

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
"VICTOR BABEȘ" TIMISOARA
FACULTATEA DE MEDICINĂ GENERALĂ
DEPARTAMENTUL IV - BIOCHIMIE ȘI FARMACOLOGIE**

TAMARA MIRELA POROSNICU



TEZĂ DE DOCTORAT

**PARTICULARITĂȚI ALE PLASMAFEREZEI LA
PACIENȚII COVID-19 AFLAȚI ÎN STARE CRITICĂ**

Coordonator științific

PROF. UNIV. DR. SIRBU IOAN OVIDIU

**Timisoara
2024**

CUPRINS

PARTEA GENERALĂ

- I.1 EPIDEMIOLOGIA PANDEMIEI DE COVID-19
- I.2 VIRUSUL SARS-COV-2
- I.3 PATOFIZIOLOGIA INFECȚIEI
- I.4 CONSTATĂRI CLINICE ȘI COMPLICAȚII
- I.5 INTERNĂRI ÎN UNITĂȚI DE TERAPIE INTENSIVĂ
- I.6 METODE DE TRATARE A COVIDULUI-19

PARTEA SPECIALĂ

- I. STUDIUL 1: IMPACTUL SCHIMBULUI TERAPEUTIC DE PLASMĂ ASUPRA MARKERILOR INFLAMATORII ȘI A REACTANȚILOR DE FAZĂ ACUTĂ LA PACIENȚII CU INFECȚIE SEVERĂ CU SARS-COV-2
 - I.1 INTRODUCERE
 - I.1.1. CONTEXT
 - I.1.2. SCOPUL CERCETĂRII
 - I.2 MATERIALE ȘI METODE
 - I.2.1 DESIGNUL STUDIULUI ȘI PROTOCOLUL DE CĂUTARE
 - I.2.2. CRITERII DE INCLUDERE ȘI DE EXCLUDERE
 - I.2.3 EXTRAGEREA DATELOR ȘI EVALUAREA CALITĂȚII
 - I.3 REZULTATE
 - I.3.1 CONTEXTUL PRINCIPALELOR STUDII
 - I.3.2 OBSERVAȚII CHEIE
 - I.4 DISCUȚII
 - I.4.1 LITERATURA DE SPECIALITATE
 - I.4.2 LIMITĂRI ALE STUDIULUI
 - I.5 CONCLUZII
- II. STUDIU 2: EFICACITATEA SCHIMBULUI TERAPEUTIC DE PLASMĂ ÎN SINDROMUL DE DETRESĂ RESPIRATORIE ACUTĂ SEVERĂ LA PACIENȚII COVID-19 DIN VESTUL ROMÂNIEI
 - II.1 INTRODUCERE
 - II.1.1 CONTEXT
 - II.1.2. SCOPUL CERCETĂRII
 - II.2 MATERIALE ȘI METODE
 - II.2.1. PARTEA EXPERIMENTALĂ
 - II.2.2.2 ANALIZA STATISTICĂ

- II.3 REZULTATE
 - I.3.1 ISTORICUL PACIENȚILOR ȘI DATELE DE LABORATOR
 - II.3.2 STAREA RESPIRATORIE
 - II.3.3. COMPLICAȚII ȘI REZULTATE
- II.4 DISCUȚII
 - II.4.1 CONSTATĂRI DIN LITERATURA DE SPECIALITATE
 - II.4.2 LIMITĂRI ALE STUDIULUI
- II.5 CONCLUZII
- III. STUDIUL 3: EVALUAREA REZULTATELOR PACIENȚILOR CU INFECȚIE SEVERĂ CU SARS-COV-2 DUPĂ SCHIMBUL TERAPEUTIC DE PLASMĂ ÎN FUNCȚIE DE NUMĂRUL DE ȘEDINȚE DE TPE
 - III.1 INTRODUCERE
 - III.1.1 CONTEXT
 - III.1.2. SCOPUL CERCETĂRII
 - III.2 MATERIALE ȘI METODE
 - III.2.1 DESIGNUL ȘI ETICA STUDIULUI
 - III.2.2.2 CRITERII DE SELECȚIE ȘI VARIABILE DE STUDIU
 - III.2.3. DEFINIȚII ȘI PROCEDURA TPE
 - III.2.4 ANALIZA STATISTICĂ
 - III.3 REZULTATE
 - III.3.1 CARACTERISTICILE DE FOND ALE PACIENȚILOR
 - III.3.2 REZULTATE CLINICE
 - III.4 DISCUȚII
 - III.4.1 CONSTATĂRI DIN LITERATURA DE SPECIALITATE
 - III.4.2 LIMITĂRI ALE STUDIULUI
 - III.5 CONCLUZII
- IV. CONCLUZII FINALE ȘI PERSPECTIVE VIITOARE
- BIBLIOGRAFIE:
- ANEXA

