

Aus dem Institut für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie,  
Molekulare Diagnostik  
des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg  
(Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. H. Renz)

**Biomarker der COVID-19 Erkrankung:  
Zytokinspiegel und deren prognostische  
Bedeutung**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Humanmedizin  
dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

**Sarah Christina Greib aus Marburg**

**Marburg, 2023**

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität  
Marburg am: 05.09.2023

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin

Dekanin: Frau Prof. Dr. D. Hilfiker-Kleiner

Referentin: Frau PD Dr. C. Skevaki

Korreferent: Herr Prof. Dr. B. Schmeck

Originaldokument gespeichert auf dem Publikationsserver der Philipps-Universität Marburg  
<http://archiv.ub.uni-marburg.de>



Dieses Werk bzw. Inhalt steht unter einer [SEP]Creative Commons [SEP]Namensnennung [SEP]Weitergabe unter gleichen Bedingungen [SEP]4.0 Deutschland Lizenz.

Die vollständige Lizenz finden Sie unter:

<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode.de>

*Für meine Mutter*

*Dr. med. Christina Greib*

# 1 Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b><i>Inhaltsverzeichnis</i></b> .....	<b>5</b>
1.1	Tabellenverzeichnis .....	8
1.2	Abbildungsverzeichnis .....	9
1.3	Abkürzungsverzeichnis .....	10
<b>2</b>	<b><i>Zusammenfassung</i></b> .....	<b>11</b>
<b>3</b>	<b><i>Summary</i></b> .....	<b>13</b>
<b>4</b>	<b><i>Einleitung</i></b> .....	<b>14</b>
<b>4.1</b>	<b>COVID-19</b> .....	<b>14</b>
4.1.1	Epidemiologie.....	14
4.1.2	Ätiologie und Pathogenese .....	14
4.1.3	Diagnostik .....	15
4.1.4	Klinik und Krankheitsverlauf.....	16
4.1.5	Prognose.....	17
4.1.6	Therapie .....	19
4.1.7	Prävention.....	19
<b>4.2</b>	<b>Zytokine und das Immunsystem</b> .....	<b>20</b>
4.2.1	Interleukin-1 $\beta$ .....	21
4.2.2	Interleukin-6 .....	23
4.2.3	Interleukin-8 .....	25
4.2.4	Interleukin-10.....	26
4.2.5	Tumornekrosefaktor- $\alpha$ .....	27
4.2.6	Interleukin-2 .....	28
4.2.7	Zytokinsturm und Zytokinsturmsyndrom .....	29
<b>4.3</b>	<b>Zielsetzung</b> .....	<b>32</b>
<b>5</b>	<b><i>Material und Methoden</i></b> .....	<b>33</b>
<b>5.1</b>	<b>Studiendesign</b> .....	<b>33</b>
<b>5.2</b>	<b>Datenerfassung</b> .....	<b>34</b>
<b>5.3</b>	<b>Patientenkollektiv</b> .....	<b>34</b>
5.3.1	Einschlusskriterien.....	35
5.3.2	Ausschlusskriterien.....	35

<b>5.4</b>	<b>Labormaterial</b> .....	<b>35</b>
5.4.1	SARS-CoV-2-Polymerase-Kettenreaktion (PCR) .....	36
<b>5.5</b>	<b>Labormethoden</b> .....	<b>37</b>
5.5.1	Cobas e411 Testprinzip „ECLIA“ für IL-6 .....	37
5.5.2	IMMULITE Testprinzip für IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-8, IL-10 und TNF- $\alpha$ .....	37
<b>5.6</b>	<b>Statistische Analyse</b> .....	<b>39</b>
<b>6</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>40</b>
<b>6.1</b>	<b>Demographische Daten</b> .....	<b>40</b>
6.1.1	Vitalparameter bei Aufnahme .....	42
6.1.2	Vorerkrankungen und Symptome.....	43
<b>6.2</b>	<b>Zytokinspiegel bei Aufnahme</b> .....	<b>46</b>
6.2.1	Vergleich der COVID-19 positiven und negativen Patienten .....	46
6.2.2	Korrelationen der Zytokine bei COVID-19 Patienten bei Aufnahme .....	47
6.2.3	Gruppenvergleich zwischen Normalstation und Intensivstation .....	49
6.2.4	Gruppenvergleich zwischen verstorbenen und überlebenden COVID Patienten .....	51
<b>6.3</b>	<b>Zuletzt gemessene Zytokinspiegel (Entlassung/Todeseintritt)</b> .....	<b>52</b>
<b>6.4</b>	<b>Zytokinspiegel im zeitlichen Verlauf</b> .....	<b>54</b>
6.4.1	Vergleich der Zytokinspiegel zwischen Aufnahme und Entlassung bei allen COVID-19 Patienten .....	54
6.4.2	Gruppenunterschiede der Zytokinspiegel zwischen Aufnahme und Entlassung/Todeseintritt bei COVID-19 Erkrankten .....	55
<b>7</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>57</b>
<b>7.1</b>	<b>Diskussion der Methode</b> .....	<b>57</b>
7.1.1	Limitationen der Studie .....	57
7.1.2	Stärken der Studie.....	58
<b>7.2</b>	<b>Diskussion der Ergebnisse</b> .....	<b>58</b>
7.2.1	Diskussion der demographischen Daten der COVID-19 Patienten .....	58
7.2.2	Vergleiche der COVID-19 positiven und negativen Kohorte .....	59
7.2.3	Interpretation der einzelnen Zytokine und aktueller Stand der Forschung.....	61
7.2.4	Aktuelle Erkenntnisse und Ausblick .....	68
<b>8</b>	<b>Publikationen</b> .....	<b>70</b>
<b>9</b>	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	<b>71</b>
<b>10</b>	<b>Anhang</b> .....	<b>94</b>

<b>10.1</b>	<b>Tabelle 14 Anhang .....</b>	<b>94</b>
<b>10.2</b>	<b>Verzeichnis akademischer Lehrer.....</b>	<b>95</b>
<b>10.3</b>	<b>Danksagung.....</b>	<b>96</b>
<b>10.4</b>	<b>Ehrenwörtliche Erklärung.....</b>	<b>97</b>

## 1.1 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Mess- und Referenzbereiche der Analyten über den Immulite 1000 .....	38
Tabelle 2: Demographische Daten der COVID-19 positiven und negativen Patienten .....	41
Tabelle 3: CT-Befunde der Patienten.....	41
Tabelle 4: Vergleich zwischen intensivmedizinisch und normalstationär behandelten COVID-19 Patienten .....	42
Tabelle 5: Vergleich Vitalparameter der COVID-19 positiven und negativen Patienten. ....	42
Tabelle 6: Vergleich der Vitalparameter zwischen intensivmedizinisch und normalstationär behandelten COVID-19 Patienten zum Aufnahmezeitpunkt .....	43
Tabelle 7: Zytokinspiegel bei COVID-19 positiven und negativen Patienten zum Aufnahmezeitpunkt.....	46
Tabelle 8: Korrelationskoeffizienten und entsprechende P-Werte der einzelnen Zytokine bei COVID-19 Erkrankten zum Aufnahmezeitpunkt.....	47
Tabelle 9: Vergleich der Zytokinspiegel zwischen intensivmedizinisch und normalstationär behandelten COVID-19 Patienten zum Aufnahmezeitpunkt .....	49
Tabelle 10: AUC, P-Wert und Cut-off für IL-6 und IL-8 mit zugehöriger Sensitivität und Spezifität.....	51
Tabelle 11: Zytokinspiegel bei verstorbenen und überlebenden Patienten zum Aufnahmezeitpunkt.....	51
Tabelle 12: Vergleich der letzten im stationären Rahmen gemessenen Zytokinspiegel von intensivmedizinisch und normalstationär behandelten Patienten .....	52
Tabelle 13: Vergleich der zuletzt gemessenen Zytokinspiegel von verstorbenen und überlebenden COVID-19 Patienten.....	53
Tabelle 14: Aufnahme- und Entlassungsspiegel der analysierten Zytokine für alle COVID-19 Patienten, verstorbene und überlebende, sowie intensivmedizinisch und normalstationär behandelte Patienten aus Abb. 12: Pat. = Patienten; ICU=Intensive care unit.....	94



## 1.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Darstellung der Kohorten und analysierten Subgruppen .....	40
Abbildung 2: Vergleich der Vorerkrankungen der COVID-19 positiven und negativen Gruppe .....	44
Abbildung 3: Symptome zum Zeitpunkt der Aufnahme, Vergleich zwischen Covid positiven und negativen Patienten.....	44
Abbildung 4: Komplikationen der Gruppen während des Krankenhausaufenthalts .....	45
Abbildung 5: Behandlungsstrategien der COVID-19 positiven und negativen Gruppe .....	46
Abbildung 6: Korrelationen der einzelnen Zytokine, Darstellung der in Tabelle 7 aufgeführten signifikanten Ergebnisse .....	49
Abbildung 7: Vergleich der signifikanten Zytokinspiegel zwischen intensivmedizinisch und normalstationär behandelten COVID-19 Patienten zum Aufnahmezeitpunkt .....	50
Abbildung 8: Receiver operating characteristic (ROC) Kurve für einen Intensivpflichtigen Verlauf von IL-8 und IL-6.....	50
Abbildung 9: Vergleich von den zuletzt gemessenen IL-8-Spiegeln zwischen Normalstation und Intensivstation .....	52
Abbildung 10: Vergleich der zuletzt gemessenen Zytokinspiegel von COVID-19 Patienten vor Entlassung oder Tod .....	53
Abbildung 11: Vergleich der Zytokinspiegel zwischen Aufnahme und Entlassung oder Todeseintritt bei allen COVID-19 positiven Patienten .....	54
Abbildung 12: Vergleich der Zytokinspiegel zwischen dem Aufnahme- und Entlassungs-/Todeszeitpunkt jeweils für Normal- und Intensivstation, sowie zwischen verstorbenen und überlebenden Patienten. ....	56

### 1.3 Abkürzungsverzeichnis

ARDS .....	Acute respiratory distress syndrome
COPD .....	chronic obstruktive pulmonal disease
COVID-19 .....	Coronavirus Disease 2019
DAMP .....	Damage-associated molecular pattern
HLH .....	hämophagozytischen Lymphohistiozytose
IL .....	Interleukin
IL-1 $\beta$ .....	Interleukin-1
IL-2R .....	Interleukin-2-Rezeptor
MAS .....	Makrophagenaktivierungssyndrom
mitogen-aktivierte Proteinkinasen .....	MAPK
NF $\kappa$ B .....	nuclear factor k-light-chain-enhancer of activated B cells
NIH .....	National Institutes of Health
NLRP3 .....	NLR family pyrin domain containing 3
PoC-NAT-Tests .....	Point of care- Nucleinsäureamplifikationstechnik-Test
SOCS .....	Suppressor Of Cytokine Signaling
STAT3 .....	Signal transducer and activator of transcription 3
suPAR .....	soluble urokinase-type plasminogen activator receptor
TNF .....	Tumornekrosefaktor
TNFR1 .....	Tumor-Nekrose-Faktor-Rezeptor-Typ 1
TNFR2 .....	Tumor-Nekrose-Faktor-Rezeptor-Typ 2

## 2 Zusammenfassung

Im Dezember 2019 wurde erstmalig ein neuartiges Coronavirus, SARS-CoV-2 genannt und Auslöser der Erkrankung COVID-19, beschrieben. Die Mehrzahl der COVID-19 Patienten zeigt einen milden Verlauf, während einige COVID-19-Patienten jedoch intensivmedizinisch betreut werden müssen und einen tödlichen Verlauf erleiden können. Bei diesen Patienten kann es aufgrund einer Hyperaktivierung des Immunsystems und einer Hyperinflammation zu einem Zytokinsturm kommen. Die vorliegende Dissertation soll eine bessere Charakterisierung der Zytokinspiegel in Bezug auf die Diagnose und Prognose von COVID-19-Patienten geben. Von April bis Juni 2020 wurden die Zytokinspiegel von IL-1 $\beta$ , IL-2R, IL-6, IL-8, IL-10 und TNF- $\alpha$  bei Aufnahme und Entlassung bzw. vor Todeseintritt bestimmt. Insgesamt wurden 46 Patienten mit dem Verdacht auf eine COVID-19 Infektion eingeschlossen. Bei 24 Patienten bestätigte sich die Infektion mit SARS-CoV-2 in der PCR. Zwischen beiden Gruppen fand sich bei Aufnahme kein Unterschied in der Konstellation der Zytokine und somit kein Zytokin, welches spezifisch die Diagnose einer COVID-19 Erkrankung unterstützen könnte. In der COVID-19 Gruppe waren Korrelationen zwischen den Zytokinen IL-6/IL-8, IL-6/TNF, TNF/IL-1 $\beta$ , TNF/IL2R, IL-6/IL-2R, IL-8/TNF und IL-8/IL-2R nachweisbar. Im Hinblick auf die Risikobewertung von COVID-19 Patienten zeigten sich zum Zeitpunkt der Aufnahme erhöhte Spiegel von IL-6 und IL-8 bei Patienten, die eine intensivmedizinischen Behandlung benötigen, sodass spezifische Cut-off Werte ermittelt wurden. Die Bestimmung von IL-6 und IL-8 bei stationärer Aufnahme kann so zur Risikostratifizierung beitragen und dazu dienen Patienten, die eine intensivmedizinische Behandlung benötigen, frühzeitig zu erkennen. Darüber hinaus zeigten sich auch die zuletzt gemessenen Zytokinspiegel für IL-8 bei intensivmedizinisch behandelten Patienten, sowie IL-6 und IL-8 bei Verstorbenen, erhöht. Der Verlauf dieser Zytokine könnte demnach bei der Erkennung eines tödlichen Verlaufs von Nutzen sein. Im Hinblick auf die Dynamik der Zytokine war ein Rückgang für IL-6, IL-10, IL-2R und TNF- $\alpha$  bei allen COVID-19 erkrankten Patienten nachweisbar. Auch in den Subgruppen sah man eine Abnahme bei intensivmedizinisch behandelten Patienten bei IL-2R, IL-6, IL-10 und TNF- $\alpha$  und bei normalstationär behandelten Patienten für IL-6 und IL-10. Weiterhin zeigte sich eine Reduktion von IL-2R, IL-6, IL-8 und IL-10 bei Genesenen. Dies zeigte sich jedoch für keines der analysierten Zytokine bei Patienten, die verstarben. Daher könnte das

Monitoring dieser Zytokine auch zur Überwachung des Verlaufs einer COVID-19 Erkrankung genutzt werden. Umfangreichere Zytokinpanels zu verschiedenen Zeitpunkten und Stadien der COVID-19 Erkrankung in größeren Kohorten sind Forschungsansätze, die weiterverfolgt werden sollten, auch im Hinblick auf Virusvarianten und den Einfluss einer Impfung.

### 3 Summary

In December 2019, a novel coronavirus, called SARS-CoV-2 and the trigger of the disease COVID-19, was described for the first time. The majority of COVID-19 patients have a mild course, while some patients, however, require intensive care and suffer a fatal course. In these patients, hyperactivation of the immune system and hyperinflammation can lead to a cytokine storm. This dissertation aims to give a better characterization of cytokine levels for the diagnosis and prognosis of COVID-19 patients. From April to June 2020, cytokine levels of IL-1 $\beta$ , IL-2R, IL-6, IL-8, IL-10, and TNF- $\alpha$  were determined at admission and discharge or before decease. A total of 46 patients with suspected COVID-19 infection were included. In 24 patients, the infection was confirmed by PCR, 22 patients had a negative PCR and thus formed the comparison group. There was no difference in cytokine levels in either group and thus no cytokine that could specifically support the diagnosis of COVID-19 disease. In the COVID-19 group, correlations between IL-6/IL-8, IL-6/TNF, TNF/IL-1, TNF/IL2R, IL-6/IL-2R, IL-8/TNF, and IL-8/IL-2R were detectable. Regarding risk stratification of COVID-19 patients, IL-6 and IL-8 were found to be significantly elevated in patients requiring intensive care at the time of admission, so specific cut-off values were determined. Thus, determination of IL-6 and IL-8 at admission may contribute to risk stratification and identify patients requiring intensive care treatment at an early stage. In addition, the most recently measured cytokine levels for IL-8 were also found to be elevated in patients receiving intensive care, as well as IL-6 and IL-8 in deceased patients. Thus, the progression of IL-8 and IL-6 concentration could also help in the detection of a lethal course. In terms of cytokine dynamics, a decrease between admission and discharge for IL-6, IL-10, IL-2R and TNF was evident considering all COVID-19 patients. Also in the subgroups, a decrease was detectable for IL-2R, IL-6, IL-10 and TNF in patients treated in intensive care units and for IL-6 and IL-10 in patients treated in the normal ward. Furthermore, a reduction of IL-2R, IL-6, IL-8 and IL-10 was found in recovered patients. However, this was not shown for any of the analyzed cytokines in patients who died. Therefore, monitoring these cytokines could also be used to monitor the progression of the COVID-19 disease. More comprehensive cytokine panels at different time points and stages of COVID-19 disease in larger cohorts are research approaches that should be pursued further - also concerning viral variants and influences of vaccination.

## **4 Einleitung**

### **4.1 COVID-19**

#### **4.1.1 Epidemiologie**

Im Dezember 2019 wurden erstmalig Fälle einer Pneumonie, mittlerweile COVID-19 (Coronavirus Disease 2019) genannt, in Wuhan, China beschrieben ("WHO | Pneumonia of Unknown Cause – China," 2020). Als ursächlichen Auslöser fand sich ein neu nachgewiesener Coronavirus-Untertyp, Severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2 (SARS-CoV-2) genannt. Am 28.01.2020 wurde die erste Übertragung in Deutschland nachgewiesen (Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, 2020). Seitdem breitete sich das neue Coronavirus weltweit aus, sodass am 11.03.2020 die WHO COVID-19 zu einer Pandemie erklärte (Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Situation Report, 51, 2020). Die Verbreitung des Virus verlief in mehreren Wellen und zeigte unterschiedliche Verläufe je nach dominierender Variante (Schilling et al., 2021). Bisher infizierten sich in Deutschland über 38.368.891 Menschen und 171.411 Menschen verstarben (RKI COVID-19 Germany, Stand 08.04.2023). Als einzige Möglichkeit in der Bekämpfung des neuartigen Coronavirus, sah man zunächst die strenge Isolation infizierter Personen und deren Kontaktpersonen, sowie staatlich angeordnete Lock Downs in zahlreichen Ländern, die in unterschiedlicher Weise in das private und öffentliche Leben eingriffen. Ziel dieser Maßnahmen war die Virusausbreitung zu verlangsamen und damit die Kapazitäten der medizinischen Versorgung nicht zu überlasten.

#### **4.1.2 Ätiologie und Pathogenese**

Bei SARS-CoV-2 handelt es sich um ein umhülltes RNA Beta-Coronavirus, welches zur Familie der Coronaviren zählt (R. Lu et al., 2020). Den Coronaviren sind derzeit 39 Spezies in 27 verschiedenen Subgruppen angehörig, wovon mindestens sieben verschiedene Coronaviren bekannt sind, die humanpathogen sind (Ortiz-Prado et al., 2020). Dabei verursachen die meisten dieser Erreger eher milde Krankheitsverläufe, ausgenommen das Coronavirus MERS, welches 2012 in Saudi-Arabien erstmals entdeckt wurde und SARS-CoV, dass im Jahre 2002/2003 774 Todesfälle verursachte

(R. Lu et al., 2020). Die WHO erläutert in Ihrem Abschlussbericht über den Ursprung von SARS-CoV-2, dass das Virus ursprünglich aus dem Tierreich stammte und von Fledermäusen oder Pangolinen mittels eines Zwischenwirtes auf den Menschen übertragen wurde (WHO-Convened Global Study of Origins of SARS-CoV-2: China Part, 2021).

SARS-CoV-2 wird durch Aerosole oder Atemtröpfchen übertragen, die vor allem beim Atmen, Sprechen, Husten und Niesen entstehen. SARS-CoV-2 gelangt so in die Atemwege und nutzt den ACE2-Rezeptor, welcher vor allem in den oberen Atemwegen exprimiert wird, um in die Wirtszellen einzudringen und diese zu infizieren. Die Rezeptorbindungsdomäne von SARS-CoV-2 ähnelt der von SARS-CoV (Wan et al., 2020). Somit ist nicht verwunderlich, dass Organe, die eine hohe ACE2-Rezeptordichte aufweisen, besonders von der Virusinfektion betroffen sind (Zhou et al., 2020). Die infizierten Epithelzellen der Alveolen aktivieren monozytäre Makrophagen (Chua et al., 2020). Diese Aktivierung, sowie eine dysregulierte Myelopoese, können zu einer Hyperinflammation führen und werden unter anderem für die Schwere des Verlaufs verantwortlich gemacht (Chua et al., 2020; Schultschrepping et al., 2020). Die höchste Viruslast von SARS-CoV-2 wurde in Rachenabstrichen bei Symptombeginn nachgewiesen. Jedoch infiziert sich ein großer Anteil von Personen bereits 1-2 Tage vor Symptombeginn bei bereits infizierten Personen (He et al., 2020). Die mittlere Inkubationszeit wird mit 5-6 Tagen angegeben (Linton et al., 2020). Bedeutsam ist, dass auch asymptomatische Infizierte das Virus verbreiten können und so wesentlich die Virusausbreitung verstärken (R. Li et al., 2020).

### **4.1.3 Diagnostik**

Als Test zum Nachweis einer COVID-19 Infektion dienen derzeit Nukleinsäuretest, serologische Untersuchungen, sowie Antigen- und Antikörpertests. Goldstandard ist derzeit der Nachweis der Nucleinsäure mittels RT-PCR (Diagnostic Testing for SARS-CoV-2, WHO, 2023). Die Virus-RNA ist zu Beginn der Infektionsphase im Oro- sowie Nasopharynxbereich mittels Rachenabstrich, sowie im Sputum Infizierter nachweisbar. Hierbei wird die Virus RNA mittels Reverser Transkriptase in eine DNA-Sequenz umgeschrieben und anschließend mittels Polymerasekettenreaktion

amplifiziert. Es gibt verschiedene SARS-CoV-2 spezifische Regionen, die als Nachweisstruktur dienen können. Diese sind zum Beispiel Nukleokapsid N1 und N2, sowie menschliche RNase P Gen (Weissleder et al., 2020). PoC-NAT-Tests können ohne Probenvorbereitung unmittelbar vor Ort (Point of Care, PoC) ausgewertet werden und beruhen ebenfalls auf der Nukleinsäureamplifikationstechnik (NAT). Sie bieten ein relativ sicheres Testergebnis innerhalb kurzer Zeit, wie es zum Beispiel bei Testungen in Notfallbereichen erforderlich ist (Maleki & Hojati, 2022). PoC-NAT-Tests bieten eine hohe Spezifität, jedoch eine geringere Sensitivität als PCR-Tests (Collier et al., 2020). Als Schnelltests haben sich mittlerweile Antigen tests etabliert, die auch als Selbsttest durchgeführt werden können. Sie basieren auf dem Nachweis von Virusproteinen. Sie bieten eine geringere Sensitivität als eine PCR und können vor allem als präventive Maßnahme im Rahmen regelmäßiger Testungen im medizinischen und pflegerischen Bereich genutzt werden (Guglielmi, 2020; Smith et al., 2022). Serologische Test, die Antikörper gegen SARS-CoV-2 nachweisen, spielen in der primären Diagnostik nur eine untergeordnete Rolle, da diese erst Tage nach einer Infektion nachweisbar sind (Long et al., 2020). Sie dienen eher dem Nachweis einer durchgemachten Infektion mit SARS-CoV-2, schließen jedoch eine akute Infektiosität nicht aus (Fox et al., 2022).

#### **4.1.4 Klinik und Krankheitsverlauf**

Klinisch kann sich die Infektion mit SARS-CoV-2 unterschiedlich manifestieren. Zum einen kann sie gänzlich asymptomatisch oder mit nur leichten grippalen Beschwerden verlaufen. Zum anderen zeigen sich auch vermehrt schwere Krankheitsverläufe mit Pneumonien, ARDS und anderen Organbeteiligungen, die auch einen letalen Verlauf nehmen können (Schilling et al., 2021). In Deutschland sind die am häufigsten angegebenen Symptome während der ersten COVID-19-Welle vor allem Allgemeine Schwäche/Krankheitsgefühl, Husten, Fieber, Schnupfen und Geschmacks-/Geruchsverlust. Etwa 18% der positiv getesteten Patienten in Deutschland erlitten während der ersten COVID-19-Welle einen Verlauf, der einer stationären Behandlung bedurfte (Schilling et al., 2020). Es fanden sich aber auch Verläufe mit gastrointestinalen Symptomen wie abdominelle Schmerzen, Erbrechen und Diarrhoen, die oft in Kombination mit respiratorischen Symptomen auftraten (Docherty et al., 2020). Die durchschnittliche Zeit von Symptombeginn bis zur Hospitalisierung beträgt im Median 3 - 5 Tage (Cummings et al., 2020; Docherty et al., 2020; Linton et



al., 2020). Mittlerweile ist bekannt, dass die Erkrankung in verschiedenen Phasen verlaufen kann. Zunächst kommt es in der Frühphase zur Antwort des Organismus auf die Virusinfektion. Hier dominieren Fieber, Husten und grippale Symptome, sowie laborchemisch eine Lymphozytopenie. Die Viruslast ist in dieser Phase am höchsten (Cevik et al., 2020). Es kann sich im weiteren Verlauf eine Pneumonie mit Atemnot und Hypoxie entwickeln. Bei einem Großteil der Patienten heilt die Erkrankung schließlich aus, andererseits kann das Stadium aber auch in eine Phase der Hyperinflammation übergehen. In dieser Phase ist das Virus SARS-CoV-2 nicht mehr der Treiber der Schädigung, sondern die fehlgeleitete Immunregulation vordergründig, welche zum ARDS, einer Sepsis und Multiorganversagen führen kann (Lu et al., 2020).

#### **4.1.5 Prognose**

Ein wesentlicher Risikofaktor für eine Hospitalisierung ist ein höheres Lebensalter (Cohen et al., 2021; Grasselli et al., 2020; Z. Wu & McGoogan, 2020). Als altersadjustierte Risikofaktoren für eine Hospitalisierung wurden Herz-Kreislauf-Erkrankungen wie Arterielle Hypertonie, Koronare Herzkrankheit und Herzinsuffizienz identifiziert (Reilev et al., 2020; van Gerwen et al., 2021). Bei den metabolischen Erkrankungen sind mit fast doppelt erhöhtem Risiko vor allem Adipositas, Diabetes mellitus und chronische Nierenerkrankungen zu nennen (Cummings et al., 2020; Reilev et al., 2020). Chronische Lungenerkrankungen wie COPD weisen ebenfalls ein erhöhtes Risiko für einen schweren Verlauf auf (van Gerwen et al., 2021). Aber auch neurologische Erkrankungen wie Demenz oder psychiatrische Erkrankungen und Erkrankungen des Immunsystems gelten als Risiken für eine Hospitalisierung (Burn et al., 2021; Reilev et al., 2020).

Eine einheitliche Definition für einen schweren COVID-19 Verlauf existiert nicht (Koppe et al., 2021). Sowohl die WHO als auch das amerikanische National Institutes of Health (NIH) haben unterschiedliche Kriterien entwickelt (NIH, 2023; World Health Organization, 2021). Oft wird eine intensivmedizinische Behandlung als Charakteristikum für einen schweren COVID-19 Verlauf gesehen (Koppe et al., 2021). Die Anzahl der Patienten, die eine intensivmedizinische Behandlung benötigten, variiert in den weltweit unterschiedlich durchgeführten Studien. In Studien aus Deutschland lag der Anteil an hospitalisierten Patienten, bei denen eine

intensivmedizinische Behandlung notwendig war, bei 21 % (Ludwig et al., 2021; Nachtigall et al., 2020). Die Prognose für Patienten, die eine intensivpflichtige Behandlung benötigen und somit kritisch krank sind, ist schlecht. Studien zeigen eine Mortalität in der Lombardei, Italien, von 26 % (Grasselli et al., 2020), in England von 32 % (Docherty et al., 2020) und in New York betrug die Mortalität der kritisch erkrankten Fälle 39 % (Cummings et al., 2020). Laut der Gesundheitsberichterstattung des Bundes, welche auf den Meldungen gemäß des Infektionsschutzgesetzes beruht, wurden während der ersten COVID-19-Welle 18 % der Fälle stationär aufgenommen. Insgesamt verstarben 23 % der hospitalisierten Patienten in Deutschland während der 1. Coronawelle (Schilling et al., 2020). Die Zeit im Krankenhaus bis zum Todeszeitpunkt betrug im Median 9 Tage (Cummings et al., 2020; Linton et al., 2020). Als wesentlicher Risikofaktor für eine intensivmedizinische Behandlung und eine erhöhte Mortalität zeigt sich ebenfalls wieder ein hohes Lebensalter, aber auch das männliche Geschlecht stellte einen Risikofaktor dar (Pijls et al., 2021; Takahashi et al., 2020). Auch wurden diverse Vorerkrankungen als Risikofaktoren für einen schweren Verlauf identifiziert, darunter kardiovaskuläre Erkrankungen, COPD, sowie Diabetes mellitus (Dorjee et al., 2020).

Aussagen bezüglich Langzeitfolgen einer durchgemachten SARS-CoV-2-Infektion können aufgrund des erst kurzen Zeitraumes des Auftretens dieser Erkrankung nicht vollständig getätigt werden und sind Gegenstand aktueller Forschungen. Es wird von einer Vielzahl von Symptomen berichtet, darunter Dyspnoe, Fatigue, Konzentrationsschwierigkeiten, Husten und muskuläre Schwäche (Davis et al., 2023; Michelen et al., 2021; Nalbandian et al., 2021). Eine vorläufige Definition der WHO definiert Post-COVID-19 als gesundheitliche Beschwerden, die nach einer durchgemachten Infektion fortbestehen oder innerhalb von 3 Monaten neu auftreten, über mindestens zwei Monate andauern oder wiederkehrend auftreten nachdem andere Ursachen für die Symptome ausgeschlossen wurden (Soriano et al., 2022). Dabei können die Symptome sowohl nach einer akuten Infektion fortbestehen, als auch nach einer asymptomatischen Primärinfektion zeitversetzt auftreten.

#### **4.1.6 Therapie**

Im Verlauf der COVID-19 Pandemie wurden verschiedene immunmodulatorische und antivirale Therapien entwickelt und untersucht. In der frühen Phase einer COVID-19 Erkrankung kommen dabei vor allem antivirale Medikamente in Frage, während in der hyperinflammatorischen Phase immunmodulierende Substanzen im Vordergrund stehen. Für Personen mit einem Risiko für einen schweren Verlauf oder ungeimpften Personen, ist derzeit in der frühen Phase eine SARS-CoV-2 Infektion oder als Postexpositionsprophylaxe der Einsatz von monoklonale Antikörpern wie beispielsweise Casirivimab/Imdevimab sowie Tixagevimab/Cilgavimab, welche gegen das Spike-Protein von SARS-CoV-2 gerichtet sind, möglich (Malin et al., 2022.; Weinreich et al., 2021). Es muss jedoch immer die aktuell vorherrschende Variante und entsprechend passende Antikörpertherapie evaluiert werden. Für die stationäre Therapie stehen weitere antivirale Medikamente wie Molnupiravir, Nirmatrelvir/Ritonavir und Remdesivir während der Frühphase einer Infektion zur Verfügung (S3-Leitlinie Empfehlung Zur Therapie von Patienten Mit COVID-19, 2023). Wichtig sind außerdem die optimale Einstellung und Überwachung von Vorerkrankungen sowie supportive Maßnahmen wie z.B. Sauerstoff- oder Antibiotikagabe bei Superinfektionen. Für hospitalisierte Patienten mit Hypoxämie und Sauerstoffbedarf konnte die Anwendung von Dexamethason die Mortalität reduzieren, sodass diese Therapie vom RKI empfohlen wird ("Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19," 2021). Weitere aktuelle, antiinflammatorische Therapieoptionen werden im Diskussionsteil der Arbeit vorgestellt.

#### **4.1.7 Prävention**

Zu Beginn der Pandemie standen keine Impfstoffe zur Verfügung, die zielgerichtet zur Prävention genutzt werden konnten. Als präventive Maßnahmen waren vor allem die Beachtung von Hygieneregeln, ausreichend Abstand und der Gebrauch von FFP2-Masken, sowie die Isolation von Infizierten und deren Kontaktpersonen zur Eindämmung der Virusausbreitung relevant. Inzwischen sind verschiedene Impfstoffe in der Europäischen Union zugelassen, darunter Impfstoffe auf mRNA Basis, Vektorimpfstoffe und ein adjuvanter Proteinimpfstoff (RKI - Archiv 2023 - Beschluss Der STIKO Zur 25. Aktualisierung Der COVID-19-Impfempfehlung, 2023). Zu beachten

ist allerdings, dass auch geimpfte Personen sich infizieren und wiederum andere Menschen anstecken können, meist jedoch in geringerem Ausmaß (Eyre et al., 2022; Keehner et al., 2021; Ledda et al., 2022) .

