja intensiivravi professor, anestezioloogia ja intensiivravi kliiniku juhataja

Uuringu põhitäitjad:

Kersti Pärna, Tartu Ülikooli tervisedenduse kaasprofessor

Pilleriin Soodla, Tartu Ülikooli infektsioonihaguste lektor ja Tartu Ülikooli Kliinikumi arst-õppejõud infektsioonihaguste erialal

Anne Kallaste, Tartu Ülikooli Kliinikumi nakkushaguste osakonna arst-õppejõud, osakonnajuht

Helen Ilumets, Põhja-Eesti Regionaalhaigla sisehaguste arst, üldsisehaguste keskuse juhataja

Pärt Peterson, Tartu Ülikooli molekulaarimmunoloogia professor, biomeditsiini osakonna juhataja

Margus Lember, Tartu Ülikooli sisehaguste propedeutika professor, sisekliiniku juhataja, meditsiiniteaduste valdkonna dekaan; Tartu Ülikooli Kliinikumi sisekliiniku ülemarst-õppejõud, kliinikujuht

Lili Milani, Tartu Ülikooli epi- ja farmakogenoomika professor, Eesti geenivaramu teaduskeskuse asedirektor

Kai Kisand, Tartu Ülikooli rakulise immunoloogia professor

Kalle Kisand, Tartu Ülikooli laborimeditsiini professor

Juri Karjagin, Tartu Ülikooli anestezioloogia ja intensiivravi kaasprofessor; Tartu Ülikooli Kliinikumi anestezioloogia ja intensiivravi kliiniku vanemarst-õppejõud, kliinikujuht

Ain Kaare, Tartu Ülikooli Kliinikumi hematoloogia ja luuüdi transplantaatsiooni osakonna vanemarst-õppejõud, osakonnajuht

Andres Merits, Tartu Ülikooli rakendusviroloogia professor

Eva Žusinaite, Tartu Ülikooli viroloogia kaasprofessor

Katrin Kaarna, Tartu Ülikooli kliiniliste uuringute keskuse juhataja

Uuringut rahastati Eesti Teadusagentuuri ja Sotsiaalministeeriumi toel Euroopa Regionaalarengu Fondi ja Eesti riigi eelarvest RITA2 programmi raames.



Euroopa Liit
Euroopa
Regionaalarengu Fond



Eesti
tuleviku heaks



Eesti Teadusagentuur
Estonian Research Council

Sisukord

Sissejuhatus	4
Töö eesmärgid	5
Uuringküsimused.....	5
Meetodid	6
U1: COVID-19 haigusega hospitaliseeritud patsientide epidemioloogiline uuring (vastutavad uurijad K. Pärna ja A. Kallaste, kaasuurijad P. Soodla ja H. Ilumets).	6
U2: COVID-19 haigete jälgimisuuring (M. Lember, A. Kallaste, Kalle Kisand, Kai Kisand, P. Peterson, L. Milani).	6
U3: COVID-19 infektsioonist paranenud inimeste plasma kasutamine COVID-19 raske infektsiooni ravis (J. Karjagin, A. Kaare, A. Merits).....	8
Eetilised aspektid.....	9
Tulemused	11
COVID-19 haigusega hospitaliseeritud patsientide epidemioloogiline uuring (U1).....	11
COVID-19 haigete jälgimisuuring (U2).....	14
COVID-19 infektsioonist paranenud inimeste plasma kasutamine COVID-19 raske infektsiooni ravis (U3).....	24
Arutelu.....	26
Haiglaravi epidemioloogia ja ravitulemused (U1)	26
COVID-19 haigete jälgimisuuring (U2).....	27
COVID-19 infektsioonist paranenud inimeste plasma kasutamine COVID-19 raske infektsiooni ravis (U3).....	28
Järeldused.....	30
Kokkuvõte.....	32
Summary in English	33
Kirjanduse loetelu.....	34
Projektis tehtud uuringute põhjal ilmunud teadusartiklid.....	36
Lisad.....	39

Sissejuhatus

COVID-19 pandeemia on maailmas keskseks tervishoiuprobleemiks juba üle kahe aasta. Registreeritud on rohkem kui 575 miljonit haigusjuhtu ja 6 miljonit COVID-19 tingitud surmajuhtu (<https://www.worldometers.info/coronavirus/>). Sõltuvalt nakatumise tinginud viirustüvest võib COVID-19 raske haigusvorm tekkida kuni 20% haigestunutest, neist omakorda veerand võib vajada intensiivravi [1].

Tervishoiu piiratud ressursside tingimustes on äärmiselt oluline avardada arusaamist sellest, mis aitaks vähendada COVID-19 tingitud haiguskoormust, kaitsta riskigruppi kuuluvaid elanikke ning arendada sobivaid ravimeetodeid. Ravi planeerimise aspektist oleks äärmiselt tähtis ennustada SARS-CoV-2 kulgu, teha kindlaks riskifaktorid, mis määravad üliraske, st intensiivravi vajava haigestumise ning halva kaugtulemi. On teada, et SARS-CoV-2 infektsioon vallandab spetsiifilise põletikureaktsiooni, mis võib osutada organismi kahjustavaks [2,3,4]. Esialgsete uuringute tulemusena on leitud teatud seoseid väga tugeva põletikulise immuunvastuse ja raskekujulise COVID-19 haiguse vahel [5,6,7,8,9]. Kas ja millist rolli raske haiguse kujunemisel määrab geneetiline eelsoodumus, ei ole teada.

Käesoleva projekti tegevuskava koostasime 2020. aasta lõpus. Planeerisime Eestis haiglaravi vajanud COVID-19 haigete epidemioloogiliste faktorite, ravitegevuse ning immuunstaatus detailse analüüsi, mis oleks oluliseks baasiks riskifaktorite selgitamisel. Lisaks võtsime vaatluse alla haiguse kaugtagajärjed, sh haigete taastumise ning immuunvastuse muutused ajas. Tulenevalt epideemia suhtelisest lühiaegsusest on nendest aspektidest praeguseks vähe teada.

Uuringute planeerimise ajal ei olnud veel kättesaadav SARS-CoV-2 vastane vaksineerimine. Tänapäevaks on vaksineerimine küll oluliselt vähendanud raskete haigusjuhtumite arvu, kuid COVID-19 koormus haiglaravile on jätkuvalt oluliseks tervishoiuõjuriks. Seetõttu on COVID-19 ravimeetodite arendamine endiselt fookuses. Üheks paljulubavaks ravimeetodiks on nakkushaiguse läbipõdenute vereplasma ülekande, mida on varem edukalt kasutatud mitmete infektsioonide ravimeetodina.

Ülaltoodut arvestades seadsime oma uuringu eesmärkideks põhjaliku analüüsi COVID-19 haiguse tõttu hospitaliseeritute, sh intensiivravi saanud patsientide tervise eripäradest ja haiguskulust ning kasutatud ravimeetoditest. Hindasime immuunvastuse eripära ja muutusi ajas, samuti geneetiliste faktorite rolli haiglaravi vajaduse määratlemisel. Selgitasime raviplasma kasutamise võimalikkust COVID-19 patsientide raviks Eestis.

Töö eesmärgid

Uuring keskendub tervishoiusüsteemi vaatest kõige olulisemale COVID-19 haigestunute grupile - haiglaravi (sh intensiivravi) vajanud patsientidele. Uuringul oli kolm põhieesmärki:

1. **Analüüsida COVID19 haiguse tõttu hospitaliseeritute tervisega seonduvaid eripärasid** (sugu, vanus, kaasuvad haigused sh varasem vähidiagnoos, veregrupp, genotüüp, tervisekäitumine sh suitsetamine, ravimite tarvitamine ning ravile reageerimine), mis võiksid tulevikus olla abiks sobivamate COVID-19 haiguse raviskeemide väljapakkumisel ning riskirühmade määratlemisel.
2. **Selgitada COVID-19 haigestumisest tingitud võimalike immunoloogiliste prognostiliste markerite olemasolu** ning hinnata sellise teadmise praktilist väärtust raviplaani koostamiseks Eesti haigetel.
3. **Välja töötada meetod COVID-19 haiguse läbi põdenute plasma kasutamiseks Eesti haigetel.**

Uuringküsimused

Läbi viidud uuringud olid kavandatud vastama järgmistele küsimustele:

1. Missugused epidemioloogilised ja kliinilised tegurid iseloomustavad erineva raskus-astmega COVID-19 nakkuse tõttu hospitaliseeritud Eesti patsiente?
2. Kas ja millised humoraalse ja rakulise immuunsuse komponendid ning geneetilised faktorid määravad haiguse üliraske kulu, st intensiivravi vajaduse?
3. Kuidas muutub COVID-19 haiguse läbipõdenute tervislik seisund, füüsiline võimekus ja immuunvastus 12 kuu jooksul peale haiglaravi?
4. Kas COVID-19 haiguse läbipõdenute vereplasma kasutamine vähendab intensiivravi vajadust suure riskiga patsientidel?

Meetodid

Projekti raames viisime läbi kolm alauuringut (U1, U2, U3), kus tegevus oli jagatud kümnesse töopaketti (WP1-WP10).

U1: COVID-19 haigusega hospitaliseeritud patsientide epidemioloogiline uuring (vastutavad uurijad K. Pärna ja A. Kallaste, kaasuurijad P. Soodla ja H. Ilumets).

Uuringusse kaasati ajavahemikus 27.02.2020–26.02.2021 COVID-19 haiguse tõttu hospitaliseeritud patsiendid 17 Eesti haiglast. Kliiniliste andmete kogumiseks kasutati tervishoiuasutuste andmebaase, analüüsides haiguslugusid vastavate haiglate infosüsteemidest. Uuritavad identifitseeriti haiglate andmebaasides RHK-10 diagnoosikoodi alusel (RHK-10 kood U07.1). Andmete kogumine ja haldamine toimus REDCap keskkonnas. Patsiendi haigusloost dokumenteeriti REDCap andmekogusse olulised patsiente iseloomustavad parameetrid (sugu, vanus, kaasuvad haigused sh varasem vähidiagnoos, veregrupp, tervisekäitumine sh suitsetamine, ravimite tarvitamine ning ravile reageerimine, PCR positiivsus ja antikehade teke jne kokku ligi 200 näitajat). Täiemahuliselt on sisestatud andmed Lõuna regiooni haiglatest: AS Järvamaa Haigla, AS Lõuna-Eesti Haigla, AS Põlva Haigla, AS Valga Haigla, SA Narva Haigla, SA Tartu Ülikooli Kliinikum, SA Viljandi Haigla ja Põhja regiooni haiglatest: SA Hiiumaa Haigla, SA Läänemaa Haigla, SA Pärnu Haigla, AS Lääne-Tallinna Keskhaigla, AS Rakvere Haigla, SA Põhja-Eesti Regionaalhaigla, SA Raplamaa Haigla ja SA Tallinna Lastehaigla. Andmete sisestamine õnnestus vaid osaliselt SA Ida-Viru Keskhaiglas ja ei õnnestunud praktiliselt üldse SA Kuressaare Haiglas. Uuringu osalemisest loobus juba enne kokkulepete sõlmimist Ida-Tallinna Keskhaigla.

Alauuringu U1 teise osana analüüsisime Tartu Ülikooli Kliinikumi COVID-19 ravi tulemusi. Analüüsi on kaasatud kõik 2021. aasta jooksul Kliinikumis statsionaarsel aktiivravi viibinud patsiendid, kellel oli elektroonilises haigusloos (eHL) lõpliku kliinilise diagnoosina põhi- või kaasuva haigusena märgitud RHK-10 kood U07.1. Esmaselt õendusabi osakonda hospitaliseeritud haiged jäeti analüüsist välja. Sõltuvalt aktiivravi raskusastmest jagasime uuritavad kahte gruppi: vaid tavaosakonna tasemel ravitud haiged ja intensiivravi vajanud patsiendid. Mõlemas grupis tõime eraldi välja patsiendid, kes olid ravi alguses vähemalt 75-aastased. Intensiivravi viibinute hulgas analüüsisime eraldi kopsude kunstliku ventilatsiooni (KKV) ning kehavälise membraanoksügenisatsiooni (EKMO) vajanud patsiente. KKV-l viibinud tegime kindlaks intensiivravi TISS-lehtede (Therapeutic Intervention Scoring System) alusel, milles pidi vähemalt ühel päeval olema dokumenteeritud „aparaadihingamine üle 6 tunni“. EKMO patsientide andmed on pärit Tartu Ülikooli Kliinikumi ja Põhja-Eesti Regionaalhaigla vahelisest andmekogust. Haigusjuhu maksumuse arvutasime Eesti Haigekassale esitatud arvete põhjal. Andmete kogumiseks ja analüüsimiseks kasutati Oracle BI (Oracle Corp., Austin) aruandluskeskonna andmeid ja Microsoft Office Excelit (Microsoft Inc., Redmond, WA).

U2: COVID-19 haigete jälgimisuring (M. Lember, A. Kallaste, Kalle Kisand, Kai Kisand, P. Peterson, L. Milani).

Teine alauuring oli jaotatud kuude töopaketti – uuritavate kaasamine, tervise seisundi hindamine, põletikuliste biomarkerite analüüs, rakulise immuunvastuse analüüs, humoraalse immuunvastuse analüüs ja geneetilise predispositsiooni hindamine. Põhitähelepanu pöörasime raskekujuliselt COVID-19 põdenud isikutele.

U2 WP1. Uuritavate kaasamine. Vastutav A. Kallaste

COVID-19 immuunvastuse jälgimisuuringusse kaasati patsiente järelkontrollile kutsumise kaudu. Tartu Ülikooli Kliinikumist ja Lõuna-Eesti Haiglast väljakirjutamisel soovitati patsientidel teatud aja möödudes pöörduda nakkushaiguste arsti vastuvõtule, milleks olid ette nähtud eraldi vastuvõtuajad. Patsiente kutsuti tagasi 3, 6, 1. ja 24 kuu möödudes.

Analüüsis on 218 COVID-19 patsienti ja 45 muu respiratoorse infektsiooniga patsienti. Uuritavate kaasamine lõppes 31.12.2021. Kaasatud uuritavad jaotusid järgnevalt:

- 1) TÜ Kliinikumist 2020 kevadel („esimene laine“) ravil viibinud patsiendid (n=34)
- 2) TÜ Kliinikumi alates 2020 sügisest hospitaliseeritud („teine laine“) patsiendid (n=71)
- 3) TÜ Kliinikumi alates 2021 sügisest hospitaliseeritud („kolmas laine“) patsiendid (n=42)
- 4) Lõuna-Eesti Haiglasse ambulatoorselt pöördunud ülemiste hingamisteede viirusinfektsiooniga haigeid, kel tehti SARS-CoV-2 RT-PCR test. Neist SARS-CoV-2 RNA positiivseid oli 26 ja negatiivseid 45.

U2 WP2. Tervise seisundi hindamine ja andmete analüüs. Vastutav A. Kallaste

Kõigil haigetel on järelkontrollis kogutud vere-, sülje- ja uriinianalüüs, registreeritud esinevad kaebused ja täidetud terviseküsimustik.

U2 WP3. Põletikuliste biomarkerite määramine ja analüüs. Vastutav P. Peterson

Eesmärk oli selgitada, kas COVID-19 põdenud isikutel on tuvastatav vere põletikumarkerite erinevused 3 ja 6 kuud peale haigestumist. Uuringusse kaasati Tartu Ülikooli Kliinikumi hospitaliseeritud 40 isikut, kellel esines raskekujuline COVID-19, mistõttu osa põdenutest viibis intensiivravi osakonnas. Võrdluseks analüüsiti ka kergemete haigusvormidega haigeid. Isikud jagati vastavalt WHO poolt nõutud haiguse raskusastmele [10,11]. Seejärel määrati nende vereplasmas ajapunktidel 3 ja 6 kuud peale haigestumist üle 96 põletikulise biomarkeri, kasutades selleks varem välja töötatud platvormi [12]. Analüüs põhineb primeri pikendamise meetodil põhinevat OLINK Inflammation paneeli, mis mõõdab plasmaproovidest üheaegselt 96 erineva põletikulise valgu taset (<https://www.olink.com/products/inflammation/>). Saadud andmete bioinformaatiliseks analüüsiks kasutasime R-programmeerimiskeelel põhinevaid lähenemisi.