STUDIUL 1: IMPACTUL PLASMAFEREZEI ASUPRA MARKERILOR INFLAMATORI ȘI A REACTANȚILOR DE FAZĂ ACUTĂ LA PACIENȚII CU INFECȚIE SEVERĂ CU SARS-COV- 2.

CONTEXT

Noul coronavirus SARS-CoV-2, spre deosebire de celelalte două virusuri, MERS (Sindromul respirator din Orientul Mijlociu) și SARS (Sindromul respirator acut sever), a reprezentat o adevărată provocare pentru întregul sistem de sănătate global, datorită numărului mare de cazuri care au necesitat spitalizare într-o perioadă scurtă de timp, provocând o criză globală în sistemul de sănătate. În ceea ce privește markerii biologici inflamatori, în mai multe studii au fost descrise valori crescute ale lactat dehidrogenazei (LDH), feritinei, fibrinogenului, interleukinei-6 (IL-6), proteinei C reactive, D-dimerii și un număr redus de limfocite. Multe dintre anomaliile identificate în cazurile spitalizate au fost cauzate de o "furtună de citokine", caracterizată printr-un răspuns exagerat al gazdei la virus, cu caracteristici similare șocului septic bacterian și evoluției fulminante negative, care este de obicei fatală. Cu alte cuvinte, principalele cauze de deces la pacienții cu infecție cu COVID-19 sunt SDRA și sindromul de furtună de citokine, care duc la insuficiența multisistemică a organelor.

Deoarece răspunsul imunitar mediat de o furtună de citokine este cel care cauzează leziuni ale organelor, este logic că eliminarea anticorpilor și citokinelor dăunătoare ar putea reduce gravitatea bolii. Utilizarea TPE la pacienții cu COVID-19 se bazează pe raționamentul conform căruia, prin eliminarea excesului de citokine proinflamatorii, cum ar fi IL-6, factorul de necroză tumorală alfa (TNF- α) și interleukina-1 β (IL-1 β), TPE poate atenua furtuna de citokine și poate preveni insuficiența multiorganică ulterioară și sindromul de detresă respiratorie acută (ARDS), care sunt adesea observate în cazurile grave. Eliminarea altor produse de degradare a fibrinei, cum ar fi D-dimerii, ar putea contribui, de asemenea, la o îmbunătățire a echilibrului hemostatic. Având în vedere aceste considerente, TPE a fost adus în ultima vreme în discuție ca o potențială opțiune de terapie de susținere pentru infecțiile severe cu SARS-CoV-2.

Cu toate acestea, în ciuda interesului tot mai mare pentru TPE ca terapie potențială pentru COVID-19 severă, impactul TPE asupra markerilor inflamatori și a reactanților de fază acută la pacienții cu infecție cu SARS-CoV-2 rămâne insuficient studiat. Prin urmare, obiectivul acestei revizuirii sistematice a fost de a prezenta rolul terapiei de schimb de plasmă în scăderea markerilor de inflamație și a reactanților de fază acută la pacienții cu COVID-19 aflați în stare critică și de a găsi protocolul optim de tratament pentru a îmbunătăți supraviețuirea pacienților.

