

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΛΟΙΜΩΞΙΟΛΟΓΙΑ»
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Ε. Ι. ΓΙΑΜΑΡΕΛΛΟΣ-ΜΠΟΥΡΜΠΟΥΛΗΣ

ΧΑΛΒΑΤΖΗΣ ΣΤΑΜΑΤΙΟΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΤΟΣΙΛΙΖΟΥΜΑΜΠΗ ΚΑΙ ΑΝΟΣΙΑΚΗ ΔΥΣΡΥΘΜΙΣΗ ΣΤΗ
ΣΟΒΑΡΗ ΝΟΣΟ COVID-19

ΑΘΗΝΑ 2024

Τριμελής συμβουλευτική επιτροπή:

Καθηγητής Γεώργιος Δημόπουλος, Επιβλέπων

Καθηγήτρια Ελένη Μάγειρα, Μέλος

Καθηγητής Αντώνιος Παπαδόπουλος, Μέλος

Ο Χαλβατζής Σταμάτιος του Γεωργίου με Αριθμό Μητρώου 20201043 γνωρίζοντας τις συνέπειες της λογοκλοπής, δηλώνω υπεύθυνα ότι η παρούσα εργασία με τίτλο «Τοσιλιζουμάμπη και ανοσιακή δυσρύθμιση στη σοβαρή νόσο COVID-19» αποτελεί προϊόν αυστηρά προσωπικής εργασίας και όλες οι πηγές που έχω χρησιμοποιήσει έχουν δηλωθεί κατάλληλα στις βιβλιογραφικές παραπομπές και αναφορές. Τα σημεία όπου έχω χρησιμοποιήσει ιδέες, κείμενο ή / και πηγές άλλων συγγραφέων, αναφέρονται ευδιάκριτα στο κείμενο με την κατάλληλη παραπομπή και η σχετική αναφορά περιλαμβάνεται στο τμήμα των βιβλιογραφικών αναφορών με πλήρη περιγραφή.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Από την πρώτη περιγραφή σειράς περιπτώσεων πνευμονίας στην πόλη Wuhan στην Κίνα, ο SARS CoV-2 σε λιγότερο από τέσσερις μήνες ταχέως εξαπλώθηκε παγκοσμίως προκαλώντας εκατομμύρια θανάτους και δημιουργώντας όλεθρο στα συστήματα δημόσιας υγείας. Τα υψηλά ποσοστά μετάδοσης, η παρουσία ασυμπτωματικών φορέων και η διεθνής συνδεσιμότητα υποδομών, κατέστησαν εντυπωσιακώς την COVID-19 νόσο πανδημία έναντι της οποίας οι κυβερνήσεις ήλθαν προ εκπλήξεως, εφαρμόζοντας μέτρα απομόνωσης ως στρατηγικές πρόληψης, καθόσον η ανάπτυξη ικανών φαρμάκων και εμβολίων βρισκόταν υπό συνεχή δοκιμή.

Η νόσος COVID-19 αποτελεί ζωνόσο που εικάζεται ότι προήλθε από νυχτερίδες και παγκολίνους. Ως μέλος της οικογένειας *Coronaviridae*, ο SARS CoV-2 είναι ένας RNA ιός που αποτελείται από τρεις δομικές πρωτεΐνες, καθεμία από τις οποίες παίζει βασικό ρόλο στον ιικό κύκλο εισόδου, αντιγραφής και συναρμολόγησης. Είναι ευρέως αναγνωρισμένο ότι η παθογένεια της σοβαρής COVID-19 νόσου κοίτεται σε πολλαπλά επίπεδα. Πολυάριθμοι αλληλένδετοι μηχανισμοί του μη ειδικού και ειδικού σκέλους του ανοσοποιητικού συστήματος επιστρατεύονται με στόχο τον μετριασμό της μόλυνσης. Ωστόσο, η επιθυμητή εξάλειψη του ιού έρχεται περιστασιακά εις βάρος της ακεραιότητας του ξενιστή, με πολυοργανική ανεπάρκεια, ARDS, θρομβωτικά επεισόδια και θάνατο να είναι αποτελέσματα μίας ανεξέλεγκτης ενεργοποίησης φλεγμονωδών κυττάρων, καταρράκτη κυτταροκινών, διαταραγμένης ισορροπίας του σηματοδοτικού συστήματος ρενίνη-αγγειοτασίνη-αλδοστερόνη και επακόλουθης βλάβης των ιστών.

