



LATVIJAS
UNIVERSITĀTE

Promocijas darba
kopsavilkums

Laura Ansone

**SMAGA COVID-19
AKŪTĀS UN PĒCAKŪTĀS
FĀZES ANALĪZE
LONGITUDINĀLĀ PĒTĪJUMĀ
AR MULTI-OMIKU PIEEJU**

Rīga 2026



LATVIJAS
UNIVERSITĀTE

MEDICĪNAS UN DZĪVĪBAS ZINĀTŅU FAKULTĀTE

Laura Ansone

**SMAGA COVID-19 AKŪTĀS UN
PĒCAKŪTĀS FĀZES ANALĪZE
LONGITUDINĀLĀ PĒTĪJUMĀ
AR MULTI-OMIKU PIEEJU**

PROMOCIJAS DARBA KOPSAVILKUMS

zinātniskā doktora (*Ph. D.*) grāda iegūšanai
bioloģijas nozarē
molekulārās bioloģijas apakšnozarē

Rīga 2026

Pētījumi, kuru rezultāti apkopoti šajā promocijas darbā, tika veikti Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā no 2020. līdz 2026. gadam.

Šo darbu atbalstīja:

- Mecenāts SIA “Mikrotikls”, piešķirot “Izcilības stipendiju bioinformātikā” (2020–2021) un “Mikrotikls doktorantūras stipendiju eksakto un medicīnas zinātņu jomā” (2021–2024), ko administrē Latvijas Universitātes fonds;
- Valsts pētījumu programma, projekts Nr. VPP-COVID-2020/1-0016 “Ar COVID-19 saistītas biobankas un integrētas pētniecības datu platformas izveide Latvijā”, kas piešķirts Dr. biol. Jānim Kloviņam;
- Eiropas Reģionālās attīstības fonds (ERAF), projekts Nr. 1.1.1.1/21/A/029 “Molekulāro determinantu identificēšana, kas saistīti ar dažādu COVID-19 ilgtermiņa seku risku: visaptverošs kohortā balstīts pētījums Latvijas populācijā (POST-COVID-TRACK)”, kas piešķirts Dr. biol. Jānim Kloviņam;
- Eiropas Savienības Atveseļošanas un noturības mehānisma projekts Nr. 5.2.1.1.i.0/2/24/I/CFLA/001 “Latvijas Organiskās sintēzes institūta un Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centra konsolidācija”.

Promocijas darbs sastāv no ievada, četrām nodaļām ar apakšnodaļām, secinājumiem, tēzēm, darba aprobācijas apraksta, pateicībām un literatūras saraksta. Darbam nav pielikumu.

Darba forma: publikāciju kopa Bioloģijas nozarē, molekulārās bioloģijas apakšnozarē.

Darba zinātniskais vadītājs: prof. *Dr. biol. Jānis Kloviņš*, zinātniskās grupas vadītājs, vadošais pētnieks Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā.

Darba recenzenti:

- 1) *Dr. Vilma Lammi* (Helsinki Universitāte, Somijas Molekulārās medicīnas institūts);
- 2) prof. *Dr. med. Uga Dumpis* (LU, PSKUS);
- 3) prof. *Dr. biol. Aija Linē* (LU, LBMC/NIRI).

Promocijas darba aizstāvēšana notiks Latvijas Universitātes Bioloģijas nozares promocijas padomes atklātajā sēdē 2026. gada 26. augustā Nacionālā pētniecības un inovāciju institūta (NIRI) Zinātnes centra “Kleisti” Baltajā zālē (Rātsupītes ielā 1, k-1, Rīgā).

Ar promocijas darbu un tā kopsavilkumu var iepazīties Latvijas Universitātes Bibliotēkā Rīgā, Kalpaka bulvārī 4.

LU Bioloģijas zinātņu nozares promocijas

padomes priekšsēdētājs

_____/prof. Kaspars Tārs /

promocijas padomes sekretāre

_____/ Dr. biol. Ilze Elbere /

© Latvijas Universitāte, 2026

© Laura Ansone, 2026

ISBN 978-9934-36-627-7

ISBN 978-9934-36-628-4 (PDF)

ANOTĀCIJA

Koronavīrusa slimībai 2019 (COVID-19) raksturīgas daudzveidīgas akūtas izpausmes, un tā var izraisīt ilgtermiņa komplikācijas, kas pazīstamas kā Garais COVID jeb Post-akūtas SARS-CoV-2 infekcijas sekas. Lai gan akūta COVID-19 patogēnēze ir plaši pētīta, mehānismi, kas saista smagu infekciju ar nepilnīgu atveseļošanos, joprojām nav pilnībā skaidri. Šī promocijas darba mērķis bija raksturot longitudinālas molekulārās izmaiņas stacionētiem pacientiem ar smagu COVID-19 un biomarkierus un molekulāros signālceļus, kas saistīti ar atveseļošanos un Garā COVID risku.

Pētījumā tika izmantots longitudināls dizains un multi-omiku pieeja, lai sekotu stacionētiem pacientiem no akūtas slimības fāzes līdz agrīnai un vēlākai atveseļošanās fāzei. Mērķēta seruma LC-MS metabolomika atklāja izteiktu aminoskābju metabolisma disregulāciju hospitalizācijas brīdī, iesaistot triptofāna-kinurenīna ceļu, arginīna metabolismu un glutamīna izsīkumu, kas norāda uz sistēmisku imūnmetabolisku aktivāciju. Uz NMR balstīta plazmas metabolomika atveseļošanās laikā identificēja noturīgus traucējumus lipīdu, lipoproteīnu, ar glikoproteīniem saistītu iekaisuma marķieru un enerģijas metabolisma rādītājos, norādot uz nepilnīgu metabolisko normalizāciju daļai pacientu.

Pēc tam sekoja multi-omiku analīze, izmantojot asins šūnu transkriptomiku, urīna metabolomiku, nieru bojājuma biomarkiera multiplekso analīzi un kliniskos datus. Imūnā tromboze izvirzījās kā dominējošais bioloģiskais mehānisms smaga COVID-19 gadījumā, saistot komplementa aktivāciju, neitrofilu ekstracelulāro tīklu veidošanos, trombocītu aktivāciju, koagulācijas signalizāciju un mitohondriju disfunkciju. Lai gan daudzi akūtās fāzes procesi daļēji normalizējās, pacientiem, kuriem vēlāk attīstījās Garais COVID, saglabājās atšķirīgs trīs mēnešu asins šūnu transkriptoma profils, kam raksturīga noturīga ar endotēliju saistīta aktivācija, trombocītu reaktivitāte, komplementa regulācija, zemas pakāpes iekaisums un audu remodelācija.

Kopumā smags COVID-19 ir uzskatāms par sistēmisku imūnmetabolisku un vaskulāru slimību ar noturīgām molekulārām sekām daļai stacionēto pacientu. Longitudināla multiomikas profilēšana ļauj nošķirt ar akūtu infekciju saistītas atbildes reakcijas no pēcakūtām izmaiņām un identificēt kandidātmārkierus, tostarp VWF, PROS1, ar komplementu saistītus marķierus, iekaisuma glikoproteīnus, lipīdu parametrus un nieru bojājuma biomarkierus, turpmākai riska stratifikācijai un novērošanai pēc smaga COVID-19.

SATURS

SAĪSINĀJUMI	5
VISPĀRĪGS DARBA RAKSTUROJUMS	6
Pētījuma mērķis un uzdevumi	6
Aizstāvēšanai izvirzītās tēzes	6
Darba aprobācija	7
LITERATŪRAS APSKATS	8
MATERIĀLI UN METODES	10
REZULTĀTI	12
I Akūtu smagu COVID-19 raksturo aminoskābju metabolisma disregulācija	12
II Pēc hospitalizācijas daļai COVID-19 pacientu saglabājas izmainīta metaboliskā aktivitāte	14
III Imūntrombozes un Garā COVID multiomiku profilēšana	16
DISKUSIJA	21
SECINĀJUMI	25
LITERATŪRAS SARAKSTS	26

SAĪSINĀJUMI

ACE2	angiotenzīnu konvertējošais enzīms 2
ALOX12	arahidonāta 12-lipoksigenāze
Apo-A1	apolipoproteīns A1
ARDS	akūts respiratorā distresa sindroms
CFH	komplementa faktors H
COVID-19	koronavīrusa slimība 2019
CXCL5	C-X-C motīva hemokīna ligands 5
EHR	elektroniskie veselības ieraksti
ERAF	Eiropas Reģionālās attīstības fonds
FECH	ferrohelatāze
FSTL1	follistatīnam līdzīgais proteīns 1
Glyc	kopējais glikoproteīnu acetilācijas signāls
GlycA	glikoproteīnu acetilācijas signāls A
GlycB	glikoproteīnu acetilācijas signāls B
GST-α	glutathiona S-transferāze alfa
HDL	augsta blīvuma lipoproteīni
HIF1A	hipoksijas inducējamais faktors 1 alfa
IP-10	interferona gamma inducētais proteīns 10
KEGG	Kioto gēnu un genomu enciklopēdija
KIM-1	nieru bojājuma molekula 1
LC-MS	šķidruma hromatogrāfija–masspektrometrija
NAD ⁺	nikotīnamīda adenīna dinukleotīds
NET	neitrofilu ekstracelulārie tīkli
NMR	kodolmagnētiskā rezonanse
OPA1	optiskās atrofijas proteīns 1
PASC	SARS-CoV-2 infekcijas pēcakūtās sekas
PINK1	PTEN inducētā kināze 1
PROS1	proteīns S
PVO	Pasaules Veselības organizācija
RNS	ribonukleīnskābe
SARS-CoV-2	smaga akūtā respiratorā sindroma koronavīruss 2
TCA	trikarbonskābju cikls
TIMP-1	audu metaloproteīnāžu inhibitors 1
V5FC	brīvā holesterīna frakcija ļoti zema blīvuma lipoproteīnos
VWF	von Villebranda faktors

VISPĀRĪGS DARBA RAKSTUROJUMS

COVID-19 ir klīniski heterogēna slimība, kas var izraisīt ne tikai smagu akūtu saslimšanu, bet arī noturīgas pēcakūtas komplikācijas, kas pazīstamas kā Garais COVID. Lai gan ir panākts būtisks progress akūtas SARS-CoV-2 infekcijas izpratnē, molekulārie mehānismi, kas saista smagu slimības gaitu ar nepilnīgu atveseļošanos un pēcakūtām komplikācijām, joprojām nav pietiekami definēti. Tādēļ ir nepieciešama longitudināla molekulārā profilēšana, lai nošķirtu pārejošas akūtas atbildes reakcijas no noturīgām izmaiņām atveseļošanās laikā. Šī promocijas darba zinātniskā novitāte ir metabolisko, imūno, vaskulāro un nieru molekulāro trajektoriju integrēta raksturošana stacionētiem pacientiem ar smagu COVID-19. Pētījumā identificēta imūnmetaboliska disregulācija, nepilnīga metaboliskā atveseļošanās un imūntromboze kā centrālie mehānismi, kas saistīti ar pēcakūtām komplikācijām.