REZULTATE

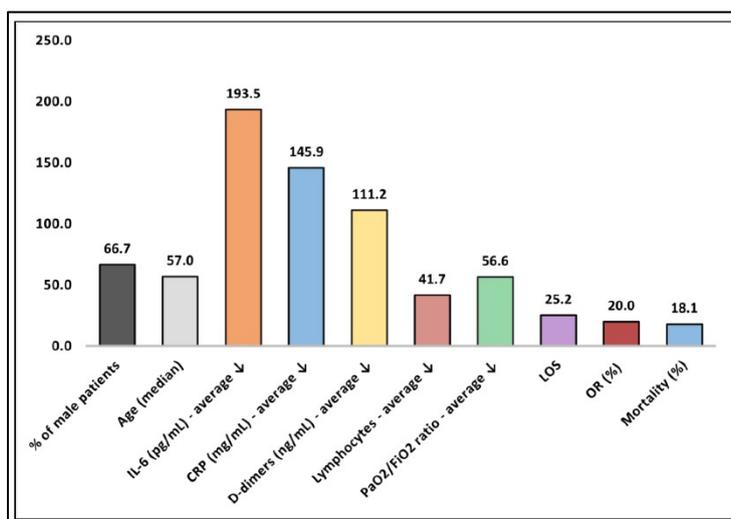
După filtrarea studiilor de potrivire, am inclus în această revizuire sistematică 13 articole care au utilizat TPE ca tratament la pacienții adulți cu COVID-19 severă. Principalele rezultate extrase din articolele studiate au observat un total de 485 de pacienți grav bolnavi tratați cu TPE, cu o rată de mortalitate de 18,1% (72 de pacienți). Cu toate acestea, se poate spune că rata mortalității este mai mică decât la pacienții fără tratament cu TPE, deoarece doar șase studii au avut un grup de control pentru comparație, iar rezultatele acestora nu au fost întotdeauna semnificative din punct de vedere statistic. Cu toate acestea, s-a raportat că durata admiterii la terapie intensivă a fost semnificativ mai mică decât în grupurile de control, cu o medie de șase zile, comparativ cu paisprezece zile în rândul controalelor

TPE a fost de obicei efectuată de mai multe ori, în medie de trei ori în timpul spitalizării și variind de la una la șapte ori. Componenta principală a lichidului de înlocuire a fost plasma proaspătă congelată în toate cele 13 studii sau FFP cu o combinație de soluție de citrat de dextroză, albumină umană și soluție salină normală, doar soluție salină normală sau doar albumină umană 5%. În ceea ce privește siguranța TPE, un singur studiu a raportat un singur

pacient cu hipotensiune asociată, în timp ce un alt studiu a raportat puncție în artera femurală la un pacient și tromboflebită a venei femurale la un alt pacient.

În ceea ce privește modificarea markerilor inflamatori observată la pacienții cu COVID-19 severă, s-a observat în toate studiile care au raportat o modificare a variației că markerii inflamatori au scăzut semnificativ după ce au fost supuși la TPE. Cea mai mare reducere a markerilor inflamatori a fost observată într-un studiu realizat de Khamis, care a raportat o scădere de 336 mg/mL a CRP. Un studiu a raportat o scădere de 574 pg/mL a nivelului IL-6 după TPE. Cu toate acestea, datele sunt inconsecvente în ceea ce privește momentul măsurării markerilor serici sau la cât timp după TPE au fost efectuate măsurătorile. După cum se observă în tabelul 2 și în figura 2, majoritatea pacienților au fost bărbați (66,7%) care au avut un interval de vârstă între 48-75 de ani și o vârstă mediană de 57 de ani. Reducerea medie a IL-6 după TPE a fost de 193,5 pg/mL; CRP a scăzut cu o medie de 145,9 mg/L, în timp ce D-dimerii au scăzut cu 111,2 ng/mL. Numărul de limfocite a fost, de asemenea, semnificativ mai mic după TPE, cu o scădere de $41,7 \times 10^9/L$. Durata spitalizării a fost însă foarte lungă; studiile au raportat o medie de 25,2 zile de internare. Rata mortalității a variat semnificativ, ceea ce se datorează probabil gravității pacienților implicați, de la 0,0% în unele dintre studii până la 60,0% în studiul descris de Matsushita et al. și o medie generală de 18,1%. În cele din urmă, doar patru studii au raportat raportul de șanse pentru ameliorarea după TPE în comparație cu un grup de control, dar datele au arătat o ameliorare semnificativă a stării clinice și inflamatorii a pacienților, de la 17% la 32%.

Figura 1 - Rezumatul constatărilor.



