

Učinak koronavirusnih cjepiva BNT162b2 i Ad26.CoV2.S na proupalne i koagulacijske pokazatelje

Ivanko, Iva

Doctoral thesis / Disertacija

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:753928>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-02**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Iva Ivanko

**Učinak koronavirusnih cjepiva
BNT162b2 i Ad26.CoV2.S na proupalne
i koagulacijske pokazatelje**

DISERTACIJA



Zagreb, 2024.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Iva Ivanko

**Učinak koronavirusnih cjepiva
BNT162b2 i Ad26.CoV2.S na proupalne
i koagulacijske pokazatelje**

DISERTACIJA

Zagreb, 2024.

Disertacija je izrađena u Zavodu za hematologiju i Kliničkom zavodu za kemiju Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice

Voditelji rada: prof.dr.sc. Petar Gaćina, dr.med. (mentor), doc.dr.sc. Josipa Josipović, dr.med. (komentor)

ZAHVALA

Zahvaljujem svom mentoru, prof.dr.sc. Petru Gaćini, predstojniku Klinike za unutarnje bolesti i pročelniku Zavoda za hematologiju KBC-a Sestre milosrdnice na svoj potpori, bodrenju i očinskoj ljubavi koju mi je pružio, ne samo za vrijeme izrade ove doktorske disertacije već i tijekom cijelog mog rada na KBC-u Sestre milosrdnice.

Također, zahvaljujem svojoj komentorici i prijateljici doc.dr.sc. Josipi Josipović na savjetima i nesebičnoj pomoći u realizaciji ove disertacije ali i u svim nedoumicama najtežih dežurstava.

Zahvaljujem svojim kolegama, medicinskim sestrama i tehničarima Zavoda za hematologiju, osobito sestrama Nataši Išlić, Zvezdani Genzić, Silviji Mušici i Vesni Domladovac koje su, uz zahtjevni sestrinski posao, pronašle vremena i volje pomoći u stvaranju ovog doktorskog rada.

Hvala djelatnicima Doma zdravlja Centar koji su uvijek bili na usluzi i spremni pomoći.

Zahvaljujem svim djelatnicima Kliničkog zavoda za kemiju KBC-a Sestre milosrdnice bez kojih ovog doktorata ne bi bilo. Naučili ste me ne samo centrifugirati i pipetirati već i što znači prava kolegijalnost.

Posebna zahvala doc.dr.sc. Ivani Čelap, doc.dr.sc. Sandri Margetić i doc.dr.sc. Domagoju Marijančeviću s Kliničkog zavoda za kemiju KBC-a Sestre milosrdnice koji su od početka glavni podupiratelji ovog projekta iz kojeg smo izašli kao prijatelji. Veselim se našim budućim zajedničkim projektima i druženjima!

Zahvaljujem dr.sc. Kristini Kralik s Medicinskog fakulteta u Osijeku na izradi statistike.

Zahvaljujem svima koji su tehnički i financijski poduprli ovaj doktorat (Zaklada KROHEM, Roche Diagnostics International Ltd, Siemens Healthcare d.o.o. i ostalima), hvala na ukazanom povjerenju!

Na kraju, zahvaljujem se svom suprugu Filipu koji je često morao samostalno ponijeti teret roditeljstva i bez čije pomoći ne bih mogla biti predana doktorskome studiju.

Posvećujem ovu doktorsku disertaciju svojoj majci, Kati Sertić, koja me je svojom bezuvjetnom ljubavlju i žrtvom naučila pravim ljudskim vrijednostima i bila uz mene u najtežim i najljepšim trenucima u životu!

Neka ovaj doktorat jednog dana posluži kao inspiracija mojim sinovima, Mihaelu i Juraju, da ništa nije nedostižno u životu.

POPIS OZNAKA I KRATICA

ACE-2	angiotenzin-konvertirajući enzim-2
ADAMTS 13	disintegrin i metaloproteinaza s trombospondinom (tip 1) 13
AH	arterijska hipertenzija
APTV	aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme
ARDS	akutni respiratorni distresni sindrom
AT	antitrombin
AT2	angiotenzin II
CAR-T	terapija kinetičkim antigen receptorom
CCL	C-C kemokinski ligand
COVID-19	koronavirusna bolest 2019
CRP	C-reaktivni protein
CXC	C-X-C kemokinski ligand
DIK	diseminirana intravaskularna koagulacija
ECMO	izvantjelesna membranska oksigenacija
EMA	Europska medicinska agencija
ELISA	imunoenzimski test
ET-1	endotelin-1
F1+2	protrombinski fragment 1+2
GVHD	bolest presatka protiv primatelja
HIT	heparinom inducirana trombocitopenija
hsCRP	visokoosjetljivi C-reaktivni protein
ICAM-1	unutarstanična adhezijska molekula-1
IL	interleukin
INR	internacionalni normalizirani omjer
MERS	bliskoistočni respiratorni sindrom
MIS-A	multisistemski upalni odgovor u odraslih
MIS-C	multisistemski upalni odgovor u djece
MOCHA	biljezi koagulacije i aktivacije hemostaze
mRNA	glasnička ribonukleinska kiselina
PV	protrombinsko vrijeme
PF4	trombocitni faktor 4

RAAS	renin-angiotenzin-adosteron sustav
RT-PCR	lančana reakcija polimeraze uz rezervnu transkripciju
SAD	Sjedinjene Američke Države
SARS-CoV-2	teški akutni respiratorni sindrom – koronavirus 2
SIRS	sindrom sustavnog upalnog odgovora
SZO	Svjetska zdravstvena organizacija
TAT	trombin-antitrombin kompleks
TTP	trombotična trombocitopenična purpura
VCAM-1	vaskularna stanična adhezijska molekula-1
VITT	cjepivom uzrokovana trombotska trombocitopenija
VWF	von Willebrandov faktor
VWF:Ag	antigen von Willebrandova faktora
VWF:Ac	aktivnost von Willebrandova faktora

1. UVOD I SVRHA RADA	1
1.1. Koronavirusna bolest 2019 (COVID-19)	1
1.2. Dijagnostički postupci za potvrđivanje SARS-CoV-2 zaraze	5
1.3. SARS-CoV-2 cjepiva	7
1.4. Štetni događaji nakon cijepjenja SARS-CoV-2 cjepivima	8
1.5. Utjecaj SARS-CoV-2 cjepiva na pokazatelje hemostaze i upale	11
1.6. Laboratorijski pokazatelji hemostaze i upale	14
1.6.1. Protrombinsko vrijeme (PV)	14
1.6.2. Aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme (APTV)	15
1.6.3. Protrombinski fragment 1+2 (F1+2)	15
1.6.4. Trombin-antirombin kompleks (TAT)	16
1.6.5. Fibrinogen	16
1.6.6. D-dimeri	17
1.6.7. Von Willebrandov faktor (VWF)	17
1.6.8. C-reaktivni protein (CRP)	18
1.6.9. Interleukin-6 (IL-6)	18
1.6.10. Endotelin-1 (ET-1)	19
1.6.11. Protutijela na trombocitni faktor 4 (anti-PF4)	20
1.7. Svrha istraživanja	21
2. HIPOTEZA	22
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	23
4. ISPITANICI I METODE	24
4.1. Ispitanici	24
4.2. Prikupljanje uzoraka krvi	25
4.3. Metode određivanja laboratorijskih pokazatelja	25
4.4. Statistička obrada podataka	28
5. REZULTATI	29
5.1. Obilježja ispitanika	29
5.2. Učinak BNT162b2 i Ad26.CoV2.S na pokazatelje zgrušavanja i upale te razlike obzirom na vrstu cjepiva u definiranim vremenskim točkama	31
5.3. Povezanost pokazatelja zgrušavanja i proupalnih pokazatelja u definiranim točkama mjerjenja	36
5.4. Povezanost pokazatelja zgrušavanja i proupalnih pokazatelja s obilježjima ispitanika u definiranim točkama mjerjenja	41
5.4.1. Povezanost sa spolom	41
5.4.2. Povezanost pokazatelja zgrušavanja i proupalnih pokazatelja s dobi i indeksom tjelesne mase u definiranim točkama mjerjenja	49

5.4.3. Povezanost s hipertenzijom	52
6. RASPRAVA	61
6.1. Učinak BNT162b2 i Ad26.CoV2.S cjepiva na pokazatelje zgrušavanja i upale	62
6.2. Razlike u pokazateljima zgrušavanja i upale obzirom na vrstu cjepiva u definiranim vremenskim točkama	68
6.3. Povezanost pokazatelja zgrušavanja i proupalnih pokazatelja u definiranim točkama mjerenja	70
6.4. Povezanost pokazatelja zgrušavanja i proupalnih pokazatelja s obilježjima ispitanika u definiranim točkama mjerenja	71
6.4.1. Povezanost sa spolom.....	71
6.4.2. Povezanost sa dobi i indeksom tjelesne mase	73
6.4.3. Povezanost s arterijskom hipertenzijom	74
6.5. Protutijela na trombocitni faktor-4	76
6.6. Ograničenja istraživanja	76
7. ZAKLJUČAK.....	77
8. SAŽETAK.....	78
9. SUMMARY.....	79
10. POPIS LITERATURE.....	80
11. ŽIVOTOPIS.....	96

PRILOZI

Dodatna statistička analiza

1. UVOD I SVRHA RADA

Zarazne bolesti oduvijek su bile vjerni pratioc čovječanstva. Mnoge od njih utjecale su na sudbine ljudi i mijenjale tijek povijesti, određivale su smjerove migracija te oblikovale naličje populacijske raspoređenosti planeta. Sve do 20-tog stoljeća zarazne bolesti bile su obavijene velom tajne. Njihovo tumačenje često je nosilo magijski predznak ili pod utjecajem religije, smatrano je Božjom kaznom za zlodjela i propuste vjernika. Razvojem medicine, osobito njenih grana, mikrobiologije, parazitologije i virusologije, stigma nadnaravnog podignuta je sa zaraznih bolesti. To je neminovno dovelo do prvih uspješnih pokušaja borbe protiv demistificiranog neprijatelja. Ipak, cijena te borbe je i dalje visoka, osobito za one koji medicinu odbacuju kao jedini uspješni štit od prirode koja nije uvijek blagonaklona.

1.1. Koronavirusna bolest 2019 (COVID-19)

U prosincu 2019. godine iz Kine svijetom se proširio do tada nepoznat, kapljično prenosiv virus uzrokujući bolest koja se u početku zvala Wuhanska pneumonija prema gradu u kojem je virus prvi puta zabilježen (1). Bolest je bila obilježena kašljem, visokom temperaturom i općim algičkim sindromom s potencijalom uzrokovanja akutnog respiratornog distresnog sindroma (eng. *acute respiratory distress syndrome, ARDS*) ne samo u komorbiditetima opterećenih ljudi, već i kod naočigled zdravog stanovništva (2). Virus je pokazao toliki potencijal širenja da je uzrokovao peti pandemijski val od Španjolske gripe (H1N1) 1918. godine, Azijske gripe (H2N2) 1957. godine, Hongkongške gripe (H3N2) 1968. godine te Pandemijske gripe (H1N1) 2009. godine. Najveći mortalitet od navedenih imala je Španjolska gripa od koje je život izgubilo 50 milijuna ljudi diljem svijeta (3).

SARS-CoV-2, teški akutni respiratorni sindrom – koronavirus 2, (eng. *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*) spada u red virusa *Nidovirales*, obitelj *Coronaviridae*, čiji naziv dolazi od latinske riječi za krunu (*corona*) radi svog karakterističnog izgleda pod elektronskim mikroskopom (4). Koronavirusi nisu nepoznanica modernoj medicini. Otkriveni su 60-tih godina 20-tog stoljeća (izolati virusa HCoV-229E i HCoV-OC43), imaju sezonski karakter, uzorkujući manje epidemije osobito zimi a njihova rasprostranjenost je velika. Obično dovode do „obične prehlade“ tj. oboljenja gornjih respiratornih puteva bez većih komplikacija.

Međutim, početak ovog stoljeća, u pogledu koronavirusa, obilježen je opasnijim sojevima kod kojih je postotak komplikacija veći. Godine 2002. pojavio se SARS (eng. *Severe Acute Respiratory Syndrome*) sa mortalitetom od oko 10% a deset godina kasnije i sa smrtnošću triput većom i MERS (eng. *Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus*) (5). Oba virusa su betakoronavirusi u koju spada i SARS-CoV-2 koji s njima dijeli i značajan postotak genetske podudarnosti.

Prirodni rezervoar koronavirusa su životinje s kojih se virus može prenijeti na ljude. Glodavci, šišmiši i deve su rezervoari betakoronavirusa te se mogu prenijeti i na domaće životinje koje i same mogu oboljeti. Točan način na koji je SARS-CoV-2 preskočio barijeru vrste i prešao sa životinje na ljude još je nejasan. Prvi slučajevi oboljenja pojavili su se na Wuhanskoj tržnici morskih plodova i ostalih namirnica životinjskog podrijetla te se smatra da je moguće postojala intermedijarna karika. Jasno je da je u određenom trenutku došlo do takozvanog *spillovera* tj. prelijevanja zaraze sa životinja na ljude i potom direktnog širenja unutar ljudske vrste. Mutacija je glavno obilježje virusa – njihova sposobnost i „želja“ za preživljenjem je fascinantna stoga je lako prihvatiti činjenicu da je upravo prilagođavanjem na genetskoj razini, koronavirus preskočio naizgled neprobojnu granicu vrste. Osim toga, i kod drugih zaraza vidjeli smo mogućnost prelaska s jedne vrste na drugu, npr. prijenos sa štakora na čovjeka kod bubonske kuge (a tu se čak niti ne radi o brzo prilagodljivom virusu).

Početak koronavirusne pandemije proglasila je Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) 11. ožujka 2020. godine a do ožujka 2023. godine zabilježeno je gotovo 7 milijuna smrtnih slučajeva što je svrstava na 2. mjesto smrtnosti nakon Španjolske gripe (6). Prvi slučaj zaraze u Republici Hrvatskoj zabilježen je 25. veljače 2020. godine (7).

Koronavirus se prenosi kapljičnim putem. Veže se za receptor angiotenzin-konvertirajućeg enzima-2 (ACE2) putem segmenta nazvanog šiljak protein (eng. *spike*). Internalizira se u stanicu domaćina pomoću više serinskih proteaza koje su integralni dio membrane stanice. Unutar stanice virus koristi domaćinovu proteinsku mašineriju za replikaciju (8). ACE2 je izuzetno bitan u održavanju RAAS homeostaze (renin-angiotenzin-aldosteron sustava) u ljudskom organizmu podržavajući protuupalni krak i ograničavajući upalni krak ovog sustava. Razgrađujući angiotenzin II do angiotenzina₁₋₇ smanjuje upalu i posljedično fibrozu. Smanjeni efekt ACE2, primjerice radi nedostatka receptora koji su internalizirani u stanicu zajedno sa virusnom česticom, dovesti će do neoponiranog angiotenzina II (AT₂). Putem AT₂ receptora angiotenzin II promovirati će upalu, vazokonstrikciju i citokinima inducirano

oštećenje tkiva te trombozu (9). Dedukcijom se prirodno nameće zaključak da veća prisutnost ACE2 receptora u pojedinaca dozvoljava i veću internalizaciju virusnih čestica odnosno i veći stupanj prodora virusa u organizam dakle i veći stupanj zaraze.

ACE2 receptori su rasprostranjeni praktično posvuda; na nazalnoj sluznici, pneumocitima, u probavnom traktu, miokardu, na neurovaskularnom endotelu, mijelinu itd. (10). Međutim dominantan put unosa u organizam je respiratorni. Stoga, stanice dišnog sustava predstavljaju prvu liniju obrane od infekcije. Pneumociti tipa 2, stanice zadužene za proizvodnju surfaktanta i održanje adekvatne respiratorne površine, osobito su bogate ovim receptorima. Virus unutar stanice koristi njene resurse za vlastitu replikaciju a stanica kao odgovor u pomoć poziva imunološki sustav. Putem interferona gama oslobađa se čitava plejada kemokina kao što su CXCL10 (eng. *C-X-C motif chemokine ligand 10*), CCL20 (eng. *C-C motif chemokine ligand 20*), CCL2 (eng. *C-C motif chemokine ligand 2*) kako bi se prizvala i aktivirala vojska cirkulirajućih stanica poput pomoćničkih T limfocita i neutrofila. U optimalnom slučaju aktivacija imunskog sustava dovesti će do stvaranja protutijela i rezolucije infekcije, što je obilježje asimptomatskog i blagog oblika COVID-19 infekcije. U nekim slučajevima, dolazi do prevelike aktivacije imunološkog sustava što je mjerljivo izuzetno visokom razinom proupalnih citokina poput interleukina-6 (IL-6) te kontraproduktivnog odgovora na infekciju. Citokinska oluja, prisutna u takvim slučajevima, dovodi do SIRS-a (eng. *systemic inflammatory response syndrome*) i akutnog oštećenja prvenstveno pluća – ARDS-a koji može rezultirati smrtnim ishodom (11, 12, 13). Oštećenje plućnog vaskularnog endotela dovodi do odlaganja fibrina i mikrotromboza koje nisu karakteristične samo za pluća već i ostalu vaskularnu mrežu bogatu ACE2 receptorima (14). To je temelj prokoagulantne naravi COVID-19 bolesti.

Klinička slika koronavirusne bolesti, može dakle varirati od potpuno asimptomatske, preko blagog oblika nalik prehladi pa sve do po život opasnih stanja koja zahtijevaju potporu kisikom u vidu mehaničke ventilacije ili vantjelesne cirkulacije (ECMO, eng. *extracorporeal membrane oxygenation*).

Tijekom ove pandemije je primjećeno da stariji, osobe s kardiovaskularnim komorbiditetima, imunosuprimirani te pretile osobe imaju posebno velik rizik težih oblika bolesti (15). Međutim, teži oblik bolesti nije rijedak i kod mlađih, imunokompetentnih osoba bez evidentnih komorbiditeta što dovodi do propitkivanja drugih predilekcijskih čimbenika.

Kod hospitaliziranih bolesnika, dakle oboljelih koji su prije svega zahtijevali oksigenoterapiju, veliki naponi su uloženi u pronalaženje laboratorijskih pokazatelja težine bolesti i pretkazatelja lošeg ishoda. Prva istraživanja uključuju određivanje specifičnih pokazatelja aktivacije hemostatskog sustava poput d-dimera, protrombinskog fragmenta 1+2 (F1+2) i trombin-antitrombinskog kompleksa (TAT). Zhang i sur. su već početkom pandemije primjetili da je porast vrijednosti d-dimera kod hospitaliziranih COVID-19 bolesnika povezan s lošijim ishodom (16). Slično su zaključili i Yao i sur. u svojem istraživanju (17). Al-Samkari i sur. pokazali su veću specifičnost F1+2 u dijagnostici trombotskih incidenta u bolesnika hospitaliziranih radi COVID-19 bolesti od d-dimera, kao i dobru korelaciju navedenih laboratorijskih parametara (18). Obzirom na navedeno F1+2 predložen je kao koristan marker tromboze koja je čest pratioc težih oblika oboljenja. U kombinaciji s d-dimerima, TAT-om, fibrinskim monomerima u tzv. MOCHA profilu (eng. *Markers Of Coagulation and Hemostatic Activation*), povišene vrijednosti F1+2 bile su povezane s težim oblicima COVID-19 i prediktor primitka u jedinicu intenzivnog liječenja (19).

TAT sudjeluje u procesu nastanka trombina. Direktna je pokazatelj aktivacije puta zgrušavanja i potrošnje inhibitora. Poluvrijeme TAT-a je kraće od poluvremena d-dimera stoga se njegov skok bilježi u ranim fazama tromboze i iz cirkulacije nestaje brže od d-dimera (20). Takeshita i sur. su u svojoj studiji na oko 800 ispitanika dokazali brži porast TAT-a u odnosu na d-dimere u COVID-19 oboljelih te da TAT može biti pokazatelj težeg oblika bolesti (21).

Točan uzrok teških komplikacija COVID-19 bolesti, uključujući trombotske incidente, do sada nije sa sigurnošću utvrđen. Već u počecima pandemije kao glavni okidač ocijenjen je gubitak regulacije imunološkog sustava izazvan proupalnim citokinima, endotelnim oštećenjem i hipoksijom (22, 23). Marker endotelnog oštećenja poput antigena von Willebrandovog faktora (VWF:Ag) i aktivnosti (VWF:Ac) te endotelina-1 (ET-1) istraživali su se kao potencijalni prediktori težine bolesti (24). Von Willebrandov (VWF) faktor ispoljen je na endotelnim stanicama i moderira adheziju trombocita stoga je logično da se njegove povećane vrijednosti mogu naći kod endotelnog oštećenja. ET-1 potentni je vazokonstriktor koji se oslobađa iz endotela u obliku prekursora (veliki ET-1) koji prelazi u cirkulaciji u aktivnu formu a njegove povišene vrijednosti odražavaju promijenjen vaskularni tonus. Povišene vrijednosti ET-1 nađene su u pretilih ispitanika kao i ispitanika s hipertenzijom (25, 26). Proupalni citokini poput interleukina-1 (IL-1) i IL-6 potiču oslobađanje ET-1 u sklopu sistemskog proupalnog odgovora na infekciju, npr. virusnu pneumoniju (27). Vieceli Dalla Sega i sur. u svojoj studiji na 54 SARS-CoV-2 pozitivna ispitanika s umjerenom do teškom respiratorom insuficijencijom,

zabilježili su veći porast VWF:Ag u bolesnika sa smrtnim ishodom nego u preživjelih (24). Navedeno je u skladu sa ranijim opažanjima (23, 28, 29). Također, uočili su da razina ET-1 postupno raste u preživjelih što su protumačili kao mogući odraz povećane angiogeneze u periodu oporavka.

Interleukini kao nosioci imunskog odgovora na sve infekcije, pa tako i SARS-CoV-2, postali su vrlo zanimljivi kao mogući prediktori težine COVID-19 bolesti. Jedan od njih pokazao se osobito bitan te je njegovo određivanje vrlo brzo ušlo u kliničku praksu jedinica intenzivnog liječenja koje su skrbile o najtežim COVID-19 bolesnicima. Riječ je o IL-6 koji nije bez razloga prozvan „centrom citokinske oluje“ (eng. *eye of the storm*). Dosadašnja istraživanja pokazala su da razine IL-6 koreliraju s težinom bolesti odnosno da su višestruko povišene razine ominozan znak i upućuju na veći proupalni odgovor organizma (30). Citokinska oluja, kao odraz pretjerane reakcije organizma na infekciju SARS-CoV-2, glavno je obilježje teškog oblika bolesti i u direktnoj je vezi s aktivacijom hemostatskog sustava i nastankom tromboze (31).

Od prvih zabilježenih slučajeva zaraze, SARS-CoV-2 prošao je kroz niz mutacija, odnosno pojavile su se varijante virusa tradicionalno označene slovima grčkog alfabeta koje su bile obilježene raznim stupnjevima virulencije i brzine širenja. Jedna od najsmrtonosnijih bila je Delta varijanta (B.1.617.2) koja je postala dominantna u svijetu u ožujku 2021. godine, zahvaljujući brzini širenja ali i činjenici da je stupanj procijepljenosti populacije bio malen. S vremenskim odmakom i stjecanjem kolektivne zaštite, novije varijante virusa predstavljale su i manji zdravstveni a time i socioekonomski problem.

1.2. Dijagnostički postupci za potvrđivanje SARS-CoV-2 zaraze

Temelj uspješnog zauzdavanja bilo koje zarazne bolesti jesu primjerene epidemiološke mjere poput izbjegavanja većeg skupa ljudi, izolacija bolesnih, pridržavanje mjera karantene itd. Vrlo bitan segment je pravodobno prepoznavanje oboljelih, bilo asimptomatskih koji su bili u kontaktu sa oboljelima ili onih s teškom kliničkom slikom kako bi se poduzele odgovarajuće mjere liječenja.

Od samih početaka pandemije najpouzdaniji, odnosno najosjetljiviji test za otkrivanje SARS-CoV-2 infekcije ostao je test detekcije RNA virusa metodom amplifikacije nukleinske kiseline, reverzne transkriptaze (RT-PCR, eng. *reverse transcription polymerase chain reaction*) (32). Kao uzorak se najčešće koristi bris nazofarinksa zbog lakoće prikupljanja, mada se isto tako virus može izolirati iz ispirka gornjih i donjih dišnih puteva (npr. kod bolesnika na mehaničkoj ventilaciji).

Brzi antigenski test kojim se detektira prisustvo antigena virusa u brisu gornjih dišnih puteva manje je osjetljiv u odnosu na RT-PCR. Međutim lakoća i brzina dobivanja rezultata, osobito u uvjetima pandemije kada je laboratorijski sustav preopterećen, ostaju razlog zbog čega je i ovaj oblik testiranja poželjan.

Metoda dokazivanja protutijela u krvi ispitanika kao dokaz preboljele infekcije ili procijepljenosti poznata je i primjenjuje se i kod drugih zaraznih bolesti (npr. hepatitisa). U slučaju SARS-CoV-2, danas dostupni serološki testovi usmjereni su na dokazivanje protutijela na građevne komponente virusa; nukleokapsidu, šiljak protein (S protein) ili oboje. Većina je kvalitativna i polukvantitativna.

Serokonverzija (nastanak detektabilnih protutijela) kod 90% imunokompetentnih COVID-19 bolesnika očekuje se nakon prosječno 14 dana, dok vrijeme potrebno do serokonverzije kod imunokompromitiranih može biti znatno dulje, a neki od njih nikada neće razviti protutijela.

Serološko testiranje nije metoda potvrđivanja akutne infekcije no ono može imati niz koristi: u potvrdi produljene infekcije SARS-CoV-2 (eng. *long COVID-19*), u dijagnozi multisistemskog upalnog sindroma u djece i odraslih te citokinske oluje koja se obično javlja 14 dana od infekcije te u odabiru darivatelja rekonvalescentne plazme (33).

Glavni nedostatak seroloških testova jest da ne mogu razaznati koji postotak od izmjerenih protutijela ima i neutralizacijsku sposobnost ili drugim riječima koliki stupanj zaštite od reinfekcije neki ispitanik ima.

1.3. SARS-CoV-2 cjepiva

Prvo odobreno cjepivo protiv SARS-CoV-2 infekcije bilo je mRNA (glasnička ribonukleinska kiselina, od eng. *messenger ribonucleic acid*) cjepivo BNT162b2 (Pfizer–BioNTech, Njemačka) u prosincu 2020. godine nakon rezultata faze I/II istraživanja efikasnosti i sigurnosti (34). Odobreno je po žurnom postupku, manje od godinu dana od početka studije te je po brzini odobrenja nadmašilo Merckovo cjepivo protiv mumpsa iz 1967. koje je odobreno nakon 4 godine stvaranja. BNT162b2 cjepivo sadrži modificiranu mRNA koja kodira šiljak protein, neophodnu komponentu virusa za ulazak u stanicu domaćina. Cilj cjepiva je bio izazvati humoralni i stanični odgovor nakon dvije doze aplicirane u međusobnom razmaku od 21 dan. Prvi rezultati istraživanja ukazali su na 95%-tnu efikasnost u zaštiti od zaraze 7 dana nakon 2. doze. BNT162b2 cjepivo pokazalo je visoku efikasnost i kod mutacija koje su se kasnije pojavile a zahvaćale su sekvence gena odgovorne za vezanje virusa za stanični receptor. Jedna od takvih varijanti bila je i Delta, B.1.617.2, nazvana dvostrukim mutantom jer je sadržavala dvije mutacije u navedenoj regiji. Delta varijanta se odlikovala velikom brzinom transmisije radi čega je vrlo brzo postala dominantnom diljem svijeta. Iako je smanjena razina zaštite od infekcije ovom varijantnom u odnosu na izvornu, BNT162b2 cjepivo pruža i dalje preko 90%-tnu zaštitu od teških oblika COVID-19 bolesti (35).

Nuspojave su se većinom odnosile na blaže lokalne ili sistemske reakcije u obliku općeg algičkog sindroma te su se češće javljale u mladim osoba i nakon 2. doze cjepiva. Vrlo rijetke anafilaktičke reakcije javile su se na adjuvans polietilen glikol čija je uloga izazivanje snažnijeg imunskog odgovora. Ostale vrlo rijetke nuspojave su miokarditis (3.5 slučajeva na 1 milijun cijepljenih) te paraliza 7. kranijalnog živca (26.3 slučajeva na 1 milijun cijepljenih) (36, 37).

Mehanizam djelovanja SARS-CoV-2 mRNA-1273 (Moderna, Sjedinjene Američke Države, SAD) cjepiva kao i efikasnost protiv izvorne varijante virusa te kasnijih (osobito Delta varijante) te zabilježene nuspojave veoma su slične BNT162b2 cjepivu (38, 39).

Ad26.CoV2.S (Johnson&Johnson, Janssen, Belgija) cjepivo započelo je fazu I/II istraživanja u srpnju 2020. godine a odobreno je u veljači 2021. godine (40). Riječ je o rekombinantnom adenovirusnom cjepivu koje koristi genetski modificiran (za replikaciju nesposoban) vektor – humani adenovirus 26 koji ispoljava šiljak protein SARS-CoV-2 virusa. Navedeni vektor je virus koji inače uzrokuje blaže kliničke slike i slabije je zastupljen među ljudima. Cijepljenjem se potiče humoralni odgovor putem stvaranja protutijela na protein šiljka.

Cjepivo je dizajnirano kao jedna doza s efikasnosti od 66% zaštite od umjerenog oblika COVID-19 bolesti i 85% zaštite od težeg oblika. Visoka efikasnost u borbi protiv novih varijanti virusa, lakše skladištenje u odnosu na mRNA cjepiva i solitarna doza doveli su do široke primjene Ad26.CoV.2 cjepiva u svijetu. Izuzev uobičajenih, prolaznih nuspojava, kao ozbiljne i po život opasne nuspojave prepoznati su Guillain-Barréov sindrom te sindrom tromboze sa trombocitopenijom čija je incidencija vrlo mala (41, 42).

Izuzev rekombinantnih mRNA te adenovirusnih cjepiva razvijena su i proteinska kao što je NVX-CoV2373 (Novovax, SAD). Riječ je o cjepivima koje koriste adjuvanse te rekombinantne virusne proteine. NVX-CoV2373 cjepivo se daje u dvije doze u razmaku od 21 dan a kao docjepljivanje se može koristiti u osoba kod kojih je primovakcinacija provedena sa mRNA odnosno adenovirusnim cjepivom. Uobičajene nuspojave su opći algički sindrom koji nestaje unutar 2-3 dana od cijepjenja a od rijetkih i težih nuspojava zabilježen je miokarditis i perikarditis (43).

U budućnosti će se možda nastaviti razvijati novi oblici cjepiva što prvenstveno ovisi o mutacijama virusa odnosno o efikasnosti dosadašnjih SARS-CoV-2 cjepiva protiv novih virusnih varijanti.

1.4. Štetni događaji nakon cijepjenja SARS-CoV-2 cjepivima

Kako se tijekom vremena procijepljenost populacije povećavala, tako se povećavao i broj prijavljenih štetnih događaja nakon cijepjenja. Neki od njih u početku nisu bili prepoznati kao sindromi već je bilo riječ o pojedinačnim slučajevima ili serijama slučajeva poput opisa trombotskih incidenata bez očiglednog provocirajućeg uzroka – izuzev SARS-CoV-2 cijepjenja (44, 45). Osobito su teški bili slučajevi vremenski povezani s procijepljivanjem adenovirusnim cjepivima, obilježeni atipičnim mjestima tromboze kao što su cerebralni venski sinusi i teškom trombocitopenijom (46, 47).

U konačnici opisan je novi sindrom nazvan „cjepivom inducirana trombotska trombocitopenija“ ili VITT (eng. *vaccine induced thrombotic thrombocytopenia*) koji je veoma nalikovao na heparinom induciranu trombocitopeniju (HIT). Glavni patofiziološki mehanizam u HIT-u je stvaranje heparinom potaknutih protutijela na kompleks heparina i trombocitnog

faktora 4 (PF4, eng. *platelet factor 4*) što dovodi do aktivacije trombocita, povećane ekspresije tkivnog faktora te nastanka arterijskih ili venskih tromboza uz posljedičnu potrošnu, tešku trombocitopeniju (48). HIT u kliničkoj praksi nije rijedak, češći je u starijih bolesnika sa anamnezom ranije višekratne izloženosti heparinu.

Za razliku od HIT-a, VITT je neovisan o heparinskoj izloženosti i tipično se javlja u periodu od 5 - 30 dana od cijepljenja (49). ELISA-om (eng. *enzyme-linked immunosorbent assay*) mogu se dokazati IgG protutijela na PF4 koja pokazuju veći stupanj afiniteta nego kod HIT-a. Točan uzrok nastanka protutijela nije definiran iako je popularna *double hit* hipoteza u kojoj se pod utjecajem virusa stvara neoantigen koji uz sistemski proupalni odgovor organizma na cijepljenje dovodi do stvaranja protutijela (50). Čini se da protein šiljka nije odgovoran za stvaranje neoantigena što podupire činjenica da ponovno oboljenje od COVID-19 nakon preboljelog VITT-a neće prouzročiti stvaranje novih protutijela na PF4 te recidiv VITT-a.

Većina prepoznatih slučajeva VITT-a povezana je s adenovirusnim cjepivima ChAdOx1 nCoV-19 (AstraZeneca, Ujedinjeno Kraljevstvo) te Ad26.COV2.S (Johnson & Johnson, Belgija) mada su sporadični slučajevi opisani i kod mRNA cjepiva. Incidencija je vrlo mala, oko 10 slučajeva na milijun procijepljenih (51). Najviše je zabilježenih slučajeva u Norveškoj, 5 slučajeva na 130 000 procijepljenih ChAdOx1 nCoV-19 cjepivom što bi značilo incidenciju od 1:26 000 (52).

Rizični čimbenici razvoja VITT-a nisu poznati, mada su inicijalno prijavljeni slučajevi upućivali na ženski spol i dobi manju od 50 godina kao rizične faktore. Za razliku od HIT-a, u liječenju se smije koristiti heparin (najčešće niskomolekularni) ili direktni inhibitori trombina, oralni ili parenteralni. Intravenski gamaglobulini također su poželjni u liječenju jer vežući se za anti-PF4 protutijela sprečavaju aktivaciju trombocita. U refrakternim slučajevima savjetuje se terapijska izmjena plazme (plazmafereza) te primjena monoklonskog anti CD20 protutijela rituksimaba (53). Obzirom na dominantnu lokalizaciju tromboza (intrabdominalno, intracerebralno) mortalitet VITT-a može biti značajan. U jednoj studiji s 220 ispitanika iznosio je do 20 posto (54).

Izuzev VITT-a, opisan je niz slučajeva tromboembolijskih incidenata u bliskoj vremenskoj korelaciji sa SARS-CoV-2 cjepivima. Houghton i sur. su na temelju analize podataka preko 700 000 osoba procijepljenih s bar jednom dozom SARS-CoV-2 cjepiva (BNT162b2, Ad26.CoV2.S i mRNA-1273) zaključili da nema povećanog rizika tromboembolijskih incidenata nakon cijepljenja SARS-CoV-2 cjepivom (55). Naime,

incidencija tromboza je bila ista u periodu od 90 dana nakon cijepljenja i 90 dana prije (4 na 1000 ljudi godišnje). Gaddh i sur. su temeljem svoje retrospektivne multicentrične studije koja je obuhvatila 900 000 ljudi ukazali na gotovo istu incidenciju tromboza nakon cijepljenja protiv gripe i COVID-19 bolesti pri čemu su uzeli u obzir tri SARS-CoV-2 cjepiva (BNT162b2, Ad26.CoV2.S i mRNA-1273) (56).