U2 WP4. Rakulise immuunsuse määramine ja analüüs. Vastutav Kai Kisand

T rakulise immuunvastuse uurimiseks kasutasime viirusele spetsiifilisi peptiidisegusid, et näha, kas haigestunud inimeste organismis on tekkinud mälu T rakke, mis reageerivad SARS-CoV-2 viirusele. Uuritavatel isikutel koguti veri vererakkude eraldamist võimaldavatesse vaakumkatsutitesse (CPT, BD Biosciences). Mononukleaarsed rakud eraldati gradient-tsentrifuugimise teel. Rakud loendati ning hoiustati külmutussöötmes (CTL-Cryo ABC Freezing Kit, ImmunoSpot) -150°C juures. Katsepäeval rakud sulatati ning stimuleeriti SARS-CoV2 viiruse S (ogavalk), N (nukleokapsiidi valk) ja M (membraanivalk) valkude ülekattuvate peptiidsete järjestustega (Miltenyi Biotech) 24 tundi CO₂ inkubaatoris. Seejärel märgistati rakud, kasutades monokloonseid antikehi rakkude pinnamarkerite vastu (CD3 BV650, CD4 AF700, CD8 BV605, CCR7 PE-Dazzle, CD45RA APC, CD137 PE, CD69 BV510). Rakke analüüsiti LSRFortessa (BD Biosciences) voolutsütomeetri abil. Stimulatsioonikatsed viidi läbi kaheteistkümnel hospitaliseeritud COVID-19 patsiendil (WHO 3 ja 4) ning kaheteistkümnel kergelt COVID-19 põdenud patsiendil (WHO 1) dünaamikas: 3., 6. ja 12. kuul kogutud vererakkudega. Kontrollisikutena osalesid katses muud viirusinfektsiooni põdenud patsiendid (n=12). Andmeanalüüs on hetkel toimumas. Spetsiifilisi T-rakke defineeritakse kui varajasi aktivatsioonimarkereid CD137 ja CD69 kandvaid rakke, mis ei oma naiivsetele rakkudele iseloomulikku markerikombinatsiooni (CCR7 ja CD45RA) ning väljendatakse protsentides CD4+ T-rakkudest.

U2 WP5. Humoraalse immuunvastuse määramine ja analüüs. Vastutav Kalle Kisand

Humoraalse immuunvastuse hindamiseks määrati COVID-19 haigete veres SARS-CoV2 viiruse vastaseid IgG klassi antikehi. Antikehi määrati 3., 6., 12. ja 24. kuul peale akuutset viirusinfektsiooni. Antikehade määramiseks kasutati lutsiferaas immuunopretsipitatsiooni meetodit (LIPS, inglise k *Luciferase Immunoprecipitation System*), mis detekteerib viiruse ogavalgu e. S-valgu (inglise k *Spike protein*) retseptor-seonduva domeeniga (RBD) (inglise k. *receptor-binding domain*) seonduvaid antikehi [13]. Just need antikehad iseloomustavad paremini kaitsvat humoraalset immuunvastust, sest RBD kaudu seondub viirus rakupinna retseptorile ACE2 ja nakatab raku. Sellised kaitsvad antikehad peaks nakatumist pidurdama või ära hoidma.

U2 WP6. Geneetilise predispositsiooni selgitamine raske kuluga COVID-19 tekke suhtes. Vastutav Lili Milani; uurijad Kristi Läll, Reedik Mägi, Tuuli Jürgenson, Erik Abner.

Osalesime TÜ Eesti geenivaramu andmetega rahvusvahelises COVID-19 inimgeneetika uuringus (The COVID-19 Host Genetics Initiative, edaspidi HGI uuring). Uuringusse kaasati üle maailma ligi viiskümmend tuhat nakatunut, kelle puhul analüüsiti nende nakatumis- ja haiglasse sattumise riski. Eesti geenidoonorite seas oli analüüsi hetkeks tehtud 89 000 koroonatesti, neist ligi 2000 olid positiivsed ning nendest omakorda raskelt haigestunud oli 268.

U3: COVID-19 infektsioonist paranenud inimeste plasma kasutamine COVID-19 raske infektsiooni ravis (J. Karjagin, A. Kaare, A. Merits).

Raviplasma kasutamise efektiivsuse selgitamiseks ja selleks Eesti plasmadoonorite kasutamiseks planeerisime prospektiivse mitmekeskesuselise randomiseeritud kliinilise uuringu. Uuringu detailne protokoll on aruande lisas on leitav Euroopa ravimuuringute registrist **EUDRA CT number: 2020-001861-35**. Tegevus oli planeeritud kolmes tööpaketi: doonorite värbamine ja plasmaferees, viirust neutraliseerivate antikehade tiitri määramine võimalikel doonoritel ning patsientide värbamine kliinilisse uuringusse. Projekti käigus lisandus siia algselt mitteplaneeritud tööpakett - COVID-19 vastu vaksineeritud inimeste antikehade tiitri ja neutralisatsioonivõime uurimine.

U3 WP7. Doonorite värbamine ja plasmaferees. Vastutav A. Kaare.

SARS-CoV-2 nakkusest paranenute plasma kasutamiseks otsiti sobivaid doonoreid. Selleks käivitasime [teavituskampania](#) meediakanalites (television, veebiplatvormid, ajakirjandus), et kutsuda COVID-19 haiguse läbipõdenud, muidu kaasuvate haigusteta inimesi veredoonoriteks. Doonoritelt eraldasime ainult vereplasma, kasutades selleks plasmafereesi protseduuri. Plasma eraldamine toimus Põhja-Eesti Regionaalhaigla verekeskuses, kus on selleks vajalik aparatuur.

U3 WP8. Viirust neutraliseerivate antikehade määramine. Vastutav A. Merits.

Plasma ravipotentsiaali hindamiseks määratakse potentsiaalsete doonorite SARS-CoV-2-vastaste antikehade tiiter ja kinnitatakse plasma viirust neutraliseeriv funktsioon. Raviks kasutamiseks pidi plasma neutraliseerimistiiter olema vähemalt 1:320, selle tulemusena tekiks plasma ülekandmisel patsiendile verre tiiter vähemalt 1:25. Doonorite plasma kogutakse afereesi käigus (kuni 720 ml), misjärel see külmutatakse.

Neutraliseerivate antikehade tiitri määramiseks kasutasime tehnogeneetilist päritolu SARS-CoV-2 viirust. Praeguses katseskeemis kasutasime 100 PFU (*plaque forming units*) proovi kohta, korruga saime analüüsida kuni 28 proovi. Projekti käigus suurendasime testi ohutust ja tundlikkust asendades metsikut tüüpi viirust immunoloogiliselt identse, kuid geneetiliselt nõrgestatud viirusega; ahvi VeroE6 rakkude asemel kasutasime uudseid BHK-21-hACE2-N rakke (hamstri rakud, mis toodavad inimese ACE2 retseptorit ja SARS-CoV-2 N-valku). Testimine toimus Tartu Ülikooli ABSL3 bioohutuse laboris.

Testi tegemiseks eelkõige kuumutatakse patsiendi plasma/seerumi proov 56°C juures 30 minutit seerumi komplemendi süsteemi komponentide inaktiveerimiseks. Seejärel tehakse 96-augusel plaadil kahekordsed plasma/seerumi lahjendused VGM söötmes (*Virus Growth Medium*, 0.2% veise seerumi albumiini sisaldav DMEM sööde) alates 1:4 kuni 1:4096 lõppmahus 50 µl. Eraldi tuubis tehakse vajalik kogus viirusvaru lahjendust (maht sõltub testitavate proovide arvust) VGM söötmes nii, et 50 µl lahjendust sisaldaks 100 PFU rekombinantset SARS-CoV-2 viirust. 50 µl viiruse lahjendust (ehk 100 PFU) lisatakse igasse 96-plaadi auku plasma/seerumi lahjendusega ning inkubeeritakse 37°C juures üks tund. Järgnevalt lisatakse viirus/seerum segudele 100 µl BHK-21-hACE2-N rakkude suspensiooni arvestusega 4×10^4 raku augu kohta. Plaati hoitakse 37°C ja 5% CO₂ juures. Tsütopaatilise efekti (rakkude ümardumine ning plastiku küljest lahti tulek) ilmumist hinnatakse mikroskoopiliselt 4 päeva pärast. Esimene seerumi lahjendus, kus tsütopaatiline efekt puudub (seerum inaktiveeris viirust) loetakse neutralisatsioonitiitriks. Neutralisatsioonitest tehakse kahes paralleelis. Positiivseks kontrolliks on nakatatud, kuid seerumiga töötlemata BHK-21-hACE2-N rakud; negatiivseks kontrolliks on seerumiga töötlemata ning nakatamata rakud. Positiivne ja negatiivne kontroll lisatakse igale 96-augu plaadile.

U3 WP9. Patsientide värbamine, andmete analüüs ja interpretatsioon. Vastutav J. Karjagin.

Pilootuuringuks oli plaan kaasata COVID-19 patsientidest nii uuringurühm kui ka kontrollgrupp (n=20 mõlemas rühmas). Uuritavateks olid täiskasvanud vanuses vähemalt 18 a., kes on võimelised andma nõusoleku uuringus osalemiseks ning kes vastasid järgnevatele kriteeriumidele:

- Laboratoorselt kinnitatud COVID-19 infektsioon
- Vajavad hospitaliseerimist haiglasse oma seisundi raskuse tõttu ja neil esineb vähemalt kaks alljärgnevast
 - o Hingamissagedus üle 25 korra minutis
 - o Oksügenisatsioonihäire PaO₂/FiO₂ suhe alla 350
 - o Infiltraadid rindkere röntgenil, mis hõlmavad hinnanguliselt üle 50% kopsupindalast

Väljaarvamiskriteeriumiteks olid

- Üldseisundist tingitud kohene hospitaliseerimisvajadus intensiivravi osakonda
- Rasedus ja imetamine
- Kaasuvate haiguste tõttu väga halb paranemise prognoos (intensiivravi osakonda mitte-hospitaliseerimise otsus ja/või mitte-elustamise otsus on tehtud arstide poolt, kes ei osale uuringus ja otsus peab olema dokumenteeritud haiguslukku)
- Anamneesis rasked transfusiooniga seotud reaktsioon

Uuritavate jaotamine toimus randomiseeritult suhtega 1:1. Plasma ülekandmine toimus vastavalt retsiptiendi veregrupile. Ravi võimaliku efektiivsuse kirjeldamiseks hinnati jooksvalt patsiendi seisundit: selleks dokumenteeriti ravi saamise perioodil põhjalikult kliinilised ja immunoloogilised näitajad. Samuti koguti jooksvalt infot protseduuri ohutuse kohta; suurte kõrvalekallete korral raviplasma manustamine katkestati koheselt. Uuringu esmane tulem oli elus oldud päevad väljaspool intensiivravi osakonda 7 päevaks pärast randomiseerimist.

U3 WP10. COVID-19 vastu vaksineeritud inimeste antikehade tiitri määramine ja neutralisatsioonivõime uurimine. Vastutav J. Karjagin

Uuringusse kaasasime vabatahtlikkuse alusel 15 Comirnaty ja 15 Moderna vaktsiini saanud patsienti ja viisime läbi neutralisatsioonitestid (vt meetodid WP8) erinevate tüvedega.

Eetilised aspektid

Kõik projektis läbi viidud alauuringud on kooskõlastatud TÜ inimuuringute eetikakomiteega ja läbi viidud lähtuvalt Heast teadustavast ja Heade Kliiniliste Tavade juhtnõõridest. Sekkumisuuringuks (U3)

vajalik luba on Eesti Ravimiametilt (luba 20-012, 24.04.2020), uuring on registreeritud Euroopa kliiniliste uuringute registris. TÜ inimuuringute Eetikakomitee on kooskõlastanud järgmised tegevused:

- 1) "COVID-19 haigusega hospitaliseeritud patsientide epidemioloogiline uuring" (316/T-1, 03.06.2020).
- 2) "COVID-19 haigete immuunvastuse ja geneetilise varieeruvuse uuring" (#312/M-1). Eetikaluba võimaldab uurida COVID-19 haigusega seotud antikehade ja põletikuliste markerite tasemeid ning analüüsida geneetilist varieeruvust jääkproovide (jääkvered või ninaneelukaaped) materjalidest.
- 3) "COVID-19 põdenute immuunvastuse dünaamika uuring" (#318/T-1, 26.05.2020). Eetikaluba võimaldab uurida TÜ kliinikumi ja Lõuna-Eesti haiglasse pöördunud COVID-19 patsientide rakulise ja humoraalse immuunvastuse dünaamikat läbi infektsiooni erinevate etappide (äge infektsioon, paranemisperiod, infektsiooni järgne period) eesmärgiga leida seoseid haiguse raskusastmega ja hindamaks infektsiooni järgset immuunkaitset.
- 4) COVID-19 infektsioonist paranenud inimeste plasma kasutamine COVID-19 raske infektsiooni ravis: piloot uuring. Kooskõlastused 309T-1 ja lisakooskõlastused 316M-2 ja 331M-1. Võimaldavad kaasata patsiente TÜK, PERH, IVKH ja LTKH haiglates.

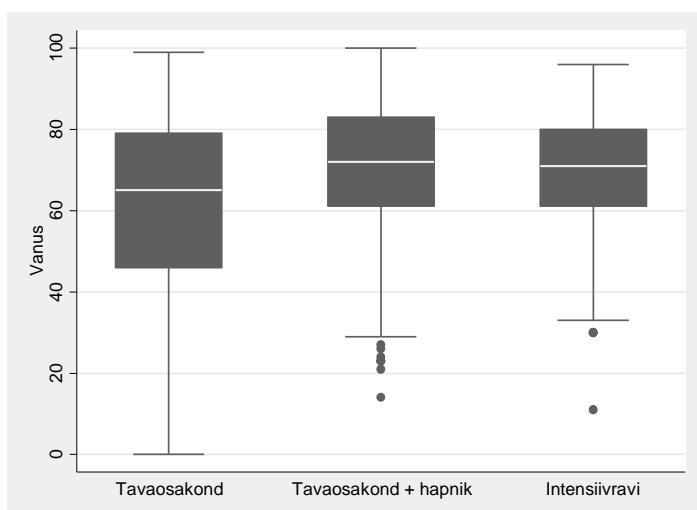
Tulemused

COVID-19 haigusega hospitaliseeritud patsientide epidemioloogiline uuring (U1)

COVID-19 ravi 17 Eesti haiglas

REDCap andmebaasi on kogutud andmed 2448 COVID-19 tõttu haiglaravi vajanud patsiendi kohta, kellest 47% olid mehed (keskmine vanus 65,6±16,8 aastat) ja 53% naised (keskmine vanus 70,6±18,5 aastat). Hospitaliseeritustest 22% olid ravil tavaosakonnas ning neil tõsist hingamispuudulikkust ei olnud (hapnikravi hospitaliseerimise ajal ei vajanud), 65% tavaosakonnas ning neil esines hingamispuudulikkus (vajasid hapnikravi) ning 13% intensiivravi osakonnas. Võrreldes naistega (11%) viibis intensiivravi osakonnas oluliselt rohkem mehi (15%) ($p=0.001$). Hospitaliseeritute keskmine vanuse oli 68,2±17,9. Tavaosakonnas viibinute hapnikravi mittevajanute keskmine vanus 59,6±24,0 oli statistiliselt oluliselt madalam ($p<0,001$) kui tavaosakonnas hapnikravi vajanutel 70,9±15,1 ja intensiivravi osakonnas viibinutel 69,4±13,8. Vanuste mediaanväärtused osakonniti olid vastavalt 65, 72 ja 71 aastat (Joonis 1).

Joonis 1. COVID-19 haigusega 27.02.2020–26.02.2021 hospitaliseeritute mediaanvanused, kvartiilid, min ja max väärtused erinevates osakondades (tavaosakond, tavaosakond + hapnikravi, intensiivravi) ravil viibimise järgi.



Hospitaliseeritustest 47% olid enne haigestumist enda teada olnud kontaktis COVID-19 haigega ning 46% said enda arvates nakkuse kodust, 17% haiglast, 8% töölt, 1% õppeasutusest ja 28% olid nakatumiskohaks toonud muu. Haigetest 17% olid hooldekodu elanikud, nendest tavaosakonnas vajas hapnikravi 79% ($n=329$), hapnikravi ei vajanud 12% ($n=52$) ja intensiivravi osakonda hospitaliseeriti 9% ($n=33$). Meditsiiniastutuste töötajaid oli COVID-19 haigete hulgas 3%, neist pooled töötasid õena ja kaheksandik arstina. Kopsupõletiku diagnoos oli hospitaliseerimise hetkel 29% tavaosakonnas hapnikravi mittevajanutest, 63% tavaosakonnas hapnikravi vajanutest ja 78% intensiivravil viibinutest ($p<0.001$). Haigussümptomite (vappekülm, köha, hingeldus ja õhupuudus) esinemine erines oluliselt tavaosakonnas, hapnikuraviga tavaosakonnas ja intensiivravi osakonnas ravil viibinud haigetel (Tabel 1). Üle-eestiliste andmete täpsem analüüs veel jätkub.

