

Aus der Klinik für Hämatologie, Onkologie und Immunologie

Geschäftsführender Direktor:

Prof. Dr. Andreas Neubauer

des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg

Analyse von Differentialblutbildern bei Patienten mit COVID-19-Erkrankung

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten
Humanmedizin

dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

Carolin Riemer aus Wetzlar

Marburg, 2023

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg am: 29.06.2023

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin

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

Referent: Herr Prof. Dr. A. Neubauer

1. Korreferent: Herr PD Dr. N. Sommer

Inhaltsverzeichnis

1	Abbildungsverzeichnis.....	IV
2	Tabellenverzeichnis.....	VI
3	Abkürzungsverzeichnis.....	VII
4	Einleitung	1
4.1	Hintergrundinformationen.....	1
4.2	SARS-CoV-2.....	3
4.2.1	Humanpathogene Coronaviren.....	3
4.2.2	Klassifikation und Charakterisierung.....	3
4.2.3	Zelleintritt und Gewebetropismus	4
4.3	COVID-19	7
4.3.1	Symptome und Manifestationen der COVID-19-Erkrankung.....	7
4.3.2	Diagnostik.....	8
4.4	Pathophysiologie der COVID-19-Erkrankung und hämatologische Parameter	10
4.4.1	COVID-19-assoziierte Koagulopathie und Veränderung der Gerinnungsparameter	10
4.4.2	Veränderungen der Thrombozyten.....	11
4.4.3	Die unspezifische Immunantwort auf die SARS-CoV-2-Infektion.....	12
4.4.4	Veränderungen der neutrophilen Granulozyten	13
4.4.5	Veränderung der Makrophagen und Monozyten	15
4.4.6	Die spezifische Immunantwort und Veränderung der Lymphozyten	16
4.5	Fragestellung.....	19
5	Methoden	20
5.1	Studiendesign.....	20
5.2	Blutentnahme und Probenverarbeitung	21
5.3	Das Differentialblutbild	22
5.3.1	Messverfahren: Sysmex-Analysegeräte	22
5.3.2	Erythrozyten, Thrombozyten, Hämatokrit und mittleres korpuskuläres Volumen	22

5.3.3	Hämoglobinkonzentration	22
5.3.4	Mittlerer korpuskulärer Hämoglobingehalt und mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration	23
5.3.5	Leukozyten	23
5.3.6	Parameter und Referenzwerte.....	23
5.4	Anfertigung des Blutausstriches.....	24
5.4.1	Ausstrichmethode	24
5.4.2	Färbemethode.....	25
5.4.3	Mikroskopische Analyse.....	25
5.5	Statistische Methoden	25
6	Ergebnisse	27
6.1	Patientenkollektiv	27
6.2	Krankheitsverlauf	28
6.3	Auswertung der Differentialblutbilder und morphologischen Charakteristika der peripheren Blutzellen.....	35
6.3.1	Erythrozyten.....	35
6.3.2	Leukozyten	36
6.3.3	Thrombozyten	49
7	Diskussion.....	54
7.1	Erythrozyten	54
7.2	Leukozyten	55
7.2.1	Granulozyten	56
7.2.2	Monozyten	58
7.2.3	Lymphozyten	59
7.3	Thrombozyten	61
7.4	Limitationen der Studie.....	63
7.5	Schlussfolgerung	65
8	Zusammenfassung	66
9	Summary	68

10 Literaturverzeichnis.....	70
11 Anhang	83
11.1 Verzeichnis der akademischen Lehrer/-innen	83
11.2 Danksagung.....	83

1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Zeitliche Charakteristika der eingeschlossenen Patienten	33
Abbildung 2:	Vitalparameter der eingeschlossenen Patienten bei Aufnahme	34
Abbildung 3:	Zellen der Erythropoese in den Blutaussstrichen verschiedener COVID-19-Patienten.	36
Abbildung 4:	Basophile Tüpfelung der Erythrozyten in den Blutaussstrichen verschiedener COVID-19-Patienten	36
Abbildung 5:	Normal ausgeprägte Granulation des Zytoplasmas der neutrophilen Granulozyten in den Blutaussstrichen verschiedener Kontrollpatienten.....	37
Abbildung 6:	Hypogranulation des Zytoplasmas der neutrophilen Granulozyten in den Blutaussstrichen verschiedener COVID-19-Patienten	38
Abbildung 7:	Auftreten der Hypogranulation der neutrophilen Granulozyten in den Blutaussstrichen der eingeschlossenen Patienten	38
Abbildung 8:	Granulierung des Zytoplasmas der neutrophilen Granulozyten in den Blutaussstrichen verschiedener COVID-19-Patienten.	39
Abbildung 9:	Zytoplasmatische Charakteristika der neutrophilen Granulozyten in den Blutaussstrichen verschiedener COVID-19-Patienten.	40
Abbildung 10:	Bilobierte neutrophile Granulozyten in den Blutaussstrichen verschiedener COVID-19-Patienten	42
Abbildung 11:	Monolobierte neutrophile Granulozyten mit auffälliger Chromatinkondensation in den Blutaussstrichen verschiedener COVID-19-Patienten	43
Abbildung 12:	Dysplastische Kernformationen mit pyknotisch verdichtetem Kernchromatin der neutrophilen Granulozyten in den Blutaussstrichen verschiedener COVID-19-Patienten.....	43
Abbildung 13:	Neutrophile Granulozyten mit ringförmigen Kernen in den Blutaussstrichen verschiedener COVID-19-Patienten	44
Abbildung 14:	links verschobene Granulopoese in den Blutaussstrichen verschiedener COVID-19-Patienten.....	44
Abbildung 15:	Ausgeprägte Vakuolisierung der Monozyten in den Blutaussstrichen verschiedener COVID-19-Patienten	45
Abbildung 16:	Vergleich der Monozytenkonzentration der eingeschlossenen COVID-19-Patienten mit milden und schweren Krankheitsverläufen zum Aufnahmezeitpunkt.....	46

Abbildung 17:	Atypische Lymphozyten in den Blutausstrichen verschiedener COVID-19-Patienten	47
Abbildung 18:	Morphologische Charakteristika der Lymphozyten in den Blutausstrichen verschiedener COVID-19-Patienten.	48
Abbildung 19:	Vergleich der Konzentration nicht-atypischer Lymphozyten der eingeschlossenen COVID-19-Patienten mit milden und schweren Krankheitsverläufen zum Aufnahmezeitpunkt	49
Abbildung 20:	Auftreten von Riesenthrombozyten in den Blutausstrichen der eingeschlossenen Patienten zum Aufnahmezeitpunkt.....	50
Abbildung 21:	Riesenthrombozyten in den Blutausstrichen verschiedener COVID-19-Patienten	50

2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Referenzwerte Differentialblutbild	23
Tabelle 2:	Färbeprotokoll.....	25
Tabelle 3:	Charakteristika der eingeschlossenen Patienten	29
Tabelle 4:	Hämatologische Parameter der eingeschlossenen Patienten bei Aufnahme.....	51
Tabelle 5:	Hämatologische Parameter der COVID-19-Patienten mit schwerem und leichten Krankheitsverlauf bei Aufnahme.....	52

3 Abkürzungsverzeichnis

2019-nCoV.....	<i>2019 novel coronavirus</i>
abs.....	absolute Konzentration
ACE2.....	<i>Angiotensin-converting enzyme 2</i>
ARDS.....	Akutes Atemwegssyndrom, <i>Acute Respiratory Distress Syndrome</i>
BMI.....	Body-Mass-Index
CAC.....	<i>COVID-19-assoziierte Koagulopathie</i>
CD.....	<i>Cluster of Differentiation</i>
COVID-19.....	<i>coronavirus disease 2019</i>
CT.....	Computertomographie
EDTA.....	Ethylendiamintetraacetat
Hb.....	Hämoglobinkonzentration
HCoV.....	humanpathogenes Coronavirus
Hkt.....	Hämatokrit
HLH.....	Hämophagozytische Lymphohistiozytose
IFN.....	Interferon
IL.....	Interleukin
KI.....	Konfidenzintervall
LGL.....	große granulierte Lymphozyten, <i>large granular lymphocyte</i>
MCH.....	mittlerer korpuskulärer Hämoglobingehalt
MCHC.....	mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration
MCV.....	mittleres korpuskuläres Volumen
MERS.....	<i>Middle East respiratory syndrome</i>
MERS-CoV.....	<i>Middle East respiratory syndrome-related coronavirus</i>
NCBI.....	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
NK-Zellen.....	Natürliche Killerzellen
NLR.....	Neutrophilen/Lymphozyten-Quotient, <i>neutrophil to lymphocyte ratio</i>
PCR.....	Polymerase-Kettenreaktion, <i>polymerase chain reaction</i>
PLT.....	<i>Platelet</i> , Thrombozyt
RBC.....	<i>Red Blood Cell</i> , Erythrozyt
RNA.....	Ribonukleinsäure
SARS.....	schweres akutes Atemwegssyndrom, <i>severe acute respiratory syndrome</i>
SARS-CoV.....	<i>severe acute respiratory syndrome coronavirus</i>
SARS-CoV-2.....	<i>severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2</i>
SARSr-CoV.....	<i>SARS-related coronavirus</i>
WHO.....	Weltgesundheitsorganisation, <i>World Health Organization</i>

4 Einleitung

4.1 Hintergrundinformationen

„Corona-Pandemie“ – das Wort des Jahres 2020 steht synonym für eine Zeit, in der die Welt von einem „neuartigen Virus“ in Atem gehalten wurde.¹ Ihren Ursprung soll die weltweite Krise in Wuhan, der Hauptstadt der Provinz Hubei in der Volksrepublik China, gefunden haben, wo die nationalen Gesundheitsbehörden am 31.12.2019 den Ausbruch einer akuten „Lungenerkrankung“ meldeten. Bis zum 03. Januar 2020 wurde die Weltgesundheitsorganisation (WHO) über insgesamt 44 Fälle einer Pneumonie unbekannter Ursache informiert, deren Ausgangspunkt den chinesischen Behörden zu Folge der Huanan Seafood Market in Wuhan gewesen sein soll.² Als ursächlicher Krankheitserreger wurde ein neuartiger Coronavirus-Untertyp identifiziert, dessen vollständig sequenziertes Genom bereits am 07. Januar 2020 veröffentlicht wurde und der vom National Center for Biotechnology Information (NCBI) als Wuhan seafood market pneumonia virus isolate Wuhan-Hu-1 in die Taxonomie der Datenbank unter der NCBI-GenBank-Nummer MN908947 aufgenommen wurde.^{3,4} Nachdem der neu entdeckte Erreger zunächst als 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) bezeichnet wurde, erfolgte am 11.02.2020 von der Coronavirus Study Group des International Committee on Taxonomy of Viruses die Umbenennung in severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2 (SARS-CoV-2).⁵ Die durch SARS-CoV-2 ausgelöste Lungenerkrankung wurde zur gleichen Zeit von der WHO „coronavirus disease 2019“ (COVID-19) getauft.⁶

Während das Potential für eine Übertragung von Mensch zu Mensch zunächst kontrovers diskutiert wurde, meldeten thailändische Behörden bereits am 13. Januar den ersten bestätigten Fall außerhalb von China.⁷ Über Japan, Südkorea und die USA breitete sich das Virus weltweit aus, sodass COVID-19 am 11.03.2020 von der WHO offiziell als Pandemie klassifiziert wurde, zu einem Zeitpunkt, als bereits über 118.000 Fälle in über 114 Ländern bestätigt worden waren.⁸ Das dynamische Infektionsgeschehen hatte zu diesem Zeitpunkt auch Deutschland erreicht. Schon am 27. Januar 2020 wurde der erste Corona-Fall in dem bayerischen Landkreis Starnberg bestätigt.⁹ Auch wenn zu Beginn noch eine gezielte

¹ Vgl. Gesellschaft für deutsche Sprache e. V. (29.01.2021).

² Vgl. World Health Organization (2020b), S. 1.

³ Vgl. Wu et al. (2020b), S. 266.

⁴ Vgl. National Center for Biotechnology Information (2020).

⁵ Vgl. World Health Organization (2020c), S. 1.

⁶ Vgl. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses (2020), S. 536.

⁷ Vgl. World Health Organization (2020b), S. 1.

⁸ Vgl. World Health Organization (2020a), S. 1.

⁹ Vgl. Hillebrandt (27.1.2021).

Nachverfolgung von Kontaktpersonen und eine Unterbrechung einzelner Infektionsketten möglich waren, so sahen sich Wissenschaft und Politik in den nächsten Wochen mit rasant steigenden Infektionszahlen konfrontiert. Um die Ausbreitung des Virus einzudämmen und eine Überlastung des Gesundheitssystems zu verhindern, wurden von Bund und Ländern zahlreiche Gesetze und Verordnungen beschlossen. Maskenpflicht, Quarantäne, Abstandsregeln, Kontaktbeschränkungen, Hygieneverordnungen und nicht zuletzt Lockdown waren Begriffe, die aus den Medien nicht mehr wegzudenken waren und eine neue Realität prägten. Trotz der politischen Maßnahmen und Anstrengungen auf allen Ebenen des öffentlichen Gesundheitswesens infizierten sich in Deutschland innerhalb eines Jahres über 2 Millionen Menschen.¹⁰

Während sich COVID-19 somit innerhalb weniger Wochen von vereinzelt Krankheitsfällen in China zu einer globalen Herausforderung entwickelte, forschten Virologen, Epidemiologen und Ärzte mit Hochdruck daran, die Ausbreitung und Pathogenese des neuen Virus zu entschlüsseln, die Pathophysiologie der Erkrankung zu verstehen und diagnostische sowie therapeutische Ansätze im Kampf gegen COVID-19 zu entwickeln. Im Folgenden sollen in diesem Zusammenhang zunächst die aktuellen Erkenntnisse und Forschungsergebnisse zu SARS-CoV-2 und COVID-19 mit Fokus auf hämatologische Parameter und morphologische Veränderungen der Blutzellen bei COVID-19-Patienten dargestellt werden.

¹⁰ Vgl. Robert Koch-Institut (2021), S. 1.

4.2 SARS-CoV-2

4.2.1 Humanpathogene Coronaviren

Bei SARS-CoV-2 handelt es sich um ein neu entdecktes humanpathogenes Coronavirus aus der Familie der Coronaviridae. Während Coronaviren unter Vögeln und Säugetieren weit verbreitet sind, sind bis heute neben SARS-CoV-2 nur sechs weitere Spezies humanpathogener Coronaviren (HCoV) bekannt. Vier dieser HCoV – die Alphacoronaviren HCoV-229E und HCoV-NL63 sowie die Betacoronaviren HCoV-OC43 und HCoV-HKU1 – gehören zu den weltweit endemisch zirkulierenden Spezies, die in erster Linie als typische Auslöser milder, selbst-limitierender Erkrankungen des Respirationstraktes bekannt sind. Schwere Verläufe mit Beteiligung der unteren Atemwege sind darüber hinaus bei Neugeborenen, älteren Menschen und Patienten mit Vorerkrankungen möglich.^{11,12}

Die Betacoronaviren severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV), Middle East respiratory syndrome–related coronavirus (MERS-CoV) und SARS-CoV-2 sind im Gegensatz zu den bekannten endemischen Coronaviren erst vor kurzer Zeit auf den Menschen übergetreten und können schwerer verlaufende Atemwegserkrankungen hervorrufen.¹³ Als erste Pandemie des 21. Jahrhunderts verursachte das SARS-CoV, das sich von der chinesischen Provinz Guangdong aus ausbreitete, in der Zeit von 2002 bis 2003 weltweit über 8.000 Fälle des schweren akuten Atemwegssyndroms (SARS), an dem fast 800 Menschen starben. Etwa 10 Jahre nach dem Auftreten von SARS wurde im April 2012 erstmals MERS-CoV als Auslöser der potentiell lebensbedrohlichen Infektionskrankheit Middle East respiratory syndrome (MERS) auf der arabischen Halbinsel nachgewiesen.¹⁴ Bis Ende Januar 2020 wurden der WHO zufolge weltweit insgesamt 2.519 MERS-Fälle und darunter 866 Todesfälle bestätigt; der Großteil der gemeldeten Erkrankungen trat dabei in Saudi-Arabien auf.¹⁵ Zusammen mit SARS und MERS stellt die aktuelle COVID-19-Pandemie somit die dritte dokumentierte Übertragung eines zoonotischen Coronavirus auf den Menschen innerhalb von zwei Jahrzehnten dar, die zu einem schweren Infektionsgeschehen mit globaler Reichweite führt.¹⁶

4.2.2 Klassifikation und Charakterisierung

Die Sequenzierung des neu entdeckten Coronavirus war der Ausgangspunkt für die Entschlüsselung der Verwandtschaftsbeziehungen zwischen SARS-CoV-2 und bereits

¹¹ Vgl. Fehr/Perlman (2015), S. 12.

¹² Vgl. Cui et al. (2019), S. 181.

¹³ Vgl. Cui et al. (2019), S. 181.

¹⁴ Vgl. Fehr/Perlman (2015), S. 12–13.

¹⁵ Vgl. World Health Organization (01.02.2021), S. 1.

¹⁶ Vgl. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses (2020), S. 536.

identifizierten Coronaviren. Wu et al. konnten bei einem mit SARS-CoV-2 infizierten Patienten, der Ende Dezember im Central Hospital of Wuhan behandelt wurde, das neue Virus erstmalig isolieren und vollständig sequenzieren. Die phylogenetische Analyse ergab eine große Ähnlichkeit zu einer Gruppe der SARS-like Betacoronaviren. Mittels weiterer Sequenzanalysen aus Proben von infizierten Patienten aus Wuhan konnte gezeigt werden, dass die Übereinstimmung zwischen SARS-CoV und SARS-CoV-2 bezogen auf die gesamte Nukleotidsequenz bei etwa 79% liegt, der Grad der Sequenzübereinstimmung allerdings in Abhängigkeit von dem untersuchten Gen variiert.^{17,18,19} Als deutlich geringer stellte sich die Ähnlichkeit zwischen SARS-CoV-2 und MERS-CoV heraus. Auf Basis dieser Ergebnisse wurde SARS-CoV-2 der Spezies SARS-related coronavirus (SARSr-CoV) zugeordnet, zu der auch SARS-CoV gehört.^{20,21}

Die genetische Information von SARS-CoV-2 liegt, wie für Coronaviren typisch, in Form einer einzelsträngigen, positiv-orientierten Ribonukleinsäure (RNA) vor, die etwa 30.000 Nukleotide umfasst und an beiden Enden untranslatierte Regionen aufweist, die nicht für Proteine codieren.²² Im codierenden Bereich der RNA liegen u.a. Gene für vier verschiedene Strukturproteine, aus denen sich die Viruspartikel zusammensetzen, und einen Replikase-Komplex, der für die Vervielfältigung des Virusgenoms zuständig ist.²³

4.2.3 Zelleintritt und Gewebetropismus

Morphologisch stellt sich SARS-CoV-2 in Form von kugelförmig bis pleomorphen Viruspartikeln mit einem Durchmesser von 80-140 nm dar. In der Virushülle sind 9 bis 12 nm lange Oberflächen-Glykoproteine verankert, die auch als Spikes bezeichnet werden.²⁴ Funktionell setzt sich dieses Spike-Protein aus einer S1-Domäne, welche die Bindung an die Oberflächenrezeptoren der Zielzellen vermittelt, und einer S2-Domäne, welche den Eintritt des Virus in die Zielzelle über den zellulären Vorgang der Endozytose bewirkt, zusammen. Als Zielstruktur für neutralisierende Antikörper, war das Spike-Protein schon zu Beginn der Impfstoffentwicklung von besonderem Interesse.²⁵

¹⁷ Vgl. Lu et al. (2020), S. 570.

¹⁸ Vgl. Wu et al. (2020b), S. 266–268.

¹⁹ Vgl. Zhou et al. (2020b), S. 270–271.

²⁰ Vgl. Lu et al. (2020), S. 570–572.

²¹ Vgl. Zhou et al. (2020b), S. 271.

²² Vgl. National Center for Biotechnology Information (2020).

²³ Vgl. Wu et al. (2020b), S. 266.

²⁴ Vgl. Zhu et al. (2020), S. 730.

²⁵ Vgl. Liu et al. (2020b), S. 450–456.

Ebenso wie SARS-CoV verwendet SARS-CoV-2 das transmembranäre Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) als Rezeptor für die Adsorption an die Wirtszelle.^{26,27} Die Fusion mit der Zellmembran der Zielzelle und der Eintritt in diese wird dabei durch die transmembrane Serinprotease 2 (TMPRSS2) unterstützt, welche das virale Spike-Protein durch proteolytische Spaltung in eine S1- und eine S2-Untereinheit aktiviert.²⁸ Sowohl ACE2 als auch TMPRSS2 werden in besonders hohen Konzentrationen von respiratorischen Flimmerepithelzellen und schleimproduzierenden Becherzellen der Nasenschleimhaut exprimiert, wodurch die oberen Atemwege als wichtige Eintrittspforte und Erregerreservoir von entscheidender Bedeutung für die Übertragung des Virus sind.²⁹ Auch Typ-II-Pneumozyten, die zu den spezialisierten Zellen des Alveolarepithels gehören, exprimieren ACE2 in besonders hohen Konzentrationen; außerhalb des Respirationstraktes können die ACE2-Rezeptoren auf Enterozyten, Gefäßendothelzellen sowie Nierenepithelzellen nachgewiesen werden.³⁰

In Synergie mit dem TMPRSS2-vermittelten S-Protein-Priming ist die Spaltung des Spike-Proteins durch die wirtseigene Protease Furin für die Invasion der Wirtszelle von entscheidender Bedeutung. Hierfür besitzt SARS-CoV-2 eine einzigartige Aminosäure-Insertion zwischen der S1- und der S2-Domäne des Spike-Proteins, die sogenannte Furin-Spaltstelle.^{31,32} Während diese spezifische Aminosäuresequenz im Fokus einer Debatte um den möglichen Virusursprung steht, scheint die Furin-Spaltung des Spike-Proteins zudem in direktem Zusammenhang mit der Infektiosität des SARS-CoV-2-Virus und seiner Varianten zu stehen.³³ Die Furin-Spaltungsaktivität wird aktuellen Untersuchungen zu Folge durch eine O-Glykosylierung in der Nachbarschaft der Furin-Spaltstelle herunterreguliert, wodurch die Penetration der Wirtszelle für das SARS-CoV-2-Virus erschwert wird. Virusvarianten wie die besorgniserregenden Varianten Alpha und Delta, welche durch eine Mutation des Spike-Proteins an der Position P681 gekennzeichnet sind, sind in der Lage, die Glykosylierung zu hemmen und die Furin-Spaltung folglich zu steigern. Diese Modulation könnte ein Grund für die erhöhte Infektiosität einiger Virusvarianten sein und ist gleichzeitig ein potentieller Ansatzpunkt für die Entwicklung pharmakotherapeutischer Strategien.³⁴

²⁶ Vgl. Lu et al. (2020), S. 573.

²⁷ Vgl. Zhou et al. (2020b), S. 272.

²⁸ Vgl. Hoffmann et al. (2020b), 275.

²⁹ Vgl. Sungnak et al. (2020), S. 682–684.

³⁰ Vgl. Hamming et al. (2004), S. 635.

³¹ Vgl. Hoffmann et al. (2020a).

³² Vgl. Essalmani et al. (2022).

³³ Vgl. Garry (2022).

³⁴ Vgl. Zhang et al. (2021b).

Des Weiteren erhoffen sich Wissenschaftler aus der Erkenntnis, dass der Gewebetropismus neben der Expression des ACE2-Rezeptors durch das Protein Neuropilin-1 (NRP1) beeinflusst wird, neue Möglichkeiten einer antiviralen Therapie. Mithilfe einer spezifischen Aminosäuresequenz, welche in Folge der Furin-Spaltung entsteht, ist SARS-CoV-2 in der Lage, NRP1, welches ebenfalls in den oberen Atemwegen, der Lunge sowie dem Riechepithel lokalisiert werden kann, zu binden und zur Invasion von Wirtszellen zu nutzen.^{35,36}

³⁵ Vgl. Cantuti-Castelvetri et al. (2020).

³⁶ Vgl. Daly et al. (2020).

4.3 COVID-19

4.3.1 Symptome und Manifestationen der COVID-19-Erkrankung

Unter Berücksichtigung großer interindividueller Schwankungen beläuft sich die Inkubationszeit bis zum Eintreten initialer Symptome aktuellen Untersuchungen zu Folge auf etwa vier bis sechs Tage. Auch die klinische Präsentation ist extrem variabel und weist ein breites Symptomspektrum auf. Es können sowohl symptomfreie und milde Krankheitsbilder als auch schwere intensivpflichtige Verläufe beobachtet werden.³⁷ Vor allem ältere Personen und solche mit Komorbiditäten wie arterieller Hypertonie, chronischen Lungenerkrankungen, Herz-Kreislauf-Erkrankungen sowie Krebserkrankungen haben ein erhöhtes Risiko für schwere Krankheitsverläufe.^{38,39} Laut einer australischen Übersichtsarbeit zu diesem Thema stellt Diabetes mellitus in diesem Zusammenhang einen besonders ausschlaggebenden Risikofaktor dar.⁴⁰ Männliche Patienten sowie Patienten mit Übergewicht sind ebenfalls vermehrt von schweren Verläufen und Komplikationen betroffen und haben ein höheres Mortalitätsrisiko.^{41,42}

Initial manifestiert sich eine SARS-CoV-2-Infektion bei der Mehrzahl der Patienten mit Fieber und trockenem Husten. Abgeschlagenheit, Atembeschwerden, Gliederschmerzen, Hals- oder Kopfschmerzen, Schnupfen und Appetitlosigkeit zählen zu weiteren typischen Manifestationen. Neben den genannten respiratorischen und grippeähnlichen Symptomen konnten allerdings auch gastrointestinale Beschwerden sowie eine Beeinträchtigung des Geruchs- und Geschmackssinns, welche als Anzeichen für eine Beteiligung des Nervensystems interpretiert werden kann, dokumentiert werden.^{43,44}

Nach dem Konzept des dreiphasigen Verlaufs der COVID-Erkrankung, das von Siddiqi und Mehra postuliert wurde, folgt auf die initiale Infektionsphase mit hoher Virusreplikation in den oberen Atemwegen eine pulmonale Phase, in der es zu einer direkt Virus-vermittelten Schädigung des Alveolarepithels kommt.^{45,46,47} Als Folge der daraus resultierenden Gewebestruktion und Entzündungsprozesse kann sich ein Akutes Atemnotsyndrom (ARDS)

³⁷ Vgl. Robert Koch-Institut (26.11.2021).

³⁸ Vgl. Robert Koch-Institut (26.11.2021).

³⁹ Vgl. WHO-China Joint Mission, S. 12.

⁴⁰ Vgl. Rod et al. (2020).

⁴¹ Vgl. Ortolan et al. (2020), S. 498.

⁴² Vgl. Popkin et al. (2020).

⁴³ Vgl. Jiang et al. (2020), S. 1545–1547.

⁴⁴ Vgl. Vaira et al. (2020).

⁴⁵ Vgl. Siddiqi/Mehra (2020).

⁴⁶ Vgl. Wölfel et al. (2020), S. 468.

⁴⁷ Vgl. Xu et al. (2020b).

entwickeln, welches die häufigste Komplikation schwerer COVID-19-Verläufe darstellt und zu einer raschen Zustandsverschlechterung der COVID-19-Patienten führen kann. Schädigungen anderer Organsysteme, wie beispielsweise im Rahmen eines Myokardinfarktes oder einer akuten Niereninsuffizienz treten dabei deutlich seltener auf.⁴⁸ Als histopathologisches Korrelat des ARDS in Folge der SARS-CoV-2-Infektion konnten ein intraalveoläres Lungenödem mit einem zellreichen Exsudat festgestellt werden. Zudem zählen die Schädigung der Pneumozyten sowie die Bildung hyaliner Membranen neben einer Vielzahl weiterer mikroskopischer Veränderungen zu den charakteristischen Autopsiebefunden.⁴⁹

Schon zu Pandemiebeginn konnte festgestellt werden, dass sich das ARDS der COVID-19-Patienten hinsichtlich klinischer, radiologischer, atemmechanischer und laborchemischer Befunde von dem typischen ARDS unterscheidet. So konnte eruiert werden, dass zwischen Symptombeginn und Einsetzen des ARDS bei COVID-19-Patienten im Schnitt etwa 8 bis 12 Tage liegen, was über der in der Berliner Definition des ARDS festgelegten Zeitspanne von maximal einer Woche liegt.^{50,51} Darüber hinaus wiesen frühe Studienergebnisse aus Italien darauf hin, dass schwer erkrankte und beatmete COVID-19-Patienten im Kontrast zum typischen ARDS eine überraschend hohe Lungendehnbarkeit bei gleichzeitig ausgeprägter Hypoxie präsentieren, was den Autoren zufolge durch ein Fehlen der reflektorischen Vasokonstriktion der Lungengefäße und folglich einer Hyperperfusion nicht ventilierter Lungenareale begründet werden kann.⁵² Weitere Untersuchungen führten zur aktuell etablierten Lehrmeinung, welcher zu Folge zwei unterschiedliche Phänotypen der COVID-19-assoziierten respiratorischen Insuffizienz existieren, woraus die außerordentliche Relevanz differenzierter und individueller intensivmedizinischer Therapieschemata für die unterschiedlichen Patientengruppen resultiert.⁵³

4.3.2 Diagnostik

Für die Diagnostik der SARS-CoV-2-Infektion stellt der direkte Virusnachweis mittels der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) den aktuellen Goldstandard dar. Hierbei wird die virale RNA in einem ersten Schritt mit Hilfe des Enzyms reverse Transkriptase in komplementäre DNA (cDNA) umgeschrieben und anschließend amplifiziert. Die Probenentnahme sollte den Richtlinien des RKI zu Folge in erster Linie aus den oberen Atemwegen erfolgen. Der Nasopharynxabstrich stellt dabei den Standard der Materialgewinnung dar, alternativ kann

⁴⁸ Vgl. Jiang et al. (2020).

⁴⁹ Vgl. Xu et al. (2020b).

⁵⁰ Vgl. Li/Ma (2020).

⁵¹ Vgl. Ranieri et al. (2012), S. 2528.

⁵² Vgl. Gattinoni et al. (2020b), S. 1299–1300.

⁵³ Vgl. Gattinoni et al. (2020a).

allerdings auch ein Oropharynxabstrich oder Probenentnahme aus den tiefen Atemwegen durchgeführt werden.⁵⁴

Als Ergänzung der virologischen Diagnostik hat sich die Bildgebung mittels Computertomographie (CT) insbesondere für die Diagnostik fortgeschrittener COVID-19-Erkrankungen mit pulmonaler Beteiligung bewährt.⁵⁵ Studienergebnissen zu Folge kann der CT-Aufnahme des Thorax im direkten Vergleich eine höhere Sensitivität als der PCR-Testung zugewiesen werden, weshalb ihr Einsatz als Screening Methode bei Verdacht auf eine COVID-Pneumonie diskutiert wurde.⁵⁶ Zu den charakteristischen CT-Befunden, welche eine Klassifikation des Schweregrades der COVID-19-Pneumonie sowie eine Risikostratifizierung der Patienten ermöglichen, gehören unter anderem Milchglasstrübungen, Konsolidierungen und Verdickungen der inter- und intralobulären Septen.⁵⁷

⁵⁴ Vgl. Robert Koch-Institut (25.01.2021).

⁵⁵ Vgl. Long et al. (2020).

⁵⁶ Vgl. Ai et al. (2020), 40.

⁵⁷ Vgl. Ye et al. (2020).

4.4 Pathophysiologie der COVID-19-Erkrankung und hämatologische Parameter

Im Kontext der extrapulmonalen, systemischen Manifestationen der COVID-19-Erkrankung werden verschiedene Erklärungsansätze, wie die Schädigung des Endothels, die Entstehung einer systemischen Endotheliitis, thromboembolische Prozesse und eine Dysregulation der Immunantwort diskutiert. Diese Pathomechanismen hängen in besonderem Ausmaß mit Elementen und Funktionen des hämatologischen und hämatopoetischen Systems zusammen. Daher sind die Auswirkungen der SARS-CoV-2-Infektion auf die Anzahl und Funktion der unterschiedlichen Blutzellen und damit auf die Parameter des Blutbildes von besonderem Interesse. Die folgende Darstellung verbindet zentrale Aspekte der Pathophysiologie der COVID-19-Erkrankung mit den physiologischen Grundlagen der Immunantwort und den beobachteten Veränderungen der hämatologischen Parameter.

