

Veranderingen in microcirculatoire weefsel oxygenatie in long-COVID

Gepubliceerd: 30-11-2023 Laatste bijgewerkt: 24-05-2024

Primaire Doelstelling: Het bestuderen van veranderingen in microcirculatoire oxygenatie tijdens inspanning bij patiënten met long-COVID in relatie tot klinische symptomen. **Secundaire Doelstellingen:** Bij patiënten met long-COVID vergeleken met...

Ethische beoordeling	Goedgekeurd WMO
Status	Werving nog niet gestart
Type aandoening	Overige aandoening
Onderzoekstype	Observationeel onderzoek, met invasieve metingen

Samenvatting

ID

NL-OMON55916

Bron

ToetsingOnline

Verkorte titel

MICROX long-COVID

Aandoening

- Overige aandoening

Synoniemen aandoening

post COVID syndroom

Aandoening

long-COVID

Betreft onderzoek met

Mensen

Ondersteuning

Primaire sponsor: Erasmus MC, Universitair Medisch Centrum Rotterdam

Overige ondersteuning: Ministerie van OC&W

Onderzoeksproduct en/of interventie

Trefwoord: Inspannings gerelateerde malaise, long-COVID, Microcirculation, Weefsel oxygenatie

Uitkomstmaten

Primaire uitkomstmaten

I: Verschil tussen groepen (long-COVID versus controle) in de verandering van microcirculatoire Hb-saturatie (%) zoals bepaald door handheld sublingual reflective spectrometry vóór en na fysieke inspanning (1 minuut zit-tot-stand-test).

II: Verschil tussen groepen (long-COVID versus controle) in plasma levels van VEGF-A.

Secundaire uitkomstmaten

Ziektekaracterisering

Uitgebreide ziektekaracterisering zal worden uitgevoerd op basis van door de patiënt gerapporteerde uitkomstmaten (PROM's), verzameld via Castor EDC:

- 1] Aanhoudende symptomen en ernst (corona-symptoomlijst)
- 2] Kwaliteit van leven in relatie tot gezondheid (HRQoL, EQ5D)
- 3] Vermoeidheid (Vermoeidheidsbeoordelingsschaal, FAS)
- 4] Dyspneu (mMRC)
- 5] Cognitieve tekorten in het dagelijks leven (CFQ)
- 6] Terugkeer naar werk (iMTA Productiviteitskosten Vragenlijst, iPCQ)
- 7] Post-Exertional Malaise (aangepaste sf-DSQ-PEM)
- 8] Posturaal orthostatisch tachycardiesyndroom (Malmo POTS-symptoomscore)
- 9] Herstelstatus (Numerieke schaal en Likert-schaal)

Systemische oxygenatieparameters (pulsoximetrie) voor en na inspanning,
verschil tussen groepen

- SpO₂ (%)

Microcirculatoire parameters (sublinguale microcirculatie): voor en na
inspanning, verschil tussen groepen.

- Totale vaatdichtheid (TVD in mm/mm²)
- Functionele capillaire dichtheid (FCD in mm/mm²)
- Geperfundeerde vaatdichtheid (PPV in %)
- Rode bloedcel snelheid (RBCv in $\mu\text{m} \times \text{s}$)

Perifere weefseloxygenatie (near-infrared reflectionspectrometry) voor en na
inspanning, verschil tussen groepen

- Zuurstofverbruik afgeleid van StO₂ downslope (%/minuut) tijdens de
ischemische fase van de vasculaire occlusietest
- Microvasculaire rekrutering bepaald als de StO₂ upslope (%/minuut) tijdens de
reperfusiefase van de vasculaire occlusietest

Angiogenese-markers, verschil tussen groepen:

- Markers van vasculaire transformatie (HIF-1, ANGPT-1)

Markers van endotheelactivatie, verschil tussen groepen:

- Serummarkers van endotheelcelactivatie (E-selectine, VCAM-1, ICAM-1,
P-selectine)

Ontstekingsparameters, verschil tussen groepen

- Leukocyten in de sublinguale microcirculatie (aantal leukocyten per capillair-postcapillaire veneuze eenheid per afbeeldingssequentie)
- Serummarkers van ontstekingsactivatie (IL-6, sCD25 (sIL-2Ra), TNFalpha, IL-1beta, Galectine-9, CXCL-10, sCD163, CCL2, CCL5, CCL7, CXCL9, IFN-beta, IFN-gamma, C5a)
- Monocytenactivatie
- Plasmagehalte van neutrofiele extracellulaire vallen (NETs) (MPO-DNA-complexen, extracellulair DNA en gecitrullineerd histon-3)