Tabel 1. COVID-19 haigusega 27.02.2020–26.02.2021 hospitaliseeritud esinevad sümptomid, osakaalud (%)

Sümptom	Tavaosakond	Tavaosakond + hapnikuravi	Intensiivravi	p-väärtus
Vappekülm	7,5	16,9	11,0	<0.0001
Köha	48,6	63,9	67,5	<0.0001
Hingeldus	16,2	47,7	58,0	<0.0001
Õhupuudus	20,5	54,4	65,0	<0.0001

COVID-19 ravi tulemused Tartu Ülikooli Kliinikumis 2021. aastal

Vaatlusalusel perioodil hospitaliseeriti Kliinikumi 1819 COVID-19 diagnoosiga patsienti, s.o. 4,8% 2021. aastal Kliinikumis aktiivravi vajanud haigetest. Patsientide demograafilised andmed ja ravitulemused on toodud tabelis 2. COVID-19 haigete voodipäevad moodustasid 10,3% kõikidest voodi- ja 23,4% intensiivravi päevadest. Kõrgeima, s.o. III ja IIIa astme intensiivravi päevadest oli koroonahaigete osakaal 36,8%. Pikim COVID-19 haiglaravi kestis 136 päeva. 1220 koroonahaiget suunati haiglast väljakirjutamisel koju, 394 viidi üle teise haiglasse. 185 patsienti (10,3%) suri, seega põhjustas COVID-19 24,7% kõigist aktiivravi surmajuhtudest.

Tabel 2. 2021. aastal Tartu Ülikooli Kliinikumis aktiivravil viibinute ja COVID-19 infektsiooni tõttu aktiivravi vajanud patsientide võrdlus.

	Kõik aktiivravi haiged	COVID-19 aktiivravi haiged
Patsientide arv	37 706	1 819
Vanus aastates (mediaan, min...max)	54,0 (0 päeva - 103 aastat)	64,0 (13 päeva - 98 aastat)
Meeste osakaal	47%	50%
Voodipäevade arv	233 214	24 050
Intensiivravi voodipäevade arv	49 390	11 680
III ja IIIa astme intensiivravi voodipäevade arv	14 863	5 467
Ravikestus päevades (keskmise)	6,2	13,2
Ravikestus päevades (mediaan)	3,0	8,0
Surmajuhtude arv	749	185
Haiglasuremus (%)	2,0	10,3

Tavaosakonna tasemel ravitud haiged. 1475 COVID-19 patsienti, s.o. 81,1% kõigist koroonahaigetest, raviti ainult tavaosakonna tasemel (Tabel 3). Statsionaarse ravi mediaankestus oli 7 päeva ning kogu voodipäevade arv kokku 15 183 päeva.

Tavaosakonna haigete mediaanvanus oli 64 aastat, seejuures 464 (31,5%) olid vähemalt 75-aastased. 48% tavaosakonda hospitaliseeritudest olid mehed. Hoolimata tavaosakonda hospitaliseerimisest, vajasisid paljud haiged intensiivravi võtteid nakkushaiguste või pulmonoloogia osakonna jälgimispalati tasemel: intensiivravi päevi oli kokku 5757, sealhulgas 793 III astme intensiivravi päeva.

Hoolimata lühemast haiglaravi perioodist oli selles kohordis siiski 100 surmajuhtumit, mis teeb haiglasuremuseks 6,8%. Surmlõppega haigusjuhtudest 79-l korral oli patsient vähemalt 75-aastane.

Intensiivravi osakonda hospitaliseeritud haiged. Kliinikumi intensiivravi osakondades raviti 2021. aasta jooksul 344 COVID-19 patsienti, s.o. 18,9% haiglaravi vajanud koroonahaigetest. Intensiivravi mediaankestus oli üheksa päeva, kogu haiglaravi kestis nendel patsientidel ligi kolm nädalat.

Intensiivravi osakonda hospitaliseeritute hulgas oli rohkem mehi ja vanim patsient oli 95-aastane. Haiglaravi lõpu andmed on 335 patsiendi kohta. Neist 154 kirjutati koju, 96 viidi üle teise haiglasse ja 85 (25,4%) suri haiglas.

Tabel 3. Tavaosakonnas ravitud ja intensiivravi vajanud COVID-19 patsientide võrdlus, Tartu Ülikooli Kliinikum.

	Ainult tavaosakonnas ravitud patsiendid	Intensiivravi osakonda hospitaliseeritud patsiendid		
		Kokku	KKV	EKMO
Patsientide arv (%)	1475 (81,1)	344 (18,9)	233 (15,8)	26 (1,7)
Vanus aastates (mediaan, min - max)	64 (<1 - 98)	64,5 (<1 - 95)	63 (12 - 86)	55 (26 - 72)
Meeste osakaal (%)	48	59	61	65
Voodipäevade arv	15 183	8 867	6 905	-
Intensiivravi päevade arv	5 757	5 923	4 968	-
III ja IIIa astme intensiivravi päevade arv	793	4 674	4 194	-
Intensiivravi kestus päevades (keskmine)	-	11,7	-	32
Intensiivravi kestus päevades (mediaan)	-	9	-	25
Ravikestus päevades (keskmine)	-	25,8	-	46
Ravikestus päevades (mediaan)	7	21	24	33
Surmajuhtude arv	100	85	64	11
Haiglasuremus (%)	6,8	25,4	28,3	44,0

KKV kopsude kunstlik ventilatsioon; EKMO ekstrakorporaalne membraanoksügenisatsioon.

KKV-d rakendati 233 patsiendil (67,7% intensiivravi haigetest). Nende ravi kestus (mediaan 24 päeva) ja haiglasuremus (28,3%) olid kõrgemad, kui kogu intensiivravi kohordil.

EKMO-t kasutati raske ägeda respiratoorse distressi sündroomi (inglise keeles *acute respiratory distress syndrome* ehk ARDS) tõttu 26 patsiendil, s.o. 1,6% aktiiv- ja 7,5% intensiivravi COVID-19 haigetest. EKMO rakendamise mediaanaeg oli 16 ja pikim 74 ööpäeva. 15 patsiendil (55,6%) nägime oodatud kopsufunktsiooni paranemist, üheksal juhul (33,3%) lõpetati ravi mitteparanemise ja halva prognoosi tõttu. Kaks patsienti suri komplikatsioonide tõttu. Ühele patsiendile tehti kopsude siirdamine.

75-aastased ja vanemad patsiendid. 522 ehk ligi kolmandik COVID-19 tõttu aktiivravi vajanud patsientidest olid hospitaliseerimise hetkel vähemalt 75-aastased. Neist 58 vajas ravi käigus intensiivravi. KKV-d kasutati 22 patsiendil. Kõigist COVID-19 intensiivravi haigetest moodustasid vähemalt 75-aasta vanused 16,8%. Eakate ravi kestus oli pikk ning suremus kõrge. 21 haigest, kelle

rakendati aparaadihingamist, kirjutati koju seitse, viis suunati teise haiglasse ja üheksa suri (letaalsus 43,0%).

Haigusjuhu maksumus. COVID-19 diagnoosiga haigusjuhtude eest esitati Eesti Haigekassale raviarveid 14 258 350 euro ulatuses. Lisaks eraldati Kliinikumile 7 872 648 eurot COVID-19-ga seotud tegevuskulude katteks, seega olid haigla kulutused COVID-19 ravile kokku 22,1 milj eurot. Järelikult oli ühe COVID-19 ravijuhu keskmine maksumus 12 302 eurot. Haiglaravil ellujäänu kohta oli kulu 13 712 eurot. Kõige kallim ravijuht maksis 187 000 eurot.

COVID-19 haigete jälgimisuuring (U2)

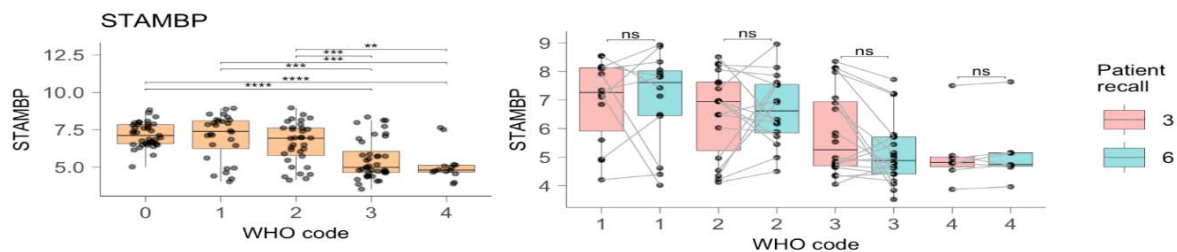
Kaebused ja sümptomid pärast COVID-19 põdemist

Praeguseks on 3. kuu järelkontrollis käinud 138 patsienti, 6. kuu järelkontrollis 125 patsienti, 12. kuu järelkontrollis 113 patsienti ning 24. kuu järelkontrollis 50 patsienti. COVID-19 järgne seisund (vähemal üks uus kaebus COVID-19 põdemise järgselt) esines 52% uuritavatest 3. kuul ja 68% uuritavatest 6. kuul. Sagedasemad kaebused on üldised sümptomid nagu väsimus ja koormustaluvuse langus (3. kuul 28% ja 6. kuul 34% uuritavatest), samuti neuropsühhiaatrilised sümptomid (3. kuul 23% ja 6. kuul 29% uuritavatest). Neil, kel olid kaebused 6. kuul, oli sagedamini ägedas faasis diagnoositud kopsupõletik ($p=0,01$) ja nad vajasisid ka hapnikravi ($p=0,02$).

Põletikulised biomarkerid ja haiguskulu raskus

Eesmärk oli uurida, kas raskelt COVID-19 põdenud isikutel on veres tuvastatav põletikumarkerite erinevusi 3 ja 6 kuud peale haigestumist. Uuringusse kaasati 40 patsienti, kes vajasisid raskekujuline COVID-19 haiglaravi. Põletikumarkerite paneel määrati 3 ja 6 kuud peale haigestumist.

Joonis 2. STAM binding protein (STAMBP) taseme võrdlus COVID-19 raskuse järgi (WHO klassifikatsioon, vasakpoolne paneel) ning 3 ja 6 kuu möödudes haigestumisest (parempoolne paneel).

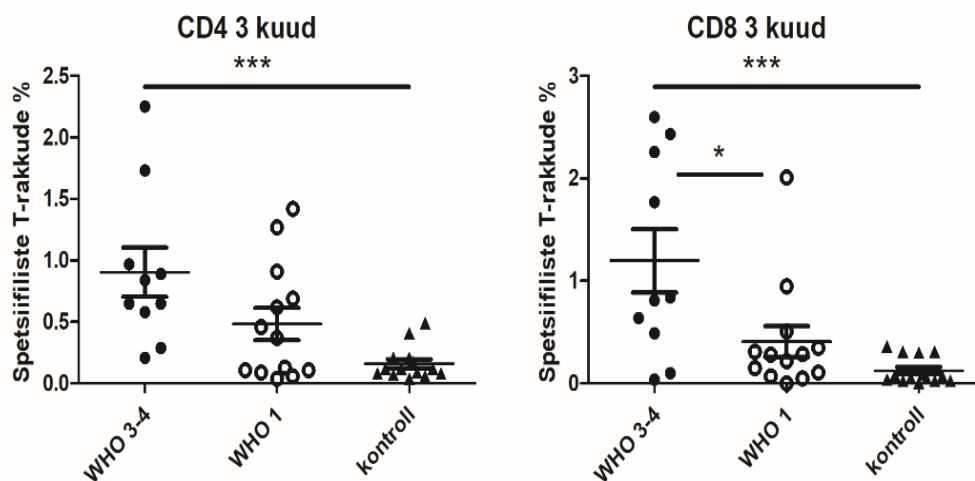


Kõige olulisemalt muutunud markeriks osutus valk STAMBP (STAM binding protein). Jooniselt 2 on näha STAMBP valgus tasemed vastavalt haiguse raskusastmele - WHO koodiga 0 (terved) kuni 4 (kriitiliselt haiged). STAMBP ülesandeks rakus on eemaldada teistelt valkudelt ubikvitiini molekule, mis seadistavad valgud proteasoomi vahendatult laguprotsessidesse. Ühtlasi reguleerib see valk mõnede signaalradade, näiteks JAK/STAT raja aktiivsust, aga ka kaasasündinud immuunsüsteemiga seotud inflammasoomi (põletikuprotsessi käivitamine) aktiivsust. Madalam STAMBP tase seonduv monotsüüdi rakkudes IL-1b sekretsiooni ja inflammasoomi aktiivsusega. Kuigi STAMBP täpne mehhanism raskelt COVID-19 põdenud haigetel jääb seni veel lahtiseks, viitab selle valgus madal tase raskete haigete veres kõrgemale põletikuga seotud inflammasoomi aktiivsusele. Peale STAMBP tulemuse, leiti veel muu 15 erineva põletikumarkeri muutus haigete veres, mh AXIN1, SIRT2, CXCL1, TNFSF14, CASP8, CD40 ja IL7.

T-rakuline immuunsus ja selle muutus pärast COVID-19 põdemist

Spetsiifilisi T-rakke defineeritakse kui varajasi aktivatsioonimarkereid CD137 ja CD69 kandvaid rakke, mis ei oma naiivsetele rakkudele iseloomulikke markerikombinatsiooni (CCR7 ja CD45RA) ning väljendatakse protsentides CD4+ T-rakkudest. T-rakulise immuunvastuse uurimiseks tegime stimulatsioonikatsed kaheteistkümne COVID-19 tõttu hospitaliseeritud patsiendi (WHO 3 ja 4) ning kaheteistkümnel kergelt põdenud patsiendi (WHO 1) vererakkudega, mis olid kogutud 3, 6 ja 12 kuud pärast haigestumist. Kontrollisikutena osalesid katses muud viirusinfektsiooni põdenud patsiendid (n=12). Teisi viirusinfektsioone põdenud patsientidest olid kolmandal kuul peale põdemist SARS-CoV-2 viirusega ristreageerivad CD4+ T-rakud olemas viiel ja CD8+ T-rakud kolmel isikul. SARS-CoV-2 spetsiifiliste T-rakkude esinemissagedus COVID-19 põdenutel ja nende rakkude dünaamika on sõltuvuses põdemise raskusastmest. Kergelt põdenud (WHO 1, n=11) patsientidel olid viirusspetsiifilised T-rakud alla tuvastamise piiri neljal isikul. Kolmandal kuul ei erinenud spetsiifiliste T-rakkude keskmine protsent WHO 1 grupi ja kontrollgrupi vahel (Joonis 3).

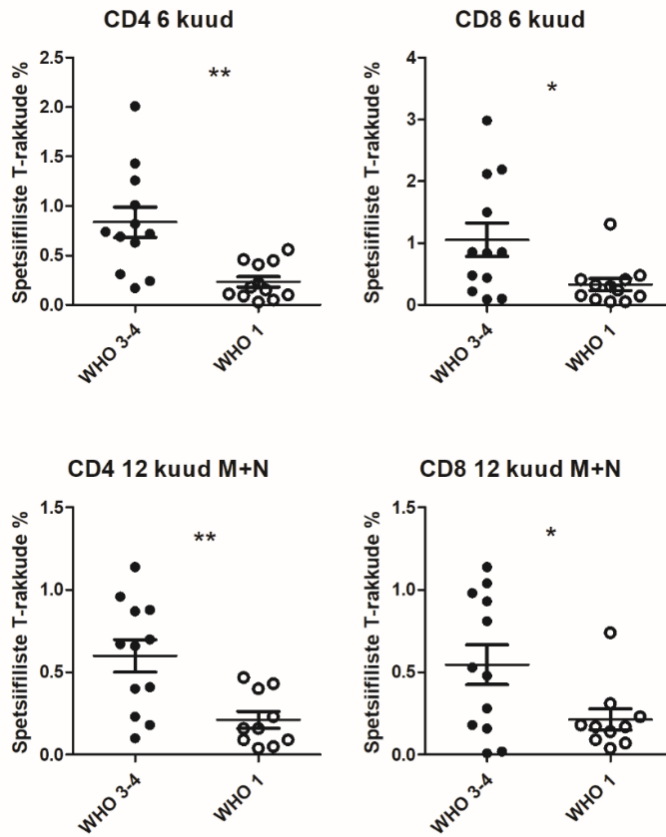
Joonis 3. SARS-CoV-2 spetsiifiliste CD4+ ja CD8+ rakkude osakaal 3 kuud peale põdemist. Summeeriti ogavalgu, nukleokapsiidi ja membraanivalguga reageerivate T rakkude protsendid. Joonisel on tähistatud uuritud gruppide keskmine koos standardveaga. *** p<0,001, * p<0,05



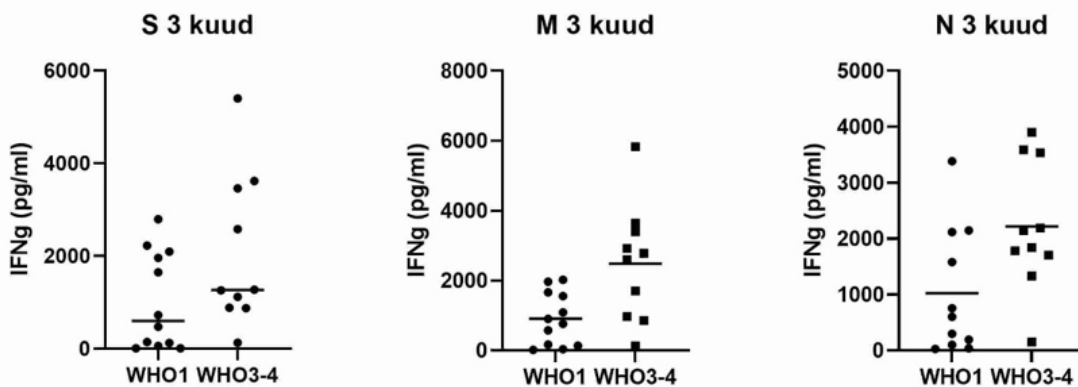
WHO 3-4 grupis olid SARS-CoV-2 antigeenidega reageerivate T-rakkude (nii CD4+ kui CD8+) sagedused oluliselt kõrgemad kui WHO 1 grupis kõigis uuritud ajapunktides ning spetsiifilised T-rakud olid määratavad kõigil patsientidel ka 12 kuud peale põdemist. 12 kuul võeti arvesse ainult nukleokapsiidi (N) ja membraani (M) suhtes reaktiivseid T-rakke, sest osad patsientidest olid vaktsineeritud 6 ja 12 kuu vahel (Joonis 4).