4.4.1 COVID-19-assoziierte Koagulopathie und Veränderung der Gerinnungsparameter

Im Verlauf der COVID-19-Pandemie wurde ein Zusammenhang zwischen der SARS-CoV-2-Infektion und dem Auftreten von thromboembolischen Ereignissen beobachtet. Einer systematischen Übersichtsarbeit zufolge liegt die Prävalenz venöser Thromboembolien (VTE) im Verlauf der COVID-19-Erkrankung im Mittel bei 14%.⁵⁸ Neben den venös-thrombotisch und thromboembolischen Ereignissen konnten zusätzlich arteriell-thrombotische Komplikationen mit einer erhöhten Rate an myokardialen und zerebralen Ischämien verzeichnet werden.⁵⁹ Diese Komplikationen treten in besonderem Ausmaß bei COVID-19-Patienten mit schweren Krankheitsverläufen und intensivmedizinischer Behandlung auf und stehen in Verbindung mit einem erhöhten Mortalitätsrisiko.⁶⁰

Die COVID-19-assoziierte Aktivierung des Gerinnungssystems mit dem Resultat eines prothrombotischen Zustandes ist in seiner Pathogenese noch nicht vollständig verstanden und lässt sich aktuellen Forschungsergebnissen zufolge auf ein komplexes Zusammenspiel zwischen SARS-CoV-2, der pulmonalen und systemischen Hyperinflammation sowie einer Schädigung des Gefäßendothels zurückzuführen.⁶¹ Während Tang et al. im Februar 2020 zeigten, dass bei der Mehrzahl der an COVID-19 verstorbenen Patienten eine disseminierte intravasale Gerinnung (DIC) anhand der Kriterien der International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) diagnostiziert werden konnte, wurde im Verlauf der Pandemie für das

⁵⁸ Vgl. Nopp et al. (2020), S. 1182–1184.

⁵⁹ Vgl. Boonyawat et al. (2020).

⁶⁰ Vgl. Malas et al. (2020), S. 5.

⁶¹ Vgl. Iba et al. (2020).

SARS-CoV-2 ausgelöste hämostaseologische Ungleichgewicht der Begriff der COVID-19-assozierten Koagulopathie (CAC) eingeführt.^{62,63}

Als charakteristisches histopathologisches Korrelat der Hyperkoagulabilität präsentieren COVID-19-Patienten Mikrothromben in Lungenkapillaren sowie in arteriellen und venösen Lungengefäßen.^{64,65} Darüber hinaus konnten in Obduktionsstudien okkludierende Mikrothromben in zahlreichen weiteren Organen, wie der Leber, Niere und dem Herzen nachgewiesen werden. Diese Befunde unterstützen die Theorie einer COVID-19-assozierten Mikroangiopathie, welche maßgeblich an der Entstehung des Multiorganversagens bei schwer erkrankten COVID-19-Patienten beteiligt sein könnte.^{66,67}

Dabei korrelieren mehrere Gerinnungsparameter zum Aufnahmezeitpunkt mit der Schwere des klinischen Verlaufs und der Prognose der Patienten. So konnte gezeigt werden, dass die Prothrombinzeit und D-Dimer-Konzentration bei Aufnahme höher waren, wenn die Patienten im Laufe des stationären Aufenthaltes intensivmedizinisch behandelt werden mussten.⁶⁸ Erhöhte D-Dimer-Spiegel, eine verlängerte Prothrombinzeit sowie erniedrigte Antithrombin- und Fibrinogenkonzentrationen bei Aufnahme sind zudem zuverlässige Prädiktoren einer erhöhten Mortalität von COVID-19-Patienten.⁶⁹ In verschiedenen Studien wurde eine D-Dimer-Konzentration über 1,0 µg/ml bzw. 2,0 µg/ml als unabhängiger Risikofaktor einer erhöhten Krankenhaussterblichkeit definiert.^{70,71}

4.4.2 Veränderungen der Thrombozyten

Die Thrombozytopenie ist eine häufig beobachtete Blutbildveränderung bei COVID-19-Patienten und stellt einen unabhängigen Risikofaktor für eine erhöhte Krankenhaussterblichkeit dar.^{72,73} Guan et al. zu Folge tritt die Thrombozytopenie bei 35,2% aller COVID-19-Patienten zum Aufnahmezeitpunkt und dabei signifikant häufiger bei Patienten mit schweren Verläufen auf.⁷⁴ Auch weitere Studien konnten zeigen, dass die Thrombozytenzahlen bei schwer Erkrankten und Patienten, die an COVID-19 verstarben,

⁶² Vgl. Tang et al. (2020), S. 845.

⁶³ Vgl. Iba et al. (2021).

⁶⁴ Vgl. Dolhnikoff et al. (2020).

⁶⁵ Vgl. Ackermann et al. (2020), S. 125.

⁶⁶ Vgl. Varga et al. (2020).

⁶⁷ Vgl. Rapkiewicz et al. (2020), S. 4–7.

⁶⁸ Vgl. Huang et al. (2020), S. 501.

⁶⁹ Vgl. Tang et al. (2020), S. 845.

⁷⁰ Vgl. Zhang et al. (2020a), S. 1327.

⁷¹ Vgl. Zhou et al. (2020a), S. 1058.

⁷² Vgl. Liu et al. (2020c).

⁷³ Vgl. Yang et al. (2020b).

⁷⁴ Vgl. Guan et al. (2020), S. 1716 (siehe Tabelle 2).

deutlich erniedrigt waren.^{75,76} Für die Entstehung der Thrombozytopenie bestehen mehrere Erklärungsansätze: Neben einer SARS-CoV-2-vermittelten Suppression der Megakaryozytenausreifung werden eine Autoantikörper-vermittelte Thrombozytendestruktion, eine direkte Interaktion zwischen Virus und Thrombozyten sowie ein übermäßiger Thrombozytenverbrauch durch eine Virus-getriggerte Hyperkoagulabilität und intravasale Gerinnung diskutiert.⁷⁷ Interessanterweise konnten Qu et al. zeigen, dass das Auftreten eines Peaks in der Thrombozytenkonzentration bei gleichzeitig hohem Thrombozyten-Lymphozyten-Quotienten während des stationären Aufenthaltes mit einer schlechten Prognose in Zusammenhang gebracht werden kann. Dies könnte den Autoren zufolge auf eine Aktivierung der Thrombozyten durch die überschießende Immunreaktion des Körpers auf die SARS-CoV-2-Infektion hindeuten.⁷⁸

Neben den beobachteten quantitativen Thrombozytenveränderungen konnte im Rahmen von lichtmikroskopischen Betrachtungen der Blutausstriche von COVID-19-Patienten das vermehrte Auftreten abnorm vergrößerter Thrombozyten festgestellt werden. Neben diesen charakteristischen Riesenthrombozyten finden Veränderungen der Granulierung sowie die Ausbildung zytoplasmatischer Pseudopodien in der Literatur Erwähnung. Darüber hinaus werden in mehreren Studien zirkulierende Megakaryozyten als Korrelat einer gestörten Thrombozytopoese sowie eine Agglomeration der Thrombozyten und deren Aggregation an der Oberfläche von Leukozyten beschrieben.^{79,80,81,82,83}

4.4.3 Die unspezifische Immunantwort auf die SARS-CoV-2-Infektion

Kommt es zur Aufnahme virushaltiger Partikel, so stellen die phagozytierenden Zellen des angeborenen Immunsystems, darunter Makrophagen und Granulozyten, die beispielsweise im Bereich des lymphatischen Gewebes der Schleimhäute des Nasen-Rachen-Raums sowie der Bronchien mit dem Virus in Kontakt treten, die erste Abwehrfront gegen den viralen Erreger dar.^{84,85} Mithilfe sogenannter Mustererkennungsrezeptoren oder Pattern-Recognition-Rezeptoren (PRRs) können diese den eindringenden Erreger anhand spezifischer Struktur motive, die auch als Pathogen-assoziierten molekularen Muster (PAMPs) bezeichnet

⁷⁵ Vgl. Zhou et al. (2020a), S. 1057.

⁷⁶ Vgl. Lippi et al. (2020).

⁷⁷ Vgl. Mina et al. (2020), S. 2794.

⁷⁸ Vgl. Qu et al. (2020).

⁷⁹ Vgl. Singh et al. (2020).

⁸⁰ Vgl. Jones/Ireland (2020).

⁸¹ Vgl. Lüke et al. (2020).

⁸² Vgl. Zini et al. (2020).

⁸³ Vgl. Berber et al. (2021).

⁸⁴ Vgl. Robert Koch-Institut (26.11.2021).

⁸⁵ Vgl. Paces et al. (2020), S. 380.

werden, erkennen und über die Synthese verschiedener Zytokine die Immunantwort einleiten.⁸⁶ Im Falle von SARS-CoV-2 erkennen intrazelluläre PRRs das virale Erbgut sich aktiv replizierender Viren, das in Form doppelsträngiger RNA vorliegt.⁸⁷ Die daraus resultierende Synthese von Interferonen (IFN) ist maßgeblich an der Einleitung der Effektorsysteme des unspezifischen Immunsystems beteiligt. Sowohl in den genannten Immunzellen als auch in virusinfizierten Zellen, wie beispielsweise den leicht zugänglichen Epithelzellen der Schleimhäute, wird die Expression von IFN- α und IFN- β , die zu den antiviral wirksamen Typ-I-Interferonen gehören, induziert. Durch die Wirkung dieser Interferonklassen kann die Virusreplikation in infizierten Zellen gestoppt und in nicht-infizierten Nachbarzellen ein sogenannter antiviraler Zustand induziert werden.^{88,89} Natürliche Killerzellen (NK-Zellen), die zu dem zellulären Anteil des unspezifischen Immunsystems gehören und durch ihre sofortige Aktionsbereitschaft gekennzeichnet sind, werden aktiviert und sind in der Lage, die Apoptose virusinfizierter Zellen auszulösen.⁹⁰

4.4.4 Veränderungen der neutrophilen Granulozyten

Durch ihre phagozytären Eigenschaften sowie die Fähigkeit, die antimikrobiellen Inhaltstoffe ihrer Granula per Exozytose freizusetzen, stehen die neutrophilen Granulozyten im Zentrum der angeborenen Immunabwehr.⁹¹ Darüber hinaus sind sie in der Lage, extrazelluläre Fasernetzwerke aus DNA, die sogenannten Neutrophil Extracellular Traps (NETs), zu bilden. Diese Chromatinfasern können pathogene Mikroorganismen im Extrazellulärraum immobilisieren und abtöten und werden zusammen mit verschiedenen antimikrobiell wirksamen Proteinen von stimulierten neutrophilen Granulozyten in einem Vorgang, der als NETose bezeichnet wird, freigesetzt.⁹² Aktuelle Erkenntnisse zu Folge wird die NETose durch SARS-CoV-2 getriggert und spielt eine wichtige Rolle in der Entstehung der COVID-19-assoziierten Lungenschädigung und Hyperinflammation.⁹³ Zudem konnte gezeigt werden, dass die neutrophilen Granulozyten der COVID-19-Patienten auf molekularer Ebene Anzeichen einer funktionellen Aktivierung sowie einer irregulären Degranulation aufweisen und darüber hinaus eine suppressive Wirkung auf T-Lymphozyten ausüben.⁹⁴

⁸⁶ Vgl. Hof et al. (2019), S. 91.

⁸⁷ Vgl. Paces et al. (2020), S. 380.

⁸⁸ Vgl. Paces et al. (2020), S. 380.

⁸⁹ Vgl. Hof et al. (2019), S. 115–117.

⁹⁰ Vgl. Hof et al. (2019), S. 185.

⁹¹ Vgl. Hof et al. (2019), S. 86.

⁹² Vgl. Hof et al. (2019), S. 114.

⁹³ Vgl. Veras et al. (2020).

⁹⁴ Vgl. Reusch et al. (2021).

In verschiedenen Studien zeichnet sich ein eindeutiger Trend hin zu einer erhöhten Konzentration der neutrophilen Granulozyten bei COVID-19-Patienten ab. Diese charakteristische Neutrophilie tritt vor allem bei schweren Verläufen auf und grenzt die COVID-19-Erkrankung entscheidend von anderen viralen Infektionserkrankungen ab. Es konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer höheren Konzentration an neutrophilen Granulozyten bei Aufnahme und einem intensivpflichtigen Krankheitsverlauf bestätigt werden.^{95,96} Darüber hinaus stellen erhöhte absolute Neutrophilenkonzentrationen im Verlauf des Krankenhausaufenthaltes einen Risikofaktor für die Entwicklung eines ARDS sowie für eine erhöhte Krankenhaussterblichkeit dar.^{97,98} Als weiterer aussagekräftiger und mittlerweile etablierter Prädiktor eines schweren Krankheitsverlaufes sowie einer erhöhten Fallsterblichkeit erwies sich ein erhöhter Neutrophilen/Lymphozyten-Quotient (NLR).^{99,100}

Da die neutrophilen Granulozyten mit 50-80 Prozent den Hauptanteil an den Gesamtleukozyten ausmachen, hat die Veränderung der Neutrophilenkonzentrationen einen entscheidenden Einfluss auf die Leukozytenkonzentrationen.¹⁰¹ So konnten Wang et al. zeigen, dass parallel zu der erhöhten Neutrophilenkonzentration auch die Erhöhung der gesamten Leukozytenkonzentration zu den COVID-19-typischen Veränderungen zählt und mit einem schweren Krankheitsverlauf und einem erhöhten Sterblichkeitsrisiko korreliert.¹⁰²

Neben dem Auftreten der quantitativen Neutrophilie konnte eine Reihe charakteristischer morphologischer Veränderungen der neutrophilen Granulozyten festgestellt werden. In zahlreichen Studien werden abnorme Kernformationen, darunter C- oder ringförmige Zellkerne, beschrieben. Als kennzeichnende Veränderung stellte sich zudem eine charakteristische Hyposegmentierung des Zellkerns bei gleichzeitiger Hyperkondensation des Chromatins heraus, wodurch die Neutrophilen den im Rahmen der Pelger-Huët-Anomalie auftretenden Pelger-Zellen ähneln und folglich als Pseudo-Pelger-Zellen Erwähnung finden. Interessanterweise konnte festgestellt werden, dass eine ausgeprägte Hyposegmentierung der Neutrophilen mit einem schweren Krankheitsverlauf assoziiert ist.¹⁰³

⁹⁵ Vgl. Wang et al. (2020a), S. 1064 (Tabelle 2).

⁹⁶ Vgl. Huang et al. (2020), S. 502 (Tabelle 2).

⁹⁷ Vgl. Wu et al. (2020a), S. 938.

⁹⁸ Vgl. Wang et al. (2020a), S. 1066.

⁹⁹ Vgl. Liu et al. (2020a).

¹⁰⁰ Vgl. Yang et al. (2020a), S. 5.

¹⁰¹ Vgl. Hallbach (2019), S. 411–412.

¹⁰² Vgl. Wang et al. (2020a), S. 1065–1066.

¹⁰³ Vgl. Nazarullah et al. (2020).

Zu den beobachteten zytoplasmatischen Veränderung zählt neben der Ausbildung von Vakuolen, zytoplasmatischen Einschlüssen und einer partiell auftretenden toxischen Granulation insbesondere die charakteristische Hypogranulierung des Zytoplasmas der neutrophilen Granulozyten.^{104,105} Zudem wird das Auftreten von Vorläuferzellen der Leukopoese im Sinne einer Linksverschiebung in Koexistenz mit kernhaltigen roten Blutzellen als leukoerythroblastisches Blutbild beschrieben, welches als morphologisches Korrelat einer beeinträchtigten Hämatopoese gewertet werden kann.^{106,107,108,109}

4.4.5 Veränderung der Makrophagen und Monozyten

Makrophagen haben einen entscheidenden Einfluss auf die Regulation der Immunantwort, da sie eine Reihe von Zytokinen, darunter die Interleukine (IL) IL-1, IL-6 und IL-12 synthetisieren, welche unter anderem Endothelzellen aktivieren, die Migration von Immunzellen in das Gewebe unterstützen und über die Stimulation von T- und B-Lymphozyten einen engen Verknüpfungspunkt zum angeborenen Immunsystem darstellen. Auch der Tumornekrosefaktor (TNF)- α wird von Makrophagen produziert und ist durch die Steigerung der Gefäßpermeabilität und der Unterstützung der Extravasation von Leukozyten an der Entstehung einer lokalen Entzündungsreaktion beteiligt.¹¹⁰

In der Autopsie von COVID-19-Patienten konnten Makrophagen in pneumonischen Infiltraten des Lungengewebes sowie in weiteren Organen, wie beispielsweise im Niereninterstitium und in der weißen Substanz des Gehirns nachgewiesen werden.^{111,112, 113} Feng et al. konnten darüber hinaus zeigen, dass ACE2-exprimierende Makrophagen, die in Milz und Lymphknoten lokalisiert wurden, SARS-CoV-2-Nukleoproteine enthalten und durch eine erhöhte IL-6-Produktion charakterisiert sind, weshalb angenommen wird, dass es bei COVID-19-Patienten zu einer inadäquaten Aktivierung der Makrophagen kommt.^{114,115} Die klinische Präsentation sowie die erhöhten Zytokin-Konzentrationen schwer erkrankter COVID-19-Patienten zeigen zudem wesentliche Überschneidungen mit dem Krankheitsbild der hämophagozytischen

¹⁰⁴ Vgl. Singh et al. (2020).

¹⁰⁵ Vgl. Zini et al. (2020).

¹⁰⁶ Vgl. Lüke et al. (2020).

¹⁰⁷ Vgl. Nazarullah et al. (2020).

¹⁰⁸ Vgl. Sadigh et al. (2020).

¹⁰⁹ Vgl. Jones/Ireland (2020).

¹¹⁰ Vgl. Hof et al. (2019), S. 115–116.

¹¹¹ Vgl. Yao et al. (2020), S. 541.

¹¹² Vgl. Barton et al. (2020), S. 731.

¹¹³ Vgl. Tabary et al. (2020), S. 2–4.

¹¹⁴ Vgl. Feng et al. (2020).

¹¹⁵ Vgl. Paces et al. (2020), S. 382.

Lymphohistiozytose (HLH), welche im Zusammenhang mit einer SARS-CoV-2-Infektion entsprechend den HLH-Kriterien diagnostiziert wurde.¹¹⁶

Das Pendant der gewebeständigen Makrophagen stellen die im Blut zirkulierenden Monozyten dar, die in peripheren Blutaussstrichen begutachtet werden können und bei COVID-19-Patienten in einigen Fällen durch morphologische Veränderungen charakterisiert sind.¹¹⁷ Hierbei wird das Auftreten aktivierter Monozyten mit zytoplasmatischen Auffälligkeiten, wie der Ausbildung von Vakuolen oder Granulationen, sowie einer Anisozytose beschrieben.¹¹⁸ Ein eindeutiger Trend im Hinblick auf quantitative Veränderungen der Monozytenkonzentration zeichnet sich jedoch nicht ab.¹¹⁹

4.4.6 Die spezifische Immunantwort und Veränderung der Lymphozyten

Durch die Zytokinproduktion der Zellen des angeborenen Immunsystems und die Antigenpräsentation wird ein fließender Übergang zur Einleitung der adaptiven Immunantwort ermöglicht, bei der aktivierte T- und B-Lymphozyten nach der Erkennung der erregerspezifischen Antigene zu der Eliminierung des Virus beitragen.¹²⁰ In diesem Zusammenhang stellt die COVID-19-assoziierte Lymphopenie einen der charakteristischsten hämatologischen Befunde mit entscheidender prognostischer Aussagekraft dar. Guan et al. konnten bei der Auswertung der Daten von 1099 Patienten aus über 500 Krankenhäusern in China zeigen, dass 83,2% aller COVID-19-Patienten und 96,1% aller COVID-19-Patienten mit schweren Verläufen bei Aufnahme eine Lymphopenie aufweisen.¹²¹ Die niedrigsten Lymphozytenkonzentrationen können dabei etwa eine Woche nach Symptombeginn gemessen werden und steigen, sofern es zu einer Rekonvaleszenz kommt, während der Erholungsphase wieder bis auf die Normwerte an.¹²² Patienten, die an der SARS-CoV-2-Infektion versterben, zeigen hingegen einen kontinuierlichen Abfall der Lymphozytenkonzentrationen während des stationären Aufenthaltes.¹²³ Basierend auf der Beobachtung des longitudinalen Verlaufs der Lymphozytenkonzentration erstellten Tan et al. ein Modell, nach welchem ein relativer Lymphozytenanteil von weniger als 20% an Tag 10-12 sowie weniger als 5% an Tag 17-19 nach Symptombeginn prognostisch besonders ungünstig sind.¹²⁴ Verschiedene Studien konnten darüber hinaus nachweisen, dass die Lymphopenie einen unabhängigen Risikofaktor für

¹¹⁶ Vgl. McGonagle et al. (2020).

¹¹⁷ Vgl. Lüke et al. (2020).

¹¹⁸ Vgl. Singh et al. (2020).

¹¹⁹ Vgl. Zhang et al. (2021a).

¹²⁰ Vgl. Hof et al. (2019), S. 119.

¹²¹ Vgl. Guan et al. (2020), S. 1715(siehe Tabelle 2).

¹²² Vgl. Zhou et al. (2020a).

¹²³ Vgl. Wang et al. (2020a), S. 1066.

¹²⁴ Vgl. Tan et al. (2020).

schwere Krankheitsverläufe, den Aufenthalt auf einer Intensivstation, das Auftreten eines ARDS und eine erhöhtes Mortalitätsrisiko darstellt.^{125,126,127}

Weitere Erkenntnisse ermöglicht die differenzierte Betrachtung der einzelnen Lymphozyten-Subpopulationen. Die Unterteilung kann hierbei anhand der sogenannten Cluster of Differentiation (CD)-Molekülen, die von Zellen je nach Entwicklungsstand und Differenzierung in Form spezifischer Oberflächenproteine exprimiert werden, vorgenommen werden.¹²⁸ Es stellte sich heraus, dass sowohl die Anzahl der CD4 positiven T-Helferzellen und regulatorischen T-Zellen als auch der zytotoxischen CD8 positiven T-Lymphozyten und der NK-Zellen bei COVID-19-Patienten und insbesondere bei Patienten mit schweren Krankheitsverläufen deutlich erniedrigt sind.^{129,130} Zudem wird nach dem aktuellen Forschungsstand davon ausgegangen, dass die SARS-CoV-2-Infektion sich nicht nur in einer quantitativen Veränderung der Lymphozyten widerspiegelt, sondern auch Auswirkungen auf deren Funktionsfähigkeit hat. So konnte in mehreren Studien gezeigt werden, dass sowohl die unterschiedlichen Subgruppen der T-Lymphozyten als auch die NK-Zellen Anzeichen einer ausgeprägten funktionellen Erschöpfung präsentieren und eine Korrelation zwischen dieser Funktionseinschränkung und der Schwere der COVID-19-Erkrankung besteht.^{131,132} Bezogen auf die spezifische Immunantwort des Wirtes, die auf der Funktionsfähigkeit der Lymphozyten basiert, wird daher eine ausgeprägte immunsuppressive Wirkung von SARS-CoV-2 diskutiert.¹³³

Auf morphologischer Ebene präsentieren die Lymphozyten meist ein pleomorphes, reaktives Zellbild mit dem charakteristischen Auftreten von großen granulierten Lymphozyten (LGL-Zellen). Es konnte in diesem Zusammenhang gezeigt werden, dass das Auftreten dieser atypischen Lymphozyten charakteristisch für milde Krankheitsverläufe ist und ein hoher Anteil an LGL-Zellen insbesondere in der Phase der Rekonvaleszenz festgestellt werden kann.^{134,135} Neben weiteren Veränderungen der Lymphozyten - wie Vakuolen, Kerndeformationen oder Pseudopodien - wurden in mehreren Studien zirkulierende Plasmazellen und plasmazytoide Lymphozyten beschrieben, welche die Stimulierung der B-Lymphozyten widerspiegeln, die im

¹²⁵ Vgl. Huang et al. (2020), S. 502.

¹²⁶ Vgl. Wu et al. (2020a), S. 938.

¹²⁷ Vgl. Wang et al. (2020a), S. 1066.

¹²⁸ Vgl. Hof et al. (2019), S. 85.

¹²⁹ Vgl. Zhang et al. (2020b), S. 2.

¹³⁰ Vgl. Qin et al. (2020).

¹³¹ Vgl. Zheng et al. (2020).

¹³² Vgl. Diao et al. (2020).

¹³³ Vgl. Paces et al. (2020), S. 382.

¹³⁴ Vgl. Zini et al. (2020).

¹³⁵ Vgl. Pozdnyakova et al. (2021).

Rahmen der adaptiven Immunantwort für die Produktion spezifischer Antikörper verantwortlich sind.^{136,137,138,139,140,141}

¹³⁶ Vgl. Singh et al. (2020).

¹³⁷ Vgl. Jones/Ireland (2020).

¹³⁸ Vgl. Lüke et al. (2020).

¹³⁹ Vgl. Zini et al. (2020).

¹⁴⁰ Vgl. Lee/Teo (2020).

¹⁴¹ Vgl. Sadigh et al. (2020).

4.5 Fragestellung

COVID-19 ist eine systemische Erkrankung, die durch komplexe Wechselwirkungen mit der immunologischen Antwort des Wirtes charakterisiert ist und signifikante Veränderungen der Hämatopoese und Hämostase bewirkt. Im Rahmen der interdisziplinären Studie „Biomarker der COVID-19-Erkrankung“ am Universitätsklinikum Marburg sollen klinisch-chemische, serologische, zytomorphologische, immunphänotypische und molekularbiologische Parameter untersucht werden, um mittels einer Risikostratifikation die Faktoren aufzuspüren, die den Verlauf der COVID-Erkrankung negativ beeinflussen und durch gezielte therapeutische Ansätze die Auswirkungen dieser Faktoren zu verringern. Im Speziellen befasst sich diese Arbeit mit der Auswertung der Differentialblutbilder und Blutausstriche der COVID-19-Patienten im Zusammenhang mit der Schwere des individuellen Krankheitsverlaufes. Da die Beurteilung der Differentialblutbilder ein ubiquitär verfügbares, unkompliziertes und effizientes Hilfsmittel in der medizinischen Versorgung darstellt, sollen das diagnostische sowie prognostische Potential der quantitativen und qualitativen hämatologischen Parameter analysiert werden.

5 Methoden

5.1 Studiendesign

Die Studie startete nach Erteilung des positiven Ethikvotums durch die Ethikkommission des Fachbereichs Medizin am 10.04.2020 (NR.57/20).

Alle Patienten mit einem Alter von über 18 Jahren, die sich mit Verdacht auf eine COVID-19-Erkrankung am Universitätsklinikum Marburg vorstellten, wurden nach Unterzeichnung der Einverständniserklärung in die Studie eingeschlossen. Routinemäßig wurde bei den Patienten unmittelbar vor Beginn der ambulanten oder stationären Behandlung die COVID-19-Testung mittels des molekularbiologischen Nachweises von SARS-CoV-2 aus respiratorischem Abstrichmaterial nach dem Goldstandard der PCR durchgeführt.

Für die Entnahme und den Transport der Proben wurden die Tupfersysteme CITOSWAB® Virus Collection and Transport Kit (CITOTEST®, Jiangsu, China) und Copan eSwabs™ (MAST Diagnostica GmbH, Reinfeld, Germany) verwendet. Die Isolierung und Reinigung der viralen RNA erfolgten mit Hilfe des Reagenzkits EZ1 Virus Mini Kit v2.0 (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany) in Kombination mit dem automatisierten Probenverarbeitungsgerät EZ1 Advanced XL (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany). Das Testsystem RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0 (Altona Diagnostics GmbH, Hamburg, Germany) ermöglichte anschließend den qualitativen Nachweis zwei spezifischer Zielgene. Untersucht wurden das für Beta-Coronaviren spezifische Envelope-Gen (E-Gen) des Hüll-Proteins des Virus und das für SARS-CoV-2 spezifische Spike-Gen (S-Gen) für das Spike-Protein. Beide Zielgene wurden mit unterschiedlich markierten Sonden nachgewiesen.

Dem PCR-Testergebnis entsprechend wurde die Gruppe der SARS-CoV-2 positiv getesteten Patienten definiert. Die Patienten, die zwar Symptome einer COVID-19-Erkrankung zeigten, bei denen allerdings kein Erregernachweis gelang, bildeten die Kontrollgruppe. Innerhalb dieser beiden Patientenkohorten erfolgte zudem eine Unterteilung gemäß des individuellen Krankheitsverlaufs. Wurden Patienten während des stationären Aufenthaltes auf einer Intensivstation behandelt, so galt ihr Krankheitsverlauf als schwer. Patienten, die ausschließlich auf einer Normalstation behandelt wurden, hatten der Einteilung zufolge einen leichten Krankheitsverlauf.

Zur Erhebung der patientenspezifischen Daten zu Komorbiditäten, Vormedikationen, initialer Symptomatik und Symptombeginn wurden Arztbriefe aus vorherigen und dem aktuellen Krankenhausaufenthalt sowie die Eigenanamnese der Patienten bei Aufnahme herangezogen. Die Vitalparameter wurden in der zentralen Notaufnahme ermittelt und zusammen mit den

Ergebnissen der initialen klinischen Untersuchung erfasst. Im Rahmen der apparativen Diagnostik wurden die Befunde der CT-Thorax-Aufnahmen, die innerhalb der ersten Tage des stationären Aufenthaltes angefertigt wurden, im Hinblick auf Anzeichen für eine virale Pneumonie ausgewertet. Während der stationären Behandlung wurden der klinische Verlauf, Komplikationen sowie Behandlungen und durchgeführte Prozeduren anhand der Einträge in der elektronischen Patientenakte erhoben.

5.2 Blutentnahme und Probenverarbeitung

Die Analyse der Differentialblutbilder wurde im Rahmen der klinischen Routineversorgung der Patienten durchgeführt. Es waren daher keine zusätzlichen Venenpunktionen oder invasive Maßnahmen zur Gewinnung der Proben notwendig. Im Verlauf des stationären Aufenthaltes wurden dadurch in engen Zeitabständen die relevanten hämatologischen Parameter ermittelt und automatisch über das Krankenhausinformationssystem ORBIS® (Build 08.04.35.01.1014100; Dedalus Healthcare Group AG, Bonn, Deutschland) in der elektronischen Patientenakte erfasst. Sowohl die Erstellung des Differentialblutbildes als auch die Anfertigung des Blutausstriches erfolgten aus einer Patientenblutprobe, die in einem 2,7 ml Ethylendiamintetraacetat (EDTA) Röhrchen entnommen wurde. Wurden im Rahmen der Routinediagnostik Auffälligkeiten im automatisierten Differentialblutbild registriert und Geräte-Flags gesetzt, so wurden Blutausstriche aus den zugehörigen Patientenproben zur manuellen mikroskopischen Differenzierung angefertigt.

Im Rahmen der abteilungsübergreifenden Studie zur Analyse der „Biomarker der COVID-19-Erkrankung“ wurden speziell angepasste Anforderungsprofile zum Monitoring der Studienteilnehmer erstellt, welche die geforderten Analyten in Abhängigkeit von der stationären Verweildauer der Patienten festlegten. Für folgende Zeitpunkte wurden Anforderungsprofile definiert:

- den Aufnahmetag,
- Tag 3 des stationären Aufenthaltes,
- jeden zweiten weiteren Tag im Verlauf,
- den Entlassungstag.

Hierbei ist hervorzuheben, dass in allen Profilen die Abnahme mindestens eines 2,7 ml EDTA-Röhrchens vorgesehen war, aus welchem in jedem Fall ein Differentialblutbild erstellt wurde, das ebenfalls an die elektronische Patientenakte übermittelt wurde. Aus diesen EDTA-Röhrchen, die das Zentrallabor in Verbindung mit den speziellen COVID-Anforderungsprofilen erreichten, wurden in jedem Fall Blutausstriche angefertigt.