Stollingsparameters, verschil tussen groepen:

- Serumstollingsparameters (t-PA, PAI-1, PAI-2, vWF, FVIII)
- Pro-angiogene cellen (PACs) typen en subtypen
- De aanwezigheid van microtrombi in plasma
- Circulerende complexen van FXIIa-, FXIa-, kallikrein-C1q-inhibitor, downstream trombine-antitrombinecomplex
- Bloedplaatjesactivatie
- Potentieel tot trombusvorming

Mitochondriale zuurstof metingen in vivo, verschil tussen groepen

- Mitochondriale zuurstofspanning, mitoPO2
- Mitochondriale zuurstof verbruik, mitoVO2

Toelichting onderzoek

Achtergrond van het onderzoek

De COVID-19 pandemie heeft een grote impact gehad. Het is nu bekend dat COVID-19 een multisysteemziekte is die verschillende organen in het lichaam aantast, gekenmerkt door een ontregelde immuunrespons die leidt tot een cytokine-releasestorm (1). Systemische ontsteking, evenals directe invasie van endotheelcellen door het virus, leidt tot endotheeldisfunctie, wat de vasomotorische functie verstoort en de weefselperfusie en daarmee oxygenatie kan verminderen (2) (3).

Microcirculatoire weefseloxygenatie

Een aanzienlijk deel van de patiënten met COVID-19 ontwikkelt long-COVID. Dit wordt gedefinieerd als aanhoudende symptomen, gevolgen of abnormale klinische parameters die twaalf weken of langer na infectie met SARS-CoV-2 optreden (4). Symptomen zijn onder meer kortademigheid, vermoeidheid en mentale en cognitieve stoornissen (5). Een grote groep patiënten heeft ernstige beperkingen in lichamelijke oefening en meldt functionele beperkingen, ondanks een normale cardiorespiratoire functie (6) (7), vooral postexertionele malaise (PEM). PEM is het ontstaan van nieuwe symptomen of verergering van symptomen 12-48 uur na fysieke of cognitieve inspanning (8). Interessant genoeg hebben deze patiënten, in tegenstelling tot de systemische hypoxie bij acute COVID-19-infectie, normale waarden voor systematische zuurstofsaturatie (6) (7). Eerdere studies hebben aangetoond dat symptomen van vermoeidheid en subjectieve kortademigheid niet gerelateerd waren aan een verminderde pulmonale gasuitwisseling, met normale systemische pO₂- en pCO₂-waarden tijdens klachten van uitputting tijdens lichaamsbeweging (9). Peak VO₂ was echter verminderd bij deze patiënten tijdens cardiopulmonale inspanningstesten, wat wijst op veranderingen in zuurstofopname en/of -gebruik in weefsels. Gezien de systemische zuurstofspanning voldoende is, wijzen deze gegevens op verstoorde zuurstofregulatie op het niveau van de microvasculatuur. Recente gegevens ondersteunen dit door veelbelovende resultaten te tonen van behandeling met hyperbare zuurstoftherapie en zuurstoftherapie bij inspanning (10) (11).

De microcirculatie speelt een sleutelrol bij de regulatie van zuurstofafgifte aan weefsels en bij gezonde mensen vindt recrutering van de microvasculatuur plaats in reactie op metabole behoeften, zoals tijdens lichaamsbeweging. Interessant is dat veranderingen die zijn gevonden in de microvasculatuur van acute COVID-19-patiënten aanpassingen zouden kunnen zijn aan de systemische hypoxie. Een eerdere studie van onze groep, waarbij directe observatie en kwantificering van microcirculatoire rode en witte bloedcellen onder de tong