Uurisime T-rakkude võimet toota IFN-gammat vastuseks SARS-CoV-2 S, M või N antigeenile. Osutus, et kolm kuud peale nakatumist on kergekujulist haigust põdenutel IFN-gamma sekretsioon madalam kui neil, kellel kulges haigus raskemalt (Joonis 5, vahe kõikide antigeenide puhul on oluline, p<0.05).

Joonis 4. SARS-CoV-2 spetsiifiliste CD4+ ja CD8+ rakkude osakaal 6 ja 12 kuud peale põdemist. Kuuenda kuu ajapunktis summeeriti ogavalgu, nukleokapsiidi ja membraanivalguga reageerivate T rakkude protsendid, 12 kuud peale põdemist nukleokapsiidi ja membraanivalguga reageerivate T rakkude protsendid. Joonisel on tähistatud uuritud gruppide keskmine koos standardveaga. ** p<0,01, * p<0,05

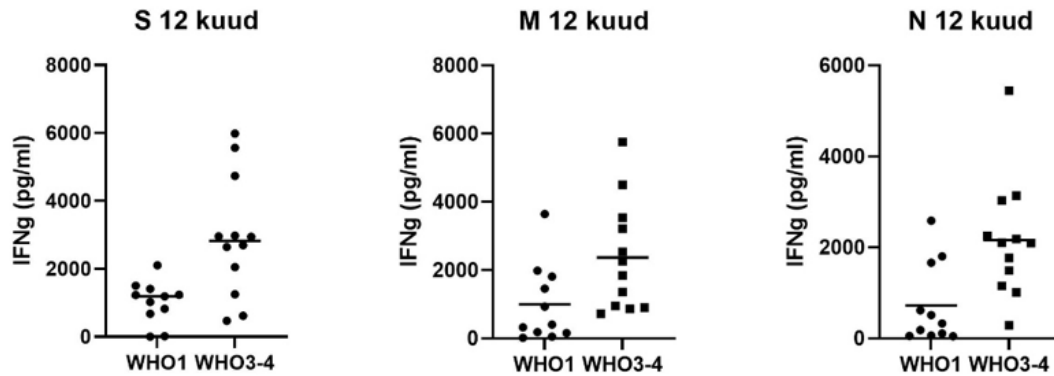


Joonis 5. SARS-CoV-2 antigeenidele S (ogavalk), M (membraanivalk) ja N (nukleokapsiidivalk) vastuseks toodetud IFN-gamma kontsentratsioon koekultuuris 3 kuud peale põdemist. Joonisel on tähistatud gruppide keskmised väärtused.



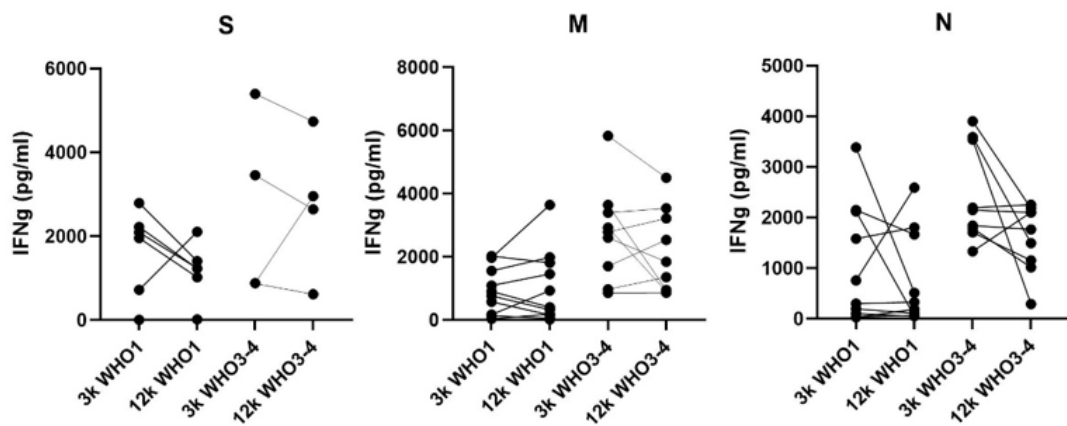
T- mälurakkude vastuse erinevus säilis ka 12 kuud peale nakatumist (Joonis 6).

Joonis 6. SARS-CoV-2 antigeenidele S (ogavalk), M (membraanivalk) ja N (nukleokapsiidivalk) vastuseks toodetud IFN-gamma kontsentratsioon koekultuuri supernatandis 12 kuud peale põdemist. Joonisel on tähistatud gruppide keskmised väärtused.



Analüüsid rakulise immuunvastuse dünaamikat indiviidide kaupa, ilmnisid individuaalsed eripärad. On patsiente, kellel rakuline immuunvastus püsib 9 kuu jooksul ligikaudu samal tasemel, kui ka neid, kellel IFNg tootmise võimekus langeb kolmanda ja kaheteistkümnenda kuu vahel mitmeid kordi (Joonis 7). Statistiliselt oluline ($p < 0,05$) oli see langus ainult WHO3-4 grupis N antigeeni puhul.

Joonis 7. SARS-CoV-2 antigeenidele S (ogavalk), M (membraanivalk) ja N (nukleokapsiidivalk) vastuseks toodetud IFN-gamma kontsentratsioon koekultuuri supernatandis võrdlevalt 3 ja 12 kuud peale põdemist. S paneelil on ainult vaktsineerimata patsientide tulemused.

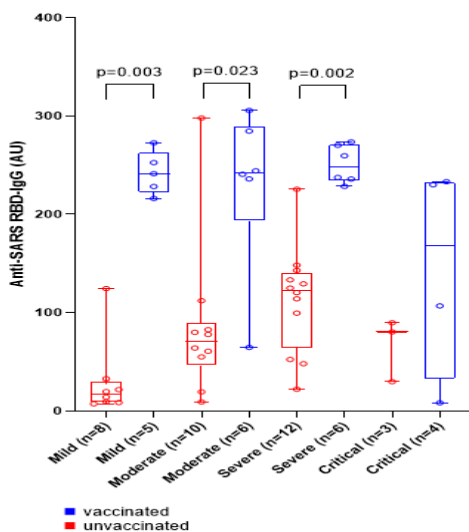


Humoraalne immuunvastus pärast COVID-19 põdemist

SARS-CoV-2 vastaste spetsiifiliste antikehade esinemist ja püsimist kahe infektsioonijärgse aasta jooksul hindasime kokku 123 COVID-19 patsiendil. Neist 59% olid mehed. Antikehi määrasime 3, 6, 12 ja 24 kuud peale akuutset viirusinfektsiooni. 73 uuritaval ei ole veel 2. aasta järelkontrolli aeg täitunud. Seni analüüsitud andmetest ilmneb, et antikehad püsivad aasta pärast haigestumist nii kergelt kui ka raskelt põdenutel. Siiski on antikehade tasemetes erinevused – kergelt haigust põdenutel on tase madalam võrreldes haigust raskelt põdenutega. Samuti selgus, et kergelt põdenutel hakkab antikehade tase oluliselt langema juba 6 kuu möödudes. Raskema astmega (WHO >2) COVID-19

põdenutel püsib antikehade tase vähemalt 12 kuud peale akuutset infektsiooni. 90% meie uuritavatest olid infektsiooni põdemise järgselt tõhusdoosiga vaktsineeritud. Vaktsineerimisel kasutati nelja erinevat vaktsiini: Comirnaty (Pfizer-BioNTech), Vaxzevria (AstraZeneca), Jcovden (Janssen) ja Spikevax (Moderna). Kuna suur osa uuritavatest on uuringu ajal end COVID-19 vastu vaktsineerinud, siis hindasime ka selle mõju antikehade dünaamikale. Selgus, et COVID-19 põdenud isikutel, kes olid vaktsineeritud, on antikehade tase oluliselt kõrgem võrreldes läbipõdenutega, kes polnud vaktsineeritud (Joonis 8). See tulemus toetab seisukohta, et COVID-19 põdemise järgselt on väga oluline lasta ennast ka vaktsineerida. Eriti oluline on see haigust kergelt läbi põdenutel, kellel loomulik antikehade tase kipub olema madalam.

Joonis 8. SARS-CoV-2 vastaste RBD antikehade tase pärast COVID-19 põdemist ja tõhusdoosiga vaktsineerimist.



Geneetiline predispositsioon raske COVID-19 tekkeks

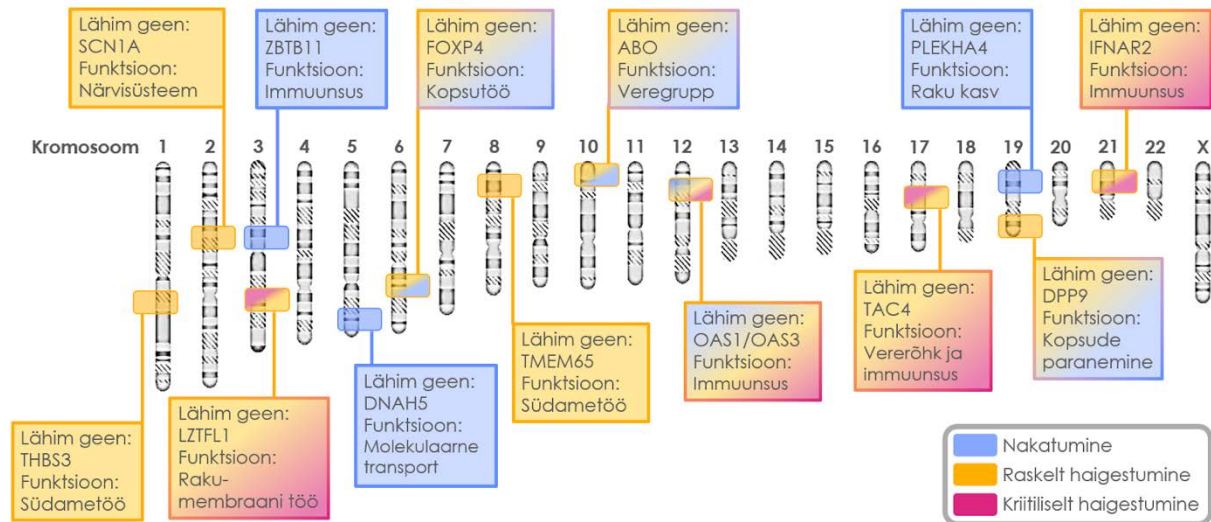
Osalesime TÜ Eesti geenivaramu andmetega rahvusvahelises COVID-19 inimgeneetika uuringus ([The COVID-19 Host Genetics Initiative](#), edaspidi HGI uuring). Uuringusse kaasati ligi viiskümmend tuhat nakatunut, kelle puhul analüüsiti nende nakatumis- ja haiglasse sattumise riski. Eesti geenidonorite seas oli analüüsi hetkeks tehtud 89 000 koroonatesti, neist ligi 2000 olid positiivsed ning nendest omakorda raskelt haigestunuid oli 268. Rahvusvahelise koostöö tulemusena tuvastati hulgaliselt väiksema mõjuga geenivariante, mis seostuvad kõrgema haigestumise riski või haiglasse sattumisega ([analüüsi tulemused](#)).

Kokku tuvastati uuringu käigus 14 geenipiirkonda (Joonis 9), kus esineb selliseid väiksema mõjuga geenivariante. Kuna leitud seosed asuvad geenide lähedal või koguni nende sees, tasub uurida, kas ka geen ise võib kuidagi haigusesse nakatumist või selle kulgu mõjutada. Üheks näiteks on veregruppi määrav geen ABO, mis erinevates uuringutes tundub mõjutavat COVID-19sse nakatumise tõenäosust.

Välja toodud piirkondades on hulganisti geene, mis mõjutavad immuunsüsteemi arengut, südameveresoonekonna süsteemi toimimist ning kopsude funktsiooni. Hetkel ei ole võimalik väita, et just need geenid COVID-19sse haigestumist otseselt reguleeriks, kuid need annavad meile väärtuslikku

informatsiooni viiruse võimalikust toimest organismis, mis omakorda võivad viia järgmiste arenguteni haiglapraktikas ja ravis.

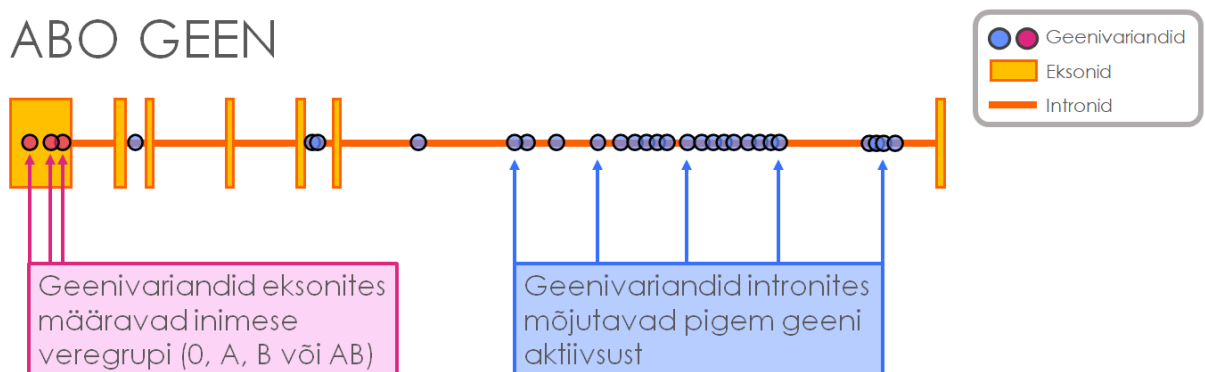
Joonis 9. Geenipiirkonnad, millega seondub keskmisest suurem risk COVID-19 nakatumiseks ja raskelt haigestumiseks.



Rahvusvahelises HGI uuringus tuvastati ABO geeni sees 40 geenivarianti, mis viitavad selle geeni rollile COVID-19sse nakatumisel (Joonis 10, sinised pallid). Tavabioloogias määrab ABO geen ka meie veregrupi. Valdav enamus COVID-19 haiguse käiku mõjutavaid geenivariante pole aga samad variandid, mis määravad inimese veregrupi (joonisel roosad pallid).

Joonis 10. ABO geenivariandid, mis viitavad selle geeni rollile COVID-19 nakatumisel. Suurem osa geenivariantidest paikneb geeni selles osas, mis mõjutab pigem geeni aktiivsust (sinised pallid). Mõned üksikud tuvastatud geenivariantidest paiknevad piirkonnas, mis määrab inimese veregrupi (roosad pallid).