## **4.2 Zytokine und das Immunsystem**

Das Immunsystem wehrt krankheitsauslösende Erreger wie beispielsweise Viren, Bakterien und Pilze ab. Die Immunabwehr kann folglich zwischen körpereigenen und körperfremden Strukturen unterscheiden (Tosi, 2005). Man unterteilt ein angeborenes, unspezifisches von einem adaptiven, spezifischen Immunsystem. Weiterhin kann zwischen humoraler und zellulärer Immunantwort differenziert werden (Parkin & Cohen, 2001). Das angeborene und das adaptive Immunsystem stehen miteinander im engen Kontakt und beeinflussen sich gegenseitig. Zytokine dienen als immunologische Mediatoren und sind Proteine, die auf bestimmte Reize von vielen verschiedenen Zellen vermehrt freigesetzt werden. Sie werden unter anderem von Makrophagen, Fibroblasten, B- und T-Lymphozyten sowie Natürliche Killerzellen produziert (Borish & Steinke, 2003). Ihre Wirkung ist durch Redundanz und Pleiotropie gekennzeichnet. Diese Wirkung entfalten Zytokine über zahlreiche Rezeptoren, die je nach Zelle unterschiedlich exprimiert werden und zu vielfältigen zellulären Signalkaskaden führen (Spangler et al., 2015). Zytokine sind so für die Zelldifferenzierung, -aktivierung, -wachstum und den Zelltod verantwortlich. Ihr Effekt kann zum Ausgangsstimulus sowohl synergistisch als auch antagonistisch sein, um so ein Signal gegebenenfalls zu verstärken oder eine überschießende Immunantwort zu vermeiden (Borish & Steinke, 2003; Opal & DePalo, 2000). Sie können dabei sowohl parakrin, autokrin und endokrin wirken.

Im Falle einer Entzündung sind sie durch die Steuerung der Entzündungsreaktion und Aktivierung der Akuten Phase Reaktion entscheidend an der Aktivierung der angeborenen Immunantwort beteiligt (Gabay & Kushner, 1999). Zytokine sind aber ebenfalls essentielle Bestandteile der adaptiven Immunabwehr durch beispielsweise die Koordinierung der B- und T-Zelldifferenzierung (Guimond et al., 2005). Man unterscheidet in Bezug auf die Entzündungsreaktion überwiegend fördernde, proinflammatorische Zytokine von hemmenden, antiinflammatorischen Zytokinen. Kontrolliert wird die Zytokinaktivierung durch die gegenseitige Beeinflussung und

Abstimmung von pro- und antiinflammatorischen Zytokinen, sowie verschiedenen negativen Feedback-Mechanismen (Opal & DePalo, 2000). Kommt es dabei zu einem Ungleichgewicht bzw. zu einer überschießenden Zytokinaktivierung, können chronisch entzündliche Erkrankungen oder Tumore entstehen (Standiford, 2000; Weckmann & Alcocer-Varela, 1996).

#### **4.2.1 Interleukin-1 $\beta$**

Die Interleukin-1 (IL-1) Familie ist mit der angeborenen Immunität assoziiert und umfasst derzeit mittlerweile 11 Mitglieder. Interleukin-1 ist an der Initiierung der unspezifischen Entzündungsreaktion beteiligt und wird überwiegend von aktivierten Monozyten/ Makrophagen oder Neutrophilen nach Kontakt mit pathogenen Strukturen sezerniert. Aber auch Zytokine wie TNF- $\alpha$ , IL-18 und IL-1 selbst können eine verstärkte IL-1 Synthese auslösen (Dinarello & van der Meer, 2013). Weiterhin sind Endothelzellen, B- und T-Zellen, Natürliche Killer-Zellen und Fibroblasten in der Lage IL-1 zu produzieren.

Zu der IL-1 Familie gehören unter anderem IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$ . IL-1 $\beta$  zirkuliert eher systemisch, wohingegen IL-1 $\alpha$  in der Zelle verbleibt und lokal wirkt (Sims & Smith, 2010). IL-1 $\beta$  wird als Vorläufermolekül synthetisiert, akkumuliert im Zytosol der Zellen und weist zunächst keine biologische Aktivität auf. Die Prozessierung zu aktivem IL-1 $\beta$  erfolgt durch die Aktivierung des Multienzymkomplex NLRP3 (NLR family pyrin domain containing 3), welcher wiederum das Enzym Caspase-1 aktiviert und so zu einer proteolytischen Spaltung führt (Dinarello, 2018; Garlanda et al., 2013). Weiterhin können neutrophile Granulozyten ebenfalls IL-1 $\beta$  Vorläufermoleküle freisetzen und diese durch das Enzym Proteinase-3 anschließend extrazellulär prozessieren (Coeshott et al., 1999). Aber auch andere Proteasen wie Elastase, Matrix Metalloproteinase-9 und Granzyme A können extrazellulär das IL-1 $\beta$  Vorläufermolekül spalten (Dinarello, 2018). IL-1 $\beta$  binden an den Interleukin-1 Rezeptor Typ 1 (IL-1R1), welcher mit dem Corezeptor IL-1R3 einen Komplex bildet und eine Enzymkaskade auslöst, die letztlich zur Aktivierung von dem Transkriptionsfaktor NF $\kappa$ B und somit zu einer proinflammatorischen Reaktion führt (Dinarello, 2018). IL-1R1 weist eine sehr ähnliche zytoplasmatische Domäne, genannt Toll-IL-1-Resistance (TIR), zu den Toll-like-Rezeptoren auf (Gay & Keith, 1991). So liegt die Assoziation zum angeborenen

Immunsystem nahe. Wichtige inflammatorische Reaktionen wie z.B. die Aktivierung von Cyclooxygenase-2 und die Produktion von weiteren Zytokinen und Chemokinen sind Antworten auf sowohl IL-1 als auch TLR-Aktivierung (Dinarello, 2018).

Die proinflammatorischen Wirkungen von Interleukin-1 sind vielfältig, da der IL-1 Rezeptor auf vielen Zellen exprimiert ist. Beispielsweise wirkt IL-1 zentral, indem es die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse aktiviert und so zur Cortisol-Synthese führt. Eine weitere zentrale Wirkung ist die Induktion von Fieber, welches wiederum die Migration von Leukozyten an den Entzündungsort erleichtert (Garlanda et al., 2013). IL-1 fördert die Ausbildung von Selektinen bei Endothelzellen, welche die Adhäsion von Leukozyten und die anschließende Diapedese ermöglichen (Garlanda et al., 2013). Weiterhin verlängert IL-1 die Überlebenszeit von Neutrophilen und Makrophagen und stimuliert deren Effektorfunktion (Mantovani et al., 2011). Außerdem bewirkt IL-1 im Rahmen der adaptiven, erworbenen Immunabwehr eine Verstärkung der Antigenerkennung, sowie eine Aktivierung und gesteigerte Proliferation von CD4+ T-Lymphozyten, indem es die IL-2R-Expression hochreguliert und mehrere Signalwege aktiviert, die anti-apoptotische Wirkungen haben (beispielsweise die NF- $\kappa$ B- und Phosphoinositid-3-Kinase-Wege) (Ben-Sasson et al., 2009; Sims & Smith, 2010). Entzündungsreaktionen, die durch eine Überproduktion an Interleukin-1 gesteuert werden, können lebensbedrohliche Krankheiten wie ein akutes Lungen- oder Nierenversagen, einen Myokardinfarkt oder Schlaganfälle auslösen (Dinarello & van der Meer, 2013).

Eine Inhibierung der IL-1-Aktivität kann durch den IL-1 Rezeptorantagonist (IL-1Ra) erfolgen. Dieser Antagonist bindet an denselben Rezeptor wie IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$ , führt jedoch zu keiner Signalübertragung (Carter et al., 1990; Hannum et al., 1990). Rekombinantes IL-1Ra, Anakinra genannt, blockiert IL-1R1 und wird heute bei Autoimmunerkrankungen wie beispielsweise der rheumatoiden Arthritis oder dem M. Still genutzt um die IL-1 Aktivität und die damit verbundene proinflammatorische Wirkung zu unterbinden (Botsios et al., 2011; Genant et al., 2001; Jiang et al., 2000). Ein weiterer Antagonist ist IL-1 Rezeptor Typ 2 (IL-1R2), welcher in membrangebundener oder löslicher Form vorliegen kann. IL-1R2 fungiert als Täuschungsrezeptor, indem er IL-1 bindet, aber zu keiner Signalübertragung führt (Mantovani et al., 2011).

## 4.2.2 Interleukin-6

Interleukin-6 (IL-6) ist mit einer überwiegend proinflammatorischen Wirkung assoziiert und wird bei Entzündungsreaktionen freigesetzt. Es weist aber ebenso antiinflammatorische Eigenschaften auf. IL-6 ist für das angeborene Immunsystem, z.B. durch Beteiligung an der Akuten Phase Reaktion in der Leber, aber ebenso für das adaptive Immunsystem durch beispielsweise die B-Zell-Stimulation essentiell (Rose-John, 2018). Gleichmaßen ist es auch für die Hämatopoese und die Koordination zwischen angeborener und erworbener Immunabwehr bedeutend (Scheller et al., 2011). Das Serumlevel bei Gesunden liegt bei 1-5 pg/mL. Nach Endotoxinstimulation können bereits nach zwei bis drei Stunden Maximalwerte detektiert werden (Martich et al., 1991). Eine chronische Erhöhung der Interleukin-6 Spiegel findet man bei Autoimmun- und Tumorerkrankungen, z.B. bei rheumatoider Arthritis (Rose-John et al., 2020).

Interleukin-6 wurde zunächst als B-Zell Stimulations Faktor-2 beschrieben (Hirano et al., 1985, Hirano et al., 1986). Weitere synonyme Bezeichnungen waren Hepatozyten-stimulierender Faktor, Plasmozytom Wachstumsfaktor und Interferon-2, bis diese Moleküle als identisch identifiziert und schließlich als Interleukin-6 benannt wurden (Hirano, 2010; Hirano et al., 1985). Die verschiedenen Namen weisen schon auf die vielfältige Wirkung von IL-6 hin. Interleukin-6 kann von vielen Zellen wie beispielsweise Monozyten, Makrophagen, T-Zellen, Fibroblasten und Endothelzellen synthetisiert werden (Rose-John, 2012; Schaper & Rose-John, 2015). Als Stimuli dienen dabei unter anderem TNF- $\alpha$ , IL-1 oder Bestandteile pathogener Erreger (Dienz et al., 2009). Für die Signalübertragung gibt es zwei Mechanismen. Der „klassische“ IL-6 Signalweg wird durch Bindung von Interleukin-6 an einen membrangebundenen IL-6 Rezeptor ausgelöst. Dieser befindet sich vor allem auf Neutrophilen Granulozyten, Hepatozyten CD4<sup>+</sup> T-Zellen und Monozyten (Schaper & Rose-John, 2015). Zur Signaltransduktion kommt es, indem Interleukin-6 mit dem IL-6 Rezeptor und einem signalübertragenden gp130 Molekül einen Komplex bildet. Durch eine transmembranäre Domäne ist gp130 für die Signalübermittlung in die Zelle verantwortlich. Dabei führt die Dimerisierung von gp130 zur Aktivierung der intrazytoplasmatischen JAK-Tyrosinkinasen. Innerhalb von Minuten nach der IL-6-Stimulation bewirken diese Kinasen die Induktion der Tyrosinphosphorylierung und die Rekrutierung von STAT3 (Signal transducer and activator of transcription 3), welches daraufhin dimerisiert, in den Kern transloziert wird

und anschließend zur Genexpression führt (Kishimoto, 2006; Rose-John, 2018). Daneben kann IL-6 ebenfalls die MAPK-Kaskade und PI3K-Kaskade aktivieren (Eulenfeld et al., 2012). Die Aktivierung des klassischen, membrangebundenen Weges steht eher im Kontext einer antiinflammatorischen, protektiven Wirkung (Rose-John, 2018; Schaper & Rose-John, 2015).

Bei dem „trans-signaling“ Weg bildet eine lösliche Form des IL-6 Rezeptors einen Komplex mit IL-6 und bindet anschließend an das transmembranäre gp130 Molekül von Zellen (Kishimoto, 2006; Rose-John, 2018). Dieses ist, im Gegensatz zum membrangebundenen IL-6 Rezeptor, auf vielen Zellen vorhanden. So können durch diesen Signalweg viele verschiedene Zellen stimuliert werden (Rose-John & Heinrich, 1994). Der lösliche IL-6 Rezeptor entsteht dabei mit Hilfe der Metalloprotease 17 (ADAM17) aus dem membranständigen IL-6 Rezeptor (Rose-John et al., 2020). Die Aktivierung des transsignal Weges führt vor allem zu proinflammatorischen Aktivitäten (Rose-John, 2018; Schaper & Rose-John, 2015). Bei einer Entzündungsreaktion ist IL-6-Trans-Signaling ein wichtiger Bestandteil der Steuerung zwischen angeborener und erworbener Immunantwort und für den Wechsel der Rekrutierung von neutrophilen Granulozyten zu monozytären Zellen entscheidend (Rabe et al., 2008; Scheller et al., 2011). Die zunächst bei der initialen Immunantwort eingewanderten Neutrophilen Granulozyten führen zu einer proteolytische Spaltung des IL-6 Rezeptors und lösen die IL-6-Trans-Signal Antwort aus. Dies bewirkt, dass vermehrt Chemokine gebildet werden, die Monozyten anziehen und die Chemotaxis von Neutrophilen unterdrücken (Hurst et al., 2001). Es werden aber ebenfalls verschiedene Chemokine gebildet, die die Migration von T-Lymphozyten fördern (McLoughlin et al., 2005). Zusätzlich wird die Adhäsion von T-Zellen verbessert und die Apoptose von T-Zellen inhibiert (Curnow et al., 2004; Jones, 2005). Daneben ist Interleukin-6 auch für die Differenzierung von B- und T-Zellen bedeutend. Es beeinflusst beispielsweise die T-Zell Differenzierung in  $T_H2$  und  $T_H17$ - Richtung (Scheller et al., 2011). Weiterhin wird die Antikörperproduktion in B-Zellen verstärkt (Hirano et al., 1985). IL-6 fördert die Umwandlung von naiven T-Zellen zu Helferzellen, welche wiederum die Aktivierung von B-Zellen und deren Antikörperproduktion fördern (Dienz et al., 2009; Eddahri et al., 2009). Im Vergleich zu gesunden Probanden sind erhöhte Konzentrationen von IL-6 in der Bronchioloalveolären Lavage von Patienten mit ARDS zu finden (Chollet-Martin et al., 1996; Park et al., 2001).



Damit es zu keiner Überreaktion durch Interleukin-6 kommt, wird die Konzentration von IL-6 über einen negativen Feedback Mechanismus reguliert. Aktiviertes STAT3 führt zur Expression von SOCS-1 (Suppressor Of Cytokine Signaling), welches als unterdrückendes Zytokinsignal fungiert. Dieses bindet an die JAK-Tyrosinkinase und wirkt als negativer Regulator der gp130-Signaltransduktion. SOCS-1, SOCS-2 und SOCS-3 werden durch verschiedene Zytokine wie IL-6, IFN- $\gamma$ , IL-4 und den Granulozyten-Kolonie-stimulierenden Faktor induziert und hemmen den Zytokin-aktivierten JAK/STAT-Signalweg (Kishimoto, 2006). Eine weitere Regulation besteht durch eine Tyrosinphosphatase SHP2, welche bestimmte Signalbestandteile dephosphoryliert und so die Signaltransduktion hemmt (Schaper & Rose-John, 2015).

### **4.2.3 Interleukin-8**

Das proinflammatorisch wirkende Interleukin-8 (IL-8) gehört zu den Chemokinen (Puneet et al., 2005). Es existieren verschiedene aktive Isoformen, unter anderem ein 77 Aminosäuren langes Molekül, welches von Endothelzellen gebildet wird, sowie eine 72 Aminosäuren lange Form, die unter anderem von Monozyten und aktivierten T-Zellen sezerniert wird (Gimbrone et al., 1989; Lindley et al., 1988). Die IL-8 Konzentration beim Gesunden ist niedrig, kann aber durch proinflammatorische Stimuli wie IL-1 oder bakterielle Lipopolysaccharide um das Zehn- bis Hundertfache ansteigen (Hoffmann et al., 2002; van Zee et al., 1991). Dies wird vor allem über Signalwege vermittelt, die über verschiedene Proteinkinasen zur Aktivierung von NF- $\kappa$ B und Activator-protein-1 (AP-1) führen (Hoffmann et al., 2002). Steigende IL-8-Konzentrationen sind bereits ein bis zwei Stunden nach Stimulation mit Endotoxinen sowohl bei Primaten, als auch Neugeborenen und Erwachsenen nachweisbar (Martich et al., 1991; Schultz et al., 2002; van Zee et al., 1991). Interleukin-8 bindet hochaffin an die G-Protein gekoppelten Rezeptoren CXCR1 und CXCR2, welche vor allem von neutrophilen Granulozyten, aber auch von Monozyten, basophilen Zellen und aktivierten T-Zellen exprimiert werden (Baggiolini, 1998). Weiterhin kann Interleukin-8 direkt die Produktion reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) in Endothelzellen induzieren (Miyoshi et al., 2010). Die ursprüngliche Bezeichnung von IL-8, Neutrophilen aktivierender Faktor, lässt schon auf eine wesentliche Funktion schließen: die Rekrutierung, Aktivierung sowie Degranulierung von neutrophilen Granulozyten (Baggiolini et al., 1989; Walz et al., 1987). Bei Patienten mit nicht durch SARS-CoV-2

induziertem ARDS wurden erhöhte IL-8 Konzentrationen in der broncheoalveolären Lavage beschrieben. Die Konzentration von IL-8 erwies sich jedoch nicht als Prädiktor für den ARDS-Verlauf (Kurdowska et al., 2001). Systemische IL-8-Spiegel zeigten sich auch bei Patienten mit einem septischen Schock im Vergleich zu Patienten mit unkomplizierter Sepsis konstant erhöht (Macdonald et al., 2014). Auch bei Trauma-Patienten konnten höhere IL-8 Konzentrationen, nicht nur im Vergleich mit einer gesunden Kontrollgruppe, sondern auch innerhalb der Traumagruppe zwischen moderat und schwer Verletzten, nachgewiesen werden (Volpin et al., 2014).

#### **4.2.4 Interleukin-10**

Interleukin-10 (IL-10) wurde bei seiner Erstbeschreibung cytokine synthesis inhibitory factor (CSIF) genannt. Dies resultierte aus der Beobachtung, dass das von T<sub>H</sub>2-Zellen sezernierte Zytokin die Produktion von vielen proinflammatorischen Zytokinen hemmt wie beispielsweise IL-2, IL-3, Tumornekrosefaktoren und IFN- $\gamma$ , die von T<sub>H</sub>1-Zellen sezerniert werden (Fiorentino et al., 1989; Fiorentino, Zlotnik, Vieira, et al., 1991). Das antiinflammatorische Zytokin kann sowohl von Zellen der unspezifischen, angeborenen Immunabwehr, wie beispielsweise Monozyten und Makrophagen, als auch von Zellen der spezifischen, erworbenen Immunabwehr, wie T<sub>H</sub>2-Lymphozyten und regulatorische T-Lymphozyten, gebildet werden (Gabryšová et al., 2014; Moore et al., 2001; Saraiva et al., 2020). Die Ausschüttung von IL-10 wird dabei über multiple sowohl allgemeine, als auch zellspezifische Regulationsmechanismen wie Transkriptionsfaktoren, posttranskriptionelle und epigenetische Modifikationen reguliert (Saraiva et al., 2020). IL-10 interagiert mit dem IL-10 Rezeptor, welcher aus einer ligandenbindenden Untereinheit IL-10R1 und der signalübertragenden Untereinheit IL-10R2 besteht (Engelhardt & Grimbacher, 2014). Nach Bindung an den Rezeptor erfolgt eine Signalkaskade über Janus-Tyrosin-Kinasen, die letztlich die Aktivierung von STAT3 bewirken, welches im Zellkern zur Genexpression führt (Donnelly et al., 1999; Weber-Nordtt et al., 1996). IL-10 spielt eine wichtige Rolle bei der Kontrolle von Entzündungsreaktionen. Es hemmt die LPS-induzierte Produktion von den proinflammatorisch wirkenden Zytokinen IL-1, IL-6 und TNF- $\alpha$  in Makrophagen und hemmt so eine überschießende Immunantwort auf Pathogene (Fiorentino, Zlotnik, Mosmann, et al., 1991). Gleichzeitig kann es die Synthese des

antiinflammatorisch wirkenden IL-1RA steigern (JK et al., 1994). Zusätzlich unterdrückt IL-10 die Antigenpräsentation von antigenpräsentierenden Zellen wie Monozyten und hemmt so die antigenspezifische Proliferation von humanen T-Zellen (Waal Malefyt et al., 1991). Auf B-Zellen wirkt IL-10 indem es die Immunglobulinsynthese steigert (Uejima et al., 1996). Wie wichtig IL-10 für die Homöostase des Immunsystems ist, zeigt sich beispielsweise auch bei Patienten mit Loss-of-Function-Mutationen des IL-10 Gen. Diese leiden unter einer schweren, bereits im Säuglingsalter einsetzenden Enterokolitis (Glocker et al., 2009; Kotlarz et al., 2012). Bei Mäusen mit einer persistierenden lymphozytären Choriomeningitis Infektion konnten erhöhte IL-10 Spiegel nachgewiesen werden, welche zu einer Unterdrückung der T-Zellantwort führten. Bei Gabe eines IL-10-Rezeptor Antikörpers kam es zu einer effektiven T-Zellantwort und es trat keine chronische Infektion auf (Brooks et al., 2006; Ejrnaes et al., 2006).

#### **4.2.5 Tumornekrosefaktor- $\alpha$**

Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) gehört zu der derzeit 19 Liganden und 29 Rezeptorproteinen umfassenden Tumornekrosefaktor/Tumornekrosefaktor-Rezeptor-Superfamilie, welche für die Regulation immunologischer Prozesse essentiell ist (Aggarwal, 2003). TNF- $\alpha$  ist für die Apoptose, Proliferation aber auch Differenzierung von Zellen wesentlich. Das Zytokin kann sowohl als Transmembranprotein (mTNF- $\alpha$ ), als auch als lösliche Form (sTNF- $\alpha$ ) freigesetzt werden (Kriegler et al., 1988). Dies ist durch die Metalloproteinase TNF- $\alpha$ -converting Enzym (TACE) möglich (Black et al., 1997). TNF- $\alpha$  wird vor allem von Zellen des Immunsystems wie Makrophagen, Natürlichen Killerzellen, T- sowie B-Zellen produziert und bindet an zwei Rezeptoren, den Tumor-Nekrose-Faktor-Rezeptor-Typ 1 und -Typ 2 (TNFR1 und TNFR2) (Aggarwal, 2003). TNFR1 wird von einer Vielzahl von Zellen exprimiert, wohingegen TNFR2 überwiegend von Immun- und Endothelzellen exprimiert wird (Aggarwal, 2000). TNFR1 zählt zu den Todesrezeptoren, da dieser für die Apoptoseinduktion verantwortlich ist. Durch die Ligandenbindung von sTNF- $\alpha$  interagieren TNFR1 und das Tumor-Nekrose-Faktor-Rezeptor-Typ-1-assoziierte Todesdomänenprotein (TRADD) (Jiang et al., 2017). Diese Interaktion ist die Grundlage für die Bildung von zwei alternativen Proteinkomplexen (Komplex I und Komplex II). Komplex I aktiviert

den NF- $\kappa$ B Signalweg und mitogen-aktivierte Proteinkinasen (MAPKs). Dieser Signalweg fördert das Zellüberleben und die Zellproliferation, die Induktion einer Entzündungsreaktion, sowie die Immunabwehr gegen Pathogene (Jang et al., 2021). Die proinflammatorische Wirkung von TNF- $\alpha$  wird durch NF- $\kappa$ B-regulierte Entzündungsmediatoren vermittelt, wie beispielsweise IL-6, IL-8, Chemokine, induzierbare Stickoxid-Synthase (iNOS) und Cyclooxygenase-2 (COX-2) (Aggarwal et al., 2012). Im Falle einer gestörten NF- $\kappa$ B-Aktivierung wird jedoch der zytosolische Komplex II gebildet, wodurch ein Apoptose Signal induziert wird (Jiang et al., 2017). TNFR2 hingegen besitzt keine Todesdomäne und kann daher nicht direkt den Zelltod auslösen. So ist dieser Signalweg hauptsächlich mit der Gewebshomöostase assoziiert, einschließlich Geweberegeneration, Zellproliferation und Zellüberleben, kann aber auch Entzündungsreaktionen und die Immunabwehr gegen Pathogene auslösen (Jang et al., 2021). Normalerweise ist TNF- $\alpha$  in gesunden Menschen im Serum nicht nachweisbar. Bei chronischen Entzündungen und Infektionen sind jedoch erhöhte Spiegel im Serum und Gewebe detektierbar, welche wiederum mit dem Schweregrad der Entzündung korrelieren (Bradley, 2008). Mittlerweile können verschiedene TNF- $\alpha$  Antikörper wie Etanercept oder Adalimumab für die Behandlung von Autoimmunkrankheiten wie der rheumatoiden Arthritis, Psoriasis Arthritis und Morbus Crohn eingesetzt werden (Jang et al., 2021).

#### **4.2.6 Interleukin-2**

Interleukin-2 ist ein pleiotropes Zytokin, dessen Hauptwirkung die Regulation der Homoöstate, Differenzierung und Proliferation von T-Zellen betrifft. Zur Ausschüttung von IL-2 kommt es nach Antigenbindung einer T-Helferzelle. Die IL-2 Konzentration und die IL-2 Rezeptoren (IL-2R) Dichte werden beide von dem Ausmaß der vorherigen Stimulation der T-Zelle mit Antigenen bestimmt (Cantrell & Smith, 1983). Das Ausmaß der T-Zellproliferation hängt dabei wiederum von der IL-2 Konzentration sowie der IL-2 Rezeptoren Dichte ab (Meuer et al., 1984). Der IL-2-IL-2R-Signalweg ist für die Immunabwehr, aber gleichzeitig auch für die Selbsttoleranz entscheidend. IL-2R wird vor allem auf der Oberfläche verschiedener Arten von Immunzellen exprimiert, dazu gehören beispielsweise Antigen-präsentierende Zellen, aber auch regulatorische T-Zellen (Damoiseaux, 2020). Die  $\alpha$ -Kette des Interleukin (IL)-2-Rezeptors (CD25, sIL-

2R) wird bei Immunaktivierung abgespalten und freigesetzt (Rubin et al., 1990). Erhöhte Konzentrationen von löslichem (s)IL-2R gelten daher als Hinweis auf eine laufende Immunantwort beispielsweise bei der hämophagozytischen Lymphohistiozytose (HLH) und dem Kawasaki-Syndrom (Lin et al., 2017; Teraura et al., 2017). Auch bei der Sarkoidose kann sIL-2R als Biomarker für die Überwachung der Krankheitsaktivität und unterstützend zur Krankheitsdiagnose verwendet werden (Schimmelpennink et al., 2020; Vanmaris & Rijkers, 2017).

Die Bindung von IL-2 an sIL-2R kann die Reaktion entweder verringern oder verstärken. So kann sIL-2R entweder als Täuschungsrezeptor fungieren, der die Bioverfügbarkeit von IL-2 reduziert, oder eine Aktivierung ermöglichen, indem IL-2 an IL-2R-exprimierende Immunzellen präsentiert wird (Damoiseaux, 2020). IL-2 kann in CD4<sup>+</sup>-T-Zellen eine TH1- und TH2-Antwort beeinflussen (Boyman & Sprent, 2012; Cote-Sierra et al., 2004). Dies geschieht über die Regulation von diversen Zytokinrezeptoren, Transkriptionsfaktoren, Chromatinregulatoren und verschiedene Zytokine (Ross & Cantrell, 2018). Dabei führen hohe IL-2-Konzentrationen in CD4<sup>+</sup>-T-Zellen dazu, dass diese sich zu kurzlebigen, terminal differenzierten Effektor-T-Zellen entwickeln. Umgekehrt bewirken schwache IL-2-Signale eine Differenzierung zu folliculären Helfer- oder Gedächtnis-T-Zellen (Boyman & Sprent, 2012). IL-2 ist jedoch ebenso wichtig für die Unterdrückung der Immunabwehr und Kontrolle der Autoimmunreaktion indem es die Entwicklung von regulatorischen T-Zellen (Tregs) im Thymus beeinflusst, sowie für die Regulierung und Aufrechterhaltung von Tregs im peripheren Gewebe entscheidend ist (Ross & Cantrell, 2018). Mutationen im IL-2 oder IL-2-Rezeptor Gen können zu einer gestörten Autoimmunreaktion führen und sind mit Krankheiten wie Zöliakie, rheumatoider Arthritis und Diabetes mellitus Typ 1 assoziiert (Heel et al., 2007; Sharfe et al., 1997; Zhernakova et al., 2007).

#### **4.2.7 Zytokinsturm und Zytokinsturmsyndrom**

Auf der einen Seite ist die Ausschüttung von Zytokinen, wie zuvor bereits beschrieben, ein physiologischer und überlebenswichtiger Vorgang, um Infektionen zu verhindern, Pathogene zu bekämpfen und die Zellhomöostase zu regulieren. Auf der anderen Seite kann es jedoch, durch die unkontrollierte Ausschüttung verschiedener Zytokine und dem Versagen negativer Feedbackmechanismen, zu einem Zytokinsturm mit

schweren, teils lebensbedrohlichen Folgen kommen. Eine einheitliche Definition des Begriffs Zytokinsturm und Zytokinsturmsyndrom existiert derzeit nicht (Fajgenbaum & June, 2020). Der Begriff Zytokinsturm wurde dabei erstmal 1993 zur Charakterisierung der Graft-versus-host-disease verwendet und beschreibt eine massiv gesteigerte Freisetzung von Zytokinen, die mit lebensbedrohlichen Zuständen assoziiert ist (Ferrara et al., 1993). Ein Zytokinsturm kann infolge einer CART-Zell Therapie oder unkontrollierter viraler Infektionen, beispielsweise bei EBV oder HHV-8, vorkommen (Morgan et al., 2010; Teachey et al., 2016). Die Symptome können dabei variieren und reichen von hohem Fieber, Tachypnoe und Dyspnoe über Erbrechen und Diarrhöen bis hin zu neurologischen Symptomen wie Kopfschmerzen, Verwirrtheit und einer Enzephalopathie (Lee et al., 2014). Bei Zytokinsturmsyndromen können hohe Spiegel von proinflammatorischen Zytokinen, beispielsweise IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-18, Interferon-gamma und Tumor-Nekrose-Faktor, nachgewiesen werden (Lee et al., 2014). Es gibt jedoch derzeit keine bestimmten Zytokinkonstellationen oder Schwellenwerte bestimmter Zytokine, die eine eindeutige Diagnose eines Zytokinsturms beweisen (Fajgenbaum & June, 2020). Auch die Pathogenese von Zytokinsturmsyndromen ist noch nicht vollständig identifiziert, da diese sich wahrscheinlich auch wiederum innerhalb der verschiedenen Zytokinsturmsyndrome unterscheidet und Gegenstand aktueller Forschung ist. Bei schweren, intensivpflichtigen SARS-CoV-2 Verläufen werden oft erhöhte Zytokinpiegel infolge einer Hyperinflammation beobachtet (Mehta, Cron, et al., 2020). Diverse Studien zeigten zu Beginn der Pandemie höhere Zytokinpiegel unter anderem für IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , löslicher IL-2-Rezeptor, IL-6, IL-8 und IL-10 bei COVID-19 Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen (Han et al., 2020; Huang et al., 2020). Ein Zytokinsturm könnte somit die schweren Komplikationen, die bei einem Teil der COVID-19 Erkrankten auftreten, erklären (Mahmudpour et al., 2020).

Weiterhin kann es im Rahmen einer sekundären Hämophagozytischen Lymphohistiozytose (sHLH) zu einem Zytokinsturm kommen (Lee et al., 2014). Der sHLH liegt ebenfalls eine schwere Dysregulation des Immunsystems mit einhergehender Hyperinflammation zugrunde. Häufig kommt es durch einen massiven Zytokinsturm zu schweren Organschädigungen mit ARDS und zum multiplen Organversagen. Die Mortalität bei intensivpflichtigen Patienten ist folglich hoch (50-80%) (Kapoor et al., 2018). Vor allem eine pulmonale Beteiligung gilt als schlechter Prognosefaktor und ist mit einer erhöhten Mortalität assoziiert (Seguin et al., 2016).