5.3 Das Differentialblutbild

5.3.1 Messverfahren: Sysmex-Analysegeräte

Die Blutproben wurden unmittelbar nach der Entnahme von den zuständigen Stationen zum Zentrallabor gebracht, wo sie registriert wurden und die mechanisierten Differentialblutbilder mithilfe der Analysegeräte der Sysmex® XN-9100-Serie (Sysmex, Kobe, Japan) erstellt wurden. Im Folgenden werden die der Differenzierung der Zellpopulationen zugrunde liegenden Verfahren basierend auf den Ausführungen im Themenblatt „Messtechnologie der XN-Serie“ V2.0 (1/2019) der Sysmex Deutschland GmbH dargestellt.¹⁴²

5.3.2 Erythrozyten, Thrombozyten, Hämatokrit und mittleres korpuskuläres Volumen

Mithilfe der Impedanztechnologie wurden Erythrozyten und Thrombozyten im Red Blood Cell (RBC) /Platelet (PLT)-Messkanal gezählt und ihre Größe bestimmt. Hierzu wurden die Zellen in einer Elektrolytlösung suspendiert und passierten durch einen Mantelstrom vereinzelt eine Messkammer zwischen einer positiv und einer negativ geladenen Elektrode. Hierfür wurden 4µl des angesaugten Blutes separiert und das Reagenz CELLPACK® DCL/DST™ für eine 1:498 Verdünnung verwendet. Mithilfe der Anzahl der dabei generierten elektrischen Impulse konnte eine Bestimmung der Erythrozyten- und Thrombozytenzahl in einem definierten Blutvolumen erfolgen. Da die Höhe der von den Zellen in der Messkammer erzeugten Impulse proportional zum Zellvolumen ist, konnte durch eine Kumulation der einzelnen Impulse zusätzlich der Hämatokrit (Hkt) berechnet werden. Aus der Erythrozytenkonzentration und dem Hkt wurde dann das mittlere korpuskuläre Volumen (MCV) der Erythrozyten automatisch berechnet.

5.3.3 Hämoglobinkonzentration

Mithilfe der Natrium-Lauryl-Sulfat(SLS)-Methode wurde das Hämoglobin in der auf 1:747 verdünnten Blutprobe aus lysierten Erythrozyten freigesetzt und das Hämeisen oxidiert. Anschließend wurde die Absorption des Komplexes aus dreiwertigem Hämeisen und SLS in einer Durchflusszelle bei einer Wellenlänge von 555nm bestimmt. Die gemessene Absorption ist dabei proportional zur Hämoglobinkonzentration (Hb) der Blutprobe. Das hierfür von Sysmex® verwendete Reagenz trägt den Namen Sulfolyser®.

¹⁴² Vgl. Sysmex Deutschland GmbH (2019).

5.3.4 Mittlerer korpuskulärer Hämoglobingehalt und mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration

Der mittlere korpuskuläre Hämoglobingehalt (MCH) und die mittlere korpuskuläre Hämoglobin-Konzentration (MCHC) wurden rechnerisch aus den ermittelten Werten Hb, Hkt und der Erythrozytenkonzentration bestimmt.

5.3.5 Leukozyten

Die Zählung und Differenzierung der Leukozyten erfolgte im White Cell Nucleated (WNR)- und WBC-Differential (WDF)-Kanal mithilfe von Fluoreszenz-Durchfluss-Zytometrie. Hierzu wurde die Blutprobe auf 1:61 verdünnt, die Zellmembranen der Leukozyten durch das Lycercell™ Reagenz perforiert und die Nukleinsäuren mit dem Fluoreszenzmarker Fluorcell™ markiert. Die Blutzellen wurden durch eine optische Durchflussküvette geleitet und mittels Messung des Streulichts und des Fluoreszenzsignals die Leukozyten gezählt und differenziert. Hierbei gibt das Seitwärtsfluoreszenzlicht Auskunft über den Nukleinsäuregehalt, das Seitwärtsstreulicht über die innere Zellstruktur, Lobularität und Granularität und das Vorwärtsstreulicht über Zellgröße und Zellvolumen.

Im WNR-Kanal wurden darüber hinaus kernhaltige Erythrozytenvorstufen gezählt und im WDF-Kanal zusätzlich unreife Granulozyten differenziert.

5.3.6 Parameter und Referenzwerte

Die Interpretation der erfassten hämatologischen Parameter erfolgte auf Basis der Referenzwerte der Parameter des Differentialblutbildes in der Routinediagnostik. Die folgenden Referenzwerte sind den Normwerttabellen des Laboratoriumsmedizinischen Untersuchungsprogramms des „Institutes für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie, Molekulare Diagnostik“ des Universitätsklinikum Gießen und Marburg (UKGM) am Standort Marburg (Stand 09/2019 Version 2) entnommen (Tabelle 1).

Tabelle 1: Referenzwerte Differentialblutbild

Analyt	Material	Referenzbereich	Einheit
Basophile	EDTA-Blut	0-1,75	%
Basophile (abs.)	EDTA-BLUT	0-0,2	$\times 10^9/l$
Eosinophile	EDTA-BLUT	0,5-5,5	%
Eosinophile (abs.)	EDTA-BLUT	0,02-0,5	$\times 10^9/l$
Erythrozyten	EDTA-BLUT	♂ 4,30-5,75 ♀ 3,90-5,15	$\times 10^{12}/l$

Hb	EDTA-BLUT	♂ 135-172 ♀ 120-154	g/l
Hkt	EDTA-BLUT	♂ 0,40-0,51 ♀ 0,36-0,45	l/l
Leukozyten	EDTA-BLUT	3,9-10,2	$\times 10^9/l$
Lymphozyten	EDTA-BLUT	20-44	%
Lymphozyten (abs.)	EDTA-BLUT	1,1-4,5	$\times 10^9/l$
MCH	EDTA-BLUT	♂ 27,0-33,5 ♀ 27,0-33,5	pg
MCHC	EDTA-BLUT	315-360	g/l Ery
MCV	EDTA-BLUT	80-99	fl
Monozyten	EDTA-BLUT	2,0-9,5	%
Monozyten (abs.)	EDTA-BLUT	0,10-0,90	$\times 10^9/l$
Neutrophile	EDTA-BLUT	42-77	%
Neutrophile (abs.)	EDTA-BLUT	1,5-7,7	$\times 10^9/l$
Thrombozyten (abs.)	EDTA-BLUT	150-370	$\times 10^9/l$

absolute Konzentration = abs.

5.4 Anfertigung des Blutausstriches

5.4.1 Ausstrichmethode

Neben der Analyse des Differentialblutbildes steht die mikroskopische Ausstrichbeurteilung im Zentrum dieser Arbeit. Hierzu wurden aus den EDTA Proben aller Studienteilnehmer, die das Zentrallabor in Verbindung mit den speziellen COVID-Anforderungsprofilen erreichten, durch die Ausstrich- und Färbeautomaten der Sysmex® SP-50 Serie Blutausstriche angefertigt. Gleiches gilt für die automatisierte Ausstrichherstellung, die zur Überprüfung auffälliger Geräte-Differenzierungen der XN-9100-Analyseautomaten durchgeführt wurde. Die Setzung der spezifischen Geräte-Flags erfolgte nach dem Regelwerk des Sysmex Information System (SIS). Bei Flags handelt es sich um Warnhinweise, die u.a. angezeigt werden, wenn die Anzahl der Blutzelltypen außerhalb der jeweiligen Referenzbereiche liegt oder Veränderungen in der Morphologie der Blutzellen registriert werden. Die Beschriftung, Trocknung und Anfärbung der Ausstriche wurde vollautomatisiert und nach standardisierten Protokollen durchgeführt. Der Objektträger wurde hierbei am oberen Rand mit den Patientendaten bedruckt.

5.4.2 Färbemethode

Die Anfärbung der Ausstriche wurde gemäß dem folgenden Protokoll durchgeführt:

Tabelle 2: Färbeprotokoll

	Reagenz	Zeit (mm:ss)
Unverdünnte Färbelösung 1	May Grünwald Lösung für SP	1,12
Verdünnte Färbelösung 1	May Grünwald Lösung für SP / (PH=7.0) Pufferlösung für SP = 1/10	0,24
Verdünnte Färbelösung 2	Giemsa Lösung für SP / (PH=7.0) Pufferlösung für SP = 1/25	3,12
Spülzähler	-	1,00
Trocknen	-	3,36

5.4.3 Mikroskopische Analyse

Mikroskopiert wurde auf dem OLYMPUS BX-53-Mikroskop (Olympus, Tokio, Japan) mit UPlanFL-Ölobjektiv in 100-facher Vergrößerung. Die Aufnahme der mikroskopierten Blutzellen erfolgte mithilfe der Bildbearbeitungssoftware OLYMPUS cellSens Standard Version 2.3 (Build 18987, Olympus, Tokio, Japan).

5.5 Statistische Methoden

Die statistische Auswertung der Daten wurde mit Hilfe des Programms GraphPad Prism Version 9.0.0 (GraphPad Software, San Diego, California USA) durchgeführt. Da hierzu ein Datentransfer auf Computer außerhalb des Kliniknetzes erforderlich war, erfolgte eine Pseudonymisierung der patientenspezifischen Daten. Die Pseudonymzuordnung erfolgte, indem die Patienten innerhalb der COVID-19-Gruppe sowie der Kontrollgruppe entsprechend des Zeitpunktes der Krankenhausaufnahme chronologisch und fortlaufend durchnummeriert wurden.

Im Rahmen der deskriptiven Auswertung der Patientendaten wurden Häufigkeiten, Mittelwerte und 95% Konfidenzintervalle (KI) berechnet. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgte in Form von Box-Whisker-Plot-Diagrammen mit Kennzeichnung des Medians, des unteren und oberen Quartils sowie der Extremwerte.

Die metrischen Parameter der maschinellen Differentialblutbilder wurden mittels Mann-Whitney-Test analysiert. Die Mittelwertvergleiche erfolgten dabei zwischen der Gruppe der

COVID-19-Patienten mit leichtem Krankheitsverlauf und den schwer erkrankten, intensivpflichtigen COVID-19-Patienten.

Das Auftreten der prominentesten morphologischen Auffälligkeiten in den Blutaussstrichen wurde mithilfe des Exakten Tests nach Fisher (Fisher-Yates-Test) analysiert. Hierbei wurde untersucht, ob sich die Wahrscheinlichkeiten für das Auftreten von Riesenthrombozyten sowie von einer Hypogranulierung der neutrophilen Granulozyten in der Gruppe der COVID-19-Patienten und der Kontrollpatienten voneinander unterscheiden.

Die Adjustierung der p-Werte für multiples Testen wurde mithilfe des Holm-Šidák-Tests durchgeführt; das Signifikanzniveau betrug $\alpha=0,05$.

6 Ergebnisse

6.1 Patientenkollektiv

Die Studienpopulation umfasst diejenigen COVID-19-Patienten, die am Universitätsklinikum Marburg im Zeitraum vom 19.03.2020 bis zum 17.06.2020 behandelt wurden, bei Aufnahme über 18 Jahre alt waren und die Einverständniserklärung zur Studienteilnahme selbst oder durch juristisch berechnigte Vertreter unterzeichnet haben. Hiernach ergibt sich eine Studiengruppe von insgesamt 20 COVID-19-Patienten. Bei 19 dieser Patienten wurde SARS-CoV-2 zum Aufnahmezeitpunkt im respiratorischen Abstrichmaterial mittels PCR molekularbiologisch nachgewiesen; bei einem weiteren COVID-19 Patienten erfolgte der Virusnachweis im Verlauf des stationären Aufenthalts. Die etwa gleichgroße Vergleichspopulation wird durch 22 Kontrollpatienten gebildet, die sich im gleichen Zeitfenster am Universitätsklinikum mit einer für COVID-19 typischen Symptomatik vorstellten, die allerdings negativ auf SARS-CoV-2 getestet wurden. Während die Ergebnisse der maschinell ausgewerteten Differentialblutbilder, welche über die elektronische Patientenakte erfasst wurden, für alle eingeschlossenen Patienten verfügbar sind, liegen Blutausrichhe nur für 19 der insgesamt 20 COVID-19-Patienten sowie für 20 der insgesamt 22 Kontroll-Patienten vor.

Das Alter der COVID-19-Patienten lag im Mittel bei etwa 66,5 Jahren; das der Kontroll-Patienten bei etwa 70 Jahren. 80% (16/20) der COVID-19-Patienten, sowie 54,5% (12/22) der Kontroll-Patienten waren Männer (Abbildung 1).

Insgesamt waren bei 19 der 20 COVID-19-Patienten und bei 21 der 22 Kontroll-Patienten Komorbiditäten bekannt. An erster Stelle stand die arterielle Hypertonie, von der 14 COVID-19-Patienten (70%) und 14 Kontrollpatienten (63,6%) betroffen waren. Kardiale Vorerkrankungen waren bei 8 COVID-19-Patienten (40%) und 14 Kontrollpatienten (63,6%) bekannt.

Der Body-Mass-Index (BMI) wurde aus den Daten ermittelt, die zu Beginn des stationären Aufenthaltes erhoben wurden. Übergewicht wurde ab einem BMI von ≥ 25 und < 30 kg/m² und Adipositas ab einem BMI von ≥ 30 kg/m² definiert. Dieser Einteilung zu Folge wurde Übergewicht bei 35% der COVID-19-Patienten und 9,1% der Kontrollpatienten und Adipositas bei 45% der COVID-19-Patienten und 18,2% der Kontrollpatienten festgestellt.

6.2 Krankheitsverlauf

Zum Aufnahmezeitpunkt waren Fieber, Dyspnoe und Husten als führende klinische Symptome zu verzeichnen. In der initialen körperlichen Untersuchung wurden bei 40% der COVID-19-Patienten und 77,3% der Kontrollpatienten pathologische Atemgeräusche dokumentiert. An erster Stelle standen hierbei grob- und feinblasige Rasselgeräusche. 30% der COVID-19-Patienten und 50% der Kontrollpatienten benötigten initial eine Sauerstoff-Gabe. Die Vitalparameter beider Patientengruppen zum Aufnahmezeitpunkt sind in Abbildung 2 dargestellt.

Den radiologischen Befundberichten zufolge zeigten alle COVID-19-Patienten in den initialen CT-Thorax-Aufnahmen typische Anzeichen einer viralen Pneumonie. Bei 18 der 20 COVID-19-Patienten (90%) wurden typische Milchglasinfiltrate dokumentiert. Bei den Kontrollpatienten wiesen die Befunde in den CT-Thorax-Aufnahmen hingegen nur in 45,5% auf eine virale Pneumonie hin.

Die stationäre Aufenthaltsdauer betrug in der Studienpopulation im Mittel 28,5 Tage, in der Kontroll-Gruppe lag sie bei 13,5 Tagen. Die 20 COVID-19-Patienten unterteilten sich in 15 Patienten (75%) mit einem schweren Krankheitsverlauf und Behandlung auf einer Intensivstation, sowie 5 Patienten (25%) mit einem mildereren Krankheitsverlauf, die auf einer Normalstation geführt werden konnten. In der Kontroll-Gruppe lag der Anteil der Patienten mit Behandlung auf einer Intensivstation bei 54,5% (12/22) (Abbildung 1).

Im Verlauf des stationären Aufenthalts war bei 55% der COVID-19-Patienten und 22,7% der Kontrollpatienten eine invasive Beatmung indiziert; bei 50% der COVID-19-Patienten wurde diese temporär in Bauchlage durchgeführt. Die mittlere Beatmungsdauer lag bei den COVID-19-Patienten bei 27 Tagen; die Kontrollpatienten wurden im Mittel nur 4 Tage beatmet (Abbildung 1). Eine extrakorporale Membranoxygenierung (ECMO) war bei einem COVID-19-Patienten notwendig. Sieben COVID-19-Patienten (35%) und zwei Kontrollpatienten (9,1%) benötigten eine Hämodialyse. Bei fünf COVID-19-Patienten wurde zudem der Januskinase-Inhibitor Ruxolitinib (Jakavi®) eingesetzt.

Zu den meist dokumentierten Komplikationen zählten in beiden Studiengruppen respiratorische Komplikationen, Sepsis, Organdysfunktionen und Elektrolytentgleisungen. 80% (16/20) der COVID-19-Patienten, sowie 95,5% (21/22) der Kontroll-Patienten konnten wieder entlassen werden; 4 COVID-19-Patienten und ein Kontroll-Patient verstarben während des stationären Aufenthaltes.

Eine zusammenfassende Darstellung der patientenspezifischen Variablen zeigt folgende

Tabelle:

Tabelle 3: Charakteristika der eingeschlossenen Patienten

	COVID-19-Patienten (n=20)	Kontrollpatienten (n=22)
Demographische Daten		
	Median (95% KI)	
Alter (Jahre)	66,5 (62,0-75,0)	70 (58,0-80,0)
	N (%)	
Männliches Geschlecht	16 (80,0)	12 (54,5)
Komorbiditäten		
	N (%)	
Gesamt	19 (95,0)	21 (95,5)
Nikotinabusus	2 (10,0)	8 (36,4)
Arterielle Hypertonie	14 (70,0)	14 (63,6)
Adipositas (BMI \geq 30 kg/m ²)	9 (45,0)	4 (18,2)
Übergewicht (BMI \geq 25 kg/m ² , < 30 kg/m ²)	7 (35,0)	2 (9,1)
Diabetes mellitus	7 (35,0)	2 (9,1)
Hyperlipoproteinämie	3 (15,0)	2 (9,1)
Kardiale Vorerkrankungen	8 (40,0)	14 (63,6)
Periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK)	0 (0,0)	2 (9,1)
Chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD)	0 (0,0)	4 (18,2)
Asthma Bronchiale	1 (5,0)	0 (0,0)
Niereninsuffizienz	3 (15,0)	7 (31,8)
Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises	2 (10,0)	1 (4,5)
Neurologische und neuromuskuläre Erkrankungen	8 (40,0)	7 (31,8)
Tumorerkrankungen	5 (25,0)	6 (27,3)
Immunsuppression	4 (20,0)	3 (13,6)
Erkrankungen der Leber	2 (10,0)	3 (13,6)
Erkrankungen der Schilddrüse	2 (10,0)	4 (18,2)
Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts	8 (40,0)	6 (27,3)
Allergische Erkrankungen	3 (15,0)	1 (4,5)
Psychiatrische Erkrankungen	2 (10,0)	6 (27,3)
Suchterkrankungen	3 (15,0)	2 (9,1)
Vormedikation		
	N (%)	
Antidiabetika	7 (35,0)	1 (4,5)
ACE-Inhibitoren	6 (30,0)	4 (18,2)

Beta-Blocker	7 (35,0)	11 (50,0)
Angiotensin-Rezeptorblocker	2 (10,0)	3 (13,6)
Lipidsenker	4 (20,0)	5 (22,7)
Thrombozytenaggregationshemmer	5 (25,0)	7 (31,8)
Direkte orale Antikoagulantien (DOAK)	3 (15,0)	4 (18,2)
Marcumar	0 (0,0)	0 (0,0)
Calciumantagonisten	4 (20,0)	3 (13,6)
Diuretika	4 (20,0)	11 (50,0)
Systemische Glukokortikoide	0 (0,0)	5 (22,7)
Antiinfektiva (Antibiotika, Virostatika, Antimykotika)	2 (10,0)	2 (9,1)
Analgetika	3 (15,0)	8 (36,4)
Protonenpumpeninhibitoren (PPI)	8 (40,0)	8 (36,4)
Immunsuppressiva	2 (10,0)	3 (13,6)
inhalative Steroide	1 (5,0)	1 (4,5)
inhalative Beta-2-Agonisten	1 (5,0)	4 (18,2)
inhalative Anticholinergika	0 (0,0)	3 (13,6)
Schilddrüsen-Medikamente	1 (5,0)	4 (18,2)
Antikonvulsiva	0 (0,0)	4 (18,2)
Psychopharmaka	3 (15,0)	5 (22,7)
Antineoplastische Therapie	1 (5,0)	2 (9,1)
Initiale Symptome		
	N (%)	
Fieber	9 (45,0)	14 (63,6)
Husten	8 (40,0)	10 (45,5)
Dyspnoe	9 (45,0)	14 (63,6)
Bauchschmerzen	1 (5,0)	2 (9,1)
Übelkeit oder Erbrechen	2 (10,0)	3 (13,6)
Diarrhö	4 (20,0)	0 (0,0)
Kopfschmerzen	1 (5,0)	1 (4,5)
Abgeschlagenheit	2 (10,0)	3 (13,6)
Gliederschmerzen	2 (10,0)	1 (4,5)
Tachykardie	1 (5,0)	1 (4,5)
Ödeme	0 (0,0)	5 (22,7)
Verschlechterung des Allgemeinzustandes	5 (25,0)	4 (18,2)
Vitalparameter bei Aufnahme		
	Median (95% KI)	
Herzfrequenz (1/min)	84,5 (76,0-100,0)	90,0 (77,0-100,0)
Systolischer Blutdruck (mmHg)	139,0 (127,0-165,0)	140,0 (128,0-156,0)
Diastolischer Blutdruck (mmHg)	78,5 (62,0-85,0)	76,0 (70,0-92,0)

Atemfrequenz (1/min)	20,0 (16,0-28,0)	19,0 (16,0-26,0)
Körpertemperatur (°C)	37,1 (36,8-37,8)	37,15 (36,7-37,8)
	N (%)	
Sauerstoffbedarf	6 (30,0)	11 (50,0)
Auskultationsbefund bei Aufnahme		
	N (%)	
Pathologische Atemgeräusche (gesamt)	8 (40,0)	17 (77,3)
Rasselgeräusche	6 (30,0)	12 (54,5)
Verminderte Atemgeräusche	0 (0,0)	5 (22,7)
Ohne pathologischen Befund	5 (25,0)	5 (22,7)
Bildgebung (CT-Thorax)		
	N (%)	
Befund typisch für virale Pneumonie	20 (100,0)	10 (45,5)
Verlauf		
	N (%)	
Schwerer Krankheitsverlauf	15 (75,0)	12 (54,5)
Nichtinvasive Beatmung	12 (60,0)	14 (63,6)
Invasive Beatmung	11 (55,0)	5 (22,7)
extrakorporale Membranoxygenierung (ECMO)	1 (5,0)	0 (0,0)
Bauchlagerung	10 (50,0)	1 (4,5)
Katecholamingabe	13 (65,0)	5 (22,7)
Hämodialyse	7 (35,0)	2 (9,1)
Antibiotika	17 (85,0)	19 (86,4)
Virostatika	5 (25,0)	4 (18,2)
Antimykotika	3 (15,0)	1 (4,5)
Behandlungsdauer		
	Median (95% KI)	
Aufenthaltsdauer (Tage)	28,5 (19,0-39,0)	13,5 (8,0-23,0)
Beatmungsdauer (Tage)	27,0 (18,0-41,0)	4,0 (2,0-9,0)
Komplikationen		
	N (%)	
Respiratorische Komplikationen	17 (85,0)	17 (77,3)
Sepsis	16 (80,0)	19 (86,4)
Organdysfunktionen	17 (85,0)	10 (45,5)
Elektrolytentgleisungen	10 (50,0)	10 (45,5)
Outcome		

	N (%)	
Entlassen	16 (80,0)	21 (95,5)
Verstorben	4 (20,0)	1 (4,5)

n = Größe der Studiengruppe, N = Anzahl der Patienten mit Merkmalsausprägung

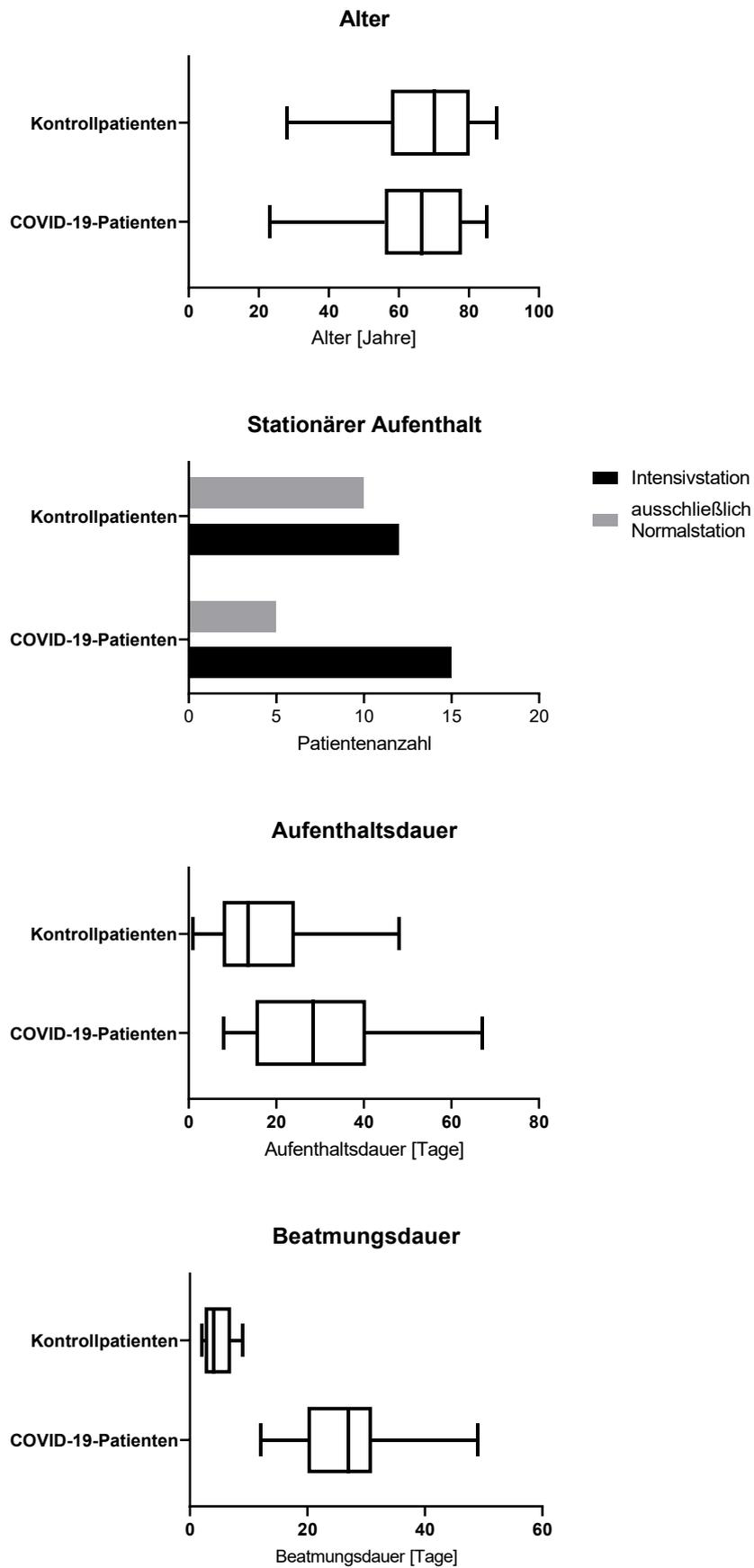


Abbildung 1: Zeitliche Charakteristika der eingeschlossenen Patienten

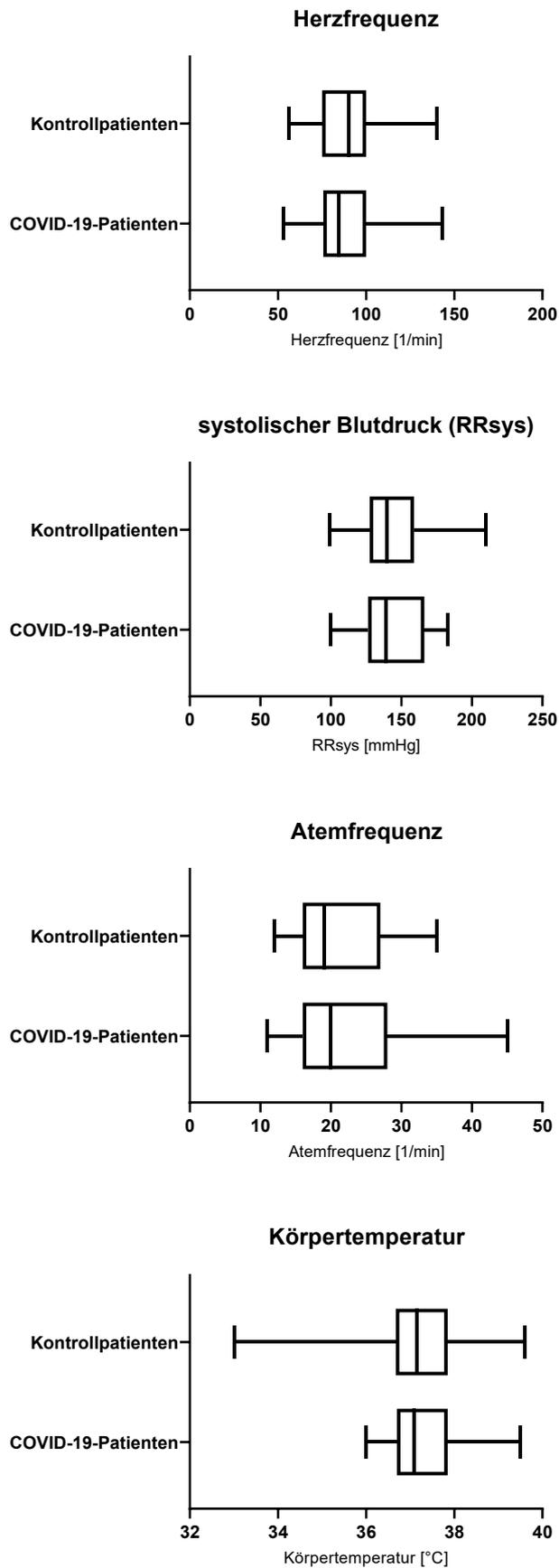


Abbildung 2: Vitalparameter der eingeschlossenen Patienten bei Aufnahme

6.3 Auswertung der Differentialblutbilder und morphologischen Charakteristika der peripheren Blutzellen

6.3.1 Erythrozyten

Die Hämoglobinkonzentration der COVID-19-Patienten liegt bei Aufnahme im Mittel bei 125,5 g/l. Dabei zeigen 11 der 20 COVID-19-Patienten (55%) bei Aufnahme per Definition eine Anämie mit Hämoglobinwerten unterhalb des Referenzbereiches (Hb ♂ < 135 bzw. ♀ < 120).

Weitere 7 COVID-19-Patienten entwickeln bei initial normwertigen Hämoglobinkonzentrationen eine Anämie während des stationären Aufenthaltes. In der Gruppe der intensivpflichtigen COVID-19-Patienten, welche bei Aufnahme geringere Hb-Konzentrationen zeigen als die COVID-19-Patienten mit mildem Verlauf (123,0 g/l vs. 139,0 g/l), sind die Werte während der stationären Behandlung zudem von einer fallenden Tendenz gekennzeichnet.

In den peripheren Blutausstrichen der COVID-19-Patienten sind bei mehreren Patienten Zellen der Erythropoese zu identifizieren. Die auftretenden kernhaltigen Vorstufen der Erythrozyten lassen sich dabei den polychromatischen sowie orthochromatischen Erythroblastenstadien zuordnen. Ein bläulich-violettes Zytoplasma sowie ein kompakter Kern, der teilweise noch dünne Furchen und Felderungen aufweist, sind die Erkennungsmerkmale der polychromatischen Erythroblasten. Das Zytoplasma der orthochromatischen Erythroblasten, die zusätzlich durch einen homogen gefärbten dunklen Zellkern mit pyknotischer Chromatinverdichtung gekennzeichnet sind, erscheint hingegen deutlich rötlicher (Abbildung 3). Zudem fällt eine violette Tingierung einzelner Erythrozyten auf, die durch eine basophile Punktierung zustande kommt, welche über den gesamten Erythrozyten verteilt ist (Abbildung 4). Diese morphologischen Auffälligkeiten der roten Zellreihe können sowohl in den Blutausstrichen der COVID-19-Patienten als auch in denen der Kontrollpatienten beobachtet werden.