CONCLUZII

TPE ar putea fi considerată ca o terapie alternativă complementară la tratamentul standard la pacienții COVID-19 grav bolnavi. Majoritatea studiilor descriu o reducere a mediatorilor inflamatori și o îmbunătățire a funcției de coagulare, precum și a stării clinice, comparativ cu caracteristicile de la admitere, după trei până la cinci ședințe de TPE. Cu toate acestea, studiile descrise nu sunt standardizate, iar rezultatele prezintă inconsecvență între ele; majoritatea nu raportează nicio îmbunătățire semnificativă după TPE în comparație cu un grup de control. În plus, unele studii sugerează că TPE îmbunătățește rata de supraviețuire prin corectarea stării inflamatorii a pacienților, fără efecte secundare semnificative, deși nu este încă dovedit statistic în studii cu un număr mai mare de pacienți pentru a oferi fiabilitate.

STUDIU 2: EFICACITATEA PLASMAFEREZEI ÎN SINDROMUL DE DETRESĂ RESPIRATORIE ACUTĂ SEVERĂ LA PACIENȚII COVID-19 DIN VESTUL ROMÂNIEI.

CONTEXT

Pandemia COVID-19, cauzată de virusul SARS-CoV-2, a surprins întreaga lume medicală prin efectele sale devastatoare de SDRA sever și furtună de citokine, dar și prin puținele soluții terapeutice care s-au dovedit a fi eficiente împotriva bolii. O serie de terapii antivirale, imunomodulatoare, corticosteroizi și anticoagulante au stârnit interes pentru tratarea pacienților cu boala COVID-19 care necesită terapie intensivă, cu sau fără ventilație mecanică. Dintre tehnicile de purificare a plasmei, schimbul terapeutic de plasmă (TPE) a fost propus încă de la început ca un posibil tratament adjuvant în cazurile severe care necesită internare la terapie intensivă. Raționamentul care stă la baza utilizării TPE pentru tratamentul pacienților cu COVID-19 include reducerea nivelurilor de citokine inflamatorii, stabilizarea membranei endoteliale, tratamentul hiperviscosității, reducerea mediatorilor antifibrinolitici și a produselor de degradare a fibrinei sau eliminarea virusului SARS-CoV-2. Schimbul terapeutic de plasmă poate elimina mediatorii eliberați în exces în furtuna de citokine și poate îmbunătăți biomarkerii legați de un prognostic nefavorabil. Acestea sunt molecule mari (IL-6 = 28 kDa, feritină = 475 kDa, LDH = 140 kDa, CRP = 25 kDa, D-dimeri = 180 kDa, fibrinogen = 340 kDa) care pot fi eliminate printr-un filtru de plasmă.

Scopul principal al acestui studiu a fost de a analiza evoluția markerilor biologici specifici în boala COVID-19 înainte și la o zi după o ședință de TPE și modul în care modificarea acestor parametri influențează starea respiratorie a pacientului, precum și impactul TPE asupra ratelor de supraviețuire. Toți pacienții au primit tratament antiviral, anticoagulant și corticosteroid.

REZULTATE

Studiul a implicat o analiză detaliată a datelor de la 65 de pacienți adulți care au fost supuși unui total de 120 de proceduri de schimb terapeutic de plasmă (TPE) pentru tratamentul cu COVID-19. Această cohortă a fost formată din 41 de pacienți cu o singură ședință, 13 cu două ședințe și 11 care au avut trei sau mai multe ședințe. Datele clinice și de laborator au fost evaluate în mod critic cu o zi înainte și după sesiunile de TPE cu ajutorul testului Wilcoxon pe eșantioane perechi. Acești pacienți au prezentat în principal sindromul de detresă respiratorie acută (ARDS) moderat sau sever, reflectat de un raport PaO₂/FiO₂ median de 98,25, și au demonstrat markerii inflamatori crescuți. Din cele 120 de sesiuni de TPE, doar 110 au fost disponibile pentru evaluarea raportului PaO₂/FiO₂ după TPE din cauza excluderii datelor din 10 sesiuni în care pacienții erau sub oxigenare cu membrană extracorporală (ECMO).