Multisistemski upalni sindrom u djece (eng. *Multisystem Inflammatory Syndrome in Children, MIS-C*) prvi puta je opisan u Ujedinjenom Kraljevstvu u travnju 2020. godine nakon porasta broja kritično bolesne djece s kliničkom slikom hiperinflamatornog sindroma 4-6 tjedana nakon zaraze virusom SARS-CoV-2 (57). Dijagnoza se postavlja metodom isključivanja a u Republici Hrvatskoj najviše se rabe smjernice SZO-a koje navode 5 dijagnostičkih kriterija: dob 0-19 godina, vrućica u trajanju od najmanje 3 dana, zahvaćanje više organa/organskih sustava, povišeni markeri upale (npr. CRP, sedimentacija eritrocita, prokalcitonin itd.) i isključena infektivna podloga upale (58). Patofiziološka podloga nije razjašnjena i ne može se objasniti isključivo citokinskom olujom koja je obilježje teške COVID-19 bolesti praćene ARDS-om. Međutim opće je prihvaćeno da je riječ o visoko prokoagulantnom stanju s povišenim upalnim biljezima kao što su feritin, CRP itd. a čije najteže posljedice mogu uključivati i smrtni ishod (59). MIS-C se smatra vrlo rijetkom pojavom a točna incidencija nije poznata. Prema podacima studije Državnog centra za prevenciju i suzbijanje bolesti New Yorka, procjenjuje se na 2 slučaja na 100 000 djece (60).

Multisistemski upalni sindrom u odraslih (eng. *Multisystem Inflammatory Syndrome in Adults, MIS-A*) prepoznat je ubrzo nakon početka pandemije i opisan kao teški hiperinflamatorni sindrom u osoba iznad 21 godine koji se prezentira za vrijeme ili unutar 12 tjedana od preboljenja COVID-19 bolesti (61). Za razliku od teškog oblika COVID-19, MIS-A nije obilježen narušenom funkcijom dišnog sustava. Iako ima dosta sličnosti s dječjim oblikom, MIS-A se prezentira češće trombotskim incidentima i srčanom disfunkcijom a mortalitet je viši (58). Incidencija MIS-A je nepoznata, ali se smatra rjeđim od MIS-C-a.

U literaturi navedeni su prikazi slučajeva odraslih ljudi s kliničkom slikom MIS-A nakon cijepljenja SARS-CoV-2 cjepivom. Choi i sur. opisali su slučaj 22-godišnje, do tada zdrave žene koja je razvila multisistemski upalni sindrom 10 dana nakon cijepljenja 1. dozom ChAdOx-1 cjepiva, u travnju 2021. godine (62). Klinička slika uključivala je miokarditis, perikarditis, poremećaje srčanog ritma, gastroenteritis i kožni osip. Infektološka podloga bolesti je isključena a poboljšanje je nastupilo nakon kombinirane terapije kortikosteroidima i IVIG-

om. U rujnu 2021. Nune i sur. su prvi objavili MIS-A nakon cijepljenja BNT162b2 cjepivom (63). Radilo se o 44-godišnjoj ženi bez komorbiditeta koja je zaprimljena u bolnicu 2 dana nakon cijepljenja pod kliničkom slikom gastroenteritisa, dermatitisa i akutnog bubrežnog zatajenja s visokim parametrima upale i naknadno dokazanom plućnom embolijom. Brown i sur. opisali su klinički tijek MIS-A kod 58-godišnjeg muškarca nakon 2. doze mRNA-1273 cjepiva (64). Bova i sur. prikazali su slučaj 46-godišnjeg muškarca sa MIS-om čiji su se simptomi pojavili 12 dana nakon cijepljenja Ad26.CoV2.S cjepivom (65). Europska medicinska agencija (EMA) izdala je priopćenje o MIS-u u djece i odraslih nakon cijepljenja različitim SARS-CoV-2 cjepivima (66, 67, 68).

Incidencija MIS-a u djece smatra se značajno manjom od incidencije nakon COVID-19 bolesti. Na temelju francuske nacionalne populacijske studije, incidencija MIS-C-a u dobi od 12-17 godina iznosi 2,9 slučajeva na milijun procijepljene djece (64). Dapače, studije su potvrdile protektivan učinak cjepiva od razvoja MIS-a (69, 70).

Patofiziološki mehanizam MIS-a nakon SARS-CoV-2 cjepiva nije razjašnjen. Nepoznato je radi li se o genetskoj predispoziciji, imunološkoj preosjetljivosti na cjepivo ili autoimunom poremećaju koji još nije otkriven.

1.5. Utjecaj SARS-CoV-2 cjepiva na pokazatelje hemostaze i upale

Masovnom primjenom cjepiva protiv COVID-19 bolesti, provela su se istraživanja unutar znanstvene zajednice o mogućem utjecaju na sustav zgrušavanja i upale. Iako je sigurnost cjepiva dokazana u kliničkim studijama na velikom broju ispitanika, slučajevi VITT-a, trombotskih incidenata i MIS-a u vremenskoj korelaciji sa SARS-CoV-2 cijepljenjem, ponukala je na provođenje studija o djelovanju cjepiva u stvarnom životu. Riječ je dakle o opservacijskim, prospektivnim studijama u kojima su se u točno definiranim vremenskim točkama u odnosu na cijepljenje određivali pokazatelji hemostaze i/ili zgrušavanja. Obzirom na pandemijske uvjete i sva postojeća tehnička ograničenja, provođenje takvih istraživanja zahtijevalo je veliki napor.

Kako su nedugo nakon početka masovnog cijepljenja prijavljeni slučajevi trombotskih incidenata bez evidentnog provocirajućeg uzroka, izuzev samog cjepiva, tako su istraživanja o

mogućem utjecaju cjepiva prvenstveno bila usmjerena na proučavanje promjena u sustavu zgrušavanja. Radi povezanosti hemostaze i imunskog odgovora, prethodno jasno potvrđene u COVID-19 bolesti, istraživanja o utjecaju SARS-CoV-2 cjepiva obuhvatila su i proupalne biljege. Aktivacija endotela, hipercitokinemija i promjene u koagulaciji neosporna su obilježja teškog oblika COVID-19 bolesti. Pretpostavlja se da se slični mehanizmi, ali u znatno atenuiranom obliku, odvijaju nakon cijepljenja protiv COVID-19 bolesti. Te pretpostavke dijelom su proizašle iz zabilježenih promjena biljega hemostaze i upale u studijama koje su uključivale ispitanike procijepljene SARS-CoV-2 cjepivima a dijelom iz hipoteze o direktnom štetnom učinku šiljak proteina na endotel. Meinhardt i sur. dokazali su prisutnost virusne RNA i solitarnog šiljak proteina u olfaktornoj mukozi i neuroanatomskim regijama koje odgovaraju projekcijama olfaktornog trakta (71). Robles i sur. uočili su povećanu ekspresiju biljega endotelne aktivacije nakon inkubacije umbilikalnih endotelnih stanica šiljak proteinom što je protumačeno dokazom endotelnog oštećenja (72). Iz navedenog su pojedini znanstvenici zaključili da je sam šiljak protein, u odsustvu aktivne replikacije virusa (prisustva viralne RNA), dostatan za aktivaciju endotela. Međutim, hipoteza o direktnom štetnom djelovanju šiljak proteina nije opće prihvaćena a značenje promjena biljega endotelne aktivacije, hemostaze i upale u pojedinom istraživanjima, smatra se još uvijek nepoznatim.

Peyvandi i sur. su na uzorku od 30 ispitanika, nakon cijepljena mRNA BNT162b2 cjepivom utvrdili statistički značajan porast trombocita te statistički značajni pad F1+2 i endogenog trombinskog potencijala (73). Kod jednog ispitanika nakon cijepljenja ELISA-om su nađena protutijela na PF4 koja nisu nađena funkcionalnim potvrdnim testom. Autori navode da rezultati njihova istraživanja govore u prilog sigurnosti cjepiva jer navedene promjene laboratorijskih pokazatelja nisu imale nikakav klinički značaj.

De Laat i sur. utvrdili su porast d-dimera i VWF-a nakon 2. doze ChAdOx1-S cjepiva u 9% od ukupno 631 ispitanika (74). Također, autori su utvrdili značajno smanjenje fibrinogena i protrombina te porast IL-10 nakon cijepljenja. Prema njihovom mišljenju, opisane promjene odraz su aktivacije sustava koagulacije i posljedične potrošnje njegovih komponenti kao što je navedeni fibrinogen. VWF koji se oslobađa iz endotelnih stanica krvnih žila upućuje na aktivaciju endotela dok porast IL-10 predstavlja odgovor imunskog sustava na cijepljenje. Tu su autori povukli poveznicu sa endotelnom aktivacijom dokazanom u bolesnika s teškim oblikom COVID-19 bolesti i njezinom ulogom kao prediktivnog biljega ishoda bolesti (75). U zaključku de Laat i sur. navode kako njihovi rezultati upućuju na aktivaciju hemostaze i endotela posljedično ChAdOx1-S cijepljenju.

Ostrowski i sur. proveli su prospektivno kliničko istraživanje biljega hemostaze i upale u koje su uključili dvije skupine ispitanika cijepljenih mRNA cjepivom (BNT162b2 i mRNA-1273) i adenovirusnim cjepivom (ChAdOx1-S) (76). U svom istraživanju utvrdili su porast d-dimera nakon cijepljenja vektorskim cjepivom odnosno porast fibrinogena nakon cijepljenja mRNA cjepivom. Također, nakon cijepljenja zamijećen je porast proupalnih biljega IL-6, čimbenika tumorske nekroze alfa (TNF α), IL-8 i IL-10, koji je bio izraženiji u vektorskoj skupini u odnosu na mRNA skupinu cjepiva. Navedeno je protumačeno većom imunološkom reakcijom na adenovirusno cjepivo.

TREASURE studija o promjenama u hemostazi i upalnim biljezima posljedično SARS-CoV-2 cijepljenju Brambillae i sur., obuhvatila je veći broj ispitanika (N=368) cijepljenih sa čak dva mRNA (BNT162b2 i mRNA-1273) i dva adenovirusna cjepiva (ChAdOx1-S i Ad26.CoV.S) (77). Neovisno o vrsti cjepiva, utvrđen je porast d-dimera, fibrinogena i F1+2 kao i upalnih biljega CRP-a i IL-6 nakon cijepljenja. Iako navedene promjene nisu imale klinički evidentnih posljedica, autori su postavili pitanje o značenju takvih promjena na razini populacije.

Obzirom na lokalne i sistemske reakcije posljedično cijepljenju koje su prepoznate već i u kliničkim studijama o sigurnosti SARS-CoV-2 cjepiva, provedena su istraživanja o kretanju upalnih biljega u kontekstu imunološkog odgovora na cijepljenje.

Miyashita i sur. proučavali su povezanost reakcija na cjepivo (lokalnih ili sistemskih) BNT162b2 i upalnih biljega (78). Nakon cijepljenja a osobito nakon 2. doze utvrđen je porast IL-6 i TNF α koji je korelirao s jačinom reakcije na cijepljenje. Autori smatraju da je time nedvojbeno dokazana uzročno-posljedična veza cijepljenja BNT162b2 cjepivom i porasta upalnih biljega.

Povezanost imunološkog odgovora putem stvaranja neutralizirajućih protutijela i niza upalnih biljega (IL-1 β , interferon (IFN)- α 2, IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-17A, IL-18, IL-23, IL-33) nakon cijepljenja BNT162b2 cjepivom istraživali su Flego i sur. (79). Rezultati njihove studije pokazali su da biljezi upale rastu brže i jače nakon cijepljenja u osoba koje imaju višu razinu neutralizirajućih protutijela. Citokin koji je najviše korelirao s neutralizirajućim protutijelima bio je IL-1 β , stimulator antigen prezentirajućih stanica i promotor diferencijacije T limfocita.

Terentes-Printzios i sur. su na temelju porasta visokoosjetljivog CRP-a i promjena u brzini arterijskog pulsog vala kao pokazatelja krvožilne krutosti nakon cijepljenja BNT162b2

cjepivom, hipotezirali postojanje tranzitorne subkliničke endotelne disfunkcije nakon cijepljenja (80).

Lim i sur. nisu dokazali promjene biljega endotelne aktivacije ICAM-1 (eng. *Intracellular Adhesion Molecule 1*), VCAM-1 (eng. *Vascular Cell Adhesion Molecule 1*) i P-selektina kao ni koagulacijskih pokazatelja (FVIII, fibrinogena, VWF antigena, d-dimera) nakon BNT162b2 cijepljenja temeljem čega su zaključili da navedeno cjepivo ne uzrokuje endotelnu disfunkciju niti dovodi do promjena u hemostazi (81).

Glavni problematika navedenih istraživanja je u broju ispitanika i/ili broju vremenskih točaka određivanja laboratorijskih pokazatelja zgrušavanja i upale čime se nameće potreba za dobro dizajniranim kliničkim ispitivanjima koje bi takve nedostatke mogle premostiti ili barem umanjiti.

1.6. Laboratorijski pokazatelji hemostaze i upale

1.6.1. Protrombinsko vrijeme (PV)

Protrombinsko vrijeme laboratorijska je metoda kojom se mjeri vrijeme zgrušavanja plazme u prisutnosti tkivnog faktora (tromboplastina) i pokazatelj je ekstrinzičnog puta (vanjskog) zgrušavanja koje uključuje fibrinogen i čimbenike zgrušavanja II, V, VII i X. Određivanje se izvodi tako da se ispitanikovo plazmi doda kalcij tromboplastin nakon čega se registrira vrijeme stvaranja ugruška. Pri tome se koriste kontrole (plazma bez manjka faktora zgrušavanja ili inhibitora faktora). Normalni raspon iznosi >0.70 (udjel) a rezultati se izražavaju i kao omjer srednjih vrijednosti protrombinskog vremena ispitanikove i kontrolne plazme (internacionalni normalizirani omjer, INR). Na protrombinsko vrijeme može utjecati niz zbivanja u organizmu; manjak čimbenika zgrušavanja (prirođen ili stečen), prisustvo inhibitora čimbenika zgrušavanja, lijekovi (antikoagulansi), antitijela na fosfolipide (u antifosfolipidnom sindromu). Ovisno o podlozi promijenjenog protrombinskog vremena i liječenje je različito. Pogrešno liječenje može imati ozbiljne posljedice.

1.6.2. Aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme (APTV)

Aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme pokazatelj je zajedničkog i unutarnjeg (intrinzičnog) puta zgrušavanja krvi u kojem sudjeluju čimbenici zgrušavanja II, V, VIII, IX, X, XI, XII i fibrinogen. Izražava se u sekundama, a normalne vrijednosti ovise o vrsti reagensa. Ukoliko je nedostatak jednog od čimbenika zgrušavanja veći od 70% nastupiti će prolongacija APTV-a odnosno smanjenje PV-a, ovisno o kojem je čimbeniku riječ. Tako primjerice nedostatak FVII neće utjecati na APTV ali će smanjiti PV. Već samo poznavanje te činjenice može dovesti do dijagnoze nedostatka čimbenika VII. U kliničkoj praksi često se koristi test miješanja gdje se ispitanikova plazma miješa sa kontrolnom „zdravom“ plazmom (bez nedostatka čimbenika ili inhibitora). Ukoliko ne dolazi do korekcije PV-a odnosno APTV-a tada je riječ o prisustvu inhibitora bilo čimbenika zgrušavanja ili fosfolipida koji su neophodni za njihovu aktivaciju. Potonje je glavna karakteristika antifosfolipidnog sindroma koji je često povezan s autoimunim bolestima kao što je sistemski sklerozirajući lupus. Usprkos naočigled produljenom APTV-u, zapravo je riječ o vrlo prokoagulantnom stanju s izrazitim rizikom spontanih trombotskih incidenata (82).

1.6.3. Protrombinski fragment 1+2 (F1+2)

Protrombinski fragment 1+2 je polipeptidni fragment protrombina (FII) koji nastaje cijepanjem protrombina u trombin. Stoga je F1+2 direktni pokazatelj stvaranja trombina in vivo i zgrušavanja krvi. Poluvrijeme života u krvi mu je 90 minuta, dulje nego antitrombina (AT) te je pouzdaniji pokazatelj procesa zgrušavanja.

Povišene vrijednosti F1+2 zabilježene su kod venskih i arterijskih tromboza uključujući i akutni koronarni sindrom i cerebrovaskularni inzult, deficita proteina C i S, atrijske fibrilacije, angine pektorisa, kod pušača i trudnica te kod žena na oralnoj kontraceptivnoj terapiji (83, 84, 85). Vrijednost F1+2 u plazmi zdravih odraslih osoba raste s dobi; u dobnoj skupini 20 – 29 godina iznosi $0,82 \pm 0,39$ nM, u skupini 30 – 49 godina iznosi $1,46 \pm 0,56$ nM, u skupini 50 – 59 godina iznosi $2,16 \pm 0,80$ nM (86).

1.6.4. Trombin-antirombin kompleks (TAT)

Antitrombin je glikoprotein proizveden u jetri koji kovalentno veže i inaktivira trombin u kompleksu trombin-antitrombin. U prisustvu heparina taj se efekt mnogostruko povećava (>1000x). TAT je rani pokazatelj procesa zgrušavanja čije vrijednosti u krvi rastu brže nego uobičajenog markera tromboze d-dimera stoga se TAT može koristiti i kao osjetljiviji tj. raniji biljeg trombotskog incidenta. Poluvijek u plazmi mu je oko 15 min a iz nje se odstranjuje vežući se za receptore koji se nalaze na jetrenim stanicama. Normalne vrijednosti TAT-a kod zdravih odraslih osoba kreću se između 0,8 do 5 µg/L (87).

1.6.5. Fibrinogen

Fibrinogen je glikoprotein koji se stvara u jetri. Pod utjecajem trombina razgrađuje se u fibrinske monomere koji uz pomoć čimbenika zgrušavanja FXIII stvaraju fibrinsku mrežu, sastavni dio krvnog ugruška. Fibrin negativnom povratnom spregom djeluje na trombin kočeci njegovu aktivnost. Normačne vrijednosti fibrinogena u plazmi su između 1,8 i 3,5 – 4,0 g/L a poluvijek iznosi 4 dana.

Fibrinogen je ujedno i reaktant upalne faze te je povišen u raznim upalnim procesima. Snižene vrijednosti fibrinogena, primjerice u infektivnim zbivanjima kao što je teška sepsa, ominozan su znak i čest pokazatelj diseminirane intravaskularne koagulacije (DIK). Riječ je o potrošnoj koagulopatiji koja je okarakterizirana velikom potrošnjom čimbenika zgrušavanja uslijed mikrotromboza na kapilarnoj razini i oštećenja endotela kao posljedice sepse. Klinička slika okarakterizirana je krvarenjem koje može biti opasno po život. To je jedan od primjera stečenog nedostatka fibrinogena. Drugi, znatno češći su razne jetrene bolesti koje onemogućavaju adekvatnu proizvodnju fibrinogena. Moguće su i stečene hipofibrinogenemije tj. smanjena proizvodnja fibrinogena ili disfibrinogenemije u kojima postoji funkcionalni defekt.

1.6.6. D-dimeri

D-dimeri su produkti razgradnje fibrina odnosno fibrinskog ugruška. U širokoj kliničkoj primjeni su kod isključivanja venskih tromboembolija. Vrijednost d-dimera ispod referentne granice od 0.5 µg/L ima visoku negativnu prediktivnu vrijednost (isključuju trombotski incident) dok povišeni nisu jamstvo tromboze. Dapače mogu biti povišeni u stanjima teške upale te kod zloćudnih bolesti. Otkako je prepoznata prokoagulantna narav COVID-19 bolesti, široko se koriste ili za isključivanje COVID-19 povezanih tromboembolijskih incidenta odnosno kao pretkazatelj težeg oblika bolesti a time i potencijalno lošijeg ishoda. Poluvrijeme raspada je oko 8 sati.

1.6.7. Von Willebrandov faktor (VWF)

Von Willebrandov faktor je glikoprotein koji se u obliku multimera stvara u endotelu, subendotelnom vezivu i megakariocitima koštane srži. Nakon oslobađanja u cirkulaciju pomaže adheziju trombocita na endotel u svrhu obnavljanja oštećenog žilnog zida. Također na sebi nosi inaktivan čimbenik FVIII pri čemu mu produžuje poluvijek. U nedostatku VWF-a FVIII se ubrzano razgrađuje i nastaje njegov deficit. Zbog toga kod von Willebrandove bolesti može postojati i snižena aktivnost FVIII uz deficit samog VWF-a.

U cirkulaciji pod utjecajem metaloproteinaze ADAMTS 13 (eng. *adisintegrin-like and metalloprotease with thrombospondin type 1 motif no. 13*) cijepa se na manje peptide koji se dalje razgrađuju. Vrlo je rijedak poremećaj nedostatka ili inhibicije ADAMTS 13 koji se naziva trombotična trombocitopenična purpura (TTP). Radi nagomilavanja VWF multimera u TTP-u dolazi do stvaranja mikrotromba, intravaskularne hemolitičke anemije i trombocitopenije čiji je mortalitet do 80-tih godina 20-tog stoljeća bio oko 90%, sve do primjene postupka izmjene plazme (plazmafereze) kao visoko efikasnog liječenja.

Von Willebrand ristocetin kofaktor (VWF:RCo) test mjeri sposobnost bolesnikove plazme da aglutinira trombocite u prisutnosti antibiotika ristocetina. Normalne vrijednosti su 70 – 150%.

Obzirom da se VWF sintetizira u endotelu, u COVID-19 eri istraživana je kao marker težine bolesti. Kod težih oblika bolesti dolazi do prejake aktivacije imunološkog odgovora i endotelnog oštećenja stoga se očekuje i prvo porast a potom i pad VWF-a radi potrošnje.

1.6.8. C-reaktivni protein (CRP)

C-reaktivni protein je protein iz obitelji pentraksina koji se stvara u jetri i masnim stanicama. Riječ je o proteinu akutne faze koji se tradicionalno koristi u kliničkim uvjetima kao pouzdan biljeg upale (ne nužno infektivne geneze). Normalne vrijednosti CRP-a su do 5 mg/L mada kod trudnica mogu biti i veće (do 15 mg/L). Iznad normalne razine naraste za 6-9 h, vrh dosegne za 48 h a poluvijek mu je oko 19 sati.

CRP se sintetizira pod utjecajem citokina kao što je IL-6 stoga su oba intenzivno proučavana u pandemiji COVID-19 bolesti. Tradicionalno visoke vrijednosti CRP-a u kontekstu infektivnog zbijanja dobro koreliraju s težinom bolesti odnosno većom potrebom za aktivnijim pristupom liječenja.

1.6.9. Interleukin-6 (IL-6)

IL-6 je proupalni citokin koji nastaje u ranim fazama upale. Oslobađa se iz makrofaga u cirkulaciju i dolazi do jetre u kojoj potiče stvaranje niza proteina akutne faze kao što su CRP, fibrinogen, haptoglobin, serumski amiloid A itd. U odsustvu upale, 10-35% IL-6 dolazi iz adipocita, masnih stanica. U eri COVID-19 bolesti, Said i sur. su temeljem meta analize studija o koncentraciji IL-6 zaključili da se raspon IL-6 u krvi zdravih ispitanika kreće u rasponu od 0 do 43,5 pg/mL (88).

IL-6 može biti povišen u nizu stanja, bilo infektivnih, autoimunih ili zloćudnih no u zadnje tri godine postao je centralna molekula u opisu COVID-19 citokinske oluje, obilježja teškog oblika koronavirusne bolesti. Kao sindrom, citokinska oluja je prvi puta opisana 80-tih godina 20-tog stoljeća u kontekstu malarije i sepse (89, 90). Kasnije je opisana kod bolesti presatka protiv primatelja (GVHD, eng. *graft versus host disease*) (91). Također, posljednjih

nekoliko godina prijavljena je kao posljedica novih terapijskih metoda kao što su CAR-T (eng. *chimeric antigen receptor*) stanice te monoklonskih protutijela (92, 93).

Oštećenjem tkiva, dakle lokalnom ozljedom, oslobađaju se proupalne molekule (kemokini) čija je glavna uloga kemotaksija – privlačenje makrofaga, leukocita, T limfocita na mjesto ozljede. Time se stvara lokalni upalni odgovor koji se naočigled može vidjeti edemom, crvenilom i toplinom (npr. ozljeda šake). Glavni cilj je ograničavanje oštećenja i konačno cijeljenje. Međutim u nekim slučajevima, kao što je to kod teškog oblika COVID-19 bolesti, dolazi do sistemskog upalnog odgovora koji počiva na pozitivnoj povratnoj sprezi. Time dolazi do nekontrolirane aktivacije stanica imunološkog sustava što za posljedicu može imati npr. u slučaju COVID-19 bolesti, oštećenje čitavog organskog sustava kao što su pluća.

U COVID-19 bolesti, osobito u njenom teškom obliku, potvrđene su višestruko povišene koncentracije kemokina, citokina i niza proinflamatornih molekula koje odražavaju stupanj aktivacije imunskog odgovora pa samim time i težinu bolesti. Glavnu ulogu svakako ima IL-6 čije je određivanje ušlo u kliničku praksu. Prompetchara i sur. te Pedersen i sur. pokazali su da COVID-19 bolesnici sa povišenim razinama IL-6 imaju manje šanse oporavka odnosno veću potrebu za liječenjem u jedinicama intenzivne skrbi (94, 95).

Dobro poznavanje patogeneze bilo koje bolesti, pa tako i COVID-19, neminovno otvara put k mogućim terapijskim opcijama. Rekombinantna monoklonska protutijela poput tocilizumaba, sarilumaba i siltuksimaba usmjerena su prema atenuaciji citokinske oluje (96, 97).

1.6.10. Endotelin-1 (ET-1)

ET-1 je 21-aminokiselinski peptid nastao proteolitičkim cijepanjem većeg prekursora velikog ET-1 a jedna je od najpotentnijih vazokonstriktornih supstanci do danas otkrivenih. Spada u obitelj vazoaktivnih peptida kojoj pripadaju i endotelin-2 (ET-2) i endotelin-3 (ET-3). Proizvode se u nizu tkiva, uključujući pluća, bubrege, posteljicu, mozak, endokrinim žlijezdama. Za razliku od ET-2 i ET-3, veliki ET-1 se proizvodi u vaskularnom endotelu (98).

ET-1 djeluje putem dva receptora, ET_A i ET_B koji se nalaze u izu tkiva, između ostaloga i u glatkom mišićju krvožilja. Putem tih receptora ostvaruje se vazokonstriktorni efekt ET-1 pri

čemu djeluje kao oponent dušikovom-oksidu koji pak posjeduje glavni vazodilatatorni učinak u organizmu. Poluvrijeme ET-1 u plazmi je oko 1 minute nakon čega se veže za receptore koji se internaliziraju unutar stanice i prestaju biti aktivni (99). U istraživanjima se najčešće mjeri veliki ET-1 jer je puno stabilniji. Lyu i sur. u svojem istraživanju naveli su da ispitanici sa vrijednosti velikog ET-1 u plazmi $\geq 0,54$ pmol/L češće imaju atrijsku fibrilaciju, šećernu bolest, preboljeli srčani ili moždani udar, koronarnu bolest, kroničnu opstruktivnu bolest pluća, perifernu arterijsku bolest itd. (100).

Povišene razine velikog ET-1 nađene su u nizu stanja kao što su arterijska hipertenzija, subarahnoidalno krvarenje, sepsa, infekcija HIV-om te u COVID-19 bolesti kao biljeg endotelnog oštećenja i lošijeg preživljenja (101).

1.6.11. Protutijela na trombocitni faktor 4 (anti-PF4)

PF4 poznat i pod nazivom CXCL4 (eng. *C-X-C motif chemokine ligand 4*) je protein prosječne veličine 7.8 kDa koji nastaje u megakariocitima i pohranjuje se u alfa granulama trombocita. Posjeduje niz funkcija od kojih je najpoznatija vezanje negativno nabijenih glikoproteina kao što su heparin sulfat i hondroitin sulfat na stanicama endotela odnosno trombocitima. Na taj način, neutralizirajući ih promiče agregaciju trombocita i stvaranje krvnog ugruška.

Izuzev navedenog, djeluje i kao kemokin koji oslobođen u cirkulaciju na mjestu ozljede tkiva kemotaksijom privlači neutrofile i promiče oslobađanje metaloperoksidaze i lizozima. Čini se da je i uključen u imunosni odgovor na koronavirusnu infekciju (102).

U kliničkoj praksi, PF4 se do sada najviše povezivao sa sindromom trombotske trombocitopenije uslijed izloženosti heparinu. Naime iz nepoznatih razloga dolazi do stvaranja IgG klase protutijela na PF4 i heparin koja se potom vežu na FcR γ IIA receptor trombocita. Posljedica toga je aktivacija trombocita, stvaranje ugruškaka i potrošnje trombocita što se manifestira trombocitopenijom koja može biti i gradusa IV. Dokazuju se kvalitativno ELISA testom. U literaturi su opisani i slučajevi spontanog stvaranja anti-PF4 antitijela bez izloženosti heparinu ili infektivnim uzročnicima (103).

U eri COVID-19, anti-PF4 protutijela u rijetkim slučajevima javljaju se kao posljedica cijepljenja, bez prisustva heparina, iz do sada nerazjašnjenog razloga. Obilježje su novog kliničkog sindroma, VITT-a.

1.7. Svrha istraživanja

Prokoagulantna narav COVID-19 bolesti postala je očita već početkom pandemije koja je zahvatila svijet ostavljajući za sobom ozbiljne zdravstvene i socioekonomske posljedice. Hiperinflamacija, kao posljedica nekontroliranog sistemskog proupalnog odgovora u teškim oblicima bolesti, usko je povezana sa stvaranjem hiperkoagulabilnog miljea; od mikrotromboza u krajnjim krvožilnim ograncima koji snabdjevaju oštećeni parenhim pluća pa do po život opasnih tromboembolija plućnih arterija.

SARS-CoV-2 cjepiva spasila su na milijune života diljem svijeta i donijela konačnu pobjedu nad pandemijom. Kako je procijepljenost rasla, tako su se pojavljivali prvo pojedinačni a potom serije opisanih slučajeva tromboza usko vremenski povezanih sa cijepljenjem. Točan uzrok tromboza nije poznat ali se neminovno nameće pitanje cjepivom potaknute hiperkoagulabilnosti.

Svrha ovoga rada je istražiti potencijalni učinak SARS-CoV-2 cjepiva BNT162b2 i Ad.26.CoV2.S na pokazatelje zgrušavanja i upale te eventualne razlike među cjepivima u odnosu na te pokazatelje ne bi li se dobilo više saznanja o povezanosti cjepiva i trombotskih incidenata.

2. HIPOTEZA

Koronavirusno vektorsko cjepivo Ad26.CoV2.S ima veći prokoagulantni i proupalni učinak od koronavirusnog mRNA cjepiva BNT162b2.

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Opći cilj ovog istraživanja bio je odrediti potencijalni učinak cjepiva protiv koronavirusne bolesti 2019 na pokazatelje zgrušavanja i pokazatelje upale.

Specifični ciljevi istraživanja su:

1. ispitati postoji li razlika u pokazateljima zgrušavanja i proupalnim pokazateljima s obzirom na vrstu cjepiva,
2. ispitati povezanost pokazatelja zgrušavanja i proupalnih pokazatelja u vremenski definiranim točkama nakon cijepljenja,
3. ispitati postoji li povezanost ispitivanih pokazatelja s obzirom na opća obilježja ispitanika (dob, spol, indeks tjelesne mase, arterijska hipertenzija).

4. ISPITANICI I METODE

4.1. Ispitanici

Ova prospektivna opservacijska studija uključila je ukupno 171 ispitanika koji su cijepljeni sa dvije vrste SARS-CoV-2 cjepiva; rekombinantno mRNA BNT162b2 (Pfizer, BioNTech, Njemačka) i rekombinantno vektorsko Ad26.CoV2.S (Janssen, Johnson&Johnson, Belgija) prema planu i programu Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske. Ispitanici su regrutirani u Kliničkom bolničkom centru Sestre milosrdnice i Domu zdravlja Centar, Zagreb.

U skupini mRNA cjepiva ukupno je bilo 87 ispitanika dok su u skupni vektorskog cjepiva bila 84 ispitanika. Kontrolnu skupinu činili su sami ispitanici obzirom da su se svi laboratorijski pokazatelji odredili iz krvi ispitanika i prije cijepljenja.

Za svakog ispitanika uzeti su podaci o dobi, tjelesnoj težini, komorbiditetima, te eventualnom preboljenju COVID-19 bolesti. Iz istraživanja su isključene osobe koje su preboljele COVID-19 unutar perioda od 6 mjeseci prije cijepljenja, osobe na antikoagulantnoj terapiji, osobe s većim operativnim zahvatom unatrag mjesec dana, osobe s recentnim tromboembolijskim incidentom (unatrag 3 mjeseca), osobe s aktivnom zloćudnom bolesti, osobe na dijalizi, dijabetičari na inzulinskoj terapiji, osobe s aktivnom autoimunom bolesti, trudnice, žene u puerperiju, žene na oralnoj kontraceptivnoj terapiji, osobe s hemofilijom i osobe s imunom trombocitopenijom. Osobe s infektivnom bolesti su bile isključene samim kriterijima cijepljenja.

Istraživanje je provedeno u skladu sa Helsinškom deklaracijom te je odobreno od strane Etičkih komisija obiju ustanova u kojima je provedeno cijepljenje kao i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Svi ispitanici su bili upoznati s ciljevima istraživanja te su dobrovoljno dali pismeni pristanak za sudjelovanje u istraživanju.

4.2. Prikupljanje uzoraka krvi

Uzorci krvi od svakog ispitanika uzete su između 7 i 9 sati ujutro od strane kvalificiranog medicinskog osoblja Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice (uključujući i samog doktoranda).

Ispitanicima u mRNA skupini krv je vađena u 5 različitih točaka: prije 1. cijepljenja, nakon 7 i 14 dana od 1. doze te 7 i 14 dana nakon 2. doze cjepiva. Ispitanicima u vektorskoj skupini krv je vađena 3 puta: prije cijepljenja te 7 i 14 dana nakon cijepljenja. Prije svake venepunkcije ispitano je postoje li simptomi infektivnih bolesti i drugih upalnih stanja koji bi mogli utjecati na laboratorijske pokazatelje.

U svakoj vremenskoj točki uzorkovano je ukupno 15 mL venske krvi ispitanika u standardne epruvete s podtlakom, Vacuette® (Greiner BioOne GmbH, Kremsmünster, Austrija); jedna epruveta s K2EDTA antikoagulansom (KKS, kompletna krvna slika), dvije epruvete sa 3.2%-tnim natrijevim citratom (fibrinogen, PV, APTV, D-dimeri, TAT, F 1+2, VWF aktivnost, veliki ET-1) i jedna epruveta bez antikoagulansa (CRP, IL-6, PF4 antitijela). Epruvete bez antikoagulansa i sa 3.2%-tnim natrijevim citratom centrifugirane su kroz 10 minuta na 1800 xg unutar 3 sata od venepunkcije u Kliničkom zavodu za biokemiju Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice.