Μια κυτταροκίνη της οποίας ο ρόλος αναγνωρίστηκε νωρίς στην πορεία της πανδημίας είναι η IL-6, μια πλειοτροπική ιντερλευκίνη που συντίθεται από ποικιλία κυττάρων, κυρίως ενδοθηλιακά κύτταρα, ινοβλάστες και μονοκύτταρα/μακροφάγα κατά τη διάρκεια συστηματικής φλεγμονής, με συγκεντρώσεις στον ορό που αυξάνονται κατακόρυφα σε μεγάλες ποσότητες σε κρίσιμη νόσο. Η IL-6 είναι ένας κύριος ρυθμιστής της απόκρισης οξείας φάσης και εμπλέκεται ως βασικό στοιχείο στην παθοφυσιολογία της καταιγίδας κυτταροκινών. Τα

αυξημένα επίπεδα IL-6 γρήγορα συσχετίστηκαν σε σοβαρές COVID-19 περιπτώσεις με αναπνευστική ανεπάρκεια, ARDS, πολυοργανική ανεπάρκεια και φτωχή επιβίωση, παραχωρώντας θέση στην εφαρμογή ενός αναστολέα σηματοδότησης ως βασική θεραπευτική προσέγγιση.

Η τοσιλιζουμάμπη, ένας αναστολέας του υποδοχέα IL-6 για τον οποίο υπάρχει 15ετής εμπειρία σχετικά με νοσήματα συνδετικού ιστού και σύνδρομο απελευθέρωσης κυτταροκινών, δοκιμάστηκε αρχικά με ευνοϊκά αποτελέσματα σε μικρές κοόρτες με σοβαρή COVID-19 νόσο στη Wuhan. Πολυάριθμες μελέτες που ακολούθησαν κατέγραψαν αντικρουόμενα ευρήματα σχετικά με το όφελος της χορήγησης τοσιλιζουμάμπης σε περιπτώσεις COVID-19 με ποικίλους βαθμούς αναπνευστικής ανεπάρκειας. Ωστόσο, οι μεγαλύτερες πληθυσμιακά μελέτες περιέγραψαν όφελος από τη χρήση τοσιλιζουμάμπης στη σοβαρή COVID-19 νόσο, αναφορικά με την επιβίωση, την προόδευση σε επεμβατικό μηχανικό αερισμό, την εισαγωγή στη ΜΕΘ και την έξοδο από το νοσοκομείο.

Η μελέτη ESCAPE ήταν η πρώτη κλινική δοκιμή που σχεδιάστηκε για να εξετάσει το ενδεχόμενο εξατομικευμένης ανοσοθεραπείας στην κλινική βελτίωση της κρίσιμης COVID-19 νόσου. Βασισμένη σε προηγούμενα ευρήματα, δύο διακριτοί ανοσοφαινότυποι αναγνωρίστηκαν: το σύνδρομο που ομοιάζει με εκείνο της ενεργοποίησης μακροφάγων (MALS) όπως ορίζεται από φερριτίνη ορού >4.420 ng/mL και τη σύνθετη ανοσιακή δυσρρύθμιση (CID) όπως ορίζεται από φερριτίνη ορού ≤ 4.420 ng/mL και χαμηλή έκφραση HLA-DR σε CD14-μονοκύτταρα. Περιλάμβανε συνολικά 102 ασθενείς με ARDS που κατανεμήθηκαν είτε σε θεραπεία με ανακίνρα όταν πληρούνταν τα κριτήρια MALS ή τα κριτήρια CID με αυξημένες αμινοτρανσφεράσες είτε σε θεραπεία με τοσιλιζουμάμπη όταν πληρούνταν τα κριτήρια CID με φυσιολογικές αμινοτρανσφεράσες. Το πρωτογενές σύνθετο καταληκτικό σημείο μείωσης $\geq 25\%$ στη βαθμολογία Διαδοχικής Οργανικής Ανεπάρκειας (SOFA) ή/και 50% αύξησης στο αναπνευστικό πηλίκο την ημέρα 8 επιτεύχθηκε στο 58,3% των ασθενών που έλαβαν θεραπεία με ανακίνρα και στο 33,3% των ασθενών που έλαβαν θεραπεία με τοσιλιζουμάμπη, όντας στατιστικά σημαντικό υπέρ της