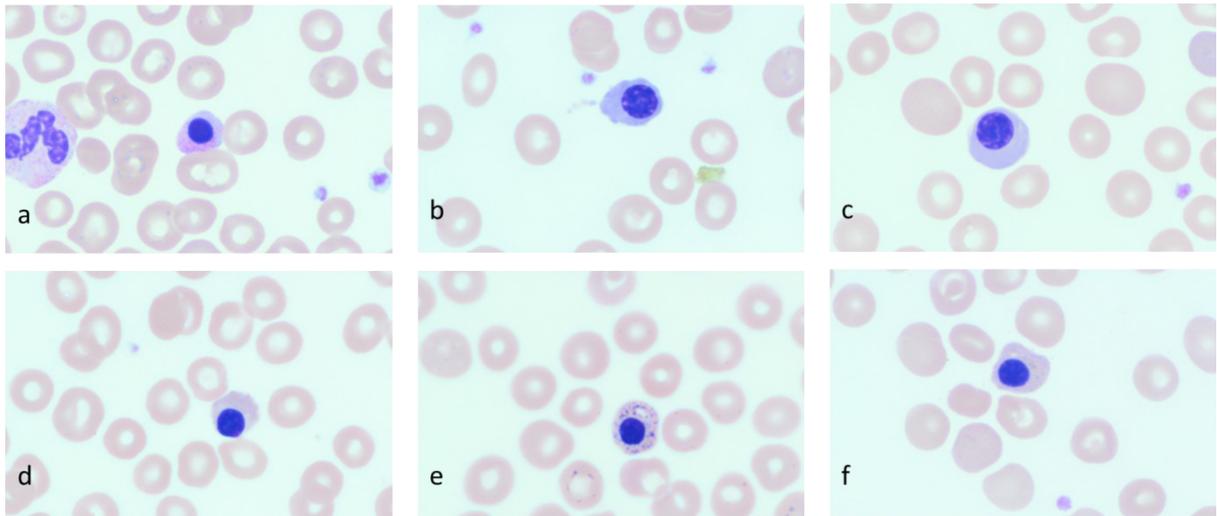


Abbildung 3: Zellen der Erythropoese in den Blutausstrichen verschiedener COVID-19-Patienten. a-c polychromatische Erythroblasten; d-f orthochromatische Erythroblasten

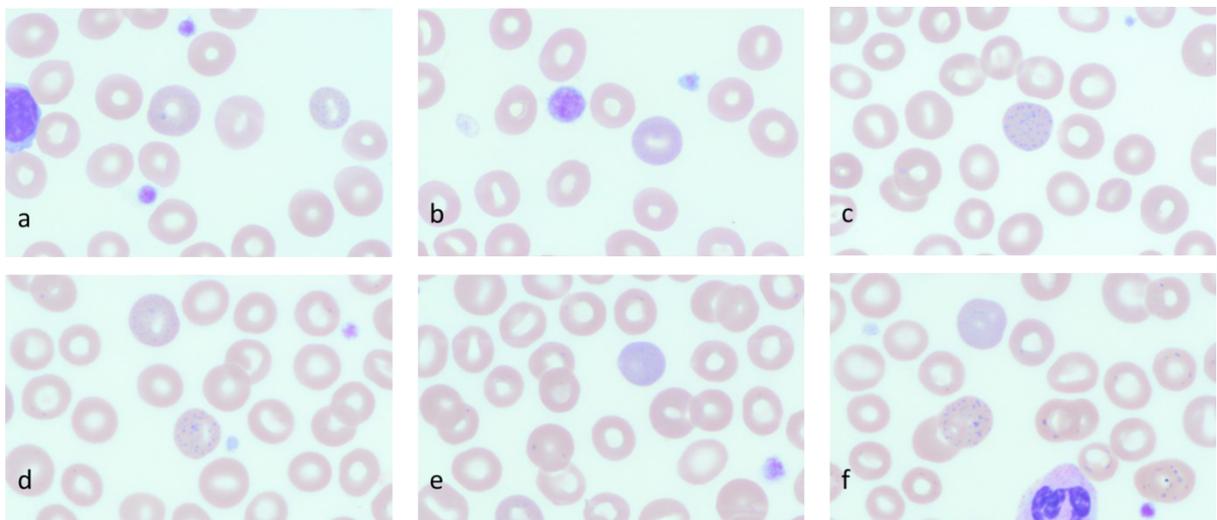


Abbildung 4: Basophile Tüpfelung der Erythrozyten in den Blutausstrichen verschiedener COVID-19-Patienten

6.3.2 Leukozyten

Die Leukozytenkonzentration liegt in der Gruppe der COVID-19-Patienten zum Aufnahmezeitpunkt im Mittel bei $7,55 \times 10^9/l$. 7 der 20 COVID-19-Patienten (35%) zeigen bei Aufnahme eine Leukozytose (Leukozytenkonzentration $>10,2 \times 10^9/l$); 9 weitere COVID-19-Patienten entwickeln im Verlauf der stationären Behandlung bei initial normwertigen Leukozytenkonzentrationen oder einer Leukopenie (Leukozytenkonzentration $<3,9 \times 10^9/l$) eine Leukozytose.

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Untersuchung der einzelnen Leukozyten-Subgruppen aufgeführt.

6.3.2.1 Granulozyten

Die Konzentrationen der neutrophilen Granulozyten beträgt in der Gruppe der COVID-19-Patienten zum Aufnahmezeitpunkt im Mittel $5,85 \times 10^9/l$, wobei 8 der 20 COVID-19-Patienten (40%) im initialen Differentialblutbild eine Neutrophilie (Neutrophilenkonzentration $>7,7 \times 10^9/l$) zeigen.

Morphologisch präsentieren die neutrophilen Granulozyten eine Vielzahl an Auffälligkeiten und Dysplasien. Im Vergleich zu der normal ausgeprägten Granulation des Zytoplasmas der neutrophilen Granulozyten in den Blutausstrichen der Kontrollpatienten (Abbildung 5), ist die mikroskopisch erkennbare Hypogranulation des Zytoplasmas in den Ausstrichen der COVID-19-Patienten besonders charakteristisch (Abbildung 6). Im direkten Vergleich der beiden Studienkollektiven kann festgestellt werden, dass die Hypogranulation bei den COVID-19-Patienten signifikant häufiger beobachtet werden kann als in der Kontrollgruppe (47,37% vs. 15,0%; $p^*=0,0407$) (Abbildung 7). Interessanterweise fällt zudem auf, dass von insgesamt 9 COVID-19-Patienten, die zum Aufnahmezeitpunkt hypogranulierte Neutrophile zeigen, 5 Patienten im Verlauf des stationären Aufenthaltes eine deutliche Zunahme der Granularität entwickeln (Abbildung 8; Veränderung der Granularität im Verlauf durch Pfeile gekennzeichnet).

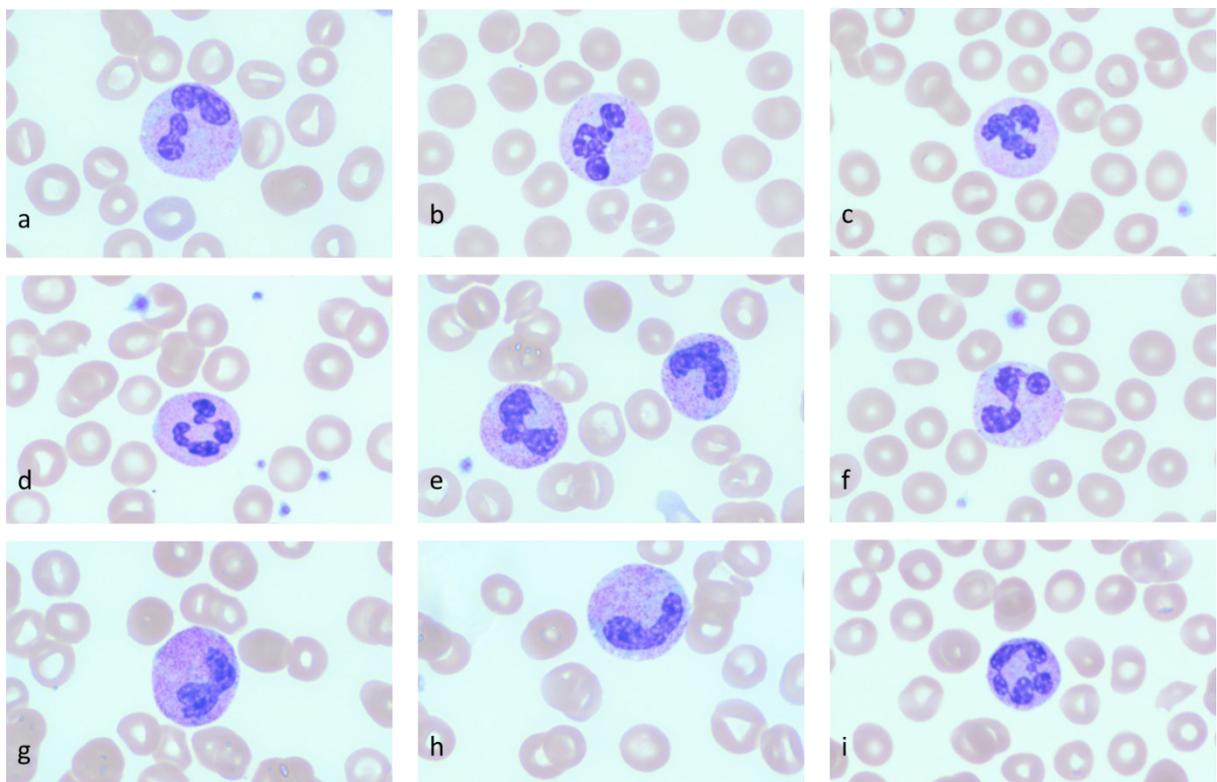


Abbildung 5: Normal ausgeprägte Granulation des Zytoplasmas der neutrophilen Granulozyten in den Blutausstrichen verschiedener Kontrollpatienten

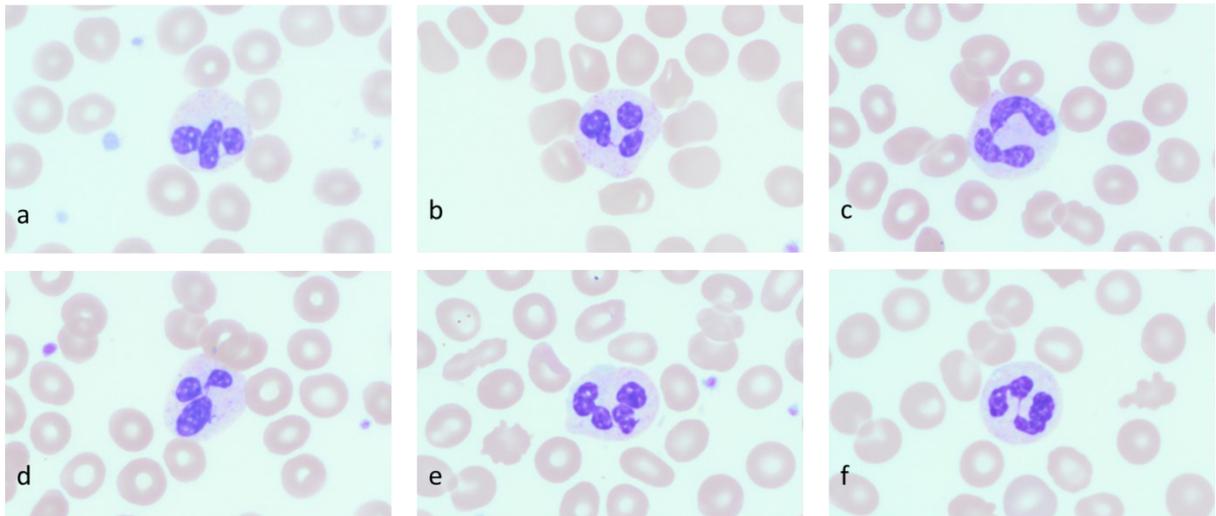


Abbildung 6: Hypogranulation des Zytoplasmas der neutrophilen Granulozyten in den Blutausstrichen verschiedener COVID-19-Patienten

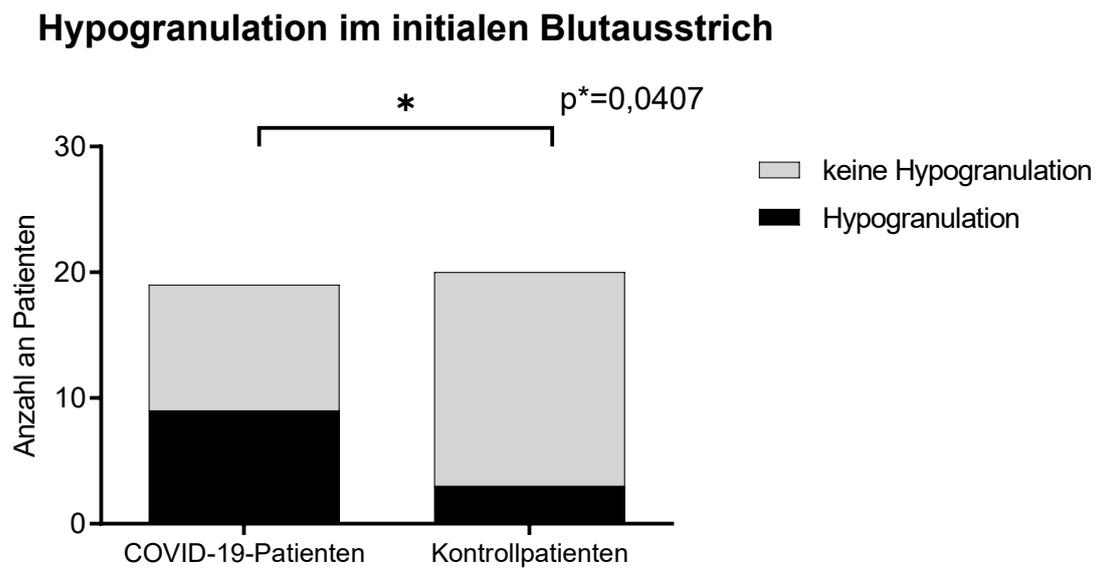


Abbildung 7: Auftreten der Hypogranulation der neutrophilen Granulozyten in den Blutausstrichen der eingeschlossenen Patienten (p^* =adjustierter p -Wert)

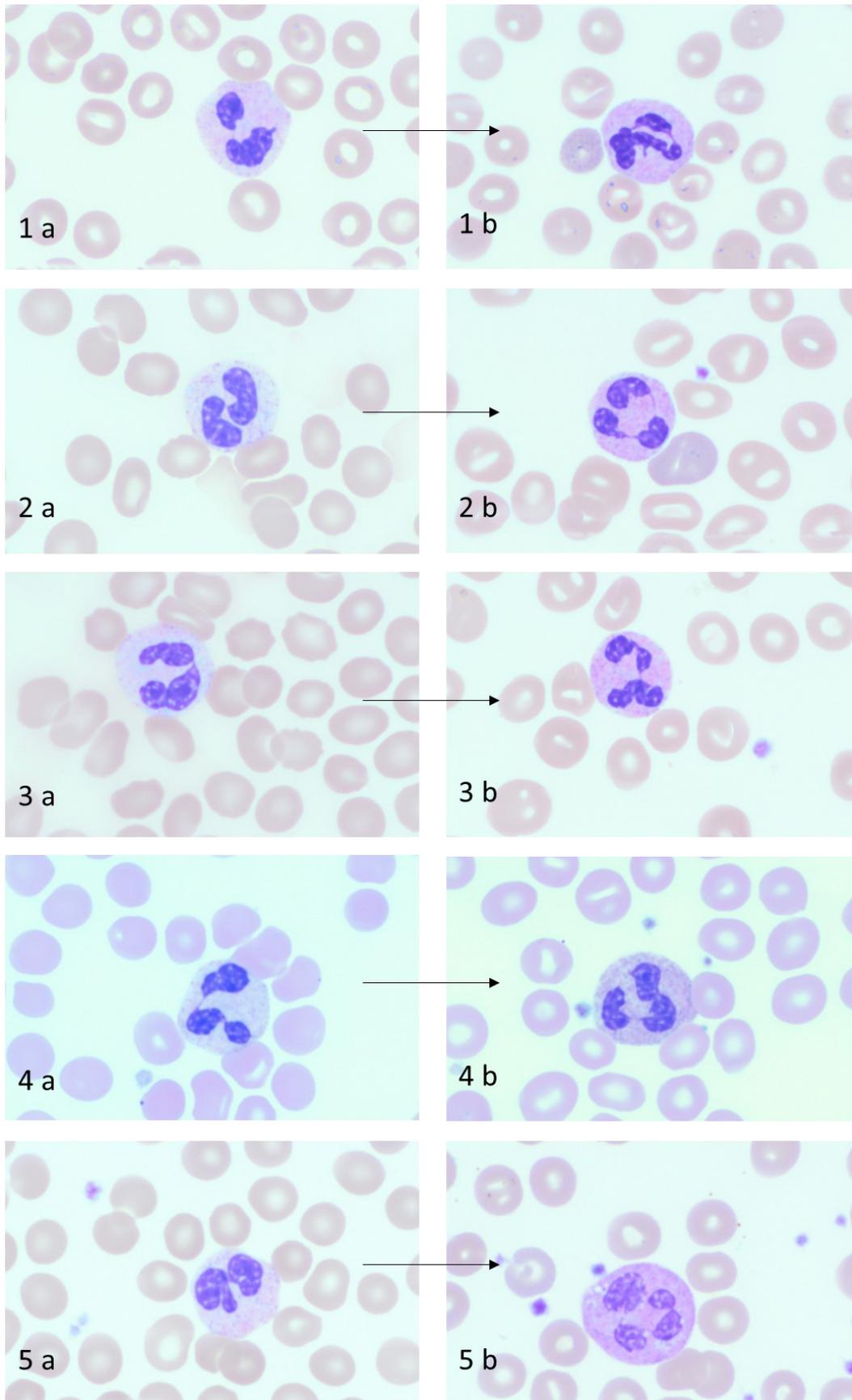


Abbildung 8: Granulierung des Zytoplasmas der neutrophilen Granulozyten in den Blutausstrichen verschiedener COVID-19-Patienten.
a = Hypogranulation im initialen Blutausstrich; b = Zunahme der Granularität in einem späteren Ausstrich

Weitere zytoplasmatische Auffälligkeiten der neutrophilen Granulozyten umfassen das Auftreten von Vakuolen sowie von Döhle-Körperchen und toxischen Granulationen. Bei insgesamt 10 COVID-19-Patienten imponieren Granulozyten mit mehreren kleinen Vakuolen, welche sich als scharf begrenzte, runde Aussparungen im Zytoplasma darstellen (Abbildung 9, a-i). Die Döhle-Körperchen sind als unregelmäßig begrenzte ovale oder längliche basophile Stellen im Zytoplasma zu identifizieren und hier exemplarisch in den Ausstrichen zweier COVID-19-Patienten dargestellt (Abbildung 9, j-k schwarze Pfeile). Granulozyten, die eine toxische Granulation in Form deutlich hervortretender dunkler bis azurophiler Granula präsentieren, sind in der Gruppe der COVID-19-Patienten nur sehr vereinzelt zu identifizieren (Abbildung 9, l).

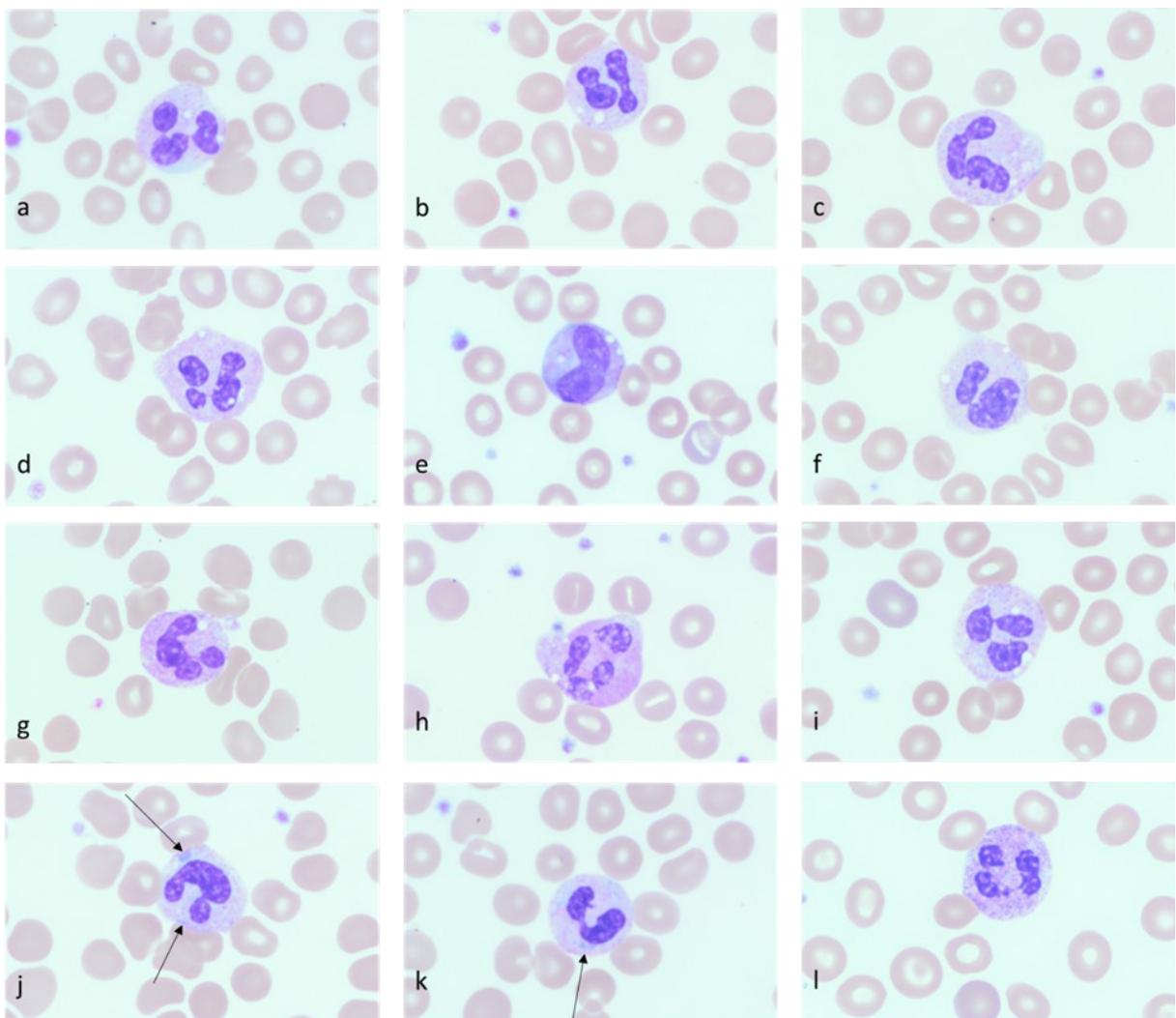


Abbildung 9: Zytoplasmatische Charakteristika der neutrophilen Granulozyten in den Blutausstrichen verschiedener COVID-19-Patienten. a-i zyttoplasmatische Vakuolen; j-k Döhle-Körperchen (schwarze Pfeile); l toxische Granulation

Neben den zytoplasmatischen Auffälligkeiten imponieren Anomalien der Kernmorphologie. 18 COVID-19-Patienten präsentieren zu mindestens einem Zeitpunkt im Krankheitsverlauf eine verringerte Kernsegmentation mit bilobierten, pelgeroiden Zellkernen. Die zweisegmentigen Kerne stellen sich dabei rundlich und plump oder auch brillenförmig dar (Abbildung 10).

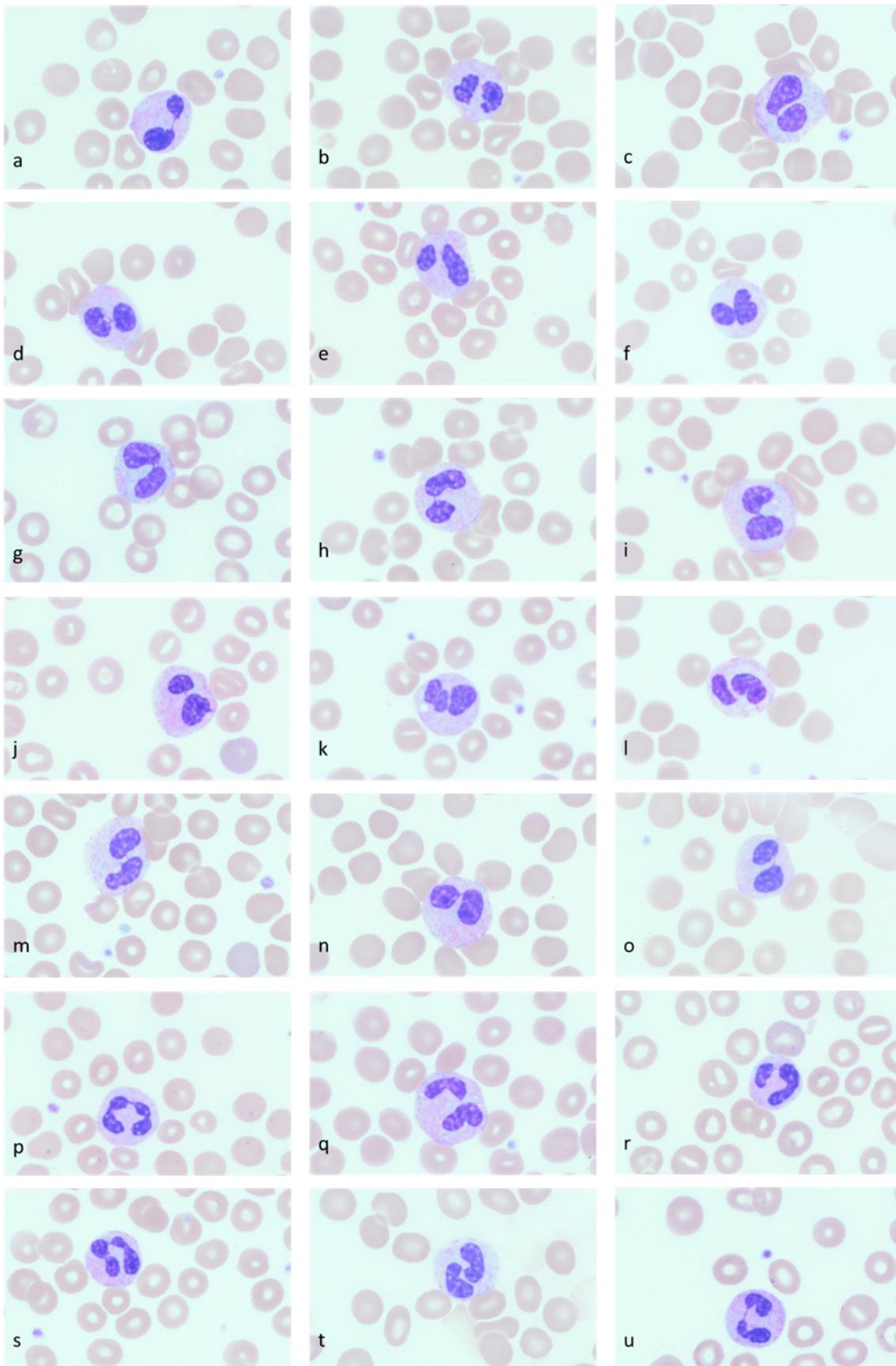


Abbildung 10: Bilobierte neutrophile Granulozyten in den Blutausstrichen verschiedener COVID-19-Patienten

Neben der pelgeroiden Kernsegmentierung, ist das Bild der neutrophilen Granulozyten durch eine Reihe weiterer dysplastischer Kernformationen charakterisiert. So sind monolobierte neutrophile Granulozyten mit vollständig fehlender Kernsegmentierung und auffällig dichtem, stark kondensiertem Kernchromatin bei einer Vielzahl der Patienten zu sehen (Abbildung 11). Auch eine auffällige Anordnung dicht kondensierter Kernsegmente in teilweise kreuzförmigen Formationen sowie ringförmige Kerne können identifiziert werden (Abbildung 12, Abbildung 13).

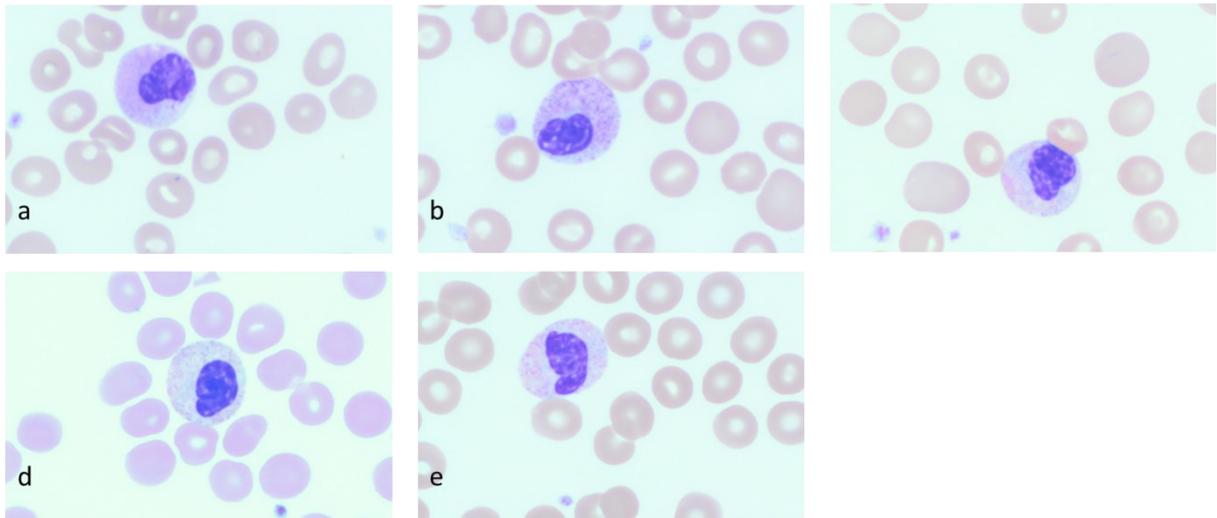


Abbildung 11: *Monolobierte neutrophile Granulozyten mit auffälliger Chromatinkondensation in den Blutausstrichen verschiedener COVID-19-Patienten*

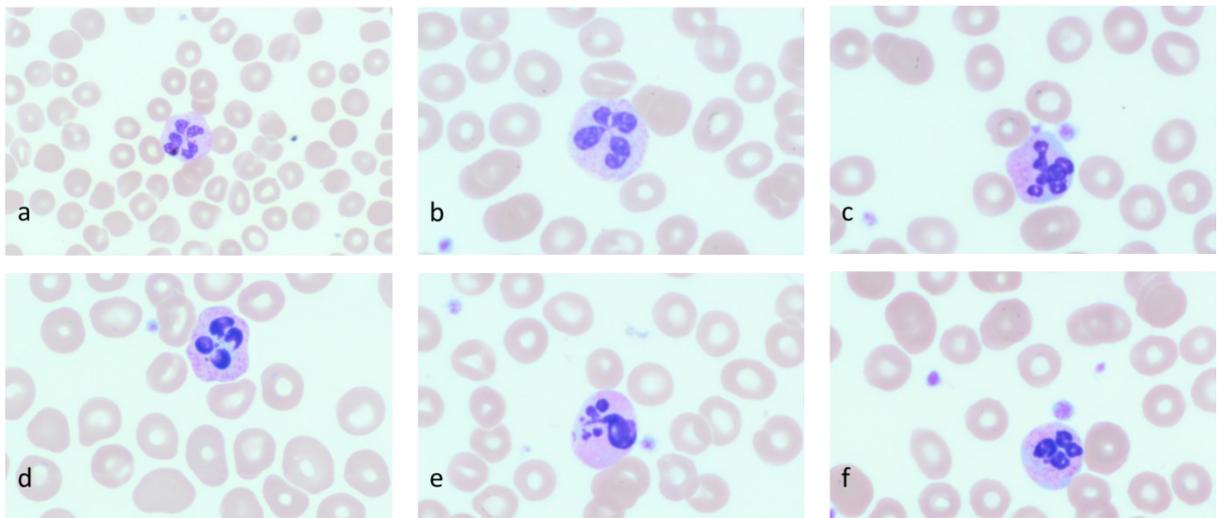


Abbildung 12: *Dysplastische Kernformationen mit pyknotisch verdichtetem Kernchromatin der neutrophilen Granulozyten in den Blutausstrichen verschiedener COVID-19-Patienten*

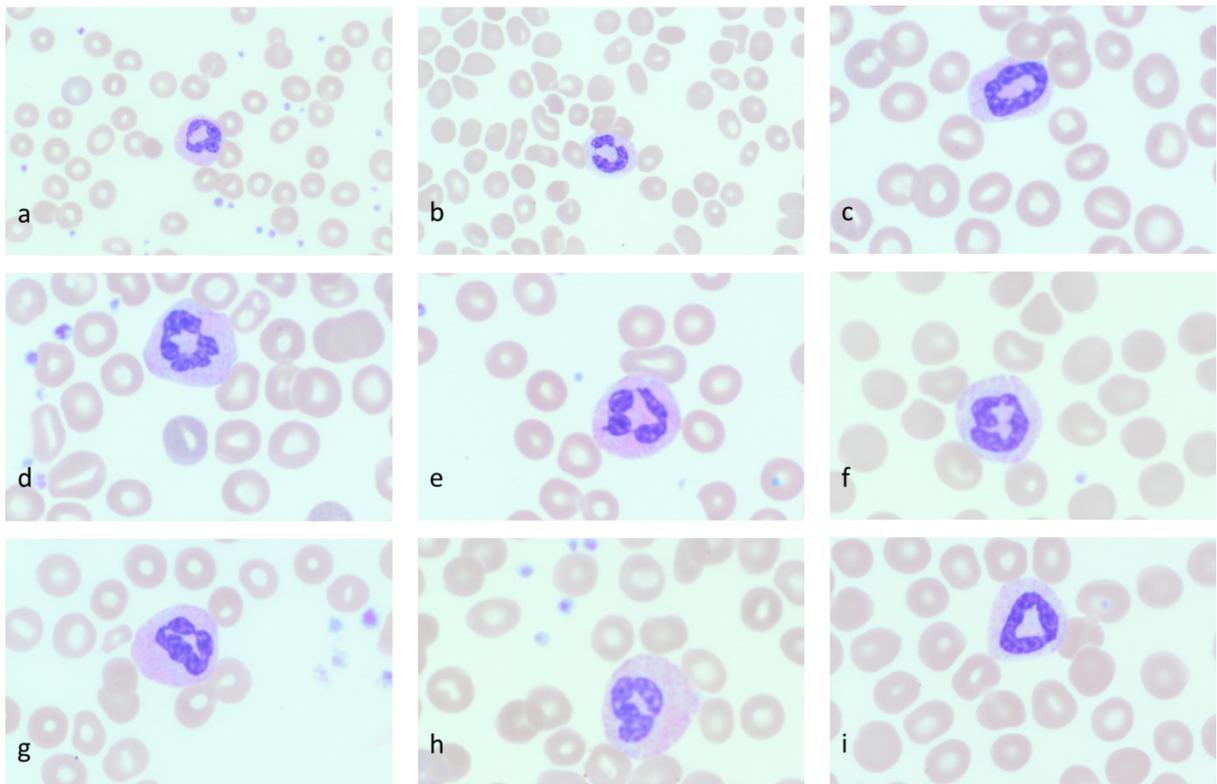


Abbildung 13: Neutrophile Granulozyten mit ringförmigen Kernen in den Blutausstrichen verschiedener COVID-19-Patienten

In den Blutausstrichen der COVID-19-Patienten imponiert zudem eine links verschobene Granulopoese mit einem vermehrten Auftreten von Myelozyten und Metamyelozyten. Der Zelldurchmesser der Myelozyten ist gegenüber den reifen Granulozyten leicht erhöht; der Kern ist rundlich bis unregelmäßig oval geformt und weist eine noch relativ feine Chromatinstruktur auf. Im Gegensatz dazu sind die Zellkerne der Metamyelozyten deutlicher eingebuchtet und das Chromatin erscheint zunehmend grobscholliger (Abbildung 14).