werden gebruikt met behulp van handheld vitale microscopie (HVM), vond een verhoogde capillaire dichtheid, wat wijst op recrutering van de microcirculatie (12). Het capillaire hematocriet was verhoogd, met een verschuiving van rode bloedcellen van de systemische naar de microcirculatie. Mogelijk zijn capillaire recrutering en recrutering van rode bloedcellen naar de microcirculatie aanpassingen aan systemische hypoxie, om de beschikbaarheid en extractie van weefselzuurstof in de hypoxische toestand te behouden. Vergelijkbare compensatiemechanismen worden waargenomen bij experimentele hypoxie (13) (14), maar ook bij mensen die verblijven op hoogte (15) (16). Deze aanpassingen maken tolerantie voor lage systemische arteriële zuurstofdrukken mogelijk. Interessant is dat de ernstigst zieke patiënten met COVID-19, zoals aangegeven door een SOFA-score > 10 punten, geen toename vertoonden in capillaire dichtheid, noch de toename in capillair hematocriet. Mogelijk ontbreekt deze adaptieve respons om de weefseloxygenatie te behouden bij de ernstigst zieke patiënten.

Bij patiënten met long-COVID werd een verminderde dichtheid van kleine capillairen gevonden. Dit ging gepaard met een verhoogde snelheid van rode bloedcellen, mogelijk ter compensatie van het verlies aan capillaire dichtheid. De snelheid van rode bloedcellen in de microcirculatie bleek echter afhankelijk te zijn van de stroming in aanvoervaten, wat kan duiden op gestoorde recruitment (17). Een andere studie toonde aan dat post-occlusieve reactieve hyperemie veranderd was na COVID-19 (18).

Gestoorde mitochondriële functie

Een recente studie laat zien dat er afwijkingen worden gevonden in de mitochondrien van patiënten met long-COVID en PEM. Mogelijk is er dus ook iets mis op het niveau van zuurstofverbruik wat leidt tot weefsel hypoxie en de typische klachten.

Angiogenese

Een gevolg van weefselhypoxie op microvasculair niveau is de inductie van angiogenese. Dit omvat cellulaire reacties die worden veroorzaakt door cellulaire hypoxie, die uiteindelijk leiden tot de vorming van nieuwe bloedvaten. Vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) en andere angiogenesemarkers angiopoetine-1 (ANGPT1) en P-selectine waren verhoogd bij patiënten met long-COVID en voorspellend voor de ontwikkeling van het long-COVID-syndroom (19). Hiermee in overeenstemming was dat hypoxia-induceerbare factor 1 (HIF-1) pathways zijn geassocieerd met het ontstaan long-COVID (20). Zogenaamde pro-angiogene cellen (PAC) (een subtype monocyt) spelen een belangrijke rol bij de regulatie van angiogenese en neovascularisatie, voornamelijk door de productie van cytokines en andere mediators (21).

Hypothese en doelen

Deze gegevens suggereren een sleutelrol voor veranderingen in microvasculaire functie en microvasculaire - niet systemische - weefseloxygenatie bij de

ontwikkeling van long-COVID. Het endotheel speelt een cruciale rol bij het handhaven van de microvasculaire functie en stelt de microcirculatie in staat om te reageren op de weefseisen en de stroming door de kleine vaten te verhogen wanneer dat nodig is. Daarom denken we dat ontstekingsgeïnduceerde veranderingen in de endotheelfunctie leiden tot verlies van normale anti-inflammatoire en antitrombotische functie van endotheelcellen, die vervolgens bijdragen aan verminderde microcirculatoire functie en zuurstofafgifte aan weefsels en het ontstaan van klachten bij patiënten met long-COVID.

In deze bestuderen we hoe symptomen van patiënten met long-COVID verband houden met veranderingen in microcirculatoire functie en zuurstofafgifte, en onderzoeken we de rol van ontsteking, endotheelactivatie en stolling hierin.

Endotheelactivatie

SARS-CoV-2-infectie via ACE2-receptoren leidt tot een ernstige ontstekingsreactie, die helpt bij het beperken van virale replicatie (1). De immuunrespons kan echter ontregeld raken, wat leidt tot een overmatige en langdurige ontstekingsreactie, de "cytokinestorm", welke kan leiden tot weefschade. De cytokinestorm omvat de overproductie van pro-inflammatoire cytokines, zoals interleukine-1 β (IL-1 β), interleukine-6 (IL-6) en interleukine-8 (IL-8). De pro-inflammatoire cytokines veroorzaken endotheelactivatie met als gevolg verlies van vasomotorische functie, maar ook van de normale anti-inflammatoire en antitrombotische functie van endotheelcellen.