Laboratorijsko određivanje KKS-a i CRP-a učinjeno je odmah dok je ostatak parametara određivan iz uzoraka seruma i plazme pohranjenih na -80°C ne dulje od 8 mjeseci.

4.3. Metode određivanja laboratorijskih pokazatelja

Za provođenje istraživanja korištena je oprema nabavljena kroz infrastrukturni znanstveni projekt „Modernizacija i proširenje znanstveno-istraživačke djelatnosti Kliničkog zavoda za kemiju pri KBC Sestre milosrdnice“ (KK.01.1.1.02-0014) Europskoga fonda za regionalni razvoj.

Kompletna krvna slika analizirana je na hematološkom analizatoru Sysmex XN1000 (Sysmex Europe SE, Norderstedt, Njemačka).

PV, APTV, fibrinogen i d-dimeri izmjereni su na BCSXP analizatoru (Siemens Healthineers, Marburg, Germany). Za određivanje PV-a korišten je reagens Dade® Innovin®,

Actin FS za određivanje APTV-a, a Mutifibren® U za određivanje koncentracije fibrinogena. Koncentracija d-dimera određena je pomoću reagensa s Innovance® D-dimers. Svi parametri izmjereni su korištenjem originalnih protokola od strane proizvođača reagensa (Siemens Healthineers, Marburg, Njemačka).

Aktivnost VWF određena je pomoću reagensa Innovance® VWF Ac na koagulometru BCSXP (oba Siemens Healthineers, Marburg, Njemačka) slijedeći originalni protokol proizvođača. Ukratko, plazmi ispitanika dodaje se reagens koji sadrži specifično monoklonsko protutijelo za VWF i GPIb pri čemu nastaju aglutinirani trombociti koji smanjuju zamućenost reakcijske smjese što se mjeri turbidimetrijski. Analizator automatski izračunava aktivnost VWF (%) u plazmi ispitanika u odnosu na normalnu plazmu prema kalibracijskoj krivulji. Mjerni raspon metode je od 15 do 150 %.

Koncentracija protrombinskog fragmenta 1+2 izmjerena je pomoću reagensa Enzygnost® F 1+2 (monoclonal) (Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH, Marburg, Njemačka) ELISA metodom prema uputstvu proizvođača. Ukratko, mikrotitarska ploča u kojoj se odvija reakcija obložena je F1+2 protutijelom na koje se veže F1+2 antigen iz uzorka plazme ispitanika. Potom se dodaju peroksidazom obilježena protutijela na protrombin koja se vežu na slobodne F1+2 determinatne. Nakon ispiranja suviška antitijela i dodatkom kromogenog supstrata dolazi do enzimske reakcije između vodikovog peroksida i kromogena te se razvija obojenje koje se mjeri fotometrijski na 450 nm. Intenzitet obojenja proporcionalan je koncentraciji F 1+2 u uzorku ispitanika, a izračunava se pomoću kalibracijske krivulje. Mjerni raspon metode je 20 do 1200 pmol/L.

Za određivanje koncentracije TAT kompleksa korišten je komercijalni test paket Enzygnost® TAT micro (Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH, Marburg, Njemačka) koji se temelji na ELISA metodi. Ukratko, mikrotitarska pločica u kojoj se odvija reakcija je obložena protutijelom na trombin. U sljedećoj reakciji, slobodne determinante antitrombina vežu se na peroksidazom konjugirano protutijelo na antitrombin. Nakon ispiranja suviška protutijela i dodatkom kromogenog supstrata dolazi do enzimske reakcije između vodikovog peroksida i kromogena te se razvija obojenje koje se mjeri fotometrijski na 492 nm. Intenzitet obojenja proporcionalan je koncentraciji TAT-a u uzorku, a izračunava se iz kalibracijske krivulje. Deklarirani mjerni raspon je od 2 do 60 µg/L.

Veliki endotelin-1 (ET-1) izmjeren je pomoću visoko osjetljivog i specifičnog ELISA testa Human Big ET-1 Platinum ELISA (Bender MedSystems GmbH, Beč, Austrija).

Mikrotitarska pločica obložena je protutijelom na ljudski veliki ET-1 na koji se veže veliki ET-1 iz uzorka ispitanika te se potom dodaje biotinom konjugirano antitijelo na ljudski veliki ET-1. Suvišak konjugata se ukloni te se dodaje kompleks streptavidin-peroksidaza koji se veže na biotinom obilježena protutijela. Dodatkom supstrata dolazi do reakcije s peroksidazom te se stvara obojeni produkta koji se mjeri fotometrijski na 450 nm. Intenzitet obojenja proporcionalan je koncentraciji velikog ET u uzorku, a izračunava se iz kalibracijske krivulje. Mjerni raspon metode je 0,4 do 25,0 pg/mL.

Anti-trombocitna protutijela (anti PF-4) ispitana su pomoću LIFECODES PF4 IgG (Immucor Medizinische Diagnostik GmbH, Dreieich, Njemačka) ELISA testa za kvalitativno određivanje heparinom induciranih protutijela na trombocitni faktor 4, IgG klase. Ukratko, mikrotitarska pločica je obložena s trombocitnim faktorom 4 u kompleksu s polivinil sulfatom (PF4:PVS) na koja se vežu anti-trombocitna protutijela iz uzorka ispitanika. Potom se u reakciju dodaju protutijela na ljudski globulin (anti-IgG) obilježeno s alkalnom fosfatazom. Nakon inkubacije i ispiranja suviška anti-IgG dodaje se supstrat te dolazi do razvoja obojenog produkta koji se mjeri fotometrijski na 405 nm. Deklarirana granična vrijednost za negativan rezultat je $\leq 0,400$ OD.

Određivanje F 1+2, TAT, velikog ET-1 i anti-PF4 učinjeno je na uređaju za automatiziranu ELISA metodu VirClia (VirCell, Granada, Španjolska).

Koncentracije CRP-a izmjerene su na biokemijskom analizatoru Architect c8000 (Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL, SAD) imunoturbidimetrijskom metodom koja se temelji na reakciji CRP-a iz uzorka i reagensa koji sadrži anti-CRP protutijela vezana za lateks čestice. Kada se uzorak pomiješa s reagensom, dolazi do aglutinacije koja se očituje kao promjena apsorbancije pri 572 nm. Brzina promjene apsorbancije proporcionalna je koncentraciji CRP u uzorku. Mjerni raspon metode je 0,2 do 2400,0 mg/L.

Koncentracija IL-6 određena je na automatskom analizatoru Cobas e 801 tvrtke Roche Diagnostics (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) pomoću elektrokemiluminiscentne imunokemijske metode koja se temelji na sendvič principu. U prvoj inkubaciji, nastaje kompleks IL-6 s protutijelima obilježenim rutenijem i biotinom. U drugoj inkubaciji kompleks se preko biotina veže za paramagnetske čestice obložene streptavidinom. Primjenom napona odvija se kemiluminiscentna reakcija između rutenijevog kompleksa i tripropilamina. Emisija fotona iz reakcije je proporcionalna koncentraciji IL-6 u uzorku.

Deklarirani mjerni raspon metode je od 1,5 do 5000 pg/mL, uz limit kvantifikacije od 2,5 pg/mL.

4.4. Statistička obrada podataka

Za uočavanje srednjeg efekta u razlici numeričkih varijabli između dvije nezavisne skupine (dvije vrste cjepiva), uz razinu značajnosti od 0.05 i snagu 0.8, minimalna potrebna veličina uzorka je 64 ispitanika po skupini, tj. ukupno 128 ispitanika. Za uočavanje srednjeg efekta u razlici numeričkih varijabli između mjerenja kod dvije skupine ispitanika (prema vrsti cjepiva), uz razinu značajnosti od 0.05 i snagu 0.95, minimalna potrebna veličina uzorka je 44 ispitanika. Stoga je minimalna veličina uzorka u istraživanju 64 ispitanika u svakoj skupini (G*Power inačica 3.1.2).

Kategorijski podatci predstavljani su apsolutnim i relativnim frekvencijama. Razlike kategorijskih varijabli testirane su χ^2 (hi kvadrat) testom u slučaju više varijabli i Fisherovim egzaktnim testom kada su se uspoređivale dvije kategorijske varijable. Normalnost raspodjele numeričkih varijabli testirana je Shapiro-Wilkovim testom. Numerički podatci opisani su aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom u slučaju raspodjela koje slijede normalnu, a u ostalim slučajevima medijanom i granicama interkvartilnog raspona.

Razlike normalno raspodijeljenih numeričkih varijabli između dviju nezavisnih skupina testirane se Studentovim testom, a u slučaju odstupanja od normalne raspodjele Mann-Whitneyevim U testom (uz pripadni 95% interval pouzdanosti razlike). Razlike numeričkih varijabli između mjerenja testirane su Friedmanovim testom (post hoc Conover).

Povezanost normalno raspodijeljenih numeričkih varijabli ocijenjena je Spearmanovim koeficijentom korelacije ρ (rho). Sve P vrijednosti su dvostrane.

Razina značajnosti postavljena je na $\alpha=0,05$.

5. REZULTATI

5.1. Obilježja ispitanika

Istraživanje je provedeno na 171 ispitaniku, od kojih je 87 (50,9 %) cijepljeno mRNA cjepivom BNT162b2, a 84 (49,1 %) ispitanika vektorskim cjepivom Ad26.CoV2.S. Nije bilo statistički značajne razlike između žena i muškaraca ($P=0,151$) (Tablica 1).

Tablica 1. Raspodjela ispitanika prema vrsti cjepiva i spolu

	Broj (%) ispitanika			<i>P</i> *
	mRNA cjepivo	Vektorsko cjepivo	Ukupno	
Spol				
Muški	36 (41)	44 (52)	80 (47)	0,151
Ženski	51 (59)	40 (48)	91 (53)	
Ukupno	87 (100)	84 (100)	171 (100)	

* χ^2 test

Medijan dobi svih ispitanika je 36 godina (interkvartilnog raspona(IQR) od 29 do 51 godinu), bez značajne razlike u odnosu na primljeno cjepivo ($P=0,085$) (Tablica 2). Indeks tjelesne mase (ITM) ne razlikuje se značajno između skupina, a medijan ITM cijelog uzorka je 25,24 kg/m² (IQR 22,76 - 28,68 kg/m²).

Tablica 2. Dob ispitanika, masa, visina i indeks tjelesne mase u odnosu na vrstu primljenog cjepiva

	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	<i>P</i> *
	mRNA cjepivo	Vektorsko cjepivo			
Dob ispitanika [godine]	35 (29 – 51)	44 (31 – 53)	4	-1 do 8	0,085
Visina [cm]	172 (165 – 180)	172 (166 – 180)	0	-3 do 3	0,959
Masa [kg]	74 (63 – 87)	75 (65 – 92)	2	-4 do 7	0,574
Indeks tjelesne mase [kg/m ²]	25,22 (22,86 – 28,62)	25,30 (22,64 – 28,68)	0,23	-1,10 do 1,63	0,730

*Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana)

COVID-19 je preboljelo 97 (63,0 %) ispitanika, značajnije više u mRNA skupini u odnosu na vektorsku, 72,0 % vs. 54%, $P = 0,022$ (Tablica 3). Dva puta je COVID-19 imalo 17 (17,5 %) ispitanika, a tri puta njih 3 (3,1 %), dok je 75 (77,3 %) ispitanika oboljelo samo jednom.

Prije cijepljenja preboljelo je COVID-19 17 (17,5 %) ispitanika, a njih 57 (58,8 %) poslije cijepljenja, dok je 17 (17,5 %) ispitanika COVID-19 preboljelo i prije i poslije cijepljenja, bez značajnih razlika prema skupinama (Tablica 3).

Tablica 3. Raspodjela ispitanika prema preboljenoj COVID-19 bolesti u odnosu na skupine

	Broj (%) ispitanika			<i>P</i> *
	mRNA cjepivo	Vektorsko cjepivo	Ukupno	
Preboljeli COVID-19				
Ne	22 (28,0)	35 (46,0)	57 (37,0)	0,022
Da	56 (72,0)	41 (54,0)	97 (63,0)	
Kada su preboljeli COVID-19 [#]				
Prije cijepljenja	11 (22,0)	6 (21,4)	17 (17,5)	0,953
Poslije cijepljenja	36 (64,3)	21 (51,2)	57 (58,8)	0,241
I prije i poslije cijepljenja	7 (12,5)	10 (24,4)	17 (17,5)	0,123

* χ^2 test, [#] podatke o preboljenju COVID-19 ima 78 ispitanika u mRNA i 76 ispitanika u vektorskoj skupini. Za 2 ispitanika u mRNA skupini i 4 ispitanika u vektorskoj nemamo podatke o vremenu preboljenja COVID-19 bolesti u odnosu na cijepljenje.

Arterijsku hipertenziju (AH) ima 29 (19 %) ispitanika. U mRNA skupini ukupno 17 ispitanika ima AH od njih 87 (19,5%), a u vektorskoj skupini njih 12 od 84 (16,2%).

5.2. Učinak BNT162b2 i Ad26.CoV2.S na pokazatelje zgrušavanja i upale te razlike obzirom na vrstu cjepiva u definiranim vremenskim točkama

Vrijednosti CRP-a kod ispitanika koji su dobili vektorsko cjepivo su statistički značajno više 7 dana nakon cijepljenja u odnosu na mRNA skupinu ($P = 0,014$). Statistički su značajno više vrijednosti CRP-a u vektorskoj skupini 7 dana nakon cijepljenja u odnosu na prije i 14 dana nakon cijepljenja ($P=0,006$) (Tablica 4).

Tablica 4. Vrijednosti CRP-a po mjerenjima u odnosu na vrstu cjepiva

CRP (mg/L)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	mRNA	Vektorsko			
Prije cijepljenja	0,9 (0,4 - 2,2)	1,25 (0,5 - 2,2)	0,40	-0,10 do 0,40	0,176
7 dana od 1. doze	0,9 (0,6 - 2,0)	1,45 (0,7 - 2,6)	0,40	0,10 do 0,70	0,014
14 dana od 1. doze	0,9 (0,4 - 1,8)	1,10 (0,6 - 2,4)	0,20	0 do 0,50	0,067
7 dana od 2. doze	1,0 (0,6 - 1,9)	-	-	-	-
14 dana od 2. doze	0,8 (0,4 - 1,9)	-	-	-	-
P [#]	0,109	0,006[†]			

P* razlika između cjepiva, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana), P[#] razlika između mjernih točaka unutar svakog cjepiva, Friedmanov test (post hoc Conover); [†]na razini $P < 0,05$ značajno je viša vrijednost 7.dana vs. (prije cijepljenja, 14 dana od 1. doze)

Nema značajnih razlika u vrijednostima IL-6 u točkama mjerenja nakon cijepljenja pojedinim cjepivom niti u odnosu na vrstu cjepiva (Tablica 5).

Tablica 5. Vrijednosti IL-6 po mjerenjima u odnosu na vrstu cjepiva

IL-6 (pg/mL)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	mRNA	Vektorsko			
Prije cijepljenja	1,5 (1,5 - 2,1)	1,6 (1,5 - 2,6)	0	0 do 0,04	0,104
7 dana od 1. doze	1,5 (1,5 - 2,0)	1,7 (1,5 - 2,3)	0	0 do 0,11	0,133
14 dana od 1. doze	1,5 (1,5 - 2,1)	1,6 (1,5 - 2,4)	0	0 do 0	0,367
7 dana od 2. doze	1,5 (1,5 - 2,1)	-	-	-	-
14 dana od 2. doze	1,5 (1,5 - 1,9)	-	-	-	-
P [#]	0,622	0,790			

P* razlika između cjepiva, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana), P[#] razlika između mjernih točaka unutar svakog cjepiva, Friedmanov test

Vrijednosti TAT-a rastu nakon cijepljenja u mRNA skupini (P=0,011) u odnosu na prije cijepljenja. Uspoređujući dva cjepiva, statistički su značajno više vrijednosti TAT-a u vektorskoj skupini u svim vremenskim točkama mjerenja (P < 0,001) (Tablica 6).

Tablica 6. Vrijednosti TAT-a po mjerenjima u odnosu na vrstu cjepiva

TAT (µg/L)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	mRNA	Vektorsko			
Prije cijepljenja	2,6 (2,0 - 3,3)	3,2 (2,7 - 4,9)	0,58	0,35 do 0,98	<0,001
7 dana od 1. doze	2,6 (2,0- 3,1)	3,4 (2,7 - 4,6)	0,71	0,46 do 1,04	<0,001
14 dana od 1. doze	2,7 (2,0- 3,4)	3,1 (2,7 - 4,1)	0,57	0,27 do 0,85	<0,001
7 dana od 2. doze	2,7 (2,0 - 3,5)	-	-	-	-
14 dana od 2. doze	3,0 (2,0 - 4,3)	-	-	-	-
P [#]	0,011 [†]	0,752			

P* razlika između cjepiva, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana), P[#] razlika između mjernih točaka unutar svakog cjepiva, Friedmanov test (post hoc Conover); [†] na razini <0,05 značajno se razlikuju (14 dan od 2. doze) vs. (prije cijepljenja, 7 i 14 dana od 1. doze, 7 dana od 2. doze)

Nema statistički značajne razlike u vrijednostima F 1+2 prije i nakon cijepljenja mRNA i vektorskim cjepivom. Kada se uspoređuju vrijednosti F 1+2 između dvije skupine ispitanika, značajno su više prije cijepljenja (P = 0,011) i 14 dana nakon cijepljenja (P = 0,032) kod ispitanika koji su primili vektorsko cjepivo u odnosu na mRNA cjepivo (Tablica 7).

Tablica 7. Vrijednosti F 1+2 po mjerenjima u odnosu na vrstu cjepiva

F1+2 (pmol/L)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	mRNA	Vektorsko			
Prije cijepljenja	180,4 (145,4 - 245,5)	216,1 (172 - 330,09)	31,40	7,19 do 57,6	0,011
7 dana od 1. doze	185,7 (143,9 - 258,6)	192,6 (156,2 - 258,5)	7,62	-12,90 do 29,50	0,440
14 dana od 1. doze	168,3 (137,1 - 219,7)	191,29 (147,0 - 283,6)	23,70	1,35 do 47,3	0,032
7 dana od 2. doze	180,2 (146,3 - 231,6)	-	-	-	-
14 dana od 2. doze	167,5 (143,1 - 233,6)	-	-	-	-
P [#]	0,111	0,123			

P* razlika između cjepiva, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana), P[#] razlika između mjernih točaka unutar svakog cjepiva, Friedmanov test

Vrijednosti velikog ET-1 rastu nakon cijepljenja u mRNA skupini ($P < 0,001$) u odnosu na prije cijepljenja. Uspoređujući dva cjepiva, vrijednosti velikog ET-1 su statistički značajno više prije ($P = 0,001$) i 14 dana nakon cijepljenja vektorskim cjepivom ($P = 0,009$) (Tablica 8).

Tablica 8. Vrijednosti velikog ET-1 po mjerenjima u odnosu na vrstu cjepiva

Veliki ET-1 (pg/mL)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	mRNA	Vektorsko			
Prije cijepljenja	1,4 (1,0 - 1,8)	1,7 (1,3 - 1,9)	0,27	0,12 do 0,43	0,001
7 dana od 1. doze	1,6 (1,2 - 1,9)	1,7 (1,3 - 2,1)	0,15	-0,01 do 0,31	0,077
14 dana od 1. doze	1,5 (1,2 - 1,9)	1,7 (1,4 - 2,2)	0,23	0,06 do 0,42	0,009
7 dana od 2. doze	1,6 (1,3 - 2,0)	-	-	-	-
14 dana od 2. doze	1,6 (1,2 - 1,9)	-	-	-	-
P#	<0,001[†]	0,403			

P* razlika između cjepiva, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana), P# razlika između mjernih točaka unutar svakog cjepiva, Friedmanov test (post hoc Conover); †na razini $P < 0,05$ značajno se razlikuju: (prije cijepljenja) vs. (sve ostale točke mjerenja); (7 dana od 2.doze) vs. (sve ostale točke mjerenja)

Vrijednosti fibrinogena statistički su značajno niže nakon cijepljenja s mRNA cjepivom ($P = 0,003$) u odnosu na prije cijepljenja. Nema statistički značajnih razlika u vrijednostima fibrinogena u točkama mjerenja u odnosu na vrstu cjepiva (Tablica 9).

Tablica 9. Vrijednosti fibrinogena po mjerenjima u odnosu na vrstu cjepiva

Fibrinogen (g/L)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	mRNA	Vektorsko			
Prije cijepljenja	2,9 (2,5 - 3,4)	2,9 (2,5 - 3,5)	0	-0,2 do 0,2	0,913
7 dana od 1. doze	3,0 (2,5 - 3,5)	3,1 (2,6 - 3,6)	0,1	-0,1 do 0,3	0,394
14 dana od 1. doze	2,9 (2,5 - 3,5)	2,9 (2,6 - 3,5)	0,1	-0,1 do 0,2	0,574
7 dana od 2. doze	2,9 (2,5 - 3,6)	-	-	-	-
14 dana od 2. doze	2,8 (2,4 - 3,4)	-	-	-	-
P#	0,003[†]	0,054			

P* razlika između cjepiva, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana), P# razlika između mjernih točaka unutar svakog cjepiva, Friedmanov test (post hoc Conover); †na razini $P < 0,05$ značajno se razlikuju: (14 dana od 2. doze) vs. (prije cijepljenja, 7 dana od 1. doze, 7 dana od 2. doze); (14 dana od 1.doze) vs. (7 dana od 1. doze, 7 dana od 2. doze)

Vrijednosti d-dimera su statistički značajno više nakon cijepljenja mRNA i vektorskim cjepivom u odnosu na prije cijepljenja (P=0,004). Nema značajnih razlika u vrijednosti d-dimera u točkama mjerenja u odnosu na vrstu cjepiva (Tablica 10).

Tablica 10. Vrijednosti d-dimera po mjerenjima u odnosu na vrstu cjepiva

D-dimeri (mg/L FEU)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	mRNA	Vektorsko			
Prije cijepljenja	0,26 (0,19 - 0,35)	0,29 (0,22 - 0,41)	0,03	0 do 0,06	0,086
7 dana od 1. doze	0,28 (0,20 - 0,42)	0,31 (0,23 - 0,49)	0,03	-0,01 do 0,07	0,110
14 dana od 1. doze	0,27 (0,20 - 0,41)	0,31 (0,23 - 0,46)	0,03	0 do 0,07	0,066
7 dana od 2. doze	0,28 (0,20 - 0,42)	-	-	-	-
14 dana od 2. doze	0,29 (0,22 - 0,43)	-	-	-	-
P#	0,004[‡]	0,004[‡]			

P* razlika između cjepiva, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana), P# razlika između mjernih točaka unutar svakog cjepiva, Friedmanov test (post hoc Conover); †na razini P<0,05 značajno se razlikuju: (prije cijepljenja) vs. (sve ostale točke mjerenja)

Aktivnost VWF kod oba cjepiva statistički je značajno niža nakon cijepljenja u odnosu na prije cijepljenja (P<0,001). Nema značajnih razlika VWF:Ac u točkama mjerenja u odnosu na vrstu cjepiva (Tablica 11).

Tablica 11. Vrijednosti VWF:Ac po mjerenjima u odnosu na vrstu cjepiva

VWF:Ac (%)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	mRNA	Vektorsko			
Prije cijepljenja	121 (84 - 139)	130 (95 - 147)	8	-3 do 18	0,145
7 dana od 1. doze	118 (88 - 145)	131 (102 - 150)	9,4	-2 do 22	0,112
14 dana od 1. doze	107 (85 - 142)	125 (90 - 144)	6	-6 do 19	0,355
7 dana od 2. doze	118 (85 - 141)	-	-	-	-
14 dana od 2. doze	111 (79 - 138)	-	-	-	-
P#	<0,001[‡]	<0,001[‡]			

P* razlika između cjepiva, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana), P# razlika između mjernih točaka unutar svakog cjepiva, Friedmanov test (post hoc Conover); †na razini P<0,05 značajno se razlikuju vrijednosti u svim mjernim točkama; ‡na razini P<0,05 značajno se razlikuju: (7 dana od 1. doze) vs. (14 dana od 1. doze, 7., 14. dana od 2. doze); (14 dana od 2. doze) vs. (prije cijepljenja, 7 dana od 1. doze, 7 dana od 2. doze)

Vrijednosti trombocita su statistički značajno niže 7 i 14 dana nakon cijepljenja vektorskim cjepivom u odnosu na prije cijepljenja ($P = 0,023$). Nema razlike u vrijednostima trombocita između cjepiva (Tablica 12).

Tablica 12. Vrijednosti trombocita po mjerenjima u odnosu na vrstu cjepiva

Trombociti ($\times 10^9/L$)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	mRNA	Vektorsko			
Prije cijepljenja	258 (221 - 301)	262 (216 - 292)	-6	-23 do 11	0,501
7 dana od 1. doze	254 (223 - 300)	255 (210 - 291)	-7	-26 do 11	0,449
14 dana od 1. doze	257 (221 - 297)	258 (222 - 305)	3	-16 do 20	0,781
7 dana od 2. doze	259 (217 - 294)	-	-	-	-
14 dana od 2. doze	259 (218 - 296)	-	-	-	-
P#	0,809	0,023[†]			

P* razlika između cjepiva, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana), P# razlika između mjernih točaka unutar svakog cjepiva, Friedmanov test (post hoc Conover); [†]na razini $P < 0,05$ značajno se razlikuju vrijednosti (14 dana od 1. doze) vs. (prije cijepljenja i 7 dana nakon 1. doze)

5.3. Povezanost pokazatelja zgrušavanja i proupalnih pokazatelja u definiranim točkama mjerenja

Analiza povezanosti pokazatelja zgrušavanja i proupalnih pokazatelja prije 1. doze mRNA cjepiva nije dokazala povezanost ispitivanih parametara, uz izuzetak statistički značajne, ali slabe povezanosti fibrinogena i CRP-a ($Rho = 0,422$, $P < 0,001$) (Tablica 13).

Tablica 13. Povezanost pokazatelja zgrušavanja i proupalnih pokazatelja kod mRNA cjepiva prije 1. doze

mRNA prije cijepjenja	Spearmanov koeficijent korelacije Rho (P vrijednost)					
	CRP	IL-6	Leukociti	Neutrofili	Limfociti	Monociti
TAT	0,032 (0,781)	0,143 (0,192)	0,090 (0,410)	0,025 (0,823)	0,256 (0,022)	-0,008 (0,943)
F1+2	0,104 (0,351)	-0,205 (0,062)	-0,148 (0,173)	-0,098 (0,371)	-0,203 (0,061)	-0,046 (0,672)
Veliki ET-1	-0,005 (0,970)	0,096 (0,381)	0,037 (0,733)	0,075 (0,487)	-0,030 (0,783)	-0,171 (0,110)
PV	0,154 (0,161)	-0,054 (0,622)	-0,118 (0,281)	-0,057 (0,604)	-0,173 (0,111)	0,047 (0,666)
APTV	-0,105 (0,340)	-0,082 (0,454)	-0,097 (0,370)	-0,049 (0,646)	-0,204 (0,060)	-0,048 (0,663)
Fibrinogen	0,422 (<0,001)	0,272 (0,011)	0,141 (0,194)	0,198 (0,070)	0,053 (0,633)	0,047 (0,668)
D-dimeri	0,133 (0,231)	0,166 (0,131)	-0,043 (0,693)	-0,035 (0,753)	-0,022 (0,838)	0,117 (0,275)
VWF:Ac	0 (>0,99)	0,191 (0,082)	-0,092 (0,401)	-0,040 (0,712)	-0,091 (0,400)	-0,045 (0,680)
Trombociti	0,015 (0,894)	-0,14 (0,200)	0,281 (0,013)	0,297 (0,014)	0,111 (0,313)	0,138 (0,201)

Kod mRNA cjepiva, 7 dana nakon 1. doze, viši CRP povezan je s višim TAT-om, fibrinogenom i d-dimerima; viši IL-6 s nižim APTV-om, a višim fibrinogenom i d-dimerima; viši leukociti s višim PV-om, te višim fibrinogenom i trombocitima; viši neutrofili s višim fibrinogenom i trombocitima; viši limfociti s nižim APTV-om i višim trombocitima, a s višim monocitima povezani su viši PV i d-dimeri (Tablica 14). Sve navedene korelacije su slabe ($Rho < 0,50$).

Tablica 14. Povezanost pokazatelja zgrušavanja i proupalnih pokazatelja kod mRNA cjepiva 7 dana nakon 1. doze

mRNA 7 dana od 1. doze	Spearmanov koeficijent korelacije Rho (P vrijednost)					
	CRP	IL-6	Leukociti	Neutrofili	Limfociti	Monociti
TAT	0,272 (0,011)	0,090 (0,414)	0,065 (0,554)	0,007 (0,953)	0,112 (0,304)	0,157 (0,154)
F1+2	0,114 (0,302)	-0,011 (0,922)	-0,043 (0,702)	-0,090 (0,400)	0,003 (0,780)	0,073 (0,502)
Veliki ET-1	0,084 (0,441)	0,172 (0,113)	0,204 (0,063)	0,208 (0,052)	0,100 (0,360)	0,096 (0,371)
PV	0,143 (0,192)	0,140 (0,201)	0,240 (0,031)	0,199 (0,064)	0,114 (0,293)	0,301 (<0,001)
APTV	-0,136 (0,212)	-0,241 (0,022)	-0,189 (0,083)	-0,071 (0,521)	-0,260 (0,014)	-0,169 (0,123)

Fibrinogen	0,339 (<0,001)	0,428 (<0,001)	0,383 (<0,001)	0,401 (<0,001)	0,069 (0,523)	0,190 (0,082)
D-dimeri	0,244 (0,023)	0,320 (<0,001)	0,169 (0,122)	0,075 (0,493)	0,069 (0,532)	0,321 (<0,001)
VWF:Ac	-0,04 (0,724)	0,143 (0,191)	-0,03 (0,780)	-0,060 (0,584)	-0,008 (0,944)	0,112 (0,302)
Trombociti	-0,061 (0,584)	-0,175 (0,113)	0,256 (0,020)	0,232 (0,032)	0,248 (0,021)	0,143 (0,193)

Kod mRNA cjepiva, 14 dana nakon 1. doze, viši CRP povezan je s višim PV-om, fibrinogenom i d-dimerima, a nižim APTV-om; viši IL-6 s višim velikim ET-1, fibrinogenom i d-dimerima; viši leukociti s višim velikim ET-1 i trombocitima; viši neutrofilii s višim velikim ET-1 i trombocitima; viši limfociti s višim F1+2, viši monociti s višim PV-om i d-dimerima (Tablica 15). Sve navedene povezanosti su slabe ($Rho < 0,50$), izuzev korelacije CRP-a i fibrinogena ($Rho = 0,524$).

Tablica 15. Povezanost pokazatelja zgrušavanja i proupalnih pokazatelja kod mRNA cjepiva 14 dana nakon 1. doze

mRNA 14 dana od 1. doze	Spearmanov koeficijent korelacije Rho (P vrijednost)					
	CRP	IL-6	Leukociti	Neutrofilii	Limfociti	Monociti
TAT	0,065 (0,551)	0,144 (0,184)	0,067 (0,543)	-0,002 (0,994)	0,177 (0,104)	0,050 (0,638)
F1+2	0,152 (0,174)	0,037 (0,732)	0,026 (0,814)	-0,090 (0,413)	0,272 (0,012)	0,135 (0,212)
Veliki ET-1	-0,013 (0,903)	0,236 (0,033)	0,286 (0,010)	0,356 (<0,001)	-0,008 (0,944)	0,151 (0,166)
PV	0,251 (0,024)	0,075 (0,494)	0,211 (0,052)	0,193 (0,084)	0,172 (0,113)	0,284 (0,012)
APTV	-0,280 (0,013)	-0,092 (0,391)	-0,067 (0,542)	-0,030 (0,792)	-0,094 (0,391)	-0,074 (0,500)
Fibrinogen	0,524 (<0,001)	0,317 (<0,001)	0,164 (0,133)	0,146 (0,181)	0,126 (0,253)	0,098 (0,374)
D-dimeri	0,229 (0,040)	0,277 (0,012)	0,204 (0,064)	0,186 (0,094)	0,109 (0,322)	0,319 (<0,001)
VWF:Ac	0,099 (0,370)	0,092 (0,404)	-0,067 (0,542)	-0,039 (0,720)	-0,094 (0,390)	0,020 (0,862)
Trombociti	-0,002 (0,982)	-0,176 (0,101)	0,256 (0,021)	0,257 (0,022)	0,107 (0,331)	0,128 (0,244)

Kod mRNA cjepiva, 7 dana nakon 2. doze, više CRP povezan je s višim PV-om i fibrinogenom; viši IL-6 s višim velikog ET-1, fibrinogenom i d-dimerima; viši leukociti s višim fibrinogenom i trombocitima; viši neutrofilii s višim fibrinogenom; viši limfociti s višim PV-om; viši monociti s višim trombocitima (Tablica 16). Sve navedene povezanosti su slabe ($Rho < 0,50$).

Tablica 16. Povezanost pokazatelja zgrušavanja i proupalnih pokazatelja kod mRNA cjepiva 7 dana nakon 2. doze

mRNA 7 dana od 2. doze	Spearmanov koeficijent korelacije Rho (P vrijednost)					
	CRP	IL-6	Leukociti	Neutrofili	Limfociti	Monociti
TAT	0,166 (0,131)	0,070 (0,524)	-0,082 (0,450)	-0,079 (0,470)	0,024 (0,821)	-0,010 (0,934)
F1+2	0,189 (0,093)	0,080 (0,472)	0,011 (0,922)	-0,038 (0,733)	0,076 (0,494)	0,041 (0,712)
Veliki ET-1	0,105 (0,344)	0,228 (0,033)	0,046 (0,674)	0,051 (0,644)	0,060 (0,583)	-0,027 (0,804)
PV	0,228 (0,042)	0,17 (0,121)	0,195 (0,070)	0,094 (0,387)	0,250 (0,022)	0,185 (0,091)
APTV	-0,027 (0,811)	-0,126 (0,252)	-0,191 (0,084)	-0,117 (0,284)	-0,206 (0,062)	-0,188 (0,083)
Fibrinogen	0,296 (0,010)	0,323 (<0,001)	0,231 (0,032)	0,265 (0,013)	0,075 (0,494)	0,120 (0,269)
D-dimeri	0,120 (0,282)	0,283 (0,014)	0,038 (0,733)	0,057 (0,604)	-0,029 (0,793)	0,156 (0,152)
VWF:Ac	-0,073 (0,514)	0,032 (0,772)	0,006 (0,953)	0,032 (0,765)	-0,085 (0,444)	0,012 (0,914)
Trombociti	-0,065 (0,563)	0,023 (0,831)	0,225 (0,041)	0,206 (0,062)	0,145 (0,182)	0,242 (0,021)

Kod mRNA cjepiva, 14 dana nakon 2. doze, viši CRP-a povezan je s višim F1+2, fibrinogenom i d-dimerima, a nižim APTV-om; viši IL-6 s višim fibrinogenom i d-dimerima, a nižim APTV-om; viši leukociti s višim fibrinogenom, d-dimerima i trombocitima; viši neutrofili s višim velikim ET-1, fibrinogenom, d-dimerima i trombocitima; viši monociti s višim trombocitima, d-dimerima i PV-om, a nižim TAT-om (Tablica 17). Sve navedene povezanosti su slabe (Rho<0,50).