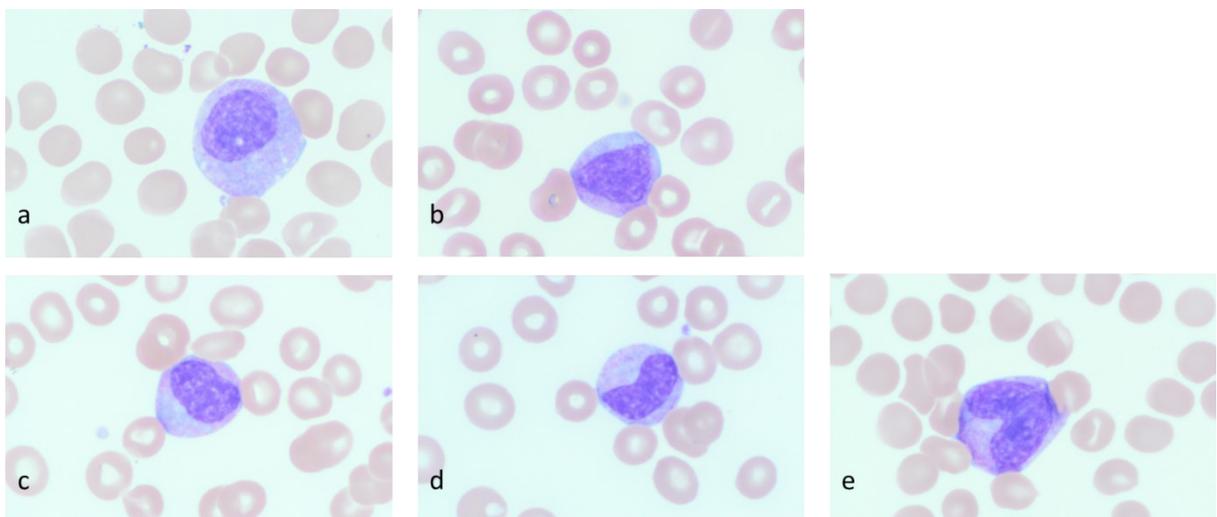


Abbildung 14: links verschobene Granulopoese in den Blutausstrichen verschiedener COVID-19-Patienten. a-b Myelozyten; c-e Metamyelozyten

6.3.2.2 Monozyten

Die Monozytenkonzentrationen der COVID-19-Patienten betragen zum Aufnahmezeitpunkt im Mittel $0,54 \times 10^9/l$, wobei 3 der 20 COVID-19-Patienten (15%) bei Aufnahme eine Monozytose (Monozytenkonzentration $>0,9 \times 10^9/l$) zeigen.

Morphologisch sind die Monozyten in den Blutausstrichen der COVID-19-Patienten durch eine ausgeprägte zytoplasmatische Vakuolisierung charakterisiert (Abbildung 15). Die Zellform der Monozyten ist ausgesprochen polymorph und in der Mehrzahl der Fälle durch eine unregelmäßige Kontur des Zytoplasmas, welches meist eine feine Granulierung aufweist, gekennzeichnet. Die Kerne zeigen ein teils dichtes bis feinstrukturiertes Chromatin und sind ebenfalls durch eine variable Form gekennzeichnet. Im Vergleich der COVID-19-Patienten mit der Kontrollgruppe lassen sich bezüglich des Auftretens dieser morphologischen Charakteristika keine quantifizierbaren Unterschiede feststellen.

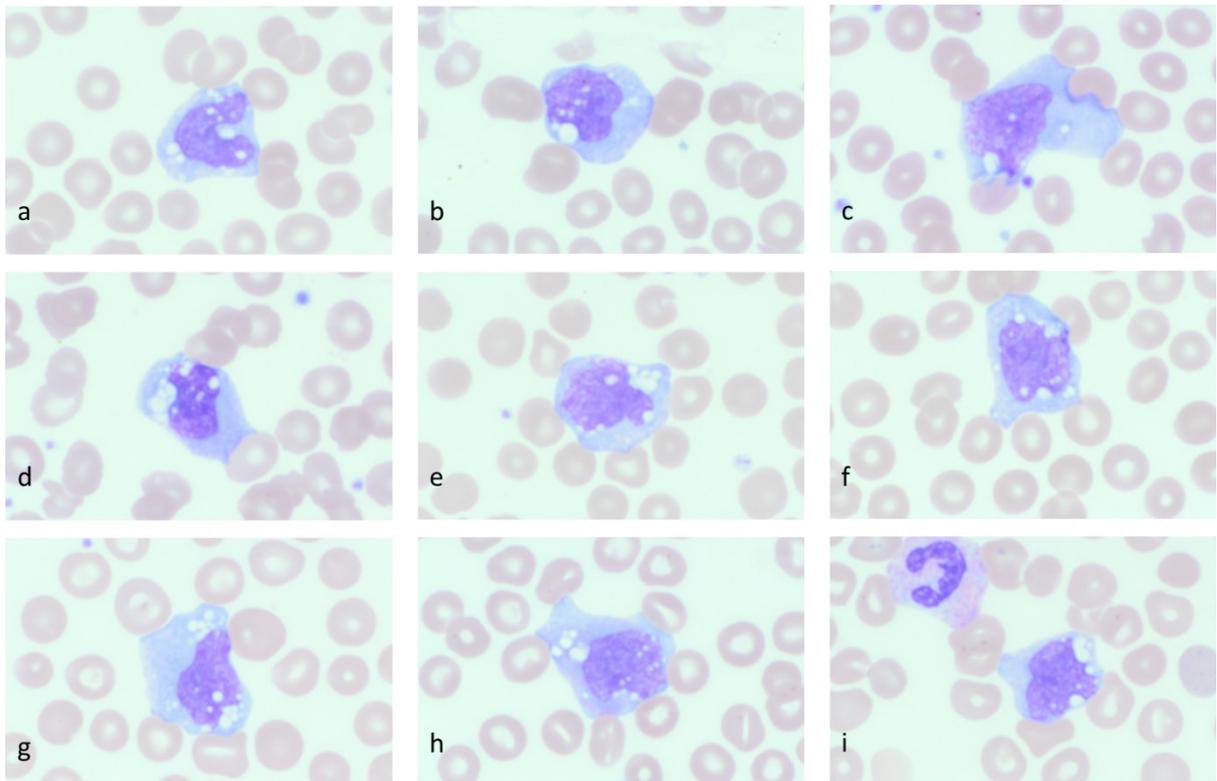


Abbildung 15: Ausgeprägte Vakuolisierung der Monozyten in den Blutausstrichen verschiedener COVID-19-Patienten

Es ist jedoch zu bemerken, dass die mittlere Monozytenkonzentration der schwer erkrankten COVID-19-Patienten zum Aufnahmezeitpunkt signifikant geringer ist als in der Gruppe der COVID-19-Patienten mit leichtem Krankheitsverlauf ($0,38 \times 10^9/l$ vs. $0,67 \times 10^9/l$; $p^*=0,0402$) (Abbildung 16).

Monozytenkonzentration der COVID-19-Patienten bei Aufnahme

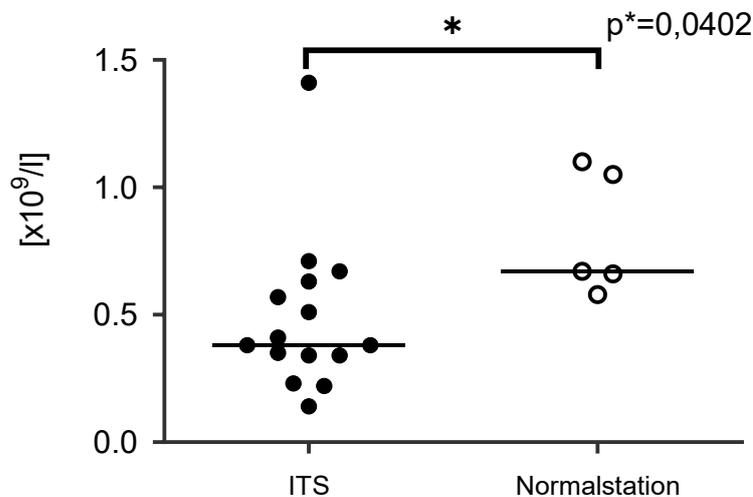


Abbildung 16: Vergleich der Monozytenkonzentration der eingeschlossenen COVID-19-Patienten mit milden und schweren Krankheitsverläufen zum Aufnahmezeitpunkt (p^* =adjustierter p-Wert)

6.3.2.3 Lymphozyten

Die absoluten Lymphozytenkonzentrationen der COVID-19-Patienten betragen bei Aufnahme im Mittel $0,71 \times 10^9/l$. Das Auftreten atypischer Lymphozyten gehört sowohl in der Gruppe der COVID-19-Patienten als auch in der Kontrollgruppe zu den prominenten Charakteristika der peripheren Blutausstriche. Dabei zeigen alle COVID-19-Patienten in mindestens einem Ausstrich Lymphozyten, die morphologisch vom ruhenden Standardlymphozyten abweichen und sich der aktuellen Nomenklatur zufolge der Kategorie der „vermutlich reaktiven Lymphozyten“ zuordnen lassen.¹⁴³ Diese aktivierten Lymphozyten sind durch einen im Vergleich zum Standardlymphozyten vergrößerten Zelldurchmesser und eine verringerte Kern-Plasma-Relation bei ausladenderem Zytoplasma gekennzeichnet. Der relativ blasse Zytoplasmasaum ist meist verbreitert, exzentrisch gelagert und weist in einigen Fällen eine basophile Randbetonung auf. Die Kerne sind durch eine unregelmäßige, teilweise eingebuchtete Form und durch eine relativ feine Chromatinstruktur gekennzeichnet. Als charakteristisches Merkmal präsentieren eine Vielzahl der aktivierten Lymphozyten neben einer perinukleären Aufhellung eine zentrale Aufhellungszone im Kern, die einem Nukleolus entspricht. (Abbildung 17)

¹⁴³ Vgl. Baurmann et al. (2011).

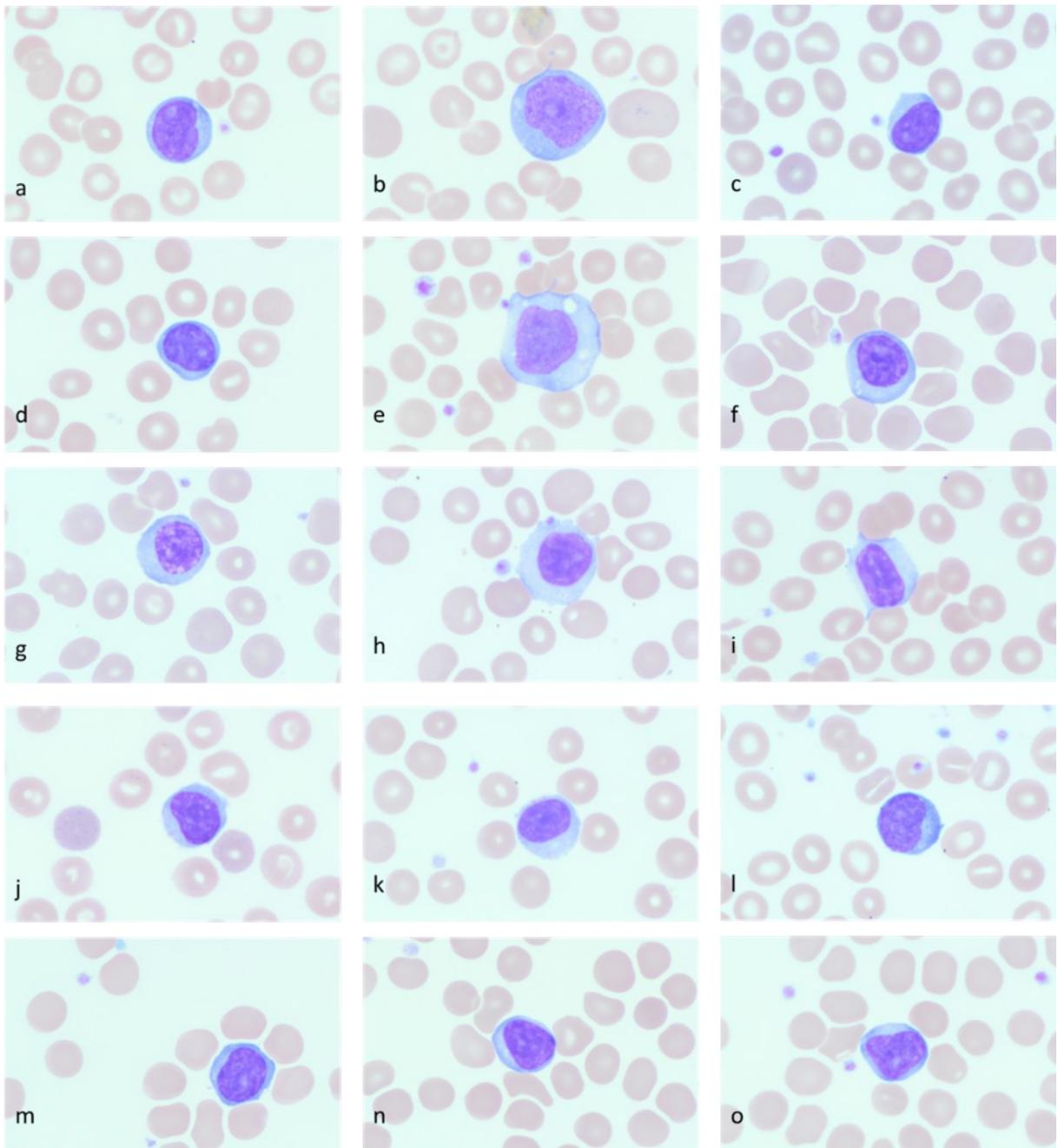


Abbildung 17: *Atypische Lymphozyten in den Blutausstrichen verschiedener COVID-19-Patienten*

Neben den reaktiven Lymphozyten prägen LGL-Zellen das mikroskopische Bild. Zytologisch sind die LGL-Zellen bei variabler Form und Größe meist durch ein verbreitertes und vergleichsweise blass-basophiles Zytoplasma gekennzeichnet, welches durch einen unregelmäßig begrenzten Randsaum sowie punktförmige, azurophile Granulationen charakterisiert ist. Die meist oval geformten Zellkerne weisen zum Teil Einkerbungen sowie prominente Nukleolen auf. Darüber hinaus finden sich Lymphozyten mit irregulären, villösen Zytoplasmaausziehungen sowie vereinzelte zirkulierende Plasmazellen, welche durch eine ovale Zellform und eine relativ starke Basophilie des Zytoplasmas gekennzeichnet sind. Der Kern der Plasmazellen liegt exzentrisch und weist dichtes, scholliges Chromatin auf. (Abbildung 18)

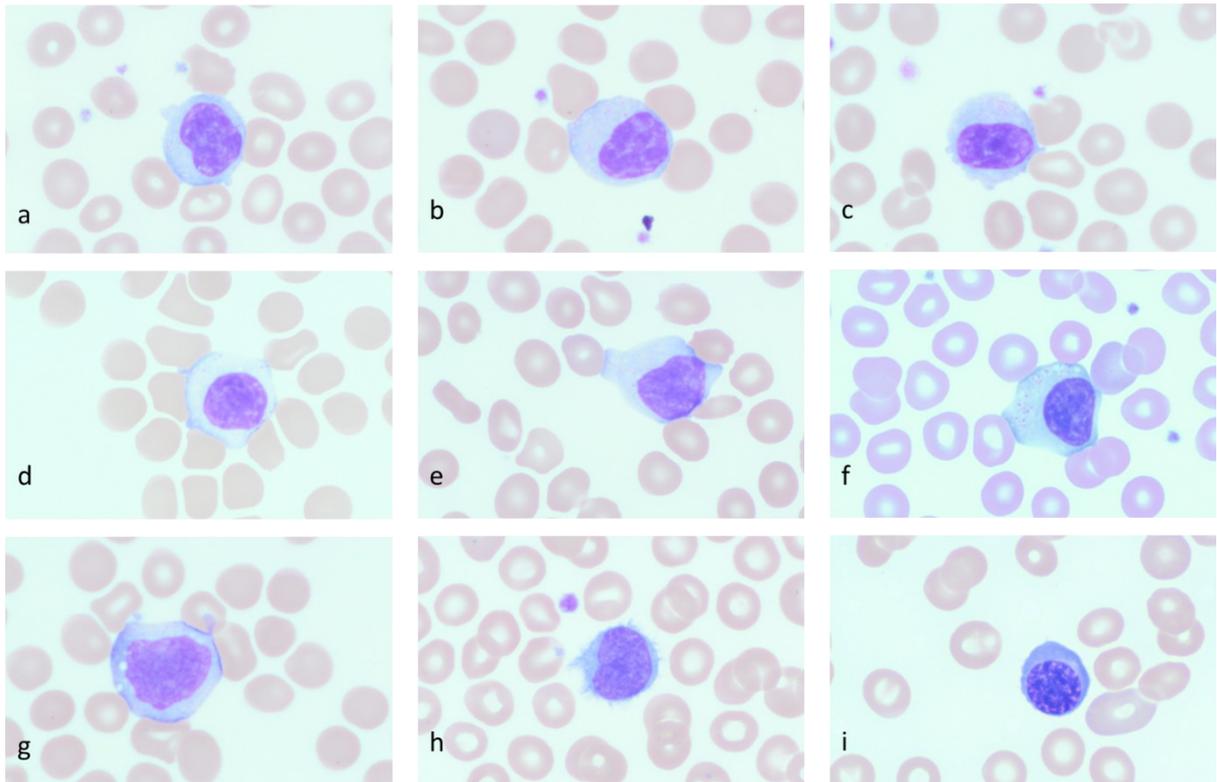


Abbildung 18: Morphologische Charakteristika der Lymphozyten in den Blutausstrichen verschiedener COVID-19-Patienten. a-g LGL-Zellen; h Lymphozyt mit villösen Zytoplasmaausziehungen; i Plasmazelle

Diese morphologischen Charakteristika können sowohl in der Gruppe der COVID-19-Patienten als auch in der Kontrollgruppe beobachten werden, ohne dass hierbei ein quantifizierbarer Unterschied zwischen den Studienpopulationen festzustellen ist. Es ist jedoch zu beobachten, dass schwer erkrankte COVID-19-Patienten im initialen Differentialblutbild eine signifikant geringere Konzentration nicht-atypischer Lymphozyten im Vergleich mit nur leicht erkrankten COVID-19-Patienten zeigen ($0,69 \times 10^9/l$ vs. $1,141 \times 10^9/l$; $p^* = 0,0402$) (Abbildung 19).

Konzentration nicht-atypischer Lymphozyten der COVID-19-Patienten bei Aufnahme

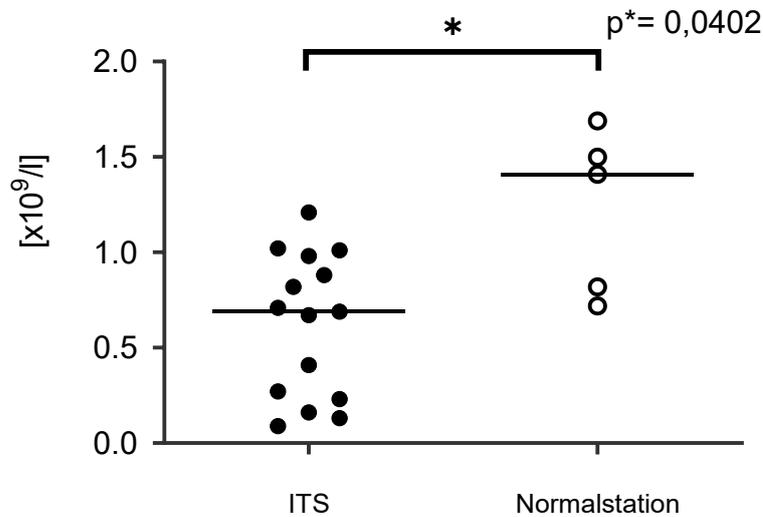


Abbildung 19: Vergleich der Konzentration nicht-atypischer Lymphozyten der eingeschlossenen COVID-19-Patienten mit milden und schweren Krankheitsverläufen zum Aufnahmezeitpunkt (p^* =adjustierter p-Wert)

6.3.3 Thrombozyten

Die mittlere Thrombozytenkonzentration der COVID-19-Patienten beträgt zum Aufnahmezeitpunkt $231,5 \times 10^9/l$. 2 der COVID-19-Patienten (10%) zeigen bei Aufnahme eine Thrombophilie (Thrombozytenkonzentration $>370 \times 10^9/l$) und 3 COVID-19-Patienten (15%) eine Thrombopenie (Thrombozytenkonzentration $<150 \times 10^9/l$).

Eine prominente Auffälligkeit in den Blutausstrichen der COVID-19-Patienten stellt das Auftreten von deutlich vergrößerten Thrombozyten dar, welche bei insgesamt 18 COVID-19-Patienten beobachtet werden können. Verglichen mit den Kontrollpatienten, treten Riesenthrombozyten damit signifikant häufiger in den initialen Blutausstrichen der COVID-19-Patienten auf (94,74% vs. 60,0%; $p=0,0390$) (Abbildung 20). Der Zellrand der Riesenthrombozyten, welche gemessen am Zelldurchmesser meist die Größe der Erythrozyten übersteigen, ist nicht klar abgrenzbar und durch retikuläre Zytoplasmaausläufer gekennzeichnet. Zudem ist teilweise eine zytoplasmatische Vakuolisierung zu erkennen (Abbildung 21).

Riesenthrombozyten im initialen Blutausstrich

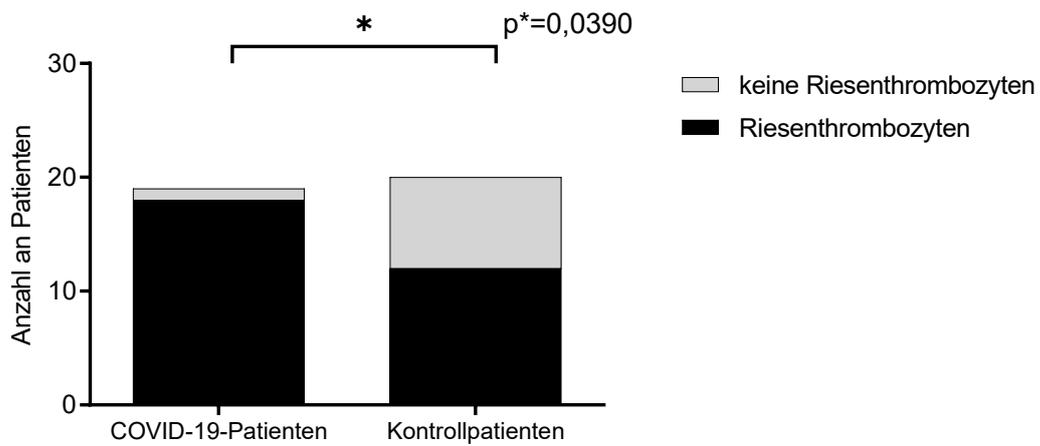


Abbildung 20: Auftreten von Riesenthrombozyten in den Blutausstrichen der eingeschlossenen Patienten zum Aufnahmezeitpunkt (p^* =adjustierter p -Wert)

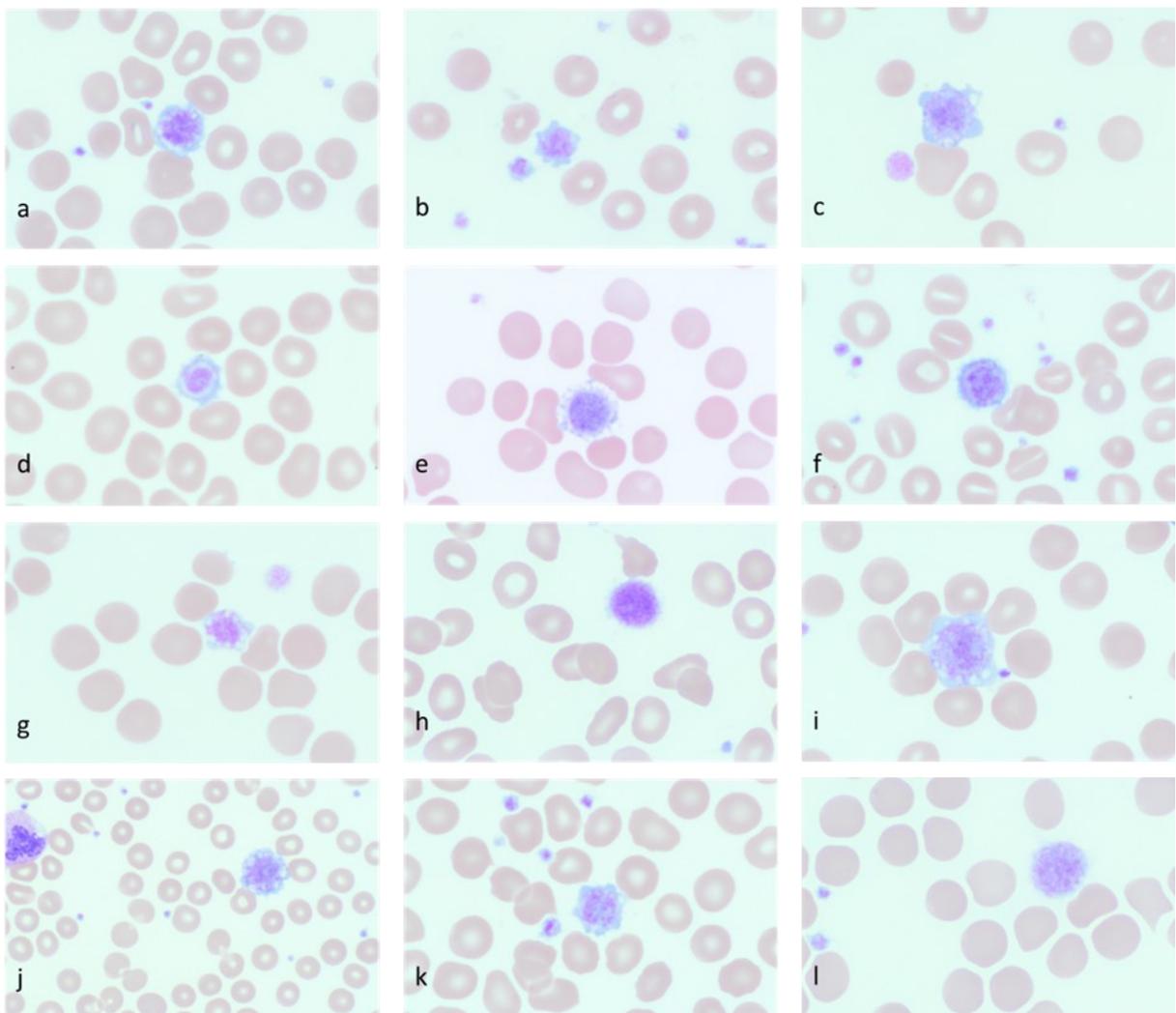


Abbildung 21: Riesenthrombozyten in den Blutausstrichen verschiedener COVID-19-Patienten

Eine zusammenfassende Darstellung der quantitativen hämatologischen Parameter der eingeschlossenen Patienten zum Aufnahmezeitpunkt zeigen die folgenden beiden Tabellen:

Tabelle 4: Hämatologische Parameter der eingeschlossenen Patienten bei Aufnahme

Parameter		COVID-19-Patienten (n=20)	Kontrollpatienten (n=22)
Hb [g/L]	Median (95% KI)	125,5 (117,0-139,0)	123,5 (115,0-139,0)
♂ < 135 bzw. ♀ < 120	N/n (%)	11/20 (55,00)	12/22 (54,55)
Erythrozyten [$\times 10^{12}/l$]	Median (95% KI)	4,45 (4,20-5,10)	4,50 (3,80-4,80)
Hk [L/L]	Median (95% KI)	0,38 (0,34-0,43)	0,39 (0,34-0,42)
MCH [pg]	Median (95% KI)	28,5 (28,0-29,0)	29,0 (27,0-30,0)
MCV [fl]	Median (95% KI)	83,5 (82,0-85,0)	87,0 (84,0-90,0)
MCHC [g/L Erythrozyten]	Median (95% KI)	342,5 (337,0-352,0)	334,0 (321,0-342,0)
Leukozytenkonzentration			
Absolut [$\times 10^9/l$]	Median (95% KI)	7,55 (6,32-11,20)	8,305 (5,420-15,40)
$>10,2 \times 10^9/l$	N/n (%)	7/20 (35,00)	8/22 (36,36)
$<3,9 \times 10^9/l$	N/n (%)	3/20 (15,00)	2/22 (9,09)
Basophilenkonzentration			
Absolut [$\times 10^9/l$]	Median (95% KI)	0,01 (0,000-0,030)	0,02 (0,000-0,045)
Eosinophilenkonzentration			
Absolut [$\times 10^9/l$]	Median (95% KI)	0,00 (0,00-0,03)	0,075 (0,030-0,140)
Neutrophilenkonzentration			
Absolut [$\times 10^9/l$]	Median (95% KI)	5,850 (3,810-9,700)	5,565 (3,120-11,12)
$>7,7 \times 10^9/l$	N/n (%)	8/20 (40,00)	7/22 (31,82)
$<1,5 \times 10^9/l$	N/n (%)	0/20 (0,00)	1/22 (4,55)
Monozytenkonzentration			
Absolut [$\times 10^9/l$]	Median (95% KI)	0,540 (0,350-0,670)	0,465 (0,260-0,740)
$>0,9 \times 10^9/l$	N/n (%)	3/20 (15,00)	3/22 (13,64)
$<0,1 \times 10^9/l$	N/n (%)	0/20 (0,00)	2/22 (9,09)