Constatările semnificative au arătat că TPE a eliminat în mod eficient moleculele mari, cum ar fi IL-6, feritina, D-dimerii, proteina C reactivă (CRP), lactat dehidrogenază (LDH) și fibrinogen în majoritatea cazurilor. Concentrațiile medii ale acestor markeri inflamatori înainte de prima ședință de TPE erau considerabil de ridicate. Dimpotrivă, nu s-a observat o îmbunătățire semnificativă a diferitelor caracteristici clinice, inclusiv a stării pulmonare, a parametrilor hemodinamici și a funcționalității organelor. Cu toate acestea, este demn de remarcat faptul că pacienții cu SDRA sever (PaO₂/FiO₂ < 100) au demonstrat o îmbunătățire semnificativă din punct de vedere statistic a oxigenării în urma sesiunilor de TPE. Pe de altă parte, cei cu SDRA ușoară până la moderată nu au prezentat nicio îmbunătățire notabilă a nivelurilor de oxigenare după TPE. Din totalul participanților, 61% au fost ventilați mecanic în timpul primei TPE. Interesant este că, după 28 de zile, doar 16 dintre cei 65 de pacienți (sau 24,61%) au supraviețuit, iar dintre cei 40 de pacienți ventilați mecanic, doar șapte au reușit să supraviețuiască.

O analiză cuprinzătoare ulterioară a evidențiat faptul că, din 535 de pacienți internați în Unitatea de Terapie Intensivă (UTI) în perioada specificată, 401 au fost supuși ventilației mecanice invazive. În mod tragic, un număr impresionant de 375 dintre acești pacienți nu au supraviețuit. Cu toate acestea, dintre cei 65 de pacienți care au avut TPE, 56 au beneficiat de ventilație mecanică invazivă încă de la început. În mod încurajator, 16 dintre aceste persoane au supraviețuit, ceea ce se traduce printr-o rată de supraviețuire de 12,5% pentru pacienții intubați. Acest lucru arată o potențială îmbunătățire a ratei de supraviețuire pentru cei care au fost supuși ventilației mecanice invazive și au primit TPE, în comparație cu cei care au avut doar ventilație mecanică invazivă. Această corelație sugerează că TPE ar putea oferi un avantaj relativ de supraviețuire pentru pacienții critici COVID-19 în circumstanțe specifice.

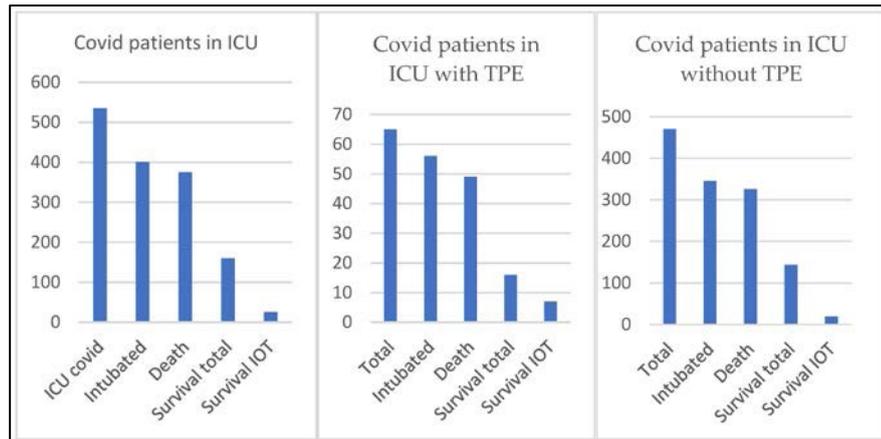


Figura 2 - Supraviețuirea în secția de terapie intensivă: total pacienți COVID versus pacienți COVID cu/fără TPE.

CONCLUZII

TPE poate fi utilizată pentru a reduce markerii de inflamație la pacienții în stare critică COVID-19 și pentru a îmbunătăți raportul PaO₂/FiO₂ la pacienții cu SDRA sever. Această procedură a arătat, de asemenea, un beneficiu minim în ceea ce privește supraviețuirea pacienților cu forme extrem de severe de boală COVID-19. TPE ar trebui să fie utilizată precoce la pacienții critici cu SDRA. Considerăm că TPE și multe alte abordări terapeutice reprezintă piese distincte din puzzle-ul complicat al bolii COVID-19, care încă nu a fost rezolvat.

STUDIUL 3: EVALUAREA REZULTATELOR PACIENȚILOR CU INFECȚIE SEVERĂ CU SARS-COV-2 DUPĂ PLASMAFEREZA ÎN FUNCȚIE DE NUMĂRUL DE ȘEDINȚE DE TPE.