Tablica 17. Povezanost pokazatelja zgrušavanja i proupalnih pokazatelja kod mRNA cjepiva 14 dana nakon 2. doze

mRNA 14 dana od 2. doze	Spearmanov koeficijent korelacije Rho (P vrijednost)					
	CRP	IL-6	Leukociti	Neutrofili	Limfociti	Monociti
TAT	0,128 (0,241)	0,160 (0,141)	-0,180 (0,102)	-0,153 (0,164)	0,005 (0,970)	-0,217 (0,042)
F1+2	0,318 (<0,001)	0,098 (0,373)	0 (>0,99)	-0,033 (0,763)	0,133 (0,221)	-0,002 (0,984)
Veliki ET-1	0,094 (0,394)	0,174 (0,114)	0,216 (0,054)	0,274 (0,012)	0,073 (0,513)	0,199 (0,073)
PV	0,187 (0,093)	-0,074 (0,502)	0,216 (0,052)	0,164 (0,133)	0,179 (0,102)	0,226 (0,041)
APTV	-0,264 (0,012)	-0,26 (0,021)	-0,147 (0,183)	-0,129 (0,244)	-0,192 (0,083)	-0,068 (0,533)
Fibrinogen	0,409 (<0,001)	0,315 (<0,001)	0,224 (0,042)	0,239 (0,032)	0,085 (0,432)	0,055 (0,614)
D-dimeri	0,383 (<0,001)	0,395 (<0,001)	0,248 (0,024)	0,284 (0,014)	0,066 (0,544)	0,241 (0,032)
VWF:Ac	0,121 (0,272)	0,213 (0,053)	0,151 (0,161)	0,216 (0,051)	0,007 (0,950)	0,018 (0,872)
Trombociti	0,071 (0,522)	-0,077 (0,484)	0,399 (<0,001)	0,343 (<0,001)	0,144 (0,191)	0,295 (0,010)

Prije cijepljenja vektorskim cjepivom, više vrijednosti CRP-a povezane su s višim PV-om, fibrinogenom i VWF:Ac-om, a nižim APTV-om; viši IL-6 s višim fibrinogenom i VWF:Ac-om, a nižim APTV-om; viši leukociti s višim fibrinogenom, a s nižim APTV-om; viši neutrofilni s višim fibrinogenom i VWF:Ac-om, a s nižim APTV-om; viši monociti s nižim APTV-om (Tablica 18). Sve navedene povezanosti su slabe ($Rho < 0,50$).

Tablica 18. Povezanost pokazatelja zgrušavanja i proupalnih pokazatelja prije cijepljenja vektorskim cjepivom

Vektorsko prije 1. doze	Spearmanov koeficijent korelacije Rho (P vrijednost)					
	CRP	IL-6	Leukociti	Neutrofilni	Limfociti	Monociti
TAT	-0,006 (0,963)	0,227 (0,053)	0,16 (0,171)	0,054 (0,642)	0,286 (0,014)	0,143 (0,224)
F1+2	0,105 (0,354)	0,098 (0,384)	-0,023 (0,844)	-0,019 (0,874)	-0,009 (0,942)	-0,041 (0,721)
Veliki ET-1	-0,050 (0,652)	-0,013 (0,903)	-0,085 (0,443)	-0,089 (0,423)	-0,02 (0,864)	-0,117 (0,293)
PV	0,398 (<0,001)	0,187 (0,094)	0,197 (0,072)	0,142 (0,204)	0,185 (0,094)	0,209 (0,062)
APTV	-0,398 (<0,001)	-0,425 (<0,001)	-0,277 (0,010)	-0,268 (0,013)	-0,127 (0,251)	-0,250 (0,024)
Fibrinogen	0,292 (0,012)	0,425 (<0,001)	0,285 (0,014)	0,303 (0,012)	0,188 (0,090)	0,178 (0,110)
D-dimer	0,115 (0,304)	0,198 (0,074)	0,105 (0,344)	0,165 (0,130)	0,029 (0,794)	0,072 (0,518)
von WF	0,323 (<0,001)	0,238 (0,032)	0,176 (0,112)	0,226 (0,040)	-0,001 (0,993)	0,040 (0,722)
Trombociti	0,059 (0,601)	0,017 (0,884)	0,180 (0,100)	0,066 (0,552)	0,300 (0,012)	0,200 (0,067)

Sedam dana nakon cijepljenja, viši CRP povezan je s višim PV-om i VWF:Ac-om, a nižim APTV-om; viši IL-6 s višim fibrinogenom; viši leukociti i neutrofilni s višim fibrinogenom i trombocitima, viši neutrofilni s nižim APTV-om; viši limfociti i monociti s višim trombocitima (Tablica 19). Sve povezanosti su slabe ($Rho < 0,50$).

Tablica 19. Povezanost pokazatelja zgrušavanja i proupalnih pokazatelja 7 dana nakon cijepljenja vektorskim cjepivom

Vektorsko 7 dana od cijepljenja	Spearmanov koeficijent korelacije Rho (P vrijednost)					
	CRP	IL-6	Leukociti	Neutrofilni	Limfociti	Monociti
TAT	0,114 (0,311)	0,186 (0,103)	0,133 (0,244)	0,099 (0,378)	0,048 (0,667)	0,007 (0,954)
F1+2	-0,024 (0,834)	-0,029 (0,804)	0,090 (0,423)	0,115 (0,304)	-0,023 (0,834)	-0,11 (0,333)
Veliki ET-1	-0,009 (0,943)	0,216 (0,052)	0,102 (0,352)	0,114 (0,303)	0,019 (0,872)	0,125 (0,261)
PV	0,285 (0,012)	0,004 (0,974)	-0,029 (0,791)	-0,054 (0,634)	0,049 (0,663)	-0,036 (0,753)
APTV	-0,249 (0,024)	-0,208 (0,058)	-0,136 (0,222)	-0,246 (0,022)	0,071 (0,524)	-0,047 (0,674)

Fibrinogen	0,217 (0,053)	0,272 (0,011)	0,226 (0,044)	0,271 (0,010)	0,053 (0,631)	-0,209 (0,061)
D-dimeri	0,058 (0,601)	0,026 (0,813)	0,056 (0,622)	0,007 (0,954)	0,208 (0,063)	-0,166 (0,133)
VWF:Ac	0,257 (0,023)	0,058 (0,604)	-0,077 (0,491)	0,035 (0,751)	-0,186 (0,092)	-0,076 (0,492)
Trombociti	-0,046 (0,680)	0,040 (0,722)	0,362 (<0,001)	0,222 (0,042)	0,260 (0,020)	0,242 (0,034)

Četnaest dana nakon cijepljenja, viši CRP povezan je s višim F1+2, fibrinogenom i VWF:Ac-om, a nižim APTV-om; viši IL-6 s višim PV-om i fibrinogenom; viši leukociti s višim fibrinogenom i trombocitima; viši neutrofilii s višim PV-om, fibrinogenom i trombocitima; viši monociti s višim trombocitima (Tablica 20). Sve povezanosti su slabe ($Rho < 0,50$).

Tablica 20. Povezanost pokazatelja zgrušavanja i proupalnih pokazatelja kod vektorskog cjepiva 14 dana nakon cijepljenja

Vektorsko 14 dana od cijepljenja	Spearmanov koeficijent korelacije Rho (P vrijednost)					
	CRP	IL-6	Leukociti	Neutrofilii	Limfociti	Monociti
TAT	-0,030 (0,804)	0,100 (0,394)	0,034 (0,774)	0,055 (0,640)	-0,109 (0,350)	0,125 (0,283)
F1+2	0,223 (0,043)	0,079 (0,472)	0,076 (0,493)	0,071 (0,518)	0,083 (0,450)	0,081 (0,464)
Veliki ET-1	0,076 (0,492)	0,011 (0,923)	0,075 (0,502)	0,099 (0,365)	0,134 (0,222)	0,059 (0,602)
PV	0,217 (0,050)	0,242 (0,034)	0,185 (0,100)	0,258 (0,023)	0,003 (0,984)	0,101 (0,374)
APTV	-0,346 (<0,001)	-0,152 (0,172)	-0,199 (0,074)	-0,173 (0,122)	-0,110 (0,323)	-0,072 (0,523)
Fibrinogen	0,288 (0,013)	0,336 (<0,001)	0,309 (<0,001)	0,377 (<0,001)	0,107 (0,332)	0,006 (0,952)
D-dimeri	-0,017 (0,877)	-0,120 (0,280)	0,047 (0,674)	0,118 (0,284)	0,012 (0,918)	0,146 (0,194)
VWF:Ac	0,354 (<0,001)	0,179 (0,102)	0,091 (0,413)	0,154 (0,163)	-0,013 (0,917)	-0,164 (0,143)
Trombociti	-0,103 (0,352)	-0,159 (0,154)	0,261 (0,021)	0,260 (0,022)	0,153 (0,162)	0,333 (<0,001)

5.4. Povezanost pokazatelja zgrušavanja i proupalnih pokazatelja s obilježjima ispitanika u definiranim točkama mjerenja

5.4.1. Povezanost sa spolom

Kod mRNA cjepiva nema statistički značajnih razlika u CRP-u točkama mjerenja s obzirom na spol. Kod vektorskog cjepiva, muškarci imaju statistički značajno više vrijednosti prije 1. doze ($P = 0,011$), 7 dana ($P = 0,004$) i 14 dana ($P = 0,003$) nakon cijepljenja u odnosu na žene. Kod žena u vektorskoj skupini se primjećuje porast CRP-a 7 dana nakon cijepljenja ($P=0,031$) u odnosu na vrijednosti prije cijepljenja (Tablica 21).

Tablica 21. Vrijednosti CRP-a po mjerenjima u odnosu na spol, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

CRP (mg/L)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Muškarci	Žene			
mRNA					
Prije cijepljenja	0,8 (0,4 - 2,1)	0,9 (0,3 - 2,3)	0	-0,4 do 0,3	0,790
7 dana od 1. doze	1,1 (0,6 - 1,9)	0,9 (0,5 - 2,3)	-0,1	-0,5 do 0,2	0,431
14 dana od 1. doze	1,3 (0,5 - 2,0)	0,8 (0,4 - 1,4)	-0,2	-0,7 do 0,1	0,193
7 dana od 2. doze	1,1 (0,7 - 1,9)	0,9 (0,5 - 1,9)	-0,2	-0,5 do 0,1	0,142
14 dana od 2. doze	0,9 (0,6 - 1,6)	0,8 (0,4 - 2,1)	-0,1	-0,4 do 0,2	0,464
P#	0,081	0,421			
Vektorsko					
Prije cijepljenja	1,6 (0,9 - 2,7)	0,7 (0,4 - 2,0)	-0,6	-1 do -0,1	0,011
7 dana od cijepljenja	1,9 (1,0 - 3,5)	0,9 (0,6 - 2,5)	-0,7	-1,2 do -0,2	0,004
14 dana od cijepljenja	1,6 (0,9 - 3,1)	0,8 (0,5 - 1,5)	-0,6	-1 do -0,2	0,003
P#	0,131	0,031[†]			

P* razlike u mjerenjima između dva spola, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlike u mjerenjima unutar pojedinog spola, Friedmanov test (post hoc Conover); †na razini $P < 0,05$ značajno su više vrijednosti 7 dana od cijepljenja vs. prije cijepljenja

Nema statistički značajnih razlika u vrijednostima IL-6 unutar mjerenja po spolu (Tablica 22).

Tablica 22. Vrijednosti IL-6 po mjerenjima u odnosu na spol, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

IL-6 (pg/mL)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Muškarci	Žene			
mRNA					
Prije cijepljenja	1,5 (1,5 - 2,2)	1,5 (1,5 - 2,1)	0	0 do 0	0,662
7 dana od 1. doze	1,5 (1,5 - 2,0)	1,5 (1,5 - 2,4)	0	0 do 0	0,884
14 dana od 1. doze	1,5 (1,5 - 2,0)	1,5 (1,5 - 2,3)	0	0 do 0,03	0,593
7 dana od 2. doze	1,5 (1,5 - 2,0)	1,5 (1,5 - 2,1)	0	0 do 0	0,629
14 dana od 2. doze	1,5 (1,5 - 1,8)	1,5 (1,5 - 1,9)	0	0 do 0	0,931
P#	0,584	0,350			
Vektorsko					
Prije cijepljenja	1,8 (1,5 - 2,8)	1,5 (1,5 - 2,3)	0	-0,31 do 0	0,430
7 dana od cijepljenja	1,7 (1,5 - 2,8)	1,6 (1,5 - 2,2)	0	-0,27 do 0	0,341
14 dana od cijepljenja	1,8 (1,5 - 2,5)	1,5 (1,5 - 2,1)	0	-0,4 do 0	0,129
P#	0,943	0,809			

P* razlike u mjerenjima između dva spola, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlike u mjerenjima unutar pojedinog spola, Friedmanov test

Statistički su značajno niže vrijednosti TAT-a u žena nakon cijepljenja mRNA cjepivom (P=0,038) u odnosu na prije cijepljenja. Statistički značajan porast uočava se kod muškaraca nakon cijepljenja s mRNA cjepivom (P = 0,016). Nema razlike u vrijednostima TAT-a nakon vektorskog cijepljenja (Tablica 23).

Tablica 23. Vrijednosti TAT po mjerenjima u odnosu na spol, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

TAT (µg/L)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Muškarci	Žene			
mRNA					
Prije cijepljenja	2,7 (2,3 - 3,5)	2,5 (2,0 - 3,0)	-0,23	-0,57 do 0,03	0,192
7 dana od 1. doze	2,6 (2,2 - 3,3)	2,6 (2,0 - 3,1)	-0,015	-0,4 do 0,17	0,573
14 dana od 1. doze	2,7 (2,0 - 3,2)	2,7 (2,0 - 3,4)	0	-0,3 do 0,27	0,941
7 dana od 2. doze	3,0 (2,1 - 4,4)	2,7 (2,0 - 3,1)	-0,27	-0,85 do 0	0,101
14 dana od 2. doze	3,3 (2,4 - 5,1)	2,5 (2,0 - 4,2)	-0,53	-1,24 do 0	0,038
P#	0,016†	0,448			
Vektorsko					

Prije cijepljenja	3,0 (2,5 - 4,4)	3,4 (2,7 - 5,9)	0,37	-0,17 do 1,05	0,191
7 dana od cijepljenja	3,2 (2,6 - 5,0)	3,4 (2,7 - 4,4)	0,11	-0,44 do 0,62	0,704
14 dana od cijepljenja	2,9 (2,5 - 4,1)	3,4 (2,8 - 4,3)	0,41	-0,04 do 0,85	0,082
P [#]	0,560	>0,99			

P* razlike u mjerenjima između dva spola, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P[#] razlike u mjerenjima unutar pojedinog spola, Friedmanov test (post hoc Conover); †na razini P<0,05 značajno su više vrijednosti (14 dana od 2. doze) vs. (prije cijepljenja, 7 i 14 dana od 1. doze); značajno su niže vrijednosti (14 dana od 1 doze) vs. (7 i 14 dana od 2. doze)

Statistički su značajno više vrijednosti F 1+2 kod žena u odnosu na muškarce, u svim vremenskim točkama mjerenja kod mRNA cjepiva. Kod vektorskog cjepiva, 7 dana nakon cijepljenja, žene imaju značajno više vrijednosti od muškaraca (P = 0,023) (Tablica 24).

Tablica 24. Vrijednosti F1+2 po mjerenjima u odnosu na spol, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

F1+2 (pmol/L)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Muškarci	Žene			
mRNA					
Prije cijepljenja	148,2 (126,6 - 201,3)	199,1 (169,4 - 269,4)	45,25	24,6 do 69,2	<0,001
7 dana od 1. doze	162,2 (128,6 - 197,5)	209,2 (166,9 - 280,4)	42,94	14,7 do 73,08	0,003
14 dana od 1. doze	153,2 (130,5 - 177,1)	193,0 (147,1 - 243,4)	36,7	13,6 do 65,6	0,003
7 dana od 2. doze	167,6 (133,1 - 188,7)	195,4 (160,2 - 287,2)	38,4	13,4 do 67,7	0,003
14 dana od 2. doze	158,0 (132,2 - 187,0)	183,7 (153,9 - 258,0)	30,7	4,7 do 63,7	0,021
P [#]	0,300	0,207			
Vektorsko					
Prije cijepljenja	194,8 (153,4 - 286,0)	233,4 (176,5 - 338,5)	21,5	-18,7 do 67,1	0,270
7 dana od cijepljenja	189,7 (136,3 - 218,2)	230,0 (174,4 - 274,9)	39,7	6,3 do 70,9	0,023
14 dan od cijepljenja	183,5 (143,6 - 259,5)	226,5 (149,9 - 298,9)	22,7	-13,8 do 66,1	0,201
P [#]	0,084	0,471			

P* razlike u mjerenjima između dva spola, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P[#] razlike u mjerenjima unutar pojedinog spola, Friedmanov test

Statistički su značajno više vrijednosti velikog ET-1 u žena 14 dana od 1. doze kod mRNA cjepiva ($P = 0,021$) u odnosu na muškarce. Statistički značajan porast zabilježen je kod muškaraca ($P < 0,001$) i žena ($P = 0,028$) nakon cijepljenja s mRNA cjepivom u odnosu na prije cijepljenja.

Tablica 25. Vrijednosti velikog ET-1 po mjerenjima u odnosu na spol, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom.

Veliki ET-1 (pg/mL)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Muškarci	Žene			
mRNA					
Prije cijepljenja	1,2 (1,0 – 1,6)	1,5 (1,2 – 1,8)	0,22	-0,03 do 0,41	0,094
7 dana od 1. doze	1,4 (1,1 – 1,8)	1,7 (1,3 – 1,9)	0,14	-0,08 do 0,36	0,200
14 dana od 1. doze	1,4 (1,2 – 1,7)	1,7 (1,3 – 2,0)	0,24	0,04 do 0,45	0,021
7 dana od 2. doze	1,7 (1,3 – 2,0)	1,6 (1,3 – 2,1)	0	-0,23 do 0,24	0,983
14 dana od 2. doze	1,6 (1,2 – 1,9)	1,7 (1,2 – 2,0)	0,12	-0,10 do 0,35	0,266
P#	<0,001[†]	0,028[‡]			
Vektorsko					
Prije cijepljenja	1,7 (1,5 – 2,0)	1,6 (1,2 – 1,9)	-0,12	-0,37 do 0,09	0,272
7 dana od 1. doze	1,7 (1,3 – 2,2)	1,6 (1,3 – 2,1)	-0,005	-0,33 do 0,20	0,749
14 dana od 1. doze	1,8 (1,4 – 2,2)	1,7 (1,4 – 2,2)	-0,08	-0,37 do 0,24	0,565
P#	0,653	0,612			

P* razlike u mjerenjima između dva spola, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlike u mjerenjima unutar pojedinog spola, Friedmanov test (post hoc Conover); [†]na razini $P < 0,05$ značajne su razlike: (7 dana od 2. doze) vs. (sva ostala mjerenja); (prije cijepljenja) vs. (7 dana od 1. doze, 7 dana od 2. doze i 14 dana od 2. doze); [‡]na razini $P < 0,05$ značajne su razlike: (7 dana od 2. doze) vs. (prije cijepljenja i 7 dana od 1. doze)

Statistički su značajno više vrijednosti fibrinogena u svim točkama mjerenja kod žena cijepljenih s mRNA cjepivom u odnosu na muškarce. Kod muškaraca u mRNA skupini bilježi se pad fibrinogena nakon cijepljenja (P=0,005), a u vektorskoj skupini porast (P=0,004) u odnosu na prije cijepljenja (Tablica 26).

Tablica 26. Vrijednosti fibrinogena po mjerenjima u odnosu na spol, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

Fibrinogen (g/L)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Muškarci	Žene			
mRNA					
Prije cijepljenja	2,8 (2,3 - 3,1)	3,2 (2,7 - 3,5)	0,4	0,2 do 0,7	0,003
7 dana od 1. doze	2,8 (2,3 - 3,3)	3,3 (2,6 - 3,7)	0,4	0,1 do 0,7	0,010
14 dana od 1. doze	2,7 (2,2 - 3,4)	3,2 (2,5 - 3,5)	0,4	0,1 do 0,7	0,010
7 dana od 2. doze	2,7 (2,4 - 3,0)	3,3 (2,8 - 3,7)	0,5	0,2 do 0,8	0,002
14 dana od 2. doze	2,5 (2,3 - 2,9)	3,0 (2,6 - 3,6)	0,5	0,2 do 0,7	<0,001
P#	0,005[†]	0,320			
Vektorsko					
Prije cijepljenja	2,8 (2,4 - 3,4)	3,2 (2,5 - 3,6)	0,2	-0,1 do 0,5	0,171
7 dana od cijepljenja	3,0 (2,6 - 3,6)	3,1 (2,9 - 3,5)	0,1	-0,2 do 0,4	0,473
14 dana od cijepljenja	2,8 (2,5 - 3,4)	3,3 (2,7 - 3,6)	0,3	0 do 0,5	0,067
P#	0,004[‡]	0,790			

P* razlike u mjerenjima između dva spola, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlike u mjerenjima unutar pojedinog spola, Friedmanov test (post hoc Conover); [†]na razini P<0,05 značajne su razlike: (14 dana od 2. doze) vs. (prije 1.doze, 7 dana od 1. doze, 7 dana od 2. doze); (7 dana od 1 doze) vs. (7 i 14 dana od 2. doze); [‡]na razini P<0,05 značajne su razlike: (7 dana od cijepljenja) vs. (prije cijepljenja, 14 dana od cijepljenja)

Statistički su značajno više vrijednosti d-dimera kod žena u odnosu na muškarce u svim mjerenjima kod mRNA cjepiva, dok su kod vektorskih cjepiva vrijednosti d-dimera značajno viša kod žena prije cijepjenja (P = 0,021) i 14 dana nakon cijepjenja (P = 0,010) u odnosu na muškarce. Kod žena u mRNA skupini statistički su značajno niže vrijednosti prije cijepjenja u odnosu na sva ostala mjerenja u vremenskim točkama (P=0,021) (Tablica 27).

Tablica 27. Vrijednosti d-dimera po mjerenjima u odnosu na spol, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

D-dimeri (mg/L FEU)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Muškarci	Žene			
mRNA					
Prije cijepjenja	0,19 (0,17 - 0,27)	0,30 (0,22 - 0,39)	0,08	0,03 do 0,13	<0,001
7 dana od 1. doze	0,21 (0,17 - 0,28)	0,33 (0,25 - 0,45)	0,11	0,06 do 0,16	<0,001
14 dana od 1. doze	0,20 (0,17 - 0,27)	0,34 (0,23 - 0,48)	0,10	0,05 do 0,17	<0,001
7 dana od 2. doze	0,21 (0,17 - 0,30)	0,34 (0,25 - 0,49)	0,10	0,06 do 0,16	<0,001
14 dana od 2. doze	0,22 (0,17 - 0,31)	0,32 (0,24 - 0,47)	0,11	0,06 do 0,16	<0,001
P#	0,369	0,021 [†]			
Vektorsko					
Prije cijepjenja	0,26 (0,20 – 0,33)	0,31 (0,24 – 0,48)	0,06	0,01 do 0,12	0,021
7 dana od cijepjenja	0,27 (0,20 – 0,48)	0,38 (0,25 – 0,52)	0,06	0 do 0,13	0,072
14 dana od cijepjenja	0,28 (0,19 – 0,37)	0,34 (0,26 – 0,53)	0,07	0,02 do 0,13	0,010
P#	0,063	0,068			

P* razlike u mjerenjima između dva spola, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlike u mjerenjima unutar pojedinog spola, Friedmanov test (post hoc Conover); †na razini P<0,05 značajno su niže vrijednosti prije 1. doze vs. sve ostale vrijednosti u ostalim mjerenjima

Statistički značajno više vrijednosti VWF:Ac nađene su kod žena u svim točkama mjerenjima u odnosu na muškarce u mRNA skupini. Kod oba spola u mRNA skupini zabilježen je statistički značajan pad nakon cijepljenja (muškarci, P=0,008; žene, P=0,016) u odnosu na prije cijepljenja.

Kod vektorskog cjepiva u oba spola zabilježen je statistički značajan pad nakon cijepljenja (muškarci, P=0,003; žene, P= 0,011) u odnosu na prije cijepljenja. Statistički značajne razlike u VWF:Ac-u između spolova nije utvrđeno. (Tablica 28).

Tablica 28. Vrijednosti VWF:Ac po mjerenjima u odnosu na spol, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

VWF:Ac (%)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Muškarci	Žene			
mRNA					
Prije cijepljenja	117 (84 - 136)	124 (87 - 140)	0,4	0,2 do 0,7	0,003
7 dana od 1. doze	115 (87 - 146)	122 (89 - 143)	0,4	0,1 do 0,7	0,010
14 dana od 1. doze	106 (81 - 145)	109 (85 - 141)	0,4	0,1 do 0,7	0,010
7 dana od 2. doze	112 (85 - 137)	130 (84 - 142)	0,5	0,2 do 0,8	0,002
14 dana od 2. doze	104 (77 - 135)	118 (84 - 139)	0,5	0,2 do 0,7	<0,001
P#	0,008[†]	0,016[‡]			
Vektorsko					
Prije cijepljenja	134 (95 - 148)	124 (95 - 144)	-5	-22 do 10	0,473
7 dana od cijepljenja	138 (109 - 164)	127 (98 - 141)	-12	-29 do 5	0,147
14 dana od cijepljenja	132 (97 - 145)	114 (84 - 138)	-11	-27 do 5	0,189
P#	0,003[§]	0,011^{‡‡}			

P* razlike u mjerenjima između dva spola, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlike u mjerenjima unutar pojedinog spola, Friedmanov test (post hoc Conover); [†]na razini P<0,05 značajne su razlike: (7 dana od 1. doze) vs. (14 dana od 1. doze, 7 i 14 dana od 2. doze); (14 dana od 2. doze) vs. (prije 1. doze, 7 dana od 1.doze); [‡]na razini P<0,05 značajne su razlike: (14 dana od 2. doze) vs. (7 dana od 1. doze, 7 dana od 2. doze); [§]na razini P<0,05 značajne su razlike: (7 dana od cijepljenja) vs. (prije cijepljenja i 14 dana od cijepljenja); ^{‡‡}na razini P<0,05 značajne su razlike: (14 dana od cijepljenja) vs. (prije cijepljenja i 7 dana od cijepljenja)

Značajno su više vrijednosti trombocita kod žena 7 dana nakon 1. doze ($P = 0,040$), 7 dana nakon 2. doze ($P = 0,039$) i 14 dana nakon 2. doze mRNA cjepiva ($P = 0,007$) u odnosu na muškarce. Kod žena u vektorskoj skupini bilježi se statistički značajan porast trombocita nakon cijepjenja ($P=0,020$) u odnosu na prije cijepjenja (Tablica 29).

Tablica 29. Vrijednosti trombocita po mjerenjima u odnosu na spol, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

Trombociti ($\times 10^9/L$)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Muškarci	Žene			
mRNA					
Prije cijepjenja	243 (204 - 286)	275 (232 - 313)	25	0 do 48	0,051
7 dana od 1. doze	239 (205 - 283)	269 (234 - 313)	27	0 do 54	0,040
14 dana od 1. doze	239 (206 - 280)	266 (226 - 316)	24	-1 do 51	0,062
7 dana od 2. doze	233 (204 - 273)	270 (226 - 300)	24	1 do 48	0,039
14 dana od 2. doze	238 (206 - 286)	277 (237 - 307)	31	9 do 54	0,007
P#	0,593	0,733			
Vektorsko					
Prije cijepjenja	257 (217 - 295)	264 (216 - 289)	1	-22 do 25	0,901
7 dana od cijepjenja	248 (209 - 292)	265 (217 - 291)	10	-15 do 36	0,455
14 dana od cijepjenja	250 (203 - 296)	274 (234 - 310)	22	-5 do 49	0,122
P#	0,488	0,020[†]			

P* razlike u mjerenjima između dva spola, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlike u mjerenjima unutar pojedinog spola, Friedmanov test (post hoc Conover); [†]na razini $P < 0,05$ značajno su više vrijednosti 14 dana od cijepjenja u odnosu na sva druga mjerenja

5.4.2. Povezanost pokazatelja zgrušavanja i proupalnih pokazatelja s dobi i indeksom tjelesne mase u definiranim točkama mjerenja

Ispitali smo povezanost pojedinih koagulacijskih i proupalnih pokazatelja s dobi i indeksom tjelesne mase u definiranim točkama mjerenja. Prije mRNA cijepjenja nešto je jača povezanost dobi s F1+2 i indeksa tjelesne mase (ITM-a) s CRP-om, odnosno uz stariju dob je povezan viši F1+2, a uz veći ITM viši CRP. Ipak, riječ je o slaboj povezanosti ($Rho < 0,50$).

Sedam dana nakon 1. doze mRNA cjepiva ispitanici starije dobi imaju viši CRP, IL-6, TAT, d-dimere i VWF:Ac, a uz veći ITM viši je CRP, IL-6, TAT, APTV, leukociti, neutrofil i limfociti. Sve povezanosti su slabe ($Rho < 0,50$).

Četrnaest dana nakon 1. doze mRNA cjepiva uz starije ispitanike vezan je viši CRP, IL-6, F1+2, d-dimeri i VWF:Ac, a veći ITM prate viši CRP, IL-6, APTV, leukociti, limfociti i monociti. Korelacija je niska ($Rho < 0,50$).

Sedam dana nakon 2. doze mRNA cjepiva uz stariju životnu dob povezan je viši CRP, IL-6, F1+2, fibrinogen i VWF:Ac, a s većim ITM-om povezan je viši CRP, IL-6, APTV, leukociti i limfocita. Također, riječ je o slaboj povezanosti ($Rho < 0,50$).

Nakon 14 dana nakon 2. doze mRNA cjepiva, starija dob ispitanika povezana je s višim CRP-om, IL-6, F1+2, fibrinogenom, d-dimerima i VWF:Ac-om, a uz viši ITM ide i viši CRP, IL-6, TAT, APTV i limfociti (Tablica 31). Riječ je o slaboj povezanosti ($Rho < 0,50$).

Tablica 31. Povezanost pokazatelja zgrušavanja i proupalnih pokazatelja s dobi i indeksom tjelesne mase u definiranim točkama mjerenja kod primjene mRNA cjepiva

mRNA	Spearmanov koeficijent korelacije Rho (P vrijednost)									
	Prije 1. doze		7. dan od 1. doze		14. dan od 1. doze		7. dan od 2. doze		14. dan od 2. doze	
	Dob	ITM	Dob	ITM	Dob	ITM	Dob	ITM	Dob	ITM
CRP	0,256 (0,019)	0,354 (0,002)	0,25 (0,021)	0,366 (0,001)	0,254 (0,02)	0,462 (<0,001)	0,367 (0,001)	0,413 (<0,001)	0,407 (<0,001)	0,477 (<0,001)
IL – 6	0,221 (0,040)	0,266 (0,018)	0,261 (0,014)	0,334 (0,003)	0,282 (0,008)	0,267 (0,017)	0,408 (<0,001)	0,423 (<0,001)	0,286 (0,007)	0,404 (<0,001)
TAT	0,237 (0,027)	0,233 (0,039)	0,194 (0,071)	0,272 (0,015)	0,212 (0,048)	0,223 (0,048)	0,162 (0,137)	0,226 (0,047)	-0,069 (0,525)	0,262 (0,020)
F1+2	0,439 (<0,001)	0,038 (0,742)	0,315 (<0,001)	-0,093 (0,414)	0,452 (<0,001)	0,125 (0,271)	0,434 (<0,001)	0,07 (0,541)	0,413 (<0,001)	0,224 (0,047)

Vel. ET-1	-0,116 (0,285)	-0,214 (0,059)	0,042 (0,702)	-0,085 (0,455)	0,202 (0,06)	-0,123 (0,279)	0,076 (0,483)	-0,063 (0,583)	0,076 (0,484)	-0,129 (0,259)
PV	0,079 (0,468)	-0,047 (0,678)	0,08 (0,459)	0,148 (0,194)	0,052 (0,631)	0,190 (0,094)	0,171 (0,113)	0,093 (0,414)	0,016 (0,88)	0,089 (0,433)
APTV	-0,084 (0,439)	-0,344 (<0,001)	-0,196 (0,069)	-0,394 (<0,001)	-0,204 (0,058)	-0,463 (<0,001)	-0,16 (0,139)	-0,371 (0,001)	-0,179 (0,098)	-0,412 (<0,001)
Fibrinogen	0,174 (0,108)	0,068 (0,549)	0,204 (0,058)	0,075 (0,512)	0,19 (0,077)	0,163 (0,15)	0,237 (0,027)	0,11 (0,336)	0,270 (0,011)	0,039 (0,733)
D-dimeri	0,338 (0,001)	0,074 (0,518)	0,277 (0,009)	-0,01 (0,932)	0,281 (0,008)	0 (>0,99)	0,174 (0,106)	-0,007 (0,949)	0,278 (0,009)	0,098 (0,392)
VWF:Ac	0,242 (0,024)	-0,002 (0,985)	0,229 (0,033)	-0,061 (0,591)	0,246 (0,021)	0,043 (0,709)	0,220 (0,041)	-0,015 (0,894)	0,320 (0,003)	0,031 (0,783)
Leukociti	-0,001 (0,99)	0,176 (0,120)	0,15 (0,165)	0,292 (0,009)	0,105 (0,335)	0,235 (0,038)	0,060 (0,582)	0,227 (0,044)	0,022 (0,842)	0,149 (0,193)
Neutrofili	0,006 (0,954)	0,087 (0,445)	0,082 (0,45)	0,233 (0,039)	0,083 (0,450)	0,108 (0,348)	0,089 (0,413)	0,201 (0,076)	0,048 (0,663)	0,071 (0,539)
Limfociti	0,010 (0,926)	0,255 (0,023)	0,211 (0,05)	0,258 (0,022)	0,052 (0,635)	0,343 (0,002)	-0,075 (0,491)	0,229 (0,043)	0,041 (0,708)	0,257 (0,023)
Monociti	0,119 (0,271)	0,168 (0,140)	0,209 (0,052)	0,166 (0,144)	0,178 (0,102)	0,236 (0,037)	0,078 (0,472)	0,174 (0,125)	0,02 (0,853)	0,043 (0,707)
Trombociti	-0,153 (0,156)	-0,180 (0,112)	-0,057 (0,600)	-0,178 (0,117)	-0,141 (0,194)	-0,191 (0,094)	-0,157 (0,147)	-0,173 (0,127)	-0,095 (0,386)	-0,186 (0,102)

Kod vektorskog cjepljenja, prije cijepjenja, starija životna dob povezana je s višim IL-6, F1+2 i fibrinogenom, a uz viši ITM povezan je i viši vrijednosti CRP, IL-6 i APTV. Izuzev povezanosti ITM-a s CRP-om (Rho 0,579), riječ je o slabim povezanostima (Rho<0,50).