Parameter		COVID-19-Patienten (n=20)	Kontrollpatienten (n=22)
Lymphozytenkonzentration (Lymphozyten gesamt)			
Absolut [$\times 10^9/l$]	Median (95% KI)	0,71 (0,44-0,98)	1,03 (0,71-1,87)
Lymphozytenkonzentration (nicht atypische Lymphozyten)			
Absolut [$\times 10^9/l$]	Median (95% KI)	0,770 (0,410-1,010)	0,925 (0,540-1,370)
Neutrophilen/Lymphozyten-Quotient	Median (95% KI)	9,195 (4,460-14,94)	6,415 (3,700-19,85)
Thrombozytenkonzentration			
Absolut [$\times 10^9/l$]	Median (95% KI)	231,5 (181,0-293,0)	199,0 (138,0-322,0)
$>370 \times 10^9/l$	N/n (%)	2/20 (10,00)	4/22 (18,18)
$<150 \times 10^9/l$	N/n (%)	3/20 (15,00)	6/22 (27,27)

n = Größe der Studiengruppe, N = Anzahl der Patienten über oder unter den Cut-off-Werten

Tabelle 5: *Hämatologische Parameter der COVID-19-Patienten mit schwerem und leichtem Krankheitsverlauf bei Aufnahme*

Parameter		COVID-19-Patienten mit schwerem Krankheitsverlauf (n=15)	COVID-19-Patienten mit leichtem Krankheitsverlauf (n=5)
Hb [g/L]	Median (95% KI)	123,0 (108,0-138,0)	139,0 (124,0-169,0)
$\delta < 135$ bzw. $\delta < 120$	N/n (%)	9/15 (60,00)	2/5 (40,00)
Erythrozyten [$\times 10^{12}/L$]	Median (95% KI)	4,40 (3,90-5,10)	4,50 (4,20-5,85)
Hk [L/L]	Median (95% KI)	0,37 (0,33-0,45)	0,40 (0,35-0,47)
MCH [pg]	Median (95% KI)	28,0 (27,0-29,0)	30,0 (29,0-32,0)
MCV [fl]	Median (95% KI)	83,0 (79,0-85,0)	84,0 (82,0-90,0)
MCHC [g/L Erythrozyten]	Median (95% KI)	338,0 (328,0-346,0)	352,0 (347,0-360,0)
Leukozytenkonzentration			
Absolut [$\times 10^9/l$]	Median (95% KI)	7,45 (5,01-11,20)	7,65 (5,83-22,90)
$>10,2 \times 10^9/l$	N/n (%)	5/15 (33,33)	2/5 (40,00)

Parameter		COVID-19-Patienten mit schwerem Krankheitsverlauf (n=15)	COVID-19-Patienten mit leichtem Krankheitsverlauf (n=5)
<3,9 × 10 ⁹ /l	N/n (%)	3/15 (20,00)	0/5 (0,00)
Basophilenkonzentration			
Absolut [× 10 ⁹ /l]	Median (95% KI)	0,01 (0,00-0,04)	0,01000 (0,00-0,03)
Eosinophilenkonzentration			
Absolut [× 10 ⁹ /l]	Median (95% KI)	0,00 (0,00-0,02)	0,03 (0,00-0,19)
Neutrophilenkonzentration			
Absolut [× 10 ⁹ /l]	Median (95% KI)	6,30 (2,93-9,79)	5,13 (3,81-19,04)
>7,7 × 10 ⁹ /l	N/n (%)	6/15 (40,00)	2/5 (40,00)
<1,5 × 10 ⁹ /l	N/n (%)	0/15 (0,00)	0/5 (0,00)
Monozytenkonzentration			
Absolut [× 10 ⁹ /l]	Median (95% KI)	0,38 (0,34-0,63)	0,67 (0,58-1,10)
>0,9 × 10 ⁹ /l	N/n (%)	1/15 (6,67)	2/5 (40,00)
<0,1 × 10 ⁹ /l	N/n (%)	0/15 (0,00)	0/5 (0,00)
Lymphozytenkonzentration (Lymphozyten gesamt)			
Absolut [× 10 ⁹ /l]	Median (95% KI)	0,710 (0,390-1,120)	0,755 (0,170-2,720)
Lymphozytenkonzentration (nicht atypische Lymphozyten)			
Absolut [× 10 ⁹ /l]	Median (95% KI)	0,69 (0,23-0,98)	1,41 (0,72-1,69)
Neutrophilen/Lymphozyten- Quotient	Median (95% KI)	9,24 (5,47-15,78)	3,04 (2,70-23,22)
Thrombozytenkonzentration			
Absolut [× 10 ⁹ /l]	Median (95% KI)	227,0 (170,0-293,0)	266,0 (162,0-410,0)
>370 × 10 ⁹ /l	N/n (%)	1/15 (6,67)	1/5 (20,00)
<150 × 10 ⁹ /l	N/n (%)	3/15 (20,00)	0/5 (0,00)

n = Größe der Studiengruppe, N = Anzahl der Patienten über oder unter den Cut-off-Werten

7 Diskussion

7.1 Erythrozyten

Die Anämie ist ein typischer Begleitbefund systemischer Infektionen und tritt besonders häufig bei hospitalisierten Patienten auf, die intensivmedizinisch behandelt werden.¹⁴⁴ Obwohl bis zum aktuellen Zeitpunkt uneinheitliche Daten zur Prävalenz der Anämie bei COVID-19-Patienten publiziert worden sind, war daher zu erwarten, dass ein Großteil der eingeschlossenen Patienten niedrige Hb-Konzentrationen aufweisen würde. Es konnte gezeigt werden, dass bei 55% aller eingeschlossenen COVID-19-Patienten bei Aufnahme eine Anämie diagnostiziert werden konnte. Dieser Wert ist allerdings nur bedingt mit publizierten Angaben vergleichbar, da die Hb-Konzentration stark von Alter, Geschlecht und Grunderkrankungen der Patienten abhängt und dadurch im Besonderen von den Charakteristika der Studienpopulation beeinflusst wird. Die intensivpflichtigen Patienten zeigten zudem verglichen mit leicht erkrankten COVID-19-Patienten bei Aufnahme und im Verlauf des Krankenhausaufenthaltes niedrigere Hb-Konzentrationen. Dieser Zusammenhang entspricht dabei den allgemeinen Erwartungen und ist wenig spezifisch für die COVID-19-Erkrankung.

Im Hinblick auf die Pathogenese der COVID-19-assoziierten Anämie legen Ergebnisse von Bergamaschi et al. nahe, dass diese mit großer Wahrscheinlichkeit auf die systemische Entzündungsreaktion zurückzuführen ist. An der Genese der Infektanämie sind proinflammatorische Zytokine sowie das Akute-Phase-Protein Hepcidin maßgeblich beteiligt. Über eine verminderte Mobilisation von Eisen aus dem retikuloendothelialen System und eine geringere intestinale Resorption bewirken diese Entzündungsmediatoren eine Störung der Eisenhomöostase. Darüber hinaus führen sie zu einer Beeinträchtigung der Erythropoese und über die Aktivierung von Makrophagen zu einem gesteigerten Erythrozytenabbau.¹⁴⁵

Die beobachteten Veränderungen der Erythrozyten in den Blutaussstrichen der COVID-19-Patienten können in diesem Zusammenhang als morphologischer Ausdruck einer solchen Dyserythropoese interpretiert werden. In der mikroskopischen Auswertung konnte eine polychromatische Darstellung der Erythrozyten beobachtet werden, welche auf einer stärkeren Anfärbbarkeit mit basischen Farbstoffen beruht und ein typisches morphologisches Korrelat der Retikulozytose darstellt.¹⁴⁶ Wie zu erwarten war, konnten zudem Erythroblasten im peripheren Blut der COVID-19-Patienten nachgewiesen werden. Diese morphologischen Veränderungen spiegeln einen hämatopoetischen Stresszustand wider, welcher in Folge der

¹⁴⁴ Vgl. Vincent et al. (2002).

¹⁴⁵ Vgl. Weiss et al. (2019).

¹⁴⁶ Vgl. Löffler et al. (2004), S. 31–33.

SARS-CoV-2-Infektion entsteht und mit einer reaktiven Veränderung der Erythropoese einhergeht. Zusammenfassend lässt sich somit feststellen, dass die COVID-19-Patienten dieser Studie typische, infektassoziierte Auffälligkeiten der quantitativen Erythrozytenindizes sowie der Erythrozytenmorphologie präsentierten.

7.2 Leukozyten

Die Leukozyten sind ein essentieller Bestandteil der immunologischen Abwehrmechanismen und dementsprechend häufig werden Veränderungen der Leukozytenzahlen sowie der relativen Verteilung der Subtypen im Zusammenhang mit Infektionen und Entzündungsprozessen beobachtet. Dabei ist die Leukozytose im klinischen Alltag ein häufiger und gleichzeitig unspezifischer Befund, der auf vielfältige Ursachen zurückgeführt werden kann. Während bakterielle Infektionen typischerweise mit einer ausgeprägten, reaktiven Leukozytose einhergehen, werden bei Virusinfektionen meist nur geringgradige Leukozytosen und nicht selten auch Leukopenien beobachtet.^{147,148}

Wider Erwarten zeigten in dieser Studie jedoch 35% der eingeschlossenen COVID-19-Patienten bei Aufnahme eine Leukozytose und auch in aktuellen Veröffentlichungen werden erhöhte Leukozytenkonzentrationen bei COVID-19-Patienten beschrieben. Retrospektive Studien an teilweise deutlich größeren Patientenkollektiven konnten darüber hinaus zeigen, dass ein statistischer Zusammenhang zwischen der Höhe der Leukozytenkonzentration zum Aufnahmezeitpunkt und der Prognose der COVID-19-Patienten besteht. So konnte nachgewiesen werden, dass höhere Leukozytenkonzentrationen mit einem erhöhten Risiko für eine intensivmedizinische Behandlung und die Entwicklung eines ARDS sowie mit einer erhöhten Krankenhaussterblichkeit korrelieren.^{149,150,151,152,153}

Um den Anstieg der Leukozytenkonzentrationen bei den COVID-19-Patienten jedoch bewerten zu können, ist eine Differenzierung der quantitativen Verschiebungen und morphologischen Veränderungen innerhalb der Leukozytensubpopulationen zwingend erforderlich.

¹⁴⁷ Vgl. Kroschinsky et al. (2007).

¹⁴⁸ Vgl. Reinhardt/Ritter (2018).

¹⁴⁹ Vgl. Huang et al. (2020).

¹⁵⁰ Vgl. Wang et al. (2020a).

¹⁵¹ Vgl. Wu et al. (2020a).

¹⁵² Vgl. Deng et al. (2020).

¹⁵³ Vgl. Zhou et al. (2020a).

7.2.1 Granulozyten

Neben physischen und psychischen Belastungssituationen, welche mit erhöhten Katecholamin- und Glucocorticoidspiegeln einhergehen, sind meist Infektionen und Entzündungsgeschehen bakterieller Genese Auslöser einer reaktiven Granulozytose. Demgegenüber stehen eine Reihe viraler Erreger, darunter Röteln- und Influenzaviren, welche bekanntermaßen mit einer Granulozytopenie bzw. Neutropenie einhergehen.^{154,155} Dass in dieser Arbeit 40% der COVID-19-Patienten bei Aufnahme eine Neutrophilie präsentieren und bei keinem COVID-19-Patienten eine Neutropenie festgestellt werden konnte, ist daher eine für virale Infektionen untypische Beobachtung. Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass die neutrophilen Granulozyten den Hauptanteil der Gesamtleukozyten ausmachen, erklärt dieser Befund allerdings die Erhöhung der Leukozytenkonzentrationen, die bei den eingeschlossenen COVID-19-Patienten festgestellt werden konnte. Zudem wird die Neutrophilie auch in aktuellen Publikationen als typische COVID-19-assoziierte Veränderung mit entscheidender prognostischer Aussagekraft beschrieben.^{156,157,158}

Die Bedeutung der neutrophilen Granulozyten für die Pathogenese der COVID-19-Erkrankung kann dabei anhand des Konzeptes von Siddiqi und Mehra verdeutlicht werden. Sie formulierten die These, dass ein schwerer systemischer Verlauf der COVID-19-Erkrankung nicht durch die Pathogenität des Virus selbst, sondern vielmehr durch eine inadäquat übersteigerte Immunantwort vermittelt wird.¹⁵⁹ Da bei schwer erkrankten COVID-19-Patienten ein ausgeprägtes proinflammatorisches Zytokinprofil beobachtet werden konnte, wird in diesem Zusammenhang auch von einem sogenannten Zytokin-Sturm-Syndrom gesprochen.¹⁶⁰ Dieser Zytokinsturm resultiert unter anderem in der Aktivierung der neutrophilen Granulozyten, welche maßgeblich an der Entstehung der systemischen Hyperinflammation, welche in einem Multiorganversagen resultieren kann, beteiligt sind.^{161,162}

Daher kann die Bestimmung der Konzentration der neutrophilen Granulozyten wichtige Informationen für die Beurteilung des Krankheitsverlaufes der COVID-19-Patienten liefern. Im

¹⁵⁴ Vgl. Reinhardt/Ritter (2018).

¹⁵⁵ Vgl. Kroschinsky et al. (2007).

¹⁵⁶ Vgl. Wang et al. (2020a).

¹⁵⁷ Vgl. Huang et al. (2020).

¹⁵⁸ Vgl. Wu et al. (2020a).

¹⁵⁹ Vgl. Siddiqi/Mehra (2020).

¹⁶⁰ Vgl. Mehta et al. (2020).

¹⁶¹ Vgl. Gustine/Jones (2021), S. 9.

¹⁶² Vgl. Veras et al. (2020).

klinischen Alltag sollte die Neutrophilie dabei als Risikofaktor für schwere systemische COVID-19-Verläufe gewertet und in die Therapieentscheidungen einbezogen werden.

Die Entstehung der Neutrophilie kann dabei durch eine kurzfristige Umverteilung von Neutrophilen aus den marginalen Gefäßpools in die Blutzirkulation sowie durch die Mobilisierung des Reservepools im Knochenmark bewirkt werden. In diesem Zusammenhang können Myelozyten und Metamyelozyten, die in dieser Untersuchung im peripheren Blut der COVID-19-Patienten identifiziert werden konnten, als Korrelat der reaktiv gesteigerten Granulopoese interpretiert werden. Die Döhle-Körperchen, die in den zirkulierenden Granulozyten beobachtet werden konnten, entsprechen Resten des rauen endoplasmatischen Retikulums und weisen damit ebenfalls auf eine verkürzte Zellreifung hin.¹⁶³

In der mikroskopischen Analyse der Blutausstriche fielen zudem Pseudo-Pelger-Zellen, rundkernige Granulozyten sowie ringförmige Kernstrukturen auf. Außerdem war das Kernchromatin einiger Granulozyten durch eine auffällige Chromatinkondensation gekennzeichnet. Diese Dysplasiezeichen sind ebenfalls als Folgeerscheinungen einer beeinträchtigten Granulopoese zu interpretieren und werden auch in aktuellen Publikationen im Zusammenhang mit der SARS-CoV-2-Infektion beschrieben.^{164,165,166, 167,168} Um den Zusammenhang zwischen diesen Dysplasiezeichen der neutrophilen Granulozyten und möglichen Beeinträchtigungen ihrer Funktion im Detail nachvollziehen zu können, sind weiterführende Untersuchungen mittels DNA- und mRNA-Sequenzierung, Durchflusszytometrie und Massenspektrometrie von entscheidender Bedeutung. Aktuelle Forschungsergebnisse weisen jedoch auf eine dysregulierte Expression der - für die Ausbildung der NETs essentiellen Enzyme - Myeloperoxidase und Elastase in neutrophilen Granulozyten der COVID-19-Patienten hin.¹⁶⁹

Neben einer gesteigerten Vakuolisierung konnte in der morphologischen Auswertung eine ausgeprägte Hypogranulation des Zytoplasmas der neutrophilen Granulozyten festgestellt werden, welche bei den COVID-19-Patienten verglichen mit der Kontrollgruppe signifikant häufiger auftrat. Im longitudinalen Verlauf konnte eine Normalisierung der Granulierung bei den betroffenen COVID-19-Patienten beobachtet werden. Die Beschreibung dieser dynamischen Veränderung der Zytoplasmagranularität in Zusammenhang mit einer SARS-CoV-

¹⁶³ Vgl. Fuchs et al. (2016), S. 142–147.

¹⁶⁴ Vgl. Singh et al. (2020).

¹⁶⁵ Vgl. Lüke et al. (2020).

¹⁶⁶ Vgl. Zini et al. (2020).

¹⁶⁷ Vgl. Nazarullah et al. (2020).

¹⁶⁸ Vgl. Berber et al. (2021).

¹⁶⁹ Vgl. Muralidharan et al. (2022).

2-Infektion ist bislang nicht beschrieben. Die bei COVID-19-Patienten signifikant häufiger auftretende Hypogranulierung der neutrophilen Granulozyten könnte möglicherweise als zusätzliches Kriterium für die initiale Diagnosestellung herangezogen werden. Um die prognostische Bedeutung der Hypogranulation genauer zu explorieren, wäre jedoch eine Beurteilung der Blutausstriche größerer Patientenpopulationen mit unterschiedlichen schweren COVID-19-Verläufen erforderlich.

7.2.2 Monozyten

Das mononukleär-phagozytäre System stellt eine Hauptquelle der Zytokinproduktion dar und ist maßgeblich an der Entstehung des Hyperinflammationssyndrom bei schwer erkrankten COVID-19-Patienten beteiligt. Während unter Berücksichtigung der aktuellen Forschungsergebnisse von einer inadäquaten Aktivierung der Makrophagen in Folge einer SARS-CoV-2-Infektion ausgegangen werden kann, ist die Datenlage zu quantitativen Veränderungen der im peripheren Blut zirkulierenden Monozyten, begrenzt.^{170,171} In dieser Arbeit konnte jedoch gezeigt werden, dass die mittlere Monozytenkonzentration der schwer erkrankten COVID-19-Patienten bei Aufnahme signifikant geringer ist als in der Gruppe der COVID-19-Patienten mit leichten Krankheitsverläufen. Diese Ergebnisse implizieren, dass die Monozytenkonzentration einen Parameter mit prognostischem Potential darstellt und die Identifikation von COVID-19-Patienten mit einem höheren Risiko für schwere Krankheitsverläufe bereits zum Aufnahmezeitpunkt ermöglicht.

Dies passt zu den Beobachtungen von Qin et al., die bei der Auswertung der Daten von insgesamt 425 COVID-19-Patienten feststellen konnten, dass schwer erkrankte COVID-19-Patienten einen signifikant geringeren relativen Anteil an Monozyten aufweisen als Patienten mit mildem Verlauf.¹⁷² Es ist jedoch darauf hinzuweisen, dass die Resultate der publizierten Arbeiten im Hinblick auf die prognostische Aussagekraft der Monozytenkonzentrationen uneinheitlich und durch eine geringe Evidenz geprägt sind. So stehen zwei weiteren Publikationen, die tendenziell niedrigere Monozytenkonzentrationen in Zusammenhang mit der Entstehung eines ARDS, der intensivpflichtigen Behandlung sowie dem Tod der COVID-19-Patienten setzen, der Veröffentlichung von Yang et al. gegenüber, welche eine signifikante Korrelation zwischen schweren Krankheitsverläufen und höheren Monozytenkonzentrationen nachweisen konnten.^{173,174,175} Es sind daher weitere Untersuchungen notwendig, um die

¹⁷⁰ Vgl. Gustine/Jones (2021).

¹⁷¹ Vgl. Wang et al. (2020b).

¹⁷² Vgl. Qin et al. (2020), S. 762–765.

¹⁷³ Vgl. Wu et al. (2020a).

¹⁷⁴ Vgl. Berber et al. (2021).

¹⁷⁵ Vgl. Yang et al. (2020a).

Auswirkungen der SARS-CoV-2-Infektion auf Funktion und Zahl der Monozyten vollständig zu verstehen und die Ursache der Diskrepanzen in der aktuellen Datenlage zu ergründen.

In der Auswertung der Blutausstriche konnte gezeigt werden, dass die Monozyten der COVID-19-Patienten durch eine ausgeprägte Vakuolisierung charakterisiert sind. Diese zytoplasmatische Veränderung weist dabei auf eine enzymatische Aktivität der Lysosomen und eine gesteigerte Aktivierung der Monozyten hin.¹⁷⁶ Im Hinblick auf einen möglichen Zusammenhang zwischen den morphologischen und quantitativen Veränderungen der Monozyten kann auf die Ergebnisse der Untersuchung von Zhang et al. verwiesen werden. Interessanterweise konnten diese zeigen, dass COVID-19-Patienten bei verringerter absoluter Monozytenkonzentration gleichzeitig einen erhöhten Anteil vergrößerter, atypischer Monozyten aufwiesen, die durch eine ausgeprägte Vakuolisierung sowie eine erhöhte IL-6, IL-10 und TNF- α -Sekretion charakterisiert waren. Der Anteil dieser aktivierten Monozyten korreliert dabei mit der Schwere der Krankheitsverläufe und der Prognose der COVID-19-Patienten.¹⁷⁷ Es kann daher vermutet werden, dass neben den Makrophagen auch die im Blut der COVID-19-Patienten zirkulierenden Monozyten aktiviert werden und an der Entstehung des Hyperinflammationssyndroms beteiligt sind.¹⁷⁸

Gleichzeitig gibt es Anhaltspunkte dafür, dass es bei schwer erkrankten COVID-19-Patienten zu einer reaktiv gesteigerten Monopoese mit einer verstärkten Freisetzung unreifer, funktionsuntüchtiger Monozyten kommt, welche zu einer Insuffizienz der Immunantwort bei gleichzeitiger Steigerung der Hyperinflammation beitragen könnten.^{179,180} In welchem Zusammenhang die morphologischen und funktionellen Veränderungen der Monozyten mit der absoluten Monozytenkonzentration stehen, ist jedoch zum aktuellen Zeitpunkt noch nicht abschließend ergründet und bedarf weiterer Untersuchungen.

7.2.3 Lymphozyten

Während virale Infektionen typischerweise mit einer reaktiven Erhöhung der Lymphozytenkonzentrationen einhergehen, hat sich die Lymphopenie als labordiagnostischer Kardinalbefund der COVID-19-Erkrankung herausgestellt.¹⁸¹ Die Mechanismen, die der Entstehung der Lymphopenie bei COVID-19 Patienten zugrunde liegen, sind jedoch noch nicht vollständig aufgeklärt. Unter Annahme des Konzeptes der Hyperinflammation als

¹⁷⁶ Vgl. Fuchs et al. (2016), S. 10.

¹⁷⁷ Vgl. Zhang et al. (2021a).

¹⁷⁸ Vgl. Zhou et al. (2020c).

¹⁷⁹ Vgl. Mann et al. (2020).

¹⁸⁰ Vgl. Schulte-Schrepping et al. (2020).

¹⁸¹ Vgl. Reinhardt/Ritter (2018), S. 313.

pathophysiologische Grundlage der systemischen COVID-19-Manifestation wird vermutet, dass der Zytokinsturm möglicherweise zu einer Apoptose der Lymphozyten und einer Suppression ihrer Proliferation führen könnte.¹⁸² Zudem könnte die Lymphopenie möglicherweise auf eine Schädigung der sekundär lymphatischen Organe, welche bei COVID-19-Patienten durch eine ausgeprägte Gewebeatrophie und Zelldegeneration charakterisiert sind, zurückzuführen sein.¹⁸³ Darüber hinaus werden eine direkte Virusinvasion mit konsekutivem Untergang der Lymphozyten sowie eine Schädigung der Lymphozyten durch metabolische Entgleisungen mit erhöhten Laktatspiegeln im Rahmen der SARS-CoV-2-Infektion diskutiert.^{184,185, 186}

Aktuelle Studien kommen jedoch übereinstimmend zu dem Ergebnis, dass es sich bei der Lymphopenie um einen ausschlaggebenden Prognosefaktor handelt, welcher mit einem schweren Krankheitsverlauf der COVID-19-Patienten korreliert.¹⁸⁷ Auch in dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass schwer erkrankte COVID-19-Patienten bei Aufnahme signifikant geringere Konzentrationen nicht-atypischer Lymphozyten aufweisen als COVID-19-Patienten mit leichten Krankheitsverläufen. In Übereinstimmung mit dem aktuellen wissenschaftlichen Konsens verdeutlicht dieses Ergebnis das prognostische Potential, dass die Bestimmung der Lymphozytenkonzentration zum Aufnahmezeitpunkt der COVID-19-Patienten bietet.

Neben den quantitativen Veränderungen in den Differentialblutbildern zeigen die Lymphozyten in den Blutaussstrichen der COVID-19-Patienten zudem ein ausgeprägt reaktives Zellbild. Es konnten zahlreiche atypische Lymphozyten und LGL-Zellen beobachtet werden, welche als morphologisches Korrelat aktivierter T-Lymphozyten und NK-Zellen interpretiert werden können.¹⁸⁸ Hierbei handelt es sich zwar um COVID-typische, allerdings relativ unspezifische Veränderungen. Um eine effiziente Einschätzung des Krankheitsverlaufs sowie der Prognose der COVID-19-Patienten zu ermöglichen, kann der Fokus im klinischen Alltag daher auf die Begutachtung der quantitativen Lymphozytenkonzentrationen im Differentialblutbild gelegt werden. Dass jedoch auch die morphologische Beurteilung der Lymphozyten nicht nur Potential als Screeningparameter für eine SARS-CoV-2-Infektion besitzt, sondern auch eine praktische Relevanz für die Prognoseabschätzung und Therapieplanung haben kann, zeigen die Ergebnisse zahlreicher Studien, welche eine Korrelation zwischen der

¹⁸² Vgl. Diao et al. (2020).

¹⁸³ Vgl. Zhang et al. (2020b), S. 2.

¹⁸⁴ Vgl. Xu et al. (2020a), S. 3.

¹⁸⁵ Vgl. Fischer et al. (2007).

¹⁸⁶ Vgl. Tan et al. (2020), S. 2.

¹⁸⁷ Vgl. Terpos et al. (2020).

¹⁸⁸ Vgl. Löffler et al. (2004), S. 66–67.

Existenz atypischer Lymphozyten und einer günstigen Prognose der COVID-19-Patienten belegen.¹⁸⁹

7.3 Thrombozyten

Obwohl die Thrombopenie, welche hinsichtlich ihrer zugrunde liegenden Mechanismen noch nicht im Detail aufgeklärt werden konnte, als unabhängiger Risikofaktor für schwere Krankheitsverläufe und eine ungünstige Prognose identifiziert werden konnte¹⁹⁰, zeigten die COVID-19-Patienten dieser Studie bei Aufnahme zum größten Teil normwertige Thrombozytenkonzentrationen. Lediglich bei 3 COVID-19-Patienten mit schweren Verläufen, die während des stationären Aufenthaltes intensivmedizinisch versorgt wurden, konnte eine geringfügige Thrombopenie festgestellt werden. Interessanterweise definierten Iba et al. in einer Publikation aus Januar 2021 die COVID-19-assoziierte Koagulopathie als eigene Entität, welche zwar Ähnlichkeiten zu bekannten Gerinnungsstörungen aufweist, im Gegensatz zu dem Krankheitsbild der DIC jedoch beispielsweise durch eine relativ unveränderte Thrombozytenzahl charakterisiert ist. Auch weitere hämatologische Laborwerte wie die partielle Thromboplastinzeit und die Prothrombinzeit zeigen im Rahmen der CAC vergleichsweise geringfügige Abweichungen von den Referenzwerten. Um eine Früherkennung und adäquate Überwachung der COVID-19-Patienten insbesondere im Hinblick auf die Koagulopathie-assoziierten Komplikationen zu ermöglichen, sollte die hämatologische Diagnostik daher in jedem Fall um weitere Globalparameter der Gerinnung wie die D-Dimer- und Fibrinogenkonzentration ergänzt werden.¹⁹¹

Trotz der weitestgehend unauffälligen Thrombozytenkonzentrationen stellt das Auftreten zahlreicher Riesenthrombozyten eine charakteristische morphologische Auffälligkeit in den Blutaussstrichen der COVID-19-Patienten dar, welche auch in der aktuellen Literatur Erwähnung findet.^{192,193,194,195} Interessanterweise zeigte sich, dass die Riesenthrombozyten bei den eingeschlossenen COVID-19-Patienten signifikant häufiger auftreten als in der Gruppe der Kontrollpatienten. Diese Beobachtung kann als Hinweis auf ein ausgeprägtes Inflammationsgeschehen bei COVID-19-Patienten und einen daraus folgenden erhöhten Knochenmarkstress mit einer Beeinträchtigung der Thrombozytopoese interpretiert werden.

¹⁸⁹ Vgl. Zini/d'Onofrio (2022), S. 6.

¹⁹⁰ Vgl. Amgalan/Othman (2020).

¹⁹¹ Vgl. Iba et al. (2021).

¹⁹² Vgl. Singh et al. (2020).

¹⁹³ Vgl. Jones/Ireland (2020).

¹⁹⁴ Vgl. Lüke et al. (2020).

¹⁹⁵ Vgl. Zini et al. (2020).

Die genauen Mechanismen, über die SARS-CoV-2 die Bildung und Freisetzung der Thrombozyten beeinflusst, sind allerdings zum aktuellen Zeitpunkt nicht im Detail aufgeklärt. Neben einer direkten Interaktion des Virus mit den hämatopoetischen Stammzellen hat möglicherweise eine virusvermittelte Veränderung der Thrombopoietin-Wirkung einen Einfluss auf die Bildung und Freisetzung der Thrombozyten. Zudem wird vermutet, dass verschiedene Zytokine, welche im Rahmen der COVID-19-assoziierten Hyperinflammation freigesetzt werden, auf die Megakaryozyten-Reifung Einfluss nehmen könnten.¹⁹⁶ Die Größenzunahme und die Ausbildung zytoplasmatischer Pseudopodien periphere zirkulierender Thrombozyten können zudem als Korrelat einer funktionellen Aktivierung der Thrombozyten interpretiert werden, wodurch sich die morphologischen Veränderungen evident in das prothrombotische Zustandsbild der COVID-19-Erkrankung einfügen ließen.¹⁹⁷

Ungeachtet der nur unvollständig verstandenen pathophysiologischen Mechanismen weisen die Ergebnisse dieser Arbeit darauf hin, dass es sich bei dem Auftreten vergrößerter Thrombozyten um ein morphologisches Charakteristikum handelt, welches ergänzend für die initiale Diagnostik von COVID-19-Patienten herangezogen werden kann. Damit wird zudem verdeutlicht, dass die morphologische Analyse der Blutaussstriche auch bei unauffälligen Differentialblutbildern zusätzliche Erkenntnisse liefern kann und einen wichtigen diagnostischen Bestandteil in der klinischen Versorgung der COVID-19-Patienten darstellen sollte.

¹⁹⁶ Vgl. Zhang et al. (2020c).

¹⁹⁷ Vgl. Comer et al. (2021).

7.4 Limitationen der Studie

Hinsichtlich des Designs dieser Studie sowie der Ergebnisinterpretation sind verschiedene Limitationen zu beachten. Zum einen sind die Patientengruppen lediglich durch eine relativ geringe Anzahl rekrutierter Patienten gekennzeichnet, wodurch die statistische Trennschärfe beeinträchtigt wird und der Einfluss patientenspezifischer Merkmale auf die Ergebnisse der Analysen steigt. Dabei unterscheiden sich die Patienten der Studienpopulationen beispielsweise hinsichtlich ihrer Vor- und Begleiterkrankungen, welche in diesem Zusammenhang mögliche Confounder darstellen. Die Repräsentativität der Ergebnisse könnte folglich durch eine größere Anzahl an Studienteilnehmern gesteigert werden. Als weitere Confounder sind pharmakotherapeutische Interventionen wie beispielsweise die Corticosteroid-Gabe zu nennen, welche Potential haben, Veränderungen hämatologischer Parameter zu bewirken.