Pētījuma mērķis un uzdevumi

Šī promocijas darba mērķis bija raksturot longitudinālas molekulārās izmaiņas, kas saistītas ar smagu COVID-19 un pēcakūtu atveseļošanos, kā arī identificēt molekulāros signālceļus un biomarkierus, kas saistīti ar Garā COVID risku.

Mērķa sasniegšanai tika izvirzīti šādi uzdevumi:

1. Raksturot seruma aminoskābju metabolisma izmaiņas stacionētiem COVID-19 pacientiem akūtajā fāzē un atveseļošanās laikā.
2. Novērtēt longitudinālas plazmas metaboloma izmaiņas smaga COVID-19 pacientiem, izmantojot uz NMR balstītu metabolomiku, īpašu uzmanību pievēršot lipīdu, lipoproteīnu un enerģijas metabolismam.
3. Integrēt asins transkriptomiku, urīna metabolomiku, nieru bojājuma biomarkierus un klīniskos datus, lai identificētu molekulārās trajektorijas, kas saistītas ar atveseļošanos un pēcakūtām komplikācijām.
4. Identificēt bioloģiskos ceļus un klīniski nosakāmus markierus, kas saistīti ar paaugstinātu Garā COVID risku stacionētiem COVID-19 pacientiem.

Aizstāvēšanai izvirzītās tēzes

1. Smags COVID-19 ir sistēmiska imūnmetaboliska slimība, ko raksturo akūta aminoskābju metabolisma disregulācija, tostarp triptofāna-kinurenīna metaboliskā ceļa aktivācija, izmainīts arginīna metabolisms un glutamīna izsīkums.

2. Atveseļošanās pēc smaga COVID-19 daļai stacionēto pacientu molekulārā limenī ir nepilnīga, un tai raksturīgi noturīgi traucējumi lipīdu metabolismā, ar glikoproteīniem saistītā iekaisumā, enerģijas metabolismā un mitohondriju disfunkcijā.
3. Imūntromboze ir centrālais bioloģiskais mehānisms, kas saista smagu akūtu COVID-19 ar pēcakūtām komplikācijām. Komplementa aktivācija, neitrofilu ekstracelulāro tīklu veidošanās, trombocītu aktivācija, koagulācijas signalizācija un ar endotēliju saistīta aktivācija veido savstarpēji saistītu molekulāro tīklu smagas infekcijas laikā.
4. Pacientiem, kuriem pēc hospitalizācijas attīstās Garais COVID, saglabājas atšķirīgs trīs mēnešu asins transkriptoma profils, kas atbilst noturīgai ar endotēliju saistītai aktivācijai, trombocītu reaktivitātei, komplementa regulācijai, zemas pakāpes iekaisumam un audu remodelācijai.
5. Longitudināla multiomikas profilēšana var identificēt kliniski nozīmīgas molekulārās trajektorijas un kandidātbiomarķierus pēcakūta riska stratifikācijai stacionētiem COVID-19 pacientiem, tostarp VWF, PROS1, ar komplementu saistītus marķierus, iekaisuma glikoproteīnus, lipīdu parametrus un nieru bojājuma biomarķierus.

Darba aprobācija

Pētījumi tika veikti Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā no 2020. līdz 2026. gadam, un tos atbalstīja Valsts pētījumu programmas projekts Nr. VPP-COVID-2020/1-0016, Eiropas Reģionālās attīstības fonda projekts Nr. 1.1.1.1/21/A/029 POST-COVID-TRACK un Eiropas Savienības Atveseļošanas un noturības mehānisma projekts Nr. 5.2.1.1.i.0/2/24/I/CFLA/001. Promocijas darba rezultāti aprobēti trīs zinātniskās publikācijās, tostarp divos publicētos rakstos un vienā manuskriptā, kas pieņemts publicēšanai pēc būtības (pēc recenzēšanas), kā arī prezentēti piecās starptautiskās zinātniskās konferencēs. Promocijas darbs sagatavots kā publikāciju kopa Bioloģijas nozarē, molekulārās bioloģijas apakšnozarē. Darbs sastāv no 119 lappusēm un ietver ievadu, četras nodaļas ar apakšnodaļām, secinājumus, tēzes, darba aprobāciju, pateicības un literatūras sarakstu; darbam nav pielikumu.

LITERATŪRAS APSKATS

COVID-19, ko izraisa smaga akūtā respiratorā sindroma koronavīruss 2 (SARS-CoV-2), kļuva par vienu no lielākajām globālajām sabiedrības veselības krīzēm pēdējās desmitgadēs. COVID-19 klīniskā gaita variē no viegliem elpceļu simptomiem līdz smagai pneimonijai, ARDS, sepsei, trombemboliskām komplikācijām un vairāku orgānu mazspējai. Saskaņā ar PVO klīnisko ietvaru smags un kritisks COVID-19 var ietvert hipoksiju, ARDS, septisku šoku vai vairāku orgānu disfunkciju (World Health Organization, 2025). Tādējādi smags COVID-19 ir sistēmiska slimība, kas ietver imūnās sistēmas disregulāciju, endotēlija bojājumu, koagulācijas traucējumus, metabolisku pārprogrammēšanu un orgānspecifisku bojājumu.

Būtisks izaicinājums pēc akūtas SARS-CoV-2 infekcijas ir ilgtermiņa simptomu saglabāšanās vai attīstība. Garais COVID, ko dēvē arī par SARS-CoV-2 infekcijas pēcakūtām sekām (PASC), vispārīgi tiek definēts kā persistējoši vai no jauna radušies simptomi, kas ilgst vairākus mēnešus pēc akūtas infekcijas un kuriem nav cita izskaidrojuma. Tas ir klīniski heterogēns stāvoklis un var ietvert nogurumu, elpas trūkumu, miega traucējumus, sāpes krūtīs, kognitīvus simptomus, kardiovaskulāras un muskuloskeletālas izpausmes, metaboliskus traucējumus un nieru komplikācijas. Tā kā PASC skar vairākas orgānu sistēmas, ir nepieciešama mehāniska izpratne, kas uzlabo simptomus balstītu diagnostiku un terapiju (Davis et al., 2023; Nalbandian et al., 2021). PASC rada slogu pacientiem un veselības aprūpes sistēmām, skarot aptuveni 10–20% inficēto indivīdu, ar augstāku sastopamību akūtas infekcijas laikā hospitalizētiem pacientiem (Wulf Hanson et al., 2022).

Elektronisko veselības ierakstu pētījumi ir bijuši īpaši nozīmīgi pēcakūtu fenotipu definēšanai populācijas mērogā. Zang et al. (2023) izmantoja lielas EHR kohortas, lai raksturotu Garo COVID, un identificēja plašas pēcakūtas izpausmes, tostarp pulmonāras, kardiovaskulāras, neiroloģiskas, muskuloskeletālas, metaboliskas un vispārējas sistēmiskas komplikācijas (Zang et al., 2023). Šāda datu vadīta fenotipēšana ir nozīmīga stacionētu pacientu kohortās, kur pēcakūtas diagnozes var izmantot pacientu stratifikācijai atveseļojušos un Garā COVID grupās. Šī promocijas darba multiomikas daļā tika izmantota EHR datus balstīta iznākumu stratifikācija, izmantojot PASC diagnožu sarakstu no Zang et al. pētījuma, kas ļāva salīdzināt pacientus ar dokumentētām pēcakūtām komplikācijām un pacientus, kuri atveseļojās bez jaunām PASC diagnozēm.

Literatūrā ir aprakstīti vairāki savstarpēji saistīti mehānismi, kas var veicināt Garā COVID attīstību. Plaši citēti pārskata raksti par Garā COVID patogēnēzi un molekulārajiem mehānismiem apraksta persistējošu imūnās sistēmas aktivāciju,

autoimunitāti, vīrusa vai antigēna persistenci, latentu vīrusu reaktivāciju, disregulētas interferona atbildes, mikrobioma izmaiņas, mitohondriju disfunkciju un akūtās slimības laikā izraisītu audu bojājumu kā ilgtermiņa komplikāciju veicinošus procesus (Choutka et al., 2022; Davis et al., 2023; Nalbandian et al., 2021). Šie mehānismi, visticamāk, nedarbojas neatkarīgi. Visticamāk Garais COVID vairākus daļēji pārklājošus bioloģiskus fenotipus, kas palīdz izskaidrot pacientu simptomu un klīnisko trajektoriju atšķirības.

Bonaventura et al. (2021) aprakstīja endotēlija disfunkciju un imūntrombozi kā galvenos COVID-19 patoģenēzes mehānismus (Bonaventura et al., 2021). Šajā modeli iekaisums, komplementa aktivācija, neitrofilu ekstracelulāro tīklu veidošanās, trombocītu aktivācija un koagulācija veido pašpastiprinošu tīklu, kas veicina mikrovaskulāru bojājumu un trombotiskas komplikācijas. Šie mehānismi ir īpaši nozīmīgi stacionētiem pacientiem, kuriem akūti iekaisuma un trombotiskie procesi var atstāt noturīgas vaskulāras sekas. Jaunākie Garā COVID pētījumi šo interpretāciju apstiprina. Cervia-Hasler et al. (2024) parādīja, ka aktīvs Garais COVID ir saistīts ar persistējošu komplementa disregulāciju un tromboiekaisuma pazīmēm, tostarp komplementa ceļa aktivāciju, izmainītu koagulāciju, trombocītu aktivāciju un eritrocītu lizēšanas marķieriem (Cervia-Hasler et al., 2024). Šie rezultāti ir nozīmīgi šim promocijas darbam, kur imūntromboze izvirzījās kā dominējošais molekulārā process stacionētiem pacientiem. Pacientiem, kuriem vēlāk attīstījās Garais COVID, trīs mēnešus saglabājās ar endotēliju saistīta aktivācija, trombocītu reaktivāte, komplementa regulācija un zemas pakāpes vaskulārs iekaisums asins šūnu transkriptoma profilā.