Oftmals ist die sHLH ein unterdiagnostiziertes Krankheitsbild, da besonders bei schweren intensivpflichtigen Verläufen, die klinische Präsentation nicht spezifisch ist und die Abgrenzung zum septischen Schock schwierig sein kann (Fajgenbaum & June, 2020). Weiterhin gibt es wenige spezifische Biomarker, die ebenso bei einem septischen Schock erhöht bzw. erniedrigt sein können (Kapoor et al., 2018). Bei Erwachsenen tritt sHLH bei immunsuppressiven Zuständen auf, die durch Malignome oder Autoimmunerkrankungen ausgelöst werden. Noch häufiger sind jedoch virale Infektionen als Auslöser zu beobachten. Eine sekundäre Hämophagozytische Lymphohistiozytose könnte durch COVID-19 ausgelöst werden und vermehrt schwere Verläufe in Folge einer viral getriggerten Hyperinflammation erklären (Mehta, McAuley, et al., 2020). Die klinische Präsentation ist ähnlich und kaum zu differenzieren. Beide Erkrankungen kennzeichnen Symptome wie Fieber und eine zusätzliche pulmonale Symptomatik bei COVID-19 Erkrankten wie Husten und Dyspnoe. Desweiteren können beide Erkrankungen zum ARDS und Multiorganversagen führen (Opoka-Winiarska et al., 2020). Jedoch zeigte Caricchio et al., 2021, dass Patienten mit einem Zytokinsturm, der durch eine COVID-19 Erkrankung ausgelöst wurde, die Diagnosekriterien für eine sHLH nicht erfüllen und andere Diagnose- und Prognosekriterien entwickelt werden müssen.

### 4.3 Zielsetzung

Zum Zeitpunkt des Studienbeginns lagen nur wenige Informationen bezüglich einer SARS-CoV-2 Infektion, ihrem Verlauf und Behandlungsmöglichkeiten vor. Die fächerübergreifende Studie „Biomarker der COVID-19 Erkrankung“ diene der Hypothesengewinnung und sollte eine bessere Risikostratifizierung durch Analyse zellulärer und serologischer Immunprofile der an COVID-19 erkrankten Patienten ermöglichen und so diagnostische und prognostische Biomarker einer COVID-19 Erkrankung identifizieren. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte ein Zytokinprofiling der standardmäßig im Routinelabor bestimmbar Zytokine IL-1 $\beta$ , IL-2R, IL-6, IL-8, IL-10 und TNF- $\alpha$  durchgeführt werden. Im Hinblick auf die Diagnose einer COVID-19 Infektion galt zu prüfen:

1. Das Zytokinprofil bei SARS-CoV-2 Infizierten unterscheidet sich im Vergleich zu Patienten mit ähnlicher Symptomatik, aber anderer Ätiologie.

Auch wenn die Erkrankung bei einem Großteil der Infizierten milde verläuft, so entwickeln manche Patienten einen schweren, intensivpflichtigen und möglicherweise letalen Verlauf. In Bezug auf die Prognose einer COVID-19 Erkrankung wurden folgende Hypothesen untersucht:

2. Die Zytokinspiegel von schwer erkrankten, intensivmedizinisch behandelten Patienten unterscheiden sich von normalstationär behandelten COVID-19 Patienten.
3. Verstorbene COVID-19 Patienten unterscheiden sich in den Zytokinspiegeln von überlebenden Patienten.

Eine bessere Einschätzung von schweren, potentiell lebensbedrohlichen Verläufen ist von wesentlicher Bedeutung um immunmodulierende oder supportive Therapien zu evaluieren, sowie angesichts möglicher Ressourcen- und Personalknappheit intensivmedizinische Versorgung besser planen zu können.



## 5 Material und Methoden

### 5.1 Studiendesign

Es wurden alle Patienten, die am Universitätsklinikum Marburg mit Verdacht auf COVID-19 behandelt wurden, eingeschlossen. Als COVID-19 positiver Patient galt, wer einen mittels PCR auf SARS-CoV-2 positiven Nasen-/Rachenabstrich aufwies. Es wurden serologische und zelluläre Immunprofile unterschiedlicher Krankheitsverläufe erhoben. Im Rahmen dessen sollte untersucht werden, welche biologischen Parameter sich für die Diagnose oder Prognose des Krankheitsverlaufs von COVID-19 Erkrankten am besten eignen. Dabei ist aus der Studie „Biomarker der COVID-19 Erkrankung“ eine weitere Dissertation mit dem Titel „Klinisch-biochemische Biomarker der COVID-19 Erkrankung“ von Margrit Gündisch entstanden, welche sich auf dasselbe Patientenkollektiv bezieht und daher identische demographische Daten enthält.

Im Rahmen der vorliegenden, explorativen Arbeit wurde ein Zytokinprofiling durchgeführt. Es wurden dafür serologische Messungen der Zytokinspiegel von IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , löslicher IL-2-Rezeptor, IL-6, IL-8 und IL-10 durchgeführt und ausgewertet. Um mögliche Biomarker zu identifizieren, die eine schnelle Diagnose von COVID-19 unterstützen können, galt es zunächst zu prüfen, inwiefern sich die Zytokinspiegel zwischen SARS-CoV-2 positiven und negativen Personen, die jedoch mit dem Verdacht einer COVID-19 Infektion aufgenommen wurden, unterscheiden. Weiterhin sollte untersucht werden, ob Zytokine sich als mögliche Biomarker eignen, um die Schwere einer COVID-19 Erkrankung frühzeitig zu erkennen. Hierfür sollten die Aufnahmespiegel von intensivmedizinisch und normalstationär Behandelten, sowie die Aufnahmespiegel von verstorbenen und überlebenden Patienten verglichen werden. Auch eine mögliche Korrelation der analysierten Zytokine wurde ausgewertet. Zusätzlich sollte auch der Verlauf der Zytokinspiegel während einer COVID-19 Erkrankung untersucht werden. Dazu wurden die Aufnahmespiegel den zuletzt im klinischen Aufenthalt gemessenen Zytokinspiegeln gegenübergestellt.

Die Blutentnahme erfolgte in der Regel nachdem der behandelnde Arzt den Verdacht einer COVID-19 Infektion stellte. Teilweise erfolgte zusätzlich die Übernahme bereits positiv getesteter COVID-19 Patienten aus umliegenden Krankenhäusern, welche ebenfalls in die Studie eingeschlossen wurden. Die Blutentnahme für die Studie

erfolgte immer im Rahmen der Routineabnahme, sodass keine zusätzliche Venenpunktion erforderlich war. Nach Abnahme der Blutproben erfolgte der Transport der Proben in das Zentrallabor des Universitätsklinikum Marburg und dort die sofortige Analyse der jeweiligen Proben. Endpunkte der Studie waren:

- Ausheilung der Infektion
- Verlegung in eine geriatrische oder Rehabilitationseinrichtung
- Tod

## **5.2 Datenerfassung**

Im Zeitraum vom 10.04.2020 bis 30.06.2020 wurden alle Patienten, die am Universitätsklinikum Marburg wegen einer SARS-CoV-2 Infektion behandelt wurden, nach Aufklärung über die Studie und Zustimmung zu derselben, eingeschlossen.

Die Recherche über die Krankheitsverläufe erfolgte über das Betriebssystem ORBIS® (Build 08.04.35.01.1014100; Dedalus Healthcare Group AG, Bonn, Deutschland) des Universitätsklinikums Marburg. Dort wurden die digitalisierten Patientenakten mit Arztbriefen, Befunden der Radiologie und Verlegungsdocumentationen eingesehen und auf studienrelevante Informationen geprüft. Fehlende Informationen wurden direkt bei den behandelten Stationen erfragt.

Folgende Patientencharakteristika wurden erfasst: Alter, Geschlecht, Gewicht, Größe, Art der stationären Betreuung (Peripher- oder Intensivstation), Puls, Blutdruck, Temperatur, Herzfrequenz, Symptome zum Aufnahmezeitpunkt, CT-Befund der Lunge, Sauerstoffbedarf, Vorerkrankungen, Medikation, Zeitpunkt Intubation/Extubation, Superinfektionen, Komplikationen sowie Aufnahme-, Entlassungs- oder Todeszeitpunkt.

## **5.3 Patientenkollektiv**

Es lag ein positives Ethikvotum (Nr. 57/20) der Ethikkommission der Phillips-Universität Marburg und die schriftliche Studieneinwilligung aller eingeschlossenen Patienten/Patientinnen vor.

### **5.3.1 Einschlusskriterien**

Eingeschlossen wurden alle Patienten die am Universitätsklinikum Marburg aufgrund einer SARS-CoV-2 Infektion behandelt wurden und der Studie zustimmten. Als Vergleichsgruppe wurden Patienten in die Studie eingeschlossen, die mit dem Verdacht einer SARS-CoV-2 Infektion im Klinikum stationär aufgenommen wurden, bei denen sich jedoch keine COVID-19 Erkrankung feststellen lies (negativer PCR-Test). Als COVID-19 positiv galt, wer eine mittels Polymerase Kettenreaktion nachgewiesene SARS-CoV-2 Infektion im Nasen- oder Rachenabstrich aufwies. Das Mindestalter der Studienteilnehmer wurde auf 18 Jahre festgelegt.

### **5.3.2 Ausschlusskriterien**

Als Ausschlusskriterien galten eine zurückgezogene oder fehlende Einwilligung, sowie Minderjährigkeit.

## **5.4 Labormaterial**

Zur Bestimmung von IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-8, IL-10 und TNF- $\alpha$  wurde Immulite 1000 von DPC\_Bierman, Bad Nauheim (Nummer 3025895-0) verwendet. Für jeden Analyten wurden zusätzlich entsprechende IMMULITE Testkits benutzt:

- LKL11 für IL-1 $\beta$
- LPIP1 für IL-2R
- LK8P1 für IL-8
- LKXP1 für IL-10
- LKNF1 für TNF-a

Jedes Testkit enthielt:

- Testeinheit bestehend aus einer - gegen den entsprechenden Analyten gerichteten - Antikörper beschichtete Polystyrolkugel
- Reagenzbehälter: 7,5 ml mit alkalischer Phosphatase konjugiertes Analyt spezifische Reagenz.
- Kalibratoren: 2 verschiedene, einen mit hoher und einen mit niedriger Analytkonzentration.

Außerdem wurden für jeden IMMULITE Test benötigt:

- LSUBX: Chemilumineszenzsubstrat
- LPWS2: Waschmodul
- LKPM: Reinigungsmodul
- LCHx-y: Halterungen für Probenträger (mit Barcodierung)
- LSCLP: Probenträger (Einwegartikel)

Zur Bestimmung von IL-6 wurde Cobas e 411 von Roche Diagnostics GmbH, Mannheim verwendet. Das außerdem zur IL-6 Bestimmung benötigte Testkit enthielt folgende gebrauchsfertige Lösungen:

- Streptavidin beschichtete Mikropartikel
- Anti-IL-6-Biotin
- Anti-IL-6-Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>

#### **5.4.1 SARS-CoV-2-Polymerase-Kettenreaktion (PCR)**

Für die Extraktion von SARS-Cov-2-RNA von Patienten wurden Rachen- und Nasenabstriche mittels der Tupfersysteme CITOSWAB® Virus Collection und Transport Kit (CITOTEST®, Jiangsu, China) und Copan eSwabs™ (MAST Diagnostica GmbH, Reinfeld, Germany) entnommen. Gemäß den Empfehlungen des Herstellers erfolgte die Isolierung und Aufreinigung der viralen RNA mit dem Reagenzkit EZ1 Virus Mini Kit v2.0 (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany) und dem automatischen Probenverarbeitungsgerät EZ1 Advanced XL (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany). Die Amplifikation des SARS-CoV-2-spezifischen Spike-Gens (S-Gen) und des Beta-Coronavirus-spezifischen Hüllgens (E-Gen) erfolgte mit dem RealStar SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 (Altona Diagnostics, Hamburg, Deutschland) gemäß den Angaben des Herstellers.

## **5.5 Labormethoden**

### **5.5.1 Cobas e411 Testprinzip „ECLIA“ für IL-6**

Zur quantitativen Bestimmung von Interleukin-6 im Serum oder Plasma wurde der ElektroChemiLumineszenz ImmunoAssay „ECLIA“ für Cobas e411 verwendet, welcher auf dem Sandwichprinzip beruht. Zunächst erfolgte die Inkubation von 30 µL Probenmaterial mit einem biotinylierten monoklonalen IL-6-spezifischen Antikörper. Danach wurde ein IL-6-spezifischer Antikörper, welcher mit einem Ruthenium-Komplex markiert war, und Streptavidin-beschichteten Mikropartikel hinzugegeben und erneut inkubiert. Hierbei bilden die Antikörper mit den Antigenen der Probe einen Sandwich-Komplex aus. Anschließend wurde die Lösung in eine Messzelle transportiert. Dort wurden die Mikropartikel durch magnetische Anziehung auf der Elektrodenoberfläche fixiert und die ungebundenen Antikörper mittels ProCell Lösung entfernt. Im Anschluss wurde eine Chemielumineszenzreaktion durch das Einsetzen von Spannung ausgelöst. Das bei dieser Reaktion emittierte Licht wurde mit einem Photomultiplier gemessen und die Ergebnisse mittels einer Kalibrationskurve bestimmt. Der Messbereich für Interleukin-6 bei dem verwendeten Verfahren betrug 1,5-5000pg/mL, verdünnt war eine Messung bis 50000 pg/mL möglich.

### **5.5.2 IMMULITE Testprinzip für IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-8, IL-10 und TNF- $\alpha$**

Bei dem Random Access Immunoassay Analyzer IMMULITE handelt es sich um ein kontinuierliches Random Access System, welches automatisch Chemielumineszenz-Immunoassays durchführt. Als Festphase benutzt IMMULITE Kunststoffkugeln, die mit einem Antikörper beschichtet sind, welcher sich gegen den zu bestimmenden Analyten richtete. Weiterhin verwendet IMMULITE Reagenzien, die mit alkalischer Phosphatase markiert wurden, sowie ein chemielumineszierendes Enzymsubstrat. Die Kunststoffkugel befanden sich in einem Teströhrchen, welches als Reaktionsgefäß für Immunreaktion, Inkubation, Waschschrte und die Signalentwicklung diente.

Als erster Schritt erfolgte die Inkubation der Kugel mit der Patientenprobe und dem mit alkalischer Phosphatase markierten Reagenz bei 37°C. Bei der in dieser Zeit stattfindenden immunologischen Reaktion bindet der Analyt an den Antikörper der Testkugel. Die mit alkalischer Phosphatase markierte Reagenz bindet ebenfalls an

dem Analyten. Je nach Assaytyp betrug die Inkubationszeit 30 oder 60 Minuten. Nach der Inkubation erfolgte die Waschung der Kugel durch die Hinzugabe von Wasser. Anschließend wurde das Teströhrchen mit hoher Geschwindigkeit um die vertikale Achse gedreht, sodass das Reaktionsgemisch von der Kugel getrennt wurde. Nun ist die Kugel frei von Rückständen, die ungebundene Marker enthalten könnte. Nach diesem Schritt erfolgte die Quantifizierung des an die Kugel gebundenen Markers mittels eines lumineszierenden Dioxetansubstrats. Dazu wurde diese mit dem luminogenem Substrat bei 37°C für 10 Minuten inkubiert. In dieser Zeit erreichte das in der Lumineszenzreaktion entwickelte Licht sein Maximum. Ein Photomultiplier misst zeitgleich die Photonen, die bei der Lumineszenzreaktion erzeugt werden. Die Lumineszenzreaktion lief wie folgt ab: Das Substrat LUMIGEN, ein Adamantyldioxetanephosphat, wurde von der alkalischen Phosphatase, welche aufgrund der vorher stattgehabten Immunreaktion an die Kunststoffkugel gebunden wurde, dephosphorylliert. Als Zwischenprodukt entsteht ein instabiles Anion, das bei seinem Zerfall ein Photon emittiert. Folglich ist das entstandene Lichtsignal direkt proportional zur Menge an gebundener alkalischer Phosphatase. Die IMMULITE-Software wertet anschließend die emittierten Photonen aus. Weiterhin konnte durch Attenuation des Lichtsignals der Messbereich erhöht werden, sodass IMMULITE folglich sehr hohe und auch sehr niedrige Konzentrationen genau erfassen kann. Weiterhin wurden die Messergebnisse pro Sekunde mittels gespeicherter Standardkurven in die Analytkonzentration umgerechnet. Mit dem IMMULITE 1000 wurden IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-8, IL-10 und TNF- $\alpha$  bestimmt. Folgende Messbereiche sind für die einzelnen Analyten angegeben:

**Tabelle 1: Mess- und Referenzbereiche der Analyten über den Immulite 1000**

Analyt	Messbereich	Referenzbereich
<b>Interleukin-1-<math>\beta</math></b>	5 - 1000 pg/ml	<5 pg/ml
<b>Interleukin-2-Rezeptor</b>	5 - 7500 U/ml	<710 U/ml
<b>Interleukin-8</b>	5 - 7500 pg/ml	<62 pg/ml
<b>Interleukin-10</b>	5 - 1000 pg/ml	<9,2 pg/ml
<b>TNF-a</b>	4 - 1000 pg/ml	<8,1 pg/ml

## 5.6 Statistische Analyse

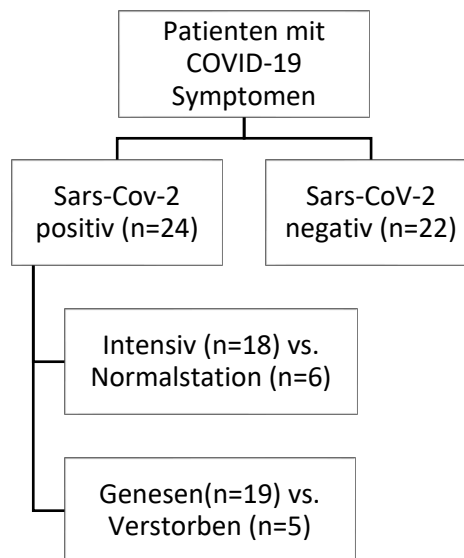
Statistische Analysen wurden mit Excel (Version 16.53) und dem Programm IBM Statistical Package für Social Sciences (SPSS) (Version 20) durchgeführt. Für die deskriptive Statistik wurde mithilfe des Shapiro-Wilk Test auf Normalverteilung getestet. Die Gruppenwertunterschiede der metrischen Daten bei nicht-normalverteilten Daten wurden mittels des Mann-Whitney-U-Tests analysiert. Die Unterschiede der dichotomen Merkmale wurden mittels des Fisher-exakt Tests berechnet.

Der Vergleich der Aufnahmewerte zwischen COVID-19 negativen und positiven Patienten, sowie die einzelnen Gruppenvergleiche wurden mithilfe des Shapiro-Wilk Test auf Normalverteilung geprüft. Bei nicht normalverteilten Daten erfolgte der Mann-Whitney-U-Test. Zur Vorhersage eines intensivpflichtigen Verlaufes einer COVID-19 Erkrankung und Berechnung von entsprechenden Cut-Off Werten wurde eine ROC-Analyse angewandt. Für die Korrelationsanalysen der verschiedenen Zytokine bei Aufnahme wurde der Spearman-Test durchgeführt. Der Wilcoxon-Test erfolgte für den Vergleich zwischen den Aufnahmewerten und den zuletzt gemessenen Laborwerten der verschiedenen COVID-19 Gruppen. Als statistisch signifikant galten Ergebnisse mit  $p < 0,05$ . Signifikante Ergebnisse wurden wie folgt abgekürzt: \* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$ ; \*\*\* =  $p < 0,001$ . Die Ergebnisse sind als Median und Interquartilsabstand dargestellt, wenn nicht anders angegeben.

## 6 Ergebnisse

### 6.1 Demographische Daten

Im Zeitraum von April bis Juni 2020 wurden insgesamt 46 Patienten in die Studie eingeschlossen, darunter 24 SARS-CoV-2 positiv getestete Personen sowie 22 negativ getestete Personen. Ebenfalls ist aus dieser Kohorte eine weitere Dissertation („Klinisch-biochemische Biomarker der COVID-19 Erkrankung“ von Margrit Gündisch, 2023) entstanden, welche sich auf dasselbe Patientenkollektiv bezieht und daher identische demographische Daten vorweist. In der COVID-19 positiven Kohorte mussten 18 Personen intensivmedizinisch behandelt werden. Insgesamt verstarben in dieser Kohorte 5 Personen.



**Abbildung 1: Darstellung der Kohorten und analysierten Subgruppen**

Es wurden in beiden Kohorten mehr Männer als Frauen behandelt, wobei der Männeranteil in der COVID-19 positiven Kohorte deutlich höher war (Tabelle 1). Signifikante Unterschiede zwischen COVID-19 negativen und positiven Patienten bestanden in der Aufenthaltsdauer (17,18 vs. 28,92 Tage,  $p=0,007$ ) sowie Beatmungsdauer (5 vs. 26,91 Tage,  $p=0,001$ ). Das Altersspektrum reichte in der SARS-CoV-2 negativen Kohorte von 28 bis 88 Jahren. In der positiven Kohorte war der jüngste Patient 23 Jahre und der älteste Erkrankte 82 Jahre alt. Insgesamt war mit einem Median von 70 Jahren die COVID-19 negative Kohorte älter als die positive Kohorte (Mdn. 65,5 Jahre).



**Tabelle 2: Demographische Daten der COVID-19 positiven und negativen Patienten**

Parameter	COVID-19 negativ (22)		COVID-19 positiv (24)		p-Wert
	Median/ Anzahl in % (N)	IQR	Median/ Anzahl in % (N)	IQR	
Alter [Jahre]	70.00	57.75- 80.25	65.50	55.00- 74.50	0.301
Geschlecht	12m/ 10w		19m/ 5w		0.116
Größe [cm]	169.50	163.25- 183.00	174.50	161.75- 180.00	0.899
Gewicht [kg]	77.50	60.50- 95.37	92.50	77.25- 106.00	0.083
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	24.00	21.68- 32.76	29.03	26.20- 33.61	0.058
Aufenthaltsdauer [Tage]	14.50	8.75- 24.25	25.50	17.50- 39.00	0.006
Intensivstation	54.54% (12)		75.00% (18)		0.217
Invasiv beatmet	22.73% (5)		45.83% (11)		0.129
Beatmungsdauer [Tage]	4.00	2.50- 8.00	27.00	19.00- 32.00	0.002
Verstorben	4.55% (1)		20.83% (5)		0.190

Typische Milchglasinfiltrate und Hinweise auf eine Viruspneumonie zeigten 95,83% der COVID-19 Erkrankten, COVID-19 negative Patienten hingegen zu 45,45%.

**Tabelle 3: CT-Befunde der Patienten**

CT-Befund	COVID-19 negativ (22)	COVID-19 positiv (24)
Kein Hinweis auf Viruspneumonie	54.54% (12/22)	4.16% (1/24)
Hinweis auf Viruspneumonie	45.45% (10/22)	95.83% (23/24)

Unter den 18 intensivmedizinisch behandelten COVID-19 Erkrankten befanden sich 16 männliche Patienten. Intensivmedizinisch behandelte COVID-19 Patienten wiesen im Vergleich zu normalstationär behandelten eine signifikant längere Aufenthaltsdauer auf (17 vs. 29 Tage; p=0,011) (Tabelle 3). Alle anderen Parameter unterschieden sich nicht signifikant voneinander.

**Tabelle 4: Vergleich zwischen intensivmedizinisch und normalstationär behandelten COVID-19 Patienten**

Parameter	Normalstation (6)		Intensivstation (18)		p-Werte
	Median/ Anzahl in % (N)	IQR	Median/ Anzahl in % (N)	IQR	
Alter [Tage]	65.5	56.50- 79.00	66.00	54.00- 73.50	0.738
Geschlecht	3m/3w		16m/2w		0.078
Größe [cm]	160.00	159.00- 178.50	175.00	168.00- 185.00	0.114
Gewicht [kg]	95.00	67.50- 108.00	92.00	78.00- 100.00	0.930
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	33.70	26.63- 35.60	27.75	26.17- 32.87	0.315
Aufenthaltsdauer [Tage]	17.00	11.75- 20.25	29.00	21.00- 42.50	0.011
verstorben	0% (0)		27,78% (5)		0.277

### 6.1.1 Vitalparameter bei Aufnahme

**Tabelle 5: Vergleich Vitalparameter der COVID-19 positiven und negativen Patienten.**

Angabe als Median und Interquartilsbereich (IQR) oder Prozent sowie Anzahl N; AF= Atemfrequenz, RL=Raumluft

Parameter	COVID-19 negativ (22)		COVID-19 positiv (24)		p-Werte
	Median/ Anzahl in % (N)	IQR	Median/ Anzahl in % (N)	IQR	
HF [bpm]	90.00	75.00- 100.00	82.00	75.75- 95.50	0.422
Systole [mmHg]	140.00	127.50- 159.00	134.50	126.50- 161.25	0.780
Diastole [mmHg]	76.00	67.50- 94.50	75.50	62.00- 85.75	0.535
SpO <sub>2</sub> [%] unter	95.00	91.50- 97.50	94.00	88.00- 97.00	0.400
- RL	50% (11)		58.33% (14)		0.358
- O <sub>2</sub> -Bedarf	50% (11)		29.17% (7)		0.358
AF [/ min]	19.00	16.00- 26.00	20.00	16.00- 28.00	0.548
Temperatur [Celsius°]	37.15	36.67- 37.85	37.10	36.47- 37.85	0.869

**Tabelle 6: Vergleich der Vitalparameter zwischen intensivmedizinisch und normalstationär behandelten COVID-19 Patienten zum Aufnahmezeitpunkt**

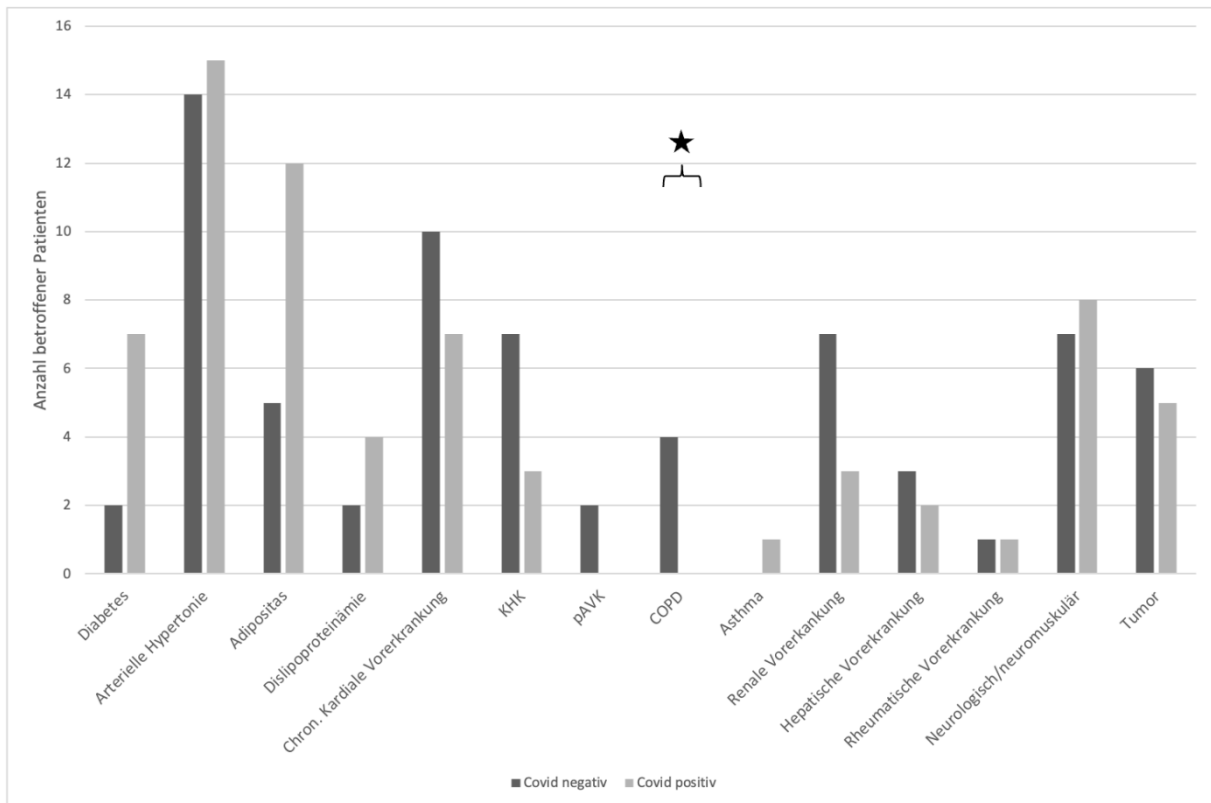
Angabe als Median und Interquartilsbereich (IQR) oder Prozentangabe sowie Anzahl (N). HF=Herzfrequenz, RL=Raumluft, AF=Atemfrequenz

Parameter	Normalstation (6)		Intensivstation (18)		p-Werte
	Median/ Anzahl in % (N)	IQR	Median/ Anzahl in % (N)	IQR	
HF [bpm]	78.00	75.50- 91.75	84.50	75.50- 98.50	0.483
Systole [mmHg]	130.00	122.75- 149.75	139.00	129.50- 163.75	0.357
Diastole [mmHg]	79.00	63.50- 87.50	73.50	61.25- 86.00	0.579
SpO <sub>2</sub> [%]unter:	95.00	93.25- 97.25	93.00	88.00- 96.75	0.300
-RL		100% (6)		44,44% (8)	0.061
-O <sub>2</sub> -Bedarf		0% (0)		38,88% (7)	0.061
AF [/ min]	19.00	14.00- 22.25	20.00	17.50- 31.50	0.172
Temperatur [Celsius°]	37.35	36.95- 38.75	37.00	36.17- 37.75	0.196

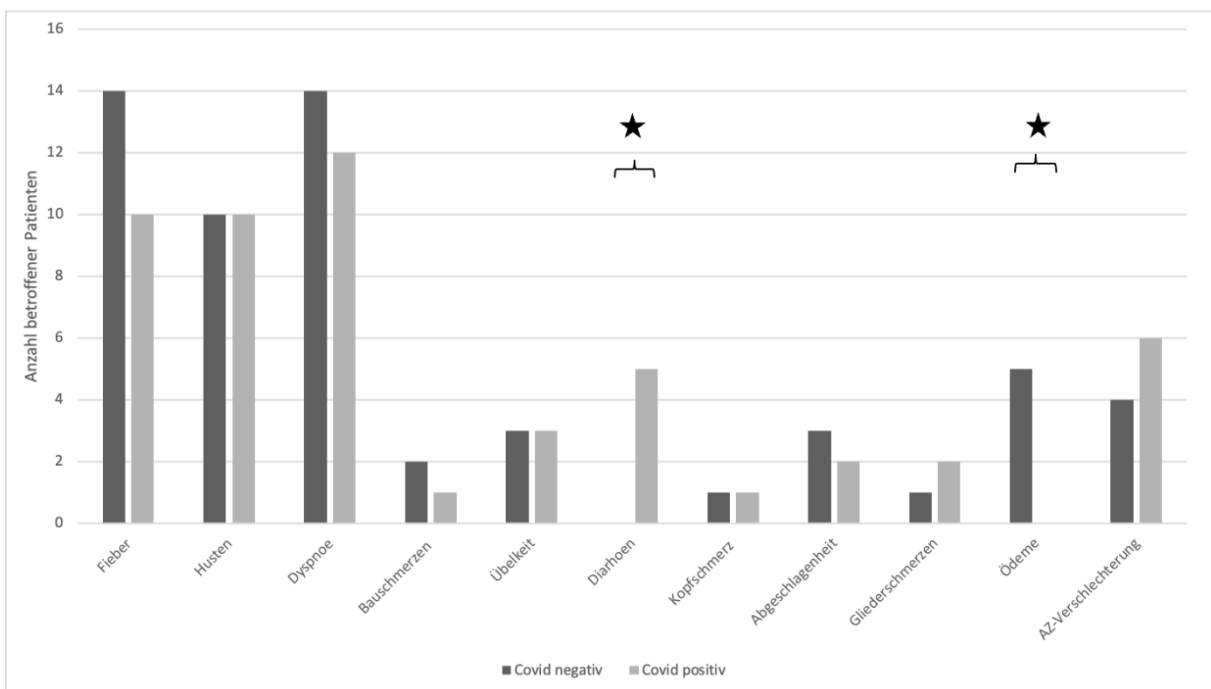
Bezüglich der Vitalparameter bei Aufnahme unterschieden sich COVID-19 positive und negative Patienten nicht signifikant. Ebenso war diesbezüglich kein Unterschied zwischen intensivmedizinisch und normalstationär behandelten COVID-19 Patienten nachweisbar.

### 6.1.2 Vorerkrankungen und Symptome

Eine Chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD) fand sich bei der COVID-19 negativen Kohorte signifikant häufiger als in der positiven Kohorte (4 Patienten mit COPD vs. 0 Patienten; p=0,049). Alle anderen Vorerkrankungen unterschieden sich nicht signifikant voneinander. An Vorerkrankungen waren vor allem Adipositas, Arterielle Hypertonie und chronisch kardiale Vorerkrankungen wie ein Vorhofflimmern oder eine Koronare Herzerkrankung häufig.