Eine weitere Limitation liegt in der Zuordnung der Patienten in die Vergleichsgruppen entsprechend des Schweregrades der COVID-19-Erkrankung. Einzig die Aufnahme auf eine Intensivstation wurde als Definitionskriterium für einen schweren Krankheitsverlauf verwendet. Die Ausprägung der respiratorischen Insuffizienz, Komplikationen sowie die Notwendigkeit intensivmedizinischer Interventionen blieben bei der Einteilung der Schweregrade hingegen außer Acht.

Zudem muss darauf hingewiesen werden, dass es sich bei den eingeschlossenen COVID-19-Patienten lediglich um hospitalisierte Patienten handelt, deren Krankheitsverlauf einen Schweregrad erreichte, welcher eine stationäre Aufnahme erforderlich machte. Ein zusätzlicher Vergleich der untersuchten Studienpopulationen mit nicht-hospitalisierten mild-erkrankten oder asymptomatischen COVID-19-Patienten könnte daher eine wichtige Ergänzung der Ergebnisse dieser Studie ermöglichen. Auch eine Fortführung der Datenerhebung über den Zeitpunkt der stationären Entlassung hinaus könnte neue Erkenntnisse bezüglich der hämatologischen Veränderungen in der Phase der Rekonvaleszenz ermöglichen.

Grundsätzlich ist anzumerken, dass bedingt durch das Studiendesign lediglich die Beziehung zwischen den untersuchten Variablen analysiert wurde. Die beobachteten Korrelationen geben zwar Hinweise auf mögliche pathophysiologische Zusammenhänge, implizieren jedoch keine Kausalität. Auch die Daten, welche die Grundlage der statistischen Auswertung bilden, stehen im Zusammenhang mit möglichen Fehlerquellen. So sind im Hinblick auf die Parameter des Differentialblutbildes generelle präanalytische Fehler sowie mögliche Fehlbewertungen bei der automatischen Zellzählung nicht auszuschließen. Die mikroskopische Auswertung der

Blutausstriche basiert demgegenüber auf einer visuellen Interpretation. Die Ergebnisse der morphologischen Analyse sind daher, obwohl sie durch die photographische Dokumentation einer Reevaluation zugeführt werden können, durch eine potentielle Subjektivität und Interobserver-Variabilität gekennzeichnet. Zudem wird die Aussagekraft der Blutausstriche entscheidend durch die Qualität der Ausstrichherstellung sowie die Lagerung der Blutausstriche beeinflusst.

Es ist daher anzumerken, dass die Beurteilung der Zellmorphologie alternativ zur manuellen Mikroskopie der Blutausstriche auch durch digitale Bildanalyseysteme erfolgen könnte. Durch eine maschinelle Zellklassifikation wäre es dabei möglich, das Auftreten morphologisch auffälliger Zellen zu validieren und die Konzentration der untersuchten Zellen zu quantifizieren. Dies würde neue Möglichkeiten für den statistischen Vergleich der Studiengruppen eröffnen. Über geeignete Bildanalysegeräte, welche die Zellen im Blutausstrich automatisch lokalisieren und anhand von Bildverarbeitungsalgorithmen klassifizieren, könnte die Morphometrie somit effizient in den Hämatologie-Workflow und die Routineversorgung der Patienten integriert werden.

Der Vergleich der Ergebnisse dieser Studie mit aktuellen Publikationen war ebenfalls durch Herausforderungen gekennzeichnet. Hinsichtlich der Interpretation der quantitativen Parameter ist dabei zu berücksichtigen, dass sich die geräteabhängigen Referenzwerte für die Differentialblutbilder zwischen den Studien unterscheiden und uneinheitliche Cut-off-Werte definiert wurden. Zudem erfolgte die Zuordnung der Patienten in die jeweiligen Vergleichsgruppen anhand unterschiedlicher primärer Endpunkte, wie beispielsweise dem Auftreten eines ARDS, der Aufnahme auf eine Intensivstation sowie die Notwendigkeit einer invasiven Beatmung oder ECMO. Dies erschwerte den Vergleich aktueller Publikationen sowie die Interpretation konträrer Ergebnisse. Auch die Vergleichbarkeit der mikroskopischen Ergebnisse wird durch Unterschiede in der Blutausstrichherstellung mit möglicherweise unterschiedlichen Färbeprotokollen und Lagerungszeiten erschwert.

Abschließend bleibt zu berücksichtigen, dass die Corona-Pandemie für die wissenschaftliche Forschung und Wissenschaftskommunikation einen historischen Präzedenzfall darstellt und dazu geführt hat, dass die Publikation von Ergebnissen zur COVID-19-Forschung nachhaltig beschleunigt wurde. Der Stand der wissenschaftlichen Forschung, auf welchem die Grundstruktur dieser Arbeit basiert, war einem ständigen Wandel unterworfen. Hypothesen zum Ursprung und der Ausbreitung von SARS-CoV-2 sowie der Pathogenese und der Behandlung der COVID-19-Erkrankung weisen eine äußerst dynamische Weiterentwicklung auf, werden regelmäßig erneuert oder sogar widerlegt. Die eigenen Daten auszuwerten und

parallel den raschen wissenschaftlichen Erkenntnisgewinn nachzuvollziehen, war daher eine anspruchsvolle Herausforderung. Sowohl die Grundlage dieser Arbeit als auch die finale Interpretation und Diskussion der Ergebnisse im Vergleich mit den Daten in der internationalen Literatur ist daher vorrangig auf den Zeitpunkt der Pandemie im Frühjahr 2021 zu beziehen.

7.5 Schlussfolgerung

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die COVID-19-Erkrankung mit charakteristischen Veränderungen der hämatologischen Parameter einhergeht. Die rekrutierten COVID-19-Patienten präsentierten zum Aufnahmezeitpunkt neben einer Anämie erhöhte Leukozytenkonzentrationen sowie eine Neutrophilie. Darüber hinaus konnte eine signifikante Korrelation niedriger Monozyten- und Lymphozytenkonzentrationen mit der Schwere des klinischen Krankheitsverlaufs der COVID-19-Patienten festgestellt werden. Die Untersuchung und Bewertung der Differentialblutbilder ermöglicht daher eine Risikostratifizierung der COVID-19-Patienten zum Aufnahmezeitpunkt sowie im Verlauf der stationären Behandlung.

Zudem zeigten die COVID-19-Patienten vielfältige morphologischen Auffälligkeiten der peripher zirkulierenden Blutzellen. Neben leukoerythroblastischen Zellen sowie zahlreichen reaktiven Lymphozyten und LGL-Zellen prägten Pseudo-Pelger-Zellen die peripheren Blutausstriche. Es konnte festgestellt werden, dass die COVID-19-Patienten im Gegensatz zu den Kontrollpatienten vermehrt hypogranulierte neutrophile Granulozyten und zahlreiche Riesenthrombozyten aufwiesen. Diese charakteristischen Dysplasiezeichen können daher ergänzend in die Diagnosestellung der COVID-19-Erkrankung einbezogen werden.

Bei der Blutbilduntersuchung handelt es sich um ein unmittelbar verfügbares, für den Patienten wenig belastendes und kostengünstiges diagnostisches Verfahren. Damit stellt die Beurteilung der Differentialblutbilder und Blutausstriche ein zentrales Element in der klinischen Versorgung der COVID-19-Patienten dar, welches sowohl in die initiale Diagnostik als auch in die Beurteilung des Krankheitsverlaufs einbezogen werden sollte.

Weiterführende Untersuchungen sind notwendig, um die Zusammenhänge zwischen den quantitativen und morphologischen Auffälligkeiten der Blutzellen und ihrer pathogenetischen Bedeutung zu analysieren. Ein besseres Verständnis der Mechanismen, über welche SARS-CoV-2 das hämatopoetische System beeinflusst, kann dabei zu einer Optimierung der Behandlungsstrategien und einer Reduzierung der COVID-19-assoziierten Morbidität und Mortalität führen.

8 Zusammenfassung

Die COVID-19-Erkrankung, welche durch das neuartige Coronavirus SARS-CoV-2 ausgelöst wird, trat erstmals im Dezember 2019 in Wuhan, der Hauptstadt der Provinz Hubei in der Volksrepublik China, auf und wurde am 11.03.2020 von der Weltgesundheitsorganisation offiziell als Pandemie klassifiziert. Die klinische Präsentation ist sehr variabel und reicht von symptomfreien und milden Krankheitsbildern bis hin zu schweren intensivpflichtigen Krankheitsverläufen, bei denen es zum Vollbild einer interstitiellen Pneumonie und Komplikationen wie dem akuten Lungenversagen kommt. Als systemische Erkrankung betrifft COVID-19 neben den Atemwegen auch extrapulmonale Organsysteme und geht mit Veränderungen der Hämatopoese und Hämostase einher. Patienten mit schweren Krankheitsverläufen zeigen Anzeichen für eine Dysregulation der Immunantwort sowie für eine Hyperkoagulabilität mit einer erhöhten Prävalenz thromboembolischer Ereignisse. Insbesondere die Neutrophilie, die Lymphopenie sowie die Thrombozytopenie zählen zu den charakteristischen hämatologischen Veränderungen der COVID-19-Patienten und korrelieren mit einer ungünstigen Prognose. Vor diesem Hintergrund war es das Ziel dieser Arbeit, die COVID-19-assoziierten Veränderungen in den Differentialblutbildern und Blutausstrichen sowie deren diagnostisches und prognostischen Potential zu analysieren.

Die Studienpopulation umfasste die ersten 20 COVID-19-Patienten, die am Universitätsklinikum Marburg im Zeitraum vom 19.03.2020 bis zum 17.06.2020 behandelt wurden und bei denen SARS-CoV-2 mittels Polymerase-Kettenreaktion im respiratorischen Abstrichmaterial nachgewiesen wurde. Die Vergleichspopulation wurde durch 22 Kontrollpatienten gebildet, die sich im gleichen Zeitfenster am Universitätsklinikum mit einer für COVID-19 typischen Symptomatik vorstellten, allerdings negativ auf SARS-CoV-2 getestet wurden. Der Krankheitsverlauf der Patienten, die eine intensivmedizinische Behandlung benötigten, wurde als schwer definiert; Patienten, die ausschließlich auf einer Normalstation behandelt wurden, wiesen definitionsgemäß einen leichten Krankheitsverlauf auf. Die Analyse der automatisierten Differentialblutbilder wurde im Rahmen der klinischen Routineversorgung der Patienten durchgeführt. Zudem wurden aus den EDTA Proben der Studienteilnehmer Blutausstriche für die manuelle mikroskopische Beurteilung angefertigt. Die statistische Auswertung der Parameter der Differentialblutbilder erfolgten mittels Mann-Whitney-Test; die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten morphologischer Auffälligkeiten in den Blutausstrichen wurde mithilfe des Exakten Tests nach Fisher analysiert.

Zum Aufnahmezeitpunkt waren Fieber, Dyspnoe und Husten als führende klinische Symptome der COVID-19-Patienten zu verzeichnen. Zudem zeigten alle COVID-19-Patienten in den CT-

Thorax-Aufnahmen Anzeichen einer viralen Pneumonie. Die stationäre Aufenthaltsdauer betrug in der Studienpopulation durchschnittlich 31,4 Tage, wobei 15 der 20 COVID-19-Patienten einen schweren Krankheitsverlauf präsentierten und auf einer Intensivstation behandelt wurden.

Zu den beobachteten Veränderungen im initialen Differentialblutbild der COVID-19-Patienten gehörten die Anämie sowie die Neutrophilie und Leukozytose. Zudem konnte nachgewiesen werden, dass die Konzentrationen der Monozyten und der nicht-atypischen Lymphozyten der schwer erkrankten COVID-19-Patienten zum Aufnahmezeitpunkt signifikant geringer waren als in der Gruppe der COVID-19-Patienten mit leichtem Krankheitsverlauf. In den Blutausstrichen präsentierten die COVID-19-Patienten ein ausgeprägt leukoerythroblastisches Zellbild sowie eine Vielzahl morphologischer Dysplasiezeichen der neutrophilen Granulozyten. Neben Pseudopelger-Zellen sowie monolobierten und ringförmigen Kernstrukturen konnte eine Hypogranulierung des Zytoplasmas beobachtet werden, welche bei den COVID-19-Patienten signifikant häufiger auftrat als in der Kontrollgruppe. Interessanterweise konnte im longitudinalen Verlauf eine Normalisierung der Granulierung bei über 50% der betroffenen COVID-19-Patienten beobachtet werden. Darüber hinaus wurde das mikroskopische Bild der Blutausstriche durch reaktive atypische Lymphozyten und LGL-Zellen sowie eine ausgeprägte zytoplasmatische Vakuolisierung der Monozyten geprägt. Charakteristische Riesenthrombozyten komplettierten die morphologischen Auffälligkeiten und waren bei den COVID-19-Patienten verglichen mit den Kontrollpatienten signifikant häufiger zu beobachten.

In dieser Arbeit konnte bestätigt werden, dass die COVID-19-Erkrankung in Zusammenhang mit charakteristischen Blutbildveränderungen steht. Insbesondere die Monozyten- und Lymphozytenkonzentrationen korrelieren mit der Schwere des klinischen Krankheitsverlaufs und ermöglichen eine Risikostratifizierung der COVID-19-Patienten zum Aufnahmezeitpunkt sowie im Verlauf der stationären Behandlung. Die Veränderungen in den Blutausstrichen sind als morphologisches Korrelat eines hämatopoetischen Stresszustandes und einer Beeinträchtigung der Erythropoese, Granulopoese und Thrombozytopoese zu interpretieren. Charakteristischen Dysplasiezeichen, wie die Hypogranulation der neutrophilen Granulozyten sowie das Auftreten von Riesenthrombozyten könnten zudem ergänzend in die Diagnosestellung der COVID-19-Erkrankung einbezogen werden. Die Entstehungsmechanismen der hämatopoetischen und hämatologischen Auffälligkeiten sowie ihre pathogenetischen Bedeutung sollten in weiteren Untersuchungen analysiert werden, um eine Optimierung der Behandlungsstrategien und eine Reduzierung der COVID-19-assoziierten Morbidität und Mortalität zu erreichen.

9 Summary

COVID-19 is a new human infectious disease caused by the novel coronavirus SARS-CoV-2, that was first detected in Wuhan, the capital of Hubei Province in the People's Republic of China, in late December 2019. The disease has since spread worldwide and was officially declared a pandemic by the World Health Organization on March 11, 2020. The clinical presentation of COVID-19 is variable ranging from mild symptoms to severe illness. While COVID-19 predominantly affects the lungs, it is not limited to respiratory manifestations and has the potential to affect numerous organs including the hematopoietic system. Critically ill patients show signs of a dysregulated immune response and systemic hyperinflammation resulting in a hypercoagulable state with an increased tendency to develop thromboembolic complications. The most prevalent hematological findings associated with poor outcomes in patients with COVID-19 include neutrophilia, lymphopenia and thrombocytopenia. In this study we aimed to investigate the diagnostic and prognostic value of the hematological and hematopoietic abnormalities observed in a complete blood count and the peripheral blood smear.

20 laboratory-confirmed COVID-19-patients, that were hospitalized in the University Clinic of Marburg between March 19, 2020 and June 17, 2020 were included in the study cohort. For comparison 22 patients, that were admitted to the hospital over the same period of time with symptoms strongly suggestive of COVID-19 but negative pharyngeal swab tests, were studied as controls. Severe illness is designated when a patient required treatment on intensive care units. If no admission to the intensive care unit occurred during the hospital stay the course of the disease was defined as mild.

The complete blood count was performed and evaluated using an automated analyzer. In addition, peripheral smear samples were prepared with a blood sample taken from an EDTA tube and examined microscopically. For statistical evaluation the parameters of the complete blood count were expressed as median and compared with the Mann-Whitney test. To examine the occurrence of morphological abnormalities the Fisher's exact test was used.

On admission, most COVID-19-patients presented with fever, dyspnea or cough and abnormalities in the chest computed tomographic images consistent with viral pneumonia were detected among all COVID-19-patients. Median length of hospital stay was 31.4 days and 15 out of the 20 hospitalized COVID-19-patients showed severe disease and were admitted to the intensive care unit.

The complete blood count of COVID-19-patients on admission revealed anemia, neutrophilia and leukocytosis. In addition, the median absolute count of monocytes and non-atypical

lymphocytes were significantly lower in severe COVID-19-patients compared with COVID-19-patients showing mild disease.

In peripheral blood films COVID-19-patients showed pronounced leukoerythroblastic features as well as variety of dysplastic changes in neutrophil granulocytes including pseudo-Pelger cells and unsegmented or ring-shaped nuclei. Furthermore, the blood film examination revealed an increased number of hypogranular neutrophils, that were presented more frequently by COVID-19-patients compared to the control-group. Interestingly, this hypogranulation was found to disappear over time with more than half of the affected COVID-19-patients showing a normalization of the cytoplasmatic granularity during the hospitalization. Moreover, the peripheral blood smears of COVID-19-patients were characterized by vacuolated monocytes and a highly pleomorphic atypical lymphocyte population including large granular lymphocytes. An increased number of giant platelets, that were found more frequently in COVID-19-patients than in the control-group, complement the morphologic anomalies in all three hematologic lineages.

In this study we were able to confirm that the COVID-19 is associated with a variety of characteristic hematological alterations. Particularly the absolute counts of monocytes and non-atypical lymphocytes were found to significantly correlate with disease severity. Given the prognostic value of these hematologic abnormalities, the evaluation of the full blood count may help to ensure risk stratification and effective management of COVID-19-patients. Our morphologic observations revealed hematologic multi-lineage changes and indicated serious perturbation of the entire hematopoiesis due to the SARS-CoV-2-infection. Especially the hypogranulation of the neutrophil granulocytes as well as the presence of numerous giant platelets emerged as COVID-19-specific dysplastic changes in peripheral blood films. Therefore, complementary morphologic analysis might be helpful in the diagnosis of COVID-19-patients. Further studies are necessary to assess the mechanisms of interaction between SARS-CoV-2 and the hematopoietic system. Better understanding of the pathophysiology of the disease may lead to better treatment options and eventually result in a decrease of COVID-19-associated mortality.

10 Literaturverzeichnis

- Ackermann, Maximilian; Verleden, Stijn E.; Kuehnel, Mark; Haverich, Axel; Welte, Tobias; Laenger, Florian; Vanstapel, Arno; Werlein, Christopher; Stark, Helge; Tzankov, Alexandar; Li, William W.; Li, Vincent W.; Mentzer, Steven J.; Jonigk, Danny: Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. *The New England journal of medicine* 383 (2020), 120–128.
- Ai, Tao; Yang, Zhenlu; Hou, Hongyan; Zhan, Chenao; Chen, Chong; Lv, Wenzhi; Tao, Qian; Sun, Ziyong; Xia, Liming: Correlation of Chest CT and RT-PCR Testing for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in China: A Report of 1014 Cases. *Radiology* 296 (2020), 32-40.
- Amgalan, Ariunzaya; Othman, Maha: Hemostatic laboratory derangements in COVID-19 with a focus on platelet count. *Platelets* 31 (2020), 740–745.
- Barton, Lisa M.; Duval, Eric J.; Stroberg, Edana; Ghosh, Subha; Mukhopadhyay, Sanjay: COVID-19 Autopsies, Oklahoma, USA. *American Journal of Clinical Pathology* 153 (2020), 725–733.
- Baurmann, Herrad; Bettelheim, Peter; Diem, Heinz; Gassmann, Winfried; Nebe, Thomas: Lymphozytenmorphologie im Blutaussstrich. Vorstellung einer überarbeiteten Nomenklatur und Systematik. *LaboratoriumsMedizin* 35 (2011), 261–270.
- Berber, Ilhami; Cagasar, Ozlem; Sarici, Ahmet; Berber, Nurcan Kirici; Aydogdu, Ismet; Ulutas, Ozkan; Yildirim, Asli; Bag, Harika Gozde Gozukara; Delen, Leman Acun: Peripheral Blood Smear Findings of COVID-19 Patients Provide Information about the Severity of the Disease and the Duration of Hospital Stay. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases* 13 (2021), e2021009.
- Boonyawat, Kochawan; Chantrathammachart, Pichika; Numthavaj, Pawin; Nanthatanti, Nithita; Phusanti, Sithakom; Phuphuakrat, Angsana; Niparuck, Pimjai; Angchaisuksiri, Pantep: Incidence of thromboembolism in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Thrombosis journal* 18 (2020), 34.
- Cantuti-Castelvetri, Ludovico; Ojha, Ravi; Pedro, Liliana D.; Djannatian, Minou; Franz, Jonas; Kuivanen, Suvi; van der Meer, Franziska; Kallio, Katri; Kaya, Tuğberk; Anastasina, Maria; Smura, Teemu; Levanov, Lev; Szivovicsa, Leonora; Tobi, Allan; Kallio-Kokko, Hannimari; Österlund, Pamela; Joensuu, Merja; Meunier, Frédéric A.; Butcher, Sarah J.; Winkler, Martin Sebastian; Mollenhauer, Brit; Helenius, Ari; Gokce, Ozgun; Teesalu, Tabet; Hepojoki, Jussi; Vapalahti, Olli; Stadelmann, Christine; Balistreri, Giuseppe; Simons, Mikael: Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and infectivity. *Science* 370 (2020), 856–860.

Comer, Shane P.; Cullivan, Sarah; Szklanna, Paulina B.; Weiss, Luisa; Cullen, Steven; Kelliher, Sarah; Smolenski, Albert; Murphy, Claire; Altaie, Haidar; Curran, John; O'Reilly, Katherine; Cotter, Aoife G.; Marsh, Brian; Gaine, Sean; Mallon, Patrick; McCullagh, Brian; Moran, Niamh; Ní Áinle, Fionnuala; Kevane, Barry; Maguire, Patricia B.: COVID-19 induces a hyperactive phenotype in circulating platelets. *PLoS Biology* 19 (2021), e3001109.

Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses: The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology* 5 (2020), 536–544.

Cui, Jie; Li, Fang; Shi, Zheng-Li: Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology* 17 (2019), 181–192.

Daly, James L.; Simonetti, Boris; Klein, Katja; Chen, Kai-En; Williamson, Maia Kavanagh; Antón-Plágaro, Carlos; Shoemark, Deborah K.; Simón-Gracia, Lorena; Bauer, Michael; Hollandi, Reka; Greber, Urs F.; Horvath, Peter; Sessions, Richard B.; Helenius, Ari; Hiscox, Julian A.; Teesalu, Tambet; Matthews, David A.; Davidson, Andrew D.; Collins, Brett M.; Cullen, Peter J.; Yamauchi, Yohei: Neuropilin-1 is a host factor for SARS-CoV-2 infection. *Science* 370 (2020), 861–865.

Deng, Yan; Liu, Wei; Liu, Kui; Fang, Yuan-Yuan; Shang, Jin; Zhou, Ling; Wang, Ke; Leng, Fan; Wei, Shuang; Chen, Lei; Liu, Hui-Guo: Clinical characteristics of fatal and recovered cases of coronavirus disease 2019 in Wuhan, China: a retrospective study. *Chinese Medical Journal* 133 (2020), 1261–1267.

Diao, Bo; Wang, Chenhui; Tan, Yingjun; Chen, Xiewan; Liu, Ying; Ning, Lifeng; Chen, Li; Li, Min; Liu, Yueping; Wang, Gang; Yuan, Zilin; Feng, Zeqing; Zhang, Yi; Wu, Yuzhang; Chen, Yongwen: Reduction and Functional Exhaustion of T Cells in Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) *Frontiers in Immunology* 11 (2020), 827.

Dolhnikoff, Marisa; Duarte-Neto, Amaro Nunes; Almeida Monteiro, Renata Aparecida de; da Silva, Luiz Fernando Ferraz; Oliveira, Ellen Pierre de; Saldiva, Paulo Hilário Nascimento; Mauad, Thais; Negri, Elnara Marcia: Pathological evidence of pulmonary thrombotic phenomena in severe COVID-19. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 18 (2020), 1517–1519.

Essalmani, Rachid; Jain, Jaspreet; Susan-Resiga, Delia; Andréo, Ursula; Evagelidis, Alexandra; Derbali, Rabeb Mouna; Huynh, David N.; Dallaire, Frédéric; Laporte, Mélanie; Delpal, Adrien; Sutto-Ortiz, Priscila; Coutard, Bruno; Mapa, Claudine; Wilcoxon, Keith; Decroly, Etienne; Ng Pham, Tram; Cohen, Éric A.; Seidah, Nabil G.: Distinctive Roles of Furin and TMPRSS2 in SARS-CoV-2 Infectivity. *Journal of Virology* 96 (2022), e0012822.

- Fehr, Anthony R.; Perlman, Stanley: Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods in molecular biology* 1282 (2015), 1–23.
- Feng, Zeqing; Diao, Bo; Wang, Rongshuai; Wang, Gang; Wang, Chenhui; Tan, Yingjun; Liu, Liang; Wang, Changsong; Liu, Ying; Liu, Yueping; Yuan, Zilin; Ren, Liang; Wu, Yuzhang; Chen, Yongwen: The Novel Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Directly Decimates Human Spleens and Lymph Nodes. *medRxiv* (2020), 2020.03.27.20045427.
- Fischer, Karin; Hoffmann, Petra; Voelkl, Simon; Meidenbauer, Norbert; Ammer, Julia; Edinger, Matthias; Gottfried, Eva; Schwarz, Sabine; Rothe, Gregor; Hoves, Sabine; Renner, Kathrin; Timischl, Birgit; Mackensen, Andreas; Kunz-Schughart, Leoni; Andreesen, Reinhard; Krause, Stefan W.; Kreutz, Marina: Inhibitory effect of tumor cell-derived lactic acid on human T cells. *Blood* 109 (2007), 3812–3819.
- Fuchs, Roland; Staib, Peter; Brümmendorf, Tim: *Manual Hämatologie*. 26. Auflage 2016. Stolberg 2016.
- Garry, Robert F.: SARS-CoV-2 furin cleavage site was not engineered. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 119 (2022), e2211107119.
- Gattinoni, Luciano; Chiumello, Davide; Caironi, Pietro; Busana, Mattia; Romitti, Federica; Brazzi, Luca; Camporota, Luigi: COVID-19 pneumonia: different respiratory treatments for different phenotypes? *Intensive Care Medicine* 46 (2020a), 1099–1102.
- Gattinoni, Luciano; Coppola, Silvia; Cressoni, Massimo; Busana, Mattia; Rossi, Sandra; Chiumello, Davide: COVID-19 Does Not Lead to a "Typical" Acute Respiratory Distress Syndrome. *American journal of respiratory and critical care medicine* 201 (2020b), 1299–1300.
- Gesellschaft für deutsche Sprache e. V.: GfdS wählt »Corona-Pandemie« zum Wort des Jahres 2020 29.01.2021.
- Guan, Wei-Jie; Ni, Zheng-Yi; Hu, Yu; Liang, Wen-Hua; Ou, Chun-Quan; He, Jian-Xing; Liu, Lei; Shan, Hong; Lei, Chun-Liang; Hui, David S. C.; Du, Bin; Li, Lan-Juan; Zeng, Guang; Yuen, Kwok-Yung; Chen, Ru-Chong; Tang, Chun-Li; Wang, Tao; Chen, Ping-Yan; Xiang, Jie; Li, Shi-Yue; Wang, Jin-Lin; Liang, Zi-Jing; Peng, Yi-Xiang; Wei, Li; Liu, Yong; Hu, Ya-Hua; Peng, Peng; Wang, Jian-Ming; Liu, Ji-Yang; Chen, Zhong; Li, Gang; Zheng, Zhi-Jian; Qiu, Shao-Qin; Luo, Jie; Ye, Chang-Jiang; Zhu, Shao-Yong; Zhong, Nan-Shan: Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *The New England journal of medicine* 382 (2020), 1708–1720.
- Gustine, Joshua N.; Jones, Dennis: Immunopathology of Hyperinflammation in COVID-19. *The American Journal of Pathology* 191 (2021), 4–17.

Hallbach, Jürgen: Klinische Chemie und Hämatologie. Biomedizinische Analytik für MTLA und Studium. Stuttgart, New York 2019.

Hamming, I.; Timens, W.; Bulthuis, M. L. C.; Lely, A. T.; Navis, G. J.; van Goor, H.: Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *The Journal of Pathology* 203 (2004), 631–637.

Hillebrandt, Thomas: Erster Jahrestag: Neues Coronavirus erreicht Deutschland.
<https://www.swr.de/wissen/erster-jahrestag-corona-in-deutschland-100.html>, 29.01.2021.

Hof, Herbert; Schlüter, Dirk; Dörries, Rüdiger: Medizinische Mikrobiologie. (Duale Reihe) Stuttgart 2019.

Hoffmann, Markus; Kleine-Weber, Hannah; Pöhlmann, Stefan: A Multibasic Cleavage Site in the Spike Protein of SARS-CoV-2 Is Essential for Infection of Human Lung Cells. *Molecular Cell* 78 (2020a), 779-784.e5.

Hoffmann, Markus; Kleine-Weber, Hannah; Schroeder, Simon; Krüger, Nadine; Herrler, Tanja; Erichsen, Sandra; Schiergens, Tobias S.; Herrler, Georg; Wu, Nai-Huei; Nitsche, Andreas; Müller, Marcel A.; Drosten, Christian; Pöhlmann, Stefan: SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell* 181 (2020b), 271-280.e8.

Huang, Chaolin; Wang, Yeming; Li, Xingwang; Ren, Lili; Zhao, Jianping; Hu, Yi; Zhang, Li; Fan, Guohui; Xu, Jiuyang; Gu, Xiaoying; Cheng, Zhenshun; Yu, Ting; Xia, Jiaan; Wei, Yuan; Wu, Wenjuan; Xie, Xuelei; Yin, Wen; Li, Hui; Liu, Min; Xiao, Yan; Gao, Hong; Guo, Li; Xie, Jungang; Wang, Guangfa; Jiang, Rongmeng; Gao, Zhancheng; Jin, Qi; Wang, Jianwei; Cao, Bin: Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet (London, England)* 395 (2020), 497–506.

Iba, Toshiaki; Levy, Jerrold H.; Levi, Marcel; Thachil, Jecko: Coagulopathy in COVID-19. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 18 (2020), 2103–2109.

Iba, Toshiaki; Warkentin, Theodore E.; Thachil, Jecko; Levi, Marcel; Levy, Jerrold H.: Proposal of the Definition for COVID-19-Associated Coagulopathy. *Journal of Clinical Medicine* 10 (2021).

Jiang, Fang; Deng, Liehua; Zhang, Liangqing; Cai, Yin; Cheung, Chi Wai; Xia, Zhengyuan: Review of the Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) *Journal of General Internal Medicine* 35 (2020), 1545–1549.

Jones, John R.; Ireland, Robin: Morphological changes in a case of SARS-CoV-2 infection. *Blood* 135 (2020), 2324.