Multiomikas pieeja ir piemērota šo savstarpēji saistīto mehānismu izpētei. Transkriptomika ļauj identificēt imūno, iekaisuma, trombocītu, endotēlija, komplementa un mitohondriju ceļu aktivitāti; asins metabolomika atklāj funkcionālas izmaiņas aminoskābju, lipīdu un enerģijas metabolismā; savukārt urīna metabolomika un nieru bojājuma biomarķieri norāda uz sistēmisku un nieru stresu. Longitudināli pētījumu dizaini ļauj nošķirt ar akūtu infekciju saistītas reakcijas no noturīgām pēcākūtām izmaiņām. Tādēļ šajā promocijas darbā izmantota longitudināla asins metabolomika un transkriptomika kopā ar urīna metabolomiku, nieru bojājuma biomarķieriem un klīniskajiem datiem, lai raksturotu smagu COVID-19 kā sistēmisku imūnmetabolisku un vaskulāru slimību un identificētu ar Garā COVID risku saistītas molekulārās trajektorijas.

MATERIĀLI UN METODES

Šis promocijas darbs balstīts uz longitudinālu pētījuma dizainu, kura mērķis bija raksturot molekulārās izmaiņas stacionētiem pacientiem ar smagu COVID-19 no akūtās fāzes līdz 3 mēnešu atveseļošanās periodam pēc hospitalizācijas. Pacienti ar apstiprinātu SARS-CoV-2 infekciju tika rekrutēti Latvijā 2020.–2021. gadā Rīgas Austrumu klīniskajā universitātes slimnīcā, Vidzemes slimnīcā un Liepājas Reģionālajā slimnīcā. Pētījums tika veikts saskaņā ar Helsinku deklarāciju un apstiprināts Latvijas Centrālajā medicīnas ētikas komitejā. Pirms iekļaušanas pētījumā no visiem dalībniekiem tika iegūta rakstiska informētā piekrišana. Populācijas kontroles paraugi tika atlasīti no Latvijas Nacionālās biobankas un metabolomikas pētījumos izmantoti kā praktiska ne-COVID kontroles grupa.

Bioloģisko paraugu ievākšana tika centrēta ap trim slimības posmiem: akūto fāzi hospitalizācijas brīdī, agrīno atveseļošanos aptuveni vienu mēnesi pēc hospitalizācijas un vēlīno atveseļošanos trīs līdz četrus mēnešus pēc hospitalizācijas. Pirmajā mērķētās seruma LC-MS metabolomikas pētījumā tika iekļauti akūtās fāzes un viena mēneša atveseļošanās paraugi, savukārt NMR metabolomikas un multiomikas pētījumos dizains tika paplašināts līdz trīs līdz četrus mēnešu atveseļošanās laika punktam. Šāda longitudināla struktūra ļāva veikt salīdzinājumus viena pacienta ietvaros un mazināt augstas starpindividuālās variabilitātes ietekmi, kas ir raksturīga smaga COVID-19 kohortām.

Analītiskā stratēģija attīstījās trīs pētījumu gaitā (1. tabula). Pirmkārt, tika izmantota mērķēta šķidruma hromatogrāfijas-masspektrometrijas (LC-MS) metabolomika, lai kvantificētu atlasītus asins seruma metabolītus, kas iesaistīti aminoskābju un saistītos metaboliskajos ceļos. Šī analīze koncentrējās uz akūtām imūnmetaboliskām izmaiņām smaga COVID-19 laikā un to dinamiku atveseļošanās periodā. Otrkārt, uz kodolmagnētiskās rezonanses balstīta asins plazmas metabolomika tika izmantota, lai paplašinātu metabolisko profilēšanu, nosakot zemas molekulmasas metabolītus, lipīdus, lipoproteīnu apakšklases un ar glikoproteīniem saistītus iekaisuma marķierus trīs laika punktos. Treškārt, lielākā multiomikas pētījumā tika integrēta asins šūnu RNS sekvenēšana, mērķēta urīna LC-MS metabolomika, urīna nieru bojājuma biomarķieru profilēšana, klīniskie dati un elektronisko veselības ierakstu informācija. Šie pētījumi apkopoti 1. tabulā.

Sākotnēji tika izmantoti pāru longitudināli salīdzinājumi, lai identificētu metabolītus, kas mainījās starp akūtu slimību un agrīnu atveseļošanos viena indivīda ietvaros. Gadījumu-kontroles salīdzinājumi tika izmantoti, lai novērtētu, vai akūtās un atveseļošanās fāzes metaboloma profili atšķiras no populācijas

kontrolēm. NMR pētījumā dizains tika paplašināts līdz trim laika punktiem un ietvēra prelimināras apakšgrupu analīzes (Garā COVID pacienti un pacienti, kas pilnībā atveseļojas). Noslēdzotajā multiomikas pētījumā elektronisko veselības ierakstu dati tika izmantoti, lai stratificētu stacionētos pacientus Garā COVID un Atveseļojušos grupās, pamatojoties uz jaunām pēcakūtām diagnozēm 12 mēnešu periodā pēc akūtas slimības fāzes. Tas ļāva analizēt gan kopīgās atveseļošanās trajektorijas, gan molekulārās atšķirības, kas saistītas ar pēcakūtām komplikācijām.

Statistiskās analīzes ietvēra longitudinālus salīdzinājumus starp laika punktiem, grupu salīdzinājumus starp pacientu apakšgrupām un kontrolēm, signālcēlu analīzi un transkriptomikas, metabolomikas, nieru biomarķieru un klīnisko datu integratīvu interpretāciju. Kopējais analītiskais mērķis bija nošķirt ar akūtu infekciju saistītās molekulārās atbildes reakcijas no noturīgām pēcakūtām izmaiņām un identificēt bioloģiskos ceļus un klīniski nosakāmus marķierus, kas saistīti ar Garā COVID risku.

1. tabula. Promocijas darbā iekļauto pētījumu dizainu un eksperimentālo pieeju kopsavilkums.

	Metodes	Dizains un salīdzinājumi	Galvenais mērķis
1. Akūta imūnmetaboliskā profilēšana	Mērķēta seruma LC-MS metabolomika	Akūtā fāze pret viena mēneša atveseļošanos; salīdzinājums ar populācijas kontrolēm	Identificēt akūtas aminoskābju metabolisma izmaiņas un agrīnās atveseļošanās izmaiņas
2. Metaboliskās atveseļošanās profilēšana	Plazmas NMR metabolomika; metabolīti, lipīdi, lipoproteīni, glikoproteīnu marķieri	Akūtā fāze, viena mēneša atveseļošanās, trīs līdz četrus mēnešu atveseļošanās; salīdzinājums ar kontrolēm	Raksturot plašāku metabolisko atveseļošanos un noturīgas metaboliskas novirzes
3. Longitudināla multiomiku pieeja	Pilnasiņu RNS sekvenēšana, urīna LC-MS metabolomika, urīna nieru bojājuma biomarķieri, klīniskie un EHR dati	Trīs longitudināli laika punkti; stratifikācija pēc 12 mēnešu EHR datiem – Garais COVID pret Atveseļojušies pacienti	Identificēt atveseļošanās trajektorijas un molekulāros mehānismus, kas saistīti ar pēcakūtām komplikācijām

REZULTĀTI

I Akūtu smagu COVID-19 raksturo aminoskābju metabolisma disregulācija

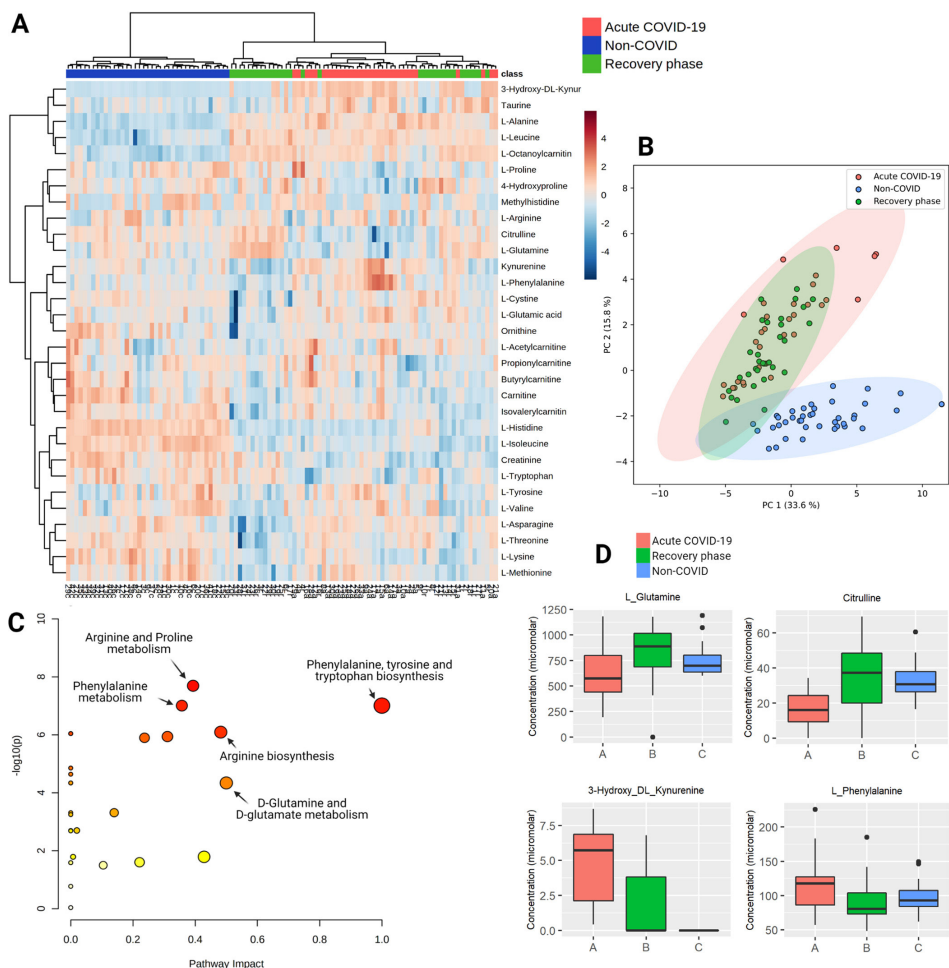
Pirmajā pētījumā tika veikta longitudināla mērķēta LC-MS metabolomikas analīze seruma paraugiem no stacionētiem pacientiem ar smagu COVID-19. Akūtās fāzes paraugi, kas tika ievākti hospitalizācijas brīdī, tika salīdzināti ar atveseļošanās paraugiem, kas ievākti aptuveni vienu mēnesi vēlāk, kā arī ar populācijas kontrolēm. Šis dizains ļāva identificēt ar slimības fāzi saistītas metaboliskas izmaiņas, vienlaikus mazinot augstas starpindividuālās variabilitātes ietekmi.