CONTEXT

Sistemul mondial de sănătate s-a confruntat cu provocări fără precedent odată cu apariția virusului SARS-CoV-2, ceea ce a dus la un aflux mare de spitalizări și a declanșat o criză de sănătate la nivel mondial. În ultimii trei ani, eforturi științifice și clinice ample au căutat soluții pentru prevenirea și tratarea COVID-19. Cu toate acestea, rămân lacune în înțelegerea și tratarea formelor severe ale bolii. COVID-19 severă se prezintă adesea cu o inflamație accentuată, provocând sindromul de detresă respiratorie acută (ARDS). Biomarkeri precum LDH, feritina, IL-6, proteina C-reactivă și D-dimerii au fost identificați ca indicatori ai acestui răspuns inflamator. Această reacție exagerată, cunoscută sub numele de furtună de citokine, reflectă răspunsurile la șocul septic bacterian și a fost o cauză majoră a mortalității datorate insuficienței mai multor organe ale sistemului la pacienții COVID-19.

Deși vaccinurile au fost distribuite pe scară largă, persistă provocări din cauza ezitării vaccinurilor și a unor noi focare în 2023, chiar și în regiunile cu rate ridicate de vaccinare. Ca urmare, cadrele medicale continuă să se confrunte cu cazuri grave de COVID-19, necesitând tratamente inovatoare. În cazurile severe de COVID-19, rata mortalității rămâne îngrijorătoare și, deși au fost explorate numeroase abordări terapeutice, doar câteva dintre ele și-au demonstrat eficacitatea. Una dintre aceste abordări este schimbul terapeutic de plasmă (TPE), sau plasmaferenza. În TPE, plasma pacientului, care conține componente dăunătoare, este înlocuită cu alternative mai sănătoase. TPE urmărește să elimine elementele patologice, cum ar fi anticorpii și proteinele inflamatorii, și este utilizat în mod obișnuit pentru a trata afecțiuni precum glomerulonefrita, miastenia gravis și sindromul Guillain-Barre.

Având în vedere că multe dintre complicațiile COVID-19 provin dintr-o furtună de citokine, există o ipoteză conform căreia eliminarea anticorpilor și citokinelor dăunătoare ar putea reduce severitatea bolii. În consecință, TPE a fost propusă ca un potențial tratament pentru cazurile severe de COVID-19, în special atunci când alte tratamente au eșuat. Obiectivul acestui studiu este de a evalua impactul terapiei de schimb de plasmă asupra inflamației la pacienții cu COVID-19 aflați în stare critică, de a verifica eficacitatea acesteia în prevenirea complicațiilor și de a determina protocolul optim de tratament pe baza numărului de ședințe de TPE.

REZULTATE

Dintre cei 65 de participanți, 41 au fost supuși unei sesiuni de TPE, 13 au avut 2 sesiuni, iar 11 au avut mai mult de două sesiuni de TPE. Nu au existat variații semnificative între cele trei grupuri în ceea ce privește indicele de masă corporală, vârsta, sexul, necesitatea ventilației mecanice și comorbiditățile preexistente. Vârsta medie în toate grupurile a variat de la aproximativ 47,8 la 54,4 ani. Toate grupurile au prezentat un IMC indicativ de obezitate de clasa I, iar bărbații au fost predominanți, cu o medie de 70,4% în întreaga cohortă. Majoritatea pacienților au necesitat ventilație invazivă, cu procente de 58,5% în primul grup, 76,9% în al doilea și 63,6% în al treilea. Cea mai frecventă comorbiditate a fost hipertensiunea arterială.

La admiterea la terapie intensivă, analiza sângelui a arătat că nivelurile de IL-6 au fost considerabil mai ridicate la pacienții care au fost supuși la mai mult de trei ședințe de TPE, valorile medii fiind semnificativ diferite între grupuri. Nivelurile CRP au fost, de asemenea, ridicate în acest grup. În schimb, valoarea mediană a leucocitelor și BUN au fost considerabil mai mari la pacienții care au fost supuși la 2 sesiuni de TPE.