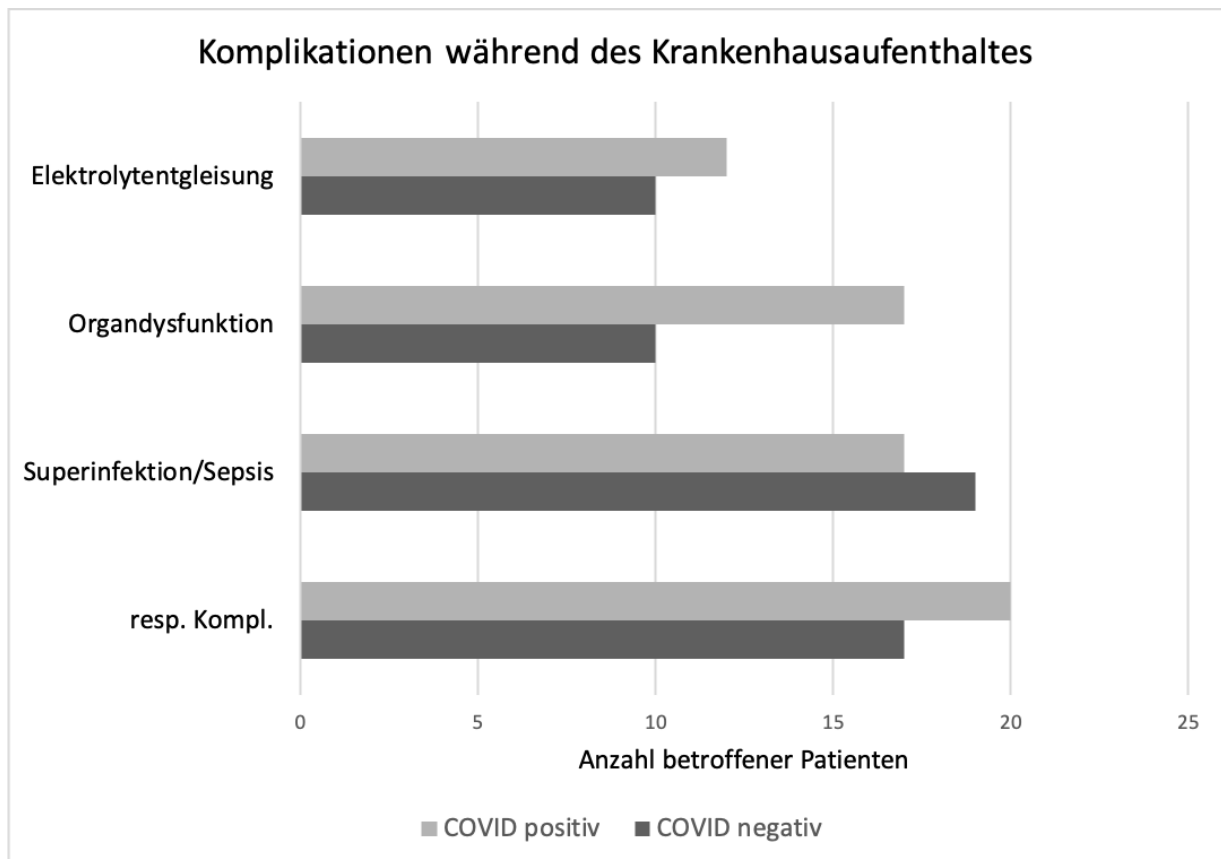


**Abbildung 2: Vergleich der Vorerkrankungen der COVID-19 positiven und negativen Gruppe**



**Abbildung 3: Symptome zum Zeitpunkt der Aufnahme, Vergleich zwischen Covid positiven und negativen Patienten**

Diarrhoen konnten bei keinem der COVID-19 negativen Patienten nachgewiesen werden, jedoch in der COVID-19 Gruppe bei 5 Patienten ( $p=0,048$ ). Ödeme zeigte dagegen keiner der COVID-19 Patienten, dafür fand man bei 5 Patienten der Vergleichskohorte Ödeme der Beine ( $p=0,048$ ). Alle anderen Symptome unterschieden sich nicht signifikant zwischen den Gruppen.



**Abbildung 4: Komplikationen der Gruppen während des Krankenhausaufenthalts**

*Resp. Kompl.= respiratorisch-pulmonale Komplikationen wie ARDS, Pleuraerguss, respiratorische Insuffizienz, hypertensives Lungenödem.*

Während dem stationären Aufenthalt konnten keine Unterschiede der Komplikationen zwischen der COVID-19 und Kontrollgruppe aufgezeigt werden (Abbildung 4). Allerdings waren COVID-19 Patienten signifikant häufiger katecholaminpflichtig (14 Patienten vs. 5 Patienten;  $p=0,016$ ) und mussten während der Beatmung öfter auf dem Bauch gelagert werden (11 Patienten vs. 1 Patient;  $p < 0,001$ ).

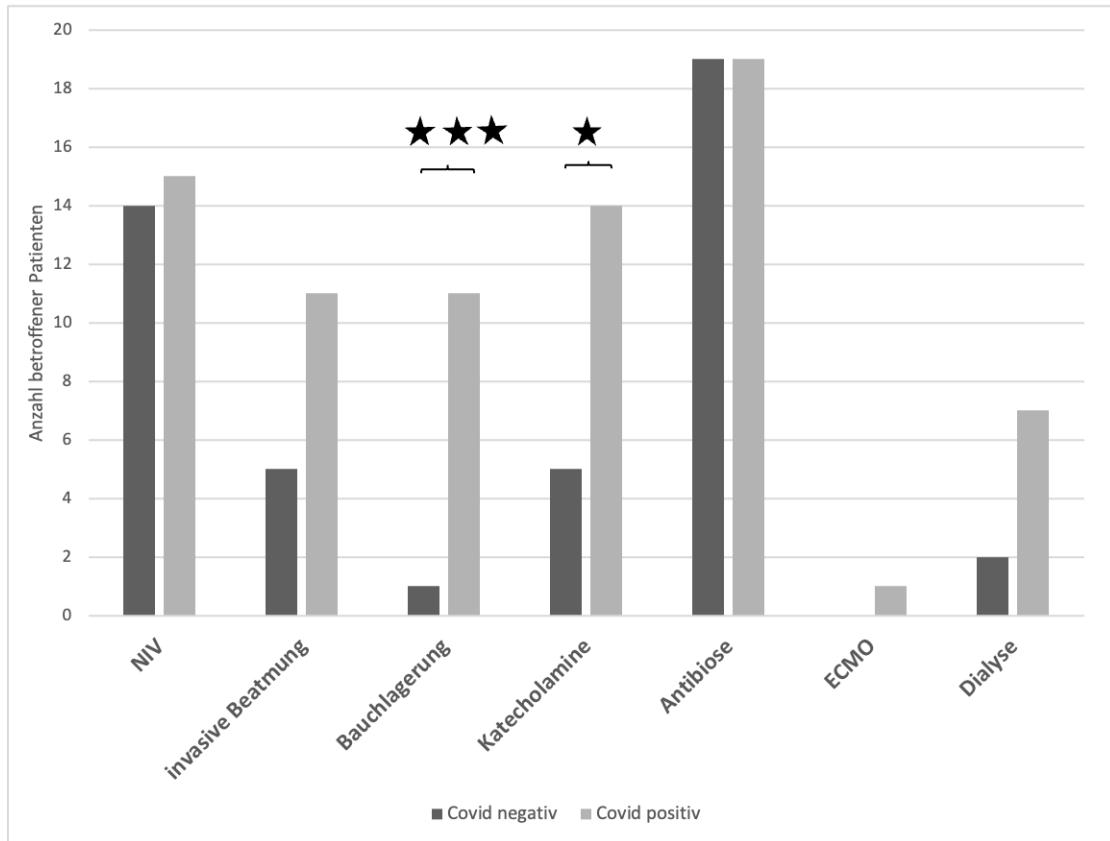


Abbildung 5: Behandlungsstrategien der COVID-19 positiven und negativen Gruppe

## 6.2 Zytokinspiegel bei Aufnahme

### 6.2.1 Vergleich der COVID-19 positiven und negativen Patienten

Tabelle 7: Zytokinspiegel bei COVID-19 positiven und negativen Patienten zum Aufnahmezeitpunkt

Angabe als Median und Interquartilsabstand (IQR)

Zytokin	COVID-19 negativ	COVID-19 positiv	P-Wert
IL-1 $\beta$	5,00 (5,00-7,55)	5,00 (5,00-6,10)	0,579
IL-2R	975,00 (794,25-1416,50)	1394,00 (878,00-2375,00)	0,131
IL-6	41,50 (12,75-149,50)	76,00 (28,5-149,75)	0,301
IL-8	23,50 (11,00-53,50)	21 (14,00-57,00)	0,650
IL-10	5,00 (5,00-10,80)	5,00 (5,00-7,90)	0,538
TNF- $\alpha$	14,75 (9,08-22,15)	13,30 (9,30-27,90)	0,865

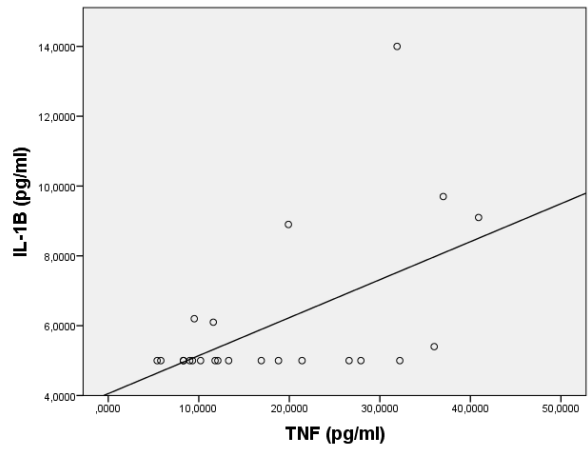
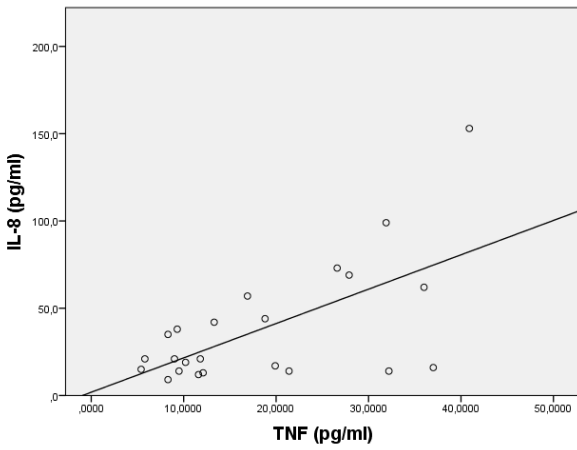
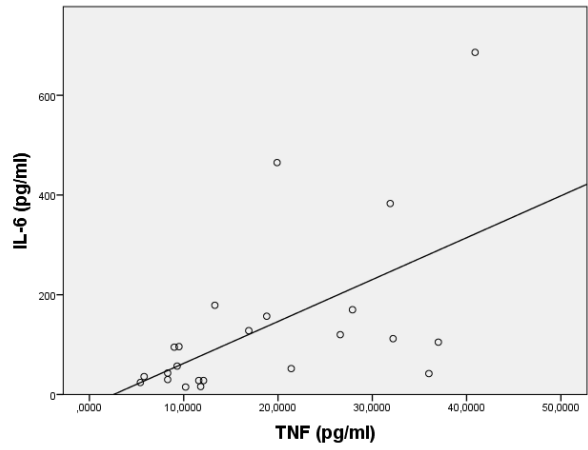
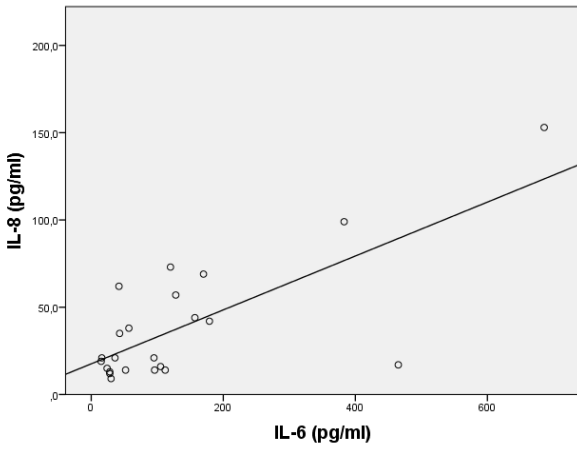
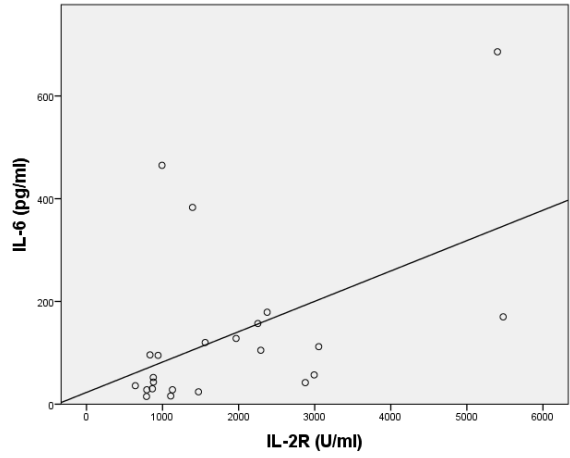
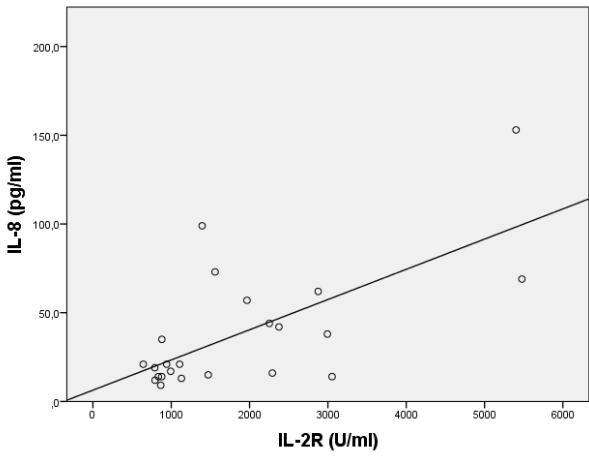
Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der Zytokinspiegel zwischen COVID-19 positiven und negativen Patienten zum Aufnahmezeitpunkt.

## 6.2.2 Korrelationen der Zytokine bei COVID-19 Patienten bei Aufnahme

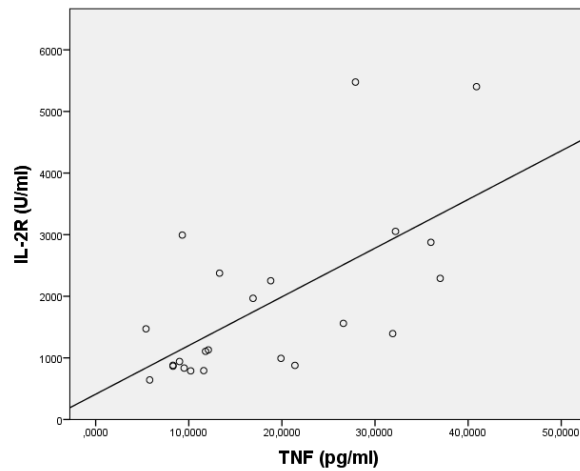
**Tabelle 8: Korrelationskoeffizienten und entsprechende P-Werte der einzelnen Zytokine bei COVID-19 Erkrankten zum Aufnahmezeitpunkt**

	Korrelationskoeffizient	P-Wert
IL-8/IL-6	0,576	0,004
IL-8/IL2R	0,550	0,006
IL-8/IL-1 $\beta$	0,103	0,639
IL-8/TNF	0,421	0,045
IL-8/IL-10	-0,156	0,476
IL-6/IL-2R	0,558	0,006
IL-6/IL-1 $\beta$	0,382	0,072
IL-6/TNF	0,607	0,002
IL-6/IL-10	0,104	0,637
IL-1 $\beta$ /TNF	0,490	0,018
IL-1 $\beta$ /IL-10	0,379	0,074
IL-1 $\beta$ /IL-2R	0,058	0,792
TNF/IL-10	0,244	0,262
TNF/IL-2R	0,635	0,001

Eine signifikant positive Korrelation war für IL-8 zu IL-6 ( $r=0,576$ ;  $p=0,004$ ), IL-2R ( $r=0,550$ ;  $p=0,006$ ) und TNF- $\alpha$  ( $r=0,421$ ;  $p=0,045$ ) nachweisbar. Außerdem zeigte sich eine positive Korrelation für TNF- $\alpha$  zu IL-2R ( $r=0,635$ ;  $p=0,001$ ), sowie zu IL-1 $\beta$  ( $r=0,490$ ;  $p=0,018$ ) und IL-6 ( $r=0,607$ ;  $p=0,002$ ). IL-6 korrelierte weiterhin signifikant mit IL-2R ( $r=0,588$ ;  $p=0,006$ ).







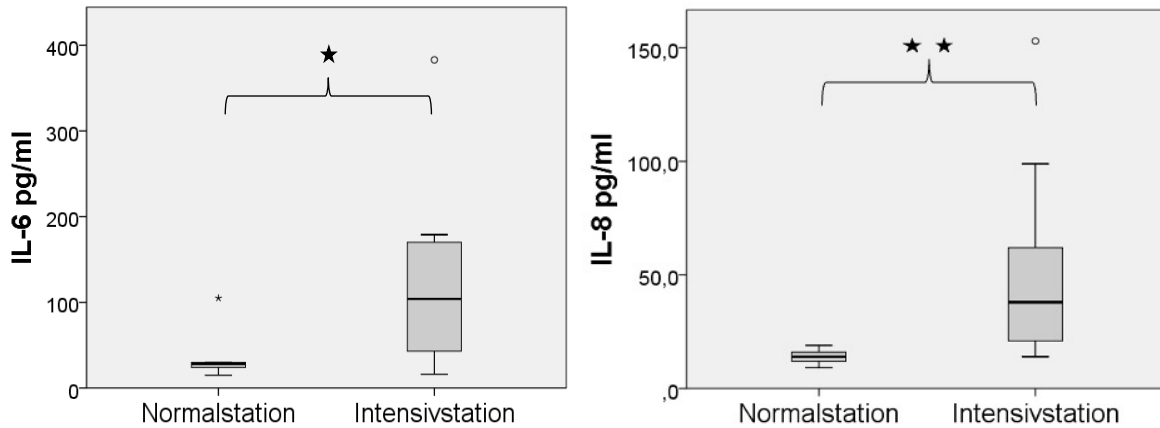
**Abbildung 6: Korrelationen der einzelnen Zytokine, Darstellung der in Tabelle 7 aufgeführten signifikanten Ergebnisse**

Darstellung: ° jeweiliges Wertepaar der beiden angegebenen Zytokine

### 6.2.3 Gruppenvergleich zwischen Normalstation und Intensivstation

**Tabelle 9: Vergleich der Zytokinspiegel zwischen intensivmedizinisch und normalstationär behandelten COVID-19 Patienten zum Aufnahmezeitpunkt**

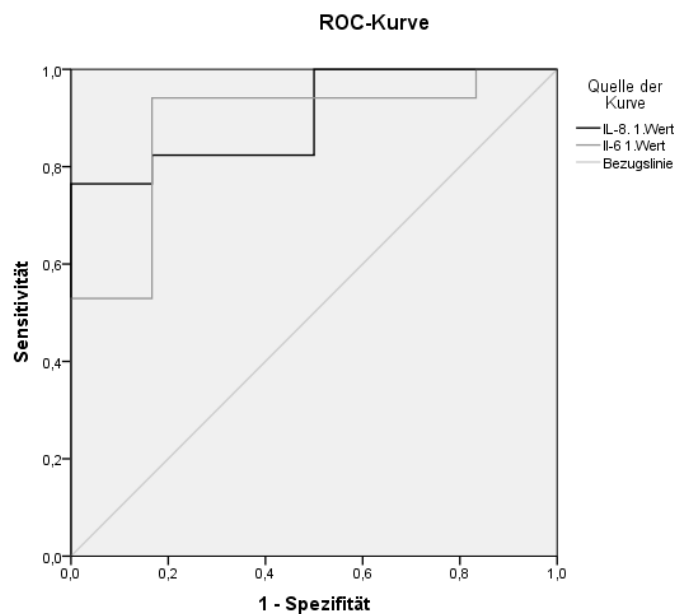
Zytokin	COVID-19 Intensivstation	COVID-19 Normalstation	P-Wert
IL-1 $\beta$	5,00 (5,00-5,80)	5,00 (5,00-7,00)	0.864
IL-2R	1560,00 (910,50-2934,50)	998,00 (792,00-1676,75)	0.141
IL-6	104,00 (42,75-172,25)	28,00 (21,75-48,75)	0.014
IL-8	38,00 (19,00-65,50)	14,00 (11,28-16,75)	0.004
IL-10	5,00 (5,00-8,05)	5,35 (5,00-8,63)	0.781
TNF	18,79 (9,40-29,90)	10,90 (7,58-18,33)	0.220



**Abbildung 7: Vergleich der signifikanten Zytokinspiegel zwischen intensivmedizinisch und normalstationär behandelten COVID-19 Patienten zum Aufnahmezeitpunkt**

Darstellung als Box Plots mit Median und IQR, \*/\*° = Werte außerhalb des IQR

IL-6 war zum Aufnahmezeitpunkt signifikant höher bei Patienten, die eine intensivmedizinische Behandlung benötigten (28,00 vs. 104,00;  $p=0,014$ ). Für IL-6 zeigt sich bei einem Cut-off Wert von  $>33,0$  pg/ml für einen intensivpflichtigen Verlauf mit einer Sensitivität von 88,9% und Spezifität von 83,3% (Abbildung 8). Höhere Zytokinspiegel bei Intensivpatienten fanden sich auch für IL-8 (14,00 vs 38,00;  $P=0,004$ ). Hier zeigt sich bei einem Cut-off Wert von  $>16,5$  pg/ml eine Sensitivität von 82,4% und Spezifität von 83,3% für einen intensivpflichtigen Verlauf (Abbildung 8).



**Abbildung 8: Receiver operating characteristic (ROC) Kurve für einen Intensivpflichtigen Verlauf von IL-8 und IL-6**

**Tabelle 10: AUC, P-Wert und Cut-off für IL-6 und IL-8 mit zugehöriger Sensitivität und Spezifität**

Zytokin	AUC	P-Wert	Cut-off	Sensitivität	Spezifität
IL-6	0,843 (0,666-1,0)	0,14	33 pg/ml	88,9%	83,3%
IL-8	0,902 (0,775-1,0)	0,004	16,5 pg/ml	82,4%	83,3%

## 6.2.4 Gruppenvergleich zwischen verstorbenen und überlebenden COVID Patienten

**Tabelle 11: Zytokinspiegel bei verstorbenen und überlebenden Patienten zum Aufnahmezeitpunkt**

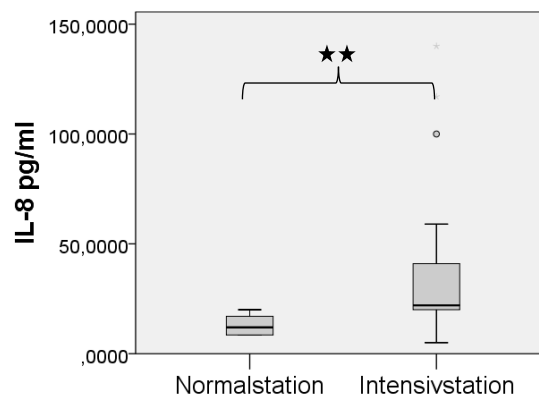
Zytokin	COVID-19 Überlebende	COVID-19 Verstorbene	P-Wert
IL-1 $\beta$	5,00 (5,00-5,75)	5,00 (5,00-10,16)	0,437
IL-2R	1130,00 (872,00-2333,00)	1349,0 (905,25-3008,00)	0,881
IL-6	52,00 (47,50-129,25)	120,00(51,75-403,50)	0,082
IL-8	21,00 (14,00-53,00)	29,500 (16,25-67,50)	0,654
IL-10	5,00 (5,00-6,60)	6,45 (5,00-22,40)	0,204
TNF	12,10 (9,25-27,25)	18,40 (8,43-31,98)	0,502

Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede von allen analysierten Zytokinen zum Aufnahmezeitpunkt zwischen überlebenden und verstorbenen COVID-19 Patienten.

### 6.3 Zuletzt gemessene Zytokinspiegel (Entlassung/Todeseintritt)

**Tabelle 12: Vergleich der letzten im stationären Rahmen gemessenen Zytokinspiegel von intensivmedizinisch und normalstationär behandelten Patienten**

Zytokin	COVID-19 Intensivstation	COVID-19 Normalstation	P-Wert
IL-1 $\beta$	5,00 (5,00-5,00)	5,00 (4,61-5,89)	1,000
IL-2R	954,00 (814,50-1987,50)	983,00 (785,00-1612,50)	0,906
IL-6	14,00 (8,75-38,50)	7,00 (3,37-12,00)	0,071
IL-8	22,00 (8,76-50,00)	12,00 (8,03-17,75)	0,006
IL-10	5,00 (5,00-5,00)	5,00 (5,00-5,37)	0,244
TNF- $\alpha$	11,00 (8,58-13,80)	11,95 (5,00-15,40)	0,971



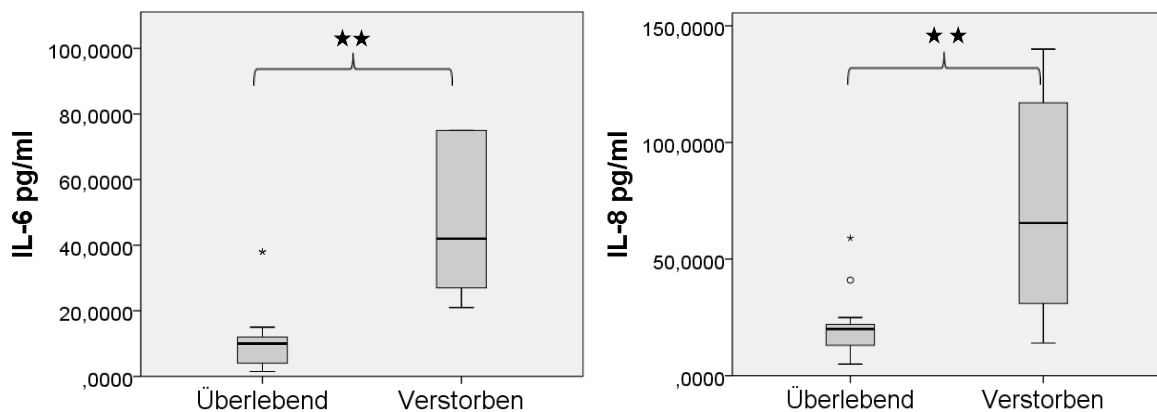
**Abbildung 9: Vergleich von den zuletzt gemessenen IL-8-Spiegeln zwischen Normalstation und Intensivstation**

Darstellung als Box Plots mit Median und IQR, ° = Werte außerhalb des IQR

Intensivpflichtige Patienten zeigten bei den zuletzt gemessenen Zytokinspiegeln signifikant höhere IL-8 Spiegel im Vergleich zu Patienten, die auf Normalstation behandelt wurden (22,00 vs. 12,00, p=0,006). Für alle anderen gemessenen Zytokine lagen keine signifikanten Unterschiede vor.

**Tabelle 13: Vergleich der zuletzt gemessenen Zytokinspiegel von verstorbenen und überlebenden COVID-19 Patienten**

Zytokin	COVID-19 Überlebende	COVID-19 Verstorbene	P-Wert
IL-1 $\beta$	5,00 (5,00-5,00)	5,00 (5,00-6,83)	0,128
IL-2R	955,50 (850,00-2035,25)	1280,00 (746,75-2129,25)	0,845
IL-6	10,00 (4,00-12,25)	42,00 (25,50-180,25)	0,001
IL-8	20,00 (12,00-22,00)	65,50(26,75-122,75)	0,002
IL-10	5,00 (5,00-5,00)	5,00 (5,00-25,75)	0,103
TNF- $\alpha$	10,60 (8,58-13,73)	12,65 (7,90-17,83)	0,814



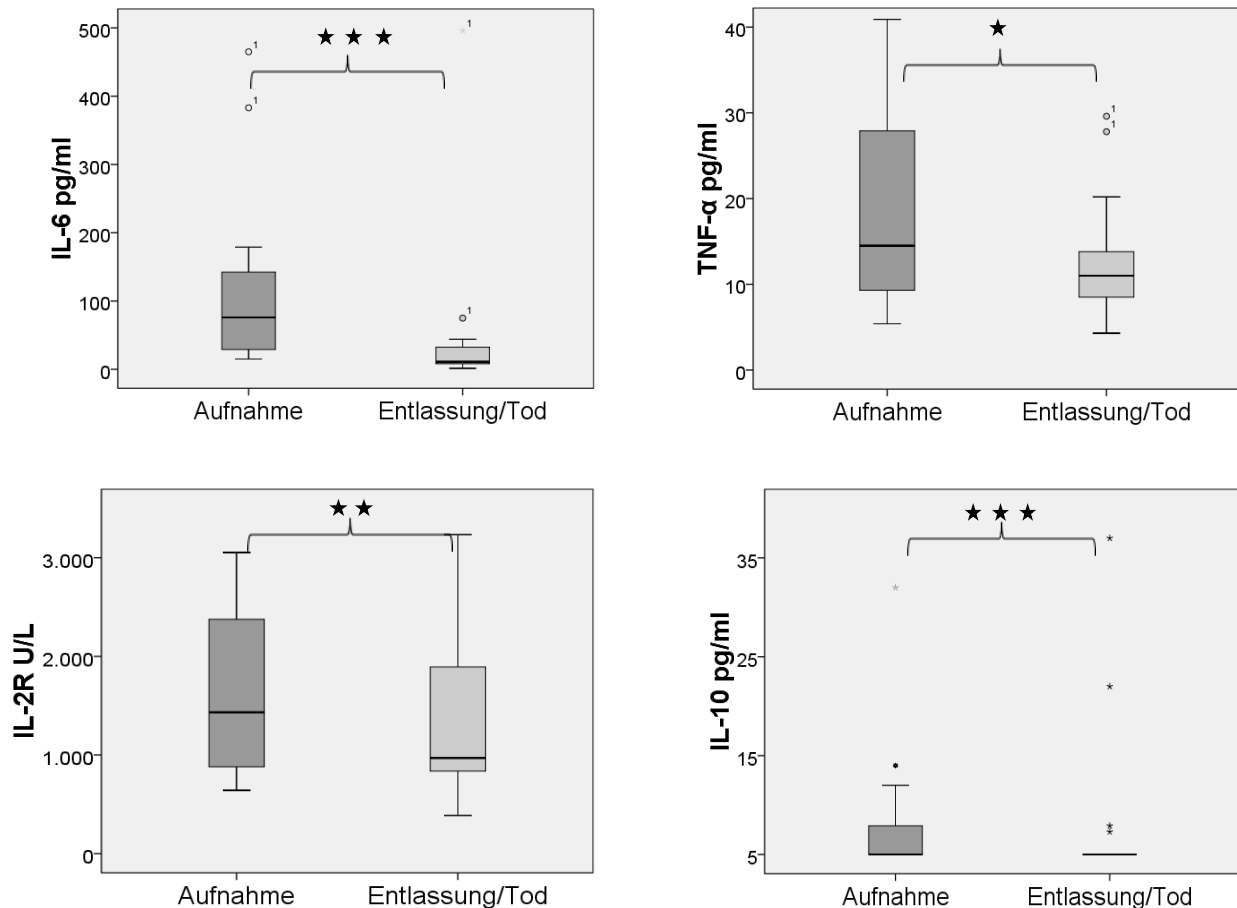
**Abbildung 10: Vergleich der zuletzt gemessenen Zytokinspiegel von COVID-19 Patienten vor Entlassung oder Tod**

Darstellung als Box Plots mit Median und IQR, \*° = Werte außerhalb des IQR

Zwischen Überlebenden und Verstorbenen COVID-19 Patienten zeigten sich signifikant höhere IL-6 und IL-8-Spiegel (10,00 vs. 42,00,  $p=0,001$  und 20,00 vs. 65,50,  $p=0,002$ ) der Verstorbenen in der letzten im stationären Aufenthalt durchgeführten Blutentnahme (Abbildung 10).