Mērķētā metabolomika atklāja atšķirīgu seruma metaboloma profilu akūta smaga COVID-19 laikā. Galveno komponentu un klasterizācijas analīzes parādīja, ka akūtās fāzes paraugi atšķiras no atveseļošanās fāzes paraugiem un populācijas kontrolēm, norādot uz izteiktām metaboliskām izmaiņām hospitalizācijas laikā (1. A, B attēls). Visizteiktākās izmaiņas bija saistītas ar aminoskābju metabolismu, un metabolo ceļu analīze izcēla triptofāna, arginīna, glutamīna/glutamāta un fenilalanīna/tirozīna ceļus (1. C, D attēls).

Triptofāna-kinurenīna ceļš bija viens no visvairāk ietekmētajiem metaboliskajiem ceļiem. Triptofāns, kinurenīns un 3-hidroksi-DL-kinurenīns būtiski atšķīrās starp akūto un atveseļošanās fāzi, norādot uz pastiprinātu triptofāna katabolismu akūtas smagas slimības laikā. Šis metabolais ceļš ir cieši saistīts ar iekaisuma un interferona atbildēm un var veicināt imūnregulāciju SARS-CoV-2 infekcijas laikā.

Izmaiņits bija arī arginīna metabolisms. Būtiskas citrulīna un ornitīna izmaiņas norādīja uz arginīna metabolisma un ar urīnvielas ciklu saistītu metabolisma traucējumu. Šis metaboliskās izmaiņas ir nozīmīgas, jo arginīna metabolisms ir saistīts ar imūnregulāciju, slāpekļa oksīda bioloģiju un endotēlija funkciju. Vēl viens būtisks rezultāts bija glutamīna izsīkums. Tā kā glutamīns atbalsta imūnšūnu proliferāciju, makrofāgu funkciju un šūnu stresa atbildes, samazināts glutamīna līmenis akūtas slimības laikā atbilda paaugstinātam metaboliskajam pieprasījumam smagas infekcijas gadījumā.

Kopumā pirmais pētījums parādīja, ka smagu COVID-19 hospitalizācijas brīdī raksturo koordinēta aminoskābju metabolisma disregulācija, īpaši iesaistot triptofāna-kinurenīna metabolismu, arginīna metabolismu, glutamīna izsīkumu un fenilalanīna/tirozīna ceļus. Šie rezultāti nostiprināja pirmo nozīmīgo promocijas darba secinājumu: akūts smags COVID-19 nav tikai respiratora slimība, bet gan sistēmisks imūnmetabolisks stāvoklis.



1. attēls. Mērķēta longitudinālu seruma paraugu metabolomikas analīze stacionāriem COVID-19 pacientiem. (A) Siltumkarte un hierarhiskā klasterizācija 22 būtiski izmainītajiem metabolītiem akūtās fāzes, atveseļošanās fāzes un kontroles paraugos. (B) Galveno komponentu analīze, kas parāda akūta COVID-19, atveseļošanās un kontroles metaboloma profilu atšķirības. (C) KEGG ceļu analīze, parādot visvairāk ietekmētos metaboliskos ceļus pēc ceļa nozīmīguma un ietekmes. (D) Funkcionāli nozīmīgu metabolītu *boxplot* grafiki, kas parāda izmaiņas atveseļošanās laikā. Sarkans: akūtā fāze; zaļš: atveseļošanās fāze; zils: kontroles.

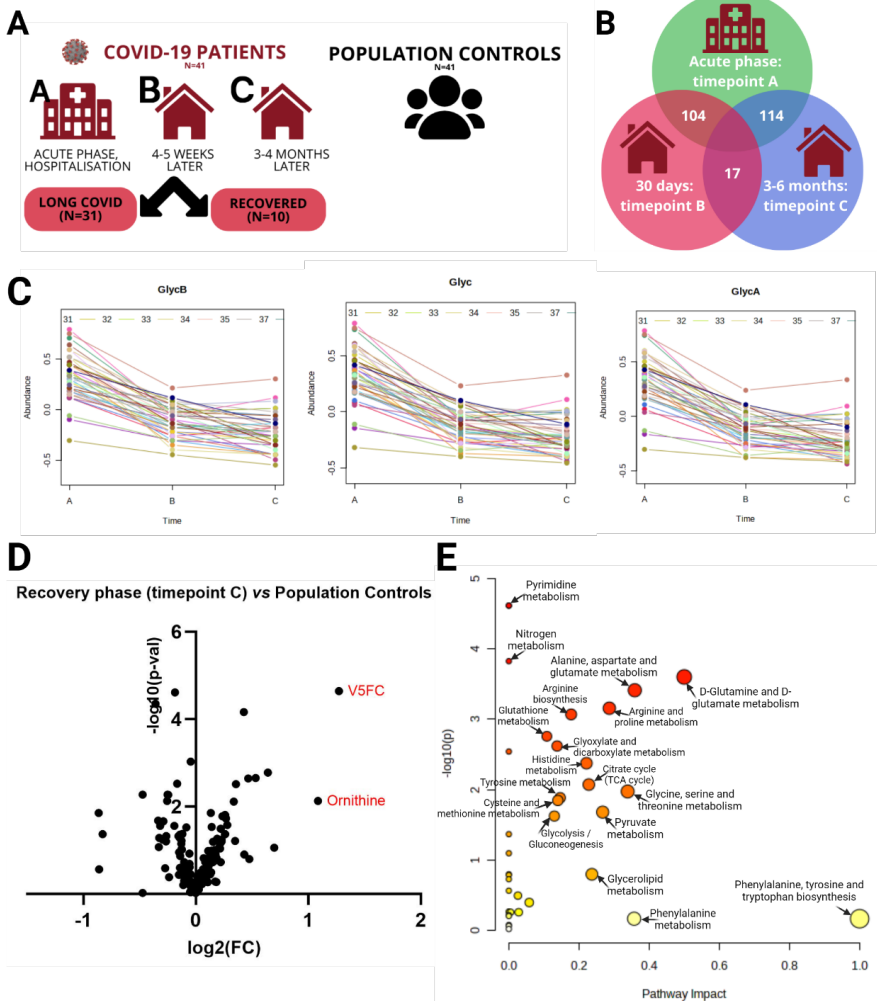
II Pēc hospitalizācijas daļai COVID-19 pacientu saglabājas izmainīta metaboliskā aktivitāte

Otrais pētījums paplašināja mērķētās LC-MS analīzes rezultātus, pielietojot uz NMR balstītu plazmas metabolomiku trīs laika punktos: akūtas slimības laikā, viena mēneša atveseļošanās fāzē un trīs līdz četrus mēnešus atveseļošanās fāzē. Tas ļāva plašāk profilēt zemas molekulmasas metabolītus, lipīdus, lipoproteīnu apakšklasas un ar glikoproteīniem saistītus iekaisuma marķierus stacionāriem COVID-19 pacientiem un populācijas kontrolēm (2. A, B attēls).

Longitudināla NMR metabolomika apstiprināja, ka aminoskābju metabolisms saglabājas kā daļa no atveseļošanās trajektorijas pēc smaga COVID-19. Vairākas aminoskābes, tostarp histidīns, metionīns, fenilalanīns, treonīns, glutamīns, tirozīns un ornitīns bija būtiski izmainītas. Lai gan daudzu aminoskābju koncentrācijas trīs līdz četrus mēnešus pēc hospitalizācijas tiecās pietuvoties kontroļu līmenim, daļai pacientu atveseļošanās fāzes paraugi joprojām atšķīrās no populācijas kontrolēm. To apstiprināja izmainīts V5FC un ornitīna līmenis, kā arī metabolo ceļu līmeņa izmaiņu analīze (2. D, E attēls). NMR profilēšana atklāja arī persistējošu dislipidēmiju pēc hospitalizācijas. Apo-A1 un HDL holesterīns atveseļošanās laikā bija izmainīti un daļai pacientu saglabājās zemāki nekā populācijas kontrolēm. Papildu izmaiņas lipoproteīnu un triglicerīdu frakcijās norādīja uz ilgstošiem lipīdu transporta un kardiometaboliskās homeostāzes traucējumiem.

Ar glikoproteīniem saistītie iekaisuma marķieri bija vieni no konsekventāk longitudināli izmainītajiem rādītājiem. GlycA, GlycB un kopējais Glyc bija visaugstākie akūtas hospitalizācijas laikā un samazinājās atveseļošanās laika punktos (2. C attēls). Tomēr šie marķieri daudziem pacientiem saglabājās paaugstināti salīdzinājumā ar populācijas kontrolēm, atbalstot persistējoša zemas pakāpes iekaisuma klātbūtni pēcakūtās atveseļošanās laikā.