Ontsteking

IL-6 verhoogt de expressie van adhesiemoleculen vascular adhesion molecule-1 (VCAM-1), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) en E-selectin op endotheelcellen, rollen van leukocyten in de vaatwand bevordert (22) (23). Onze groep heeft inderdaad aangetoond dat er een verhoogd aantal leukocytenaggregaties zichtbaar was in de microcirculatoire vaten van COVID-19-patiënten (12). Het aantal leukocyten in de microcirculatie hing samen met een ernstigere ziekte (SOFA-score). Eerdere studies hebben ook aangetoond dat pro-inflammatoire cytokines verhoogd blijven na de initiële COVID-19-infectie (24). Bovendien veroorzaakt de ontstekingsreactie de vorming van neutrophil extracellular traps (NET's), die worden gevormd bij neutrofielactivatie. Ze bevatten DNA en histonen en vormen matrixnetwerken van extracellulaire vezels die de cytokinestorm verder stimuleren. Er werd een verhoogde NETose aangetoond bij

Doel van het onderzoek

Primaire Doelstelling:

Het bestuderen van veranderingen in microcirculatoire oxygenatie tijdens inspanning bij patiënten met long-COVID in relatie tot klinische symptomen.

Secundaire Doelstellingen:

Bij patiënten met long-COVID vergeleken met controlepatienten:

- Uitgebreide ziektekaracterisering (symptomen, kwaliteit van leven, PEM)
- Systemische oxygenatie in rust en na inspanning
- Microcirculatoire weefseloxygenatie en zuurstofverbruik in rust en na inspanning
- Microcirculatoire functie en recrutering in rust en na inspanning
- Angiogenesepaden (serum concentratie van angiogenesemarkers)
- Endotheelactivatie (serum markers van endotheelactivatie)
- Aanhoudende inflammatie (leukocyten, serum inflammatieparameters, monocytenactivatie, NETs)
- Pro-coagulatie (serumstollingsparameters, circulerende stollingscomplexen, bloedplaatjesactivatie, potentieel tot trombusvorming, pro-angiogene cellen (PACs), aanwezigheid van microthrombi, vasculaire transformatiemarkers van angiogenese)
- Mitochondriale functie in vivo en in vitro

Onderzoeksopzet

Deze studie is een vergelijkende, niet-invasieve observationele studie. We zullen in totaal 54 long-COVID-patiënten en 52 controles includeren. Voor deze studie zullen vragenlijsten online worden afgenomen om klinische symptomen bij alle patiënten te karakteriseren. Tijdens een studiebezoek zullen metingen van de sublinguale microcirculatie en oxygenatie, evenals NIRS, worden uitgevoerd vóór en na inspanning door middel van een één-minuut sit-to-stand-test op de polikliniek voor post-COVID voor 27 langdurige COVID-patiënten en 27 controles. Bovendien zullen bloedmonsters worden afgenomen om markers van angiogenese, endotheelactivatie, ontsteking en stolling te bepalen bij alle 54 langdurige COVID-patiënten en alle 52 controles. De 27 langdurige COVID-patienten en 26 controles die het gehele protocol hebben ondergaan worden teruggevraagd voor een extra study visit na 6 maanden waarin de metingen inclusief bloedafname worden herhaald, tevens worden mitochondriale zuurstofmetingen dan uitgevoerd.

Inschatting van belasting en risico

De individuele patiënten die deelnemen aan dit onderzoek zullen niet direct profiteren van de resultaten van ons onderzoek. Sublinguale metingen van de microcirculatie en weefseloxygenatie zijn niet-invasief en brengen geen risico met zich mee. Ze kunnen echter enig ongemak veroorzaken, vooral tijdens de vasculaire occlusietest. Patiënten wordt gevraagd fysieke inspanning te leveren met een één-minuut sit-to-stand test en dit kan vermoeidheid veroorzaken. Bloedafname kan ongemak veroorzaken. De pleister voor de mitochondriale zuurstofmetingen kan huidirritatie en jeuk geven, tevens verkleuring van de huid wanneer deze wordt blootgesteld aan zonlicht.

Het kan zijn dat niet alle 27 patienten versus 26 controles die we terugvragen

voor de study visit na 6 maanden hieraan mee willen doen, omdat zij het toch te belastend vonden. Wij rekenen op ongeveer 80% deelname aan deze study visit, wat genoeg is.