Sedam dana nakon vektorskog cijepjenja starija životna dob povezana je s višim F1+2 i fibrinogenom, a uz veći ITM povezan je i viši CRP i APTV. Riječ je o slabom stupnju korelacije (Rho<0,50).

Četrnaest dana nakon vektorskog cijepjenja, starija životna dob je povezana s višim F1+2, PV-om i fibrinogenom, a uz viši ITM povezan je i viši CRP-a, IL-6 i APTV (Tablica 45.). Izuzev povezanosti ITM-a s CRP-om (Rho=0,561), riječ je o slaboj povezanosti (Rho<0,50) (Tablica 32).

Tablica 32. Povezanost pokazatelja zgrušavanja i proupalnih pokazatelja s dobi i indeksom tjelesne mase u definiranim točkama mjerenja kod primjene vektorskog cjepiva

mRNA	Spearmanov koeficijent korelacije Rho (P vrijednost)									
	Prije 1. doze		7. dan od 1. doze		14. dan od 1. doze		7. dan od 2. doze		14. dan od 2. doze	
	Dob	ITM	Dob	ITM	Dob	ITM	Dob	ITM	Dob	ITM
CRP	0,256 (0,019)	0,354 (0,002)	0,25 (0,021)	0,366 (0,001)	0,254 (0,02)	0,462 (<0,001)	0,367 (0,001)	0,413 (<0,001)	0,407 (<0,001)	0,477 (<0,001)
IL – 6	0,221 (0,040)	0,266 (0,018)	0,261 (0,014)	0,334 (0,003)	0,282 (0,008)	0,267 (0,017)	0,408 (<0,001)	0,423 (<0,001)	0,286 (0,007)	0,404 (<0,001)
TAT	0,237 (0,027)	0,233 (0,039)	0,194 (0,071)	0,272 (0,015)	0,212 (0,048)	0,223 (0,048)	0,162 (0,137)	0,226 (0,047)	-0,069 (0,525)	0,262 (0,020)
F1+2	0,439 (<0,001)	0,038 (0,742)	0,315 (<0,001)	-0,093 (0,414)	0,452 (<0,001)	0,125 (0,271)	0,434 (<0,001)	0,07 (0,541)	0,413 (<0,001)	0,224 (0,047)
Vel. ET-1	-0,116 (0,285)	-0,214 (0,059)	0,042 (0,702)	-0,085 (0,455)	0,202 (0,06)	-0,123 (0,279)	0,076 (0,483)	-0,063 (0,583)	0,076 (0,484)	-0,129 (0,259)
PV	0,079 (0,468)	-0,047 (0,678)	0,08 (0,459)	0,148 (0,194)	0,052 (0,631)	0,19 (0,094)	0,171 (0,113)	0,093 (0,414)	0,016 (0,88)	0,089 (0,433)
APTV	-0,084 (0,439)	-0,344 (<0,001)	-0,196 (0,069)	-0,394 (<0,001)	-0,204 (0,058)	-0,463 (<0,001)	-0,16 (0,139)	-0,371 (0,001)	-0,179 (0,098)	-0,412 (<0,001)
Fibrinogen	0,174 (0,108)	0,068 (0,549)	0,204 (0,058)	0,075 (0,512)	0,19 (0,077)	0,163 (0,15)	0,237 (0,027)	0,11 (0,336)	0,270 (0,011)	0,039 (0,733)
D-dimeri	0,338 (0,001)	0,074 (0,518)	0,277 (0,009)	-0,01 (0,932)	0,281 (0,008)	0 (>0,99)	0,174 (0,106)	-0,007 (0,949)	0,278 (0,009)	0,098 (0,392)
VWF:Ac	0,242 (0,024)	-0,002 (0,985)	0,229 (0,033)	-0,061 (0,591)	0,246 (0,021)	0,043 (0,709)	0,220 (0,041)	-0,015 (0,894)	0,320 (0,003)	0,031 (0,783)
Leukociti	-0,001 (0,99)	0,176 (0,120)	0,15 (0,165)	0,292 (0,009)	0,105 (0,335)	0,235 (0,038)	0,060 (0,582)	0,227 (0,044)	0,022 (0,842)	0,149 (0,193)
Neutrofili	0,006 (0,954)	0,087 (0,445)	0,082 (0,45)	0,233 (0,039)	0,083 (0,450)	0,108 (0,348)	0,089 (0,413)	0,201 (0,076)	0,048 (0,663)	0,071 (0,539)
Limfociti	0,010 (0,926)	0,255 (0,023)	0,211 (0,05)	0,258 (0,022)	0,052 (0,635)	0,343 (0,002)	-0,075 (0,491)	0,229 (0,043)	0,041 (0,708)	0,257 (0,023)
Monociti	0,119 (0,271)	0,168 (0,140)	0,209 (0,052)	0,166 (0,144)	0,178 (0,102)	0,236 (0,037)	0,078 (0,472)	0,174 (0,125)	0,02 (0,853)	0,043 (0,707)
Trombociti	-0,153 (0,156)	-0,180 (0,112)	-0,057 (0,6)	-0,178 (0,117)	-0,141 (0,194)	-0,191 (0,094)	-0,157 (0,147)	-0,173 (0,127)	-0,095 (0,386)	-0,186 (0,102)

5.4.3. Povezanost s hipertenzijom

Nema značajne razlike u vrijednostima CRP-a između ispitanika s ili bez arterijske hipertenzije (AH) u obje skupine cjepiva. Kod ispitanika s AH u vektorskoj skupini značajno su više vrijednosti 7 i 14 dana od cijepljenja u odnosu na prije cijepljenja ($P=0,019$) (Tablica 31).

Tablica 31. Vrijednosti CRP-a po mjerenjima u odnosu na hipertenziju, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

CRP (mg/L)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Bez AH	AH			
mRNA					
Prije cijepljenja	1,0 (0,3 - 2,3)	1,0 (0,6 - 1,9)	0,2	-0,5 do 0,6	0,538
7 dana od 1. doze	0,9 (0,5 - 1,9)	1,1 (0,8 - 2,4)	0,2	-0,3 do 0,6	0,456
14 dana od 1. doze	0,9 (0,4 - 1,9)	1,0 (0,6 - 2,0)	0,1	-0,4 do 0,5	0,669
7 dana od 2. doze	0,9 (0,6 - 1,9)	1,6 (0,8 - 3,6)	0,4	-0,1 do 1,2	0,119
14 dana od 2. doze	0,8 (0,4 - 1,9)	1,0 (0,6 - 2,2)	0,2	-0,2 do 0,7	0,282
P#	0,083	0,769			
Vektorsko					
Prije cijepljenja	1,3 (0,5 - 2,2)	0,9 (0,5 - 2,8)	0	-0,8 do 0,6	0,914
7 dana od cijepljenja	1,5 (0,7 - 2,5)	1,4 (0,9 - 4,1)	-0,2	-1 do 0,4	0,520
14 dana od cijepljenja	1,1 (0,7 - 2,0)	1,5 (0,6 - 2,6)	0,2	-0,4 do 1,1	0,510
P#	0,169	0,019[†]			

P* razlika u vrijednostima između skupine s i bez AH, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlika u vrijednostima unutar svake skupine, Friedmanov test (post hoc Conover); † na razini $P<0,05$ značajno su niže vrijednosti prije cijepljenja u odnosu na sva druga mjerenja

Nema statistički značajne razlike u vrijednostima IL-6 ovisno o arterijskoj hipertenziji (AH) među ispitanicima u obje skupine. Kod ispitanika s AH u mRNA skupini nađene su statistički značajne razlike IL-6 između vremenskih točaka mjerenja (P=0,008) (Tablica 32).

Tablica 32. Vrijednosti IL-6 po mjerenjima u odnosu na hipertenziju, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

IL-6 (pg/mL)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Bez AH	AH			
mRNA					
Prije cijepljenja	1,5 (1,5 - 2,2)	1,5 (1,5 - 1,8)	0	-0,16 do 0	0,541
7 dana od 1. doze	1,5 (1,5 - 2,1)	1,5 (1,5 - 2,1)	0	-0,1 do 0	0,854
14 dana od 1. doze	1,5 (1,5 - 2,0)	1,7 (1,5 - 2,2)	0	0 do 0,29	0,358
7 dana od 2. doze	1,5 (1,5 - 2,0)	1,8 (1,5 - 2,1)	0	0 do 0,31	0,147
14 dana od 2. doze	1,5 (1,5 - 2,1)	1,5 (1,5 - 1,7)	0	-0,16 do 0	0,398
P#	0,741	0,008[†]			
Vektorsko					
Prije cijepljenja	1,5 (1,5 - 2,7)	1,6 (1,5 - 2,6)	0	-0,36 do 0,11	0,907
7 dana od cijepljenja	1,7 (1,5 - 2,3)	1,7 (1,5 - 2,7)	0	-0,29 do 0,25	0,850
14 dana od cijepljenja	1,5 (1,5 - 2,3)	1,8 (1,5 - 2,4)	0	-0,29 do 0,28	0,823
P#	0,551	0,562			

P* razlika u vrijednostima između skupine s i bez AH, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlika u vrijednostima unutar svake skupine, Friedmanov test (post hoc Conover); [†]na razini P<0,05 značajno se razlikuju: (prije 1. doze) vs. (14 dana od 1. doze, 7 dana od 2. doze); (14 dana od 2. doze) vs. (7 i 14 dana od 1. doze, 7 dana od 2. doze)

Nema statistički značajne razlike u vrijednostima TAT-a između ispitanika s ili bez arterijske hipertenzije (AH) u obje cjepljene skupine. Nije zabilježena statistički značajna razlika u TAT-u prije i nakon cijepljenja u skupinama s i bez AH u obje skupine (Tablica 33).

Tablica 33. Vrijednosti TAT po mjerenjima u odnosu na hipertenziju, u skupini s mRNA i vektorskim cjepljenjem

TAT ($\mu\text{g/L}$)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Bez AH	AH			
mRNA					
Prije cijepljenja	2,5 (2,0 – 3,3)	2,9 (2,1 – 3,1)	0,06	-0,28 do 0,6	0,521
7 dana od 1. doze	2,6 (2,0 – 3,2)	3,0 (2,1 – 3,2)	0,03	-0,32 do 0,48	0,531
14 dana od 1. doze	2,7 (2,0 – 3,3)	2,8 (2,1 – 3,6)	0,03	-0,3 do 0,65	0,578
7 dana od 2. doze	2,7 (2,0 – 3,2)	2,7 (2,1 – 3,3)	0	-0,43 do 0,44	0,936
14 dana od 2. doze	2,8 (2,0 – 3,9)	3,1 (2,3 – 4,4)	0,23	-0,36 do 0,99	0,357
P#	0,564	0,351			
Vektorsko					
Prije cijepljenja	3,2 (2,5 – 5,2)	3,3 (2,6 – 3,8)	-0,17	-1,46 do 0,6	0,697
7 dana od cijepljenja	3,2 (2,6 – 4,4)	4,0 (2,6 – 5,8)	0,33	-0,47 do 2,06	0,389
14 dana od cijepljenja	3,0 (2,6 – 4,0)	4,6 (2,7 – 6,4)	1,07	-0,12 do 2,55	0,079
P#	0,343	0,052			

P* razlika u vrijednostima između skupine s i bez AH, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlika u vrijednostima unutar svake skupine, Friedmanov test

Statistički su značajno su više vrijednosti F 1+2 kod ispitanika s AH u skupini mRNA cjepiva, u svim točkama mjerenja (Tablica 34).

Tablica 34. Vrijednosti F1+2 po mjerenjima u odnosu na hipertenziju, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

F1+2 (pmol/L)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Bez AH	AH			
mRNA					
Prije cijepljenja	175,2 (143,1 – 209,5)	274,4 (183,5 – 298,2)	73,2	34,7 do 116,1	<0,001
7 dana od 1. doze	179,7 (142,7 – 251,9)	214,4 (185,6 – 360,0)	53,9	11,3 do 105,1	0,011
14 dana od 1. doze	163,8 (138,0 – 202,5)	216,3 (147,2 – 326,2)	41,2	0,88 do 95,7	0,045
7 dana od 2. doze	173,7 (143,7 – 211,3)	232,9 (176,8 – 318,6)	55,7	12,5 do 102,7	0,012
14 dana od 2. doze	160,1 (140,0 – 200,8)	258,0 (185,8 – 319,2)	84,5	35,1 do 139,9	<0,001
P#	0,503	0,262			
Vektorsko					
Prije cijepljenja	194,2 (158,9 – 291,2)	301,3 (201,1 – 640,5)	72,6	-12,14 do 172,1	0,094
7 dana od cijepljenja	188,2 (145,8 – 248,8)	254,1 (147,5 – 336,4)	59,8	-19,2 do 126,7	0,129
14 dana od cijepljenja	189,8 (141,5 – 259,7)	289,4 (160,4 – 332,9)	61,7	-16,3 do 132	0,120
P#	0,142	>0,999			

P* razlika u vrijednostima između skupine s i bez AH, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlika u vrijednostima unutar svake skupine, Friedmanov test

Statistički su značajno više vrijednosti velikog ET-1 u skupini ispitanika s AH u vektorskoj skupini, prije cijepljenja (P=0,038). U skupini ispitanika bez AH cijepljenih mRNA cjepivom uočen je statistički značajan porast nakon cijepljenja (P=0,004) u odnosu na prije cijepljenja (Tablica 35).

Tablica 35. Vrijednosti velikog ET-1 po mjerenjima u odnosu na hipertenziju, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

Veliki ET-1 (pg/mL)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Bez AH	AH			
mRNA					
Prije cijepljenja	1,4 (1,0 – 1,7)	1,5 (1,1 – 1,9)	0,12	-0,2 do 0,4	0,445
7 dana od 1. doze	1,6 (1,2 – 1,9)	1,5 (1,0 – 1,7)	-0,17	-0,48 do 0,13	0,247
14 dana od 1. doze	1,5 (1,3 – 1,9)	1,7 (0,8 – 1,9)	-0,03	-0,43 do 0,26	0,863
7 dana od 2. doze	1,6 (1,3 – 2,0)	1,7 (1,2 – 2,1)	-0,01	-0,35 do 0,31	0,957
14 dana od 2. doze	1,7 (1,2 – 2,0)	1,5 (1,1 – 1,8)	-0,14	-0,43 do 0,15	0,291
P#	0,004[†]	0,441			
Vektorsko					
Prije cijepljenja	1,6 (1,3 – 1,9)	1,8 (1,7 – 2,3)	0,35	0,03 do 0,63	0,038
7 dana od cijepljenja	1,5 (1,3 – 2,0)	1,8 (1,6 – 2,1)	0,24	-0,1 do 0,56	0,159
14 dana od cijepljenja	1,8 (1,4 – 2,1)	2,3 (1,4 – 2,6)	0,41	-0,05 do 0,81	0,071
P#	0,061	0,923			

P* razlika u vrijednostima između skupine s i bez AH, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlika u vrijednostima unutar svake skupine, Friedmanov test (post hoc Conover); † na razini P<0,05 značajne su razlike: (prije cijepljenja) vs. (sva ostala mjerenja); (7 dana od 2. doze) vs. (14 dana od 1. doze, 14 dana od 2. doze)

Nema značajnih razlika u vrijednostima fibrinogena po vremenskim točkama mjerenja u odnosu na hipertenziju kod oba cjeviva. U skupini s AH cijepljenih vektorskim cjevivom značajno su više vrijednosti 7 dana od cijepljenja u odnosu na ostala mjerenja (P=0,021) (Tablica 36).

Tablica 36. Vrijednosti fibrinogena po mjerenjima u odnosu na hipertenziju, u skupini s mRNA i vektorskim cjevivom

Fibrinogen (g/L)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Bez AH	AH			
mRNA					
Prije cijepljenja	2,9 (2,5 – 3,5)	3,1 (2,6 – 3,4)	0,1	-0,3 do 0,4	0,806
7 dana od 1. doze	2,9 (2,5 – 3,5)	3,0 (2,6 – 3,5)	0,1	-0,3 do 0,5	0,531
14 dana od 1. doze	2,9 (2,5 – 3,4)	3,1 (2,5 – 3,5)	0,1	-0,3 do 0,5	0,616
7 dana od 2. doze	2,9 (2,5 – 3,6)	3,0 (2,6 – 3,6)	0,1	-0,3 do 0,5	0,702
14 dana od 2. doze	2,8 (2,5 – 3,4)	2,8 (2,4 – 3,5)	0	-0,3 do 0,4	0,887
P#	0,030	0,601			
Vektorsko					
Prije cijepljenja	2,8 (2,4 – 3,5)	3,1 (2,6 – 3,5)	0	-0,3 do 0,4	0,783
7 dana od cijepljenja	3,1 (2,6 – 3,6)	3,4 (2,8 – 3,6)	0,1	-0,3 do 0,5	0,478
14 dana od cijepljenja	2,9 (2,5 – 3,5)	3,1 (2,6 – 3,6)	0,1	-0,3 do 0,5	0,567
P#	0,362	0,021[†]			

P* razlika u vrijednostima između skupine s i bez AH, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlika u vrijednostima unutar svake skupine, Friedmanov test (post hoc Conover); † na razini P<0,05 značajno su više vrijednosti (7 dana od cijepljenja) vs. (sva ostala mjerenja)

Hipertoničari u mRNA skupini imaju statistički značajno više d-dimere prije i nakon 1. doze mRNA cjepiva. Nakon cijepljenja, uočen je statistički značajan porast u hipertoničara mRNA skupine (P=0,010) i pad u ispitanika bez AH vektorske skupine (P=0,042) u odnosu na prije cijepljenja (Tablica 37).

Tablica 37. Vrijednosti d-dimera po mjerenjima u odnosu na hipertenziju, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

d-dimeri	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Bez AH	AH			
mRNA					
Prije cijepljenja	0,24 (0,20 - 0,30)	0,33 (0,20 - 0,40)	0,06	0 do 0,13	0,048
7 dana od 1. doze	0,25 (0,20 - 0,40)	0,41 (0,30 - 0,60)	0,12	0,03 do 0,22	0,011
14 dana od 1. doze	0,25 (0,20 - 0,40)	0,41 (0,30 - 0,60)	0,14	0,05 do 0,22	0,005
7 dana od 2. doze	0,27 (0,20 - 0,40)	0,34 (0,30 - 0,50)	0,07	-0,02 do 0,12	0,140
14 dana od 2. doze	0,28 (0,20 - 0,40)	0,33 (0,30 - 0,50)	0,07	-0,02 do 0,13	0,130
P#	0,010[‡]	0,072			
Vektorsko					
Prije cijepljenja	0,27 (0,20 - 0,40)	0,33 (0,25 - 0,44)	0,04	-0,05 do 0,12	0,434
7 dana od cijepljenja	0,31 (0,20 - 0,50)	0,31 (0,22 - 0,49)	0	-0,11 do 0,09	0,885
14 dana od cijepljenja	0,31 (0,20 - 0,40)	0,30 (0,24 - 0,47)	0,01	-0,08 do 0,09	0,834
P#	0,054	0,042[‡]			

P* razlika u vrijednostima između skupine s i bez AH, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlika u vrijednostima unutar svake skupine, Friedmanov test (post hoc Conover); †na razini P<0,05 značajno se razlikuje (prije cijepljenja) vs. (ostala mjerenja); ‡na razini P<0,05 značajno se razlikuje (prije cijepljenja) vs. (7 i 14 dana od 2. doze); (14 dana od 1. doze) vs. (14 dana od 2. doze)

Nema statistički značajnih razlika u VWF:Ac između ispitanika s i bez AH u obje skupine cjepiva. Kod oba cjepiva, kod ispitanika s i bez AH nađene su statistički značajne razlike između vremenskih točaka mjerenja (Tablica 38).

Tablica 38. Vrijednosti VWF:Ac po mjerenjima u odnosu na hipertenziju, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

VWF:Ac (%)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Bez AH	AH			
mRNA					
Prije cijepljenja	123 (87 – 139)	124 (86 – 150)	2,45	-20 do 22	0,825
7 dana od 1. doze	117 (89 – 142)	131 (82 – 161)	5,95	-18 do 27	0,583
14 dana od 1. doze	107 (85 – 142)	130 (84 – 148)	6,75	-13 do 31	0,551
7 dana od 2. doze	120 (86 – 143)	134 (84 – 144)	1	-20 do 20	0,933
14 dana od 2. doze	113 (83 – 137)	111 (73 – 142)	-1	-22 do 20	0,866
P#	0,002 [†]	0,033 [‡]			
Vektorsko					
Prije cijepljenja	131 (95 – 148)	121 (102 – 144)	1	-23 do 28	0,914
7 dana od cijepljenja	134 (105 – 149)	126 (107 – 153)	-1	-22 do 23	0,885
14 dana od cijepljenja	127 (88 – 145)	107 (98 – 141)	-5	-29 do 22	0,778
P#	0,001 [§]	0,023 [§]			

P* razlika u vrijednostima između skupine s i bez AH, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlika u vrijednostima unutar svake skupine, Friedmanov test (post hoc Conover); [†]na razini P<0,05 značajno se razlikuju: (7 dana od 1. doze) vs. (14 dana od 1. doze, 14 dana od 2. doze); (7 dana od 1 doze) vs. (14 dana od 2. doze); [‡]na razini P<0,05 značajno se razlikuju: (14 dana od 2. doze) vs. (7 i 14 dana od 1. doze); [§]na razini P<0,05 značajno se razlikuje 14 dan od cijepljenja u odnosu na ostala mjerenja

Nema statistički značajnih razlika u trombocitima između ispitanika s i bez AH u obje skupine cjeviva. Nađena je statistički značajna razlika između vremenskih točaka mjerenja u ispitanika bez AH u vektorskoj skupini (P=0,010) (Tablica 39).

Tablica 39. Vrijednosti trombocita po mjerenjima u odnosu na hipertenziju, u skupini s mRNA i vektorskim cjevivom

Trombociti (x10 ⁹ /L)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Bez AH	AH			
mRNA					
Prije cijepljenja	261 (218 – 313)	261 (213 – 284)	-8	-42 do 31	0,673
7 dana od 1. doze	254 (221 – 304)	269 (203 – 297)	0,5	-35 do 38	0,977
14 dana od 1. doze	257 (220 – 310)	255 (198 – 295)	-15	-50 do 20	0,401
7 dana od 2. doze	258 (213 – 306)	251 (202 – 284)	-12	-46 do 23	0,471
14 dana od 2. doze	258 (216 – 303)	258 (216 – 289)	-5	-37 do 29	0,720
P#	0,722	0,521			
Vektorsko					
Prije cijepljenja	260 (214 – 293)	278 (229 – 297)	14	-18 do 51	0,374
7 dana od cijepljenja	257 (211 – 290)	252 (205 – 300)	-6	-41 do 37	0,833
14 dana od cijepljenja	258 (227 – 311)	255 (205 – 306)	-10	-48 do 33	0,682
P#	0,010[†]	0,258			

P* razlika u vrijednostima između skupine s i bez AH, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlika u vrijednostima unutar svake skupine, Friedmanov test (post hoc Conover); †na razini P<0,05 značajno se razlikuje 7 dana od cijepljenja u odnosu na ostala mjerenja

6. RASPRAVA

Glavni cilj ovog istraživanja bio je odrediti potencijalni učinak cjepiva protiv koronavirusne bolesti 2019 na pokazatelje zgrušavanja i proupalne pokazatelje na skupini ispitanika cijepljenih s mRNA BNT162b2 i vektorskim Ad26.CoV2.S cjepivom.

U obje skupine ispitanika zabilježena je slična dinamika pokazatelja koagulacije, prije svega porast d-dimera. Radi se o statistički značajnom porastu ($P=0,004$) iako su vrijednosti d-dimera u svim točkama mjerenja unutar granica normale. Također, navedeni porast nije imao reperkusije na kliničku sliku u vidu tromboembolijskih incidenata.

Usporedbom ova dva cjepiva, ističe se statistički značajna razlika u CRP-u ($P=0,014$), nakon imunizacije, u korist vektorskog cjepiva. Porast CRP-a u vektorskoj skupini protumačen je odrazom blagog imunosnog odgovora na cijepljenje.

Na osnovi navedenih rezultata istraživanja, detaljno opisanih dalje u radu, predložena hipoteza „*Koronavirusno vektorsko cjepivo Ad26.CoV2.S ima veći prokoagulantni i proupalni učinak od koronavirusnog mRNA cjepiva BNT162b2*“ potvrđena je samo djelomično.

6.1. Učinak BNT162b2 i Ad26.CoV2.S cjepiva na pokazatelje zgrušavanja i upale

Nakon cijepjenja BNT162b2 cjepivom statistički značajne razlike između točaka mjerenja zabilježene su u vrijednostima d-dimera, fibrinogena, aktivnosti VWF-a, APTV-a, velikog ET-1 i limfocita.

Potvrđen je statistički značajan porast d-dimera nakon cijepjenja ($P=0,004$) (tablica 10). Pretraživanjem literature, pronađeno je nekoliko studija koje su istraživale utjecaj SARS-CoV-2 cjepiva na pokazatelje zgrušavanja, konkretno d-dimere. Hassan i sur. nisu utvrdili promjene d-dimera nakon cijepjenja BNT162b2 cjepivom u tri kontrolne točke (prije cijepjenja, 14 dana nakon 1. i 2. doze) na skupini od 50 ispitanika (18-65 godina) (104). Peyvandi i sur. također nisu našli promjene vrijednosti d-dimera na skupini od 30 ispitanika nakon cijepjenja sa BNT162b2 cjepivom u 4 vremenske točke (prije 1. doze, 7 i 14 dana nakon 1. doze te 14 dana nakon 2. doze) (73). Zanimljivo je da su obje studije kao i naše istraživanje koristile slične vremenske intervale određivanja laboratorijskih pokazatelja. Kod oblikovanja ovog istraživanja, vremenski okvir određen je temeljem znanstvenih spoznaja o VITT-u, čija klinička slika postaje evidentna 5-30 dana nakon cijepjenja (50). Prednost našeg istraživanja je, u odnosu na navedena dva, uključivanje većeg broja ispitanika s bolje definiranim isključnim kriterijima.

Ovdje je potrebno istaknuti TREASURE studiju Brambillae i sur. koja je uključila značajan broj ispitanika ($N=368$) nakon cijepjenja četirima SARS-CoV-2 cjepivima (162 ispitanika procijepljena su sa ChAdOx1-S ili Ad26.CoV2.S cjepivom dok je 207 ispitanika procijepljeno s BNT162b2 ili mRNA-1273 cjepivom) (77). Rezultati te studije pokazali su statistički značajan porast d-dimera, fibrinogena i F1+2 nakon 8 ± 2 dana od cijepjenja, kod sve 4 vrste cjepiva. Kao objašnjenje porasta navedenih pokazatelja autori navode aktivaciju sustava zgrušavanja u sklopu prolaznog upalnog odgovora na cijepjenje što je klinički asimptomatsko ali može biti relevantno na populacijskoj razini. Porast d-dimera nakon cijepjenja s BNT162b2 cjepivom u skladu je s našim istraživanjem, tim više što se praktično radi o istom vremenskom intervalu laboratorijske analize. Glavni nedostatak tog istraživanja jest manji broj ispitanika procijepljenih Ad26.CoV2.S cjepivom ($N=19$). Također, većina ispitanika u vektorskoj skupini ($N=123$) primila je 2. dozu cjepiva (ChAdOx1-S) dok su ispitanici u mRNA skupini većinom dobili 1. dozu cjepiva ($N=169$). Iz prijašnjih studija poznato je da je imunski odgovor na BNT162b2 cjepivo jači nakon 2. doze (34, 105). Bilo bi zanimljivo vidjeti kakav bi efekt imalo

na rezultate TREASURE studije da je podjednak broj ispitanika u obje skupine cjepiva (mRNA i vektorskoj) dobilo 1. ili 2. dozu cjepiva. Ostrowski i sur. istraživali su učinak dvije skupine cjepiva; vektorskog ChAdOx1 i mRNA (BNT162b2 i mRNA-1273) na skupini od 80 ispitanika (76). Porast d-dimera zabilježen je 11 dana nakon cijepjenja s vektorskim ali ne i s mRNA cjepivom. Problematika svih navedenih istraživanja je dakle višestruka; premali broj točaka određivanja, nedostatan broj ispitanika i/ili neujednačenost ispitanika izloženih imunizaciji (1. vs. 2. doza cjepiva). Ipak, može se zaključiti da je kod istraživanja s većim brojem ispitanika nađen statistički značajan porast d-dimera nakon cijepjenja SARS-CoV-2 cjepivima.

Porast d-dimera u ovom istraživanju, iako statistički značajan, s kliničkog aspekta je potpuno asimptomatski (nije zabilježen niti jedan tromboembolijski incident) a vrijednosti d-dimera daleko su bile manje od granične vrijednosti normale ($\leq 0,5$ mg/L FEU). Smatramo da se statistički značajan porast d-dimera u našem istraživanju može pripisati uobičajenoj reakciji na cijepjenje.

Fibrinogen je u ovom radu statistički značajno niži 14 dana nakon 2. doze kod mRNA cjepiva ($P < 0,003$) u odnosu na bazalne vrijednosti (Tablica 9). Poznato je da je fibrinogen reaktant akutne faze koji raste u uvjetima upale (106). Sistemske i/ili lokalne reakcije nakon imunizacije odraz su porasta upravo reaktanata upalne faze (CRP, fibrinogen, serumski amiloid A, ceruloplazmin itd) što je sastavni dio stvaranja humoralne imunosti (107). Tsai i sur. su zabilježili porast CRP-a, IL-6, TNF alfa i drugih upalnih pokazatelja u prva 24 h nakon cijepjenja protiv influence (108). Keiser i sur. su pokazali porast fibrinogena nakon svake doze cjepiva protiv *Neisseriae meningitidis* (ukupno 3 doze) te zabilježili najviše vrijednosti 48 h nakon 1. cijepjenja i pad nakon 14 dana (109). Porast fibrinogena dobro korelira i sa stupnjem lokalne reakcije tj. edema na mjestu inokulacije cjepiva (110). Da smo u našem istraživanju određivali fibrinogen bliže samoj imunizaciji, vjerojatno bi zabilježili značajniji porast. To primjerice potvrđuje i studija Miyashite i sur. koji su istraživali povezanost proupalnih biljega i popratnih pojava (reakcija na cijepjenje) nakon imunizacije BNT162b2 cjepivom (76). U skupini od 61 ispitanika, razina IL-6 i TNF α je bila povišena 24 sata nakon 1. doze cjepiva u usporedbi s razinom prije cijepjenja, a taj porast je bio još izraženiji nakon 24 h od 2. doze cjepiva. Također, nađena je snažna povezanost TNF α i jačine popratnih reakcija na cijepjenje (lokalnih i sistemskih) 24 sata nakon 2. doze cjepiva. Temeljem tih rezultata, autori su zaključili da je porast navedenih proupalnih biljega direktna posljedica BNT162b2 cjepiva. Porast niza proupalnih biljega (IL-1 β , interferon (IFN)- α 2, IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-17A, IL-18, IL-23, IL-33 i čimbenika koji privlači makrofage (MCP-1)) nakon cijepjenja 18

ispitanika BNT162b2 cjepivom zabilježili su Flego i sur. (77). U njihovom istraživanju, navedeni biljezi određeni su u 6 vremenskih točaka; 0-1 dan prije 1. doze, 3 dana i 10 ± 2 dana nakon 1. doze, 0-1 dan prije 2. doze, 3 dana i 10 ± 2 dana nakon 2. doze cjepiva. Kod ispitanika s višom razinom neutralizirajućih protutijela prije 2. doze (fast responders), zabilježen je brz porast proupalnih biljega nakon cijepjenja 1. dozom. Kod ispitanika s nižom razinom neutralizirajućih protutijela prije 2. doze (slow responders), porast proupalnih biljega bio je mnogo manje izražen. Ostrowski i sur. u svojem istraživanju utvrdili su porast fibrinogena nakon 1. doze BNT162b2 cjepiva (76). Isto tako, u TREASURE studiji potvrđen je porast fibrinogena nakon cijepjenja svim četirima SARS-CoV-2 cjepivima uključujući BNT162b2 cjepivo (77). U ovim studijama vjerojatno je zabilježen incijalni porast fibrinogena u sklopu reakcije na cijepjenje.

Aktivnost VWF-a pokazala je statistički niže vrijednosti nakon cijepjenja BNT162b2 cjepivom. Najniže vrijednosti bilježe se 14 dana nakon 1. doze i 14 dana nakon 2. doze cjepiva ($P < 0,001$) (Tablica 11). Slično kao kod fibrinogena, pad VWF aktivnosti mogli bi objasniti potrošnjom uzrokovanom upalnom reakcijom na cijepjenje. Naime, poznato je da inflamatorni citokini iz makrofaga aktiviraju endotelne stanice koje otpuštaju VWF u cirkulaciju (111). Peyvandi i sur. u praćenju aktivnosti VWF nakon cijepjenja sa BNT162b2 cjepivom u 4 vremenske točke (prije 1. doze, 7 i 14 dana nakon 1. doze te 14 dana nakon 2. doze), nisu utvrdili statistički značajne promjene (73). Obzirom da je poluvijek VWF 8 - 20 h, moguće je da su obje studije zbog svog ustroja propustile uočiti inicijalni porast VWF aktivnosti koji se može očekivati u sklopu sistemske reakcije na cjepivo u prvim danima nakon cijepjenja.

Nakon cijepjenja zabilježeno je statistički značajno produženje APTV-a ($P < 0,001$) (tablica 2, Prilozi). Porast APTV-a bi se teoretski mogao objasniti pojačanom potrošnjom čimbenika zgrušavanja, npr. čimbenika FVIII u sklopu aktivacije sustava zgrušavanja, potaknutog upalnim odgovorom na cijepjenje. Ipak, riječ je o klinički asimptomatskim minimalnim promjenama koje su pokazale statističku značajnost.

Nakon cijepjenja zabilježen je statistički značajan porast limfocita s vršnim vrijednostima 7 dana nakon cijepjenja ($P = 0,011$) (Tablica 5, Prilozi). Riječ je o minimalnim promjenama u stvarnim vrijednostima. U ranim fazama kliničkog ispitivanja sigurnosti BNT162b2 cjepiva, zabilježena je prolazna kratkotrajna limfopenija u prvim danima nakon cijepjenja ovisna o dozi apliciranog cjepiva sa povratkom na bazalne vrijednosti unutar 8 dana (34). Kod najniže doze od 10 μg zabilježena je limfopenija u 8% ispitanika. Napominjemo da

je ta doza trostruko veća od konačne doze BNT162b2 cjepiva koja se aplicira prilikom cijepjenja (3 µg)..

Veliki ET-1, jedan je od najpotentnijih vazokonstriktora koji se stvara u endotelu te je uključen i u upalne procese (potiče otpuštanje IL-6 i TNF alfa iz mastocita) (112). Radi njegove dvojne uloge, markera endotelnog oštećenja i upale, uključili smo ga u naše istraživanje pri čemu je ustanovljena statistički značajna razlika nakon cijepjenja BNT162b2 cjepivom ($P < 0,001$) (Tablica 8). Najviše vrijednosti zabilježene su 7 dana nakon 2. doze.