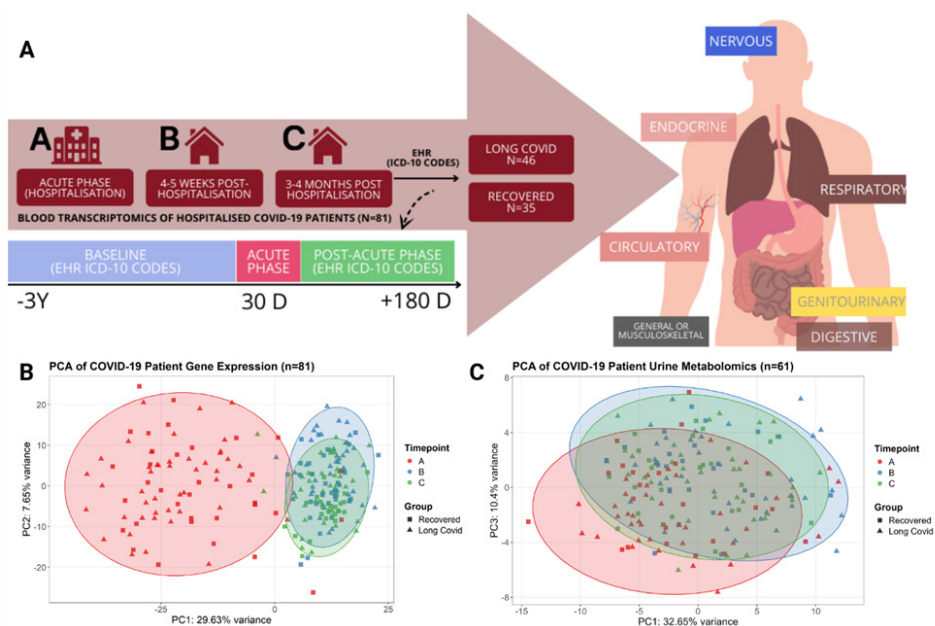
Traucēts bija arī enerģijas metabolisms, metabolo ceļu analīze norādīja uz noturīgām atšķirībām glikolīzē/glikoneoģenēzē, piruvāta metabolismā, ketonvielu metabolismā un ar TCA ciklu saistītos metabolajos ceļos. Kopumā NMR pētījums parādīja, ka atveseļošanās pēc smaga COVID-19 ietver nepilnīgu aminoskābju metabolisma normalizāciju, kā arī persistējošus lipīdu, iekaisuma glikoproteīnu un enerģijas metabolisma traucējumus.



2. *attēls*. Longitudināla seruma NMR metabolomika COVID-19 akūtā un atveseļošanās fāzē. (A) Pētījuma dizains, parādot paraugu ievākšanu akūtas hospitalizācijas, agrīnās atveseļošanās un vēlinās atveseļošanās laikā, kā arī salīdzinājumu ar populācijas kontrolēm. (B) Būtiski izmainīto metabolisko pazīmju pārklāšanās starp trim laika punktiem. (C) Glikoproteīnu acetilācijas signālu GlycA, GlycB un kopējā Glyc longitudinālās izmaiņas. (D) Volcano grafiks, salīdzinot atveseļošanās fāzes paraugus ar populācijas kontrolēm un izceļot metabolītus, kas saglabājas izmainīti pēc akūtas slimības fāzes, tostarp V5FC un ornitīnu. (E) Atveseļošanās fāzes atšķirību ceļu analīze salīdzinājumā ar populācijas kontrolēm, norādot uz persistējošu slāpekļa un aminoskābju metabolisma ceļu iesaisti.

III Imūntrombozes un Garā COVID multiomiku profilēšana

Trešajā pētījumā tika pielietota asins šūnu transkriptomika, mērķēta urīna metabolomika, urīna nieru bojājuma biomarkjeru profilēšana, klīniskie mērījumi un elektroniskā veselības reģistra dati, lai raksturotu molekulāro atveseļošanos pēc smaga COVID-19. Stacionēto pacientu paraugu analīze tika veikta longitudināli trīs laika punktos: akūtas slimības laikā hospitalizācijas brīdī, vienu mēnesi pēc hospitalizācijas un trīs mēnešus pēc hospitalizācijas. Elektroniskā veselības reģistra dati tika izmantoti pacientu stratifikācijai Garā COVID un Atveseļojušos pacientu grupās, pamatojoties uz jaunām COVID-19 pēkākūto seku diagnozēm, kas reģistrētas 12 mēnešu laikā pēc akūtās infekcijas (3. A attēls). Kopumā multiomikas pētījumā tika iekļauta pilnasiņu transkriptomika 81 stacionētam pacientam, kā arī mērķēta urīna metabolomika un nieru bojājuma biomarkjeru profilēšana 61 pacienta apakškohortā.



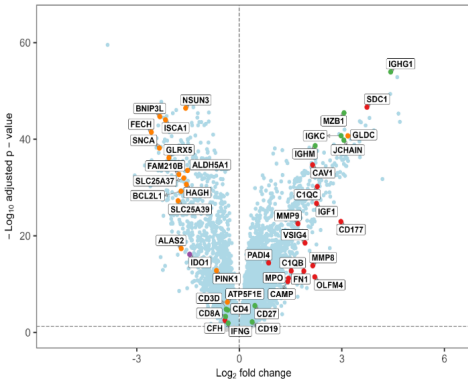
3. attēls. Longitudināls multiomikas pētījuma dizains un globālā omikas struktūra stacionētiem COVID-19 pacientiem. (A) Pētījuma dizains, parādot longitudinālu paraugu ievākšanu akūtas hospitalizācijas, viena mēneša atveseļošanās un trīs mēnešu atveseļošanās laikā, kopā ar EHR balstītu klasifikāciju Garā COVID un Atveseļojušos pacientu grupās. (B) Pilnasiņu transkriptomu galveno komponentu analīze, kas parāda akūtās fāzes paraugu atdalīšanos no atveseļošanās fāzes paraugiem. (C) Mērķētas urīna metabolikas datu galveno komponentu analīze, kas parāda ar laika punktu saistītu metabolisko pārkārtošanos.

Gan transkriptomikas, gan urīna metabolomikas datu kopās lielākais variācijas avots bija slimības laika punkts, nevis pēcakūtais iznākums. Asins šūnu transkriptomikā akūtās fāzes paraugi skaidri atdalījās no atveseļošanās fāzes paraugiem, savukārt urīna metabolomika arī parādīja ar laika punktu saistītu pārkārtošanos (3 B,C attēls). Tas norādīja, ka smags COVID-19 hospitalizācijas laikā izraisa spēcīgu kopīgu molekulāru atbildi un ka globālo omikas struktūru galvenokārt nosaka atveseļošanās izmaiņas. Tādēļ analīze vispirms koncentrējās uz longitudinālu molekulāro pārkārtošanos visiem stacionētajiem pacientiem, pirms tika analizētas Garajam COVID specifiskas atšķirības. Pāreju no akūtās fāzes uz atveseļošanos raksturoja plaša pilnasiņu transkriptoma pārkārtošanās. Vairāk nekā desmit tūkstoši gēnu atšķīrās starp akūtu slimību un viena mēneša atveseļošanos, savukārt vairāki simti gēnu saglabājās būtiski izmainīti starp viena un trīs mēnešu atveseļošanos, norādot, ka molekulārā atveseļošanās turpinās pēc izrakstīšanas no slimnīcas un viena mēneša laikā vēl nav pabeigta. Lielākās transkriptoma izmaiņas tika novērotas starp hospitalizāciju un viena mēneša atveseļošanos, un starp visvairāk izmainītajiem gēniem bija gēni, kas iesaistīti imūnajā aktivācijā, iekaisuma reakcijās, mitohondriju funkcijā un imūntrombotiskos procesos (4. A attēls).

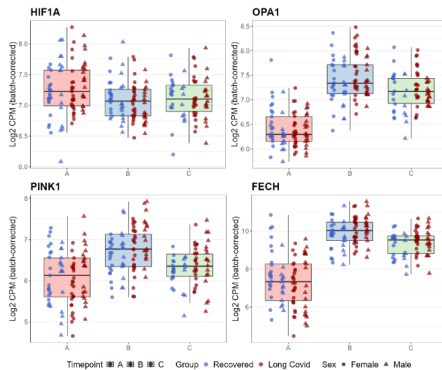
Viena no būtiskākajām akūta smaga COVID-19 iezīmēm bija mitohondriju un bioenerģētiskā disregulācija. Asins transkriptoma profili parādīja ar hipoksiju saistītas signalizācijas aktivāciju, tostarp HIF1A saistītas atbildes, kopā ar izmaiņām, kas atbilst paaugstinātai glikolītiskai aktivitātei un samazinātai oksidatīvajai fosforilācijai. Šis modelis norādīja uz pāreju uz glikolītisku enerģijas metabolismu akūtās fāzes laikā. Paralēli urīna metabolomika parādīja paaugstinātus acilkarnitīnus akūtas slimības laikā, atbalstot traucētu mitohondriju β -oksidāciju un taukskābju metabolisma traucējumus. Atveseļošanās laikā gēni, kas iesaistīti mitofāgijā, mitohondriju dinamikā, oksidatīvajā metabolismā un hēma biosintēzē, uzrādīja "atsitienam" līdzīgas ekspresijas trajektorijas, tostarp PINK1, OPA1 un FECH (4.B-D attēls). Kopumā šie rezultāti atbalstīja modeli, kurā smaga SARS-CoV-2 infekcija izraisa akūtu mitohondriju disfunkciju un enerģijas metabolisma traucējumus, kam seko pakāpeniski, bet vēl trīs mēnešus pēc hospitalizācijas nosakāmi mitohondriju atjaunošanās procesi.

Akūtajā fāzē dominēja arī savstarpēji saistīti imūntrombotiski ceļi. Pilnasiņu transkriptomika parādīja ar komplementu saistīto gēnu aktivāciju, neitrofilu aktivācijas marķierus, neitrofilu ekstracelulāro tīklu veidošanos, ar trombocītiem saistītus transkriptus un ar koagulāciju saistītus gēnus. Šīs izmaiņas atbalstīja modeli, kurā komplementa aktivācija, neitrofilu ekstracelulāro tīklu veidošanās, trombocītu aktivācija un koagulācija veido pašpastiprinošu imūntrombotisku tīklu smaga COVID-19 laikā. Šī akūtā imūntrombotiskā atbilde sniedz iespējamu mehānisku saikni starp smagu infekciju, vaskulāru bojājumu un vēlākām pēcakūtām komplikācijām.