De resultaten zouden kunnen leiden tot nieuwe inzichten die zeer relevant zijn voor het begrijpen van de pathofysiologie van langdurige COVID in het algemeen. De populatie van patiënten met het langdurige COVID-syndroom op de polikliniek is sterk gemotiveerd om bij te dragen aan onderzoek dat tot doel heeft de pathofysiologie van hun ziekte te ontrafelen.

Contactpersonen

Publiek

Erasmus MC, Universitair Medisch Centrum Rotterdam

Dr. Molewaterplein 40
Rotterdam 3015 GD
NL

Wetenschappelijk

Erasmus MC, Universitair Medisch Centrum Rotterdam

Dr. Molewaterplein 40
Rotterdam 3015 GD
NL

Locaties

Landen waar het onderzoek wordt uitgevoerd

Netherlands

Deelname eisen

Leeftijd

Volwassenen (18-64 jaar)
65 jaar en ouder

Belangrijkste voorwaarden om deel te mogen nemen (Inclusiecriteria)

Long-COVID patienten

- Leeftijd ≥ 18 jaar, < 65 jaar
- Status na COVID-19 diagnose middels
 - o Positieve PCR
 - o Positieve Sars-Cov2 serologie
 - o Positieve rapid antigen test
 - o Typische symptomen tijdens de eerste pandemie golf toen testen nog niet mogelijk was
- Long-COVID-19 diagnose volgens World Health Organisation consensus diagnose
- Long COVID duur > 6 maanden
- Post-exertional malaise
- Schriftelijk informed consent

Convalescent Controls

- Status na COVID-19 diagnose middels
 - o Positieve PCR
 - o Positieve Sars-Cov2 serologie
 - o Positieve rapid antigen test
 - o Typische symptomen tijdens de eerste pandemie golf toen testen nog niet mogelijk was
- Geen long-COVID, goed herstel met functioneren $> 95\%$ ten aanzien van voor de COVID-19 infectie
- Schriftelijk informed consent

Belangrijkste redenen om niet deel te kunnen nemen (Exclusiecriteria)

Long-COVID patienten

- Geen informed consent
- Kan geen vragenlijsten in het nederlands invullen
- Kan geen bloedafname ondergaan
- Dementie
- Hyperbare zuurstof behandeling
- Alternatieve diagnose die de symptomen beter verklaart
- Pre-existente immuun aandoening of anti-inflammatoire therapie
- Diabetes mellitus, hypertensie, antistolling de afgelopen 4 weken
- Re-infectie met COVID-19 de afgelopen 3 maanden

Controls:

Long-COVID patienten

- Geen informed consent

- Kan geen vragenlijsten in het nederlands invullen
- Kan geen bloedafname ondergaan
- Dementie
- Hyperbare zuurstof behandeling
- Pre-existente immuun aandoening of anti-inflammatoire therapie
- Diabetes mellitus, hypertensie, antistolling de afgelopen 4 weken
- Re-infectie met COVID-19 de afgelopen 3 maanden

Onderzoeksopzet

Opzet

Type:	Observationeel onderzoek, met invasieve metingen
Onderzoeksmodel:	Anders
Toewijzing:	Niet-gerandomiseerd
Blinding:	Open / niet geblindeerd
Controle:	Actieve controle groep
Doel:	Algemeen wetenschappelijk

Deelname

Nederland	
Status:	Werving nog niet gestart
(Verwachte) startdatum:	01-12-2023
Aantal proefpersonen:	106
Type:	Verwachte startdatum

In onderzoek gebruikte producten en hulpmiddelen

Registratie:	Geen registratie
--------------	------------------

Ethische beoordeling

Goedgekeurd WMO	
Datum:	30-11-2023
Soort:	Eerste indiening
Toetsingscommissie:	METC Erasmus MC, Universitair Medisch Centrum Rotterdam (Rotterdam)

Goedgekeurd WMO

Datum: 03-05-2024

Soort: Amendement

Toetsingscommissie: METC Erasmus MC, Universitair Medisch Centrum Rotterdam (Rotterdam)

Registraties

Opgevolgd door onderstaande (mogelijk meer actuele) registratie

Geen registraties gevonden.

Andere (mogelijk minder actuele) registraties in dit register

Geen registraties gevonden.

In overige registers

Register	ID
CCMO	NL85146.078.23