ανοσοθεραπείας με ανακίνρα. Δεν βρέθηκαν διαφορές στα δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία της θνητότητας 28 ημερών και της αλλαγής στη βαθμολογία SOFA μέχρι την ημέρα 28 μεταξύ των δύο ομάδων. Οι επιζώντες την ημέρα 28 που έλαβαν ανακίνρα κατανεμήθηκαν σε χαμηλότερα επίπεδα σοβαρότητας της κλίμακας κλινικής προόδου του ΠΟΥ από τους ασθενείς που έλαβαν τοσιλιζουμάμπη ($p=0,008$) και ο διάμεσος χρόνος μέχρι την έξοδο από το νοσοκομείο ήταν επίσης μικρότερος στο σκέλος του ανακίνρα. Παρόλο που τα συνολικά αποτελέσματα ευνόησαν το ανακίνρα έναντι της τοσιλιζουμάμπης, δεδομένου ότι η μελέτη ESCAPE ήταν μια μη τυχαιοποιημένη, ανοιχτή δοκιμή περιορισμένου πληθυσμού, μόνο περιορισμένες υποθέσεις μπορούν να γίνουν για το ρόλο της τοσιλιζουμάμπης στην σύνθετη ανοσιακή δυσρρύθμιση. Υπάρχει ανάγκη για μεγαλύτερες τυχαιοποιημένες, διπλά τυφλές, διπλά εικονικές δοκιμές για περαιτέρω έλεγχο αυτών των αποτελεσμάτων.

ΑΓΓΛΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ / ABSTRACT

Since the first reported cluster of pneumonia cases in the Wuhan City, in China, SARS CoV-2 in less than four months rapidly spread globally accounting for million of deaths and creating havoc in the public health systems. The high rates of transmission, presence of asymptomatic carriers and international infrastructure connectivity, strikingly rendered COVID-19 a pandemic against which the governments were caught off guard, applying isolation measures as preventive strategies while the development of potent drugs and vaccines was under onward trial.

COVID-19 is a zoonotic disease, speculated to have originated from bats and pangolins. As a member of the *Coronaviridae* family SARS CoV-2 is an RNA virus which is comprized of three structural proteins, each playing a key role in the viral cycle of entry, replication and assembly. It is well recognized that the pathogenicity of severe COVID-19 lies in multiple levels. Numerous intertwined machineries of the innate and adaptive arms of the immune system are recruited aiming to mitigate the infection. Yet, the desired eradication of the virus occasionally comes at the cost of host's integrity, with multi-organ failure, ARDS, thrombotic events and death resulting from a rampant inflammatory cells activation, cytokine cascade, disrupted balance of the renin–angiotensin–aldosterone system signaling and ensuing tissue damage.

A cytokine whose role was recognized early in the course of the pandemic is IL-6, a pleiotropic interleukin synthesized by a variety of cells, most notably endothelial cells, fibroblasts and monocytes/macrophages during systemic inflammation, with serum concentrations promptly elevated to large quantities in critical disease. IL-6 is a major regulator of the acute-phase response and is implicated as a core element in the pathophysiology of the cytokine storm. Increased IL-6 levels were quickly associated in severe COVID-19 cases with respiratory failure, ARDS, multi-organ failure and poor survival, yielding a place for the application of a signaling inhibitor as an essential therapeutic approach.