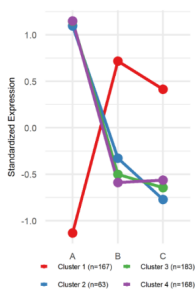
A Acute phase (Timepoint A) vs 1-month recovery (Timepoint B)



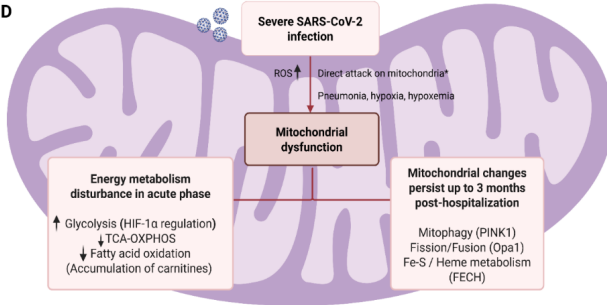
B



C Recovery trajectories in hospitalised COVID-19 patients (n=62)



D

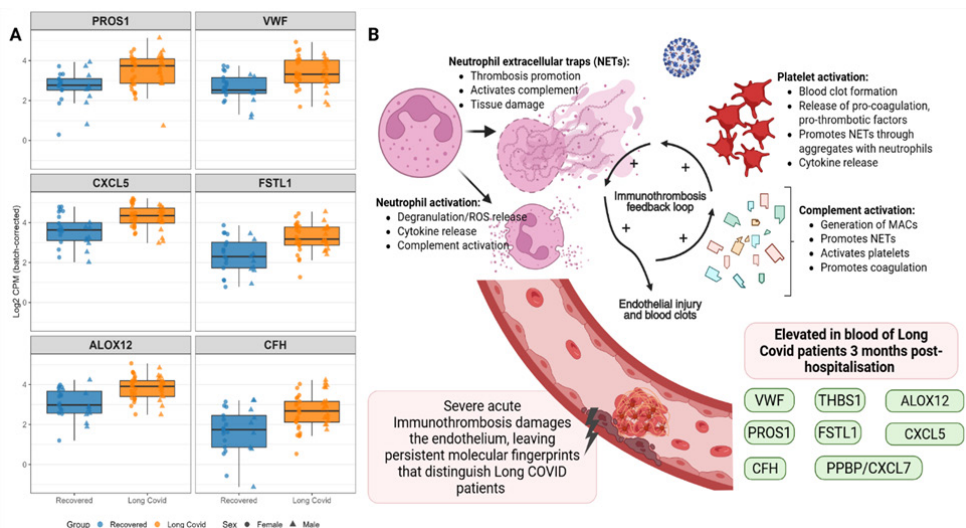


4. *attēls. Longitudināla asins transkriptoma profilēšana un mitohondriju atveseļošanās pēc smaga COVID-19.* (A) Diferenciālā gēnu ekspresija starp akūtu hospitalizāciju un viena mēneša atveseļošanos, parādot plašas izmaiņas transkriptomā pēc smaga COVID-19. Izcelti atlasīti gēni, kas saistīti ar imūno aktivāciju, imūntrombozi, mitohondriju funkciju un adaptīvajām imūnreakcijām. (B) Atlasītu gēnu ekspresija, kas saistīti ar hipoksijas signalizāciju, mitohondriju kvalitātes kontroli, mitohondriju dinamiku un hēma metabolismu akūtas slimības, viena mēneša atveseļošanās un trīs mēnešu atveseļošanās laikā. (C) Laika gaitā mainīgas gēnu ekspresijas trajektorijas trīs laika punktos, norādot uz atšķirīgiem molekulārās atveseļošanās modeļiem stacionētiem COVID-19 pacientiem. (D) Kopsavilkuma modelis, kas parāda akūtu mitohondriju disfunkciju, enerģijas metabolisma traucējumus un persistējošus mitohondriju atveseļošanās procesus līdz trīs mēnešiem pēc hospitalizācijas.

Urīna nieru bojājuma biomarkieru profilēšana parādīja, ka smagu COVID-19 pavada nieru kanāliņu stress. Vairāki ar nieru bojājumu saistīti marķieri, tostarp $\alpha 1$ -mikroglobulīns, cistatīns C, lipokalīns-2, KIM-1, osteopontīns, IP-10, TIMP-1 un GST- α , bija paaugstināti akūtas slimības laikā un samazinājās

atveseļošanās laikā. Šie rezultāti atbilda daļējai nieru atveseļošanai pēc hospitalizācijas. Urīna metabolomika parādīja paralēlas ar atveseļošanos saistītas aminoskābju un acilcarnitīnu izmaiņas, liecinot, ka nieru stress smaga COVID-19 laikā bija saistīts ar plašāku sistēmisku metabolisku traucējumu, nevis izolētu orgānspecifisku procesu.

Nozīmīgākais fenotipam specifiskais rezultāts parādījās trīs mēnešu atveseļošanās laika punktā. Pacientiem, kuriem attīstījās Garais COVID, bija atšķirīgs asins transkriptoma profils salīdzinājumā ar pacientiem, kas pilnībā atveseļojās, savukārt agrākajos laika punktos fenotipa atdalīšanās pēc vairākkārtējas testēšanas korekcijas nebija statistiski nozīmīga. Šo trīs mēnešu signatūru raksturoja paaugstināta gēnu ekspresija, kas saistīta ar endotēliju, trombocītiem, komplementa regulāciju, iekaisumu un audu remodelāciju. Atlasīti marķieri, tostarp PROS1, VWF, CXCL5, FSTL1, ALOX12 un CFH, Garā COVID pacientiem bija augstāki nekā atveseļojušiem pacientiem (5. attēls A).



5. attēls. Persistējošas ar endotēliju saistītas un imūntrombotiskas signatūras Garā COVID pacientiem pēc hospitalizācijas. (A) Atlasītu kandidātģēnu ekspresija, kas bija paaugstināta Garā COVID pacientiem salīdzinājumā ar atveseļojušiem pacientiem trīs mēnešu atveseļošanās laikā, tostarp PROS1, VWF, CXCL5, FSTL1, ALOX12 un CFH. (B) Piedāvātais modelis, kas saista akūtu imūntrombozi ar persistējošu ar endotēliju saistītu aktivāciju, trombocītu reaktivitāti, komplementa regulāciju un zemas pakāpes iekaisumu Garā COVID gadījumā. Modelis apkopo mijiedarbību starp neitrofilu aktivāciju, neitrofilu ekstracelulāro tīklu veidošanos, trombocītu aktivāciju, komplementa aktivāciju, endotēlija bojājumu un trombu veidošanos, izceļot molekulāros marķierus, kas paaugstināti Garā COVID pacientu asinīs trīs mēnešus pēc hospitalizācijas.

Paaugstināts VWF un PROS1 līmenis norādīja uz persistējošu vaskulāru perturbāciju un izmainītu koagulācijas līdzsvaru, savukārt trombocītu saistītie marķieri atbalstīja turpinātu trombocītu aktivāciju un protrombotisku aktivitāti. Paaugstināts CXCL5 norādīja uz persistējošu neitrofilu piesaisti un zemas pakāpes iekaisuma signalizāciju, savukārt ALOX12 liecināja par lipīdu mediētu iekaisuma aktivitāti un ar trombocītiem saistītu vaskulāru iekaisumu. CFH paaugstināšanās var atspoguļot kompensatoru regulāciju notiekošas komplementa aktivācijas apstākļos. Turklāt paaugstināts FSTL1 un citu ar audu remodelāciju saistītu gēnu līmenis liecināja par nepilnīgu vaskulāra vai intersticiāla bojājuma atrisināšanos pēc smagas infekcijas.

Kopumā multiomikas pētījums identificēja imūntrombozi kā centrālu molekulāro mehānismu, kas saista smagu akūtu COVID-19 ar pēcakūtām komplikācijām. Rezultāti liecina, ka smaga SARS-CoV-2 infekcija izraisa akūtu komplementa aktivāciju, neitrofilu ekstracelulāro tīklu veidošanos, trombocītu aktivāciju, mitohondriju disfunkciju un nieru kanāliņu stresu. Lai gan daudzi no šiem ceļiem atveseļošanās laikā daļēji normalizējas, pacientiem, kuriem attīstās Garais COVID, saglabājas persistējošs trīs mēnešu asins šūnu transkriptoma profils, kas atbilst ar endotēliju saistītai aktivācijai, trombocītu reaktivātei, komplementa regulācijai, zemas pakāpes iekaisumam un audu remodelācijai (5. attēls B). Šie rezultāti atbalsta konceptu, ka smags COVID-19 var atstāt noturīgu vaskulāru un imūntrombotisku molekulāru nospiedumu, un identificē kliniski nosakāmus kandidātmarķierus, tostarp VWF, PROS1, ar komplementu saistītus gēnus, iekaisuma mediatorus un nieru bojājuma biomarķierus, turpmākai pēcakūtā riska stratifikācijai.

DISKUSIJA

Šajā promocijas darbā smags COVID-19 un pēcakūtā atveseļošanās raksturoti, izmantojot longitudinālu multiomikas profilēšanu. Galvenais secinājums ir, ka smags COVID-19 nav tikai akūta respiratora infekcija, bet gan sistēmiska imūnmetaboliska un vaskulāra slimība ar ilgstošām molekulārām sekām daļai stacionēto pacientu. Apkopojot trīs pētījumos izanalizēto var secināt, ka akūto slimības fāzi raksturo aminoskābju metabolisma disregulācija, ar iekaisumu un glikoproteīniem saistītas metaboliskas izmaiņas, lipīdu un enerģijas metabolisma traucējumi, mitohondriju stress, nieru kanāliņu bojājuma signāli un imūntrombotisko ceļu aktivācija. Atveseļošanās laikā daudzas akūtās fāzes izmaiņas normalizējās; tomēr pacientiem, kuriem vēlāk attīstījās Garais COVID, saglabājās atšķirīgs trīs mēnešu asins transkriptoma profils, kas atbilst ar endotēliju saistītai aktivācijai, trombocītu reaktivitātei, komplementa regulācijai, zemas pakāpes iekaisumam un audu remodelācijai.