Koliko je poznato do trenutka pisanja ove doktorske disertacije, u znanstvenoj literaturi nije opisano kretanje velikog ET-1 nakon SARS-CoV-2 cijepjenja. Međutim, dostupna su istraživanja drugih endotelnih biljega nakon COVID-19 procjepeljivanja, mada bročano mala i često s oprečnim zaključcima. Primjerice, Lim i sur. nisu dokazali promjene ICAM-1, VCAM-1 i P-selektina kao markera endotelne disfunkcije u skupini od 18 ispitanika nakon BNT162b2 cijepjenja. Iako je istraživanje obuhvatilo 3 kontrolne točke, manjkavost studije je upravo u malom broju ispitanika (81). Robles i sur. demonstrirali su veću in vivo ekspresiju ICAM-1, VCAM-1 i ACE2 na endotelnim stanicama nakon inkubacije sa šiljak proteinom SARS-CoV-2 na temelju čega su zaključili postojanje endotelnog oštećenja (72). Ostrowski i sur. objasnili su porast endotelnih biljega ICAM-1, E-selektina, VCAM-1 itd. proupalnim efektom nakon cijepjenja BNT162b2 cjepivom (76). Terentes-Printzios i sur. u svojem istraživanju hipotezirali su subkliničko oštećenje endotela temeljem statistički značajnog porasta visokoosjetljivog CRP-a (hsCRP, eng. high sensitive C reactive protein) i arterijske krutosti (mjenjem brzine pulsog vala) nakon cijepjenja BNT162b2 cjepivom (78). Međutim, navedena studija obuhvatila je relativno malen broj ispitanika ($N=30$) a kao nedostatak se može navesti i izostanak specifičnijih laboratorijskih biljega endotelnog oštećenja. Smatramo ipak da je potreban veći broj istraživanja s više ispitanika kako bi se rasvijetlilo postojanje bilo kakvog stupnja disfunkcije endotela. Promjene velikog ET-1 u našem istraživanju nisu imale nikakve kliničke reperkusije te se radilo o minimalnim promjenama u stvarnim vrijednostima. Pretpostavljamo da su te promjene dio blažeg imunosnog odgovora na cijepjenje.

Zaključno, nakon cijepjenja BNT162b2 cjepivom, smatramo da je bitno naglasiti porast d-dimera i velikog ET-1 te pad fibrinogena i aktivnosti VWF. Riječ je o diskretnim ali statistički značajnim promjenama koje se mogu objasniti od ranije poznatom blagom reakcijom na cijepjenje.

Nakon cijepljenja vektorskim Ad26.CoV2.S cjepivom zabilježene su statistički značajne razlike nekoliko laboratorijskih pokazatelja: CRP-a, d-dimera, aktivnosti VWF-a, neutrofila, limfocita i trombocita.

CRP se pokazao statistički značajno višim ($P=0,006$) u skupini ispitanika procijepljenih vektorskim cjepivom (Tablica 4). Sadoff i sur. su pokazali u fazi I-IIa kliničkog ispitivanja sigurnosti Ad26.CoV2.S cjepiva, da su najveći imunosni odgovor u vidu lokalnih i sistemskih reakcija na cijepljenje imale mlađe dobne skupine (18-55 godina) te da su se reakcije na cijepljenje intenzitetom smanjivale s rastućom dobi ispitanika (113). U našem istraživanju većina ispitanika vektorske grupe nalazila se u mlađim dobnim skupinama (medijan dobi je 44 godine, IQR 31 – 53 godine). Također, promatrajući pojedine vremenske točke, u vektorskoj skupini ispitanika vrijednost CRP-a bila je statistički značajno viša 7 dana nakon cijepljenja u usporedbi sa 14 dana nakon cijepljenja, što je u skladu s rezultatima kliničkih ispitivanja o sigurnosti cjepiva. Vrijedno je napomenuti i da su rane faze kliničkog ispitivanja sigurnosti drugih adenovirusnih cjepiva kao što je ChAdOx1 nCoV-19 pokazale veće lokalne i/ili sistemske reakcije nakon 1. doze (114, 115). U TREASURE studiji Brambillae i sur. koja je uključila sva četiri SARS-CoV-2 cjepiva (BNT162b2, mRNA-1273, ChAdOx-1 i Ad26.CoV2.S), nađen je porast CRP-a i IL-6 u ispitanika nakon cijepljenja bez obzira na vrstu cjepiva (77). Koliko je nama poznato, riječ je o studiji s najviše ispitanika ($N=368$) koja se bavila problematikom promjene pokazatelja upale i zgrušavanja nakon cijepljenja različitim SARS-CoV-2 cjepivima.

Nakon cijepljenja Ad26.CoV2.S zabilježen je porast d-dimera ($P=0,004$) (Tablica 10). To je u skladu s porastom d-dimera 8 ± 2 dana nakon cijepljenja Ad26.CoV.2 cjepivom u TREASURE studiji. Koliko je poznato do trenutka pisanja ove disertacije, još samo jedno istraživanje je proučavalo kretanje pokazatelja zgrušavanja nakon cijepljenja Ad26.CoV2.S cjepivom. Riječ je o studiji Petito i sur. koji su dokazali porast d-dimera prosječno nakon 14 dana od cijepljenja (116). Obzirom da je cjepivo ChAdOx1-S nCoV-19 (AstraZeneca) cjepivo također adenovirusno, smatramo da su podatci studija s ChAdOx1-S nCoV-19 cjepivom dovoljno usporedivi s našima. De Laat i sur. utvrdili su porast d-dimera prosječno nakon 32 dana od 2. doze ChAdOx1-S nCoV-19 cjepiva u 9% od ukupno 631 ispitanika. Iako se radi o velikom uzorku ispitanika, moramo istaknuti manjkavost studije - isključni kriteriji nisu jasno navedeni (nepoznato je jesu li ispitanici bili na antikoagulantnoj terapiji, imaju li onkološki komorbiditet itd.) što je moglo uzrokovati sistemsku pogrešku (74). Ostrowski i sur. našli su više vrijednosti d-dimera prosječno 11 dana nakon 1. doze ChAdOx1-S nCoV-19 cjepiva, dok

promjena nije nađeno u skupini ispitanika procijepljenih s 1. dozom BNT162b2 cjepiva (76). Nedostatak ove studije je relativno mali broj ispitanika; u vektorskoj grupi ih je bilo 55, a u mRNA grupi 25. Nadalje, ispitanici nisu imali bazalne vrijednosti d-dimera prije cijepjenja, stoga je korištena kontrolna skupina sastavljena od necijepljenih ispitanika.

Aktivnost VWF-a su statistički značajno niže 14 dana nakon cijepjenja ($P < 0,001$) (Tablica 11). Kao i kod BNT162b2 cjepiva, moguće je da uzrok leži u povećanoj potrošnji u sklopu odgovora na cijepjenje. U TREASURE studiji Brambillae i sur. nije nađeno promjene antigena VWF-a 8 ± 2 dana nakon cijepjenja Ad26.CoV2.S cjepivom (77). Istraživanje Petitoa i sur. ukazalo je na pad antigena VWF-a prosječno 14 dana nakon cijepjenja Ad26.CoV2.S cjepivom (116). Moguće je da su sve tri studije radi svojeg ustroja zabilježile samo pojedine segmente u dinamici VWF aktivnosti/antigena; u TREASURE studiji zabilježen je povratak na bazalne vrijednosti nakon inicijalnog porasta dok je naše istraživanje te ono Petitoa i sur. pokazalo daljnji pad u sklopu aktivacije endotela i potrošnje.

Promjene u vrijednosti trombocita su minimalne i iako statistički značajne ($P = 0,023$) (tablica 12), nemaju klinički značaj. Pri tome se prati vrlo blagi pad u odnosu na bazalne vrijednosti, prije cijepjenja. Blagi, klinički asimptomatski pad u vrijednostima trombocita (za 9% od početnih vrijednosti prije cijepjenja) zabilježili su Campello i sur. kod ispitanika 3 dana nakon cijepjenja ChAdOx1-S nCoV-19 cjepivom. Taj pad u trombocitima autori su smatrali nedostatnim tj. premalnim da bi se proglasio pokazateljem aktivacije sustava zgrušavanja u tolikoj mjeri da bi uzrokovao pad u broju trombocita (117).

Također, naše istraživanje je pronašlo statistički značajan pad neutrofila nakon cijepjenja ($P = 0,031$, Tablica 4, Prilozi) te porast limfocita ($P < 0,001$, Tablica 5, Prilozi). Navedeno bi se moglo uklopiti u inicijalni sistemski odgovor na cijepjenje, kao i kod mRNA skupine. U TREASURE studiji također je potvrđen statistički značajan, blaži pad neutrofila (77). Pad neutrofila nije neuobičajena pojava nakon cijepjenja, uključujući i virusna cjepiva (118). U našem istraživanju riječ je o minimalnim promjenama u vrijednostima neutrofila koje ne ispunjavaju kriterije neutropenije te su klinički irelevantne.

Zaključno, nakon cijepjenja Ad26.CoV2.S cjepivom, izdvajamo porast d-dimera i CRP-a te pad aktivnosti VWF-a. Kao i kod BNT162b2 cjepiva, navedeno bi se moglo objasniti diskretnim ali statistički značajnim promjenama u sklopu blage reakcije na cijepjenje.

6.2. Razlike u pokazateljima zgrušavanja i upale obzirom na vrstu cjepiva u definiranim vremenskim točkama

Uspoređujući pokazatelje upale i zgrušavanja prema definiranim vremenskim točkama u dvije skupine ispitanika (mRNA i vektorska skupina) nađene su statistički značajne razlike u vrijednostima CRP-a, F 1+2, TAT-a, PV-a i APTV-a te velikog ET-1.

Statistički viši CRP potvrđen je kod ispitanika cijepljenih Ad26.CoV2.S 7 dana nakon imunizacije ($P=0,014$) (Tablica 4). Iako se općenito smatra da adenovirusna cjepiva uzrokuju veći upalni odgovor, ova statistička razlika može biti u činjenici da su kliničke studije adenovirusnih cjepiva ukazale na veću reakciju na cijepljenje nakon 1. doze, dok se kod mRNA cjepiva BNT162b2 veća reakcija očekuje nakon 2. doze (105, 114, 115).

Ostrowski i sur. istraživali su niz upalnih parametara nakon cijepljenja vektorskim ChAdOx1-S nCoV-19 te BNT162b2 i mRNA-1273 cjepivom (76). Iako su početne vrijednosti upalnih pokazatelja poput CRP-a, IL-6, TNF alfa i IL-1 β bile veće u mRNA skupini, statistički veći porast zabilježen je nakon cijepljenja vektorskim cjepivom. Na temelju navedenog autori su zaključili kako obje skupine cjepiva imaju proupalni efekt, ali je on izraženiji nakon adenovirusnog cjepiva.

U TREASURE studiji Brambillae i sur. koja je uključila BNT162b2, mRNA-1273, ChAdOx-1 i Ad26.CoV2.S cjepivo nađen je porast CRP-a nakon cijepljenja bez obzira na vrstu cjepiva (77). Nije bilo statistički značajne razlike između cjepiva.

Vrijednosti TAT-a u našem istraživanju bile su statistički značajno više u sve tri točke mjerenja u vektorskoj skupini ($P<0,001$) (Tablica 6). Vrijednosti F 1+2 su više u vektorskoj skupini prije i 14 dana nakon cijepljenja ($P=0,011$; $P=0,029$) (Tablica 7). Smatramo da je profil ispitanika u obje skupine dobro izbalansiran osobito temeljem opsežnih isključnih kriterija kojima se nastojalo izbjeći stanja s fiziološki ili patološki više aktiviranim sustavom zgrušavanja (npr. trudnoća i maligna bolest). Na taj način nastojale su se otklonile sistemske greške u istraživanju. Vjerujemo da se stoga navedena razlika u ova dva koagulacijska pokazatelja nije mogla predvidjeti kod odabira ispitanika. Isto tako, mišljenja smo da se obzirom na prisutnu statističku razliku prije cijepljenja, ne može odgovorno tvrditi da Ad26.CoV2.S cjepivo ima veći prokoagulantni učinak u odnosu na BNT162b2 cjepivo.

U TREASURE studiji zabilježen je porast F 1+2 kod sva 4 SARS-CoV-2 cjepiva dok je TAT ostao nepromijenjen (77). U studiji Petitoa i sur. zabilježen je veliki porast TAT-a nakon cijepljenja s Ad26.CoV2.S i BNT162b2 cjepivom ali ne i nakon imunizacije ChAdOx-1 cjepivom. Oba istraživanja su navedene rezultate tumačila kao dokazom povezanosti aktivacije sustava zgrušavanja i upale. Razlog zašto postoji razilaženje u porastu TAT-a odnosno F1+2 može biti u nedostacima navedenih istraživanja. Kao što smo napomenuli ranije, u TREASURE studiji neki od ispitanika su dobili 1. dozu a neki 2. dozu cjepiva što je moglo utjecati na dinamiku laboratorijskih pokazatelja. Isto tako, u studiji Petitoa i sur. vrijeme uzorkovanja krvi kod ispitanika razlikovalo se značajno među cjepivima (npr. prosjek 17 dana nakon cijepljenja ChAdOx-1, odnosno 11 dana nakon cijepljenja BNT162b2 cjepivom).

Vrijednosti PV-a i APTV-a pokazale su statistički značajnu razliku između dvije skupine cjepiva u sve 3 točke usporedbe, dakle i prije cijepljenja. Viši PV utvrđen je kod ispitanika u vektorskoj skupini (Tablica 1, Prilozi) dok je viši APTV kod mRNA cjepiva (Tablica 2, Prilozi). No, obzirom da su promjene PV-a i APTV-a bile prisutne i prije cijepljenja interpretacija je otežana i po našem mišljenju, dotične promjene ne doprinose značajno eventualnom zaključku o prokogulantnom učinku cjepiva.

Vrijednosti velikog ET-1 statistički su značajno više u vektorskoj skupini prije i 14 dana nakon cijepljenja u odnosu na mRNA skupinu ($P=0,001$, $P=0,009$) (Tablica 8). Smatramo da se na temelju tih razlika, kao i kod TAT-a, F1+2, PV-a i APTV-a ne može donijeti zaključak o eventualnom većem utjecaju vektorskog cjepiva obzirom na početne više vrijednosti velikog ET-1 u vektorskoj skupini.

Zaključno, obzirom da se statistički značajna razlika u CRP-u između BNT162b2 i Ad26.CoV2.S uočava nakon imunizacije a ne prije, odgovorno možemo tvrditi da vektorsko cjepivo ima veći proupalni efekt, iako klinički irelevantan. Ostali pokazatelji (TAT, F 1+2, veliki ET-1) su statistički značajno viši kod vektorskog cjepiva prije imunizacije. Stoga, niti njihovu daljnju dinamiku, nakon cijepljenja, ne možemo promatrati u kontekstu stvarne razlike među cjepivima.

6.3. Povezanost pokazatelja zgrušavanja i proupalnih pokazatelja u definiranim točkama mjerenja

Prije cijepljenja mRNA cjepivom, vrlo slaba mada statistički značajna povezanost, nađena je između vrijednosti CRP-a i fibrinogena odnosno IL-6 i fibrinogena (Tablica 13). Sva tri navedena laboratorijska pokazatelja ujedno su i dobro poznati proupalni biljezi stoga je taj odnos očekivan. Naime, CRP i fibrinogen su reaktanti akutne faze čija je stvaranje potaknuto nizom proinflammatoryh citokina među kojima je i IL-6 (119). Uloga IL-6 u ovom radu je iscrpno opisana. Riječ je citokinu koji je radi svoje kompleksne uloge u inflamatornim procesima u organizmu prepoznat kao dobar biokemijski marker u eri COVID-19 bolesti. Osim što regulira stvaranje niza kemokina i citokina, potiče sazrijevanje B i T limfocita te proizvodnju protutijela (120). Imunizacija uzrokuje proupalni odgovor organizma koji je sastavni dio stvaranja humoralne imunosti (107). Kao što je spomenuto ranije, Miyashita i sur. su utvrdili dobru korelaciju između porasta IL-6 (kao i niza drugih proupalnih biljega) nakon cijepljenja BNT162b2 cjepivom i razine neutralizirajućih protutijela (78).

Nakon 7 dana od 1. doze mRNA cjepiva, i dalje se nalazi statistički značajna slaba povezanost CRP-a i IL-6 s fibrinogenom te leukocita i neutrofila s fibrinogenom (Tablica 14). Nisu nađene povezanosti preostalih laboratorijskih pokazatelja.

Nakon 14 dana od 1. doze mRNA cjepiva potrebno je istaknuti dobru povezanost CRP-a i fibrinogena dok povezanosti između drugih pokazatelja nije bilo (Tablica 15).

Nakon 2. doze, uočen je slab stupanj povezanosti CRP-a i fibrinogena. Povezanosti između preostalih pokazatelja nije bilo (Tablica 16).

Prije cijepljenja Ad26.CoV2.S cjepivom kao i kod BNT162b2 cjepiva, uočava se statistički značajna, vrlo slaba povezanost CRP-a i IL-6 sa fibrinogenom (Tablica 17). Nakon 7 dana od cijepljenja, ta povezanost se gubi i ponovno uočava nakon 14 dana (Tablice 18 i 19). Inače je vrijednost CRP-a pokazala statistički značajan porast nakon cijepljenja u vektorskoj skupini ispitanika što je protumačeno jačim imunskim odgovorom kod adenovirusnih cjepiva.

Zaključno možemo reći da nije nađeno jake povezanosti između pojedinih laboratorijskih pokazatelja u obje skupine cjepiva. Primjećuje se sasvim razumljiva povezanost CRP-a i fibrinogena koja se jedino može okarakterizirati snažnijom u grupi mRNA ispitanika, nakon 14 dana od 1. doze.

6.4. Povezanost pokazatelja zgrušavanja i proupalnih pokazatelja s obilježjima ispitanika u definiranim točkama mjerenja

6.4.1. Povezanost sa spolom

U mRNA skupini cjepiva, žene su imale statistički više vrijednosti nekoliko koagulacijskih pokazatelja: fibrinogena (Tablica 26), F1+2 (Tablica 24), aktivnosti VWF-a (Tablica 28) i d-dimera (Tablica 27) u svim točkama mjerenja u odnosu na muškarce. Također, žene su imale statistički više vrijednosti PV-a prije ($P=0,021$) i nakon 2. doze cjepiva ($P=0,021$) (Tablica 7, Prilozi) u odnosu na muškarce. Nakon cijepljenja, žene su imale statistički više vrijednosti trombocita ($P=0,007$, Tablica 29) i velikog ET-1 ($P=0,021$, Tablica 25) u odnosu na suprotni spol. Naglašavamo još jednom da ispitanice u obje grupe cjepiva nisu uzimale hormonsku nadomjesnu ili oralnu kontraceptivnu terapiju a trudnice i žene u puerperiju nisu bile uključene u istraživanje.

Razlika u koagulacijskim pokazateljima mogla bi se objasniti utjecajem ženskih spolnih hormona. Epidemiološka studija Lova i sur. na gotovo 2000 ispitanika, od kojih je 50% žena, ukazala je na razlike u pokazateljima hemostaze ovisno o spolu i dobi (121). Naime, u usporedbi s muškarcima, žene u dobi između 25 i 34 godine imale su višu prosječnu razinu fibrinogena, F 1+2, TAT-a i F VIII. Žene u dobi između 35 i 44 godine imale su višu prosječnu razinu F 1+2 i TAT-a a u dobnoj skupini od 45 do 54 godine fibrinogena, u odnosu na muškarce. Conlan i sur. su u svom istraživanju utvrdili višu razinu FVIII i VWF-a u žena u odnosu na muškarce (122). Sultana je na uzorku od 2274 ispitanika našla viši PV kod žena (123). U našem istraživanju, medijan dobi ispitanika u mRNA skupini je 35 godina (IQR 29 -51 god.), dakle prevladava mlađa dobna skupina što temeljem navedene literature može objasniti inicijalnu razliku u pokazateljima hemostaze.

Polderman i sur. utvrdili su nižu razinu ET-1 u žena u odnosu na muškarce, a ta razlika je osobito bila naglašena u skupini trudnica (124). Transeksualne osobe - muškarci na terapiji estrogenom imali su niže vrijednosti ET-1 u odnosu na muškarce bez terapije. Žene na terapiji testosteronom imale su više razine ET-1 u odnosu na žene bez terapije. Navedeno sugerira da estrogeni smanjuju a testosteron podiže razinu ET-1. Nekoliko animalnih studije ukazale su na vazodilatatorni efekt estrogena (125, 126). U našem istraživanju razina velikog ET-1 u žena je bila statistički značajno viša u odnosu na muškarce samo u jednoj točki nakon cijepljenja. Možda bi veća razlika bila prisutna na uzorku s više ispitanika.

Promjene laboratorijskih pokazatelja unutar spolova generalno slijede učinak mRNA cjepiva neovisno o spolu (ranije prikazan). U žena su statistički značajne razlike između vremenskih točaka mjerenja utvrđene kod d-dimera ($P=0,021$) (Tablica 27) koji rastu nakon cijepjenja. Statistički značajan pad fibrinogena nakon cijepjenja zabilježen je kod muškaraca ($P=0,005$) (Tablica 26). Nakon cijepjenja, aktivnost VWF je statistički značajno niža u žena ($P=0,016$) (Tablica 28) i muškaraca ($P=0,008$) (Tablica 28). U oba spola, veliki ET-1 je statistički značajno viši nakon imunizacije (žene $P=0,029$, muškarci $P<0,001$) (Tablica 25).

U vektorskoj grupi cjepiva, kod žena, vrijednost d-dimera statistički je značajno viša prije i nakon cijepjenja ($P=0,021$, $P=0,010$) (tbl. 27) te F1+2 dana nakon cijepjenja ($P=0,023$) (tbl. 24). Kao i kod mRNA skupine navedeno se može objasniti utjecajem ženskih spolnih hormona. Što se pokazatelja upale tiče, kod muškaraca vrijednosti CRP-a bile su statistički više u sve tri vremenske točke (tbl. 21). Napominjemo da su vrijednosti CRP-a bile unutar granica normale a statistički značajna promjena nije imala kliničke reperkusije.

Promjene parametara po pojedinim vremenskim točkama unutar spolova slijede generalni trend neovisno o spolu. Kod žena, CRP raste ($P=0,031$) (Tablica 21) nakon cijepjenja dok aktivnost VWF i limfociti padaju ($P=0,003$, Tablica 28; $P=0,009$, Tablica 11, Prilozi). Kod muškaraca fibrinogen i aktivnost VWF bilježe porast nakon cijepjenja uz kasniji pad (statistički su značajno viši 7 dana nakon cijepjenja u usporedbi s preostale dvije točke mjerenja ($P=0,004$, Tablica 26; $P=0,003$, Tablica 28)).

U zaključku, možemo reći da su žene u obje skupine cjepiva imale i prije i nakon cijepjenja statistički više pokazatelje zgrušavanja, što tumačimo utjecajem ženskih spolnih hormona i ne može se pripisati imunizaciji. Promjene pokazatelja upale i hemostaze po spolu kod oba cjepiva suglasne su s onima zabilježenim neovisno o spolu. Temeljem naših opservacija, ne možemo zaključiti da utjecaj ova dva SARS-CoV-2 cjepiva na koagulacijske i proupalne pokazatelje ovisi o spolu ispitanika.

6.4.2. Povezanost sa dobi i indeksom tjelesne mase

Kod mRNA cjepiva, prije cijepljenja, konstatirana je povezanost F1+2 sa dobi te CRP-a s indeksom tjelesne mase (ITM) (Tablica 31). Poznato je da je rastuća životna dob povezana sa većom incidencijom duboke venske tromboze kao odraza povećane sklonosti zgrušavanju (127). Ta povećana koagulabilnost odraz je mnogobrojnih promjena u organizmu koje donosi starija životna dob poput veće incidencije zloćudnih bolesti, operativnih zahvata, kroničnih bolesti kod kojih se mogu naći i povećani upalni parametri (primjerice CRP) kao i hemostatski pokazatelji poput fibrinogena (128). Iako su obje povezanosti očekivane, u našem istraživanju riječ je o slaboj korelaciji. Nakon 7 dana od 1. doze, nađena je slaba povezanost F1+2 sa dobi, te ITM-a sa CRP-om, IL-6 i APTV-om. Nakon 14 dana od 1. doze, uz stariju životnu dob vežu se veće vrijednosti F1+2 a uz veći ITM i veće vrijednosti CRP-a odnosno niže vrijednosti APTV-a. Također, riječ je o slaboj povezanosti. Nakon 7 dana od 2. doze, možemo istaknuti slabu povezanost dobi sa IL-6, CRP-om i F1+2 te ITM-a sa IL-6, CRP-om i APTV-om. Uz napomenu slabije povezanosti, ovdje bismo zaključili da s dobi i debljinom rastu pokazatelji zgrušavanja i upale što je potpuno očekivano. Nakon 14 dana od 2. doze, ponovno se javlja povezanost ITM-a s IL-6, CRP-om i APTV-om, te dobi s CRP-om i F1+2. Riječ je o slaboj povezanosti.

Dakle, u skupini mRNA cjepiva, iako slaba, nađena je povezanost rastuće dobi i indeksa tjelesne mase s upalnim parametrima poput CRP-a te pokazateljima zgrušavanja kao što je F1+2. Ta korelacija prisutna je kako prije tako i nakon cijepljenja.

Kod vektorskog cjepiva, prije cijepljenja, nađena je slaba povezanost dobi s F1+2 te dobra povezanost ITM-a sa CRP-om. Isto se može zaključiti za preostale dvije vremenske točke (Tablica 32).

Zaključno, u obje vrste cjepiva, najveću povezanost, mada slabu, može se naći između indeksa tjelesne mase i CRP-a. Povezanost upale i debljine je odavno poznata i naširoko opisana u znanstvenoj literaturi (129). Iako u našem istraživanju nije bilo pretilih (ITM>30, prema definiciji SZO-e), dio ispitanika je imao prekomjernu tjelesnu težinu (gornja granica interkvartilnog raspona ITM-a u obje skupine cjepiva je 28 što spada u kategoriju pretilosti).

6.4.3. Povezanost s arterijskom hipertenzijom

Manji je udio ispitanika imao anamnezu arterijske hipertenzije (AH) (19% u mRNA skupini, 16% u vektorskoj). No, obzirom na rastuću znanstvenu literaturu u kojoj se opisuje povezanost SARS-CoV-2 cjepiva i arterijske hipertenzije, odlučili smo istražiti postoje li veće promjene pokazatelja zgrušavanja i upale nakon cijepljenja u ispitanika s i bez hipertenzije.

Angeli i sur. su temeljem meta analize studija koje u uključile preko 350 000 cijepljenih ispitanika, došli do učestalosti povišenog arterijskog tlaka nakon cijepljenja protiv SARS-CoV-2 od 3.20% (130). Kaur i sur. su na temelju podataka SZO-a naveli da se arterijska hipertenzija prijavila kao štetni događaj u 5.82% od 4863 slučajeva nakon cijepljenja s više vrsta SARS-CoV-2 cjepiva od kojih veliku većinu čine mRNA-1273, BNT162b2 i ChAdOx1 nCoV-19 cjepivo (131). Zappa i sur. su na grupi od 113 ispitanika cijepljenih BNT162b2 cjepivom, utvrdili povećanje sistoličkog ili dijastoličkog tlaka za ≥ 10 mmHg u prvih 5 dana nakon 1. doze u usporedbi sa samomjerenjem tijekom 5 dana prije cijepljenja (132). Prednost studije je što su svi ispitanici bili zdravstveni radnici pa je sistemska greška u nepravilnom mjerenju arterijskog tlaka značajno smanjena. Simonini i sur. temeljem svog istraživanja na 1800 zdravstvenih radnika prijavili su porast arterijskog tlaka u 8% ispitanika, novodijagnosticiranu arterijsku hipertenziju u 2% i pogoršanje od ranije poznate arterijske hipertenzije u 11% ispitanika nakon cijepljenja većinom BNT162b2 cjepivom (23% ispitanika je cijepljeno mRNA-1273 kao booster dozom) (133). Bouhanik i sur. su prijavili stupanj III arterijske hipertenzije u 3.2% od 21 000 procijepljenih BNT162b2 cjepivom a 37% ispitanika imalo je povišen arterijski tlak unutar 15 min od cijepljenja (134).

Europska baza podataka prijavljenih suspektnih neželjenih događaja (Eudravigilance) u 2021. godini prikupila je ukupno 5579 prijava povišenog arterijskog tlaka nakon SARS-CoV-2 cijepljenja, od čega je bilo 551 slučaj maligne hipertenzije odnosno hipertenzivne krize (2.90% od ukupnog broja prijavljenih incidenata) (135).

Potencijalni mehanizam koji dovodi do porasta arterijskog tlaka nije u potpunosti rasvijetljen. Dio znanstvenika smatra da je podloga neravnoteža između vazokonstriktornog angiotenzina II (ACE2) i njegova oponenta angiotenzina₁₋₇, uslijed gubitka ACE2 receptora vezanjem SARS-CoV-2 proteina šiljka (136, 137). Međutim ta teorija ne može objasniti skok arterijskog tlaka u kratkom vremenskom periodu nakon cijepljenja kod dijela prijavljenih slučajeva.

U našem istraživanju, ispitanici mRNA skupine s anamnezom arterijske hipertenzije imali su statistički više d-dimere prije cijepljenja ($P=0,048$) te 7 i 14 dana nakon 1. doze ($P=0,011$, $P=0,005$, tbl. 37) u odnosu na ispitanike bez arterijske hipertenzije. Više su bile i vrijednosti F1+2 prije cijepljenja ($P<0,001$), 7 i 14 dana nakon 1. doze ($P=0,011$, $P=0,045$) kao i 7 i 14 dana nakon 2. doze ($P=0,012$, $P<0,001$, tbl. 34). Razlike su dakle bile prisutne i prije cijepljenja što bi mogli tumačiti posljedicom promjena na endotelu krvnih žila kod ispitanika s arterijskom hipertenzijom. Međutim, riječ je o vrijednostima koje nisu patološke. Statistički značajnog porasta d-dimera i F1+2 unutar same skupine hipertoničara nije bilo. Nadalje, u obje skupine, dakle s i bez AH zabilježen je pad aktivnosti VWF-a 14 dana nakon 2 doze ($P=0,033$, $P=0,002$) (tbl. 38) što odgovara trendu kretanja aktivnosti VWF-a neovisno o podjeli prema anamnezi hipertenzije. Temeljem toga, ne možemo tvrditi da su osobe s arterijskom hipertenzijom podložnije utjecaju BNT162b2 cjepiva u vidu većeg prokoagulantnog odgovora.

Od upalnih parametara možemo izdvojiti statistički značajan porast IL-6 u skupini s AH nakon cijepljenja BNT162b2 cjepivom ($P=0,008$) (tbl. 32) te velikog ET-1 u skupini bez AH ($P=0,004$) (tbl. 35). Riječ je o diskretnim razlikama u stvarnim vrijednostima sa statističkom značajnošću koje su klinički asimptomatske.

U vektorskoj skupini cjepiva, ispitanici s hipertenzijom imali su statistički veće vrijednosti velikog ET-1 prije cijepljenja ($P=0,038$) (Tablica 35). Tek promatrajući kretanje laboratorijskih pokazatelja po vremenskim točkama unutar svake skupine (s i bez AH), primjećujemo nekoliko razlika u upalnim i pokazateljima zgrušavanja. Kod ispitanika s AH u vektorskoj skupini nakon imunizacije, statistički značajan porast bilježe vrijednosti fibrinogena ($P=0,021$, Tablica 36) i CRP-a ($P=0,019$) (Tablica 31). Nakon cijepljenja bilježi se statistički značajan pad aktivnosti VWF ($P=0,023$, Tablica 38) i d-dimera ($P=0,042$) (Tablica 37). Riječ je ipak o minimalnim razlikama u stvarnim vrijednostima a koje imaju statističku značajnost. Sve izmjerene vrijednosti su unutar referentnih intervala stoga se statistička značajnost ne može tumačiti u kontekstu patološke reakcije na cijepljenje.

Kod vektorskog cjepiva u skupini bez AH, nakon imunizacije značajno je manja aktivnost VWF-a ($P = 0,001$) (Tablica 38) no to nema nikakav klinički značaj. Isto možemo kazati za porast limfocita ($P<0,001$) (Tablica 17, Prilozi) nakon cijepljenja.

Nažalost, koliko je poznato do trenutka pisanja ove disertacije, ne postoje druga istraživanja pokazatelja hemostaze i upale nakon cijepljenja sa SARS-CoV-2 cjepivima u ispitanika s arterijskom hipertenzijom. Kao što smo naveli na početku, broj ispitanika s

arterijskom hipertenzijom u ovom istraživanju je premalen da bi se donijeli znanstveno utemeljeni zaključci stoga ne možemo tvrditi da cijepljenje BNT162b2 i Ad26.CoV2.S cjepivom ima veći upalni i prokoagulantni učinak ovisno o anamnezi arterijske hipertenzije.

6.5. Protutijela na trombocitni faktor-4

Rezultati određivanja anti-PF4 kod svih ispitanika za oba cjepiva u svim točkama mjerenja bili su negativni.

6.6. Ograničenja istraživanja

Ovo istraživanje je uključilo relativno malen broj ispitanika čemu se pokušalo doskočiti većim brojem vremenskih točaka mjerenja pokazatelja upale i hemostaze. Kako je ranije navedeno, kod oblikovanja ovog istraživanja, vremenski okvir određen je temeljem znanstvenih spoznaja o VITT-u, čija klinička slika postaje evidentna 5-30 dana nakon cijepljenja. Međutim, obzirom na uočenu dinamiku kretanja proupalnih i koagulacijskih parametara nakon imunizacije, smatramo da bi točka mjerenja bliže samom cijepljenju (48-72h) znatno pridonijela razumijevanju utjecaja cjepiva na sustav zgrušavanja i upale. Ipak, to bi moglo utjecati na odluku ispitanika da se pridržavaju vremenskog okvira istraživanja, tim više što bi ta ranija točka mjerenja u većini slučajeva bila neradnim danima (vikendom). Nadalje, u istraživanju nismo određivali razlike u pokazateljima upale i zgrušavanja između ispitanika koji su imali COVID-19 i onih bez anamneze preboljenja. Smatramo da se time nije narušila kvaliteta rezultata obzirom da je većina ispitanika preboljela COVID-19 bolest nakon cijepljenja. Isto tako, svi ispitanici s pozitivnom anamnezom, preboljeli su COVID-19 najmanje 6 mjeseci prije cijepljenja (preporuka Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo bila je da razmak između preboljenja i cijepljenja bude najmanje 6 mjeseci). Na taj način, preboljenje COVID-19 bolesti nije utjecalo na dinamiku laboratorijskih pokazatelja.