ABO GEEN



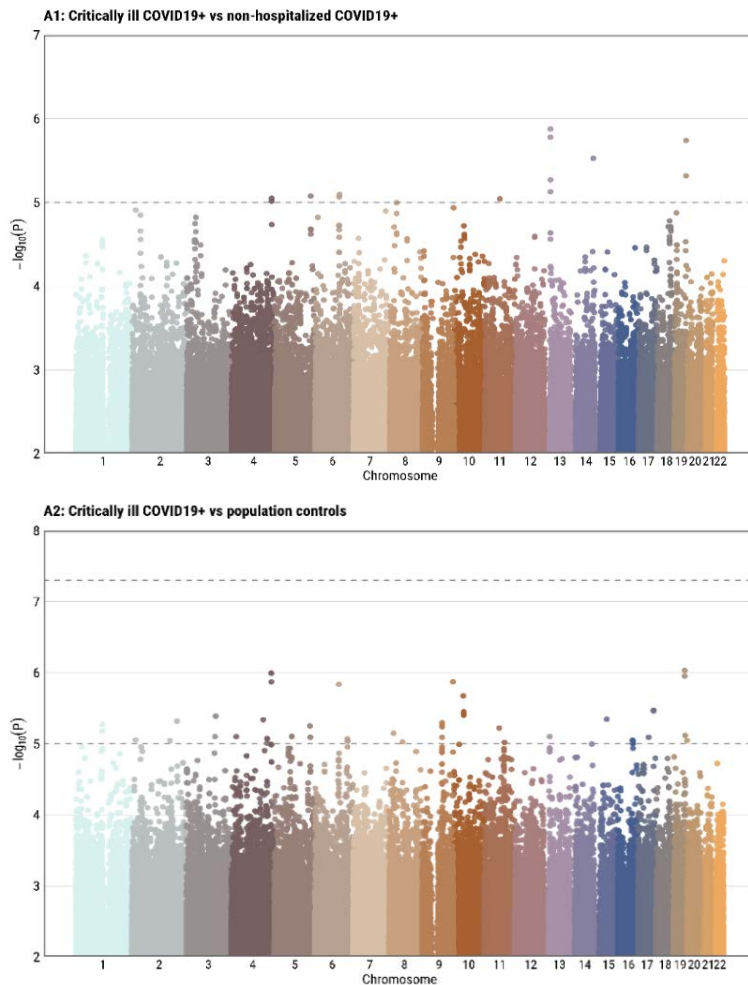
2021 novembri lõpu seisuga oli COVID-19 nakatunud geenidoonorite arv juba 32 829 ja haiglaravi vajanud geenidoonorite arv 543. Intensiivravi (II ja III aste) vajanud doonorite arv oli endiselt väike (n=64). Tegime uued ülegenoomsed seoseuringud suurenenud valimis, kasutades samu juhtude ja kontrollide definitsioone nagu rahvusvahelises COVID-19 inimgeneetika uuringus (The COVID-19 Host Genetics Initiative) (Tabel 4).

Tabel 4. COVID-19 haigete arv (juhud) ja jaotus ülegenoomses seoseuringus.

	Juhud	Kontrollid
A1	Intensiivravil N = 64	SARS-CoV-2 positiivne N = 32286
A2	Intensiivravil N = 64	Ülejäänud populatsioon N = 194729
B1	Haiglaravil N = 543	SARS-CoV-2 positiivne N = 32286
B2	Haiglaravil N = 543	Ülejäänud populatsioon N = 194256
C1	SARS-CoV-2 positiivne N = 32829	SARS-CoV-2 negatiivne N = 60537
C2	SARS-CoV-2 positiivne N = 32829	Ülejäänud populatsioon N = 161970

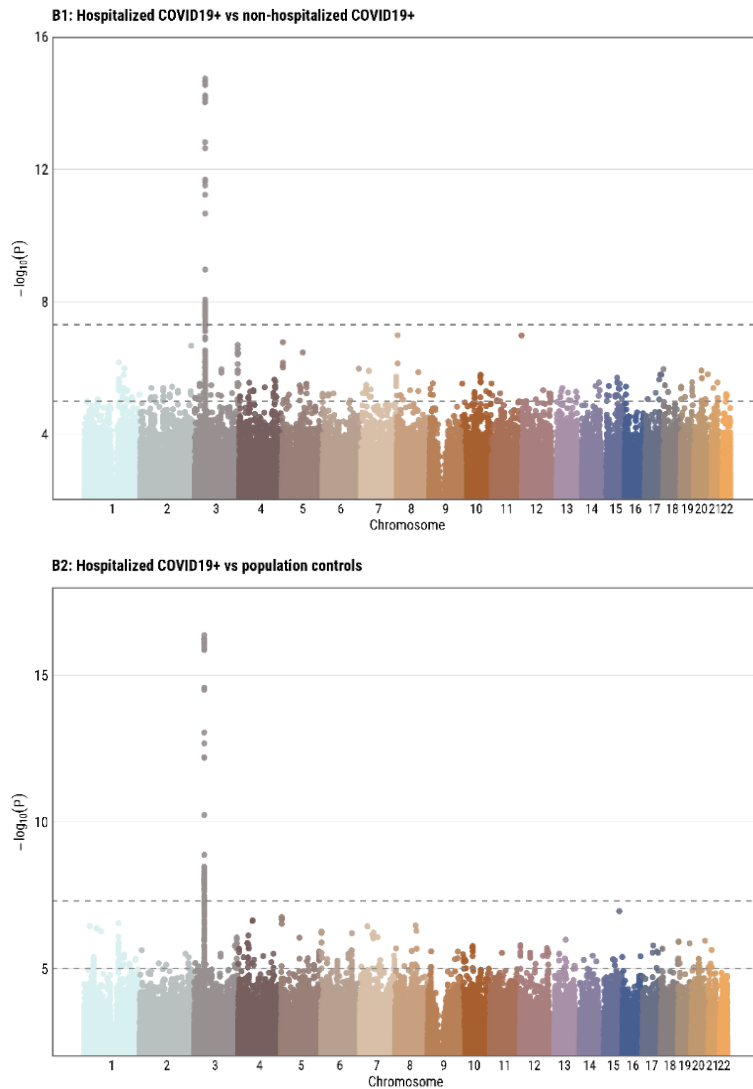
Uute analüüside tulemused on toodud “Manhattan” joonistel (Joonised 11-13), kus geenivariandid on vastavalt oma kromosoomipositsioonil toodud x-teljel ja y-teljel on toodud seoses p-väärtuse negatiivne logaritm. A1 ja A2 analüüsid ei läbinud ükski geenivariant mitmese testimise korrektsiooni.

Joonis 11. Ülegenoomne seoseuring COVID-19 nakatunud geenidonorite andmetel. Paneelil A1 on kriitiliselt haigestunud patsientide võrdlus nakatunud, kuid hospitaliseerimata COVID-19 positiivsete geenidonoritega; paneelil A2 kriitiliselt haigestunud patsientide võrdlus kogu populatsiooniga. Täpsem gruppide jaotus tabelis 4.



Tulemustest nähtub, et hospitaliseerimisega on seotud tuntud genoomi piirkond 3. kromosoomil, kus kõige tugevama seosega geenivariant on rs10490770 (sagedus: 9,9% Eesti populatsioonis).

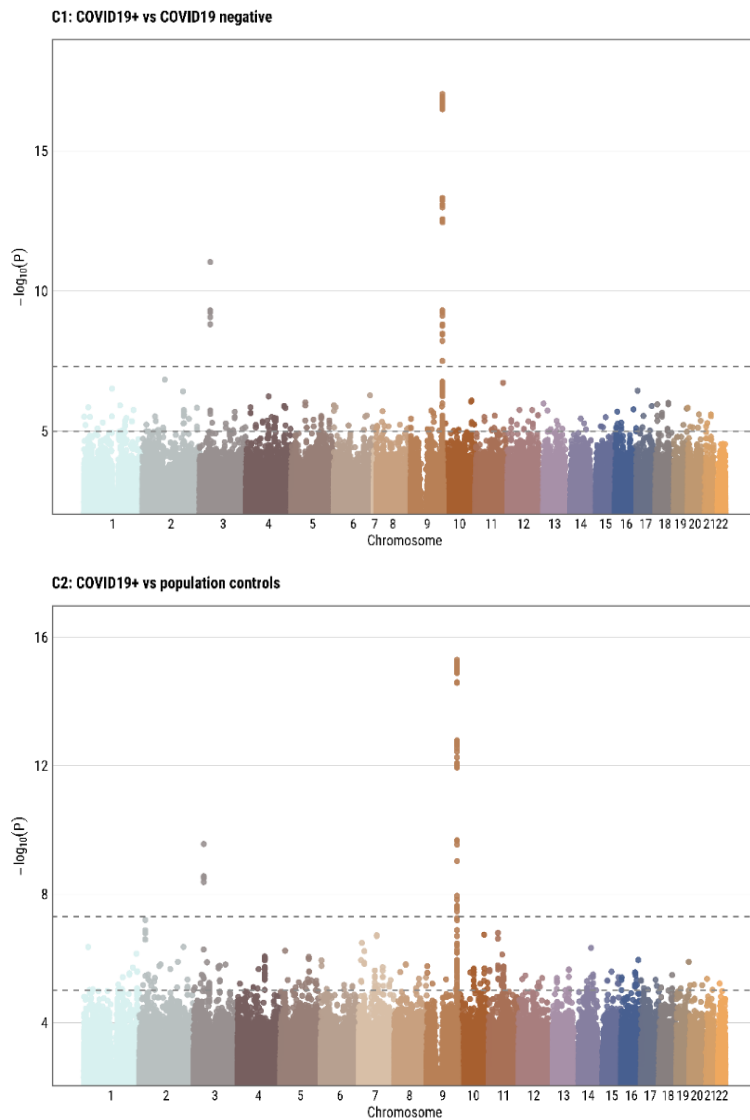
Joonis 12. Ülegenoomne seoseuring COVID-19 tõttu hospitaliseeritud geenidonorite andmetel. Paneelil B1 on hospitaliseeritud patsientide võrdlus nakatunud, kuid hospitaliseerimata COVID-19 positiivsete geenidonoritega; paneelil B2 hospitaliseeritud patsientide võrdlus kogu populatsiooniga. Täpsem gruppide jaotus tabelis 4.



Tulemustest selgus, et COVID-19 nakatumisega on statistiliselt olulisel määral seotud 3. kromosoomi sama piirkond, aga lisaks ka 9. kromosoomil paiknev ABO geen. A veregruppi määrav geenivariant on seotud COVID-19 raskema kuluga, mida on kinnitanud ka [teised uuringud](#).

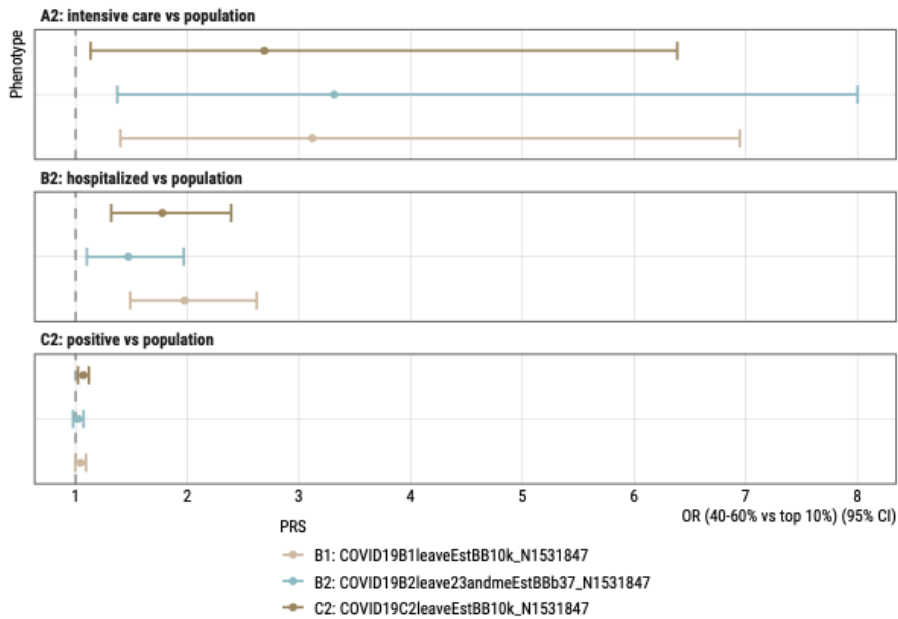
Järgmisena testisime COVID-19 HGI andmete põhjal arvatatud polügeensete riskiskooride (PRS) prognoosivõimet suurenenud andmekogus. Kõige kõrgema 10% PRS-iga indiviididel on 3 korda suurem risk vajada intensiivravi ja 2 korda suurem risk vajada haiglaravi. PRS on ka statistiliselt oluliselt seotud nakatumisega, kuid selle mõju on väiksem. Parima prognoosivõimega riskiskoor oli B1 – hospitaliseerimise GWAS koos 23andMe andmepanga andmetega (Joonis 14).

Joonis 13. Ülegenoomne seoseuring COVID-19-sse nakatunud geenidonorite andmetel. Paneelil C1 on hospitaliseeritud patsientide võrdlus testitud, kuid negatiivse tulemuse saanud geenidonoritega; paneelil C2 nakatunud patsientide võrdlus kogu populatsiooniga. Täpsem gruppide jaotus tabelis 4.

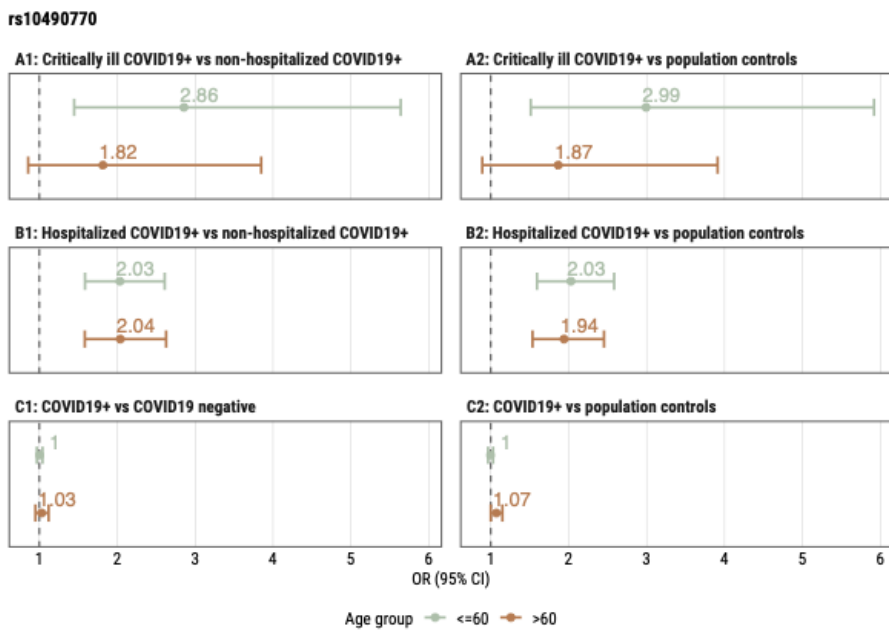


Kliinilise testina pole alati ülegenoomne genotüpiseerimine kättesaadav ega teostatav, seetõttu uurisime ka kõige tugevama seosega SNP-i prognoosivõimet COVID-19 haiguse kulule. Kokkuvõttes oli rs10490770 SNPi mõju pisut väiksem kui PRS-i mõju, kuid <60-aastaste puhul oli riski-alleeli kandjatel risk (šansside suhe) vajada intensiivravi ligi 3 korda suurem ja haiglaravi 2 korda suurem kui ülejäänud populatsioonil (Joonis 15).

Joonis 14. COVID-19 polügeensete riskiskooride prognoosivõime võrdlus erinevate andmekogude andmetel. Paneelil A2 on kujutatud patsientide riski vajada intensiivravi võrrelduna geenivaramu ja 23andMe andmekogu andmetega; paneelil B2 on hospitaliseerimiskriisi samades andmekogudes ning paneelil C2 nakatumiskriisi kõige kõrgema 10% PRS-iga indiviidide hulgas. Täpsem gruppide jaotus tabelis 4.



Joonis 15. Kõige tugevama seosega SNP (rs10490770) prognoosivõime COVID-19 haiguse kulule alla 60-aastaste (rohelistes jooned) ja üle 60-aastaste (pruunid jooned) vanusegruppides. Paneelil A on näidatud mutatsiooni mõju COVID-19-sse kriitiliselt haigestunud patsientide hulgas võrrelduna mitte-hospitaliseeritud patsientide (A1) ja kogupopulatsiooniga (A2). Paneelil B vastav analüüs hospitaliseeritud COVID-19 patsientide hulgas ning paneelil C nakatumise prognoosid.



Doonorite värbamine ja plasmaferees

Esmase skriinimise tulemusel identifitseeriti 76 doonorit ja koguti 41 doosi plasmat, mis hoiustati Põhja-Eesti Regionaalhaigla ja TÜ Kliinikumi verekeskustes. Kõikidel doonoritel viidi läbi neutralisatsioonitest, mille põhjal otsustati plasmafereesi läbiviimine. 18 doonoril oli testi tulemus piisav, et kaaluda plasmafereesi. 18-st potentsiaalsest doonorist jõudis plasmafereesile 12 doonorit. Osadele doonoritele korraldati korduv plasmafereesi protseduur. Kokkuvõtvad andmed plasmadoonorite kohta on tabelis 5.

Tabel 5. Plasmadoonorite andmed.

Doonorite arv	78
M:N	31:47
Vanus aastates, mediaan, kvartiilide vahe	37, 31.25 - 42.75
Kehakaal kg, mediaan, kvartiilide vahe	74.50, 61-85.25
Veregrupp: O:A:B:AB	24:33:13:8
HLA antikehad	17
COVID haiguse ravikoht kodus:haiglas:intensiivis	69:3:2
Hemoglobiini tase g/l, mediaan, kvartiilide vahe	138, 131 - 146
Sobib plasmafereesi protseduuriks enne neutralisatsioonitesti tulemust	41
Neutralisatsioonitesti põhjal sobivad	16 doonoril tiiter >1:320

Neutralisatsioonitesti (NT) tulemused olid järgmised: 76 doonori NT tulemused lahjendusel: mediaan ja kvartiilide vahe vastavalt 1:96 ja 1:32 – 1:302. 16 doonoril oli NT tulemus üle 1:320 ning nende mediaan ja IQR oli 1:679 ja 1:384 – 1:1088. Kokku sai teostatud 21 plasmafereesi protseduuri, 2 kõrge tiitriga doonorit käisid kaks korda protseduuril. Koguti 36 doosi afereesi plasmat: O/pos 5 doosi, A/neg 8 doosi; B/neg 10 doosi, AB/pos 10 doosi ja AB/neg 3 doosi.