Pirmais pētījums parādīja, ka akūta smaga COVID-19 laikā ir būtiski izmainīts aminoskābju metabolisms. Visizteiktākās izmaiņas skāra triptofāna-kinurenīna ceļu, arginīna metabolismu, glutamīna izsīkumu un fenilalanīna/tirozīna ceļus. Šie rezultāti nav pretrunā ar citiem pētījumiem, tāpēc smaga SARS-CoV-2 infekcija izraisa sistēmisku imūnmetabolisku pārprogrammēšanu, kur metabolīti nav tikai pasīvi slimības marķieri, bet ir saistīti ar imūno aktivāciju, iekaisuma signalizāciju un šūnu enerģijas metabolisma izmaiņām (Ansone et al., 2021). Triptofāna katabolisms caur kinurenīna ceļu ir īpaši nozīmīgs, jo to inducē iekaisuma un interferonu atbildes, un tas sasaista imūnregulāciju ar redoksa līdzsvaru un NAD⁺ metabolismu (O'Neill et al., 2016; Xu et al., 2024). Arginīna metabolisma izmaiņas var būt nozīmīgas, jo arginīns, citrulīns un ornitīns ir saistīti ar slāpekļa oksīda bioloģiju, endotēlija funkciju un imūnšūnu aktivitāti (O'Neill et al., 2016; Xu et al., 2024). Tādējādi LC-MS pētījums atzina akūtu smagu COVID-19 kā koordinētas aminoskābju metabolisma disregulācijas stāvokli.

Otrais pētījums paplašināja šos rezultātus, parādot, ka metaboliskā atveseļošanās pēc smaga COVID-19 daļai pacientu saglabājas nepilnīga. NMR metabolika apstiprināja, ka ar aminoskābēm saistītas izmaiņas ir daļa no atveseļošanās trajektorijas, bet vienlaikus atklāja plašākus traucējumus lipīdu, lipoproteīnu, iekaisuma glikoproteīnu un enerģijas metabolismā. Persistējošas HDL un Apo-A1 izmaiņas var būt bioloģiski nozīmīgas, jo HDL piedalās endotēlija aizsardzībā, reversajā holesterīna transportā un pretiekaisuma funkcijās. GlycA, GlycB un kopējais Glyc bija vieni no konsekventāk longitudināli mainītajiem marķieriem, kas samazinājās pēc akūtās fāzes, bet vairākiem pacientiem saglabājās

paaugstināti 3–4 mēnešus pēc hospitalizācijas salīdzinājumā ar populācijas kontrolēm. Tas atbalsta persistējošas zemas pakāpes iekaisuma aktivitātes klātbūtni. Kopā ar metabolo ceļu līmeņa izmaiņām glikolīzē/glikoneoģenēzē, piruvāta metabolismā, ketonvielu metabolismā un ar TCA ciklu saistītos metabolisma ceļos šie rezultāti liecina, ka atveseļošanās pēc smaga COVID-19 ietver ilgstošu kardiometabolisku un bioenerģētisku pārkārtošanos (Ansone et al., 2024).

Noslēdzošais multiomikas pētījums sniedza mehānisku ietvaru, kas sasaista smagu akūtu infekciju ar pēcakūtām komplikācijām. Asins šūnu transkriptomika parādīja, ka lielākā molekulārā pārbīde notiek starp akūtu hospitalizāciju un viena mēneša atveseļošanos. Tomēr simptiem gēnu saglabāšanās būtiski izmainīti starp viena un trīs mēnešu atveseļošanos, parādot, ka molekulārā atveseļošanās turpinās pēc izrakstīšanas no slimnīcas. Galvenie bioloģiskie procesi ietvēra imūno aktivāciju, mitohondriju un enerģijas metabolisma izmaiņas, komplementa aktivitāti, neitrofilu aktivāciju, ar trombocītu aktivitāti saistītu signalizāciju un koagulāciju. Šie rezultāti atbalsta uzskatu, ka longitudināla omiku pieeja ir būtiska, lai nošķirtu pārejošas akūtas atbildes reakcijas no persistējošām atveseļošanās izmaiņām.

Centrālais multiomikas pētījuma rezultāts bija imūntrombozes identificēšana kā dominējoša molekulārā ass. Imūntromboze raksturo iedzimtās imunitātes aktivācijas un koagulācijas mijiedarbību, ietverot komplementa aktivāciju, neitrofilu ekstracelulāro tīklu veidošanos, trombocītu aktivāciju, endotēlija bojājumu un trombu veidošanos. Šis mehānisms ir izvirzīts kā galvenais akūta COVID-19 patoģenēzes virzītājs, īpaši hospitalizētiem pacientiem ar sistēmisku iekaisumu un vaskulārām komplikācijām (Bonaventura et al., 2021). Šajā promocijas darbā transkriptomikas pierādījumi par komplementa aktivāciju, neitrofilu aktivāciju, ar NET saistītiem gēniem, trombocītu transkriptiem un koagulācijas marķieriem atbalsta savstarpēji saistīta imūntrombotiska tīkla klātbūtni akūtas smagas slimības laikā. Svarīgi, ka ar endotēliju un trombocītiem saistīto transkripcijas pazīmju saglabāšanās Garā COVID pacientiem trīs mēnešu laikā liecina, ka akūta imūntromboze var atstāt noturīgu molekulāru nospiedumu pēc akūtās infekcijas atbrīvošanās.

Trīs mēnešu Garā COVID transkriptoma profilu raksturoja paaugstināta VWF, PROS1, CXCL5, ALOX12, CFH, FSTL1 un citu ar endotēliju aktivāciju, trombocītu reaktivitāti, komplementa regulāciju, iekaisumu un audu remodelāciju saistītu gēnu ekspresija. Šie rezultāti atbilst arī citiem pierādījumiem zinātniskajā literatūrā, tāpēc var secināt, ka Garais COVID var ietvert persistējošu vaskulāru disfunkciju un tromboiekaisuma procesus. Nesen publicēti pētījumi ir ziņojuši par ilgstošu komplementa disregulāciju un tromboiekaisuma marķieriem Garā COVID gadījumā, atbalstot komplementa un koagulācijas ceļu nozīmi pēcakūtos mehānismos (Cervia-Hasler et al., 2024). Šajā promocijas darbā novērotā VWF un ar trombocītiem saistīto transkriptu paaugstināšanās atbilst ilgstošas endotēlija šūnu un trombocītu aktivācijas konceptam. Tomēr, tā

kā transkriptomikas dati iegūti no pilnasiņu paraugiem, šie rezultāti interpretējami kā netieši pierādījumi, nevis kā tiešs endotēlija audu aktivitātes mērījums.

Mitohondriju un enerģijas metabolisma disregulācija bija vēl viena būtiska tēma. Akūts smags COVID-19 bija saistīts ar hipoksijas atbildes transkripcijas modeļiem, paaugstinātu glikolizes signalizāciju, samazinātām oksidatīvās fosforilācijas komponentēm un paaugstinātiem urīna acilkarbioniem, kas liecina par traucētu mitohondriju β -oksidāciju. Šie rezultāti atbilst pārejai uz glikolītisku metabolismu akūta iekaisuma laikā. Atveseļošanās fāzē tika novērota atsienam līdzīga gēnu ekspresija marķieriem, kas iesaistīti mitofāgijā, mitohondriju dinamikā, oksidatīvajā metabolismā un hēma biosintēzē, tostarp PINK1, OPA1 un FECH. Tas liecina, ka mitohondriju atjaunošanās un metaboliskā reaktivācija saglabājas aktīva vairākus mēnešus pēc hospitalizācijas. Citos pētījumos iegūti eksperimentāli pierādījumi, ka SARS-CoV-2 proteīni var tieši ietekmēt mitohondriju funkciju, papildus nostiprina persistējošu mitohondriju stresa bioloģisko ticamību pēc infekcijas (Zong et al., 2023). Šādas mitohondriju un bioenerģētiskās izmaiņas var veicināt pēkšņus simptomus, lai gan šajā pētījumā simptomu līmeņa cēloņsakarību tieši pārbaudīt nebija iespējams.

Urīna biomarķieru un metabolomikas analīzes parādīja, ka smags COVID-19 ir saistīts arī ar nieru kanāliņu stresu. Vairāki nieru bojājuma biomarķieri bija paaugstināti akūtas slimības laikā un samazinājās atveseļošanās laikā, norādot uz daļēju nieru atveseļošanos. Akūts nieru bojājums ir atzīta smaga COVID-19 komplikācija, un tas ir saistīts ar nelabvēlīgiem iznākumiem hospitalizētiem pacientiem (Nadim et al., 2020; Sharma et al., 2021). Šajā promocijas darbā nieru bojājuma biomarķieri korelēja ar metaboliskām pazīmēm, atbalstot interpretāciju, ka nieru stress ir saistīts ar plašākiem sistēmiskiem imūnmetaboliskiem traucējumiem, nevis izolētu orgānspecifisku fenomenu.

Interpretējot šos rezultātus, jāņem vērā vairāki ierobežojumi. Garā COVID klasifikācija balstījās uz elektroniskā veselības reģistra diagnozēm, kas ļauj veikt plaša mēroga stratifikāciju, bet var būt atkarīga no dažādiem pacientu veselības aprūpes meklēšanas paradumiem, kā arī no veselības aprūpes personāla atšķirīgas kodēšanas prakses un nepilnīgas dokumentācijas. Kohortu veidoja hospitalizēti pacienti ar blakusslimībām un heterogēnām kliniskajām trajektorijām, kas var mazināt jaudu fenotipam specifisku molekulāro atšķirību noteikšanai. Pats Garais COVID ir kliniski heterogēns, un atšķirīgiem simptomu apakštipiem var būt dažādi molekulārie mehānismi. Visbeidzot, pilnasiņu transkriptomika un mērķētā metabolomika sniedz sistēmisku molekulāru informāciju, bet nevar pilnībā atšķirt šūnu tipu vai audu specifiskos procesus.