După ședința inițială de TPE, nivelurile de IL-6 au scăzut cel mai semnificativ la pacienții care au fost supuși la mai mult de două ședințe. LDH a scăzut semnificativ în toate grupurile, în timp ce diferența nivelurilor CRP a rămas semnificativă între grupuri, dar fără o schimbare generală semnificativă înainte și după TPE. VSG a scăzut după TPE, cu cele mai

ridicate niveluri la pacienții care au urmat peste două ședințe de TPE. În mod notabil, nivelurile de leucocite au crescut după TPE în toate grupurile.

În ceea ce privește rezultatele pacienților, presiunea arterială medie (PAM) nu a arătat nicio diferență notabilă între grupuri înainte de TPE, dar diferențele după TPE au fost semnificative din punct de vedere statistic. Parametrii precum scorul SOFA, scorul APACHE 2, indicele de oxigenare și raportul PaO₂/FiO₂ au rămas neschimbate după TPE. Cu toate acestea, indicele ROX a fost considerabil mai mare în grupul cu mai mult de două sesiuni de TPE. În ceea ce privește intubarea, proporțiile au fost de 43,9% în grupul 1, 38,5% în grupul 2 și 45,5% în grupul 3. Din totalul pacienților, doar 18 au supraviețuit, dar rata mortalității nu a variat semnificativ între grupuri în funcție de sesiunile de TPE. În mod similar, probabilitatea de supraviețuire, pe baza sesiunilor de TPE, nu a arătat nicio diferență semnificativă între grupuri.

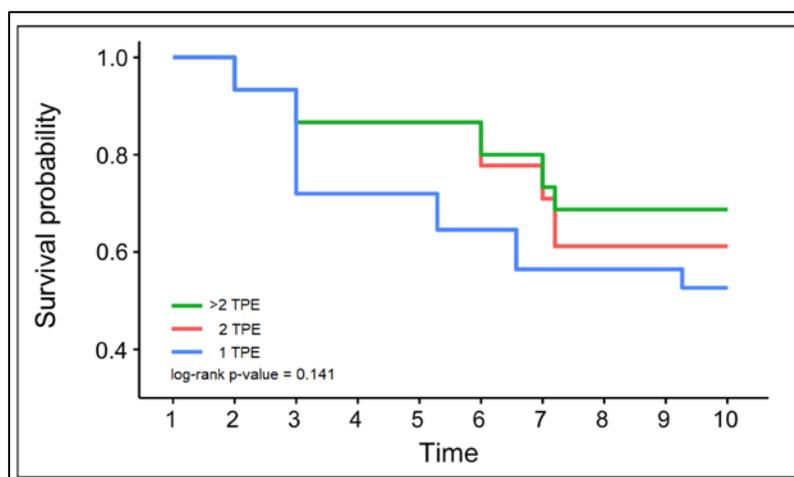


Figura 3 - Analiza Kaplan-Meier a supraviețuirii în funcție de numărul de ședințe TPE.

CONCLUZII

Au trecut aproape trei ani de la debutul pandemiei, iar mecanismul complex al bolii nu este pe deplin cunoscut, iar cursa pentru găsirea unui tratament eficient nu s-a încheiat încă. Din datele disponibile, am constatat că TPE ar putea fi considerată o terapie alternativă complementară pentru pacienții cu COVID-19 cu boală severă. Chiar și după o singură ședință de TPE s-a observat o scădere substanțială a mediatorilor inflamatori, o îmbunătățire a funcției de coagulare și o îmbunătățire a stării clinice, într-un mod non-inferior în comparație cu pacienții care au fost supuși la două sau mai multe ședințe de plasmafereză. Funcția respiratorie a fost totuși îmbunătățită semnificativ după două sau mai multe ședințe de TPE, comparativ cu o singură ședință, dar, în general, supraviețuirea nu a fost influențată semnificativ. Cu toate acestea, literatura de specialitate disponibilă și rezultatele acestora sunt foarte variabile, majoritatea dintre ele nereușind să indice o îmbunătățire în comparație cu un grup de control. Cu toate acestea, această metodă nu a fost încă verificată din punct de vedere statistic în cadrul unor studii cu un număr mai mare de pacienți pentru a fi considerată fiabilă în ceea ce privește un protocol de studiu adecvat și o îmbunătățire semnificativă a supraviețuirii pacienților.