Patsientide uuringusse värbamine (raviplasma ülekanne COVID-19 raviks)

Uuringusse õnnestus kaasata 9 COVID diagnoosiga patsienti järgmistest haiglatest:

SA Ida-Viru Keskhaigla	1 patsient
SA Põhja-Eesti Regionaalhaigla	5 patsienti
SA Tartu Ülikooli Kliinikum	3 patsienti

COVID-19 vastu vaktsineeritud inimeste antikehade tiitri määramine ja neutralisatsioonivõime uurimine

Uuringusse kaasati 15 Comirnaty ja 15 Moderna vaktsiini saanud patsienti. Viidi läbi neutralisatsioonitestid erinevate tüvedega (Tabel 6). Neutralisatsioonitestid näitasid, et esialgne vaktsineerimine tagas efektiivselt antikehade tekkimise erinevate tüvede suhtes. Kõige tugevam vastus kujunes esialgse ehk alfa tüve vastu ja nõrgem pärast kahekordset vaktsineerimist delta tüve vastu.

Tabel 6. Neutralisatsioonitestide tulemused alfa, beta (Briti), delta (India) ja omikron tüvedega

Patient	Comirnaty					Moderna				
	anti-RBD AB	NT alpha	NT beta	NT delta	NT omikron	anti-RBD AB	NT alpha	NT beta	NT delta	NT omikron
1	189,9	2048	128	24	32	89,7	384	192	4	16
2	104,6	1526	32	4	24	114,9	1280	96	8	16
3	170,6	768	64	20	32	199,8	768	192	24	48
4	76,3	384	64	8	12	94,4	512	64	4	24
5	123,7	652	128	16	48	131,2	192	96	6	12
6	78,1	1536	32	4	48	189,7	256	256	24	16
7	112,4	4096	48	12	24	152,4	768	192	16	32
8	143,1	1024	32	8	48	131	192	128	8	24
9	97,9	2048	64	12	48	99,1	96	64	6	96
10	161,5	768	96	16	32	129,9	256	192	8	128
11	148,2	2048	128	12	16	191,2	3072	256	48	64
12	184,5	768	128	32	24	200,7	2048	384	24	128
13	120	640	64	8	48	198,2	2048	512	32	24
14	192,2	768	96	24	24	225,2	1536	1024	64	64
15	226,9	1536	96	32	32	166,4	2048	128	12	32
Median	143,1	1024	64	12	32	152,4	768	192	12	32
25 IQ	108,5	768	56	8	24	122,4	256	112	7	20
75 IQ	177,5	1792	112	22	48	194,7	1792	256	24	64

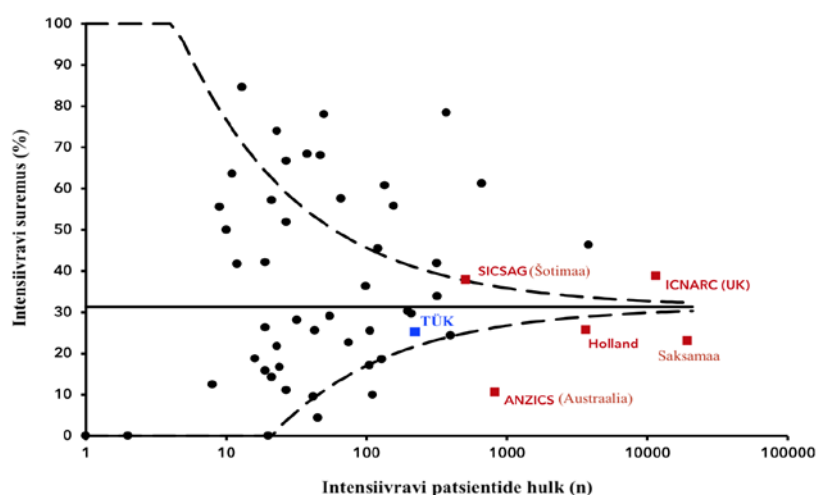
Arutelu

Haiglaravi epidemioloogia ja ravitulemused (U1)

Ajavahemikus 27.02.2020–26.02.2021 COVID-19 haigusega 17 Eesti haiglasse hospitaliseeritud patsientidest ligi pooled mehed keskmise vanusega 65,6 aastat. Naiste keskmine vanus oli 70,6 aastat. Vaid viiendik hospitaliseeritustest ei vajanud lisahapnikku, seega nende hospitaliseerimise põhjus ei olnud hingamispuudulikkus. Kaks kolmandikku hospitaliseeritustest viibis hingamispuudulikkuse tõttu ravil tavaosakonnas ning kümnendik vajas intensiivravi. Intensiivravi osakonnas viibis ravil rohkem mehi. Vanemaealistel patsientidel esines hingamispuudulikkust rohkem kui noorematel. Ligi viiendik hospitaliseeritustest olid hooldekodude elanikud. Hospitaliseerimisel oli kopsupõletiku diagnoos üle pooltel haigetest, sh kolmel neljandikul intensiivravi saanud haigetest. Kuna hapnikravi vajajaid oli rohkem, siis tõenäoliselt ei olnud kopsupõletiku diagnoos haigusloos kõigil dokumenteeritud. Vappekülma esines enam kui kümnendikul, kõha ja õhupuudust ligi kahel kolmandikul ning hingeldust üle pooltel intensiivravi osakonnas viibinutel.

Kliinikumi aktiivravi haigetest moodustasid COVID-19 haiged 2021. aastal märkimisväärse osa. Nende haiglaravi oli keskmiselt kolm korda pikem ja suremus viis korda suurem kui tavapärastel aktiivravi haigetel. Koormus intensiivravile oli väga suur, sest iga viies koroonahaige vajas intensiivravi ja iga kuues kopsude kunstlikku ventilatsiooni. Kliinikumis intensiivravi vajanud haigetest suri 85, s.t haigla suremus oli 25,4%. See on oluliselt kõrgem tavapärasest intensiivravi suremusest, mis näiteks 2019. aastal oli 12,6%. Võrreldes rahvusvaheliste andmetega on see näitaja aga igati heal tasemel. Armstrong ja teiste poolt publitseeritud paljusid maailma tippkeskusi haaravas meta-analüüsis oli intensiivravi suremus suure variatsiooniga, kuid jäi domineerivalt 35-40% vahemikku (Joonis 16) [14].

Joonis 16. Tartu Ülikooli Kliinikumis (TÜK) intensiivravil viibinud koroonahaigete suremuse võrdlus rahvusvaheliste andmetega. Avaldatud kirjastaja loal.



COVID-19 on väga raske haigus, seega on põhjendatud, et paljude selliste haigete ravi toimub kõrgemas ravietapis. COVID-19 ravitulemused, sh intensiivravi ja EKMO tulemused olid 2021. aastal Kliinikumis kõrgel rahvusvahelisel tasemel. Vähemalt 75 aastaste patsientide suremus oli küll suur, kuid aktiivravi (sh ka intensiivravi) suutis päästa üle poole neist patsientidest.

Kokkuvõttes võime senise analüüsi põhjal öelda, et Eesti tervishoiusüsteem sai COVID-19 koormusega märkimisväärselt hästi hakkama. Haiglaravile võeti vaid need haiged, kes seda tööpoolest vajasisid, rakendatud ravimeetodid, -kestus ja tulemused olid igati vastavad rahvusvahelistele standarditele.

COVID-19 haigete jälgimisuuring (U2)

Kaebused ja sümptomid pärast COVID-19 põdemist

Antud uuring on esimene uurimus long-COVID-19 haigetest Eestis. WHO definitsiooni kohaselt on long-COVID-19 diagnoositav, kui sümptomid esinevad kolm kuud pärast ägedat infektsiooni, kestavad vähemalt kaks kuud ja pole seletatavad muu haigusega.

On märkimisväärne, et COVID-19 põdemise järgselt meie uuringusse kaasatud patsientidest ligi pooltel esines 3. kuul vähemalt üks uus COVID-19-ga seotud kaebus, 6. kuul esines see ligi 2/3 uuritavatest. Sagedasemad kaebused olid üldised sümptomid nagu väsimus ja koormustaluvuse langus, aga ka neuropsühhiaatrilised sümptomid. Kui 6. kuul olid pikaajalised kaebused sagedamini neil, kel oli haiguse ägedas faasis kopsupõletik ning kes vajasis hapnikravi, siis 3. kuul sellist erisust ei esinenud. Seetõttu võib järeldada, et haiguse kliiniline kulg ägedas faasis omab mõju pikaajaliste kaebuste tekkimisele. Uuringu tulemused demonstreerivad ilmekalt, et **long-COVID-19 on väga tõsine probleem, mis vajab edaspidi olulist tähelepanu. Võib prognoosida, et nende patsientide koormus tervishoiusüsteemile saab olema päris suur.** Ilmselt oleks mõistlik long-COVID-19 haigetega tegeleva ekspertrühma moodustamine, näiteks Tartu Ülikooli Kliinikumi juurde.

Põletikulised biomarkerid ja haiguskulu raskus

COVID-19 haigust raskelt põdenutel vallandub organismis ulatuslik põletikuprotsess. Kopsupõletik on peamiseks põhjuseks, miks vanemad ja kaasuvate haigustega inimesed vajavad haiglates intensiivravi ja lisahapnikku. Uurisime raskelt põdenud COVID-19 haigete verest ca 90 erinevat põletikumarkerit, et leida tugeva põletikuprotsessi põhjustajat ning võrdlesime saadud tulemusi kergelt ja mõõdukalt COVID-19 põdenud haigete tulemustega. Sarnase uuringu tegime 3 ja 6 kuud peale haiguse põdemist. Tuvastasime 15 erinevat markerit, mille aktivatsioonitase oli erinev kergelt ja raskelt haigestunud inimestel. Uuringu tulemused näitasid, et teatud immuunrakud, mida nimetatakse monotsüütideks, on raske COVID-19 peamiseks põletikuprotsessi käivitajaks. Monotsüüdid omavad immuunvastuses olulist rolli, kuna nad alarmeerivad immuunsüsteemi organismi tunginud viirusest. Raske COVID-19 korral väljub monotsüütide aktivatsioon kontrolli alt ning see põhjustab immuunsüsteemi üleaktivatsiooni ja laiaulatusliku kopsukoe kahjustuse. **Kokkuvõttes, antud uuringus leidsime ühe olulise ja spetsiifilise põletikufaktori, mille üleaktivatsioon omab olulist rolli raske COVID-19 haiguse kujunemises. Vara on veel öelda, kas sellel teadmisel on praktiline väljund uue diagnostilise ja/või ravitegevuse väljatöötamiseks.** Töötame selles suunas edasi.

Rakuline immuunvastus ja selle säilimine pärast COVID-19 põdemist

Lisaks antikehadele on viirusevastases kaitses oluline roll ka rakulisel immuunsusel: viirust ära tundvad mälu T-rakud suudavad viirust tootvaid rakke hävitada ja toetada antikehi tootvate rakkude tegevust. Määrasime SARS-CoV-2 viiruse vastast T-rakulist immuunvastust kolm, kuus ja kaksteist kuud peale COVID-19 põdemist. Viirusega reageerivaid T-rakke oli märgatavalt rohkem raskemini põdenud haigetel ja need rakud olid määratavad ka 12 kuud peale haigusest paranemist. Kergete sümptomitega kulgenud haiguse korral ei tekkinud umbes pooltel uuritutest viirusega reageerivaid rakke.

Immuunvastuse jälgimisel ilmnesid individuaalsed eripärad. **On patsiente, kellel viirusevastane rakuline immuunvastus püsib aasta jooksul muutumatul tasemel, kuid ka neid, kellel T-rakuline vastus väheneb väga oluliselt ajavahemikus kolmandast kuni kaheteistkümnenda kuuni.**

Humoraalne immuunvastus pärast COVID-19 põdemist

SARS-CoV2 vastaste antikehade mõõtmisel veres kinnitus varasemalt maailmas leitud tulemus, et kergelt haigust põdenutel on immuunvastuse tase madalam võrreldes haigust raskelt põdenutega. Oluline on see, et kergelt COVID-19 põdenutel hakkab antikehade tase langema märgatavalt juba pool aastat peale infektsiooni. Raskelt haigust põdenutel püsib antikehade tase kauem. Antikehade suhteliselt kiire langus infektsiooni järgselt viitab vajadusele kõiki isikuid infektsiooni järgselt vaksineerida. See reegel kehtib eriti COVID-19 kergelt põdenute kohta. 90% meie uuritavatest olid väga teadlikud ja on end haiguse järgselt vaksineerinud ühe või mitme tõhusustdoosiga. Uuringust selgus, et kõik kasutatud vaktsiinid on väga efektiivsed. Eriti märgatav oli vaksineerimise järgne antikehade hulga tõus neil, kellel haiguse põdemine andis tagasihoidlikuma kaitse või langes see kiirelt peale põdemist. **Eesti haigetel tehtud meie uuring kinnitas fakti, et vaksineerimine on vajalik kõigil COVID-19 põdenutel ja kõik kasutatavad vaktsiinid on võrdset efektiivsed.** Selleks, et selgitada, kui kaua püsib vaksineerimisjärgne immuunkaitse, on vajalik jätkuv pikaajalisem jälgimisuuring.

Geneetiline predispositsioon raske COVID-19 põdemiseks

COVID-19 põdenud geenidonorite uurimisel tuvastasime, et teatud geenivariandi kandjad vajavad koroonaviirusega nakatudes suurema tõenäosusega haiglaravi. Selle spetsiifilise geenivariandi (rs10490770) sagedus Eesti populatsioonis on 9,9%. Näitasime, et A veregrupiga inimesed põevad COVID-19 raskemalt. Töötasime välja COVID-19 polügeense riskiskoori (PRS), mis Eesti populatsioonis ennustab hästi haiguse raskusastet – kõige kõrgema 5% PRS-iga indiviididel on 3 korda suurem risk vajada intensiivravi ja 2 korda suurem risk vajada haiglaravi. PRS on ka statistiliselt oluliselt seotud nakatumisega, kuid selle mõju on väiksem. Need on unikaalsed andmed. Tööl on konkreetne võimalik praktiline väljund: **COVID-19 raske haiguse suurt riski kandvaid geenidonorid tuleks informeerida sellest tõenäosusest, mis peaks neid motiveerima osalema vaksineerimisprogrammis ning samuti olema tähelepanelikud teiste nakatumisvastaste meetmete rakendamisel.**

COVID-19 infektsioonist paranenud inimeste plasma kasutamine COVID-19 raske infektsiooni raviks (U3)

Uuringu esimene etapp, doonorite värbamine ja plasmafereesi abil plasma kogumine õnnestus hästi. Meediateavituste abil õnnestus vajalikul arvul doonoreid kaasata. Ilmnesid ootamatud probleemid: esiteks, doonorite plasma neutralisatsioonivõime oli ootamatult madal ja teiseks, naisdoonoritest ligi kolmandikul esines HLA antikehi, mistõttu nad ei sobinud plasmadoonoriks. Siiski kogusime ca 12 kuuga uuringu järgmiseks faasiks vajaliku koguse doonorplasmadid.

Sügisel 2020 oli meil valmisolek patsientide värbamiseks ja plasma raviks, esimene patsient värvati uuringusse novembris 2020. Peagi selgus, et enamus potentsiaalsetest uuringusse kaasatavatest patsientidest saavad haiglaravile oluliselt hiljem kui 10. päeval ja ei sobi seetõttu uuringusse. Teine COVID-19 laine oli haripunktis, kui uuringusse õnnestus suurte raskustega värvata 9 patsienti. 2021. aasta alguses ehk 2. ja 3. laine vahel algas aktiivne vaksineerimine, mis vähendas oluliselt haiglaravi vajadust. Lisaks saabusid teiste uuringukeskuste tulemused, mis ei olnud ootustele vastavad. 2021. aasta teises pooles avaldatud vastavasisuliste uuringute meta-analüüs [15] näitas veenvalt, et COVID-

19 läbipõdenud inimeste plasma ei avalda olulist mõju suremusele ega intensiivravi osakonda hospitaliseerimisele. Seetõttu otsustasime uuringu katkestada ja patsientide värbamise lõpetada. Publitseeritud uuringutest on näha, et läbipõdenud inimeste plasma ülekandest võiksid kasu saada vaksineerimata riskirühma kuuluvad patsiendid, kui neile teha plasma ülekannet võimalikult varakult pärast nakatumist, st ambulatoorses vastuvõtus [16,17]. Positiivsed tulemused olid saadud kõrge riskiga vaksineerimata populatsioonis, kus COVID-19 kulges kergelt ja plasmat kasutati ära hoidmaks kerge kulu muutumist raskekujuliseks. Lõpetasime uuringusse värbamise pärast teadusuuringute tulemuste publitseerimist.