Tocilizumab, an IL-6 receptor inhibitor upon which there is a 15years experience concerning connective tissue disorders and cytokine release syndrome, was initially tested with favorable outcomes in small cohorts with severe COVID-19 in Wuhan. Numerous studies that followed reported inconsistent findings regarding the benefit of tocilizumab administration in COVID-19 cases with variable degrees of respiratory failure. Nonetheless, the biggest population studies documented a benefit from the use of tocilizumab in severe COVID-19, in terms of survival, progression to invasive mechanical ventilation, ICU admission and hospital discharge.

The ESCAPE study was the first clinical trial designed to examine the potential of personalized immunotherapy in the clinical improvement of critical COVID-19. Based on previous findings, two distinct immunophenotypes were recognized; macrophage activation-like syndrome (MALS) defined by serum ferritin $>4,420$ ng/mL and complex immune dysregulation (CID) defined by serum ferritin $\leq 4,420$ ng/mL and low HLA-DR expression on CD14-monocytes. It included a total of 102 patients with ARDS either allocated to treatment with anakinra when MALS criteria or CID criteria with increased aminotransferases were met or tocilizumab when CID criteria with normal aminotransferases were met. The primary composite outcome of $\geq 25\%$ decrease in the Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score and/or 50% increase in the respiratory ratio by day 8 was met in 58.3% of anakinra-treated patients and in 33.3% of tocilizumab-treated patients, being statistically significant in favor of anakinra immunotherapy. No differences were found in the secondary outcomes of 28-day mortality and change of SOFA score by day 28 between the two groups. Survivors at day 28 who received anakinra were distributed to lower severity levels of the WHO clinical progression scale than patients who received tocilizumab ($p=0.008$) and the median time to hospital discharge was also less in the anakinra arm. Even though the overall results favored anakinra over tocilizumab, provided that the ESCAPE study was a non randomized, open-label trial of limited population, only limited assumptions can be made for the role of tocilizumab in complex immune dysregulation. There is a need for larger

randomized, double-blind, double-dummy trials to further examine those results.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες μου στον Θεό για όλες τις ευεργεσίες Του, περιλαμβανομένης της εν ελαχίστω εκπόνησης αυτής της διπλωματικής εργασίας. Τον ευχαριστώ για την έως τώρα πορεία μου, καθοδήγηση και υγεία που μου έχει χαρίσει, για μία οικόγενεια που διαρκώς μου δείχνει την αέναη υποστήριξή της και για το υπέροχο εργασιακό περιβάλλον που μου επιτρέπει την ευνοϊκότερη συνύπαρξη πληρώντας την ζωή μου. Ειδική μνεία να αποδώσω στον καθηγητή κο Ευάγγελο Γιαμαρέλλο-Μπρουρμπούλη για την βοήθεια που έχει προσφέρει σε όλους, την επιμονή και αυταπάρνηση που καθημερινά επιδεικνύει.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	4
ΑΓΓΛΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	7
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	10
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	11
ΓΛΩΣΣΑΡΙΟ.....	12
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
1. Εισαγωγή.....	17
2. Παθογονικότητα SARS CoV-2.....	18
3. Αποκρυσταλλογραφώντας τον ρόλο της IL-6 και μηχανισμού στόχου της τοσιλιζουμάμπης.....	26
4. Τρέχουσα εμπειρία με την τοσιλιζουμάμπη στη νόσο COVID-19	
4.1. Πρώτες περιγραφές με ενθαρρυντικά αποτελέσματα.....	31
4.2. Πληθυσμός μελέτης στη γενική πτέρυγα νοσηλείας.....	33
4.3. Πληθυσμός μελέτης περιλαμβανομένων ασθενών της ΜΕΘ.....	38
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ: Η άνοδος της προσωποποιημένης ανοσοθεραπείας στη νόσο COVID-19· η συνεισφορά της μελέτης ESCAPE	
1. Εισαγωγή.....	42
2. Ασθενείς και Μέθοδοι.....	45
3. Αποτελέσματα.....	47
4. Συζήτηση.....	55
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	56