7. ZAKLJUČAK

- Nakon cijepljenja BNT162b2 i Ad26.CoV2.S cjepivom, zabilježen je porast d-dimera ($P=0,004$). Riječ je o diskretnim ali statistički značajnim promjenama koje se mogu objasniti od ranije poznatom blagom reakcijom na cijepljenje.
- CRP se pokazao statistički značajno višim ($P=0,014$) u skupini ispitanika procijepljenih vektorskim cjepivom Ad26.CoV2.S 7 dana nakon cijepljenja u usporedbi sa skupinom ispitanika cijepljenih s mRNA BNT162b2 cjepivom u istoj vremenskoj točki.
- Niti kod jednog ispitanika, neovisno o vrsti cjepiva, nije zabilježena teža sistemska reakcija na cijepljenje niti tromboembolijski incident (uključujući i period od 6 mjeseci nakon cijepljenja).
- Iako su pronađene statistički značajne povezanosti između pojedinih pokazatelja zgrušavanja i upale, njihova korelacija je slaba.
- Žene su u obje skupine cjepiva imale i prije i nakon cijepljenja statistički više pokazatelje zgrušavanja, prije svega d-dimere. Promjene laboratorijskih pokazatelja unutar spolova slijede generalni trend učinka SARS-CoV-2 cjepiva neovisno o spolu.
- Na temelju rezultata istraživanja ne možemo tvrditi da cijepljenje BNT162b2 i Ad26.CoV2.S cjepivom ima veći upalni i prokoagulantni učinak ovisno o anamnezi arterijske hipertenzije.

Zaključno, naše istraživanje nije ukazalo na simptomatsku prokoagulantnu narav BNT162b2 i Ad26.CoV2.S cjepiva. Predložena hipoteza „*Koronavirusno vektorsko cjepivo Ad26.CoV2.S ima veći prokoagulantni i proupalni učinak od koronavirusnog mRNA cjepiva BNT162b2*“ potvrđena je samo djelomično. Temeljem statistički dokazane više vrijednosti CRP-a kod ispitanika vektorske skupine nakon cijepljenja, zaključujemo da Ad26.CoV2.S cjepivo ima veći proupalni učinak od BNT162b2 cjepiva.

8. SAŽETAK

Glavni cilj ovog prospektivnog opservacijskog istraživanja bio je ispitati utjecaj mRNA BNT162b2 i vektorskog Ad26.CoV2.S cjepiva protiv SARS-CoV-2 na pokazatelje zgrušavanja i upale.

Istraživanje je obuhvatilo 87 ispitanika u mRNA skupini (prosječne dobi 35 god, udio žena 59%) i 84 u vektorskoj skupini (prosječne dobi 44 godine, udio muškaraca 52%) kojima su određivani laboratorijski pokazatelji (TAT, F1+2, d-dimeri, IL-6, veliki ET-1, fibrinogen, VWF:Ac, CRP, KKS) prije, 7 i 14 dana nakon cijepljenja vektorskim, odnosno prije, 7 i 14 dana nakon 1. i 2. doze mRNA cjepiva.

Nakon cijepljenja zabilježen je porast vrijednosti d-dimera ($P=0,004$) i pad aktivnosti VWF-a u obje skupine ($P<0,001$ u) te porast CRP-a ($P=0,006$) u vektorskoj i velikog ET-1 ($P<0,001$) u mRNA grupi. Veći CRP ($P=0,014$) zabilježen je 7 dana nakon cijepljenja vektorskim cjepivom u odnosu na mRNA cjepivo. Kod svih ispitanika isključena je prisutnost protutijela na trombociti faktor 4.

Zaključno, statistički značajne razlike pokazatelja zgrušavanja i upale u našem istraživanju mogu se pripisati opće poznatoj i očekivanoj blagoj reakciji na cijepljenje SARS-CoV-2 cjepivima. Niti jedan ispitanik nije imao tromboembolijski incident u 6-mjesečnom periodu praćenja nakon cijepljenja.

9. SUMMARY

The effect of BNT162b2 and Ad26.CoV2.S coronavirus vaccines on the parameters of hemostasis and inflammation, Iva Ivanko, 2024

The main aim of our study was to investigate the effect of mRNA BNT162b2 and vector Ad26.CoV2.S vaccine against SARS-CoV-2 on the markers of hemostasis and inflammation.

The study included 87 subjects in the mRNA group (median age 35 years, 59% of women) and 84 (median age 44 years, 52% of men) in the vector group. All the laboratory parameters (TAT, F1+2, d-dimers, VWF:Ac, fibrinogen, big ET-1, CRP, CBC) were investigated before, 7 and 14 days after the vaccination in the vector group and before, 7 and 14 day after the 1st and 2nd dose in the mRNA group.

After vaccination with both vaccines higher levels of d-dimers ($P=0.004$) and lower levels of VWF:Ac ($P<0,001$) were noted. CRP levels were elevated ($P=0.006$) in the vector group while in the mRNA group, higher levels of big ET-1 ($P<0,001$) were noted. Higher CRP levels ($P=0.014$) were present 7 days after the vector vaccine immunisation in comparison with the mRNA vaccine. All the study participants tested negative for platelet factor 4 antibodies.

In conclusion, although statistically significant changes in the parameters of hemostasis and inflammation have been obtained, they remained clinically irrelevant (no thromboembolic events have been noted in the 6-months surveillance period) and can be contributed to the wellknown reaction to the vaccination.

10. POPIS LITERATURE

- 1 Archived: WHO Timeline – COVID-19 [Internet]. World Health Organization; 2020 [pristupljeno 10.03.2023.]. Dostupno na: <https://www.who.int/news/item/27-04-2020-who-timeline---covid-19>
- 2 Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, i sur. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* 2020;382:727-33.
- 3 Chan JF, Lau SK, To KK, Cheng VC, Woo PC, Yuen KY. Middle East respiratory syndrome coronavirus: another zoonotic betacoronavirus causing SARS-like disease. *Clin Microbiol Rev.* 2015;28(2):465-522.
- 4 WHO MERS-CoV Global Summary and Assessment of Risk, July 2019 (WHO/MERS/RA/19.1) [Internet]. World Health Organization; 2019 [pristupljeno 10.03.2023.]. Dostupno na: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-MERS-RA-19.1>
- 5 Woo PC, Lau SK, Lam CS, Lau CC, Tsang AK, Lau JH, i sur. Discovery of seven novel Mammalian and avian coronaviruses in the genus deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of alphacoronavirus and betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and deltacoronavirus. *J Virol.* 2012;86(7):3995-4008.
- 6 WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard [Internet]. World Health Organization; 2023 [pristupljeno 10.03.2023.]. Dostupno na: <https://covid19.who.int/>
- 7 COVID-19 – priopćenje prvog slučaja [Internet]. Hrvatski zavod za javno zdravstvo; 2020 [pristupljeno 10.03.2023.]. Dostupno na: <https://www.hzjz.hr/priopcenja-mediji/covid-19-priopcenje-prvog-slucaja/>
- 8 Jackson CB, Farzan M, Chen B, Choe H. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2022;23(1):3-20.

9 Kumar A, Narayan RK, Kumari C, Faiq MA, Kulandhasamy M, Kant K, i sur. SARS-CoV-2 cell entry receptor ACE2 mediated endothelial dysfunction leads to vascular thrombosis in COVID-19 patients. *Med Hypotheses*. 2020;145:e110320.

10 Hikmet F, Méar L, Edvinsson Å, Micke P, Uhlén M, Lindskog C. The protein expression profile of ACE2 in human tissues. *Mol Syst Biol*. 2020;16(7):e9610.

11 Swenson KE, Swenson ER. Pathophysiology of Acute Respiratory Distress Syndrome and COVID-19 Lung Injury. *Crit Care Clin*. 2021;37(4):749-76.

12 Montazersaheb S, Hosseiniyan Khatibi SM, Hejazi MS, Tarhriz V, Farjami A, Ghasemian Sorbeni F, i sur. COVID-19 infection: An overview on cytokine storm and related interventions. *Virology Journal*. 2022;19(1):1-5.

13 Khalil BA, Elemam NM, Maghazachi AA. Chemokines and chemokine receptors during COVID-19 infection. *Comput Struct Biotechnol J*. 2021;19:976-88.

14 Al-Samkari H, Karp Leaf RS, Dzik WH, Carlson JCT, Fogerty AE, Waheed A, i sur. COVID-19 and coagulation: bleeding and thrombotic manifestations of SARS-CoV-2 infection. *Blood*. 2020;136(4):489-500.

15 Ejaz H, Alsrhani A, Zafar A, Javed H, Junaid K, Abdalla AE, i sur. COVID-19 and comorbidities: Deleterious impact on infected patients. *J Infect Public Health*. 2020;13(12):1833-9.

16 Zhang L, Yan X, Fan Q, Liu H, Liu X, Liu Z, i sur. D-dimer levels on admission to predict in-hospital mortality in patients with Covid-19. *J Thromb Haemost*. 2020;18(6):1324-9.

17 Yao Y, Cao J, Wang Q, Shi Q, Liu K, Luo Z, i sur. D-dimer as a biomarker for disease severity and mortality in COVID-19 patients: a case control study. *J Intensive Care*. 2020;8:49.

- 18 Al-Samkari H, Song F, Van Cott EM, Kuter DJ, Rosovsky R. Evaluation of the prothrombin fragment 1.2 in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Am J Hematol.* 2020;95(12):1479-85.
- 19 Alabyad D, Rangaraju S, Liu M, Imran R, Kempton CL, Sharifpour M, i sur. Validation of an admission coagulation panel for risk stratification of COVID-19 patients. *PLoS ONE.* 2021;16(3):0248230.
- 20 Pelzer H, Schwarz A, and Heimbürger N. Determination of human thrombin antithrombin III complex in plasma with an enzyme-linked immunosorbent assay. *Thromb Haemost.* 1988;59:101–16.
- 21 Takeshita Y, Terada J, Hirasawa Y, Kinoshita T, Tajima H, Koshikawa K, i sur. Elevated TAT in COVID-19 Patients with Normal D-Dimer as a Predictor of Severe Respiratory Failure: A Retrospective Analysis of 797 Patients. *Journal of Clinical Medicine* 2021;11:134.
- 22 Bohn MK, Hall A, Sepiashvili L, Jung B, Steele S, Adeli K. Pathophysiology of COVID-19: Mechanisms Underlying Disease Severity and Progression. *Physiology (Bethesda).* 2020;35:288–301.
- 23 Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, i sur. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020;395:497-506.
- 24 Vieceli Dalla Sega F, Fortini F, Spadaro S, Ronzoni L, Zucchetti O, Manfrini M, i sur. Time course of endothelial dysfunction markers and mortality in COVID-19 patients: A pilot study. *Clin Transl Med.* 2021;11(3):e283.
- 25 Xu M, Lu YP, Hasan AA, Hoher B. Plasma ET-1 Concentrations are Elevated in Patients with Hypertension - Meta-Analysis of Clinical Studies. *Kidney Blood Press Res.* 2017;42(2):304-13.

26 Weil BR, Westby CM, Van Guilder GP, Greiner JJ, Stauffer BL, DeSouza CA. Enhanced endothelin-1 system activity with overweight and obesity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011;301:689–96.

27 Freeman BD, Machado FS, Tanowitz HB, Desruisseaux MS. Endothelin-1 and its role in the pathogenesis of infectious diseases. *Life Sci*. 2014;118(2):110-19.

28 Ladikou EE, Sivaloganathan H, Milne KM, Arter WE, Ramasamy R, Saad R, i sur. Von Willebrand factor (vWF): marker of endothelial damage and thrombotic risk in COVID-19? *Clin Med (Lond)*. 2020;20(5):178-82.

29 Rauch A, Labreuche J, Lassalle F, Goutay J, Caplan M, Charbonnier L, i sur. Coagulation biomarkers are independent predictors of increased oxygen requirements in COVID-19. *J Thromb and Haemost*. 2020;18(11):2942-53.

30 Fara A, Mitrev Z, Rosalia RA, Assas BM. Cytokine storm and COVID-19: a chronicle of pro-inflammatorycytokines. *Open Bio*. 2020;10(9):200160.

31 Pamukçu B. Inflammation and thrombosis in patients with COVID-19: A prothrombotic and inflammatory disease caused by SARS coronavirus-2. *Anatol J Cardiol*. 2020;24(4):224-34.

32 Teymouri M, Mollazadeh S, Mortazavi H, Ghale-Noie ZN, Keyvani V, Aghababaei F, i sur. Recent advances and challenges of RT-PCR tests for the diagnosis of COVID-19. *Pathol Res Pract*. 2021;221:153443.

33 Colgrove R, Bruno-Murtha LA, Chastain CA, Hanson KE, Lee F, Odom John AR, i sur. Tale of the Titters: Serologic Testing for SARS-CoV-2-Yes, No, and Maybe, With Clinical Examples From the IDSA Diagnostics Committee. *Open Forum Infect Dis*. 2022;10(1):ofac674.

34 Mulligan MJ, Lyke KE, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, i sur. Phase I/II study of COVID-19 RNA vaccine BNT162b1 in adults. *Nature*. 2020;586(7830):589-93.

35 Wall EC, Wu M, Harvey R, Kelly G, Warchal S, Sawyer C, i sur. Neutralising antibody activity against SARS-CoV-2 VOCs B. 1.617. 2 and B. 1.351 by BNT162b2 vaccination. *The Lancet*. 2021;397(10292):2331-3.

36 Dighriri IM, Alhusayni KM, Mobarki AY, Aljerary IS, Alqurashi KA, Aljuaid FA, i sur. Pfizer-BioNTech COVID-19 vaccine (BNT162b2) side effects: a systematic review. *Cureus*. 2022;14(3).

37 Albakri K, Khaity A, Atwan H, Saleh O, Al-Hajali M, Cadri S, i sur. Bell's Palsy and COVID-19 Vaccines: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Vaccines (Basel)*. 2023;11(2):236.

38 Baden LR, El Sahly HM, Essink B, Kotloff K, Frey S, Novak R, i sur. Efficacy and safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 vaccine. *N Engl J Med*. 2021;384(5):403-16.

39 Kadali RA, Janagama R, Peruru S, Gajula V, Madathala RR, Chennaiahgari N, i sur. Non-life-threatening adverse effects with COVID-19 mRNA-1273 vaccine: A randomized, cross-sectional study on healthcare workers with detailed self-reported symptoms. *J Med Virol*. 2021;93(7):4420-9.

40 Sadoff J, Gray G, Vandebosch A, Cárdenas V, Shukarev G, Grinsztejn B, i sur. Safety and efficacy of single-dose Ad26. COV2. S vaccine against Covid-19. *N Engl J Med*. 2021;384(23):2187-201.

41 Hanson KE, Goddard K, Lewis N, Fireman B, Myers TR, Bakshi N, i sur. Incidence of Guillain-Barré Syndrome After COVID-19 Vaccination in the Vaccine Safety Datalink. *JAMA Netw Open*. 2022;5(4):e228879.

42 COVID-19 Vaccine Janssen: EMA finds possible link to very rare cases of unusual blood clots with low blood platelets [Internet]. European Medicines Agency; 2021 [pristupljeno 25.04.2023.]. Dostupno na: <https://www.ema.europa.eu/en/news/covid-19-vaccine-janssen-ema-finds-possible-link-very-rare-cases-unusual-blood-clots-low-blood>

- 43 Heath PT, Galiza EP, Baxter DN, Boffito M, Browne D, Burns F, i sur. Safety and efficacy of NVX-CoV2373 Covid-19 vaccine. *N Engl J Med.* 2021;385(13):1172-83.
- 44 Carli G, Nichele I, Ruggeri M, Barra S, Tosetto A. Deep vein thrombosis (DVT) occurring shortly after the second dose of mRNA SARS-CoV-2 vaccine. *Intern Emerg Med.* 2021;16(3):803-4.
- 45 Al-Maqbali JS, Al Rasbi S, Kashoub MS, Al Hinaai AM, Farhan H, Al Rawahi B, i sur. A 59-Year-Old Woman with Extensive Deep Vein Thrombosis and Pulmonary Thromboembolism 7 Days Following a First Dose of the Pfizer-BioNTech BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine. *Am J Case Rep.* 2021;22:932946.
- 46 Muir KL, Kallam A, Koepsell SA, Gundabolu K. Thrombotic Thrombocytopenia after Ad26.COV2.S Vaccination. *N Engl J Med.* 2021;384:1964-5.
- 47 Schultz NH, Sørvoll IH, Michelsen AE, Munthe LA, Lund-Johansen F, Ahlen MT, i sur. Thrombosis and Thrombocytopenia after ChAdOx1 nCoV-19 Vaccination. *N Engl J Med.* 2021;384(22):2124-30.
- 48 Franchini M. Heparin-induced thrombocytopenia: an update. *Thromb J.* 2005;3:14.
- 49 Huynh A, Kelton JG, Arnold DM, Daka M, Nazy I. Antibody epitopes in vaccine-induced immune thrombotic thrombocytopenia. *Nature.* 2021;596(7873):565-9.
- 50 Greinacher A, Selleng K, Palankar R, Wesche J, Handtke S, Wolff M, i sur. Insights in ChAdOx1 nCoV-19 vaccine-induced immune thrombotic thrombocytopenia. *Blood.* 2021;138(22):2256-68.
- 51 See I, Lale A, Marquez P, Streiff MB, Wheeler AP, Tepper NK, i sur. Case Series of Thrombosis With Thrombocytopenia Syndrome After COVID-19 Vaccination-United States, December 2020 to August 2021. *Ann Intern Med.* 2022;175(4):513-22.

52 Schultz NH, Sørvoll IH, Michelsen AE, Munthe LA, Lund-Johansen F, Ahlen MT, i sur. Thrombosis and Thrombocytopenia after ChAdOx1 nCoV-19 Vaccination. *N Engl J Med.* 2021;384(22):2124-30.

53 COVID-19: Vaccine-induced immune thrombotic thrombocytopenia (VITT) [Internet]. Up to date [pristupljeno 25.03.2023.]. Dostupno na: https://www.uptodate.com/contents/covid-19-vaccine-induced-immune-thrombotic-thrombocytopenia-vitt?source=mostViewed_widget

54 Pavord S, Scully M, Hunt BJ, Lester W, Bagot C, Craven B, i sur. Clinical Features of Vaccine-Induced Immune Thrombocytopenia and Thrombosis. *N Engl J Med.* 2021;385(18):1680-9.

55 Houghton DE, Wysokinski W, Casanegra AI, Padrnos LJ, Shah S, Wysokinska E, i sur. Risk of venous thromboembolism after COVID-19 vaccination. *J Thromb Haemost.* 2022;20(7):1638-44.

56 Gaddh M, Scott D, Wysokinski WE, McBane RD, Casanegra AI, Baumann Kreuziger L, i sur. Comparison of Venous Thromboembolism Outcomes after COVID-19 and Influenza Vaccinations. *TH Open.* 2023;7(4):e303-8.

57 Statement: Increased number of reported cases of novel presentation of multisystem inflammatory disease. [Internet]. Paediatric Intensive Care Society, United Kingdom; 2020 [pristupljeno 27.06.2023.]. Dostupno na: <https://pccsociety.uk/wp-content/uploads/2020/04/PICS-statement-re-novel-KD-C19-presentation-v2-27042020.pdf>.

58 Multisystem inflammatory syndrome in children and adolescents with COVID-19: scientific brief, 15 May 2020. [Internet]. World Health Organization, Geneva; 2020 [pristupljeno 27.06.2023.]. Dostupno na: <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/multisystem-inflammatory-syndrome-in-children-and-adolescents-with-covid-19>

59 Radia T, Williams N, Agrawal P, Harman K, Weale J, Cook J, i sur. Multi-system inflammatory syndrome in children & adolescents (MIS-C): A systematic review of clinical features and presentation. *Paediatr Respir Rev.* 2021;38:51-7.

60 Dufort EM, Koumans EH, Chow EJ, Rosenthal E, Muse A, Rowlands J, i sur. Multisystem Inflammatory Syndrome in Children in New York State. *N Engl J Med.* 2020;383(4):347-58.

61 Morris SB, Schwartz NG, Patel P, Abbo L, Beauchamps L, Balan S, i sur. Case series of multisystem inflammatory syndrome in adults associated with SARS-CoV-2 infection—United Kingdom and United States, March–August 2020. *MMWR.* 2020;69(40):1450.

62 Choi YK, Moon JY, Kim J, Yoo IS, Kwon GY, Bae H, i sur. Postvaccination Multisystem Inflammatory Syndrome in Adult with No Evidence of Prior SARS-CoV-2 Infection. *Emerg Infect Dis.* 2022;28(2):411-4.

63 Nune A, Iyengar KP, Goddard C, Ahmed AE. Multisystem inflammatory syndrome in an adult following the SARS-CoV-2 vaccine (MIS-V). *BMJ Case Rep.* 2021;14(7):e243888.

64 Brown M, Garbajs NZ, Zec S, Mushtaq H, Khedr A, Jama AB, i sur. A Case of Adult Multisystem Inflammatory Syndrome Following COVID-19 Vaccine. *J Community Hosp Intern Med Perspect.* 2022;12(4):7-13.

65 Bova C, Vigna E, Gentile M. Multisystem Inflammatory Syndrome after Ad26.COV2.S vaccination. *IDCases.* 2022;27:e01411.

66 Meeting highlights from the Pharmacovigilance Risk Assessment Committee (PRAC) 30 August–2 September 2021. [Internet]. European Medicines Agency; 2021 [pristupljeno 27.06.2023.]. Dostupno na: <https://www.ema.europa.eu/en/news/meeting-highlights-pharmacovigilance-risk-assessment-committee-prac-30-august-2-september-2021>

67 Jain E, Donowitz JR, Aarons E, Marshall BC, Miller MP. Multisystem Inflammatory Syndrome in Children after SARS-CoV-2 Vaccination. *Emerg Infect Dis.* 2022;28(5):990-3.

68 Ouldali N, Bagheri H, Salvo F, Antona D, Pariente A, Leblanc C, i sur. Hyper inflammatory syndrome following COVID-19 mRNA vaccine in children: A national post-authorization pharmacovigilance study. *The Lancet*. 2022;17.

69 Levy M, Recher M, Hubert H, Javouhey E, Fléchelles O, Leteurtre S, i sur. Multisystem inflammatory syndrome in children by COVID-19 vaccination status of adolescents in France. *JAMA*. 2022;327:281–3.

70 Zambrano LD, Newhams MM, Olson SM, Halasa NB, Price AM, Boom JA, i sur. Overcoming COVID-19 Investigators. Effectiveness of BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) mRNA vaccination against multisystem inflammatory syndrome in children among persons aged 12–18 years—United States, July–December 2021. *MMWR*. 2022;71:52–8.

71 Meinhardt J, Radke J, Dittmayer C, Franz J, Thomas C, Mothes R, i sur. Olfactory transmucosal SARS-CoV-2 invasion as a port of central nervous system entry in individuals with COVID-19. *Nat Neurosci*. 2021;24(2):168-75.

72 Robles JP, Zamora M, Adan-Castro E, Siqueiros-Marquez L, Martinez de la Escalera G, Clapp C. The spike protein of SARS-CoV-2 induces endothelial inflammation through integrin $\alpha 5\beta 1$ and NF- κ B signaling. *J Biol Chem*. 2022;298(3):101695.

73 Peyvandi F, Scalabrino E, Clerici M, Lecchi A, Revelli N, Palla R, i sur. No changes of parameters nor coagulation activation in healthy subjects vaccinated for SARS-Cov-2. *Thromb Update*. 2021;4:100059.

74 de Laat B, Stragier H, de Laat-Kremers R, Ninivaggi M, Mesotten D, Thiessen S, i sur. Population-wide persistent hemostatic changes after vaccination with ChAdOx1-S. *Front Cardiovasc Med*. 2022;9:966028.

75 De Jongh R, Ninivaggi M, Mesotten D, Bai C, Marcus B, Huskens D, i sur. Vascular activation is a strong predictor of mortality in coronavirus disease 2019 patients on the ICU. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2021;32(4):290-3.

76 Ostrowski SR, Søgaard OS, Tolstrup M, Stærke NB, Lundgren J, Østergaard L, i sur. Inflammation and Platelet Activation After COVID-19 Vaccines - Possible Mechanisms Behind Vaccine-Induced Immune Thrombocytopenia and Thrombosis. *Front Immunol.* 2021;12:779453.

77 Brambilla M, Canzano P, Valle PD, Becchetti A, Conti M, Alberti M, i sur. Head-to-head comparison of four COVID-19 vaccines on platelet activation, coagulation and inflammation. The TREASURE study. *Thromb Res.* 2023;223:24-33.

78 Miyashita Y, Yoshida T, Takagi Y, Tsukamoto H, Takashima K, Kouwaki T, i sur. Circulating extracellular vesicle microRNAs associated with adverse reactions, proinflammatory cytokine, and antibody production after COVID-19 vaccination. *NPJ Vaccines.* 2022;7(1):16.

79 Flego D, Cesaroni S, Romiti GF, Corica B, Marrapodi R, Scafa N, i sur. Platelet and immune signature associated with a rapid response to the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine. *J Thromb Haemost.* 2022;20(4):961-74.

80 Terentes-Printzios D, Gardikioti V, Solomou E, Emmanouil E, Gourgouli I, Xydis P, i sur. The effect of an mRNA vaccine against COVID-19 on endothelial function and arterial stiffness. *Hypertens Res.* 2022;45:846-55.

81 Lim XR, Leung BP, Sum CLL, Lim GH, Chua CG, Tu TM, i sur. BNT162b2 mRNA SARS-CoV-2 vaccination does not cause upregulation of endothelial activation markers or hypercoagulability: A prospective, single-arm, longitudinal study. *Am J Hematol.* 2022;97(4):141-4.

82 Colling ME, Ay C, Kraemmer D, Koder S, Quehenberger P, Pabinger I, i sur. Lupus anticoagulant test persistence over time and its associations with future thrombotic events. *Blood Adv.* 2022;6(10):2957-66.

- 83 Merlini PA, Ardissino D. Laboratory Measurement of Thrombin Activity--What Every Clinician Scientist Needs to Know. *J Thromb Thrombolysis*. 1995;2(2):85–92.
- 84 Páramo JA. Prothrombin fragments in cardiovascular disease. *Adv Clin Chem*. 2010;51:1-23.
- 85 Hellgren M. Hemostasis during normal pregnancy and puerperium. *Semin Thromb Hemost*. 2003;29(2):125–30.
- 86 Kawai Y, Shiomi T, Ono H, Katagiri H, Uchida R, Sugisaki N, i sur. Evaluation of plasma prothrombin fragment 1+2 in healthy donors and thrombotic diseases. *Rinsho Byori*. 1994;42(1):57-62.
- 87 Hoek JA, Sturk A, ten Cate JW, Lamping RJ, Berends F, Borm JJ. Laboratory and clinical evaluation of an assay of thrombin-antithrombin III complexes in plasma. *Clin Chem*. 1988;34(10):2058-62.
- 88 Said EA, Al-Reesi I, Al-Shizawi N, Jaju S, Al-Balushi MS, Koh CY, i sur. Defining IL-6 levels in healthy individuals: A meta-analysis. *J Med Virol*. 2021;93(6):3915-24.
- 89 Clark IA, Virelizier JL, Carswell EA, Wood PR. Possible importance of macrophage-derived mediators in acute malaria. *Infection and Immunity*. 1981;32(3):1058-66.
- 90 Clark IA. Suggested importance of monokines in pathophysiology of endotoxin shock and malaria. *Wien Klin Wochenshr*. 1982;60:756-8.
- 91 Ferrara JM, Abhyankar S, Gilliland DG. Cytokine storm of graft-versus-host disease: a critical effector role for interleukin-1. *Transplant Proc*. 1993;25(1):1216-7.
- 92 Zhao L, Cao YJ. Engineered T cell therapy for cancer in the clinic. *Front Immunol*. 2019; 10: 2250.

- 93 Hansel TT, Kropshofer H, Singer T, Mitchell JA, George AJ. The safety and side effects of monoclonal antibodies. *Nat Rev Drug Discov.* 2010;9(4):325-38.
- 94 Prompetchara E, Ketloy C, Palaga T. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 2020;38(1):1-9.
- 95 Pedersen SF, Ho YC. SARS-CoV-2: a storm is raging. *Journal Clin Invest.* 2020;130(5):2202-5.
- 96 Atal S, Fatima Z. IL-6 inhibitors in the treatment of serious COVID-19: a promising therapy? *Pharmaceut Med.* 2020;3:223–31.
- 97 Michot JM, Albiges L, Chaput N, Saada V, Pommeret F, Griscelli F i sur. Tocilizumab, an anti-IL-6 receptor antibody, to treat COVID-19-related respiratory failure: a case report. *Ann Oncol.* 2020;31(7):961-4.
- 98 Yanagisawa, M. The endothelin system. A new target for therapeutic intervention. *Circulation.* 1994;89:1320–2.
- 99 Gasic S, Wagner OF, Vierhapper H, Nowotny P, Waldhäusl W. Regional hemodynamic effects and clearance of endothelin-1 in humans: renal and peripheral tissues may contribute to the overall disposal of the peptide. *J Cardiovasc. Pharmacol.* 1992;19(2):176-80.
- 100 Lyu SQ, Zhu J, Wang J, Wu S, Zhang H, Shao XH, i sur. Plasma Big Endothelin-1 Levels and Long-Term Outcomes in Patients With Atrial Fibrillation and Acute Coronary Syndrome or Undergoing Percutaneous Coronary Intervention. *Front Cardiovasc Med.* 2022;9:756082.
- 101 Abraham GR, Kuc RE, Althage M, Greasley PJ, Ambery P, Maguire JJ, i sur. Endothelin-1 is increased in the plasma of patients hospitalised with Covid-19. *J Mol Cell Cardiol.* 2022;167:92-6.

- 102 Messina F, Giombini E, Agrati C, Vairo F, Ascoli Bartoli T, Al Moghazi S, i sur. COVID-19: viral–host interactome analyzed by network based-approach model to study pathogenesis of SARS-CoV-2 infection. *J Transl Med.* 2020;18:1-0.
- 103 Warkentin TE, Basciano PA, Knopman J, Bernstein RA. Spontaneous heparin-induced thrombocytopenia syndrome: 2 new cases and a proposal for defining this disorder. *Blood.* 2014;123(23):3651-4.
- 104 Hassan SM. Investigation of Some Biochemistry Markers in COVID-19 Vaccinated Iraqi Individuals. *Egypt J Chem.* 2022;65(5):571-33.
- 105 Jackson LA, Anderson EJ, Roupael NG, Roberts PC, Makhene M, Coler RN, i sur. An mRNA vaccine against SARS-CoV-2—preliminary report. *N Engl J Med.* 2020;383(20):1920-31.
- 106 Esmon CT. The interactions between inflammation and coagulation. *Br J Heamatol.* 2005;131(4):417-30.
- 107 Khalil RH, Al-Humadi N. Types of acute phase reactants and their importance in vaccination. *Biomed Rep.* 2020;12(4):143-52.
- 108 Tsai MY, Hanson NQ, Straka RJ, Hoke TR, Ordovas JM, Peacock JM, i sur. Effect of influenza vaccine on markers of inflammation and lipid profile. *J Lab Clin Med.* 2005;145(6):323-7.
- 109 Keiser PB, Miller LB, Biggs-Cicatelli S, Zollinger WD. Plasma fibrinogen levels after vaccination with a native outer membrane vesicle vaccine for *Neisseria meningitidis*. *Vaccine.* 2009;27(49):6809-13.
- 110 van Gool J, van Vugt H, de Bont E. The effect of acute-phase proteins on inflammation edema due to vaccination. *Ned Tijdschr Geneesk* 1989;133(16):822–7.
- 111 Mussbacher M, Salzmann M, Brostjan C, Hoesel B, Schoergenhofer C, Datler H, i sur. Cell type-specific roles of nf-kappab linking inflammation and thrombosis. *Front Immunol.* 2019;10:85.

- 112 Freeman BD, Machado FS, Tanowitz HB, Desruisseaux MS. Endothelin-1 and its role in the pathogenesis of infectious diseases. *Life Sci.* 2014;118(2):110-9.
- 113 Sadoff J, Le Gars M, Shukarev G, Heerwegh D, Truyers C, de Groot AM, i sur. Interim Results of a Phase 1-2a Trial of Ad26.COV2.S Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med.* 2021;384(19):1824-35.
- 114 Voysey M, Clemens SA, Madhi SA, Weckx LY, Folegatti PM, Aley PK, i sur. Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK. *The Lancet.* 2021;397(10269):99-111.
- 115 Barrett JR, Belij-Rammerstorfer S, Dold C, Ewer KJ, Folegatti PM, Gilbride C, i sur. Phase 1/2 trial of SARS-CoV-2 vaccine ChAdOx1 nCoV-19 with a booster dose induces multifunctional antibody responses. *Nat Med.* 2021;27(2):279-88.
- 116 Petit E, Colonna E, Falcinelli E, Mezzasoma AM, Cesari E, Giglio E, i sur. Anti-severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 adenoviral-vector vaccines trigger subclinical antiplatelet autoimmunity and increase of soluble platelet activation markers. *Br J Haematol.* 2022;198(2):257-66.
- 117 Campello E, Bulato C, Simion C, Spiezia L, Radu CM, Gavasso S, i sur. Assessing Clinically Meaningful Hypercoagulability after COVID-19 Vaccination: A Longitudinal Study. *Thromb Haemost.* 2022;122(8):1352-60.
- 118 Muturi-Kioi V, Lewis D, Launay O, Leroux-Roels G, Anemona A, Loulergue P, i sur. Neutropenia as an Adverse Event following Vaccination: Results from Randomized Clinical Trials in Healthy Adults and Systematic Review. *PLoS One.* 2016;11(8):e0157385.
- 119 Koj A. Termination of acute-phase response: role of some cytokines and anti-inflammatory drugs. *Gen Pharm.* 1998;31(1):9-18.
- 120 Jones SA. Directing transition from innate to acquired immunity: defining a role for IL-6. *J Immunol.* 2005;175(6):3463-8.

- 121 Lowe GD, Rumley A, Woodward M, Morrison CE, Philippou H, Lane DA, i sur. Epidemiology of coagulation factors, inhibitors and activation markers: the Third Glasgow MONICA Survey. I. Illustrative reference ranges by age, sex and hormone use. *Br J Haematol.* 1997;97(4):775-84.
- 122 Conlan MG, Folsom AR, Finch A, Davis CE, Sorlie P, Marcucci G, i sur. Associations of factor VIII and von Willebrand factor with age, race, sex, and risk factors for atherosclerosis. *Thromb Haemost.* 1993;70(09):380-5.
- 123 Sultana A. To Determine the Effect on Gender and Age of Prothrombin Time (PT), Activated Partial Thromboplastin Time (aPTT) Levels and International Normalized Ratio (INR) [abstract]. *Res Pract Thromb Haemost.* 2020; 4 (Suppl 1).
- 124 Polderman KH, Stehouwer CD, van Kamp GJ, Dekker GA, Verheugt FW, Gooren LJG. Influence of sex hormones on plasma endothelin levels. *Ann Intern Med* 1993;118:429-32.
- 125 Lamping KG, Nuno DW. Effects of 17 β -estradiol on coronary microvascular responses to endothelin-1. *Am J Physiol.* 1996;271:H1117-24.
- 126 Barber DA, Sieck GC, Fitzpatrick LA, Miller VA. Endothelin receptors are modulated in association with endogenous fluctuations in estrogen. *Am J Physiol.* 1996;271:H1999-2006.
- 127 Næss IA, Christiansen SC, Romundstad P, Cannegieter SC, Rosendaal FR, Hammerstrøm J. Incidence and mortality of venous thrombosis: a population-based study. *J Thromb Haemost.* 2007;5(4):692-9.
- 128 Engbers MJ, Vlieg AV, Rosendaal FR. Venous thrombosis in the elderly: incidence, risk factors and risk groups. *J Thromb Haemost.* 2010;8(10):2105-12.
- 129 Ellulu MS, Patimah I, Khaza'ai H, Rahmat A, Abed Y. Obesity and inflammation: the linking mechanism and the complications. *Arch Med Sci.* 2017;13(4):851-63.