## 6.4 Zytokinspiegel im zeitlichen Verlauf

### 6.4.1 Vergleich der Zytokinspiegel zwischen Aufnahme und Entlassung bei allen COVID-19 Patienten

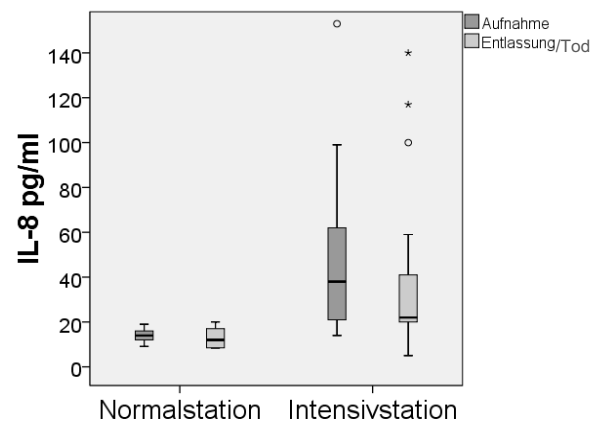
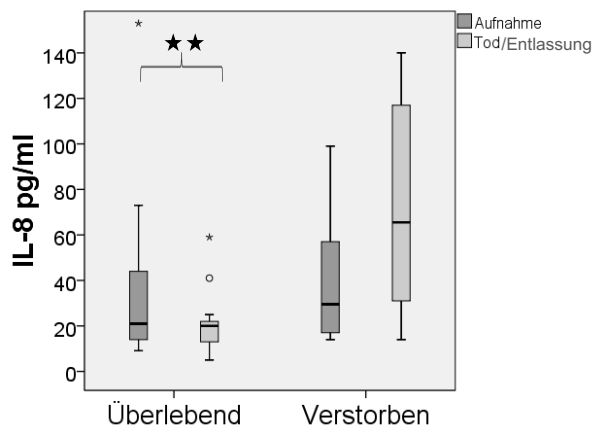
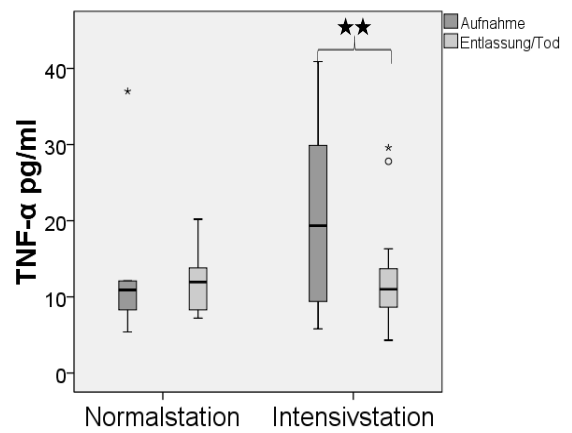
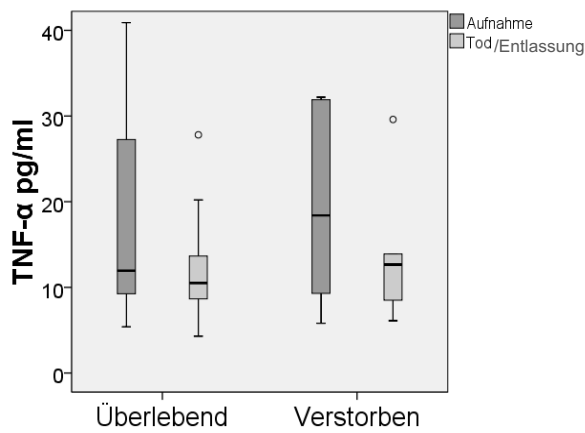
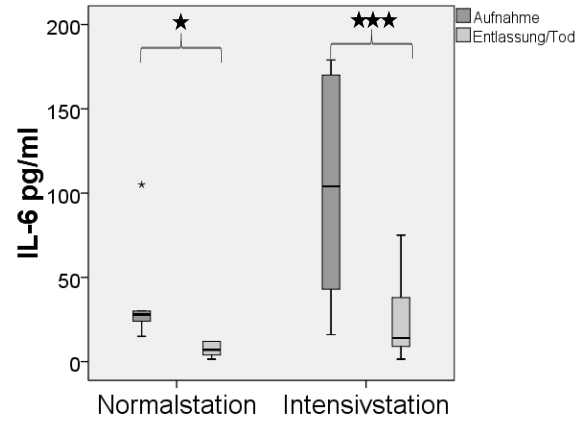
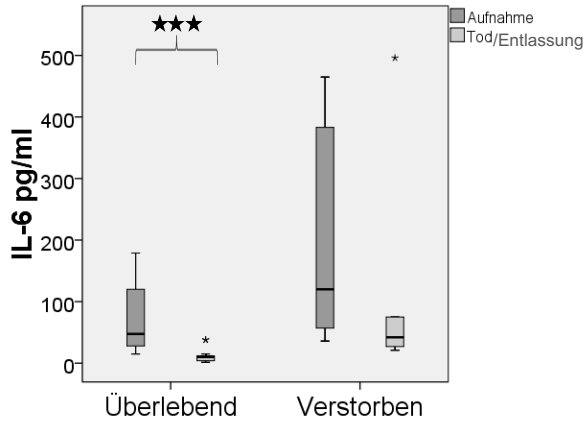


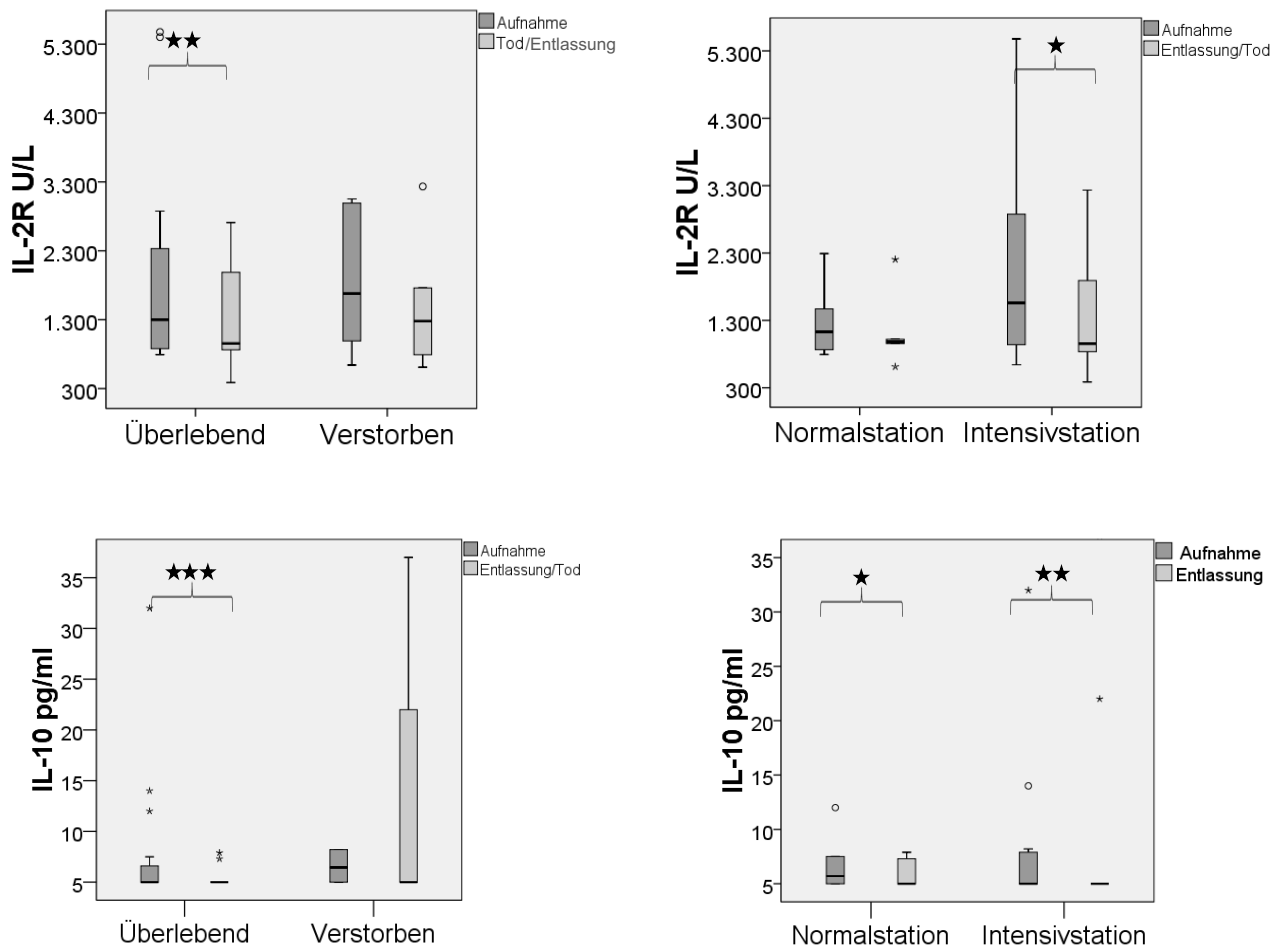
**Abbildung 11: Vergleich der Zytokinspiegel zwischen Aufnahme und Entlassung oder Todeseintritt bei allen COVID-19 positiven Patienten**

Darstellung als Box Plots mit Median und IQR, \*° = Werte außerhalb des IQR

Signifikant erniedrigte Zytokinspiegel zwischen dem ersten und zuletzt gemessenen Zytokinwert fand sich bei Betrachtung aller COVID-19 Patienten für IL-10 und IL-2R (Mdn 1394,00 vs. 970,00;  $p=0,01$ ). Der Median von IL-6 fiel zwischen Aufnahme und dem zuletzt gemessenen Wert von 76,00 auf 11,00 signifikant ab ( $p<0,001$ ). Auch TNF- $\alpha$  wies eine signifikante Erniedrigung von 13,30 auf 11,00 auf ( $p=0,013$ ).

## 6.4.2 Gruppenunterschiede der Zytokinspiegel zwischen Aufnahme und Entlassung/Todeseintritt bei COVID-19 Erkrankten





**Abbildung 12: Vergleich der Zytokinspiegel zwischen dem Aufnahme- und Entlassungs-/Todeszeitpunkt jeweils für Normal- und Intensivstation, sowie zwischen verstorbenen und überlebenden Patienten.**

Darstellung als Box Plots mit Median und IQR, \*° = Werte außerhalb des IQR, Werte siehe Tab. 14 Anhang

Bei IL-6 zeigten sich bei Überlebenden COVID-19 Patienten signifikant niedrigere Werte bei Entlassung (Mdn=10,00) im Vergleich zur Aufnahme (Mdn=47,5;  $p < 0,001$ ). Außerdem war eine signifikante Erniedrigung von IL-6 zwischen Aufnahme und Entlassung/Todeseintritt sowohl bei Patienten auf Intensivstation, als auch bei normalstationär behandelten Patienten sichtbar. Dabei sank IL-6 bei intensivpflichtigen Patienten von im Median 104,00 auf 14,00 pg/ml (IQR  $p = 0,001$ ) und bei normalstationär behandelten Patienten von 28,00 auf 7,00 pg/ml ( $p = 0,028$ ). Für IL-8 zeigte sich lediglich in der Gruppe der Überlebenden Patienten eine signifikante Erniedrigung des IL-8-Spiegels von 21,00 auf 12,00 pg/ml ( $p = 0,014$ ). Bei intensivpflichtigen Patienten war der Median von TNF- $\alpha$  und IL-2R der zuletzt gemessenen Werte signifikant niedriger im Vergleich zum Median der Aufnahmewerte



(18,80 auf 11,00  $p=0,007$  und 1560 auf 954,00  $p=0,025$ ). Auch bei überlebenden Patienten zeigte sich IL-2R bei der Entlassung signifikant reduziert (1301,00 957,00;  $p=0,001$ ). Für IL-10 waren sowohl bei der intensivpflichtig und normalstationär Behandelten, als auch bei Überlebenden, signifikant geringere IL-10 Spiegel nachweisbar. Für IL-1 $\beta$  zeigten sich bei keiner der Patientengruppen signifikante Änderungen zwischen dem Aufnahme- und dem zuletzt gemessenen Wert.

## **7 Diskussion**

### **7.1 Diskussion der Methode**

#### **7.1.1 Limitationen der Studie**

Da der Landkreis Marburg-Biedenkopf während der „ersten Welle“ von COVID-19 nur geringe Inzidenzen aufwies ist eine wichtige Limitation dieser Studie die geringe Stichprobengröße von 46 Patienten. Weiterhin zeigten sich mehr männliche Patienten in der COVID-19 positiven Gruppe als in der Vergleichsgruppe. Außerdem war der Anteil an intensivpflichtigen Patienten im Vergleich zu normalstationär Behandelten innerhalb der COVID-19-Kohorte höher, da die Uniklinik Marburg als Maximalversorger der Region fungiert und somit besonders Schwerekrankte vorselektiert sind. Dadurch, dass Zytokine auto- und parakrine Effekte zeigen und sie in sehr niedrigen Konzentrationen bereits ihre Wirkung entfalten, sind durch die rein periphere Blutentnahme der Bestimmung von lokalen Regulationsmustern Grenzen gesetzt. Im Blut findet zudem eine Verdünnung statt, sodass noch sensitivere Methoden mit niedrigerer Nachweisgrenze für bestimmte Zytokine nötig wären. Die methodenabhängige Nachweisgrenze schränkte vor allem die Analyse von Unterschieden für IL-1 $\beta$  und IL-10 ein. Da es sich um eine statistisch explorative Arbeit handelte, dient diese Studie der Hypothesengewinnung und sollte in prospektiven, multizentrischen Studien mit größeren Patientenkohorten überprüft und validiert werden.

### **7.1.2 Stärken der Studie**

Die vorliegende Arbeit bietet einen Überblick über die Zytokinspiegel von an SARS-CoV-2 Erkrankten, die im Universitätsklinikum Marburg während der ersten Welle der Pandemie behandelt wurden. Sie soll im Rahmen der Studie „Biomarker der COVID-19 Erkrankung“ als Orientierung dienen, welche Zytokine die Diagnostik und Risikostratifizierung einer COVID-19 Erkrankung unterstützen können und weiter ausgebaut werden sollten. Diese Pilotstudie soll die inflammatorische Reaktion auf Ebene der Zytokine bei an SARS-CoV-2 Erkrankten besser charakterisieren. Die in dieser Arbeit bestimmten Zytokine sind leicht und schnell bei Patienten im Rahmen einer routinemäßigen Blutentnahme bestimmbar und stellen keine zusätzliche Belastung und Aufwand für die Patienten, sowie Ärzte und Ärztinnen dar. Es war keine zusätzliche invasive Blutentnahme nötig. Außerdem erfolgte die Bestimmung der Zytokine standardisiert durch das Zentrallabor der Uniklinik Marburg, wodurch die Messungen einheitlich erfolgten. Weiterhin sind die analysierten Zytokine in einem ähnlich schnellen Zeitraum wie andere standardmäßig bestimmte Laborparameter verfügbar. Durch die in dieser Studie verwendeten kommerziellen diagnostischen Assays des Immulite 1000 bzw. Cobas e 411, welche weit verbreitet sind, kann diese Methode in den meisten Laboren eingesetzt werden. Weiterhin bietet diese Studie als eine der wenigen Studien einen direkten Vergleich zu COVID-19 negativen Patienten, die am selben Standort und im selben Zeitraum mit einer ähnlichen Symptomatik erkrankten. Zudem wird durch Verlaufsuntersuchungen gezeigt, wie sich das Zytokinprofil von COVID-19 Patienten verändert. Die ermittelten Cut-off Werte können dazu dienen Ärzte in ihrem klinischen Alltag bei der Einschätzung eines potentiell intensivpflichtigen Verlaufes zu unterstützen und ermöglichen eine Risikostratifizierung.

## **7.2 Diskussion der Ergebnisse**

### **7.2.1 Diskussion der demographischen Daten der COVID-19 Patienten**

Schilling et al., welche aufgrund von Meldedaten an das Robert-Koch-Institut und an das ICD-10-code-basierte Krankenhaus Surveillance schwerer akuter respiratorischer Infektionen die verschiedenen COVID-19-Wellen in Deutschland deskriptiv

analysierten, gaben ein Alter von 60 bis 79 Jahren für die Mehrzahl der hospitalisierten Fälle während der ersten Corona-Welle an. Dies deckt sich mit der Altersverteilung unserer Studienteilnehmer. Laut dieser Studie verstarben von den stationär aufgenommenen Patienten 21%, ebenfalls ähnlich zur vorliegenden Studie. Somit spiegelt die vorliegende Arbeit trotz des niedrigen Patientenkollektivs ein gutes Abbild der in Deutschland während der ersten COVID-19 Welle hospitalisierten Patienten wider. Unterschiede gibt es allerdings in der Anzahl der intensivpflichtigen und beatmeten Patienten. Das dieser Anteil in unserer Studie deutlich höher war, ist dem niedrigen Anteil der in Marburg normalstationär behandelten Patienten geschuldet und könnte an dem Klinikum Marburg, welches Universitätsklinikum und Maximalversorger der Region ist, liegen. So wurden auch COVID-19 Patienten der umliegenden Krankenhäuser aufgenommen, welche aufgrund der Schwere der Symptomatik eine umfangreiche Maximalversorgung benötigten. Zudem verfügt das Klinikum über die größte intensivmedizinische Kapazität der Region. Das männliche Geschlecht zeigte sich in anderen Studien als Risikofaktor sowohl für einen schweren, als auch letalen Verlauf einer COVID-19 Infektion und kann so die höhere Anzahl an männlichen, intensivmedizinisch behandelten Patienten in unserer Studie erklären (Gupta et al., 2020; Takahashi et al., 2020).

### **7.2.2 Vergleiche der COVID-19 positiven und negativen Kohorte**

In der vorliegenden Arbeit wurden die Zytokinspiegel zum Zeitpunkt der Krankenhausaufnahme von 24 mit SARS-CoV-2 infizierten Patienten analysiert und mit 22 Patienten, die im selben Zeitraum mit dem Verdacht einer COVID-19 Infektion aufgenommen wurden, es sich jedoch andere Ursachen für die ähnliche Symptomatik im Krankheitsverlauf herausstellten, verglichen. Diverse Studien zeigten bereits zu Beginn der Pandemie höhere Zytokinspiegel für IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , löslicher IL-2-Rezeptor, IL-6, IL-8 und IL-10 bei COVID-19 Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen (Han et al., 2020; Huang et al., 2020). Wenige Studien existierten bezüglich Unterschiede der klinisch-biochemischen Parameter der COVID-19 Gruppe zu einer mit ähnlicher Symptomatik vorliegenden Kontrollgruppe. Ergebnisse von Kessel et al., 2021 deuten auf eine starke Dysregulation und höhere Zytokinkonzentrationen der IL-18-IFN $\gamma$ -Achse bei Patienten mit sekundärer HLH oder Makrophagenaktivierungssyndrom (MAS) im Unterschied zu COVID-19 Patienten hin. Außerdem waren in dieser Studie

die Zytokine ICAM-1, IL-8 und IL-1Ra bei Patienten mit schwerem COVID-19 Verlauf signifikant erhöht, nicht jedoch bei Patienten mit MAS oder sHLH. In der vorliegenden Studie zeigte sich für keines der gemessenen Zytokine signifikante Unterschiede zwischen COVID-19 positiver und negativer Gruppe. Die analysierten Zytokine eignen sich somit nicht für die Unterstützung der Diagnose einer COVID-19 Erkrankung. Dies könnte damit in Verbindung stehen, dass die COVID-19 negative Gruppe ebenfalls andere Krankheiten mit Triggern einer Entzündungsreaktion wie beispielsweise bakterielle oder virale Pneumonien aufwies. Eine COPD fand sich bei der COVID-19 negativen Kohorte signifikant häufiger als bei der COVID-19 positiven Kohorte, wodurch die Exazerbation einer COPD auch als mögliche Differentialdiagnose und Ursache der Symptome für einen Teil der Patienten bedacht werden muss. Dass sich die Patientenkohorten bei Aufnahme lediglich in den Symptomen Ödeme und Diarrhoen unterschieden, könnte am Studiendesign liegen, da die pulmonale Symptomatik und somit der Verdacht auf eine COVID-19 Infektion bei Studien- und Kontrollgruppe vorherrschend erschien. Vermehrte Ödeme bei COVID-19 negativen Patienten könnten auf eine kardiale Genese der respiratorischen Symptomatik im Rahmen einer dekompensierten Herzinsuffizienz hinweisen. Die Aufenthaltsdauer sowie Beatmungsdauer bei COVID-19 Patienten war deutlich länger als bei intensivmedizinisch betreuten COVID-19 negativen Patienten. Eine längere Beatmungsdauer für Patienten mit ARDS aufgrund der COVID-19 Erkrankung im Vergleich zu Patienten mit ARDS anderer Ursache bestätigt auch Bain et al., 2021. Das in unserer Studie COVID-19 Patienten häufiger katecholaminpflichtig und eine Bauchlagerung zur besseren Oxygenierung öfters notwendig war, weist zusätzlich auf die Schwere der Erkrankung hin. Die folgende Diskussion soll daher die Rolle von Zytokinen im Zusammenhang mit der Prognose und dem Verlauf von COVID-19 Patienten genauer erläutern, um weitere Erkenntnisse über die Zytokine, die an der COVID-19 Pathogenese beteiligt sind, zu gewinnen und Patienten mit dem Risiko für einen schweren Verlauf zu identifizieren.

## 7.2.3 Interpretation der einzelnen Zytokine und aktueller Stand der Forschung

### 7.2.3.1 Interleukin-6

IL-6 wird als Reaktion auf Entzündungen produziert und ist an der Akuten-Phase-Reaktion beteiligt (Gauldie et al., 1987). Dass bereits zum Zeitpunkt der Aufnahme bei intensivpflichtigen COVID-19 Patienten die Spiegel von IL-6 höher erschienen, als bei Patienten die lediglich normalstationär behandelt wurden, spricht für eine stärkere Immunreaktion und könnte so auch die Schwere der Symptomatik, also die Notwendigkeit von einer intensivmedizinischen Behandlung, erklären. Dies bestätigen Studien von Huang et al., 2020 und Diao et al., 2020, welche ebenfalls erhöhte IL-6 Spiegel bei intensivmedizinisch behandelten Patienten nachweisen konnten. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wird bei einem Cut-off Wert von 33,0 pg/ml zum Aufnahmezeitpunkt eine gute Sensitivität und Spezifität für einen intensivpflichtigen Verlauf bestimmt. Ähnliche Ergebnisse erzielten Herold et al., welche einen Cut-off Wert von 35 pg/ml bei Krankenhausaufnahme für einen beatmungspflichtigen (und somit intensivpflichtigen) Verlauf bei COVID-19 Patienten angeben. Die vorliegende Studie hebt sich allerdings mit höherer Sensitivität und Spezifität hervor. Auch die Metaanalyse von Khodeir et al., 2021 ergab einen ähnlichen Bereich (29,6 pg/ml) für einen schwergradigen Verlauf einer COVID-19 Infektion.

Auch in neueren Studien wird IL-6 als einer der zentralen Mediatoren der Toxizität bei Zytokinsturmsyndromen gesehen. Eine Erklärung könnte sein, dass bei hohen IL-6 Konzentrationen der proinflammatorische Transsignalweg aktiviert wird, der viele Zellen stimuliert und es so folglich zu einer systemischen Hyperinflammation kommen kann (Fajgenbaum & June, 2020; Kang et al., 2019). Mittlerweile ist bekannt, dass SARS-CoV-2 das NLRP3-Inflammasom aktiviert und so zur Sekretion von IL-1 $\beta$ , IL-6 und TNF- $\alpha$  führt, welche wiederum eine Entzündungskaskade in Alveolarmakrophagen und Lungengewebe induzieren (Ramasamy & Subbian, 2021; Rodrigues et al., 2020; Shah, 2020). Dies wäre ein möglicher Erklärungsansatz für die in dieser Arbeit vorliegenden Ergebnisse, die eine signifikante Korrelation zwischen IL-1 $\beta$  und TNF- $\alpha$ , IL-6 und TNF- $\alpha$  darstellen, sowie eine Tendenz zwischen IL-6 und IL-1 $\beta$  aufzeigen.

Überlebende COVID-19 Patienten hatten in der vorliegenden Studie bei Entlassung niedrigere IL-6 Werte als verstorbene Patienten vor dem Todeszeitpunkt. Diese

Ergebnisse zeigten sich ebenfalls bei C. Wu et al., 2020. Dies unterstützt zusätzlich die These, dass IL-6 entscheidend am Entzündungsgeschehen beteiligt ist und wesentlich zum Zytokinsturm und der Schwere der Erkrankung beiträgt. Zusätzlich fand sich in der vorliegenden Studie bei überlebenden Patienten bei Entlassung IL-6 im Vergleich zur Aufnahme signifikant erniedrigt, was bei verstorbenen Patienten nicht nachweisbar war. Auch Del Valle et al. bestätigte, dass IL-6 als prognostischer Biomarker sowohl für das Überleben als auch die Krankheitsschwere von COVID-19 Patienten, unabhängig von demographischen Daten und Vorerkrankungen der Patienten, geeignet sein kann. In unserer Studie, welche eine deutlich geringere Patientenzahl umfasste, zeigte sich für den Aufnahmewert bei verstorbenen Patienten zwar keine Signifikanz, jedoch eine Tendenz, dass diese Patientengruppe höhere Werte aufwies als überlebende Patienten. In nachfolgenden Studien sollte dieser Aspekt nochmals überprüft werden.

Die zuvor beschriebenen Erkenntnisse unterstützen einen Therapieansatz mittels des Interleukin-6-Antikörpers Tocilizumab bei COVID-19. Dieser wird derzeit zur Behandlung bei ausgeprägtem Progress der COVID-19-Pneumonie in der S3-Leitlinie als Therapieoption empfohlen. Die Recovery Studie belegte eine Reduktion der 28-Tage Mortalität in Kombination mit Steroiden (Abani et al., 2021). In der EMPACTA Studie zeigte sich zwar keine Reduktion der 28-Tage Mortalität, allerdings reduzierte Tocilizumab die Wahrscheinlichkeit des Fortschreitens der Erkrankung bis hin zur mechanischen Beatmung (Salama et al., 2021).

Zusammenfassend lässt sich daraus schließen, dass erhöhte IL-6 Spiegel mit einem schweren COVID-19 Verlauf assoziiert sind und die Bestimmung von IL-6 zur Risikostratifizierung bereits bei Aufnahme in Erwägung gezogen werden sollte. Der hier ermittelte Cut-off Wert bietet eine Orientierung, welche Patienten gefährdet sind einen schweren Verlauf mit intensivmedizinischer Therapie zu entwickeln und daher eine engmaschige Überwachung des Krankheitszustandes und ggf. eine frühzeitige Therapieeinleitung benötigen.

### 7.2.3.2 IL-8

IL-8 war bei Aufnahme, ebenso wie IL-6, bei Patienten erhöht, die einen intensivpflichtigen Verlauf erlitten. Weiterhin zeigte sich dies auch bei Betrachtung der zuletzt während des stationären Aufenthaltes gemessenen Werte für IL-8 sowie eine Tendenz bei IL-6. Bei verstorbenen Patienten waren zum Todeszeitpunkt nicht nur die IL-6 sondern auch die IL-8 Spiegel im Vergleich zu Überlebenden Patienten deutlich erhöht. Eine Erklärung dafür wäre, dass IL-6 unter anderem die Freisetzung von IL-8 bewirkt (Romano et al., 1997). Eine Korrelation von IL-6 und IL-8 bei COVID-19 Patienten konnte Kesmez Can et al., 2021 nachweisen. Diese Zytokinkorrelation war mit einer schlechteren Prognose assoziiert. Auch in der vorliegenden Studie zeigte sich eine Korrelation zwischen IL-6 und IL-8, sowie zwischen IL-8 und TNF- $\alpha$ . Es konnte für IL-8 bei einem Cut-off Wert von 16,5 pg/ml zum Aufnahmezeitpunkt eine gute Sensitivität und Spezifität für einen intensivpflichtigen Verlauf identifiziert werden. Für IL-8 zeigte sich in der Gruppe der überlebenden Patienten eine signifikante Erniedrigung des IL-8-Spiegels zwischen Aufnahme und Entlassung. Bei verstorbenen Patienten war dies nicht nachweisbar, sondern hier fand sich sogar ein Anstieg des Zytokins im Median, allerdings ohne Signifikanz. IL-8 sollte folglich als Biomarker für das Monitoring einer COVID-19 Erkrankung in Betracht gezogen werden. Dieses Ergebnis unterstützt auch die Studie von L. Li et al., 2021, welche IL-8 als Biomarker für die Krankheitsprognose von COVID-19 Patienten identifizierte. In dieser Studie korrelierte IL-8 stärker als IL-6 mit dem aktuellen COVID-19 Krankheitsstatus. Darüber hinaus konnten anhand der Bestimmung von IL-8 im Vergleich zu IL-6 besser nur leicht erkrankte Patienten von gesunden Kontrollen unterschieden werden.

IL-8 rekrutiert neutrophile Granulozyten zu dem Ort der Entzündung. Die Aktivierung von Neutrophilen kann zur übermäßigen Freisetzung von Neutrophil extracellular traps (NET) und zytotoxischen Granula Inhalten führen und so zu Organschäden beitragen. Verschiedene Studien zeigen, dass die Hyperaktivierung von Neutrophilen und die Bildung von NET zum Auftreten von pulmonalen Thrombosen bei COVID-19 und Lungenschäden beiträgt und mit dem Schweregrad der Erkrankung korreliert (Middleton et al., 2020; Nicolai et al., 2020; Skendros et al., 2020; Vanderbeke et al., 2021). Ergebnisse von Kaiser et al., 2021 deuten darauf hin, dass dabei eine sich selbst verstärkende Schleife aus systemischer und intrinsischer neutrophiler IL-8-Dysregulation von Bedeutung ist. Zudem zeigten die Autoren in einem Mausmodell,

dass die Blockierung von IL-8-Signalwegen das Auftreten eines ARDS und pulmonale Mikrothrombosen bei Mäusen reduziert (Kaiser et al., 2021).

### 7.2.3.3 IL-1 $\beta$

Für IL-1 $\beta$  konnte zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede innerhalb der COVID-19 Gruppen festgestellt werden. Dies könnte an dem Messbereich liegen, da Werte unterhalb von 5 pg/ml mit dem Immulite 1000 nicht erfasst werden können. IL-1 $\beta$  befand sich in jeder der Subgruppe zu beiden Messzeitpunkten im Normbereich. Huang et al., 2020 zeigte, dass sich IL-1 $\beta$  zwischen intensivpflichtigen und normalstationär behandelten Patienten nicht signifikant unterschied, es im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden aber signifikant erhöht war. Jedoch befanden sich die in dieser Studie angegebenen Mediane und Interquartilsbereiche sowohl in der intensivpflichtigen, als auch normalstationär behandelten Gruppe immer unterhalb von 5 pg/ml, also unterhalb des in der vorliegenden Arbeit verwendeten Messbereichs und somit noch im Normbereich, der für IL-1 $\beta$  angegeben ist. Sensitivere Messmethoden wären hier nötig, um mögliche Unterschiede festzustellen. Es lässt sich schlussfolgern, dass IL-1 $\beta$  auch bei COVID-19 Patienten im Normbereich liegt und in der vorliegenden Studie nicht massiv erhöht ist.

Der rekombinante IL-1 Rezeptorantagonist Anakinra wurde als mögliche Therapieoption bei Patienten mit schweren COVID-19-Verläufen untersucht. Als Biomarker zur Therapiesteuerung wird hier jedoch nicht IL-1 $\beta$  sondern suPAR (soluble urokinase-type plasminogen activator receptor) verwendet. Dieser kann ein Zeichen für Endothelschädigungen und ein frühes Warnsignal für die Freisetzung von DAMPs (Damage-associated molecular pattern) sein (Rovina et al., 2020). DAMPs lösen die Freisetzung von IL-1 $\beta$  aus und rufen in Kombination mit IL-1 $\alpha$  starke proinflammatorische Reaktionen des angeborenen Immunsystems hervor (Renieris et al., 2022). Bei hohen Konzentrationen von suPAR (>6ng/ml) führt Anakinra bei COVID-19 zu einer deutlichen Verbesserung des klinischen Outcomes sowie einer Reduktion der Intensivpflichtigkeit und der Mortalität (Kyriazopoulou et al., 2021). Hier zeigt sich ein erster Ansatz einer personalisierten, durch einen Biomarker gesteuerten Therapie von COVID-19. Durch diese Erkenntnisse scheint es sinnvoll diesen Parameter weiter zu beobachten, sowie sensitivere Messmethoden für IL-1 $\beta$  zu verwenden um auch dort



mögliche Veränderungen der Zytokinpiegel zu detektieren und gegebenenfalls neue Normwerte in Bezug auf COVID-19 zu definieren.