Neskatoties uz šiem ierobežojumiem, promocijas darbs sniedz integrētu longitudinālu skatījumu uz smagu COVID-19 un atveseļošanos. Rezultāti atbalsta modeli, kurā smaga SARS-CoV-2 infekcija izraisa akūtu imūnmetabolisku disregulāciju, mitohondriju stresu, nieru kanāliņu bojājumu un imūntrombozi. Daudziem pacientiem šie procesi normalizējas, bet daļai tie atstāj persistējošas

vaskulāras, trombocītu, komplementa, iekaisuma un audu remodelācijas molekulāro procesu marķierus. Šie rezultāti identificē kliniski nosakāmus kandidātmārkierus, tostarp VWF, PROS1, iekaisuma glikoproteīnus, ar komplementu saistītus marķierus, lipīdu parametrus un nieru bojājuma biomārkierus, kas nākotnē var palīdzēt pēcakūta riska stratifikācijā un novērošanā pēc smaga COVID-19.

SECINĀJUMI

1. Smagu COVID-19 akūtajā fāzē raksturo sistēmiska imūnmetaboliska disregulācija ar izteiktām aminoskābju metabolisma izmaiņām, tostarp triptofāna-kinurenīna metabolismā, arginīna metabolismā, glutamīna izsīkumā un fenilalanīna/tirozīna metabolajos ceļos.
2. Metaboliskā atveseļošanās pēc hospitalizācijas daļai pacientu ir nepilnīga. Uz NMR balstīta metabolomika atklāja persistējošus traucējumus lipīdu un lipoproteīnu metabolismā, iekaisuma glikoproteīnu marķieros, aminoskābju metabolismā un enerģijas metabolismā trīs līdz četrus mēnešus pēc smaga COVID-19.
3. Longitudināla multiomikas profilēšana parādīja, ka atveseļošanās pēc smaga COVID-19 ietver plašus molekulārus procesus. Lielākās transkriptoma izmaiņas notika starp akūtu hospitalizāciju un viena mēneša atveseļošanos, bet būtiskas molekulāras izmaiņas saglabājās starp vienu un trim mēnešiem pēc hospitalizācijas.
4. Akūts smags COVID-19 bija saistīts ar mitohondriju un bioenerģētisku disregulāciju, ietverot ar hipoksiju saistītas transkripcijas atbildes, izmaiņus glikolītiskos un oksidatīvās fosforilācijas ceļus, traucētu taukskābju oksidāciju un ar atveseļošanos saistītas izmaiņas mitofāgijā, mitohondriju dinamikā un hēma metabolismā.
5. Smags COVID-19 izraisīja nieru kanāliņu stresu, ko atspoguļoja paaugstināti urīna nieru bojājuma biomarkieri un ar atveseļošanos saistītas urīna metabolītu izmaiņas. Šie rezultāti liecina, ka nieru bojājuma signāli ir saistīti ar plašākiem sistēmiskiem metaboliskajiem un iekaisuma traucējumiem.
6. Imūntromboze izvirzījās kā centrālais molekulārais mehānisms, kas saista smagu akūtu COVID-19 ar pēcakūtām komplikācijām. Komplementa aktivācija, neitrofilu aktivācija un ekstracelulāro tīklu veidošanās, trombocītu aktivācija, koagulācijas saistītā signalizācija un ar endotēliju saistīta aktivācija veidoja savstarpēji saistītu molekulāru tīklu smagas slimības laikā.
7. Pacienti, kuriem pēc hospitalizācijas attīstījās Garais COVID, saglabājās atšķirīgs trīs mēnešu asins transkriptoma profils, ko raksturoja ar endotēliju saistīta aktivācija, trombocītu reaktivāte, komplementa regulācija, zemas pakāpes iekaisums un audu remodelācija.
8. Promocijas darbs identificē kandidātmарķierus turpmākai pēcakūta riska stratifikācijai un novērošanai pēc smaga COVID-19, tostarp VWF, PROS1, ar komplementu saistītus marķierus, iekaisuma glikoproteīnus, lipīdu parametrus un urīna nieru bojājuma biomarkierus.

LITERATŪRAS SARAKSTS

1. Ansonē, L., Brīviba, M., Silamikelis, I., Terentjeva, A., Perkons, I., Birzniece, L., Rovite, V., Rozentale, B., Viksna, L., Kolesova, O., Klavins, K., & Klovins, J. (2021). Amino Acid Metabolism is Significantly Altered at the Time of Admission in Hospital for Severe COVID-19 Patients: Findings from Longitudinal Targeted Metabolomics Analysis. *Microbiology Spectrum*, 9(3). https://doi.org/10.1128/SPECTRUM.00338-21/SUPPL_FILE/SPECTRUM00338-21_SUPP_2_SEQ5.XLSX
2. Ansonē, L., Rovite, V., Brīviba, M., Jagare, L., Pelcmane, L., Borisova, D., Thews, A., Leiminger, R., & Klovins, J. (2024). Longitudinal NMR-Based Metabolomics Study Reveals How Hospitalized COVID-19 Patients Recover: Evidence of Dyslipidemia and Energy Metabolism Dysregulation. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(3), 1523. <https://doi.org/10.3390/ijms25031523>
3. Bonaventura, A., Vecchié, A., Dagna, L., Martinod, K., Dixon, D. L., Van Tassell, B. W., Dentali, F., Montecucco, F., Massberg, S., Levi, M., & Abbate, A. (2021). Endothelial dysfunction and immunothrombosis as key pathogenic mechanisms in COVID-19. *Nature Reviews Immunology*, 21(5), 319–329. <https://doi.org/10.1038/s41577-021-00536-9>
4. Cervia-Hasler, C., Brüningk, S. C., Hoch, T., Fan, B., Muzio, G., Thompson, R. C., Ceglarek, L., Meledin, R., Westermann, P., Emmenegger, M., Taeschler, P., Zurbuchen, Y., Pons, M., Menges, D., Ballouz, T., Cervia-Hasler, S., Adamo, S., Merad, M., Charney, A. W., ... Boyman, O. (2024). Persistent complement dysregulation with signs of thromboinflammation in active Long Covid. *Science*, 383(6680), 1–18. <https://doi.org/10.1126/science.adg7942>
5. Choutka, J., Jansari, V., Hornig, M., & Iwasaki, A. (2022). Unexplained post-acute infection syndromes. *Nature Medicine*, 28(5), 911–923. <https://doi.org/10.1038/s41591-022-01810-6>
6. Davis, H. E., McCorkell, L., Vogel, J. M., & Topol, E. J. (2023). Long COVID: major findings, mechanisms and recommendations. *Nature Reviews Microbiology*, 21(3), 133–146. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00846-2>
7. Nadim, M. K., Fornì, L. G., Mehta, R. L., Connor, M. J., Liu, K. D., Ostermann, M., Rimmelé, T., Zarbock, A., Bell, S., Bihorac, A., Cantaluppi, V., Hoste, E., Husain-Syed, F., Germain, M. J., Goldstein, S. L., Gupta, S., Joannidis, M., Kashani, K., Koyner, J. L., ... Kellum, J. A. (2020). COVID-19-associated acute kidney injury: consensus report of the 25th Acute Disease Quality Initiative (ADQI) Workgroup. *Nature Reviews Nephrology*, 16(12), 747–764. <https://doi.org/10.1038/s41581-020-00356-5>
8. Nalbandian, A., Sehgal, K., Gupta, A., Madhavan, M. V., McGroder, C., Stevens, J. S., Cook, J. R., Nordvig, A. S., Shalev, D., Sehrawat, T. S., Ahluwalia, N., Bikdeli, B., Dietz, D., Der-Nigoghossian, C., Liyanage-Don, N., Rosner, G. F., Bernstein, E. J., Mohan, S., Beckley, A. A., ... Wan, E. Y. (2021). Post-acute COVID-19 syndrome. *Nature Medicine*, 27(April), 601–615. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01283-z>

9. O'Neill, L. A. J., Kishton, R. J., & Rathmell, J. (2016). A guide to immunometabolism for immunologists. *Nature Reviews Immunology*, 16(9), 553–565. <https://doi.org/10.1038/nri.2016.70>
10. Sharma, P., Ng, J. H., Bijol, V., Jhaveri, K. D., & Wanchoo, R. (2021). Pathology of COVID-19-associated acute kidney injury. *Clinical Kidney Journal*, 14(Supplement_1), i30–i39. <https://doi.org/10.1093/ckj/sfab003>
11. World Health Organization. (2025). *Clinical management of COVID-19*. World Health Organization. <https://doi.org/10.2471/B09467>
12. Wulf Hanson, S., Abbafati, C., Aerts, J. G., Al-Aly, Z., Ashbaugh, C., Ballouz, T., Blyuss, O., Bobkova, P., Bonsel, G., Borzakova, S., Buonsenso, D., Butnaru, D., Carter, A., Chu, H., De Rose, C., Diab, M. M., Ekbom, E., El Tantawi, M., Fomin, V., ... Vos, T. (2022). Estimated Global Proportions of Individuals With Persistent Fatigue, Cognitive, and Respiratory Symptom Clusters Following Symptomatic COVID-19 in 2020 and 2021. *JAMA*, 328(16), 1604. <https://doi.org/10.1001/jama.2022.18931>
13. Xu, R., He, X., Xu, J., Yu, G., & Wu, Y. (2024). Immunometabolism: signaling pathways, homeostasis, and therapeutic targets. *MedComm*, 5(11). <https://doi.org/10.1002/mco2.789>
14. Zang, C., Zhang, Y., Xu, J., Bian, J., Morozyuk, D., Schenck, E. J., Khullar, D., Nordvig, A. S., Shenkman, E. A., Rothman, R. L., Block, J. P., Lyman, K., Weiner, M. G., Carton, T. W., Wang, F., & Kaushal, R. (2023). Data-driven analysis to understand long COVID using electronic health records from the RECOVER initiative. *Nature Communications*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-023-37653-z>
15. Zong, S., Wu, Y., Li, W., You, Q., Peng, Q., Wang, C., Wan, P., Bai, T., Ma, Y., Sun, B., & Qiao, J. (2023). SARS-CoV-2 Nsp8 induces mitophagy by damaging mitochondria. *Virologica Sinica*, 38(4), 520–530. <https://doi.org/10.1016/j.virs.2023.05.003>