- 130 Angeli F, Reboldi G, Trapasso M, Santilli G, Zappa M, Verdecchia P. Blood Pressure Increase following COVID-19 Vaccination: A Systematic Overview and Meta-Analysis. *J Cardiovasc Dev Dis.* 2022;9(5):150.
- 131 Jeet Kaur R, Dutta S, Charan J, Bhardwaj P, Tandon A, Yadav D, i sur. Cardiovascular Adverse Events Reported from COVID-19 Vaccines: A Study Based on WHO Database. *Int J Gen Med.* 2021;14:3909-27.
- 132 Zappa M, Verdecchia P, Spanevello A, Visca D, Angeli F. Blood pressure increase after Pfizer/BioNTech SARS-CoV-2 vaccine. *Eur J Intern Med.* 2021;90:111-3.
- 133 Simonini M, Scarale MG, Tunesi F, Manunta P, Lanzani C, Di Serio C, i sur. COVID-19 vaccines effect on blood pressure. *Eur J Intern Med.* 2022;105:109-10.
- 134 Bouhanick B, Brusq C, Bongard V, Tessier S, Montastruc JL, Senard JM, i sur. Blood pressure measurements after mRNA-SARS-CoV-2 tozinameran vaccination: A retrospective analysis in a university hospital in France. *J Hum Hypertens.* 2022;36(6):580-1.
- 135 Lehmann KJ. Suspected Cardiovascular Side Effects of Two COVID-19 Vaccines. *J Biol Today World [Internet].* 2021 [pristupljeno 04.05.2023.];10(5).
- 136 Verdecchia P, Cavallini C, Spanevello A, Angeli F. The pivotal link between ACE2 deficiency and SARS-CoV-2 infection. *Eur J Intern Med.* 2020;76:14-20.
- 137 Verdecchia P, Coiro S, Notaristefano F, Santucci A, De Angelis F, D'Ammando M, i sur. Cardiac complications of COVID-19 vaccination: now we know more. *Eur Heart J Suppl.* 2022;24:I190-6.

11. ŽIVOTOPIS

Iva Ivanko rođena je 09.06.1985. u Kranju, Republika Slovenija. Rano djetinjstvo provodi u Sarajevu, Bosna i Hercegovina, iz kojeg radi ratnih okolnosti odlazi u Ogulin, Republika Hrvatska, gdje u izbjeglištvu završava osnovnu školu Ivane Brlić Mažuranić i gimnaziju Bernardina Frankopana. Upisuje Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu 2004. godine te isti završava 2010. godine. Dobitnica je Dekanove nagrade. Nakon jednogodišnjeg staža na KB Sv. Duh, 2012. započinje specijalizaciju iz hematologije u KBC-u Sestre milosrdnice pod mentorstvom prof.dr.sc. Petra Gaćine. Iste godine upisuje i doktorski studij Biomedicina i zdravstvo na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Specijalistički ispit polaže u svibnju 2018. godine nakon čega nastavlja s radom kao specijalist hematolog na Zavodu za hematologiju KBC-a Sestre milosrdnice. Primarno područje interesa jest koagulacija i maligna hematologija (leukemijska oboljenja). Član je Hrvatske kooperativne udruge za hematološke bolesti, KROHEM, čija je i stipendistica akademske godine 2022./2023. Dobitnica je sredstava Zaklade KROHEM-a za financiranje istraživačkih projekata u području hematologije 2022. godine u cilju izrade doktorske disertacije. Supruga je i majka dvojice sinova.

PRILOZI

Tablica 1. Vrijednosti PV-a po mjerenjima u odnosu na vrstu cjepiva

	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	mRNA	Vektorsko			
PV (%)					
Prije cijepjenja	106 (95 - 114)	115 (105 - 122)	8,0	4 do 12	<0,001
7 dana od 1. doze	109 (98 - 116)	113 (107 - 120)	6,0	2 do 10	0,001
14 dana od 1. doze	105 (97 - 117)	114 (107 - 124)	7,6	3,6 do 12	<0,001
7 dana od 2. doze	109 (97 - 116)	-	-	-	-
14 dana od 2. doze	110 (100 - 119)	-	-	-	-
P#	0,267	0,542			

P* razlika između cjepiva, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana), P# razlika između mjernih točaka unutar svakog cjepiva, Friedmanov test

U svim mjernim točkama, statistički su značajno više vrijednosti protrombinskog vremena (PV) kod ispitanika koji su primili vektorsko cjepivo u odnosu na mRNA cjepivo (Tablica 1).

Tablica 2. Vrijednosti APTV-a po mjerenjima u odnosu na vrstu cjepiva

	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	mRNA	Vektorsko			
APTV (s)					
Prije cijepjenja	25,9 (24,7 - 27,6)	25,0 (24,0 - 26,0)	-1	-1,7 do -0,4	0,002
7 dana od 1. doze	25,7 (24,4 - 26,8)	25,0 (24,0 - 26,9)	-0,5	-1,2 do 0	0,063
14 dana od 1. doze	26,1 (24,6 - 28,1)	25,1 (24,0 - 27,0)	-0,9	-1,6 do -0,1	0,020
7 dana od 2. doze	26,3 (24,9 - 28,3)	-	-	-	-
14 dana od 2. doze	26,0 (24,7 - 28,0)	-	-	-	-
P#	<0,001 [†]	0,054			

P* razlika između cjepiva, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana), P# razlika između mjernih točaka unutar svakog cjepiva, Friedmanov test Friedmanov test (post hoc Conover); [†]na razini P<0,05 značajno se razlikuju: (7 dana od 1. doze) vs. (svi ostali); (7 dana od 2. doze) vs. (prije cijepjenja, 7 dana od 1. doze)

Vrijednosti APTV-a se statistički značajno razlikuju između vremenskih točaka mjerenja u skupini mRNA cjepiva (P<0,001). U odnosu na mRNA cjepivo, kod vektorskog cjepiva statistički su značajno niže vrijednosti APTV-a u svim promatranim točkama mjerenja (Tablica 2).

Tablica 3. Vrijednosti leukocita po mjerenjima u odnosu na vrstu cjepiva

Leukociti (x10 ⁹ /L)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	mRNA	Vektorsko			
Prije cijepljenja	7,04 (5,85 - 7,85)	6,52 (5,55 - 7,60)	-0,29	-0,78 do 0,17	0,222
7 dana od 1. doze	7,03 (5,94 - 8,23)	6,70 (5,82 - 7,89)	-0,18	-0,67 do 0,33	0,483
14 dana od 1. doze	6,84 (5,86 - 8,17)	6,85 (6,06 - 8,14)	-0,06	-0,55 do 0,45	0,851
7 dana od 2. doze	6,60 (5,76 - 7,90)	-	-	-	-
14 dana od 2. doze	6,86 (5,80 - 8,10)	-	-	-	-
P#	0,539	0,903			

P* razlika između cjepiva, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana), P# razlika između mjernih točaka unutar svakog cjepiva, Friedmanov test

Ne uočavaju se statistički značajne razlike leukocita nakon cijepljenja u obje skupine. Također nema statistički značajne razlike između cjepiva po točkama mjerenja (Tablica 3).

Tablica 4. Vrijednosti neutrofila po mjerenjima u odnosu na vrstu cjepiva

Neutrofili (x10 ⁹ /L)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	mRNA	Vektorsko			
Prije cijepljenja	3,92 (3,21 - 4,79)	3,80 (3,03 - 4,49)	-0,21	-0,56 do 0,15	0,250
7 dana od 1. doze	3,69 (3,04 - 4,78)	3,46 (2,91 - 4,59)	-0,15	-0,49 do 0,20	0,371
14 dana od 1. doze	3,79 (3,11 - 4,86)	3,56 (2,96 - 4,48)	-0,24	-0,56 do 0,10	0,172
7 dana od 2. doze	3,48 (2,86 - 4,73)	-	-	-	-
14 dana od 2. doze	3,73 (3,08 - 4,79)	-	-	-	-
P#	0,080	0,031 [†]			

P* razlika između cjepiva, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana), P# razlika između mjernih točaka unutar svakog cjepiva, Friedmanov test (post hoc Conover); [†]na razini P<0,05 značajno više vrijednosti prije cijepljenja vs. 7 dana od 1. doze

Vrijednosti neutrofila u vektorskoj skupini statistički se značajno razlikuju između vremenskih točaka mjerenja (P=0,031). Nema statistički značajne razlike u vrijednostima neutrofila po točkama mjerenja između cjepiva (Tablica 4).

Tablica 5. Vrijednosti limfocita po mjerenjima u odnosu na vrstu cjepiva

Limfociti ($\times 10^9/L$)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	mRNA	Vektorsko			
Prije cijepjenja	2,07 (1,77 – 2,50)	2,03 (1,65 – 2,40)	-0,09	-0,24 do 0,09	0,283
7 dana od 1. doze	2,32 (1,93 – 2,69)	2,36 (1,98 – 2,79)	0,04	-0,15 do 0,22	0,701
14 dana od 1. doze	2,15 (1,85 – 2,63)	2,25 (1,90 – 2,89)	0,11	-0,08 do 0,31	0,223
7 dana od 2. doze	2,28 (1,85 – 2,69)	-	-	-	-
14 dana od 2. doze	2,13 (1,85 – 2,52)	-	-	-	-
P#	0,001 [†]	<0,001 [‡]			

P* razlika između cjepiva, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana), P# razlika između mjernih točaka unutar svakog cjepiva, Friedmanov test (post hoc Conover); [†]na razini $P < 0,05$ značajno se razlikuju: (7 dana od 1. doze) vs. (svi ostali); (7 dana od 2. doze) vs. (14 dana od 2. doze); [‡]na razini $P < 0,05$ značajno se razlikuju sve izmjerene vrijednosti

Vrijednosti limfocita su statistički značajno različite između vremenskih točaka mjerenja u mRNA skupini i vektorskoj skupini ($P=0,001$, $P < 0,001$). Između cjepiva nema statistički značajne razlike u vrijednostima limfocita (Tablica 5).

Tablica 6. Vrijednosti monocita po mjerenjima u odnosu na vrstu cjepiva

Monociti ($\times 10^9/L$)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	mRNA	Vektorsko			
Prije cijepjenja	0,58 (0,46 - 0,68)	0,55 (0,43 - 0,70)	-0,01	-0,06 do 0,04	0,641
7 dana od 1. doze	0,55 (0,44 - 0,69)	0,51 (0,41 - 0,66)	-0,04	-0,10 do 0,02	0,179
14 dana od 1. doze	0,57 (0,46 - 0,73)	0,60 (0,50 - 0,74)	0,03	-0,02 do 0,09	0,202
7 dana od 2. doze	0,57 (0,46 - 0,70)	-	-	-	-
14 dana od 2. doze	0,57 (0,48 - 0,74)	-	-	-	-
P#	0,078	<0,001 [†]			

P* razlika između cjepiva, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana), P# razlika između mjernih točaka unutar svakog cjepiva, Friedmanov test (post hoc Conover); [†] na razini $P < 0,05$ značajno se razlikuju sve izmjerene vrijednosti

Vrijednosti monocita su statistički značajno različite između vremenskih točaka mjerenja u vektorskoj skupini ($P < 0,001$). Nema statistički značajne razlike između cjepiva u vrijednostima monocita po točkama mjerenja.

Tablica 7. Vrijednosti PV-a po mjerenjima u odnosu na spol, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Muškarci	Žene			
PV (%)					
mRNA					
Prije 1. doze	103 (92 - 111)	111 (99 - 116)	7	1 do 13	0,021
7 dana od 1. doze	106 (97 - 113)	110 (99 - 117)	3	-3 do 9	0,322
14 dana od 1. doze	105 (96 - 114)	106 (98 - 121)	4	-3 do 10	0,301
7 dana od 2. doze	103 (94 - 114)	112 (100 - 122)	7,9	1 do 14	0,021
14 dana od 2. doze	109 (99 - 117)	110 (101 - 120)	3	-3 do 10	0,254
P#	0,033[†]	0,221			
Vektorsko					
Prije cijepljenja	115 (107 - 122)	114 (104 - 121)	-1	-7 do 4	0,541
7 dana od cijepljenja	114 (107 - 121)	112 (107 - 118)	-2	-7 do 2	0,359
14 dana od cijepljenja	112 (107 - 117)	117 (105 - 125)	2	-3 do 9	0,458
P#	0,991	0,323			

P* razlike u mjerenjima između dva spola, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlike u mjerenjima unutar pojedinog spola, Friedmanov test (post hoc Conover); † na razini P<0,05 značajne su razlike: (prije cijepljenja) vs. (7 dana od 1. doze, 14 dana od 1. doze, 14 dana od 2. doze)

Značajno su više vrijednosti PV-a kod žena u odnosu na muškarce, prije cijepljenja (P = 0,021) i 7 dana od 2. doze kod mRNA cjepiva (P = 0,021). Kod muškaraca u mRNA skupini utvrđena je statistički značajna razlika između vremenskih točaka mjerenja (P=0,033) (Tablica 7).

Tablica 8. Vrijednosti APTV-a po mjerenjima u odnosu na spol, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Muškarci	Žene			
APTIV (s)					
mRNA					
Prije cijepljenja	25,6 (24,7 - 27,3)	26,0 (24,9 - 27,6)	0,3	-0,6 do 1,2	0,432
7 dana od 1. doze	25,6 (24,3 - 26,3)	25,7 (24,5 - 27,0)	0,3	-0,6 do 1,1	0,541
14 dana od 1. doze	26,0 (24,6 - 28,1)	26,4 (24,6 - 28,3)	0,2	-0,9 do 1,3	0,693
7 dana od 2. doze	26,0 (24,9 - 28,4)	26,6 (24,8 - 28,3)	0,2	-0,9 do 1,3	0,749
14 dana od 2. doze	25,5 (24,6 - 27,9)	26,2 (24,7 - 28,3)	0,2	-1 do 1,2	0,731
P#	0,008[†]	0,032[‡]			
Vektorsko					
Prije cijepljenja	24,9 (24,0 - 26,0)	25,0 (24,0 - 27,0)	0,6	-0,1 do 1,6	0,164
7. dan od cijepljenja	25,0 (23,6 - 26,0)	25,2 (24,0 - 27,2)	0,7	-0,01 do 1,5	0,182
14. dan od cijepljenja	26,0 (24,0 - 26,3)	25,0 (24,0 - 28,0)	0	-1 do 1	0,911
P#	0,111	0,237			

P* razlike u mjerenjima između dva spola, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlike u mjerenjima unutar pojedinog spola, Friedmanov test (post hoc Conover); [†] na razini P<0,05 značajne su razlike: (prije cijepljenja) vs. (7 dana od 2. doze, 14 dana od 2. doze); (7 dana od 1. doze) vs. (7 dana od 2. doze, 14 dana od 2. doze); [‡] na razini P<0,05 značajne su razlike: (7 dana od 1. doze) vs. (14 dana od 1. doze; 7 i 14 dana od 2. doze)

Nema statistički značajne razlike u APTV-u po mjerenjima u odnosu na spol kod oba cjepiva. Kod oba spola u mRNA skupini, utvrđene su statistički značajne razlike između vremenskih točaka mjerenja (muškarci, P=0,008; žene P=0,032) (Tablica 8).

Tablica 9. Vrijednosti leukocita po mjerenjima u odnosu na spol, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

Leukociti	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Muškarci	Žene			
mRNA					
Prije cijepljenja	7,1 (6,4 - 7,7)	7,0 (5,5 - 7,9)	-0,24	-0,98 do 0,48	0,512
7 dana od 1. doze	7,0 (6,0 - 8,2)	7,1 (5,8 - 8,4)	-0,04	-0,78 do 0,7	0,923
14 dana od 1. doze	6,7 (5,8 - 7,7)	6,9 (5,9 - 8,3)	0,33	-0,37 do 1,05	0,346
7 dana od 2. doze	6,5 (5,6 - 8,2)	6,7 (5,8 - 7,9)	0,11	-0,64 do 0,8	0,777
14 dana od 2. doze	6,8 (5,8 - 8,2)	7,0 (5,8 - 8,1)	0,13	-0,58 do 0,85	0,711
P#	0,061	0,432			
Vektorsko					
Prije cijepljenja	6,6 (5,5 - 7,9)	6,5 (5,6 - 7,3)	-0,09	-0,83 do 0,58	0,753
7 dana od cijepljenja	6,5 (5,8 - 7,9)	7,0 (6,0 - 7,8)	0,15	-0,64 do 0,77	0,701
14 dana od cijepljenja	6,9 (6,1 - 8,0)	6,8 (5,8 - 8,2)	0,02	-0,70 do 0,73	0,954
P#	0,861	0,950			

P* razlike u mjerenjima između dva spola, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlike u mjerenjima unutar pojedinog spola, Friedmanov test

Nema statistički značajnih razlika u vrijednostima leukocita po mjerenjima u odnosu na spol u obje skupine cjepiva (Tablica 9).

Tablica 10. Vrijednosti neutrofila po mjerenjima u odnosu na spol, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

Neutrofili ($\times 10^9/L$)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Muškarci	Žene			
mRNA					
Prije cijepljenja	3,88 (3,54 - 4,61)	4,03 (2,91 - 4,87)	0	-0,53 do 0,49	0,976
7 dan od 1. doze	3,62 (3,03 - 4,79)	3,87 (3,04 - 4,61)	0,1	-0,44 do 0,59	0,701
14 dan od 1. doze	3,43 (3,09 - 4,56)	3,94 (3,28 - 4,99)	0,5	-0,01 do 1,02	0,054
7 dana od 2. doze	3,40 (2,82 - 4,77)	3,51 (3,03 - 4,60)	0,24	-0,29 do 0,74	0,330
14 dana od 2. doze	3,53 (2,95 - 4,46)	3,97 (3,12 - 5,08)	0,36	-0,16 do 0,9	0,182
P#	0,005[†]	0,081			
Vektorsko					
Prije cijepljenja	3,84 (3,02 - 4,54)	3,72 (3,06 - 4,49)	-0,04	-0,52 do 0,43	0,891
7 dana od cijepljenja	3,51 (2,91 - 4,57)	3,31 (2,92 - 4,59)	-0,11	-0,58 do 0,37	0,670
14 dana od cijepljenja	3,44 (2,89 - 4,28)	3,68 (3,01 - 4,88)	0,25	-0,22 do 0,72	0,303
P#	0,861	0,101			

P* razlike u mjerenjima između dva spola, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlike u mjerenjima unutar pojedinog spola, Friedmanov test (post hoc Conover); † na razini $P < 0,05$ značajne su razlike: (prije cijepljenja) vs. (sva ostala mjerenja)

Nema statistički značajnih razlika u vrijednostima neutrofila u odnosu na spol u oba cjepiva. Kod muškaraca mRNA skupine su statistički više vrijednosti neutrofila prije cijepljenja u odnosu na druge točke mjerenja ($P=0,005$) (Tablica 10).

Tablica 11. Vrijednosti limfocita po mjerenjima u odnosu na spol, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

Limfociti ($\times 10^9/L$)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Muškarci	Žene			
mRNA					
Prije cijepljenja	2,28 (1,83 - 2,63)	2,05 (1,71 - 2,48)	-0,17	-0,42 do 0,05	0,122
7 dana od 1. doze	2,50 (2,05 - 2,78)	2,28 (1,92 - 2,59)	-0,19	-0,44 do 0,07	0,144
14 dana od 1. doze	2,29 (1,79 - 2,70)	2,11 (1,85 - 2,47)	-0,16	-0,39 do 0,14	0,266
7 dana od 2. doze	2,35 (1,88 - 2,79)	2,21 (1,83 - 2,58)	-0,17	-0,4 do 0,06	0,172
14 dana od 2. doze	2,37 (1,99 - 2,62)	2,07 (1,72 - 2,42)	-0,26	-0,48 do -0,02	0,050
P#	0,244	0,004[†]			

Vektorsko					
Prije cijepljenja	1,98 (1,60 - 2,49)	2,10 (1,81 - 2,30)	0,1	-0,15 do 0,34	0,461
7 dana od cijepljenja	2,22 (1,83 - 2,72)	2,44 (2,07 - 2,80)	0,25	-0,02 do 0,51	0,072
14 dana od cijepljenja	2,34 (1,90 - 2,98)	2,16 (1,83 - 2,55)	-0,08	-0,40 do 0,21	0,584
P#	0,009 [‡]	<0,001 [§]			

P* razlike u mjerenjima između dva spola, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P[#] razlike u mjerenjima unutar pojedinog spola, Friedmanov test (post hoc Conover); † na razini P<0,05 značajne su razlike: (prije cijepljenja) vs. (14 dana od 1. i 2. doze); ‡ na razini P<0,05 značajne su razlike: (prije cijepljenja) vs. (sva ostala mjerenja); § na razini P<0,05 značajne su razlike između svih mjerenja

Nema značajnih razlika u vrijednostima limfocita između spolova. Bilježe se statistički značajne razlike između vremenskih točaka mjerenja u žena mRNA skupine (P=0,004) te u oba spola vektorske skupine (muškarci, P= 0,009; žene, P<0,001) (Tablica 11).

Tablica 12. Vrijednosti monocita po mjerenjima u odnosu na spol, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

Monociti (x10 ⁹ /L)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Muškarci	Žene			
mRNA					
Prije cijepljenja	0,58 (0,47 - 0,71)	0,56 (0,45 - 0,68)	-0,03	-0,1 do 0,04	0,362
7 dana od 1. doze	0,53 (0,45 - 0,71)	0,56 (0,43 - 0,69)	0,02	-0,07 do 0,1	0,690
14 dana od 1. doze	0,57 (0,47 - 0,75)	0,57 (0,45 - 0,71)	-0,01	-0,08 do 0,07	0,887
7 dana od 2. doze	0,59 (0,46 - 0,70)	0,57 (0,45 - 0,64)	-0,02	-0,09 do 0,06	0,751
14 dana od 2. doze	0,59 (0,50 - 0,75)	0,57 (0,47 - 0,75)	-0,01	-0,09 do 0,06	0,733
P#	0,092	0,400			
Vektorsko					
Prije cijepljenja	0,55 (0,46 – 0,76)	0,51 (0,40 – 0,63)	-0,06	-0,15 do 0,01	0,111
7 dana od cijepljenja	0,56 (0,46 – 0,75)	0,48 (0,38 – 0,60)	-0,09	-0,17 do -0,02	0,013
14 dana od cijepljenja	0,60 (0,52 – 0,74)	0,60 (0,47 – 0,77)	-0,03	-0,11 do 0,04	0,401
P#	0,050	<0,001 [†]			

*Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana) P[#] razlike u mjerenjima unutar pojedinog spola, Friedmanov test (post hoc Conover); † na razini P<0,05 značajne su razlike između svih mjerenja

Značajno su više vrijednosti monocita kod muškaraca u odnosu na žene, 7 dana nakon cijepljenja vektorskim cjepivom ($P = 0,013$). Kod žena u vektorskoj skupini utvrđena je statistički značajna razlika između vremenskih točaka mjerenja ($P < 0,001$) (Tablica 12).

Tablica 13. Vrijednosti PV-a po mjerenjima u odnosu na hipertenziju, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Bez AH	AH			
PV (%)					
mRNA					
Prije cijepljenja	105 (94 - 113)	112 (99 - 120)	6,8	-1 do 14	0,091
7 dana od 1. doze	108 (97 - 114)	115 (101 - 124)	7	0 do 15	0,063
14 dana od 1. doze	105 (95 - 115)	114 (101 - 128)	9	0 do 18	0,054
7 dana od 2. doze	107 (97 - 114)	118 (105 - 127)	11	2 do 18	0,021
14 dana od 2. doze	108 (99 - 116)	118 (101 - 124)	9	1 do 16	0,032
P#	0,684	0,421			
Vektorsko					
Prije cijepljenja	115 (106 - 122)	115 (102 - 122)	0	-8 do 8	0,940
7 dan od cijepljenja	113 (107 - 120)	110 (108 - 121)	-1	-7 do 7	0,812
14 dan od cijepljenja	113 (106 - 124)	114 (108 - 126)	1	-8 do 7	0,818
P#	0,530	0,862			

P* razlika u vrijednostima između skupine s i bez AH, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlika u vrijednostima unutar svake skupine, Friedmanov test

Značajno su više vrijednosti PV-a u skupini ispitanika s arterijskim hipertenzijom, kod mRNA cjepiva 7 i 14 dana nakon 2. doze ($P=0,021$, $P=0,032$) (Tablica 13).

Tablica 14. Vrijednosti APTV po mjerenjima u odnosu na hipertenziju, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Bez AH	AH			
APTV (s)					
mRNA					
Prije 1. doze	25,7 (24,7 – 27,7)	26,2 (25,8 – 27,7)	0,4	-1 do 1,4	0,473
7 dana od 1. doze	25,8 (24,4 – 28,0)	25,1 (24,5 – 26,4)	-0,6	-1,6 do 0,4	0,240
14 dana od 1. doze	26,2 (24,6 – 28,8)	25,7 (24,1 – 27,8)	-0,5	-2 do 0,9	0,482
7 dana od 2. doze	26,6 (25,0 – 28,7)	26,5 (24,6 – 28,1)	-0,4	-1,8 do 1	0,544
14 dana od 2. doze	26,1 (24,7 – 29,3)	25,7 (24,7 – 27,7)	-0,4	-2 do 0,9	0,503
P#	0,001[†]	0,054			
Vektorsko					
Prije cijepjenja	25,0 (24,0 – 26,5)	24,0 (23,7 – 24,9)	-0,9	-2 do 0,3	0,182
7 dana od cijepjenja	25,1 (24,0 – 26,0)	24,0 (23,3 – 26,6)	-0,5	-12 do 0,9	0,370
14 dana od cijepjenja	26,0 (24,0 – 27,0)	24,0 (23,7 – 25,1)	-1	-2 do 0,1	0,131
P#	0,054	0,801			

P* razlika u vrijednostima između skupine s i bez AH, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlika u vrijednostima unutar svake skupine, Friedmanov test (post hoc Conover); † na razini P<0,05 značajne su razlike: (prije 1. doze) vs. (7 i 14 dana od 2. doze); (7 dana od 1. doze) vs. (14 dana od 1. doze, 7 i 14 dana od 2. doze)

Nema značajnih razlika u APTV-u po mjerenjima između skupina s i bez hipertenzije kod oba cjepiva. Statistički značajne razlike između vremenskih točaka mjerenja zabilježene su kod ispitanika bez AH u mRNA skupini (P=0,001) (Tablica 14).

Tablica 15. Vrijednosti leukocita po mjerenjima u odnosu na hipertenziju, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

Leukociti ($\times 10^9/L$)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Bez AH	AH			
mRNA					
Prije 1. doze	7,1 (6,1 - 8,2)	6,6 (5,2 - 7,4)	-0,65	-1,63 do 0,17	0,134
7 dana od 1. doze	7,1 (5,9 - 8,0)	7,4 (5,7 - 8,4)	0,20	-0,85 do 1,13	0,722
14 dana od 1. doze	6,8 (5,8 - 8,1)	6,6 (6,0 - 8,8)	0,16	-0,76 do 1,08	0,761
7 dana od 2. doze	6,8 (5,9 - 8,0)	6,4 (5,6 - 7,9)	-0,28	-1,14 do 0,71	0,576
14 dana od 2. doze	6,9 (6,2 - 8,2)	6,4 (5,2 - 8,0)	-0,51	-1,45 do 0,49	0,301
P#	0,761	0,021[†]			
Vektorsko					
Prije cijepljenja	6,5 (5,6 - 7,8)	6,6 (5,4 - 7,5)	-0,27	-1,4 do 0,65	0,622
7 dana od 1. doze	6,7 (5,8 - 7,9)	6,9 (6,0 - 8,0)	0,23	-0,81 do 1,11	0,644
14 dana od 1. doze	6,8 (6,1 - 8,2)	6,7 (5,5 - 7,6)	-0,29	-1,3 do 0,66	0,563
P#	0,822	0,642			

P* razlika u vrijednostima između skupine s i bez AH, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlika u vrijednostima unutar svake skupine, Friedmanov test (post hoc Conover); † na razini $P < 0,05$ značajne su razlike: (prije 1. doze) vs. (14 dana od 1. doze); (7 dana od 1. doze) vs. (14 dana od 2. doze); (14 dana od 1. doze) vs. (14 dana od 2. doze)

Nema značajnih razlika u leukocitima po mjerenjima između skupina s i bez hipertenzije kod oba cjepiva. Statistički značajne razlike bilježe između vremenskih točaka mjerenja u skupini ispitanika s AH u mRNA skupini ($P=0,021$) (Tablica 15).

Tablica 16. Vrijednosti neutrofila po mjerenjima u odnosu na hipertenziju, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

Neutrofili ($\times 10^9/L$)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Bez AH	AH			
mRNA					
Prije cijepljenja	4,03 (3,60 - 5,20)	3,81 (2,80 - 4,20)	-0,53	-1,25 do 0,05	0,069
7 dana od 1. doze	3,69 (3,00 - 4,80)	3,86 (2,80 - 4,60)	-0,07	-0,72 do 0,56	0,831
14 dana od 1. doze	3,89 (3,10 - 5,00)	3,74 (3,20 - 4,80)	-0,02	-0,7 do 0,65	0,928
7 dana od 2. doze	3,71 (2,90 - 4,80)	3,33 (3,00 - 4,40)	-0,21	-0,9 do 0,42	0,461
14 dana od 2. doze	3,87 (3,20 - 4,90)	3,46 (3,00 - 4,50)	-0,4	-1,13 do 0,18	0,153
P#	0,064	0,413			
Vektorsko					
Prije cijepljenja	3,79 (3,00 - 4,50)	3,53 (3,10 - 4,50)	-0,17	-0,84 do 0,56	0,654
7 dana od cijepljenja	3,51 (2,90 - 4,40)	3,55 (3,00 - 5,00)	0,19	-0,57 do 0,92	0,511
14 dana od cijepljenja	3,65 (3,00 - 4,50)	2,99 (2,70 - 4,40)	-0,39	-0,94 do 0,33	0,248
P#	0,131	0,133			

P* razlika u vrijednostima između skupine s i bez AH, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlika u vrijednostima unutar svake skupine, Friedmanov test

Nema statistički značajnih razlika u neutrofilima između vremenskih točaka mjerenja kod oba cjepiva ovisno o AH (Tablica 16).

Tablica 17. Vrijednosti limfocita po mjerenjima u odnosu na hipertenziju, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

Limfociti ($\times 10^9/L$)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Bez AH	AH			
mRNA					
Prije cijepljenja	2,06 (1,70 - 2,50)	1,99 (1,70 - 2,40)	-0,05	-0,36 do 0,26	0,701
7 dana od 1. doze	2,32 (1,90 - 2,70)	2,37 (1,90 - 3,00)	0,1	-0,25 do 0,49	0,523
14 dana od 1. doze	2,16 (1,70 - 2,60)	2,14 (1,90 - 2,60)	0,1	-0,24 do 0,43	0,642
7 dana od 2. doze	2,24 (1,90 - 2,70)	2,21 (1,80 - 2,80)	0,03	-0,29 do 0,36	0,790
14 dana od 2. doze	2,12 (1,90 - 2,50)	2,11 (1,70 - 2,80)	-0,03	-0,38 do 0,34	0,891
P#	0,013[†]	0,031[‡]			
Vektorsko					
Prije cijepljenja	2,08 (1,70 - 2,40)	1,95 (1,60 - 2,30)	-0,14	-0,46 do 0,23	0,274
7 dana od cijepljenja	2,43 (2,00 - 2,80)	2,17 (1,80 - 2,40)	-0,22	-0,57 do 0,19	0,293
14 dana od cijepljenja	2,24 (1,80 - 2,80)	2,11 (1,90 - 2,80)	-0,05	-0,48 do 0,40	0,788
P#	<0,001[§]	0,051			

P* razlika u vrijednostima između skupine s i bez AH, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlika u vrijednostima unutar svake skupine, Friedmanov test (post hoc Conover); [†] na razini P<0,05 značajne su razlike: (7 dana od 1. doze) vs. (prije 1. doze, 14 dana od 1. doze, 14 dana od 2. doze); [‡] na razini P<0,05 značajne su razlike: (7 dana od 1. doze) vs. (prije cijepljenja, 14 dana od 2. doze); [§] na razini P<0,05 značajne su razlike između svih mjerenja

Nema značajnih razlika u limfocitima između ispitanika s i bez hipertenzije kod oba cjepiva. Zabilježene su statistički značajne razlike između vremenskih točaka mjerenja u ispitanika s i bez AH cijepljenih mRNA cjepivom (P=0,013, P=0,031) te kod ispitanika bez AH cijepljenih vektorskim cjepivom (P<0,001) (Tablica 17).

Tablica 18. Vrijednosti monocita po mjerenjima u odnosu na arterijsku hipertenziju, u skupini s mRNA i vektorskim cjepivom

Monociti ($\times 10^9/L$)	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI	P*
	Bez AH	AH			
mRNA					
Prije cijepljenja	0,58 (0,50 - 0,70)	0,56 (0,40 - 0,70)	-0,04	-0,14 do 0,04	0,343
7 dana od 1. doze	0,55 (0,40 - 0,70)	0,66 (0,50 - 0,80)	0,07	-0,07 do 0,17	0,322
14 dana od 1. doze	0,56 (0,40 - 0,70)	0,6 (0,50 - 0,80)	0,05	-0,06 do 0,15	0,322
7 dana od 2. doze	0,57 (0,50 - 0,70)	0,59 (0,40 - 0,80)	0	-0,1 do 0,12	0,971
14 dana od 2. doze	0,58 (0,50 - 0,70)	0,56 (0,40 - 0,90)	-0,02	-0,12 do 0,1	0,718
P#	0,062	0,321			
Vektorsko					
Prije cijepljenja	0,56 (0,40 - 0,70)	0,54 (0,40 - 0,70)	-0,02	-0,14 do 0,08	0,680
7 dana od cijepljenja	0,51 (0,40 - 0,70)	0,61 (0,50 - 0,70)	0,09	-0,03 do 0,2	0,182
14 dana od cijepljenja	0,60 (0,50 - 0,70)	0,62 (0,50 - 0,80)	0,02	-0,1 do 0,13	0,674
P#	<0,001 [†]	0,172			

P* razlika u vrijednostima između skupine s i bez AH, Mann Whitney U test (Hodges – Lehmannova razlika medijana); P# razlika u vrijednostima unutar svake skupine, Friedmanov test (post hoc Conover); [†] na razini P<0,05 značajne su razlike između svih mjerenja

Nema statistički značajnih razlika u monocitima između skupina s i bez hipertenzije kod oba cjepiva U vektorskoj skupini bez AH utvrđene su statistički značajne razlike između točaka mjerenja (P<0,001) (Tablica 18).