#### **7.2.3.4 IL-2R**

Eine signifikante Änderung von IL-2R zeigte sich vor allem in dem Vergleich von dem zuerst- und zuletzt gemessenen Zytokinwert. Sowohl bei Betrachtung aller COVID-19 Patienten, als auch in der intensivpflichtigen und überlebenden Kohorte, zeigten sich signifikant niedrigere zuletzt gemessene Werte im Vergleich zu den Aufnahmewerten. Diese Ergebnisse decken sich mit denen von Hou et al., 2020, welche eine signifikante Abnahme des IL-2R-Spiegels bei genesenen Patienten im Vergleich zur Aufnahme feststellten. Huang et al., 2020 beschrieb höhere IL-2 Spiegel bei intensivpflichtigen Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen, sowie zu nicht intensivpflichtigen COVID-19 Patienten. Dies unterstützen diverse Studien, welche hohe IL-2 und IL-2-Rezeptor Spiegel bei kritisch oder schwer Erkrankten und somit intensivpflichtigen Patienten nachwiesen (Gong et al., 2020; Hou et al., 2020; Huang et al., 2020; Qin et al., 2020). In der vorliegenden Studie zeigte sich hierfür lediglich eine Tendenz, jedoch ohne Signifikanz. Liu et al., 2020 zeigte, dass IL-2 vor allem in den Krankheitstagen 3-6. einen Peak erreicht und zu diesem Zeitpunkt zwischen schwer und mild erkrankten Patienten unterschieden werden konnte. Im weiteren Krankheitsverlauf ließ sich jedoch dieser Unterschied nicht mehr nachweisen. Dies könnte auch erklären, dass in der vorliegenden Arbeit aufgrund des späten Messzeitpunktes bei Krankenhausaufnahme kein Unterschied mehr in den Aufnahmespiegeln von intensivpflichtigen und normalstationär behandelten Patienten detektiert werden konnte. Weiterhin zeigte die vorliegende Arbeit eine Korrelation von IL-2R und IL-6, sowie zu IL-8 und TNF- $\alpha$ . Dies stimmt mit Ergebnissen von Hou et al., 2020 überein, welche zusätzlich noch eine negative Korrelation zur Lymphozytenkonzentration angeben. Der IL-2/IL-2R-Signalweg ist entscheidend für die Vermehrung, Differenzierung und Funktion von T-Zellen, einschließlich Tregs, CD4+ und CD8+ Effektorzellen. Studien zeigten weniger CD4+ und CD8+ T-Zell Aktivierung und Expansion bei kritisch kranken COVID-19 Patienten (Akbari et al., 2020; G. Chen et al., 2020; Wauters et al., 2021). Zhang et al., 2020 berichteten über die negative Beziehung zwischen der Konzentration von sIL-2R und der Anzahl der T-Zellen im Blut von COVID-19-Patienten. Es zeigte sich, dass die Konzentration von sIL-2R bei

COVID-19-Patienten zu Krankheitsbeginn ansteigt und möglicherweise durch Hemmung der IL-2-Signalübertragung zur Lymphopenie beitragen könnte. Auch Shi et al., 2020 konnte aufzeigen, dass eine Störung des IL-2-IL-2R Signalweges zu einem Rückgang von CD8<sup>+</sup> T-Zellen bei kritisch erkrankten Patienten mit COVID-19-Pneumonie führt. In dieser Studie war jedoch IL-2 bei kritisch erkrankten im Vergleich zu schwerkranken Patienten im Plasma erniedrigt und in Korrelation damit die Expression von IL-2R und JAK1-STAT5- Signalwegen verringert. Dies führen die Autoren darauf zurück, dass hohe Konzentrationen von IL-2 die Aktivierung von CD4<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup> T-Zellen durch Stimulation der Expansion und Differenzierung von konventionellen T-Zellen verstärken. Wohingegen IL-2 in niedriger Konzentration die Aktivierung von CD4<sup>+</sup> T- und CD8<sup>+</sup> T-Zellen hemmt, indem es die Aktivität und das Überleben von T-regulatorischen Zellen aufrechterhält (Abbas et al., 2018; Shi et al., 2020). Weitere Studien in größeren Kohorten sind hier nötig um den Einfluss und Verlauf von IL-2 und sIL-2R und deren Pathophysiologie bei COVID-19 genauer zu evaluieren.

#### **7.2.3.5 TNF- $\alpha$**

Ergebnisse aus Studien zu den Aufnahmespiegeln von TNF- $\alpha$  variieren. Del Valle et al., 2020 konnte zeigen, dass TNF- $\alpha$  mit der Krankheitsschwere assoziiert ist und als Prädiktor für das Überleben von COVID-19 Patienten genutzt werden könnte. Wohingegen andere Studien keine signifikanten Unterschiede zwischen schwer und mild erkrankten Patienten in den Spiegeln für TNF- $\alpha$ , auch über mehrere Tage betrachtet, nachweisen konnten (Liu et al., 2020). Eine Abnahme von TNF- $\alpha$  fand sich zwischen dem Aufnahme- und Entlassungszeitpunkt bei Betrachtung aller COVID-19 Patienten. Diese Reduktion zeigte sich bei detaillierterer Betrachtung vor allem in der Gruppe der intensivpflichtigen Patienten. Dies bestätigen Studienergebnisse von Diao et al., 2020 welche ebenfalls eine Reduktion von TNF- $\alpha$  nachwiesen. Allerdings war diese Studie mit einer geringeren Patientenzahl und nur bei normalstationär behandelten Patienten durchgeführt worden. Durch scRNA-seq-Untersuchungen konnte Vanderbeke et al., 2021 klassische Monozyten als Hauptproduzenten von TNF- $\alpha$  bei COVID-19 Erkrankten identifizieren. Karki et al., 2021 zeigte, dass vor allem die Kombination von TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$  den durch Pyroptose, Apoptose, Nekroptose

(PANoptose) charakterisierten Zelltod auslöste. Zusammen verursachten die Zytokine TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$  bei Mäusen einen letalen Zytokinschock, der die durch COVID-19 entstehenden Gewebeschäden und Entzündungen widerspiegelte. Die Therapie mit neutralisierenden Antikörpern gegen TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$  bewahrte Mäuse vor einem Zytokinschock und einer erhöhten Sterblichkeit. TNF- $\alpha$  wird früh im Laufe einer Entzündungsreaktion ausgeschüttet und ist maßgeblich an dieser beteiligt. Es führt zu einer Ausschüttung weiterer proinflammatorischer Zytokine wie IL-6 und IL-1 und Akut-Phase-Proteinen, welche wiederum durch Blockade von TNF- $\alpha$  deutlich reduziert ausfallen (Feldmann et al., 1999; Fong et al., 1989; Ghezzi et al., 2000; Haworth et al., 1991). Da in der vorliegenden Arbeit IL-6 bei Aufnahme erhöht war, könnte eine Erhöhung von TNF- $\alpha$  dieser vorausgegangen sein, welche jedoch nicht erfasst wurde, da die erste Blutentnahme bereits im stationären Setting erfolgte. Eine TNF $\alpha$ -Blockade wird seit vielen Jahren im Rahmen von inflammatorischen Erkrankungen wie der rheumatoiden Arthritis erfolgreich eingesetzt (Feldmann et al., 2003). Einige klinische Studien zeigten bisher keinen Vorteil einer TNF $\alpha$ -Blockade mit Biologicals wie Adalimumab oder Infliximab in Bezug auf die Mortalität von COVID-19 Patienten (Fakharian et al., 2021; Fisher et al., 2022). Neue Erkenntnisse deuten allerdings auf einen Überlebensvorteil bei schwer erkrankten COVID-19 Patienten durch den Einsatz von Infliximab hin (Immune Modulator Drugs Improved Survival for People Hospitalized with COVID-19 | National Institutes of Health (NIH), 2022.; O'Halloran et al., 2022). Weitere Studien in Bezug auf COVID-19 und eine TNF $\alpha$ -Blockade sind hier nötig, um mögliche Therapieansätze zu evaluieren.

#### **7.2.3.6 IL-10**

Studienergebnisse zu den Konzentrationen von IL-10 variieren. Diao et al., 2020 und Huang et al., 2020 berichteten über höhere IL-10 Spiegel bei intensivpflichtigen Patienten. In der vorliegenden Arbeit konnten keine signifikanten Unterschiede in keiner der analysierten Gruppen zum Aufnahmezeitpunkt nachgewiesen werden. Dies könnte an dem Messbereiches liegen, da Werte unter 5 pg/ml nicht erfasst und so signifikante Unterschiede möglicherweise nicht detektiert werden konnten. Chen et al., 2020, welche ebenfalls den Immulite 1000 zur Bestimmung von IL-10 nutzten, konnten ebenfalls keine Unterschiede zwischen moderat und schwer erkrankten COVID-19

Patienten feststellen und geben ebenfalls Mediane von 5 pg/ml, also den untersten Messbereich bei diesem Verfahren für IL-10 an. Sensitivere Messmethoden wären hier nötig, um ggf. mögliche Unterschiede zu identifizieren. Darüber hinaus könnte der Zeitpunkt der Abnahme einen wichtigen Einfluss haben, da aufgrund der kurzen Halbwertszeit mögliche Unterschiede nicht erfasst werden können. Außerdem gibt es Hinweise darauf, dass IL-10 noch vor IL-6 bei COVID-19 Patienten erhöht ist (Zhao et al., 2020). Da in unserer Studie die erste Blutentnahme erst bei stationärer Aufnahme durchgeführt wurde und dort IL-6 erhöht war, könnte die Erhöhung von IL-10 noch vor dem Abnahmezeitpunkt gelegen haben und wurde somit nicht detektiert. Es lässt sich jedoch schlussfolgern, dass die meisten Patienten in der vorliegenden Studie IL-10 Konzentrationen im Normbereich (<9,2 pg/ml) aufwiesen. Bei Betrachtung aller COVID-19 Patienten, zeigte sich jedoch ein signifikanter Rückgang für IL-10 zwischen dem ersten und zuletzt gemessenen Zytokinwert. Dies verdeutlicht auch die detailliertere Gruppenbetrachtung sowohl für intensivmedizinisch, als auch normalstationär behandelte Patienten und ebenfalls bei überlebenden COVID-19 Patienten. Nur die verstorbenen COVID-19 Patienten wiesen keine Reduktion der IL-10 Konzentration auf. Der Rückgang der IL-10-Konzentration bei genesenen Patienten deckt sich mit Ergebnissen von Diao et al., 2020. Hier fand sich eine signifikante Reduktion von IL-10 von Krankheitsbeginn bis zum Ende des Krankenhausaufenthaltes bei normalstationär behandelten Patienten. Auch Liu et al., 2020 berichten über einen Rückgang von IL-10 sowohl bei schwer als auch mild erkrankten COVID-19 Patienten. In Zusammenschau der unterschiedlichen Ergebnisse der bisher durchgeführten Studien kann keine Aussage über den Stellenwert von IL-10 getroffen werden, sodass weitere Studien erforderlich sind.

#### **7.2.4 Aktuelle Erkenntnisse und Ausblick**

Die vorliegende Arbeit ergänzt die bisher in der Literatur beschriebenen Zytokinspiegel bei COVID-19 Patienten und bietet als eine der wenigen Studien auch einen Vergleich zu COVID-19 negativen Patienten mit ähnlicher klinischer Beschwerdesymptomatik und dem daraus resultierenden Verdacht einer SARS-CoV-2 Infektion. Es wurde eine Reihe an Zytokinen bezüglich der Diagnose und Prognose von COVID-19 untersucht. Die Bestimmung der Zytokinspiegel eignete sich nicht zur Unterscheidung zwischen an COVID-19 Erkrankten und COVID-19 negativen Patienten mit ähnlicher

Symptomatik. Somit müssen alle Differentialdiagnosen in Betracht gezogen werden, bis die Ergebnisse des Schnell- oder PCR- Tests vorliegen. Jedoch wurden in der vorliegenden Arbeit Zytokine identifiziert, die auf den Schweregrad der Erkrankung hinweisen und Patienten selektieren können, die prädestiniert sind einen schweren Krankheitsverlauf zu entwickeln bzw. schon initial eine intensivmedizinische Behandlung benötigen. Die vorliegenden Ergebnisse können so zur Optimierung des klinischen Managements von COVID-19 Patienten beitragen, indem sie die Risikostratifizierung unterstützen. Besonders IL-6 und IL-8 sollten dabei Beachtung finden und mit den ermittelten Cut-off Werten dabei behilflich sein, Patienten mit einem potentiell intensivpflichtigen Verlauf frühzeitig zu erkennen. Weiterhin bietet diese Studie einen Überblick über den Verlauf der Zytokinspiegel zwischen Aufnahme und Entlassung oder Tod. Eine Abnahme der Zytokinkonzentrationen war für IL-6, IL-10, IL-2R und TNF- $\alpha$  bei allen COVID-19 Patienten nachweisbar, welche sich auch in den Subgruppen bei intensivmedizinisch behandelten für IL-2R, IL-6, IL-10 und TNF- $\alpha$  und bei normalstationär behandelten Patienten für IL-6 und IL-10 zeigte. Weiterhin sanken IL-2R, IL-6, IL-8 und IL-10 im Vergleich zur Aufnahme bei genesenen Patienten. Dies zeigte sich jedoch für keines der analysierten Zytokine bei verstorbenen Patienten. Daher könnte das Monitoring von IL-2R, IL-6, IL-8, IL-10 und TNF- $\alpha$  auch zur Überwachung von einer COVID-19 Erkrankung im Hinblick auf eine Verschlechterung, aber auch eine Genesung, genutzt werden. In zukünftigen Studien sollte ein größeres Zytokinpanel, möglichst zu mehreren Zeitpunkten und bei verschiedenen Schweregraden der COVID-19 Erkrankung, evaluiert werden. Auch bei Betrachtung der verschiedenen Virusvarianten und unter Aspekten der Impfung sollte eine genaue Zytokinanalyse erfolgen, um ein besseres Verständnis der Immunprozesse bei COVID-19 Patienten zu generieren. Außerdem können Biomarker helfen, das richtige Zeitfenster einer frühen oder noch bestehenden Immunaktivierung zu erkennen, um so den richtigen Zeitpunkt zum Einsatz von antiinflammatorischen Therapien zu identifizieren. Studien zu verschiedenen Therapieansätzen sind hier ebenfalls notwendig. Weiterhin sollten zukünftige Studien auch Langzeitbeobachtungen durchführen, um mögliche Langzeitfolgen und Zytokinverläufe im Hinblick auf Post/Long-COVID Verläufe zu untersuchen.

## 8 Publikationen

In Zusammenhang mit der Studie „Biomarker der COVID-19 Erkrankung“ sind folgende Paper und Abstracts publiziert worden:

Gündisch, M., **Greib, S.**, Etati, R., Riemer, C., Tarawneh, T., Karim, I., Chung, H., Neubauer, A., Renz, H., Mack, E., Skevaki, C. Biomarkers for COVID-19 diagnostics and prognostics ECCMID Kongress 2021, abstract number 3122

Riemer, C., Mack, E., Burchert, A., Gündisch, M., **Greib, S.**, Etati, R., Tarawneh, T., Karim, I., Keller, C., Renz, H., Skevaki, C., Neubauer, A., & Michel, C. (2021). Dysgranulopoiesis in patients with coronavirus disease 2019. *Acta Haematologica Polonica*, 52(5), 516–521. <https://doi.org/10.5603/AHP.2021.0094>

Esther Chang, S., Feng, A., Meng, W., Apostolidis, S. A., Mack, E., Artandi, M., Barman, L., Bennett, K., Chakraborty, S., Chang, I., Cheung, P., Chinthrajah, S., Dhingra, S., Do, E., Finck, A., Gaano, A., Geßner, R., Giannini, H. M., Gonzalez, J., **Greib, S.**, ... Utz, P. J. (2021). New-onset IgG autoantibodies in hospitalized patients with COVID-19. *Nature communications*. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25509-3>

Esther Chang, S., Feng, A., Meng, W., Apostolidis, S. A., Mack, E., Artandi, M., Barman, L., Bennett, K., Chakraborty, S., Chang, I., Cheung, P., Chinthrajah, S., Dhingra, S., Do, E., Finck, A., Gaano, A., Geßner, R., Giannini, H. M., Gonzalez, J., **Greib, S.**, ... Utz, P. J. (2021). New-Onset IgG Autoantibodies in Hospitalized Patients with COVID-19. *ACR Meeting Abstracts*. Abstract number 1531 <https://acrabstracts.org/abstract/new-onset-igg-autoantibodies-in-hospitalized-patients-with-covid-19/>

## 9 Literaturverzeichnis

- Abani, O., Abbas, A., Abbas, F., Abbas, M., Abbasi, S., Abbass, H., Abbott, A., Abdallah, N., Abdelaziz, A., Abdelfattah, M., Abdelqader, B., Abdul, B., Abdul Rasheed, A., Abdulakeem, A., Abdul-Kadir, R., Abdulmumeen, A., Abdul-Raheem, R., Abdulshukoor, N., Abdusamad, K., ... Zuriaga-Alvaro, A. (2021). Tocilizumab in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial. *The Lancet*, 397(10285), 1637–1645. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00676-0/ATTACHMENT/7079F7FB-CB08-4ACC-87C0-D40759EB5CF0/MMC1.PDF](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00676-0/ATTACHMENT/7079F7FB-CB08-4ACC-87C0-D40759EB5CF0/MMC1.PDF)
- Abbas, A. K., Trotta, E., Simeonov, D. R., Marson, A., & Bluestone, J. A. (2018). Revisiting IL-2: Biology and therapeutic prospects. *Science Immunology*, 3(25). <https://doi.org/10.1126/SCIIMMUNOL.AAT1482>
- Aggarwal, B. B. (2000). Tumour necrosis factors receptor associated signalling molecules and their role in activation of apoptosis, JNK and NF- $\kappa$ B. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 59(SUPPL. 1), i6–i16. [https://doi.org/10.1136/ard.59.suppl\\_1.i6](https://doi.org/10.1136/ard.59.suppl_1.i6)
- Aggarwal, B. B. (2003). Signalling pathways of the TNF superfamily: A double-edged sword. In *Nature Reviews Immunology* (Vol. 3, Issue 9, pp. 745–756). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nri1184>
- Aggarwal, B. B., Gupta, S. C., & Kim, J. H. (2012). Historical perspectives on tumor necrosis factor and its superfamily: 25 years later, a golden journey. In *Blood* (Vol. 119, Issue 3, pp. 651–665). American Society of Hematology. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-04-325225>
- Akbari, H., Tabrizi, R., Lankarani, K. B., Aria, H., Vakili, S., Asadian, F., Noroozi, S., Keshavarz, P., & Faramarz, S. (2020). The role of cytokine profile and lymphocyte subsets in the severity of coronavirus disease 2019 (COVID-19): A systematic review and meta-analysis. *Life Sciences*, 258, 118167. <https://doi.org/10.1016/J.LFS.2020.118167>
- Baggiolini, M. (1998). Chemokines and leukocyte traffic. In *Nature* (Vol. 392, Issue 6676, pp. 565–568). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/33340>
- Baggiolini, M., Walz, A., & Kunkel, S. L. (1989). Neutrophil-activating peptide-1/interleukin 8, a novel cytokine that activates neutrophils. In *Journal of Clinical Investigation* (Vol. 84, Issue 4, pp. 1045–1049). <https://doi.org/10.1172/JCI114265>
- Bain, W., Yang, H., Shah, F. A., Suber, T., Drohan, C., Al-Yousif, N., DeSensi, R. S., Bensen, N., Schaefer, C., Rosborough, B. R., Somasundaram, A., Workman, C. J., Lampenfeld, C., Cillo, A. R., Cardello, C., Shan, F., Bruno, T. C., Vignali, D. A. A., Ray, P., ... Kitsios, G. D. (2021). COVID-19 versus Non-COVID-19 acute respiratory distress syndrome comparison of demographics, physiologic parameters, inflammatory biomarkers, and clinical outcomes. *Annals of the American*

*Thoracic Society*, 18(7), 1202–1210. [https://doi.org/10.1513/ANNALSATS.202008-1026OC/SUPPL\\_FILE/DISCLOSURES.PDF](https://doi.org/10.1513/ANNALSATS.202008-1026OC/SUPPL_FILE/DISCLOSURES.PDF)

- Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, R. K.-I. (2020). *Beschreibung des bisherigen Ausbruchsgeschehens mit dem neuartigen Coronavirus SARS-CoV-2 in Deutschland (Stand: 12. Februar 2020)*. <https://doi.org/10.25646/6476>
- Ben-Sasson, S. Z., Hu-Li, J., Quiel, J., Cauchetaux, S., Ratner, M., Shapira, I., Dinarello, C. A., & Paul, W. E. (2009). IL-1 acts directly on CD4 T cells to enhance their antigen-driven expansion and differentiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(17), 7119–7124. <https://doi.org/10.1073/pnas.0902745106>
- Black, R. A., Rauch, C. T., Kozlosky, C. J., Peschon, J. J., Slack, J. L., Wolfson, M. F., Castner, B. J., Stocking, K. L., Reddy, P., Srinivasan, S., Nelson, N., Boiani, N., Schooley, K. A., Gerhart, M., Davis, R., Fitzner, J. N., Johnson, R. S., Paxton, R. J., March, C. J., & Cerretti, D. P. (1997). A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor- $\alpha$  from cells. *Nature*, 385(6618), 729–733. <https://doi.org/10.1038/385729a0>
- Borish, L. C., & Steinke, J. W. (2003). 2. Cytokines and chemokines. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 111(2 SUPPL. 2), S460–S475. <https://doi.org/10.1067/mai.2003.108>
- Botsios, C., Sfriso, P., Furlan, A., Ostuni, P., Biscaro, M., Fiocco, U., Todesco, S., & Punzi, L. (2011). Anakinra, a recombinant human IL-1 receptor antagonist, in clinical practice. Outcome in 60 patients with severe rheumatoid arthritis. *Reumatismo*, 59(1), 32–37. <https://doi.org/10.4081/reumatismo.2007.32>
- Boyman, O., & Sprent, J. (2012). The role of interleukin-2 during homeostasis and activation of the immune system. *Nature Reviews Immunology* 2012 12:3, 12(3), 180–190. <https://doi.org/10.1038/nri3156>
- Bradley, J. R. (2008). TNF-mediated inflammatory disease. In *Journal of Pathology* (Vol. 214, Issue 2, pp. 149–160). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/path.2287>
- Brooks, D. G., Trifilo, M. J., Edelmann, K. H., Teyton, L., McGavern, D. B., & Oldstone, M. B. A. (2006). Interleukin-10 determines viral clearance or persistence in vivo. *Nature Medicine*, 12(11), 1301–1309. <https://doi.org/10.1038/nm1492>
- Burn, E., Tebé, C., Fernandez-Bertolin, S., Aragon, M., Recalde, M., Roel, E., Prats-Urbe, A., Prieto-Alhambra, D., & Duarte-Salles, T. (2021). The natural history of symptomatic COVID-19 during the first wave in Catalonia. *Nature Communications* 2021 12:1, 12(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21100-y>



- Cantrell, D. A., & Smith, K. A. (1983). Transient expression of interleukin 2 receptors: Consequences for T cell growth. *Journal of Experimental Medicine*, *158*(6), 1895–1911. <https://doi.org/10.1084/jem.158.6.1895>
- Caricchio, R., Gallucci, M., Dass, C., Zhang, X., Gallucci, S., Fleece, D., Bromberg, M., & Criner, G. J. (2021). Preliminary predictive criteria for COVID-19 cytokine storm. *Ann Rheum Dis*, *80*, 88–95. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2020-218323>
- Carter, D. B., Deibel, M. R., Dunn, C. J., Tomich, C. S. C., Laborde, A. L., Slightom, J. L., Berger, A. E., Bienkowski, M. J., Sun, F. F., McEwan, R. N., Harris, P. K. W., Yem, A. W., Waszak, G. A., Chosay, J. G., Sieu, L. C., Hardee, M. M., Zurcher-Neely, H. A., Reardon, I. M., Heinrikson, R. L., ... Tracey, D. E. (1990). Purification, cloning, expression and biological characterization of an interleukin-1 receptor antagonist protein. *Nature*, *344*(6267), 633–638. <https://doi.org/10.1038/344633a0>
- Cevik, M., Kuppalli, K., Kindrachuk, J., & Peiris, M. (2020). Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2. *BMJ*, *371*. <https://doi.org/10.1136/BMJ.M3862>
- Chen, L. da, Zhang, Z. Y., Wei, X. J., Cai, Y. Q., Yao, W. Z., Wang, M. H., Huang, Q. F., & Zhang, X. bin. (2020). Association between cytokine profiles and lung injury in COVID-19 pneumonia. *Respiratory Research*, *21*(1), 201. <https://doi.org/10.1186/s12931-020-01465-2>
- Chen, G., Wu, D., Guo, W., Cao, Y., Huang, D., Wang, H., Wang, T., Zhang, X., Chen, H., Yu, H., Zhang, X., Zhang, M., Wu, S., Song, J., Chen, T., Han, M., Li, S., Luo, X., Zhao, J., & Ning, Q. (2020). Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *The Journal of Clinical Investigation*, *130*(5), 2620–2629. <https://doi.org/10.1172/JCI137244>
- Chollet-Martin, S., Jourdain, B., Gibert, C., Elbim, C., Chastre, J., & Cougerot-Pocidalò, M. A. (1996). Interactions between neutrophils and cytokines in blood and alveolar spaces during ARDS. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *154*(3 1), 594–601. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.154.3.8810592>
- Chua, R. L., Lukassen, S., Trump, S., Hennig, B. P., Wendisch, D., Pott, F., Debnath, O., Thürmann, L., Kurth, F., Völker, M. T., Kazmierski, J., Timmermann, B., Twardziok, S., Schneider, S., Machleidt, F., Müller-Redetzky, H., Maier, M., Krannich, A., Schmidt, S., ... Eils, R. (2020). COVID-19 severity correlates with airway epithelium–immune cell interactions identified by single-cell analysis. *Nature Biotechnology* *2020* *38*:8, *38*(8), 970–979. <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0602-4>
- Coeshott, C., Ohnemus, C., Pilyavskaya, A., Ross, S., Wiczorek, M., Kroona, H., Leimer, A. H., & Cheronis, J. (1999). Converting enzyme-independent release of tumor necrosis factor  $\alpha$  and IL-1 $\beta$  from a stimulated human monocytic cell line in the presence of activated neutrophils or purified proteinase 3. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *96*(11), 6261–6266. <https://doi.org/10.1073/PNAS.96.11.6261>

- Cohen, J. F., Korevaar, D. A., Matczak, S., Chalumeau, M., Allali, S., & Toubiana, J. (2021). COVID-19–Related Fatalities and Intensive-Care-Unit Admissions by Age Groups in Europe: A Meta-Analysis. *Frontiers in Medicine*, 7, 1097. <https://doi.org/10.3389/FMED.2020.560685/BIBTEX>
- Collier, D. A., Assennato, S. M., Warne, B., Sithole, N., Sharrocks, K., Ritchie, A., Ravji, P., Routledge, M., Sparkes, D., Skittrall, J., Smielewska, A., Ramsey, I., Goel, N., Curran, M., Enoch, D., Tassell, R., Lineham, M., Vaghela, D., Leong, C., ... Vicente, I. (2020). Point of Care Nucleic Acid Testing for SARS-CoV-2 in Hospitalized Patients: A Clinical Validation Trial and Implementation Study. *Cell Reports Medicine*, 1(5). <https://doi.org/10.1016/J.XCRM.2020.100062/ATTACHMENT/B5365984-4346-473C-AEF8-2E51EA92001F/MMC1.PDF>
- Coronavirus disease 2019 (COVID-19): situation report, 51. (2020). <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331475>
- Cote-Sierra, J., Foucras, G., Guo, L., Chiodetti, L., Young, H. A., Hu-Li, J., Zhu, J., & Paul, W. E. (2004). Interleukin 2 plays a central role in Th2 differentiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(11), 3880. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0400339101>
- Cummings, M. J., Baldwin, M. R., Abrams, D., Jacobson, S. D., Meyer, B. J., Balough, E. M., Aaron, J. G., Claassen, J., Rabbani, L. R. E., Hastie, J., Hochman, B. R., Salazar-Schicchi, J., Yip, N. H., Brodie, D., & O'Donnell, M. R. (2020). Epidemiology, clinical course, and outcomes of critically ill adults with COVID-19 in New York City: a prospective cohort study. *The Lancet*, 395(10239), 1763–1770. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31189-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31189-2)
- Curnow, S. J., Scheel-Toellner, D., Jenkinson, W., Raza, K., Durrani, O. M., Faint, J. M., Rauz, S., Wloka, K., Pilling, D., Rose-John, S., Buckley, C. D., Murray, P. I., & Salmon, M. (2004). Inhibition of T Cell Apoptosis in the Aqueous Humor of Patients with Uveitis by IL-6/Soluble IL-6 Receptor trans -Signaling. *The Journal of Immunology*, 173(8), 5290–5297. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.173.8.5290>
- Damoiseaux, J. (2020). The IL-2 – IL-2 receptor pathway in health and disease: The role of the soluble IL-2 receptor. *Clinical Immunology*, 218, 108515. <https://doi.org/10.1016/J.CLIM.2020.108515>
- Davis, H. E., McCorkell, L., Vogel, J. M., & Topol, E. J. (2023). Long COVID: major findings, mechanisms and recommendations. *Nature Reviews Microbiology* 2023 21:3, 21(3), 133–146. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00846-2>
- del Valle, M. D., Kim-Schulze, S., & Huang, H.-H. (n.d.). An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nature Medicine*, 3. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-1051-9>
- Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19. (2021). *New England Journal of Medicine*, 384(8), 693–704.

[https://doi.org/10.1056/NEJMOA2021436/SUPPL\\_FILE/NEJMOA2021436\\_DATA-SHARING.PDF](https://doi.org/10.1056/NEJMOA2021436/SUPPL_FILE/NEJMOA2021436_DATA-SHARING.PDF)

- Diagnostic testing for SARS-CoV-2*, WHO. (2023). <https://www.who.int/publications/i/item/diagnostic-testing-for-sars-cov-2>
- Diao, B., Wang, C., Tan, Y., Chen, X., Liu, Y., Ning, L., Chen, L., Li, M., Liu, Y., Wang, G., Yuan, Z., Feng, Z., Zhang, Y., Wu, Y., & Chen, Y. (2020). Reduction and Functional Exhaustion of T Cells in Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Frontiers in Immunology*, *11*, 827. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.00827/BIBTEX>
- Dienz, O., Eaton, S. M., Bond, J. P., Neveu, W., Moquin, D., Noubade, R., Briso, E. M., Charland, C., Leonard, W. J., Ciliberto, G., Teuscher, C., Haynes, L., & Rincon, M. (2009). The induction of antibody production by IL-6 is indirectly mediated by IL-21 produced by CD4 + T cells. *Journal of Experimental Medicine*, *206*(1), 69–78. <https://doi.org/10.1084/jem.20081571>
- Dinarello, C. A. (2018). Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. In *Immunological Reviews* (Vol. 281, Issue 1, pp. 8–27). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/imr.12621>
- Dinarello, C. A., & van der Meer, J. W. M. (2013). Treating inflammation by blocking interleukin-1 in humans. In *Seminars in Immunology* (Vol. 25, Issue 6, pp. 469–484). NIH Public Access. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2013.10.008>
- Docherty, A. B., Harrison, E. M., Green, C. A., Hardwick, H. E., Pius, R., Norman, L., Holden, K. A., Read, J. M., Dondelinger, F., Carson, G., Merson, L., Lee, J., Plotkin, D., Sigfrid, L., Halpin, S., Jackson, C., Gamble, C., Horby, P. W., Nguyen-Van-Tam, J. S., ... Semple, M. G. (2020). Features of 20 133 UK patients in hospital with covid-19 using the ISARIC WHO Clinical Characterisation Protocol: Prospective observational cohort study. *The BMJ*, *369*. <https://doi.org/10.1136/bmj.m1985>
- Donnelly, R. P., Dickensheets, H., & Finbloom, D. S. (1999). The interleukin-10 signal transduction pathway and regulation of gene expression in mononuclear phagocytes. In *Journal of Interferon and Cytokine Research* (Vol. 19, Issue 6, pp. 563–573). Mary Ann Liebert, Inc. . <https://doi.org/10.1089/107999099313695>
- Dorjee, K., Kim, H., Bonomo, E., & Dolma, R. (2020). Prevalence and predictors of death and severe disease in patients hospitalized due to COVID-19: A comprehensive systematic review and meta-analysis of 77 studies and 38,000 patients. *PLOS ONE*, *15*(12), e0243191. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0243191>
- Eddahri, F., Denanglaire, S., Bureau, F., Spolski, R., Leonard, W. J., Leo, O., & Andris, F. (2009). Interleukin-6/STAT3 signaling regulates the ability of naive T cells to acquire B-cell help capacities. *Blood*, *113*(11), 2426–2433. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-04-154682>

- Ejrnaes, M., Filippi, C. M., Martinic, M. M., Ling, E. M., Togher, L. M., Crotty, S., & von Herrath, M. G. (2006). Resolution of a chronic viral infection after interleukin-10 receptor blockade. *Journal of Experimental Medicine*, 203(11), 2461–2472. <https://doi.org/10.1084/jem.20061462>
- Engelhardt, K. R., & Grimbacher, B. (2014). IL-10 in humans: Lessons from the Gut, IL-10/IL-10 receptor deficiencies, and IL-10 polymorphisms. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 380, 1–18. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-43492-5\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-662-43492-5_1)
- Eulenfeld, R., Dittrich, A., Khouri, C., Müller, P. J., Mütze, B., Wolf, A., & Schaper, F. (2012). Interleukin-6 signalling: More than Jaks and STATs. In *European Journal of Cell Biology* (Vol. 91, Issues 6–7, pp. 486–495). Urban & Fischer. <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2011.09.010>
- Eyre, D. W., Taylor, D., Purver, M., Chapman, D., Fowler, T., Pouwels, K. B., Walker, A. S., & Peto, T. E. A. (2022). Effect of Covid-19 Vaccination on Transmission of Alpha and Delta Variants. *New England Journal of Medicine*, 386(8), 744–756. [https://doi.org/10.1056/NEJMOA2116597/SUPPL\\_FILE/NEJMOA2116597\\_DISCLOSURES.PDF](https://doi.org/10.1056/NEJMOA2116597/SUPPL_FILE/NEJMOA2116597_DISCLOSURES.PDF)
- Fajgenbaum, D. C., & June, C. H. (2020). Cytokine Storm. *New England Journal of Medicine*, 383(23), 2255–2273. [https://doi.org/10.1056/NEJMRA2026131/SUPPL\\_FILE/NEJMRA2026131\\_DISCLOSURES.PDF](https://doi.org/10.1056/NEJMRA2026131/SUPPL_FILE/NEJMRA2026131_DISCLOSURES.PDF)
- Fakharian, A., Barati, S., Mirenayat, M., Rezaei, M., Haseli, S., Torkaman, P., Yousefian, S., Dastan, A., jamaati, H., & Dastan, F. (2021). Evaluation of adalimumab effects in managing severe cases of COVID-19: A randomized controlled trial. *International Immunopharmacology*, 99, 107961. <https://doi.org/10.1016/J.INTIMP.2021.107961>
- Feldmann, M., Breedveld, R. N. M., Smolen, J. S., Eberl, G., Dewoody, K., Kalden, J. R., Antoni, C., Charles, F. C. P., Elliott, M. J., Davis, D., & Potter, A. (1999). Regulation of cytokines, cytokine inhibitors, and acute-phase proteins following anti-TNF- $\alpha$  therapy in rheumatoid arthritis. *Am Assoc Immunol*. <https://www.jimmunol.org/content/163/3/1521.short>
- Feldmann, M., Brennan, F. M., & Maini, R. N. (2003). ROLE OF CYTOKINES IN RHEUMATOID ARTHRITIS. <Http://Dx.Doi.Org/10.1146/Annurev.Immunol.14.1.397>, 14, 397–440. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.IMMUNOL.14.1.397>
- FERRARA, J. L. M., ABHYANKAR, S., & GILLILAND, D. G. (1993). Cytokine storm of graft-versus-host disease : a critical effector role for interleukin-1. *Transplantation Proceedings*, 25(1), 1216–1217.
- Fiorentino, D. F., Bond, M. W., & Mosmann, T. R. (1989). Two types of mouse t helper cell: IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *Journal of Experimental Medicine*, 170(6), 2081–2095. <https://doi.org/10.1084/jem.170.6.2081>
- Fiorentino, D. F., Zlotnik, A., Mosmann, T. R., Howard, M., & O'Garra, A. (1991). IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. *The Journal of Immunology*, 147(11).