Eestis kasutusel olnud mRNA vaktsiinid Comirnaty ja Moderna on antikehade tiitri ja neutraliseerimisvõime alusel kutsunud esile tugeva immuunvastuse. Oma uuringus selgitasime 30 vaksineeritud inimese (15 Comirnaty vaktsiiniga ja 15 Moderna vaktsiiniga) plasma neutraliseerimisvõimet nelja SARS-COV-2 tüve suhtes: algne tüvi, beta-tüvi (2. laine põhjustaja), delta-tüvi (3. laine põhjustaja) ja omikron-tüvi. Esmane vaksineerimine andis hea kaitse kõikide tüvede vastu. Vereplasma lahjenduses ligi tuhat korda neutraliseeris viiruse kasvu algse tüve puhul, 60-190 kordne lahjendus pärssis beta-tüve kasvu, 12 kordne lahjendus osutus efektiivseks delta-tüve suhtes ja 32 kordne omikroni puhul. Kahjuks immuunvastuse kestvuse kohta meie uuring vastust ei anna, vaksineerimine toimus 1-2 kuud pärast teise doosiga vaksineerimist.

Selle alauuringu kokkuvõttes võime öelda, **et plasmaravi rakendamine ei ole COVID-19 ravis põhjendatud**. Oluliselt parem perspektiiv on monoklonaalsete antikehade kasutamisel. Eesti Raviametis on esimesed vastavad ravimid registreeritud. Eriti hea peaks olema valmidus nende ravimite kasutamiseks immuunpuudulikkusega riskipatsientidel ja seda juba vahetus nakatumisjärgses perioodis.

Järeldused

Missugused epidemioloogilised ja kliinilised tegurid iseloomustavad erineva raskus-astmega COVID-19 nakkuse tõttu hospitaliseeritud Eesti patsiente?

COVID-19 tõttu vajavad hospitaliseerimist ennekõike eakad, üle 65 aasta vanuses inimesed. Eestis haiglaravi vajanutest 17% olid hooldekodude elanikud. Reisimisega seotud nakatumine oli tagasihoidlik – vaid 2% hospitaliseeritutest olid 14 päeva jooksul enne COVID-19 diagnoosi saamist käinud reisil. Meditsiinasutuste töötajaid oli haiglaravi vajanute seas 3%, so 73 inimest, mis lubab järeldada, et nakkustõrje meetmed olid haiglates üldreeglina hästi rakendatud.

Haigestunute seas oli pisut rohkem mehi kui naisi. Ligi pooled hospitaliseeritutest olid enne haigestumist enda teada olnud kontaktis COVID-19 haigega – ülejäänute jaoks oli nakatumine toimunud teadmata kontaktist. Peamised haigussümptomid olid köha, õhupuudus ja hingeldus. Haiglaravi vajaduse määras ennekõike hingamispuudulikkus – enamik haigetest said hapnikravi, 13% haigetest vajab hospitaliseerimist intensiivravi osakonda. COVID-19 koormus haiglaravile ja eriti intensiivravile oli suur. Nende haiglaravi oli keskmiselt kolm korda pikem ja suremus viis korda suurem kui tavapärastel aktiivravi haigetel. COVID-19 ravi tulemused olid Eestis heal tasemel.

Kas ja millised humoraalse ja rakulise immuunsuse komponendid ning geneetilised faktorid määravad haiguse üliraske kulu, st intensiivravi vajaduse?

Haiguse üliraske kulu määravad ennekõike patsiendi vanus, kaasuvad haigused, SARS-CoV-2 tüvi ning patsiendi immuniseerituse aste. Käesoleva projekti põhjal saame järeldada, et ka pärilikkusel on mõningane roll – teatud geenivariandi kandjad, mille esinemissagedus Eesti populatsioonis on 9,9%, vajavad koroonaviirusega nakatudes suurema tõenäosusega haiglaravi.

Analüüsidest ligi sadat põletikumarkerit leidsime, et ühe olulise ja spetsiifilise markeri, STAM binding proteini, tase on erinev vastavalt haiguse raskusastmele. Vara on veel öelda, kas sellel teadmisel on praktiline väljund uue diagnostilise ja/või ravitegevuse väljatöötamiseks.

Humoraalse ja rakulise immuunsuse komponendid on ennekõike olulised COVID-19 põdemise järgse immuunvastuse kujunemisel. COVID-19 raskesti põdenutel kestab rakuline immuunvastus pikemalt kui kergelt haigestunutel, samas on selles osas väga suur indiviidide vaheline variatsioon – T-rakkude mälu võib kaduda juba mõne kuu möödudes või kesta kuni 12 kuud. Antud tulemused on selgituseks sellele, miks osad inimesed nakatuvad koroonaviirusesse korduvalt, ka juba kolme kuu möödudes esmapõdemisest.

Humoraalse immuunsuse analüüs kinnitab soovitusi, et vaktsineerimine on põhjendatud ka COVID-19 põdemise järgselt ja kõik Eestis kasutatavad vaktsiinid on võrdselt efektiivsed.

Kuidas muutub COVID-19 haiguse läbipõdenute tervislik seisund, füüsiline võimekus ja immuunvastus 12 kuu jooksul peale haiglaravi?

COVID-19 tõttu haiglaravi vajanutel esineb sageli hilissümptomeid ja need on ajas süvenevad. 6. kuul esineb ligi 2/3 haiglaravi vajanutest COVID-19ga seostatav uus kaebus. Pikaajalised kaebused esinevad sagedamini neil, kel oli haiguse ägedas faasis kopsupõletik ning kes vajasis hapnikravi. Seega on long-COVID tõsine probleem, mis saab avaldama olulist mõju Eesti elanike tervisele ja tervishoiusüsteemile.

Kas COVID-19 haiguse läbipõdenute vereplasma kasutamine vähendab intensiivravi vajadust suure riskiga patsientidel?

Plasmaravi rakendamine COVID-19 ravis ei ole põhjendatud. Haiguse läbipõdenute immuunvastus on väga suure variatsiooniga, seetõttu sobivad vaid üksikud nendest patsientidest plasmadoonoriteks. Raviplasma kogumiseks vajaliku logistikaahela ülesehitamine on keeruline ja tavapraktikas kulukas.

Kokkuvõte

Ülaltoodud tööde tulemusena saime ettekujutuse COVID-19 haiglaravi tulemustest Eestis, samuti immuunvastuse kujunemisest ja eripäradest Eesti haigetel.

COVID-19 tõttu vajavad hospitaliseerimist ennekõike eakad, üle 65 aasta vanuses inimesed. 17% haiglaravi vajanutest olid hooldekodude elanikud. COVID-19 koormus haiglaravile ja eriti intensiivravile oli 2021. aastal suur. 13% haigetest vajab hospitaliseerimist intensiivravi osakonda. Nende haiglaravi oli keskmiselt kolm korda pikem ja suremus viis korda suurem kui tavapärastel aktiivravi haigetel. Haiguse üliiraske kulu määravad ennekõike patsiendi vanus, kaasuvad haigused, SARS-CoV-2 tüvi ning immuniseerituse aste. Ka pärilikkusel on mõningane roll. Teatud geenivariandi kandjad, mille esinemissagedus Eesti populatsioonis on 9,9%, vajavad koroonaviirusega nakatudes suurema tõenäosusega haiglaravi. COVID-19 raske haiguse suurt riski kandvaid geenidoonoreid tuleks informeerida sellest tõenäosusest, mis motiveeriks neid osalema vaktsineerimisprogrammis.

COVID-19 raskesti põdenutel kestab rakuline immuunvastus pikemalt kui kergelt haigestunudel, samas on selles väga suur indiviidide vaheline variatsioon – T-rakkude mälu võib kaduda juba mõne kuu möödudes või kesta kuni 12 kuud. See selgitab, miks osad inimesed nakatuvad koroonaviirusesse korduvalt, ka juba kolme kuu möödudes esmapõdemisest. Humoraalse immuunsuse analüüs kinnitab soovitusi, et vaktsineerimine on põhjendatud ka COVID-19 põdemise järgselt ja kõik Eestis kasutatavad vaktsiinid on võrdselt efektiivsed. Plasmaravi ei ole COVID-19 ravis argumenteeritud, küll aga on võimalik monoklonaalsete antikehade kasutamine neil haigetel.

COVID-19 tõttu haiglaravi vajanutel esineb sageli hilissümptomeid ja need on ajas süvenevad. Pikaajalised kaebused esinevad sagedamini neil, kel oli haiguse ägedas faasis kopsupõletik ning kes vajasid hapnikravi. Seega on long-COVID tõsine probleem, mis saab avaldama olulist mõju Eesti elanike tervisele ja tervishoiusüsteemile.

Kokkuvõttes, töögrupi arvates on kõigil nendel teadmistel oluline praktiline väljund. Siinkohal soovime nimetada, et projekti RITA2/126 HOSPICOVI rahastus (200 000 EUR) aitab katta vaid tagasihoidliku osa siin esitatud teadustööde kuludest. Samas tunnustame Sotsiaalministeeriumi initsiatiivi ühiskonnale oluliste terviseküsimuste lahendamiseks vajaliku teaduspõhise lähenemise kujundamisel.

Summary in English

The current project describes the outcomes of COVID-19 hospitalisations in Estonia during 2020-2021, and investigates the immune response to COVID-19 infection and the risk factors for severe disease. The patients hospitalised due to COVID-19 in Estonia were mostly over 65 years of age, 17% of the patients were admitted from nursing facilities. The COVID-19 surge had a significant impact on daily hospital care, as 13% of the hospitalised patients required intensive care.

The average length of stay of COVID-19 patients was three and mortality five times higher than that of other patients receiving active medical care. The study showed that the demographics and outcomes of COVID-19 in Estonia are comparable to international data. The main determinants of critical illness were advanced age, co-morbidities, the strain of SARS-CoV-2 virus and immunisation status of the patient. In addition, genetics has its role in the course of the disease. We found that 9.9% of the Estonian population carry the gene variants, which pose a significant risk of hospitalisation due to COVID-19. This information can help to identify and recommend vaccination to the Estonian Genome Project donors with an increased likelihood of severe COVID-19.

We found that patients suffering from a severe form of the disease had a more durable humoral and cellular immune response than those with mild or moderate disease. However, we noted a high variation between individuals in their immune response; the antibody levels and memory T cell numbers decreased in some patients already 3 months after the disease while persisted in others for up to 12 months. This finding may explain why some patients can be infected repeatedly, in some cases already three months after the first infection. The immune response analysis revealed that all COVID-19 vaccines available in Estonia efficiently induce high levels of antibodies to SARS-CoV-2 spike protein. This was also seen in individuals who did not develop a good immune response after natural SARS-CoV-2 infection; thus the vaccination can be well recommended for immunization of all individuals. Our study further identified several inflammatory plasma markers upregulated in patients with severe disease. In a pilot study, we also evaluated the effectiveness of convalescent plasma therapy for severe COVID-19 treatment. After the collection of plasma donations from SARS-CoV-2 infected individuals and enrolment of first patients, we, however, suspended the study considering the convincing evidence of negative results published by other research groups on similar clinical trials. Accordingly, based on the current knowledge in the field, convalescent plasma therapy is not indicated for COVID-19 patients.

The follow-up of hospitalised COVID-19 patients showed that many of them suffer from persistent late symptoms of COVID-19 for up to 12 months. The symptoms occur more likely in patients who had pneumonia in the acute phase of the disease and who required oxygen therapy. Thus, long-COVID is a significant and increasing problem, which will have an important impact on health care requirements in nearest future.

In summary, the project provided insights into the demographics and outcomes of COVID-19 in Estonia, and identified specific genetic risk factors and characteristics of immune response among hospitalised COVID-19 patients.

Kirjanduse loetelu

1. Docherty AB, Harrison EM, Green CA, Hardwick HE, Pius R, Norman L, Holden KA, Read JM, Dondelinger F, Carson G, Merson L, Lee J, Plotkin D, Sigfrid L, Halpin S, Jackson C, Gamble C, Horby PW, Nguyen-Van-Tam JS, Ho A, Russell CD, Dunning J, Openshaw PJ, Baillie JK, Semple MG; ISARIC4C investigators. Features of 20 133 UK patients in hospital with covid-19 using the ISARIC WHO Clinical Characterisation Protocol: prospective observational cohort study. *BMJ*. 2020 May 22;369:m1985. doi: 10.1136/bmj.m1985. PMID: 32444460; PMCID: PMC7243036.
2. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, Zhang L, Fan G, Xu J, Gu X, Cheng Z, Yu T, Xia J, Wei Y, Wu W, Xie X, Yin W, Li H, Liu M, Xiao Y, Gao H, Guo L, Xie J, Wang G, Jiang R, Gao Z, Jin Q, Wang J, Cao B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020 Feb 15;395(10223):497-506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5. Epub 2020 Jan 24. Erratum in: *Lancet*. 2020 Jan 30;: PMID: 31986264; PMCID: PMC7159299.
3. Berlin DA, Gulick RM, Martinez FJ. Severe Covid-19. *N Engl J Med*. 2020 Dec 17;383(25):2451-2460. doi: 10.1056/NEJMcp2009575. Epub 2020 May 15. PMID: 32412710.
4. Blanco-Melo D, Nilsson-Payant BE, Liu WC, Uhl S, Hoagland D, Møller R, Jordan TX, Oishi K, Panis M, Sachs D, Wang TT, Schwartz RE, Lim JK, Albrecht RA, tenOever BR. Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19. *Cell*. 2020 May 28;181(5):1036-1045.e9. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.026. Epub 2020 May 15. PMID: 32416070; PMCID: PMC7227586.
5. Tay MZ, Poh CM, Rénia L, MacAry PA, Ng LFP. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol*. 2020 Jun;20(6):363-374. doi: 10.1038/s41577-020-0311-8. Epub 2020 Apr 28. PMID: 32346093; PMCID: PMC7187672.
6. Alon R, Sportiello M, Kozlovski S, Kumar A, Reilly EC, Zarbock A, Garbi N, Topham DJ. Leukocyte trafficking to the lungs and beyond: lessons from influenza for COVID-19. *Nat Rev Immunol*. 2021 Jan;21(1):49-64. doi: 10.1038/s41577-020-00470-2. Epub 2020 Nov 19. PMID: 33214719; PMCID: PMC7675406.
7. Laing AG, Lorenc A, Del Molino Del Barrio I, Das A, Fish M, Monin L, Muñoz-Ruiz M, McKenzie DR, Hayday TS, Francos-Quijorna I, Kamdar S, Joseph M, Davies D, Davis R, Jennings A, Zlatareva I, Vantourout P, Wu Y, Sofra V, Cano F, Greco M, Theodoridis E, Freedman JD, Gee S, Chan JNE, Ryan S, Bugallo-Blanco E, Peterson P, Kisand K, Haljasmägi L, Chadli L, Moingeon P, Martinez L, Merrick B, Bisnauthsing K, Brooks K, Ibrahim MAA, Mason J, Lopez Gomez F, Babalola K, Abdul-Jawad S, Cason J, Mant C, Seow J, Graham C, Doores KJ, Di Rosa F, Edgeworth J, Shankar-Hari M, Hayday AC. A dynamic COVID-19 immune signature includes associations with poor prognosis. *Nat Med*. 2020 Oct;26(10):1623-1635. doi: 10.1038/s41591-020-1038-6. Epub 2020 Aug 17.
8. Lucas C, Wong P, Klein J, Castro TBR, Silva J, Sundaram M, Ellingson MK, Mao T, Oh JE, Israelow B, Takahashi T, Tokuyama M, Lu P, Venkataraman A, Park A, Mohanty S, Wang H, Wyllie AL, Vogels CBF, Earnest R, Lapidus S, Ott IM, Moore AJ, Muenker MC, Fournier JB, Campbell M, Odio CD, Casanovas-Massana A; Yale IMPACT Team, Herbst R, Shaw AC, Medzhitov R, Schulz WL, Grubaugh ND, Dela Cruz C, Farhadian S, Ko AI, Omer SB, Iwasaki A. Longitudinal analyses reveal immunological misfiring in severe COVID-19. *Nature*. 2020 Aug;584(7821):463-469. doi: 10.1038/s41586-020-2588-y. Epub 2020 Jul 27. PMID: 32717743; PMCID: PMC7477538.
9. Arunachalam PS, Wimmers F, Mok CKP, Perera RAPM, Scott M, Hagan T, Sigal N, Feng Y, Bristow L, Tak-Yin Tsang O, Wagh D, Collier J, Pellegrini KL, Kazmin D, Alaaeddine G, Leung WS, Chan JMC, Chik TSH, Choi CYC, Huerta C, Paine McCullough M, Lv H, Anderson E, Edupuganti S, Upadhyay AA, Bosinger SE, Maecker HT, Khatri P, Roupheal N, Peiris M, Pulendran B. Systems biological assessment of immunity to mild versus severe COVID-19 infection in humans. *Science*. 2020 Sep 4;369(6508):1210-1220. doi: 10.1126/science.abc6261. Epub 2020 Aug 11. PMID: 32788292; PMCID: PMC7665312.