- Kroschinsky, F.; Schäkel, U.; Ehninger, G.: Leukozytose: Ursachen und Differenzialdiagnostik. *Der Internist* 48 (2007), 1239-51; quiz 1251-3.
- Lee, Chun-Tsu; Teo, Winnie Z. Y.: Peripheral Blood Smear Demonstration of Lymphocyte Changes in Severe COVID-19. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 103 (2020), 1350–1351.
- Li, Xu; Ma, Xiaochun: Acute respiratory failure in COVID-19: is it "typical" ARDS? *Critical Care* 24 (2020), 198.
- Lippi, Giuseppe; Plebani, Mario; Henry, Brandon Michael: Thrombocytopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: A meta-analysis. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry* 506 (2020), 145–148.
- Liu, Jingyuan; Liu, Yao; Xiang, Pan; Pu, Lin; Xiong, Haofeng; Li, Chuansheng; Zhang, Ming; Tan, Jianbo; Xu, Yanli; Song, Rui; Song, Meihua; Wang, Lin; Zhang, Wei; Han, Bing; Yang, Li; Wang, Xiaojing; Zhou, Guiqin; Zhang, Ting; Li, Ben; Wang, Yanbin; Chen, Zhihai; Wang, Xianbo: Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio Predicts Severe Illness Patients with 2019 Novel Coronavirus in the Early Stage. *medRxiv* (2020a), 2020.02.10.20021584.
- Liu, Lihong; Wang, Pengfei; Nair, Manoj S.; Yu, Jian; Rapp, Micah; Wang, Qian; Luo, Yang; Chan, Jasper F-W; Sahi, Vincent; Figueroa, Amir; Guo, Xinzheng V.; Cerutti, Gabriele; Bimela, Jude; Gorman, Jason; Zhou, Tongqing; Chen, Zhiwei; Yuen, Kwok-Yung; Kwong, Peter D.; Sodroski, Joseph G.; Yin, Michael T.; Sheng, Zizhang; Huang, Yaoxing; Shapiro, Lawrence; Ho, David D.: Potent neutralizing antibodies against multiple epitopes on SARS-CoV-2 spike. *Nature* 584 (2020b), 450–456.
- Liu, Yanli; Sun, Wenwu; Guo, Yanan; Chen, Liangkai; Zhang, Lijuan; Zhao, Su; Long, Ding; Yu, Li: Association between platelet parameters and mortality in coronavirus disease 2019: Retrospective cohort study. *Platelets* 31 (2020c), 490–496.
- Löffler, Helmut; Rastetter, Johann; Haferlach, T.: *Atlas der klinischen Hämatologie*. Berlin, Heidelberg 2004.
- Long, Chunqin; Xu, Huaxiang; Shen, Qinglin; Zhang, Xianghai; Fan, Bing; Wang, Chuanhong; Zeng, Bingliang; Li, Zicong; Li, Xiaofen; Li, Honglu: Diagnosis of the Coronavirus disease (COVID-19): rRT-PCR or CT? *European Journal of Radiology* 126 (2020).
- Lu, Roujian; Zhao, Xiang; Li, Juan; Niu, Peihua; Yang, Bo; Wu, Honglong; Wang, Wenling; Song, Hao; Huang, Baoying; Zhu, Na; Bi, Yuhai; Ma, Xuejun; Zhan, Faxian; Wang, Liang; Hu, Tao; Zhou, Hong; Hu, Zhenhong; Zhou, Weimin; Zhao, Li; Chen, Jing; Meng, Yao; Wang, Ji; Lin, Yang; Yuan, Jianying; Xie, Zhihao; Ma, Jinmin; Liu, William J.; Wang, Dayan; Xu, Wenbo; Holmes, Edward C.;

Gao, George F.; Wu, Guizhen; Chen, Weijun; Shi, Weifeng; Tan, Wenjie: Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet* 395 (2020), 565–574.

Lüke, Florian; Orsó, Evelyn; Kirsten, Jana; Poeck, Hendrik; Grube, Matthias; Wolff, Daniel; Burkhardt, Ralph; Lunz, Dirk; Lubnow, Matthias; Schmidt, Barbara; Hitzenbichler, Florian; Hanses, Frank; Salzberger, Bernd; Evert, Matthias; Herr, Wolfgang; Brochhausen, Christoph; Pukrop, Tobias; Reichle, Albrecht; Heudobler, Daniel: Coronavirus disease 2019 induces multi-lineage, morphologic changes in peripheral blood cells. *Ejhaem* (2020).

Malas, Mahmoud B.; Naazie, Isaac N.; Elsayed, Nadin; Mathlouthi, Asma; Marmor, Rebecca; Clary, Bryan: Thromboembolism risk of COVID-19 is high and associated with a higher risk of mortality: A systematic review and meta-analysis. *EClinicalMedicine* 29 (2020).

Mann, Elizabeth R.; Menon, Madhvi; Knight, Sean Blandin; Konkel, Joanne E.; Jagger, Christopher; Shaw, Tovah N.; Krishnan, Siddharth; Rattray, Magnus; Ustianowski, Andrew; Bakerly, Nawar Diar; Dark, Paul; Lord, Graham; Simpson, Angela; Felton, Timothy; Ho, Ling-Pei; Feldmann, Marc; Grainger, John R.; Hussell, Tracy: Longitudinal immune profiling reveals distinct features of COVID-19 pathogenesis. *medRxiv* (2020), 2020.06.13.20127605.

McGonagle, Dennis; Sharif, Kassem; O'Regan, Anthony; Bridgewood, Charlie: The Role of Cytokines including Interleukin-6 in COVID-19 induced Pneumonia and Macrophage Activation Syndrome-Like Disease. *Autoimmunity Reviews* 19 (2020), 102537.

Mehta, Puja; McAuley, Daniel F.; Brown, Michael; Sanchez, Emilie; Tattersall, Rachel S.; Manson, Jessica J.: COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet* (London, England) 395 (2020), 1033–1034.

Mina, Alain; van Besien, Koen; Plataniias, Leonidas C.: Hematological manifestations of COVID-19. *Leukemia & lymphoma* 61 (2020), 2790–2798.

Muralidharan, Abenaya; Wyatt, Todd A.; Reid, St Patrick: SARS-CoV-2 Dysregulates Neutrophil Degranulation and Reduces Lymphocyte Counts. *Biomedicines* 10 (2022).

National Center for Biotechnology Information: Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 isolate Wuhan-Hu-1, complete genome.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MN908947.3>.

Nazarullah, Alia; Liang, Christine; Villarreal, Andrew; Higgins, Russell A.; Mais, Daniel D.: Peripheral Blood Examination Findings in SARS-CoV-2 Infection. *American Journal of Clinical Pathology* 154 (2020), 319–329.

- Nopp, Stephan; Moik, Florian; Jilma, Bernd; Pabinger, Ingrid; Ay, Cihan: Risk of venous thromboembolism in patients with COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Research and practice in thrombosis and haemostasis* 4 (2020), 1178–1191.
- Ortolan, Augusta; Lorenzin, Mariagrazia; Felicetti, Mara; Doria, Andrea; Ramonda, Roberta: Does gender influence clinical expression and disease outcomes in COVID-19? A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Infectious Diseases* 99 (2020), 496–504.
- Paces, J.; Strizova, Z.; Smrz, D.; Cerny, J.: COVID-19 and the immune system. *Physiological research* 69 (2020), 379–388.
- Popkin, Barry M.; Du, Shufa; Green, William D.; Beck, Melinda A.; Algaith, Taghred; Herbst, Christopher H.; Alsukait, Reem F.; Alluhidan, Mohammed; Alazemi, Nahar; Shekar, Meera: Individuals with obesity and COVID-19: A global perspective on the epidemiology and biological relationships. *Obesity Reviews* 21 (2020), e13128.
- Pozdnyakova, Olga; Connell, Nathan T.; Battinelli, Elisabeth M.; Connors, Jean M.; Fell, Geoffrey; Kim, Annette S.: Clinical Significance of CBC and WBC Morphology in the Diagnosis and Clinical Course of COVID-19 Infection. *American Journal of Clinical Pathology* 155 (2021), 364–375.
- Qin, Chuan; Zhou, Luoqi; Hu, Ziwei; Zhang, Shuoqi; Yang, Sheng; Tao, Yu; Xie, Cuihong; Ma, Ke; Shang, Ke; Wang, Wei; Tian, Dai-Shi: Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clinical Infectious Diseases* 71 (2020), 762–768.
- Qu, Rong; Ling, Yun; Zhang, Yi-Hui-Zhi; Wei, Li-Ya; Chen, Xiao; Li, Xu-Mian; Liu, Xuan-Yong; Liu, Han-Mian; Guo, Zhi; Ren, Hua; Wang, Qiang: Platelet-to-lymphocyte ratio is associated with prognosis in patients with coronavirus disease-19. *Journal of Medical Virology* 92 (2020), 1533–1541.
- Ranieri, V. Marco; Rubenfeld, Gordon D.; Thompson, B. Taylor; Ferguson, Niall D.; Caldwell, Ellen; Fan, Eddy; Camporota, Luigi; Slutsky, Arthur S.: Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *JAMA* 307 (2012), 2526–2533.
- Rapkiewicz, Amy V.; Mai, Xingchen; Carsons, Steven E.; Pittaluga, Stefania; Kleiner, David E.; Berger, Jeffrey S.; Thomas, Sarun; Adler, Nicole M.; Charytan, David M.; Gasmi, Billel; Hochman, Judith S.; Reynolds, Harmony R.: Megakaryocytes and platelet-fibrin thrombi characterize multi-organ thrombosis at autopsy in COVID-19: A case series. *EClinicalMedicine* 24 (2020).

Reinhardt, Dirk; Ritter, Jörg: Reaktive Veränderungen des Blutbildes und des Knochenmarks. In: Niemeyer, Charlotte; Eggert, Angelika; Gadner, Helmut (Hrsgg.): Pädiatrische Hämatologie und Onkologie. (Springer Reference Medizin) Berlin, Heidelberg 2018, 309–318.

Reusch, Nico; Domenico, Elena de; Bonaguro, Lorenzo; Schulte-Schrepping, Jonas; Baßler, Kevin; Schultze, Joachim L.; Aschenbrenner, Anna C.: Neutrophils in COVID-19. *Frontiers in Immunology* 12 (2021), 652470.

Robert Koch-Institut: Täglicher Lagebericht des RKI zur Coronavirus-Krankheit-2019 (COVID-19) https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Situationsberichte/Jan_2021/2021-01-27-de.pdf?__blob=publicationFile, 29.01.2021.

Robert Koch-Institut: Hinweise zur Testung von Patienten auf Infektion mit dem neuartigen Coronavirus SARS-CoV-2. https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Vorl_Testung_nCoV.html;jsessionid=39514CC9C881DF88C277FF1B914F386E.internet071?nn=13490888#doc13490982bodyText1, 06.02.2021.

Robert Koch-Institut: Epidemiologischer Steckbrief zu SARS-CoV-2 und COVID-19. https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Steckbrief.html, 03.02.2023.

Rod, J. E.; Oviedo-Trespalacios, Oscar; Cortes-Ramirez, Javier: A brief-review of the risk factors for covid-19 severity. *Revista de Saúde Pública* 54 (2020), 60.

Sadigh, Sam; Massoth, Lucas R.; Christensen, Bianca B.; Stefely, Jonathan A.; Keefe, Joan; Sohani, Aliyah R.: Peripheral blood morphologic findings in patients with COVID-19. *International journal of laboratory hematology* 42 (2020), e248-e251.

Schulte-Schrepping, Jonas; Reusch, Nico; Paclik, Daniela; Baßler, Kevin; Schlickeiser, Stephan; Zhang, Bowen; Krämer, Benjamin; Krammer, Tobias; Brumhard, Sophia; Bonaguro, Lorenzo; Domenico, Elena de; Wendisch, Daniel; Grasshoff, Martin; Kapellos, Theodore S.; Beckstette, Michael; Pecht, Tal; Saglam, Adem; Dietrich, Oliver; Mei, Henrik E.; Schulz, Axel R.; Conrad, Claudia; Kunkel, Désirée; Vafadarnejad, Ehsan; Xu, Cheng-Jian; Horne, Arik; Herbert, Miriam; Drews, Anna; Thibeault, Charlotte; Pfeiffer, Moritz; Hippenstiel, Stefan; Hocke, Andreas; Müller-Redetzky, Holger; Heim, Katrin-Moira; Machleidt, Felix; Uhrig, Alexander; Bosquillon de Jarcy, Laure; Jürgens, Linda; Stegemann, Miriam; Glösenkamp, Christoph R.; Volk, Hans-Dieter; Goffinet, Christine; Landthaler, Markus; Wyler, Emanuel; Georg, Philipp; Schneider, Maria; Dang-Heine, Chantip; Neuwinger, Nick; Kappert, Kai; Tauber, Rudolf; Corman, Victor; Raabe, Jan; Kaiser, Kim Melanie; Vinh, Michael To; Rieke, Gereon; Meisel, Christian; Ulas, Thomas; Becker, Matthias; Geffers, Robert; Witznath, Martin; Drosten, Christian; Suttorp, Norbert;

Kalle, Christof von; Kurth, Florian; Händler, Kristian; Schultze, Joachim L.; Aschenbrenner, Anna C.; Li, Yang; Nattermann, Jacob; Sawitzki, Birgit; Saliba, Antoine-Emmanuel; Sander, Leif Erik: Severe COVID-19 Is Marked by a Dysregulated Myeloid Cell Compartment. *Cell* 182 (2020), 1419-1440.e23.

Siddiqi, Hasan K.; Mehra, Mandeep R.: COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: A clinical-therapeutic staging proposal. *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 39 (2020), 405–407.

Singh, Aminder; Sood, Neena; Narang, Vikram; Goyal, Abhishek: Morphology of COVID-19-affected cells in peripheral blood film. *BMJ Case Reports* 13 (2020).

Sungnak, Waradon; Huang, Ni; Bécavin, Christophe; Berg, Marijn; Queen, Rachel; Litvinukova, Monika; Talavera-López, Carlos; Maatz, Henrike; Reichart, Daniel; Sampaziotis, Fotios; Worlock, Kaylee B.; Yoshida, Masahiro; Barnes, Josephine L.: SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nature Medicine* 26 (2020), 681–687.

Sysmex Deutschland GmbH: Messtechnologie der XN-Serie.

https://www.sysmex.de/fileadmin/media/f101/Xtra/Themenblaetter/Xtra_1_2019_Themenblatt_Messtechnologie_XN-Serie.pdf.

Tabary, Mohammadreza; Khanmohammadi, Shaghayegh; Araghi, Farnaz; Dadkhahfar, Sahar; Tavangar, Seyed Mohammad: Pathologic features of COVID-19: A concise review. *Pathology, Research and Practice* 216 (2020).

Tan, Li; Wang, Qi; Zhang, Duanyang; Ding, Jinya; Huang, Qianchuan; Tang, Yi-Quan; Wang, Qiongshu; Miao, Hongming: Lymphopenia predicts disease severity of COVID-19: a descriptive and predictive study. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 5 (2020).

Tang, Ning; Li, Dengju; Wang, Xiong; Sun, Ziyong: Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 18 (2020), 844–847.

Terpos, Evangelos; Ntanasis-Stathopoulos, Ioannis; Elalamy, Ismail; Kastiris, Efstathios; Sergentanis, Theodoros N.; Politou, Marianna; Psaltopoulou, Theodora; Gerotziakas, Grigoris; Dimopoulos, Meletios A.: Hematological findings and complications of COVID-19. *American journal of hematology* 95 (2020), 834–847.

Vaira, Luigi A.; Salzano, Giovanni; Deiana, Giovanna; Riu, Giacomo de: Anosmia and Ageusia: Common Findings in COVID-19 Patients. *The Laryngoscope* 130 (2020), 1787.

Varga, Zsuzsanna; Flammer, Andreas J.; Steiger, Peter; Haberecker, Martina; Andermatt, Rea; Zinkernagel, Annelies S.; Mehra, Mandeep R.; Schuepbach, Reto A.; Ruschitzka, Frank; Moch, Holger: Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet (London, England)* 395 (2020), 1417–1418.

Veras, Flavio Protasio; Pontelli, Marjorie Cornejo; Silva, Camila Meirelles; Toller-Kawahisa, Juliana E.; Lima, Mikhael de; Nascimento, Daniele Carvalho; Schneider, Ayda Henriques; Caetité, Diego; Tavares, Lucas Alves; Paiva, Isadora M.; Rosales, Roberta; Colón, David; Martins, Ronaldo; Castro, Italo Araujo; Almeida, Glaucia M.; Lopes, Maria Isabel Fernandes; Benatti, Máira Nilson; Bonjorno, Letícia Pastorelli; Giannini, Marcela Cavichioli; Luppino-Assad, Rodrigo; Almeida, Sérgio Luna; Vilar, Fernando; Santana, Rodrigo; Bollela, Valdes R.; Auxiliadora-Martins, Maria; Borges, Marcos; Miranda, Carlos Henrique; Pazin-Filho, Antônio; da Silva, Luis Lamberti P.; Cunha, Larissa Dias; Zamboni, Dario S.; Dal-Pizzol, Felipe; Leiria, Luiz O.; Siyuan, Li; Batah, Sabrina; Fabro, Alexandre; Mauad, Thais; Dolhnikoff, Marisa; Duarte-Neto, Amaro; Saldiva, Paulo; Cunha, Thiago Mattar; Alves-Filho, José Carlos; Arruda, Eurico; Louzada-Junior, Paulo; Oliveira, Renê Donizeti; Cunha, Fernando Queiroz: SARS-CoV-2-triggered neutrophil extracellular traps mediate COVID-19 pathology. *The Journal of Experimental Medicine* 217 (2020).

Vincent, Jean Louis; Baron, Jean-François; Reinhart, Konrad; Gattinoni, Luciano; Thijs, Lambert; Webb, Andrew; Meier-Hellmann, Andreas; Nollet, Guy; Peres-Bota, Daliana: Anemia and blood transfusion in critically ill patients. *JAMA* 288 (2002), 1499–1507.

Wang, Dawei; Hu, Bo; Hu, Chang; Zhu, Fangfang; Liu, Xing; Zhang, Jing; Wang, Binbin; Xiang, Hui; Cheng, Zhenshun; Xiong, Yong; Zhao, Yan; Li, Yirong; Wang, Xinghuan; Peng, Zhiyong: Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA* 323 (2020a), 1061–1069.

Wang, Jin; Jiang, Mengmeng; Chen, Xin; Montaner, Luis J.: Cytokine storm and leukocyte changes in mild versus severe SARS-CoV-2 infection: Review of 3939 COVID-19 patients in China and emerging pathogenesis and therapy concepts. *Journal of Leukocyte Biology* 108 (2020b), 17–41.

Weiss, Guenter; Ganz, Tomas; Goodnough, Lawrence T.: Anemia of inflammation. *Blood* 133 (2019), 40–50.

WHO-China Joint Mission: Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/who-china-joint-mission-on-covid-19-final-report.pdf>, 05.02.2021.

Wölfel, Roman; Corman, Victor M.; Guggemos, Wolfgang; Seilmaier, Michael; Zange, Sabine; Müller, Marcel A.; Niemeyer, Daniela; Jones, Terry C.; Vollmar, Patrick; Rothe, Camilla; Hoelscher, Michael; Bleicker, Tobias; Brünink, Sebastian; Schneider, Julia; Ehmann, Rosina; Zwirgmaier, Katrin; Drosten, Christian; Wendtner, Clemens: Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature* 581 (2020), 465–469.

World Health Organization: Coronavirus disease 2019 (COVID-19): situation report, 51. https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200311-sitrep-51-covid-19.pdf?sfvrsn=1ba62e57_10, 29.01.2021.

World Health Organization: Novel Coronavirus (2019-nCoV): situation report, 1. <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200121-sitrep-1-2019-ncov.pdf>, 29.01.2021.

World Health Organization: Novel Coronavirus (2019-nCoV): situation report, 22. https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200211-sitrep-22-ncov.pdf?sfvrsn=fb6d49b1_2, 29.01.2021.

World Health Organization: MERS situation update, January 2020. <http://www.emro.who.int/pandemic-epidemic-diseases/mers-cov/mers-situation-update-january-2020.html>, 01.02.2021.

Wu, Chaomin; Chen, Xiaoyan; Cai, Yanping; Xia, Jia'an; Zhou, Xing; Xu, Sha; Huang, Hanping; Zhang, Li; Zhou, Xia; Du, Chunling; Zhang, Yuye; Song, Juan; Wang, Sijiao; Chao, Yencheng; Yang, Zeyong; Xu, Jie; Zhou, Xin; Chen, Dechang; Xiong, Weining; Xu, Lei; Zhou, Feng; Jiang, Jinjun; Bai, Chunxue; Zheng, Junhua; Song, Yuanlin: Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Internal Medicine* 180 (2020a), 934–943.

Wu, Fan; Zhao, Su; Yu, Bin; Chen, Yan-Mei; Wang, Wen; Song, Zhi-Gang; Hu, Yi; Tao, Zhao-Wu; Tian, Jun-Hua; Pei, Yuan-Yuan; Yuan, Ming-Li; Zhang, Yu-Ling; Dai, Fa-Hui; Liu, Yi; Wang, Qi-Min; Zheng, Jiao-Jiao; Xu, Lin; Holmes, Edward C.; Zhang, Yong-Zhen: A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature* 579 (2020b), 265–269.

Xu, Hao; Zhong, Liang; Deng, Jiabin; Peng, Jiakuan; Dan, Hongxia; Zeng, Xin; Li, Taiwen; Chen, Qianming: High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. *International Journal of Oral Science* 12 (2020a).

Xu, Zhe; Shi, Lei; Wang, Yijin; Zhang, Jiyan; Huang, Lei; Zhang, Chao; Liu, Shuhong; Zhao, Peng; Liu, Hongxia; Zhu, Li; Tai, Yanhong; Bai, Changqing; Gao, Tingting; Song, Jinwen; Xia, Peng; Dong, Jinghui; Zhao, Jingmin; Wang, Fu-Sheng: Pathological findings of COVID-19 associated

with acute respiratory distress syndrome. *The Lancet. Respiratory Medicine* 8 (2020b), 420–422.

Yang, Ai-Ping; Liu, Jian-Ping; Tao, Wen-Qiang; Li, Hui-Ming: The diagnostic and predictive role of NLR, d-NLR and PLR in COVID-19 patients. *International immunopharmacology* 84 (2020a).

Yang, Xiaobo; Yang, Qingyu; Wang, Yaxin; Wu, Yongran; Xu, Jiqian; Yu, Yuan; Shang, You: Thrombocytopenia and its association with mortality in patients with COVID-19. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 18 (2020b), 1469–1472.

Yao, Xiao-Hong; He, Zhi-Cheng; Li, Ting-Yuan; Zhang, Hua-Rong; Wang, Yan; Mou, Huaming; Guo, Qiaonan; Yu, Shi-Cang; Ding, Yanqing; Liu, Xindong; Ping, Yi-Fang; Bian, Xiu-Wu: Pathological evidence for residual SARS-CoV-2 in pulmonary tissues of a ready-for-discharge patient. *Cell Research* 30 (2020), 541–543.

Ye, Zheng; Zhang, Yun; Wang, Yi; Huang, Zixiang; Song, Bin: Chest CT manifestations of new coronavirus disease 2019 (COVID-19): a pictorial review. *European Radiology* 30 (2020), 4381–4389.

Zhang, Dan; Guo, Rui; Lei, Lei; Liu, Hongjuan; Wang, Yawen; Wang, Yili; Qian, Hongbo; Dai, Tongxin; Zhang, Tianxiao; Lai, Yanjun; Wang, Jingya; Liu, Zhiqiang; Chen, Tianyan; He, Aili; O'Dwyer, Michael; Hu, Jinsong: Frontline Science: COVID-19 infection induces readily detectable morphologic and inflammation-related phenotypic changes in peripheral blood monocytes. *Journal of Leukocyte Biology* 109 (2021a), 13–22.

Zhang, Liping; Mann, Matthew; Syed, Zulfeqhar A.; Reynolds, Hayley M.; Tian, E.; Samara, Nadine L.; Zeldin, Darryl C.; Tabak, Lawrence A.; Hagen, Kelly G. ten: Furin cleavage of the SARS-CoV-2 spike is modulated by O-glycosylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 118 (2021b), e2109905118.

Zhang, Litao; Yan, Xinsheng; Fan, Qingkun; Liu, Haiyan; Liu, Xintian; Liu, Zejin; Zhang, Zhenlu: D-dimer levels on admission to predict in-hospital mortality in patients with Covid-19. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 18 (2020a), 1324–1329.

Zhang, Wen; Zhao, Yan; Zhang, Fengchun; Wang, Qian; Li, Taisheng; Liu, Zhengyin; Wang, Jinglan; Qin, Yan; Zhang, Xuan; Yan, Xiaowei; Zeng, Xiaofeng; Zhang, Shuyang: The use of anti-inflammatory drugs in the treatment of people with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): The Perspectives of clinical immunologists from China. *Clinical immunology (Orlando, Fla.)* 214 (2020b).

Zhang, Yujiao; Zeng, Xiaoyuan; Jiao, Yingying; Li, Zongpeng; Liu, Qifa; Ye, Jieyu; Yang, Mo: Mechanisms involved in the development of thrombocytopenia in patients with COVID-19. *Thrombosis research* 193 (2020c), 110–115.

Zheng, Meijuan; Gao, Yong; Wang, Gang; Song, Guobin; Liu, Siyu; Sun, Dandan; Xu, Yuanhong; Tian, Zhigang: Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients. *Cellular & Molecular Immunology* 17 (2020), 533–535.

Zhou, Fei; Yu, Ting; Du, Ronghui; Fan, Guohui; Liu, Ying; Liu, Zhibo; Xiang, Jie; Wang, Yeming; Song, Bin; Gu, Xiaoying; Guan, Lulu; Wei, Yuan; Li, Hui; Wu, Xudong; Xu, Jiuyang; Tu, Shengjin; Zhang, Yi; Chen, Hua; Cao, Bin: Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet (London, England)* 395 (2020a), 1054–1062.

Zhou, Peng; Yang, Xing-Lou; Wang, Xian-Guang; Hu, Ben; Zhang, Lei; Zhang, Wei; Si, Hao-Rui; Zhu, Yan; Li, Bei; Huang, Chao-Lin; Chen, Hui-Dong; Chen, Jing; Luo, Yun; Guo, Hua; Jiang, Ren-Di; Liu, Mei-Qin; Chen, Ying; Shen, Xu-Rui; Wang, Xi; Zheng, Xiao-Shuang; Zhao, Kai; Chen, Quan-Jiao; Deng, Fei; Liu, Lin-Lin; Yan, Bing; Zhan, Fa-Xian; Wang, Yan-Yi; Xiao, Geng-Fu; Shi, Zheng-Li: A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 579 (2020b), 270–273.

Zhou, Yonggang; Fu, Binqing; Zheng, Xiaohu; Wang, Dongsheng; Zhao, Changcheng; Qi, Yingjie; Sun, Rui; Tian, Zhigang; Xu, Xiaoling; Wei, Haiming: Pathogenic T-cells and inflammatory monocytes incite inflammatory storms in severe COVID-19 patients. *National Science Review* 7 (2020c), 998–1002.

Zhu, Na; Zhang, Dingyu; Wang, Wenling; Li, Xingwang; Yang, Bo; Song, Jingdong; Zhao, Xiang; Huang, Baoying; Shi, Weifeng; Lu, Roujian; Niu, Peihua; Zhan, Faxian; Ma, Xuejun; Wang, Dayan; Xu, Wenbo; Wu, Guizhen; Gao, George F.; Tan, Wenjie: A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *The New England journal of medicine* 382 (2020), 727–733.

Zini, Gina; Bellesi, Silvia; Ramundo, Francesco; d'Onofrio, Giuseppe: Morphological anomalies of circulating blood cells in COVID-19. *American journal of hematology* 95 (2020), 870–872.

Zini, Gina; d'Onofrio, Giuseppe: Coronavirus disease 2019 (COVID-19): Focus on peripheral blood cell morphology. *British Journal of Haematology* (2022).

11 Anhang

11.1 Verzeichnis der akademischen Lehrer/-innen

Meine akademischen Lehrenden waren in Marburg:

Aigner, Albers, Baranovski, Bartsch, Bauer S., Bauer U.-M., Bäumlein, Becker A., Becker K., Bertoune, Besgen, Bette, Bien, Bliemel, Bogdan, Bonaterra, Bösner, Cabanel, Cetin, Chung, Cordes, Czubayko, de Cruppé, Decher, del Rey, Denkert, Dietz, Dworschak, Eberhart, Eigendorf, Feuser, Fülber, Geks, Geraedts, Gress, Grote, Günther, Haberhausen, Hertl, Hildebrandt, Hofmann, Holzer, Hoyer, Jansen, Josephs, Kalder, Kann, Kanngießer, Karatolios, Keber, Kinscherf, Kircher, Kirschbaum, Kluge, Knorrenschild, Koehler, Köhler, Kruse, Kühnert, Lang, Lill, Lohoff, Lüsebrink, Mahnken, Maier, Maurer, Meißner, Mey, Michiels-Corsten, Milani, Mirow, Müller, Nenadić, Neubauer, Neumüller, Nimsky, Oberwinkler, Oliver, Opitz, Pagenstecher, Paul, Pavlovic, Pedrosa, Peterlein, Pfützner, Plant, Pöttgen, Preisig-Müller, Rastan, Reese, Renigunta, Renke, Renz, Rinné, Rost, Ruchholtz, Rust, Saß, Schäfer, Schieffer, Schierl, Schu, Schulze, Schütz, Seitz, Sekundo, Sevinc, Sommer, Stahl, Steiniger, Stuck, Swaid, Szabo, Thieme, Timmermann, Vahdad, Vogelmeier, Vogt, Völlger, Vorwerk, Wächter, Wack, Wagner, Weber, Weihe, Westermann, Wiese, Wiesmann, Wilhelm, Wilhelmi, Wrocklage, Wulf, Ziller, Ziring, Zovko

11.2 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen beteiligten Personen bedanken, die mich im Rahmen dieser Dissertation auf unterschiedlichste Weise unterstützt haben.

Zu allererst möchte ich mich bei Herrn Prof. Andreas Neubauer für die Überlassung dieses hochaktuellen Themas, die Betreuung sowie wertvolle Diskussion der Ergebnisse und ermutigende Rückmeldungen bedanken. Mein ganz besonderer Dank gilt auch Dr. Christian Michel für seine unersetzliche Unterstützung im Verlauf der Arbeit. Insbesondere seine zuverlässige und geduldige Hilfe bei der mikroskopischen Beurteilung der Blutausstriche und der Auswertung der Ergebnisse waren für das Verfassen der Dissertation von unschätzbarem Wert. Ohne seine Ideen und Ratschläge sowie die überdurchschnittlich schnelle Beantwortung jeglicher Fragen, sein unerschöpfliches Engagement und Liebe zum Fachbereich wäre die Realisierung der Arbeit in diesem zeitlichen Rahmen nicht möglich gewesen.

Außerdem danke ich den verantwortlichen Studienleitern Prof. Harald Renz und Prof. Stephan Becker, welche zusammen mit Prof. Andreas Neubauer die Abteilungs-übergreifende Studie „Biomarker der COVID-19 Erkrankung“ ermöglicht haben. Mein Dank gilt in diesem Zusammenhang insbesondere Dr. Elisabeth Mack und Dr. Chrysanthi Skevaki, die nicht nur durch die Patientenrekrutierung und Koordination der beteiligten Fachbereiche, sondern auch durch die regelmäßigen Besprechungen der Daten und Ergebnisse grundlegend zu der erfolgreichen Umsetzung des Forschungsprojektes beigetragen haben.

Danken möchte ich auch Doris Pfeifer sowie allen weiteren Mitarbeitern des Zentrallabors für die Einweisung in Arbeitsabläufe und Analysegeräte, für die Hilfe bei der Probenverarbeitung sowie für die Bereitstellung der digitalen Arbeitsplätze. Danke auch an die Mitarbeiter der Labor-EDV Berthold Janssen, Patrick Junk, Dominik Pausch und Fabian Restle für die geduldige und laiengerechte Erklärung der Laborinformationssysteme. Vielen Dank insbesondere für die Erstellung der Pivot-Tabellen, deren informatische Raffinesse uns sehr beeindruckt und die Dauer der Datenauswertung um einige Stunden verkürzt haben. Ein herzlicher Dank geht zudem an Prof. Ho Ryun Chung für die Unterstützung bei den statistischen Analysen.

Großer Dank geht außerdem an meine Kommilitonen Ihab Karim, Margrit Gündisch, Rojin Etati, Sarah Greib und Thomas Tarawneh, die ebenfalls an der Abteilungs-übergreifende Studie „Biomarker der COVID-19 Erkrankung“ mitgearbeitet haben und mir stets mit Rat und Tat zur Seite standen. Nur mit eurer Unterstützung war das stundenlange Sortieren der Patientenproben und das Durchsehen aller Patientenakten bewältigbar.

Ich danke auch den Mitarbeitern der Hämatologischen Spezialdiagnostik für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes am Mikroskop und die ausgesprochen nette Hilfsbereitschaft bei allen technischen und fachlichen Fragen. Vielen Dank, dass ihr mich nicht des Labors verwiesen habt, als ich anfangs einen Granulozyten nicht von einem Lymphozyten unterscheiden konnte, sondern stattdessen hilfreiche Fachlektüre im Angebot hattet.

Abschließend gilt mein Dank natürlich auch meiner Familie und meinen Freunden, die mich nicht nur im letzten Jahr unterstützt haben, und mit deren Hilfe, Geduld und Ermutigung ich meine Ziele erreichen kann.