- Fiorentino, D. F., Zlotnik, A., Vieira, P., Mosmann, T. R., Howard, M., Moore, K. W., & O'Garra, A. (1991). IL-10 acts on the antigen-presenting cell to inhibit cytokine production by Th1 cells. *The Journal of Immunology*, 146(10).
- Fong, Y., Tracey, K. J., Moldawer, L. L., Hesse, D. G., Manogue, K. B., Kenney, J. S., Lee, A. T., Kuo, G. C., Allison, A. C., Lowry, S. F., & Cerami, A. (1989). Antibodies to cachectin/tumor necrosis factor reduce interleukin 1 beta and interleukin 6 appearance during lethal bacteremia. *Journal of Experimental Medicine*, 170(5), 1627–1633. <https://doi.org/10.1084/JEM.170.5.1627>
- Fox, T., Geppert, J., Dinnes, J., Scandrett, K., Bigio, J., Sulis, G., Hettiarachchi, D., Mathangasinghe, Y., Weeratunga, P., Wickramasinghe, D., Bergman, H., Buckley, B. S., Probyn, K., Squassero, Y., Davenport, C., Cunningham, J., Dittrich, S., Emperador, D., Hooft, L., ... Deeks, J. J. (2022). Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 11(11). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD013652.PUB2>
- Gabay, C., & Kushner, I. (1999). Acute-Phase Proteins and Other Systemic Responses to Inflammation. <https://doi.org/10.1056/NEJM199902113400607>, 340(6), 448–454. <https://doi.org/10.1056/NEJM199902113400607>
- Gabryšová, L., Howes, A., Saraiva, M., & O'Garra, A. (2014). The regulation of IL-10 expression. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 380, 157–190. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-43492-5\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-662-43492-5_8)
- Garlanda, C., Dinarello, C. A., & Mantovani, A. (2013). The Interleukin-1 Family: Back to the Future. In *Immunity* (Vol. 39, Issue 6, pp. 1003–1018). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.11.010>
- Gauldie, J., Richards, C., Harnish, D., Lansdorpt, P., & Baumann, H. (1987). Interferon f32/B-cell stimulatory factor type 2 shares identity with monocyte-derived hepatocyte-stimulating factor and regulates the major acute phase protein response in liver cells (inflammation/acute phase reactants/gene regulation). *Immunology*, 84, 7251–7255.
- Gay, N. J., & Keith, F. J. (1991). Drosophila Toll and IL-1 receptor [5]. In *Nature* (Vol. 351, Issue 6325, pp. 355–356). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/351355b0>
- Genant, H. K., Bresnihan, B., Ng, E., Robbins, S., Newmark, R. D., & McCabe, D. (2001). Treatment with anakinra reduces the rate of joint destruction and shows accelerated benefit in the second 6 months of treatment for patients with rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 60(Suppl 1), A473–A473. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2001.1196>
- Ghezzi, P., Sacco, S., Agnello, D., Marullo, A., Caselli, G., & Bertini, R. (2000). LPS INDUCES IL-6 IN THE BRAIN AND IN SERUM LARGELY THROUGH TNF PRODUCTION. *Cytokine*, 12(8), 1205–1210. <https://doi.org/10.1006/CYTO.2000.0697>

- Gimbrone, M. A., Obin, M. S., Brock, A. F., Luis, E. A., Hass, P. E., Hébert, C. A., Yip, Y. K., Leung, D. W., Lowe, D. G., Kohr, W. J., Darbonne, W. C., Bechtol, K. B., & Baker, J. B. (1989). Endothelial interleukin-8: A novel inhibitor of leukocyte-endothelial interactions. *Science*, *246*(4937), 1601–1603. <https://doi.org/10.1126/science.2688092>
- Glocker, E.-O., Kotlarz, D., Boztug, K., Gertz, E. M., Schäffer, A. A., Noyan, F., Perro, M., Diestelhorst, J., Allroth, A., Murugan, D., Hätscher, N., Pfeifer, D., Sykora, K.-W., Sauer, M., Kreipe, H., Lacher, M., Nustede, R., Woellner, C., Baumann, U., ... Klein, C. (2009). Inflammatory Bowel Disease and Mutations Affecting the Interleukin-10 Receptor. *New England Journal of Medicine*, *361*(21), 2033–2045. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0907206>
- Gong, J., Dong, H., Xia, Q. S., Huang, Z. yi, Wang, D. kun, Zhao, Y., Liu, W. hua, Tu, S. hao, Zhang, M. min, Wang, Q., & Lu, F. er. (2020). Correlation analysis between disease severity and inflammation-related parameters in patients with COVID-19: a retrospective study. *BMC Infectious Diseases*, *20*(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/S12879-020-05681-5/FIGURES/4>
- Grasselli, G., Zangrillo, A., Zanella, A., Antonelli, M., Cabrini, L., Castelli, A., Cereda, D., Coluccello, A., Foti, G., Fumagalli, R., Iotti, G., Latronico, N., Lorini, L., Merler, S., Natalini, G., Piatti, A., Ranieri, M. V., Scandroglio, A. M., Storti, E., ... Pesenti, A. (2020). Baseline Characteristics and Outcomes of 1591 Patients Infected with SARS-CoV-2 Admitted to ICUs of the Lombardy Region, Italy. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, *323*(16), 1574–1581. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.5394>
- Guglielmi, G. (2020). Fast coronavirus tests: what they can and can't do. *Nature*, *585*(7826), 496–498. <https://doi.org/10.1038/D41586-020-02661-2>
- Guimond, M., Fry, T. J., & Mackall, C. L. (2005). Cytokine signals in T-cell homeostasis. *Journal of Immunotherapy (Hagerstown, Md. : 1997)*, *28*(4), 289–294. <https://doi.org/10.1097/01.CJI.0000165356.03924.E7>
- Gupta, S., Hayek, S. S., Wang, W., Chan, L., Mathews, K. S., Melamed, M. L., Brenner, S. K., Leonberg-Yoo, A., Schenck, E. J., Radbel, J., Reiser, J., Bansal, A., Srivastava, A., Zhou, Y., Sutherland, A., Green, A., Shehata, A. M., Goyal, N., Vijayan, A., ... Ugwuowo, U. (2020). Factors Associated With Death in Critically Ill Patients With Coronavirus Disease 2019 in the US. *JAMA Internal Medicine*, *180*(11), 1436–1447. <https://doi.org/10.1001/JAMAINTERNMED.2020.3596>
- Han, H., Ma, Q., Li, C., Liu, R., Zhao, L., Wang, W., Zhang, P., Liu, X., Gao, G., Liu, F., Jiang, Y., Cheng, X., Zhu, C., & Xia, Y. (2020). Profiling serum cytokines in COVID-19 patients reveals IL-6 and IL-10 are disease severity predictors. *Emerging Microbes and Infections*, *9*(1), 1123–1130. [https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1770129/SUPPL\\_FILE/TEMI\\_A\\_1770129\\_SM3242.DOC](https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1770129/SUPPL_FILE/TEMI_A_1770129_SM3242.DOC)

X

- Hannum, C. H., Wilcox, C. J., Arend, W. P., Joslin, F. G., Dripps, D. J., Heimdal, P. L., Armes, L. G., Sommer, A., Eisenberg, S. P., & Thompson, R. C. (1990). Interleukin-1 receptor antagonist activity of a human interleukin-1 inhibitor. *Nature*, *343*(6256), 336–340. <https://doi.org/10.1038/343336a0>
- Haworth, C., Brennan, F. M., Chantry, D., Turner, M., Maini, R. N., & Feldmann, M. (1991). Expression of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in rheumatoid arthritis: Regulation by tumor necrosis factor- $\alpha$ . *European Journal of Immunology*, *21*(10), 2575–2579. <https://doi.org/10.1002/EJI.1830211039>
- He, X., Lau, E. H. Y., Wu, P., Deng, X., Wang, J., Hao, X., Lau, Y. C., Wong, J. Y., Guan, Y., Tan, X., Mo, X., Chen, Y., Liao, B., Chen, W., Hu, F., Zhang, Q., Zhong, M., Wu, Y., Zhao, L., ... Leung, G. M. (2020). Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nature Medicine*, *26*(5), 672–675. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0869-5>
- Heel, D. A. van, Franke, L., Hunt, K. A., Gwilliam, R., Zhernakova, A., Inouye, M., Wapenaar, M. C., Barnardo, M. C., Bethel, G., Holmes, G. K., Feighery, C., Jewell, D., Kelleher, D., Kumar, P., Travis, S., Walters, J. R., Sanders, D. S., Howdle, P., Swift, J., ... Wijmenga, C. (2007). A genome-wide association study for celiac disease identifies risk variants in the region harboring IL2 and IL21. *Nature Genetics*, *39*(7), 827. <https://doi.org/10.1038/NG2058>
- Herold, T., Jurinovic, V., Arnreich, C., Lipworth, B. J., Hellmuth, J. C., von Bergwelt-Baildon, M., Klein, M., & Weinberger, T. (2020). Elevated levels of IL-6 and CRP predict the need for mechanical ventilation in COVID-19. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *146*(1), 128. <https://doi.org/10.1016/J.JACI.2020.05.008>
- Hirano, T. (2010). Interleukin 6 in autoimmune and inflammatory diseases: A personal memoir. In *Proceedings of the Japan Academy Series B: Physical and Biological Sciences* (Vol. 86, Issue 7, pp. 717–730). The Japan Academy. <https://doi.org/10.2183/pjab.86.717>
- Hirano, T., Taga, T., Nakano, N., Yasukawa, K., Kashiwamura, S., Shimizu, K., Nakajima, K., Pyun, K. H., & Kishimoto, T. (1985). Purification to homogeneity and characterization of human B-cell differentiation factor (BCDF or BSFp-2). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *82*(16), 5490–5494. <https://doi.org/10.1073/pnas.82.16.5490>
- Hirano, T., Yasukawa, K., Harada, H., Taga, T., Watanabe, Y., Matsuda, T., Kashiwamura, S. I., Nakajima, K., Koyama, K., Iwamatsu, A., Tsunasawa, S., Sakiyama, F., Matsui, H., Takahara, Y., Taniguchi, T., & Kishimoto, T. (1986). Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature*, *324*(6092), 73–76. <https://doi.org/10.1038/324073a0>
- Hoffmann, E., Dittrich-Breiholz, O., Holtmann, H., & Kracht, M. (2002). Multiple control of interleukin-8 gene expression. In *Journal of Leukocyte Biology* (Vol. 72, Issue 5). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1189/JLB.72.5.847>

- Hou, H., Zhang, B., Huang, H., Luo, Y., Wu, S., Tang, G., Liu, W., Mao, L., Mao, L., Wang, F., & Sun, Z. (2020). Using IL-2R/lymphocytes for predicting the clinical progression of patients with COVID-19. *Clinical & Experimental Immunology*, 201(1), 76–84. <https://doi.org/10.1111/cei.13450>
- Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., Zhang, L., Fan, G., Xu, J., Gu, X., Cheng, Z., Yu, T., Xia, J., Wei, Y., Wu, W., Xie, X., Yin, W., Li, H., Liu, M., ... Cao, B. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*, 395(10223), 497–506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
- Hurst, S. M., Wilkinson, T. S., McLoughlin, R. M., Jones, S., Horiuchi, S., Yamamoto, N., Rose-John, S., Fuller, G. M., Topley, N., & Jones, S. A. (2001). IL-6 and its soluble receptor orchestrate a temporal switch in the pattern of leukocyte recruitment seen during acute inflammation. *Immunity*, 14(6), 705–714. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(01\)00151-0](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(01)00151-0)
- Immune modulator drugs improved survival for people hospitalized with COVID-19 | National Institutes of Health (NIH)*. (n.d.). Retrieved June 20, 2022, from <https://www.nih.gov/news-events/news-releases/immune-modulator-drugs-improved-survival-people-hospitalized-covid-19>
- Jang, D. I., Lee, A. H., Shin, H. Y., Song, H. R., Park, J. H., Kang, T. B., Lee, S. R., & Yang, S. H. (2021). The role of tumor necrosis factor alpha (Tnf- $\alpha$ ) in autoimmune disease and current tnf- $\alpha$  inhibitors in therapeutics. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 5, pp. 1–16). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms22052719>
- Jiang, Y., Genant, H. K., Watt, I., Cobby, M., Bresnihan, B., Aitchison, R., & McCabe, D. (2000). A multicenter, double-blind, dose-ranging, randomized, placebo- controlled study of recombinant human interleukin-1 receptor antagonist in patients with rheumatoid arthritis: Radiologic progression and correlation of genant and larsen scores. *Arthritis and Rheumatism*, 43(5), 1001–1009. [https://doi.org/10.1002/1529-0131\(200005\)43:5<1001::AID-ANR7>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/1529-0131(200005)43:5<1001::AID-ANR7>3.0.CO;2-P)
- Jiang, Y., Yu, M., Hu, X., Han, L., Yang, K., Ba, H., Zhang, Z., Yin, B., Yang, X. P., Li, Z., & Wang, J. (2017). STAT1 mediates transmembrane TNF-alpha-induced formation of death-inducing signaling complex and apoptotic signaling via TNFR1. *Cell Death and Differentiation*, 24(4), 660–671. <https://doi.org/10.1038/cdd.2016.162>
- JK, J., M, M., & WP, A. (1994). The effects of interleukin-10 on interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-1 beta production in human monocytes and neutrophils. *Lymphokine and Cytokine Research*, 13(1), 47–54. <https://europepmc.org/article/med/8186324>
- Jones, S. A. (2005). Directing Transition from Innate to Acquired Immunity: Defining a Role for IL-6. *The Journal of Immunology*, 175(6), 3463–3468. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.6.3463>
- Kaiser, R., Leunig, A., Pekayvaz, K., Popp, O., Joppich, M., Polewka, V., Escaig, R., Anjum, A., Hoffknecht, M. L., Gold, C., Brambs, S., Engel, A., Stockhausen, S., Knottenberg, V., Titova, A., Haji, M., Scherer, C., Muenchhoff, M., Hellmuth, J. C., ... Stark, K. (2021). Self-sustaining IL-8



- loops drive a prothrombotic neutrophil phenotype in severe COVID-19. *JCI Insight*, 6(18). <https://doi.org/10.1172/JCI.INSIGHT.150862>
- Kang, S., Tanaka, T., Narazaki, M., & Kishimoto, T. (2019). Targeting Interleukin-6 Signaling in Clinic. *Immunity*, 50(4), 1007–1023. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2019.03.026>
- Kapoor, S., Morgan, C. K., Siddique, M. A., & Guntupalli, K. K. (2018). Intensive care unit complications and outcomes of adult patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis: A retrospective study of 16 cases. *World Journal of Critical Care Medicine*, 7(6), 73–83. <https://doi.org/10.5492/wjccm.v7.i6.73>
- Karki, R., Sharma, B. R., Tuladhar, S., Williams, E. P., Zalduondo, L., Samir, P., Zheng, M., Sundaram, B., Banoth, B., Malireddi, R. K. S., Schreiner, P., Neale, G., Vogel, P., Webby, R., Jonsson, C. B., & Kanneganti, T. D. (2021). Synergism of TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  Triggers Inflammatory Cell Death, Tissue Damage, and Mortality in SARS-CoV-2 Infection and Cytokine Shock Syndromes. *Cell*, 184(1), 149-168.e17. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2020.11.025>
- Keehner, J., Horton, L. E., Pfeffer, M. A., Longhurst, C. A., Schooley, R. T., Currier, J. S., Abeles, S. R., & Torriani, F. J. (2021). SARS-CoV-2 Infection after Vaccination in Health Care Workers in California. *New England Journal of Medicine*, 384(18), 1774–1775. [https://doi.org/10.1056/NEJMC2101927/SUPPL\\_FILE/NEJMC2101927\\_DISCLOSURES.PDF](https://doi.org/10.1056/NEJMC2101927/SUPPL_FILE/NEJMC2101927_DISCLOSURES.PDF)
- Kesmez Can, F., Özkurt, Z., Öztürk, N., & Sezen, S. (2021). Effect of IL-6, IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL 10 levels on the severity in COVID 19 infection. *International Journal of Clinical Practice*, 75(12), e14970. <https://doi.org/10.1111/IJCP.14970>
- Kessel, C., Vollenberg, R., Masjosthusmann, K., Hinze, C., Wittkowski, H., Debaugnies, F., Nagant, C., Corazza, F., Vély, F., Kaplanski, G., Girard-Guyonvarc'h, C., Gabay, C., Schmidt, H., Foell, D., & Tepas, P. R. (2021). Discrimination of COVID-19 From Inflammation-Induced Cytokine Storm Syndromes Using Disease-Related Blood Biomarkers. *Arthritis and Rheumatology*, 73(10), 1791–1799. <https://doi.org/10.1002/ART.41763/ABSTRACT>
- Khodeir, M. M., Shabana, H. A., Alkhamiss, A. S., Rasheed, Z., Alsoghair, M., Alsagaby, S. A., Khan, M. I., Fernández, N., & al Abdulmonem, W. (2021). Early prediction keys for COVID-19 cases progression: A meta-analysis. *Journal of Infection and Public Health*, 14(5), 561–569. <https://doi.org/10.1016/J.JIPH.2021.03.001>
- Kishimoto, T. (2006). Interleukin-6: Discovery of a pleiotropic cytokine. *Arthritis Research and Therapy*, 8(SUPPL. 2), S2. <https://doi.org/10.1186/ar1916>
- Koppe, U., Wilking, H., Harder, T., Haas, W., Rexroth, U., & Hamouda, O. (2021). COVID-19 patients in Germany: exposure risks and associated factors for hospitalization and severe disease. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, 64(9), 1107–1115. <https://doi.org/10.1007/S00103-021-03391-0/TABLES/1>

- Kotlarz, D., Beier, R., Murugan, D., Diestelhorst, J., Jensen, O., Boztug, K., Pfeifer, D., Kreipe, H., Pfister, E. D., Baumann, U., Puchalka, J., Bohne, J., Egritas, O., Dalgic, B., Kolho, K. L., Sauerbrey, A., Buderus, S., Güngör, T., Enninger, A., ... Klein, C. (2012). Loss of interleukin-10 signaling and infantile inflammatory bowel disease: Implications for diagnosis and therapy. *Gastroenterology*, *143*(2), 347–355. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.04.045>
- Kriegler, M., Perez, C., DeFay, K., Albert, I., & Lu, S. D. (1988). A novel form of TNF/cachectin is a cell surface cytotoxic transmembrane protein: Ramifications for the complex physiology of TNF. *Cell*, *53*(1), 45–53. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(88\)90486-2](https://doi.org/10.1016/0092-8674(88)90486-2)
- Kurdowska, A., Noble, J. M., Steinberg, K. P., Ruzinski, J. T., Hudson, L. D., & Martin, T. R. (2001). Anti-interleukin 8 autoantibody: Interleukin 8 complexes in the acute respiratory distress syndrome: Relationship between the complexes and clinical disease activity. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *163*(2), 463–468. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.163.2.2005109>
- Kyriazopoulou, E., Poulakou, G., Milionis, H., Metallidis, S., Adamis, G., Tsiakos, K., Fragkou, A., Rapti, A., Damoulari, C., Fantoni, M., Kalomenidis, I., Chrysos, G., Angheben, A., Kainis, I., Alexiou, Z., Castelli, F., Serino, F. S., Tsilika, M., Bakakos, P., ... Giamarellos-Bourboulis, E. J. (2021). Early treatment of COVID-19 with anakinra guided by soluble urokinase plasminogen receptor plasma levels: a double-blind, randomized controlled phase 3 trial. *Nature Medicine* *2021* *27*:10, *27*(10), 1752–1760. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01499-z>
- Ledda, C., Costantino, C., Motta, G., Cunsolo, R., Stracquadiano, P., Liberti, G., Maltezou, H. C., & Rapisarda, V. (2022). SARS-CoV-2 mRNA Vaccine Breakthrough Infections in Fully Vaccinated Healthcare Personnel: A Systematic Review. *Tropical Medicine and Infectious Disease* *2022*, Vol. *7*, Page 9, *7*(1), 9. <https://doi.org/10.3390/TROPICALMED7010009>
- Lee, D. W., Gardner, R., Porter, D. L., Louis, C. U., Ahmed, N., Jensen, M., Grupp, S. A., & Mackall, C. L. (2014). Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome. *Blood*, *124*(2), 188–195. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2014-05-552729>
- Li, L., Li, J., Gao, M., Fan, H., Wang, Y., Xu, X., Chen, C., Liu, J., Kim, J., Aliyari, R., Zhang, J., Jin, Y., Li, X., Ma, F., Shi, M., Cheng, G., & Yang, H. (2021). Interleukin-8 as a Biomarker for Disease Prognosis of Coronavirus Disease-2019 Patients. *Frontiers in Immunology*, *11*, 3432. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.602395/BIBTEX>
- Li, R., Pei, S., Chen, B., Song, Y., Zhang, T., Yang, W., & Shaman, J. (2020). Substantial undocumented infection facilitates the rapid dissemination of novel coronavirus (SARS-CoV-2). *Science*, *368*(6490), 489–493. <https://doi.org/10.1126/science.abb3221>
- Lin, M., Park, S., Hayden, A., Giustini, D., Trinkaus, M., Pudek, M., Mattman, A., Schneider, M., & Chen, L. Y. C. (2017). Clinical utility of soluble interleukin-2 receptor in hemophagocytic syndromes: a systematic scoping review. *Annals of Hematology* *2017* *96*:8, *96*(8), 1241–1251. <https://doi.org/10.1007/S00277-017-2993-Y>

- Lindley, I., Aschauer, H., Seifert, J.-M., Lam, C., Brunowsky, W., Kownatzkit, E., Theleni, M., Peverit, P., Dewald, B., Tscharnert, V., Walz, A., & Baggiolini, M. (1988). Synthesis and expression in *Escherichia coli* of the gene encoding monocyte-derived neutrophil-activating factor: Biological equivalence between natural and recombinant neutrophil-activating factor (chemotaxis/monokine/cloning). In *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (Vol. 85).
- Linton, N. M., Kobayashi, T., Yang, Y., Hayashi, K., Akhmetzhanov, A. R., Jung, S., Yuan, B., Kinoshita, R., & Nishiura, H. (2020). Incubation Period and Other Epidemiological Characteristics of 2019 Novel Coronavirus Infections with Right Truncation: A Statistical Analysis of Publicly Available Case Data. *Journal of Clinical Medicine*, 9(2), 538. <https://doi.org/10.3390/jcm9020538>
- Liu, J., Li, S., Liu, J., Liang, B., Wang, X., Wang, H., Li, W., Tong, Q., Yi, J., Zhao, L., Xiong, L., Guo, C., Tian, J., Luo, J., Yao, J., Pang, R., Shen, H., Peng, C., Liu, T., ... Zheng, X. (2020). Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients. *EBioMedicine*, 55. <https://doi.org/10.1016/J.EBIOM.2020.102763/ATTACHMENT/20EBA938-424F-4E1F-8451-A9B552BBB1F6/MMC1.DOCX>
- Long, Q. X., Liu, B. Z., Deng, H. J., Wu, G. C., Deng, K., Chen, Y. K., Liao, P., Qiu, J. F., Lin, Y., Cai, X. F., Wang, D. Q., Hu, Y., Ren, J. H., Tang, N., Xu, Y. Y., Yu, L. H., Mo, Z., Gong, F., Zhang, X. L., ... Huang, A. L. (2020). Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nature Medicine* 26:6, 26(6), 845–848. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0897-1>
- Lu, L., Zhang, H., Zhan, M., Jiang, J., Yin, H., Dauphars, D. J., Li, S. Y., Li, Y., & He, Y. W. (2020). Preventing Mortality in COVID-19 Patients: Which Cytokine to Target in a Raging Storm? *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8, 677. <https://doi.org/10.3389/FCCELL.2020.00677/BIBTEX>
- Lu, R., Zhao, X., Li, J., Niu, P., Yang, B., Wu, H., Wang, W., Song, H., Huang, B., Zhu, N., Bi, Y., Ma, X., Zhan, F., Wang, L., Hu, T., Zhou, H., Hu, Z., Zhou, W., Zhao, L., ... Tan, W. (2020). Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet*, 395(10224), 565–574. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8)
- Ludwig, M., Jacob, J., Basedow, F., Andersohn, F., & Walker, J. (2021). Clinical outcomes and characteristics of patients hospitalized for Influenza or COVID-19 in Germany. *International Journal of Infectious Diseases*, 103, 316–322. <https://doi.org/10.1016/J.IJID.2020.11.204>
- Macdonald, S. P. J., Stone, S. F., Neil, C. L., van Eeden, P. E., Fatovich, D. M., Arendts, G., & Brown, S. G. A. (2014). Sustained elevation of resistin, NGAL and IL-8 are associated with severe sepsis/septic shock in the emergency department. *PLoS ONE*, 9(10), e110678. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110678>

- Mahmudpour, M., Roozbeh, J., Keshavarz, M., Farrokhi, S., & Nabipour, I. (2020). COVID-19 cytokine storm: The anger of inflammation. In *Cytokine* (Vol. 133, p. 155151). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2020.155151>
- Maleki, B., & Hojati, Z. (2022). A precise review on NAATs-based diagnostic assays for COVID-19: A motion in fast POC molecular tests. *European Journal of Clinical Investigation*, 52(11). <https://doi.org/10.1111/EJC.13853>
- Malin, J. J., Wörmann, B., Kluge, S., Karagiannidis, C., Krieger, D., Specker, C., Kobbe, R., Tenenbaum, T., Lehrnbecher, T., Boesecke, C., Salzberger, B., & Spinner, C. D. (n.d.). *S1-Leitlinie SARS-CoV-2 Prä-Expositionsprophylaxe*. Retrieved May 27, 2022, from [www.pei.de/DE/newsroom/dossier/coronavirus/coronavirus-inhalt.html](http://www.pei.de/DE/newsroom/dossier/coronavirus/coronavirus-inhalt.html)
- Mantovani, A., Cassatella, M. A., Costantini, C., & Jaillon, S. (2011). Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. In *Nature Reviews Immunology* (Vol. 11, Issue 8, pp. 519–531). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nri3024>
- Martich, G. D., Danner, R. L., Ceska, M., & Suffredini, A. F. (1991). Detection of interleukin 8 and tumor necrosis factor in normal humans after intravenous endotoxin: The effect of antiinflammatory agents. *Journal of Experimental Medicine*, 173(4), 1021–1024. <https://doi.org/10.1084/jem.173.4.1021>
- McLoughlin, R. M., Jenkins, B. J., Grail, D., Williams, A. S., Fielding, C. A., Parker, C. R., Ernst, M., Topley, N., & Jones, S. A. (2005). IL-6 trans-signaling via STAT3 directs T cell infiltration in acute inflammation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(27), 9589–9594. <https://doi.org/10.1073/pnas.0501794102>
- Mehta, P., Cron, R. Q., Hartwell, J., Manson, J. J., & Tattersall, R. S. (2020). Silencing the cytokine storm: the use of intravenous anakinra in haemophagocytic lymphohistiocytosis or macrophage activation syndrome. In *The Lancet Rheumatology* (Vol. 2, Issue 6, p. e358). Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S2665-9913\(20\)30096-5](https://doi.org/10.1016/S2665-9913(20)30096-5)
- Mehta, P., McAuley, D. F., Brown, M., Sanchez, E., Tattersall, R. S., & Manson, J. J. (2020). COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. In *The Lancet* (Vol. 395, Issue 10229, pp. 1033–1034). Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30628-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30628-0)
- Meuer, S. C., Hussey, R. E., Cantrell, D. A., Hodgdon, J. C., Schlossman, S. F., Smith, K. A., & Reinherz, E. L. (1984). Triggering of the T3-Ti antigen-receptor complex results in clonal T-cell proliferation through an interleukin 2-dependent autocrine pathway (T-cell clones/monoclonal antibodies/interleukin 2 receptor/growth regulation). In *Immunology* (Vol. 81).
- Michelen, M., Manoharan, L., Elkheir, N., Cheng, V., Dagens, A., Hastie, C., O'Hara, M., Suett, J., Dahmash, D., Bugaeva, P., Rigby, I., Munblit, D., Harriss, E., Burls, A., Foote, C., Scott, J., Carson,

- G., Olliaro, P., Sigfrid, L., & Stavropoulou, C. (2021). Characterising long COVID: a living systematic review. *BMJ Global Health*, 6(9), e005427. <https://doi.org/10.1136/BMJGH-2021-005427>
- Middleton, E. A., He, X. Y., Denorme, F., Campbell, R. A., Ng, D., Salvatore, S. P., Mostyka, M., Baxter-Stoltzfus, A., Borczuk, A. C., Loda, M., Cody, M. J., Manne, B. K., Portier, I., Harris, E. S., Petrey, A. C., Beswick, E. J., Caulin, A. F., Iovino, A., Abegglen, L. M., ... Yost, C. C. (2020). Neutrophil extracellular traps contribute to immunothrombosis in COVID-19 acute respiratory distress syndrome. *Blood*, 136(10), 1169–1179. <https://doi.org/10.1182/BLOOD.2020007008/461219/NEUTROPHIL-EXTRACELLULAR-TRAPS-NETS-CONTRIBUTE-TO>
- Miyoshi, T., Yamashita, K., Arai, T., Yamamoto, K., Mizugishi, K., & Uchiyama, T. (2010). The role of endothelial interleukin-8/NADPH oxidase 1 axis in sepsis. *Immunology*, 131(3), 331–339. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2010.03303.x>
- Moore, K. W., de Waal Malefyt, R., Coffman, R. L., & O'Garra, A. (2001). Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. In *Annual Review of Immunology* (Vol. 19, pp. 683–765). Annual Reviews 4139 El Camino Way, P.O. Box 10139, Palo Alto, CA 94303-0139, USA . <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.19.1.683>
- Morgan, R. A., Yang, J. C., Kitano, M., Dudley, M. E., Laurencot, C. M., & Rosenberg, S. A. (2010). Case Report of a Serious Adverse Event Following the Administration of T Cells Transduced With a Chimeric Antigen Receptor Recognizing ERBB2. *Molecular Therapy*, 18(4), 843–851. <https://doi.org/10.1038/MT.2010.24>
- Nachtigall, I., Lenga, P., Józwiak, K., Thürmann, P., Meier-Hellmann, A., Kühlen, R., Brederlau, J., Bauer, T., Tebbenjohanns, J., Schwegmann, K., Hauptmann, M., & Dengler, J. (2020). Clinical course and factors associated with outcomes among 1904 patients hospitalized with COVID-19 in Germany: an observational study. *Clinical Microbiology and Infection*, 26(12), 1663–1669. <https://doi.org/10.1016/J.CMI.2020.08.011>
- 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* 2021 27:4, 27(4), 601–615. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01283-z>
- Nicolai, L., Leunig, A., Brambs, S., Kaiser, R., Weinberger, T., Weigand, M., Muenchhoff, M., Hellmuth, J. C., Ledderose, S., Schulz, H., Scherer, C., Rudelius, M., Zoller, M., Höchter, D., Keppler, O., Teupser, D., Zwißler, B., von Bergwelt-Baildon, M., Kääh, S., ... Stark, K. (2020). Immunothrombotic dysregulation in COVID-19 pneumonia is associated with respiratory failure