10. Living guidance for clinical management of COVID-19. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-clinical-2021-2>.
11. Kallaste A, Kisand K, Aart A, Kisand K, Peterson P, Lember M. Antibody levels remain high to one-year's follow-up after moderate and severe COVID-19, but not after mild cases. *Infect Dis (Lond)*. 2022 May;54(5):345-355. doi: 10.1080/23744235.2021.2018492. Epub 2021 Dec 24. PMID: 34951554; PMCID: PMC8787840.
12. Haljasmägi L, Salumets A, Rumm AP, Jürgenson M, Krassohhina E, Remm A, Sein H, Kareinen L, Vapalahti O, Sironen T, Peterson H, Milani L, Tamm A, Hayday A, Kisand K, Peterson P. Longitudinal proteomic profiling reveals increased early inflammation and sustained apoptosis proteins in severe COVID-19. *Sci Rep*. 2020 Nov 25;10(1):20533. doi: 10.1038/s41598-020-77525-w. PMID: 33239683; PMCID: PMC7689507.
13. Haljasmägi L, Remm A, Rumm AP, Krassohhina E, Sein H, Tamm A, Kisand K, Peterson P. LIPS method for the detection of SARS-CoV-2 antibodies to spike and nucleocapsid proteins. *Eur J Immunol*. 2020 Aug;50(8):1234-1236. doi: 10.1002/eji.202048715. Epub 2020 Jul 6. PMID: 32584420; PMCID: PMC7361618.
14. Armstrong RA, Kane AD, Kursumovic E, et al.: Mortality in patients admitted to intensive care with COVID-19: an updated systematic review and meta-analysis of observational studies. *Anaesthesia* 2021; 76:537–548.
15. Snow TAC, Saleem N, Ambler G et al. Convalescent plasma for COVID-19: a meta-analysis, trial sequential analysis, and meta-regression. *Br J Anaesth* 2021 127(6): 834-44.
16. Libster R, Marc GP, Wappner D et al. Early high titer plasma therapy to prevent severe COVID-19 in older adults. *N Engl J Med* 2021 384(7): 610-1.
17. Sullivan DJ, Gebo KA, Shoham S et al. Early Outpatient Treatment for COVID-19 with Convalescent Plasma. *N Engl J Med* 2022 386(18): 1700-11.

Projekti tehtud uuringute põhjal ilmunud teadusartiklid

1. Bastard P, Gervais A, Le Voyer T, Rosain J, Philippot Q, Manry J, Michailidis E, Hoffmann HH, Eto S, Garcia-Prat M, Bizien L, Parra-Martínez A, Yang R, Haljasmägi L, Migaud M, Särekannu K, Maslovskaia J, de Prost N, Tandjaoui-Lambiotte Y, Luyt CE, Amador-Borrero B, Gaudet A, Poissy J, Morel P, Richard P, Cognasse F, Troya J, Trouillet-Assant S, Belot A, Saker K, Garçon P, Rivière JG, Lagier JC, Gentile S, Rosen LB, Shaw E, Morio T, Tanaka J, Dalmau D, Tharaux PL, Sene D, Stepanian A, Megarbane B, Triantafyllia V, Fekkar A, Heath JR, Franco JL, Anaya JM, Solé-Violán J, Imberti L, Biondi A, Bonfanti P, Castagnoli R, Delmonte OM, Zhang Y, Snow AL, Holland SM, Biggs C, Moncada-Vélez M, Arias AA, Lorenzo L, Boucherit S, Coulibaly B, Anglicheau D, Planas AM, Haerynck F, Duvlis S, Nussbaum RL, Ozcelik T, Keles S, Bousfiha AA, El Bakkouri J, Ramirez-Santana C, Paul S, Pan-Hammarström Q, Hammarström L, Dupont A, Kurolap A, Metz CN, Aiuti A, Casari G, Lampasona V, Ciceri F, Barreiros LA, Dominguez-Garrido E, Vidigal M, Zatz M, van de Beek D, Sahanic S, Tancevski I, Stepanovskyy Y, Boyarchuk O, Nukui Y, Tsumura M, Vidaur L, Tangye SG, Burrell S, Duffy D, Quintana-Murci L, Klopperk A, Kann NY, Shcherbina A, Lau YL, Leung D, Coulangeat M, Marlet J, Koning R, Reyes LF, Chauvineau-Grenier A, Venet F, Monneret G, Nussenzweig MC, Arrestier R, Boudhabhay I, Baris-Feldman H, Hagin D, Wauters J, Meyts I, Dyer AH, Kennelly SP, Bourke NM, Halwani R, Sharif-Askari NS, Dorgham K, Sallette J, Sedkaoui SM, AlKhater S, Rigo-Bonnin R, Morandeira F, Roussel L, Vinh DC, Ostrowski SR, Condino-Neto A, Prando C, Bonradenko A, Spaan AN, Gilardin L, Fellay J, Lyonnet S, Bilguvar K, Lifton RP, Mane S; HGID Lab; COVID Clinicians; COVID-STORM Clinicians; NIAID Immune Response to COVID Group; NH-COVAIR Study Group; Danish CHGE; Danish Blood Donor Study; St. James's Hospital; SARS CoV2 Interest group; French COVID Cohort Study Group; Imagine COVID-Group; Milieu Intérieur Consortium; CoV-Contact Cohort; Amsterdam UMC Covid-19; Biobank Investigators; COVID Human Genetic Effort; CONSTANCES cohort; 3C-Dijon Study; Cerba Health-Care; Etablissement du Sang study group, Anderson MS, Boisson B, Béziat V, Zhang SY, Vandreakos E, Hermine O, Pujol A, Peterson P, Mogensen TH, Rowen L, Mond J, Debette S, de Lamballerie X, Duval X, Mentré F, Zins M, Soler-Palacin P, Colobran R, Gorochov G, Solanich X, Susen S, Martinez-Picado J, Raoult D, Vasse M, Gregersen PK, Piemonti L, Rodríguez-Gallego C, Notarangelo LD, Su HC, Kisand K, Okada S, Puel A, Jouanguy E, Rice CM, Tiberghien P, Zhang Q, Cobat A, Abel L, Casanova JL. Autoantibodies neutralizing type I IFNs are present in ~4% of uninfected individuals over 70 years old and account for ~20% of COVID-19 deaths. *Sci Immunol.* 2021 Aug 19;6(62):eabl4340. doi: 10.1126/sciimmunol.abl4340. PMID: 34413139.
2. COVID-19 Host Genetics Initiative. Mapping the human genetic architecture of COVID-19. *Nature.* 2021 Dec;600(7889):472-477. doi: 10.1038/s41586-021-03767-x. Epub 2021 Jul 8. PMID: 34237774.
3. Kallaste, Anne; Kisand, Kalle; Aart, Agnes; Kisand, Kai; Peterson, Pärt; Lember, Margus (2022). Antibody levels remain high to one-year's follow-up after moderate and severe COVID-19, but not after mild cases. *Infectious Diseases*, 54 (5), 345–355. DOI: 10.1080/23744235.2021.2018492.
4. Kousathanas A, Pairo-Castineira E, Rawlik K, Stuckey A, Odhams CA, Walker S, Russell CD, Malinauskas T, Wu Y, Millar J, Shen X, Elliott KS, Griffiths F, Oosthuyzen W, Morrice K, Keating S, Wang B, Rhodes D, Klaric L, Zechner M, Parkinson N, Siddiq A, Goddard P, Donovan S, Maslove D, Nichol A, Semple MG, Zainy T, Maleady-Crowe F, Todd L, Salehi S, Knight J, Elgar G, Chan G, Arumugam P, Patch C, Rendon A, Bentley D, Kingsley C, Kosmicki JA, Horowitz JE, Baras A, Abecasis GR, Ferreira MAR, Justice A, Mirshahi T, Oetjens M, Rader DJ, Ritchie MD, Verma A, Fowler TA, Shankar-Hari M, Summers C, Hinds C, Horby P, Ling L, McAuley D, Montgomery H, Openshaw PJM, Elliott P, Walsh T, Tenesa A; GenOMICC investigators; 23andMe investigators; COVID-19 Human

- Genetics Initiative, Fawkes A, Murphy L, Rowan K, Ponting CP, Vitart V, Wilson JF, Yang J, Bretherick AD, Scott RH, Hendry SC, Moutsianas L, Law A, Caulfield MJ, Baillie JK. Whole-genome sequencing reveals host factors underlying critical COVID-19. *Nature*. 2022 Jul;607(7917):97-103. doi: 10.1038/s41586-022-04576-6. Epub 2022 Mar 7. PMID: 35255492.
5. Mihnovitš V, Juhanson R, Tikk M, Kallaste A, Soodla P, Pärna K, Maasikas O, Padar M, Kaarna K, Karjagin J, Starkopf J. Tartu Ülikooli Kliinikumi COVID-19 aktiivravi tulemused 2021. Aastal. Vastu võetud avaldamiseks ajakirjas Eesti Arst.
 6. Tserel L, Jõgi P, Naaber P, Maslovskaja J, Häling A, Salumets A, Zusinaite E, Soeorg H, Lättekivi F, Ingerainen D, Soots M, Toompere K, Kaarna K, Kisand K, Lutsar I, Peterson P. Long-Term Elevated Inflammatory Protein Levels in Asymptomatic SARS-CoV-2 Infected Individuals. *Front Immunol*. 2021 Sep 17;12:709759. doi: 10.3389/fimmu.2021.709759. eCollection 2021.
 7. Ianevski A, Yao R, Zusinaite E, Lello LS, Wang S, Jo E, Yang J, Ravlo E, Wang W, Lysvand H, Løseth K, Oksenysh V, Tenson T, Windisch MP, Poranen MM, Nieminen AI, Nordbø SA, Fenstad MH, Grødeland G, Aukrust P, Trøseid M, Kantele A, Lastauskienė E, Vitkauskienė A, Legrand N, Merits A, Bjørås M, Kainov DE. Synergistic Interferon-Alpha-Based Combinations for Treatment of SARS-CoV-2 and Other Viral Infections. *Viruses*. 2021 Dec 11;13(12):2489. doi: 10.3390/v13122489.
 8. Manry J, Bastard P, Gervais A, Le Voyer T, Rosain J, Philippot Q, Michailidis E, Hoffmann HH, Eto S, Garcia-Prat M, Bizien L, Parra-Martínez A, Yang R, Haljasmägi L, Migaud M, Särekannu K, Maslovskaja J, de Prost N, Tandjaoui-Lambiotte Y, Luyt CE, Amador-Borrero B, Gaudet A, Poissy J, Morel P, Richard P, Cognasse F, Troya J, Trouillet-Assant S, Belot A, Saker K, Garçon P, Rivière JG, Lagier JC, Gentile S, Rosen L, Shaw E, Morio T, Tanaka J, Dalmau D, Tharaux PL, Sene D, Stepanian A, Mégarbane B, Triantafyllia V, Fekkar A, Heath J, Franco J, Anaya JM, Solé-Violán J, Imberti L, Biondi A, Bonfanti P, Castagnoli R, Delmonte O, Zhang Y, Snow A, Holland S, Biggs C, Moncada-Vélez M, Arias A, Lorenzo L, Boucherit S, Anglicheau D, Planas A, Haerynck F, Duvlis S, Nussbaum R, Ozcelik T, Keles S, Bousfiha A, El Bakkouri J, Ramirez-Santana C, Paul S, Pan-Hammarstrom Q, Hammarstrom L, Dupont A, Kurolap A, Metz C, Aiuti A, Casari G, Lampasona V, Ciceri F, Barreiros L, Dominguez-Garrido E, Vidigal M, Zatz M, van de Beek D, Sahanic S, Tancevski I, Stepanovskyy Y, Boyarchuk O, Nukui Y, Tsumura M, Vidaur L, Tangye S, Burrell S, Duffy D, Quintana-Murci L, Klocperk A, Kann N, Shcherbina A, Lau YL, Leung D, Coulongeat M, Marlet J, Koning R, Reyes L, Chauvineau-Grenier A, Venet F, Monneret G, Nussenzweig M, Arrestier R, Boudhabhay I, Baris-Feldman H, Hagin D, Wauters J, Meyts I, Dyer A, Kennelly S, Bourke N, Halwani R, Sharif-Askari F, Dorgham K, Sallette J, Mehlal-Sedkaoui S, AlKhatir S, Rigo-Bonnin R, Morandeira F, Roussel L, Vinh D, Erikstrup C, Condino-Neto A, Prando C, Bondarenko A, Spaan A, Gilardin L, Fellay J, Lyonnet S, Bilguvar K, Lifton R, Mane S, Anderson M, Boisson B, Béziat V, Zhang SY, Andreakos E, Hermine O, Pujol A, Peterson P, Mogensen TH, Rowen L, Mond J, Debette S, deLamballerie X, Burdet C, Bouadma L, Zins M, Soler-Palacin P, Colobran R, Gorochoy G, Solanich X, Susen S, Martinez-Picado J, Raoult D, Vasse M, Gregersen P, Rodríguez-Gallego C, Piemonti L, Notarangelo L, Su H, Kisand K, Okada S, Puel A, Jouanguy E, Rice C, Tiberghien P, Zhang Q, Casanova JL, Abel L, Cobat A. The risk of COVID-19 death is much greater and age-dependent with type I IFN autoantibodies. *Res Sq [Preprint]*. 2022 Jan 14;rs.3.rs-1225906. doi: 10.21203/rs.3.rs-1225906/v1. Update in: *Proc Natl Acad Sci USA*. 2022 May 24;119(21):e2200413119. PMID: 35043109.
 9. Naaber P, Tserel L, Kangro K, Sepp E, Jürjenson V, Adamson A, Haljasmägi L, Rumm AP, Maruste R, Kärner J, Gerhold JM, Planken A, Ustav M, Kisand K, Peterson P. Dynamics of antibody response to BNT162b2 vaccine after six months: a longitudinal prospective study. *Lancet Reg Health Eur*. 2021 Nov;10:100208. doi: 10.1016/j.lanep.2021.100208. Epub 2021 Sep 6. PMID: 34514454.
 10. Paul Naaber, Liina Tserel, Kadri Kangro, Epp Sepp, Virge Jürjenson, Jaanika Kärner, Liis Haljasmägi, Uku Haljasorg, Marilin Kuusk, Joachim M. Gerhold, Anu Planken, Mart Ustav, Kai Kisand, Pärt Peterson. Protective antibodies and T cell responses to Omicron variant three months after the

booster dose of BNT162b2 vaccine. (submitted to Cell Reports Medicine), MedRxiv 2022.03.04.22271890; doi: <https://doi.org/10.1101/2022.03.04.22271890>

11. Rihn SJ, Merits A, Bakshi S, Turnbull ML, Wickenhagen A, Alexander AJT, Baillie C, Brennan B, Brown F, Bruncker K, Bryden SR, Burness KA, Carmichael S, Cole SJ, Cowton VM, Davies P, Davis C, De Lorenzo G, Donald CL, Dorward M, Dunlop JI, Elliott M, Fares M, da Silva Filipe A, Freitas JR, Furnon W, Gestuveo RJ, Geyer A, Giesel D, Goldfarb DM, Goodman N, Gunson R, Hastie CJ, Herder V, Hughes J, Johnson C, Johnson N, Kohl A, Kerr K, Leech H, Lello LS, Li K, Lieber G, Liu X, Lingala R, Loney C, Mair D, McElwee MJ, McFarlane S, Nichols J, Nomikou K, Orr A, Orton RJ, Palmarini M, Parr YA, Pinto RM, Raggett S, Reid E, Robertson DL, Royle J, Cameron-Ruiz N, Shepherd JG, Smollett K, Stewart DG, Stewart M, Sugrue E, Szemiel AM, Taggart A, Thomson EC, Tong L, Torrie LS, Toth R, Varjak M, Wang S, Wilkinson SG, Wyatt PG, Zusinaite E, Alessi DR, Patel AH, Zaid A, Wilson SJ, Mahalingam S. A plasmid DNA-launched SARS-CoV-2 reverse genetics system and coronavirus toolkit for COVID-19 research. *PLoS Biol.* 2021 Feb 25;19(2):e3001091. doi: 10.1371/journal.pbio.3001091. eCollection 2021 Feb.

Lisad

1. COVID-19 infektsioonist paranenud inimeste plasma kasutamine COVID-19 raske infektsiooni ravis: pilootuuring. Uuringu protokoll.
2. Raviameti kinnituskiri uuringu "COVID-19 infektsioonist paranenud inimeste plasma kasutamine COVID-19 raske infektsiooni ravis: pilootuuring" läbiviimiseks.