- and coagulopathy. *Circulation*, 1176–1189.  
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.048488>
- NIH. (2023). *Clinical Spectrum | COVID-19 Treatment Guidelines*.  
<https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/overview/clinical-spectrum/>
- O'Halloran, J. A., Kedar, E., Anstrom, K. J., McCarthy, M. W., Ko, E. R., Nunez, P. S., Boucher, C., Smith, P. B., Panettieri, R. A., Tai, S. M. T. de, Maillou, M., Khan, A., Lora, A. J. M., Salathe, M., Capo, G., Gonzalez, D. R., Patterson, T. F., Palma, C., Ariza, H., ... members, A-1 I. study group. (2022). Infliximab for Treatment of Adults Hospitalized with Moderate or Severe Covid-19. *MedRxiv*, 2022.09.22.22280245. <https://doi.org/10.1101/2022.09.22.22280245>
- Opal, S. M., & DePalo, V. A. (2000). Anti-Inflammatory Cytokines. *CHEST*, 117(4), 1162–1172.  
<https://doi.org/10.1378/CHEST.117.4.1162>
- Opoka-Winiarska, V., Grywalska, E., & Roliński, J. (2020). Could hemophagocytic lymphohistiocytosis be the core issue of severe COVID-19 cases? In *BMC medicine* (Vol. 18, Issue 1, p. 214). NLM (Medline). <https://doi.org/10.1186/s12916-020-01682-y>
- Ortiz-Prado, E., Simbaña-Rivera, K., Gómez-Barreno, L., Rubio-Neira, M., Guaman, L. P., Kyriakidis, N. C., Muslin, C., Jaramillo, A. M. G., Barba-Ostria, C., Cevallos-Robalino, D., Sanches-SanMiguel, H., Unigarro, L., Zalakeviciute, R., Gadian, N., & López-Cortés, A. (2020). Clinical, molecular and epidemiological characterization of the SARS-CoV2 virus and the Coronavirus disease 2019 (COVID-19), a comprehensive literature review. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 98(1), 115094. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2020.115094>
- Park, W. Y., Goodman, R. B., Steinberg, K. P., Ruzinski, J. T., Radella, F., Park, D. R., Pugin, J., Skerrett, S. J., Hudson, L. D., & Martin, T. R. (2001). Cytokine balance in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 164(10 I), 1896–1903. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.164.10.2104013>
- Parkin, J., & Cohen, B. (2001). An overview of the immune system. *Lancet (London, England)*, 357(9270), 1777–1789. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)04904-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)04904-7)
- Pijls, B. G., Jolani, S., Atherley, A., Derckx, R. T., Dijkstra, J. I. R., Franssen, G. H. L., Hendriks, S., Richters, A., Venemans-Jellema, A., Zalpuri, S., & Zeegers, M. P. (2021). Demographic risk factors for COVID-19 infection, severity, ICU admission and death: a meta-analysis of 59 studies. *BMJ Open*, 11(1), e044640. <https://doi.org/10.1136/BMJOPEN-2020-044640>
- Puneet, P., Moochhala, S., & Bhatia, M. (2005). Chemokines in acute respiratory distress syndrome. In *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology* (Vol. 288, Issues 1 32-1, p. L3). American Physiological Society. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00405.2003>

- Qin, C., Zhou, L., Hu, Z., Zhang, S., Yang, S., Tao, Y., Xie, C., Ma, K., Shang, K., Wang, W., & Tian, D. S. (2020). Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clinical Infectious Diseases*, *71*(15), 762–768. <https://doi.org/10.1093/CID/CIAA248>
- Rabe, B., Chalaris, A., May, U., Waetzig, G. H., Seeger, D., Williams, A. S., Jones, S. A., Rose-John, S., & Scheller, J. (2008). Transgenic blockade of interleukin 6 transsignaling abrogates inflammation. *Blood*, *111*(3), 1021–1028. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-07-102137>
- Ramasamy, S., & Subbian, S. (2021). Critical Determinants of Cytokine Storm and Type I Interferon Response in COVID-19 Pathogenesis. *Clinical Microbiology Reviews*, *34*(3). <https://doi.org/10.1128/CMR.00299-20>
- Reilev, M., Kristensen, K. B., Pottegård, A., Lund, L. C., Hallas, J., Ernst, M. T., Christiansen, C. F., Sørensen, H. T., Johansen, N. B., Brun, N. C., Voldstedlund, M., Støvring, H., Thomsen, M. K., Christensen, S., Gubbels, S., Krause, T. G., Mølbak, K., & Thomsen, R. W. (2020). Characteristics and predictors of hospitalization and death in the first 11 122 cases with a positive RT-PCR test for SARS-CoV-2 in Denmark: a nationwide cohort. *International Journal of Epidemiology*, *49*(5), 1468–1481. <https://doi.org/10.1093/IJE/DYAA140>
- Renieris, G., Karakike, E., Gkavogianni, T., Droggiti, D.-E., Stylianakis, E., Andriopoulou, T., Spanou, V.-M., Kafousopoulos, D., Netea, M. G., Eugen-Olsen, J., Simard, J., & Giamarellos-Bourboulis, E. J. (2022). IL-1 Mediates Tissue-Specific Inflammation and Severe Respiratory Failure in COVID-19. *Journal of Innate Immunity*, 1–14. <https://doi.org/10.1159/000524560>
- RKI - Archiv 2023 - Beschluss der STIKO zur 25. Aktualisierung der COVID-19-Impfempfehlung. (2023). [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2023/08/Art\\_01.html](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2023/08/Art_01.html)
- RKI COVID-19 Germany. (n.d.). Retrieved April 9, 2023, from <https://experience.arcgis.com/experience/478220a4c454480e823b17327b2bf1d4/page/Landkreis/>
- Rodrigues, T. S., de Sá, K. S. G., Ishimoto, A. Y., Becerra, A., Oliveira, S., Almeida, L., Gonçalves, A. v., Perucello, D. B., Andrade, W. A., Castro, R., Veras, F. P., Toller-Kawahisa, J. E., Nascimento, D. C., de Lima, M. H. F., Silva, C. M. S., Caetite, D. B., Martins, R. B., Castro, I. A., Pontelli, M. C., ... Zamboni, D. S. (2020). Inflammasomes are activated in response to SARS-cov-2 infection and are associated with COVID-19 severity in patients. *Journal of Experimental Medicine*, *218*(3). <https://doi.org/10.1084/JEM.20201707/211560>
- Romano, M., Sironi, M., Toniatti, C., Polentarutti, N., Fruscella, P., Ghezzi, P., Faggioni, R., Luini, W., van Hinsbergh, V., Sozzani, S., Bussolino, F., Poli, V., Ciliberto, G., & Mantovani, A. (1997). Role of IL-6 and Its Soluble Receptor in Induction of Chemokines and Leukocyte Recruitment. *Immunity*, *6*(3), 315–325. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(00\)80334-9](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(00)80334-9)

- Rose-John, S. (2012). IL-6 trans-signaling via the soluble IL-6 receptor: Importance for the proinflammatory activities of IL-6. In *International Journal of Biological Sciences* (Vol. 8, Issue 9, pp. 1237–1247). Ivyspring International Publisher. <https://doi.org/10.7150/ijbs.4989>
- Rose-John, S. (2018). Interleukin-6 family cytokines. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 10(2). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028415>
- Rose-John, S., & Heinrich, P. C. (1994). Soluble receptors for cytokines and growth factors: Generation and biological function. In *Biochemical Journal* (Vol. 300, Issue 2, pp. 281–290). Portland Press Ltd. <https://doi.org/10.1042/bj3000281>
- Rose-John, S., Roeb, E., Algül, H., & Bromberg, J. (2020). *Interleukin-6 signalling in health and disease [version 1; peer review: 3 approved]*. <https://doi.org/10.12688/f1000research.26058.1>
- Ross, S. H., & Cantrell, D. A. (2018). Signaling and Function of Interleukin-2 in T Lymphocytes. *Annual Review of Immunology*, 36(1), 411–433. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-042617-053352>
- Rovina, N., Akinosoglou, K., Eugen-Olsen, J., Hayek, S., Reiser, J., & Giamarellos-Bourboulis, E. J. (2020). Soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) as an early predictor of severe respiratory failure in patients with COVID-19 pneumonia. *Critical Care*, 24(1), 1–3. <https://doi.org/10.1186/S13054-020-02897-4/TABLES/1>
- Rubin, L. A., Galli, F., Greene, W. C., Nelson, D. L., & Jay, G. (1990). The molecular basis for the generation of the human soluble interleukin 2 receptor. *Cytokine*, 2(5), 330–336. [https://doi.org/10.1016/1043-4666\(90\)90062-X](https://doi.org/10.1016/1043-4666(90)90062-X)
- S3-Leitlinie Empfehlung zur Therapie von Patienten mit COVID-19. (2023). <https://register.awmf.org/de/leitlinien/detail/113-001LG>
- Salama, C., Han, J., Yau, L., Reiss, W. G., Kramer, B., Neidhart, J. D., Criner, G. J., Kaplan-Lewis, E., Baden, R., Pandit, L., Cameron, M. L., Garcia-Diaz, J., Chávez, V., Mekebeb-Reuter, M., Lima de Menezes, F., Shah, R., González-Lara, M. F., Assman, B., Freedman, J., & Mohan, S. v. (2021). Tocilizumab in Patients Hospitalized with Covid-19 Pneumonia. *New England Journal of Medicine*, 384(1), 20–30. [https://doi.org/10.1056/NEJMOA2030340/SUPPL\\_FILE/NEJMOA2030340\\_DATA-SHARING.PDF](https://doi.org/10.1056/NEJMOA2030340/SUPPL_FILE/NEJMOA2030340_DATA-SHARING.PDF)
- Saraiva, M., Vieira, P., & O'Garra, A. (2020). Biology and therapeutic potential of interleukin-10. *Journal of Experimental Medicine*, 217(1). <https://doi.org/10.1084/jem.20190418>
- Schaper, F., & Rose-John, S. (2015). Interleukin-6: Biology, signaling and strategies of blockade. In *Cytokine and Growth Factor Reviews* (Vol. 26, Issue 5, pp. 475–487). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2015.07.004>



- Scheller, J., Chalaris, A., Schmidt-Arras, D., & Rose-John, S. (2011). The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. In *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research* (Vol. 1813, Issue 5, pp. 878–888). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2011.01.034>
- Schilling, J., Lehfeld, A.-S., Schumacher, D., Ullrich, A., Diercke, M., Buda, S., Haas, W., & RKI COVID-19 Study Group. (2020). Krankheitsschwere der ersten COVID-19-Welle in Deutschland basierend auf den Meldungen gemäß Infektionsschutzgesetz. *Journal of Health Monitoring*, 5(11), 1–20.
- Schilling, J., Tolksdorf, K., Marquis, A., Faber, M., Pfoch, T., Buda, S., Haas, W., Schuler, E., Altmann, D., Grote, U., & Diercke, M. (2021). The different periods of COVID-19 in Germany: a descriptive analysis from January 2020 to February 2021. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, 64(9), 1093–1106. <https://doi.org/10.1007/S00103-021-03394-X/TABLES/5>
- Schimmelpennink, M. C., Quanjel, M., Vorselaars, A. D. M., Wiertz, I., Veltkamp, M., van Moorsel, C. H. M., & Grutters, J. C. (2020). Value of serum soluble interleukin-2 receptor as a diagnostic and predictive biomarker in sarcoidosis. <https://doi.org/10.1080/17476348.2020.1751614>, 14(7), 749–756. <https://doi.org/10.1080/17476348.2020.1751614>
- Schulte-Schrepping, J., Reusch, N., Paclik, D., Baßler, K., Schlickeiser, S., Zhang, B., Krämer, B., Krammer, T., Brumhard, S., Bonaguro, L., de Domenico, E., Wendisch, D., Grasshoff, M., Kapellos, T. S., Beckstette, M., Pecht, T., Saglam, A., Dietrich, O., Mei, H. E., ... Ziebuhr, J. (2020). Severe COVID-19 Is Marked by a Dysregulated Myeloid Cell Compartment. *Cell*, 182(6), 1419–1440.e23. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2020.08.001/ATTACHMENT/C22BF9A9-E69D-432D-A0B0-A0CB76C77A0B/MMC4.XLSX>
- Schultz, C., Rott, C., Temming, P., Schlenke, P., Möller, J. C., & Bucsky, P. (2002). Enhanced interleukin-6 and interleukin-8 synthesis in term and preterm infants. *Pediatric Research*, 51(3), 317–322. <https://doi.org/10.1203/00006450-200203000-00009>
- Seguin, A., Galicier, L., Boutboul, D., Lemiale, V., & Azoulay, E. (2016). Pulmonary involvement in patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Chest*, 149(5), 1294–1301. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2015.11.004>
- Shah, A. (2020). Novel Coronavirus-Induced NLRP3 Inflammasome Activation: A Potential Drug Target in the Treatment of COVID-19. *Frontiers in Immunology*, 11, 1021. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.01021/BIBTEX>
- Sharfe, N., Dadi, H. K., Shahar, M., & Roifman, C. M. (1997). Human immune disorder arising from mutation of the  $\alpha$  chain of the interleukin-2 receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(7), 3168. <https://doi.org/10.1073/PNAS.94.7.3168>
- Shi, H., Wang, W., Yin, J., Ouyang, Y., Pang, L., Feng, Y., Qiao, L., Guo, X., Shi, H., Jin, R., & Chen, D. (2020). The inhibition of IL-2/IL-2R gives rise to CD8+ T cell and lymphocyte decrease through

- JAK1-STAT5 in critical patients with COVID-19 pneumonia. *Cell Death & Disease* 2020 11:6, 11(6), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2636-4>
- Sims, J. E., & Smith, D. E. (2010). The IL-1 family: Regulators of immunity. In *Nature Reviews Immunology* (Vol. 10, Issue 2, pp. 89–102). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nri2691>
- Skendros, P., Mitsios, A., Chrysanthopoulou, A., Mastellos, D. C., Metallidis, S., Rafailidis, P., Ntinopoulou, M., Sertaridou, E., Tsironidou, V., Tsigalou, C., Tektonidou, M., Konstantinidis, T., Papagoras, C., Mitroulis, I., Germanidis, G., Lambris, J. D., & Ritis, K. (2020). Complement and tissue factor–enriched neutrophil extracellular traps are key drivers in COVID-19 immunothrombosis. *The Journal of Clinical Investigation*, 130(11), 6151–6157. <https://doi.org/10.1172/JCI141374>
- Smith, D. R. M., Duval, A., Zahar, J. R., Hendrickx, N., Jean, K., Jijón, S., Oodally, A., Shirreff, G., Tamandjou, C., Opatowski, L., & Temime, L. (2022). Rapid antigen testing as a reactive response to surges in nosocomial SARS-CoV-2 outbreak risk. *Nature Communications* 2022 13:1, 13(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-27845-w>
- Soriano, J. B., Murthy, S., Marshall, J. C., Relan, P., & Diaz, J. V. (2022). A clinical case definition of post-COVID-19 condition by a Delphi consensus. *The Lancet Infectious Diseases*, 22(4), e102–e107. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(21\)00703-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00703-9)
- Spangler, J. B., Moraga, I., Mendoza, J. L., & Garcia, K. C. (2015). Insights into cytokine-receptor interactions from cytokine engineering. *Annual Review of Immunology*, 33, 139–167. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-IMMUNOL-032713-120211>
- Standiford, T. (2000). Anti-inflammatory cytokines and cytokine antagonists. *Current Pharmaceutical Design*, 6(6), 633–649. <https://doi.org/10.2174/1381612003400533>
- Takahashi, T., Ellingson, M. K., Wong, P., Israelow, B., Lucas, C., Klein, J., Silva, J., Mao, T., Oh, J. E., Tokuyama, M., Lu, P., Venkataraman, A., Park, A., Liu, F., Meir, A., Sun, J., Wang, E. Y., Casanovas-Massana, A., Wyllie, A. L., ... Iwasaki, A. (2020). Sex differences in immune responses that underlie COVID-19 disease outcomes. *Nature* 2020 588:7837, 588(7837), 315–320. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2700-3>
- Teachey, D. T., Lacey, S. F., Shaw, P. A., Melenhorst, J. J., Maude, S. L., Frey, N., Pequignot, E., Gonzalez, V. E., Chen, F., Finklestein, J., Barrett, D. M., Weiss, S. L., Fitzgerald, J. C., Berg, R. A., Aplenc, R., Callahan, C., Rheingold, S. R., Zheng, Z., Rose-John, S., ... Grupp, S. A. (2016). Identification of predictive biomarkers for cytokine release syndrome after chimeric antigen receptor T-cell therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Discovery*, 6(6), 664–679. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-16-0040/42478/AM/IDENTIFICATION-OF-PREDICTIVE-BIOMARKERS-FOR>

- Teraura, H., Kotani, K., Minami, T., Takeshima, T., Shimooki, O., & Kajii, E. (2017). The serum concentration of soluble interleukin-2 receptor in patients with Kawasaki disease. *Annals of Clinical Biochemistry*, *54*(2), 209–213. <https://doi.org/10.1177/0004563216677583>
- Tosi, M. F. (2005). Innate immune responses to infection. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *116*(2), 241–249. <https://doi.org/10.1016/J.JACI.2005.05.036>
- Uejima, Y., Takahashi, K., Komoriya, K., Kurozumi, S., & Ochs, H. D. (1996). Effect of Interleukin-10 on Anti-CD40- and Interleukin-4-Induced Immunoglobulin E Production by Human Lymphocytes. *International Archives of Allergy and Immunology*, *110*(3), 225–232. <https://doi.org/10.1159/000237291>
- van Gerwen, M., Alsen, M., Little, C., Barlow, J., Genden, E., Naymagon, L., & Tremblay, D. (2021). Risk factors and outcomes of COVID-19 in New York City; a retrospective cohort study. *Journal of Medical Virology*, *93*(2), 907–915. <https://doi.org/10.1002/JMV.26337>
- van Zee, K. J., DeForge, L. E., Fischer, E., Marano, M. A., Kenney, J. S., Remick, D. G., Lowry, S. F., & Moldawer, L. L. (1991). IL-8 in septic shock, endotoxemia, and after IL-1 administration. *The Journal of Immunology*, *146*(10).
- Vanderbeke, L., van Mol, P., van Herck, Y., de Smet, F., Humblet-Baron, S., Martinod, K., Antoranz, A., Arijs, I., Boeckx, B., Bosisio, F. M., Casaer, M., Dauwe, D., de Wever, W., Dooms, C., Dreesen, E., Emmaneel, A., Filtjens, J., Gouwy, M., Gunst, J., ... Wauters, J. (2021). Monocyte-driven atypical cytokine storm and aberrant neutrophil activation as key mediators of COVID-19 disease severity. *Nature Communications* 2021 12:1, *12*(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24360-w>
- Vanmaris, R. M., & Rijkers, G. T. (2017). Biological role of the soluble interleukin-2 receptor in sarcoidosis. *Sarcoidosis, Vasculitis and Diffuse Lung Disease*, *34*(2), 122–129. <https://doi.org/10.36141/SVDLD.V34I2.5369>
- Volpin, G., Cohen, M., Assaf, M., Meir, T., Katz, R., & Pollack, S. (2014). Cytokine levels (IL-4, IL-6, IL-8 and TGFβ) as potential biomarkers of systemic inflammatory response in trauma patients. *International Orthopaedics*, *38*(6), 1303–1309. <https://doi.org/10.1007/s00264-013-2261-2>
- Waal Malefyt, R. de, Haanen, J., Spits, H., Koncarolo, M. G., te Velde, A., Figdor, C., Johnson, K., Kastelein, R., Yssel, H., & de Vries, J. E. (1991). Interleukin 10 (il-10) and viral il-10 strongly reduce antigen-specific human t cell proliferation by diminishing the antigen-presenting capacity of monocytes via down'egulation of class h major histocompatibility complex expression. *Journal of Experimental Medicine*, *174*(4), 915–924. <https://doi.org/10.1084/jem.174.4.915>
- Walz, A., Peveri, P., Aschauer, H., & Baggiolini, M. (1987). Purification and amino acid sequencing of NAF, a novel neutrophil-activating factor produced by monocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *149*(2), 755–761. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(87\)90432-3](https://doi.org/10.1016/0006-291X(87)90432-3)

- Wan, Y., Shang, J., Graham, R., Baric, R. S., & Li, F. (2020). Receptor Recognition by the Novel Coronavirus from Wuhan: an Analysis Based on Decade-Long Structural Studies of SARS Coronavirus. *Journal of Virology*, *94*(7), 127–147. <https://doi.org/10.1128/jvi.00127-20>
- Wauters, E., van Mol, P., Garg, A. D., Jansen, S., van Herck, Y., Vanderbeke, L., Bassez, A., Boeckx, B., Malengier-Devlies, B., Timmerman, A., van Brussel, T., van Buyten, T., Schepers, R., Heylen, E., Dauwe, D., Dooms, C., Gunst, J., Hermans, G., Meersseman, P., ... Lambrechts, D. (2021). Discriminating mild from critical COVID-19 by innate and adaptive immune single-cell profiling of bronchoalveolar lavages. *Cell Research* *2021* *31*:3, *31*(3), 272–290. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-00455-9>
- Weber-Nordtt, R. M., Riley, J. K., Greenlund, A. C., Moore, K. W., Darnell, J. E., & Schreiber, R. D. (1996). Stat3 recruitment by two distinct ligand-induced, tyrosine- phosphorylated docking sites in the interleukin-10 receptor intracellular domain. *Journal of Biological Chemistry*, *271*(44), 27954–27961. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.44.27954>
- Weckmann, A. L., & Alcocer-Varela, J. (1996). Cytokine inhibitors in autoimmune disease. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, *26*(2), 539–557. [https://doi.org/10.1016/S0049-0172\(96\)80042-4](https://doi.org/10.1016/S0049-0172(96)80042-4)
- Weinreich, D. M., Sivapalasingam, S., Norton, T., Ali, S., Gao, H., Bhole, R., Musser, B. J., Soo, Y., Rofail, D., Im, J., Perry, C., Pan, C., Hosain, R., Mahmood, A., Davis, J. D., Turner, K. C., Hooper, A. T., Hamilton, J. D., Baum, A., ... Yancopoulos, G. D. (2021). REGN-COV2, a Neutralizing Antibody Cocktail, in Outpatients with Covid-19. *New England Journal of Medicine*, *384*(3), 238–251. [https://doi.org/10.1056/NEJMOA2035002/SUPPL\\_FILE/NEJMOA2035002\\_DATA-SHARING.PDF](https://doi.org/10.1056/NEJMOA2035002/SUPPL_FILE/NEJMOA2035002_DATA-SHARING.PDF)
- Weissleder, R., Lee, H., Ko, J., & Pittet, M. J. (2020). COVID-19 diagnostics in context. In *Science Translational Medicine* (Vol. 12, Issue 546, p. 1931). American Association for the Advancement of Science. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abc1931>
- WHO | Pneumonia of unknown cause – China. (2020). *WHO*. <http://www.who.int/csr/don/05-january-2020-pneumonia-of-unkown-cause-china/en/>
- WHO-convened global study of origins of SARS-CoV-2: China Part*. (2021). Retrieved May 26, 2022, from <https://www.who.int/publications/i/item/who-convened-global-study-of-origins-of-sars-cov-2-china-part>
- World Health Organization. (2021). *Guideline Clinical management of COVID-19 patients: living guideline, 18 November 2021*.
- Wu, C., Chen, X., Cai, Y., Xia, J., Zhou, X., Xu, S., Huang, H., Zhang, L., Zhou, X., Du, C., Zhang, Y., Song, J., Wang, S., Chao, Y., Yang, Z., Xu, J., Zhou, X., Chen, D., Xiong, W., ... Song, Y. (2020). Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With

Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Internal Medicine*, 180(7), 934–943. <https://doi.org/10.1001/JAMAINTERNMED.2020.0994>

Wu, Z., & McGoogan, J. M. (2020). Characteristics of and Important Lessons from the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72314 Cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. In *JAMA - Journal of the American Medical Association* (Vol. 323, Issue 13, pp. 1239–1242). American Medical Association. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.2648>

Zhang, Y., Wang, X., Li, X., Xi, D., Mao, R., Wu, X., Cheng, S., Sun, X., Yi, C., Ling, Z., Ma, L., Ning, Q., Fang, Y., Sun, B., & Wu, D. (2020). Potential contribution of increased soluble IL-2R to lymphopenia in COVID-19 patients. *Cellular & Molecular Immunology* 2020 17:8, 17(8), 878–880. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-0484-x>

Zhao, Y., Qin, L., Zhang, P., Li, K., Liang, L., Sun, J., Xu, B., Dai, Y., Li, X., Zhang, C., Peng, Y., Feng, Y., Li, A., Hu, Z., Xiang, H., Ogg, G., Ho, L. P., McMichael, A., Jin, R., ... Zhang, Y. (2020). Longitudinal COVID-19 profiling associates IL-1RA and IL-10 with disease severity and RANTES with mild disease. *JCI Insight*, 5(13). <https://doi.org/10.1172/JCI.INSIGHT.139834>

Zhernakova, A., Alizadeh, B. Z., Bevova, M., Leeuwen, M. A. van, Coenen, M. J. H., Franke, B., Franke, L., Posthumus, M. D., Heel, D. A. van, Steege, G. van der, Radstake, T. R. D. J., Barrera, P., Roep, B. O., Koeleman, B. P. C., & Wijmenga, C. (2007). Novel Association in Chromosome 4q27 Region with Rheumatoid Arthritis and Confirmation of Type 1 Diabetes Point to a General Risk Locus for Autoimmune Diseases. *American Journal of Human Genetics*, 81(6), 1284. <https://doi.org/10.1086/522037>

Zhou, P., Yang, X. lou, Wang, X. G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., Si, H. R., Zhu, Y., Li, B., Huang, C. L., Chen, H. D., Chen, J., Luo, Y., Guo, H., Jiang, R. di, Liu, M. Q., Chen, Y., Shen, X. R., Wang, X., ... Shi, Z. L. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 579(7798), 270–273. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>

# 10 Anhang

## 10.1 Tabelle 14 Anhang

**Tabelle 14: Aufnahme- und Entlassungsspiegel der analysierten Zytokine für alle COVID-19 Patienten, verstorbene und überlebende, sowie intensivmedizinisch und normalstationär behandelte Patienten aus Abb. 12: Pat. = Patienten; ICU=Intensive care unit; LW=Letzter Wert**

	<i>IL-8</i>	<i>IL-8 LW</i>	<i>p-Wert</i>	<i>IL-6</i>	<i>IL-6 LW</i>	<i>p-Wert</i>
<i>ALLE Pat.</i>	21,00	21,00	0,284	76,00	11,00	0,000
<i>Überlebend</i>	21,00	18,50	0,014	47,50	10,00	0,000
<i>Verstorben</i>	21,00	100,00	0,225	128,00	44,00	0,225
<i>ICU</i>	38,00	22,00	0,309	104,00	14,00	0,001
<i>Non ICU</i>	14,00	12,00	0,680	28,00	7,00	0,028
	<i>IL-1<math>\beta</math></i>	<i>IL-1<math>\beta</math> LW</i>	<i>p-Wert</i>	<i>IL-10</i>	<i>IL-10 LW</i>	<i>p-Wert</i>
<i>ALLE Pat.</i>	5,00	5,00	0,214	5,00	5,00	0,000
<i>Überlebend</i>	5,00	5,00	0,173	5,00	5,00	0,000
<i>Verstorben</i>	5,00	5,00	1,00	6,45	5,00	0,345
<i>ICU</i>	5,00	5,00	0,249	5,00	5,00	0,003
<i>Non ICU</i>	5,00	5,00	0,593	5,35	5,00	0,042
	<i>IL-2R</i>	<i>IL-2R LW</i>	<i>p-Wert</i>	<i>TNF<math>\alpha</math></i>	<i>TNF<math>\alpha</math> LW</i>	<i>p-Wert</i>
<i>ALLE Pat.</i>	1394,00	970,00	0,010	13,30	11,00	0,013
<i>Überlebend</i>	1301,00	957,00	0,001	11,95	10,60	0,056
<i>Verstorben</i>	1394,00	1548,00	0,893	19,90	12,20	0,138
<i>ICU</i>	1560,00	954,00	0,025	18,80	11,00	0,007
<i>Non ICU</i>	998,00	983,00	0,225	10,90	11,95	0,686

## 10.2 Verzeichnis akademischer Lehrer

Meine akademischen Lehrenden in Marburg waren:

Bartsch, Bauer, Becker, Bertoune, Bette, Bonaterra, Bösner, Chung, Cordes, de Cruppé, Decher, del Rey, Denkert, Eberhart, Feuser, Geks, Geraedts, Gress, Günther, Haberhausen, Hans-Helge, Hertl, Hildebrandt, Hofmann, Holzer, Hoyer, Jansen, Josephs, Kalder, Kann, Kanngießner, Karatolios, Keber, Kinscherf, Kircher, Kirschbaum, Kluge, Knorrenschild, Köhler, Kruse, Kühnert, Lill, Lohoff, Lüsebrink, Maier, Maurer, Meißner, Mey, Milani, Mirow, Nenadić, Neubauer, Neumüller, Nimsky, Oberwinkler, Oliver, Pagenstecher, Paul, Pedrosa, Pfützner, Plant, Preisig-Müller, Rastan, Renz, Rost, Ruchholtz, Rust, Schäfer, Schieffer, Schulze, Schütz, Seitz, Sekundo, Sevinc, Skevaki, Sommer, Stuck, Swaid, Szabo, Thieme, Timmermann, Vogelmeier, Vogt, Völlger, Wagner, Weber, Weihe, Westermann, Wiesmann, Wilhelm, Wilhelmi, Wrocklage, Wulf

### **10.3 Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt Frau PD Dr. Chrysanthi Skevaki für die Ermöglichung, die Unterstützung und die Betreuung meines Promotionsvorhabens und die Überlassung dieses aktuellen und interessanten Themas. Außerdem danke ich Frau Dr. Elisabeth Mack ganz herzlich für die Unterstützung der Studie Biomarker der COVID-19 Erkrankung ohne deren Beitrag n die vorliegende Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Für die Durchbringung des Ethikantrages und Studienleitung der fächerübergreifenden Studie „Biomarker der Covid-19 Erkrankung“ danke ich Prof.Dr. Andreas Neubauer, Prof. Dr. Harald Renz und Prof. Dr. Stephan Becker.

Ebenso bedanke ich mich bei meinen Doktorandenkollegen Margrit Gündisch, Rojin Etati, Carolin Riemer, Ihab Karim, Thomas Tarawneh, für die kollegiale Mitarbeit im Rahmen der Studie „Biomarker der COVID-19 Erkrankung“ und die gemeinsame Bewältigung der Probengewinnung und Durchsicht der Patientendaten. Ein besonderer Dank gilt darüber hinaus Margrit Gündisch für die Durchsicht meiner Arbeit, die vielen hilfreichen Verbesserungsvorschläge und den freundschaftlichen Beistand.

Ein weiterer Dank geht an Herr Dr. Dr. med. Tobias Bösel für die Korrektur dieser Arbeit. Auch Herr Dr. med. Borros Michael Arneht danke ich für die Durchsicht der Diskussion sehr.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei Doris Pfeifer und allen weiteren Mitarbeitenden im Zentrallabor des Uniklinikum Marburgs für die Einweisung in der Probenanalyse und die freundliche Zusammenarbeit bedanken. Prof. Dr. Ho Ryon Chung danke ich für seinen Rat bezüglich der statistischen Auswertung dieser Arbeit. Auch den Mitarbeitern der EDV des Zentrallabors Berthold Janssen, Patrick Junk, Dominik Pausch und Fabian Restle möchte ich für die Erklärung der Laborsysteme und die Datenextraktion aus diesen danken. Ein weiterer Dank geht an die Arbeitsgruppe von PD Dr. med. Chrysanthi Skevaki, die mich bei allen Fragen unterstützt hat.

Ebenso danke ich meinem Lebensgefährten und meiner Familie für die Unterstützung dieser Arbeit. Ein besonderer Dank gilt meiner Mutter für die außerordentliche Unterstützung meines Studiums, die Durchsicht meiner Arbeit und den Rückhalt, den Sie mir immer gibt.



## **10.4 Ehrenwörtliche Erklärung**

„Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin Marburg zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel „Biomarker der COVID-19 Erkrankung: Zytokinspiegel und deren prognostische Bedeutung“ im Institut für Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg unter Leitung von Frau PD Dr. Chrysanthi Skevaki ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe. Ich habe bisher an keinem in- oder ausländischen Medizinischen Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt. Ich versichere, dass ich sämtliche wörtlichen oder sinngemäßen Übernahmen und Zitate kenntlich gemacht habe. Mit dem Einsatz von Software zur Erkennung von Plagiaten bin ich einverstanden.

Vorliegende Arbeit wurde in folgenden Publikationsorganen ECCMID Kongress 2021 unter dem Titel „Biomarkers for COVID-19 diagnostics and prognostics“ (abstract number 3122) sowie einer entsprechenden Posterpräsentation auf selbigem Kongress.

Ich versichere, dass ich sämtliche wörtlichen oder sinngemäßen Übernahmen und Zitate kenntlich gemacht habe.

Mit dem Einsatz von Software zur Erkennung von Plagiaten bin ich einverstanden.

**Marburg, 26.05.2023 Unterschrift Doktorandin**

„Die Hinweise zur Erkennung von Plagiaten habe ich zur Kenntnis genommen.“

**Marburg, 26.05.2023 Unterschrift Referentin**