ΓΛΩΣΣΑΡΙΟ

ΗΠΑ: Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής

ΜΕΘ: Μονάδα Εντατικής Θεραπείας

ΠΟΥ: Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας

ACE: Angiotensin-converting enzyme 2, μετατρεπτικό ένζυμο αγγειοτενσίνης 2

ADAM: A disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein, μια πρωτεΐνη που περιέχει περιοχή δισιντεγκρίνης και μεταλλοπρωτεϊνάσης

AFOP: Acute fibrinous and organizing pneumonia, οξεία ινώδης και οργανωμένη πνευμονία

ALT: alanine transaminase, αλανινική αμινοτρανσφεράση

ANG: Angiotensin, αγγειοτενσίνη

APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (score), αξιολόγηση οξείας φυσιολογίας και χρόνιας υγείας (βαθμολογία)

ARDS: Acute respiratory distress syndrome, σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας

AST: Aspartate transferase, ασπαρτική αμινοτρανσφεράση

AT1R: Angiotensin II receptor type 1, υποδοχέας αγγειοτενσίνης 2 τύπου 1

CD: cluster of differentiation, συστάδα διαφοροποίησης

CI: confidence interval, διάστημα εμπιστοσύνης

CID: complex immune dysregulation, περίπλοκη ανοσιακή δυσρύθμιση

COVID-19: Coronavirus disease 2019, νόσος κορωνοϊού 2019

CRP: C-reactive protein, C-αντιδρώσα πρωτεΐνη

DAD: Diffuse alveolar damage, διάχυτη κυψελιδική βλάβη

DAMPs: Damage-associated molecular pattern molecules, μοριακά μοτίβα που συσχετίζονται με βλάβη

dsRNA: double-stranded ribonucleic acid, διπλής έλικας ριβονουκλεϊκό οξύ

ECMO: extracorporeal membrane oxygenation, εξωσωματική οξυγόνωση με μεμβράνη

EMA: European Medicines Agency, Ευρωπαϊκός Οργανισμός Φαρμάκων

FDA: United States Food and Drug Administration, Αμερικάνικος Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων

gp130: glycoprotein 130, γλυκοπρωτεΐνη 130

GM-CSF: granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, παράγοντας διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων

HLA: human leukocyte antigen, ανθρώπινο αντιγόνο λευκοκυττάρων

HLA-DR: human leukocyte antigen – DR isotype, ανθρώπινο αντιγόνο λευκοκυττάρων – ισότυπος DR

HMGB1: high mobility group box 1 (protein), υψηλής κινητικότητας ομάδα 1 (πρωτεΐνη)

IFN: interferon, ιντερφερόνη

Ig: immunoglobulin, ανοσοσφαιρίνη

IL: interleukin, ιντερλευκίνη

IL-6R: interleukin 6 receptor, υποδοχέας ιντερλευκίνης 6

IPTW: Inverse Probability Treatment Weighting (analysis), στάθμιση θεραπείας αντίστροφης πιθανότητας (ανάλυση)

ITT: Intention-To-Treat (analysis), πρόθεση-για-θεραπεία (ανάλυση)

JAK-STAT: Janus kinase-signal transducers and activators of transcription, Janus κινάση-μεταγωγείς σήματος και ενεργοποιητές της μεταγραφής

LGP2: Laboratory of Genetics and Physiology 2 (protein), Εργαστήριο Γενετικής και Φυσιολογίας 2 (πρωτεΐνη)

MALS: macrophage activation-like syndrome, σύνδρομο που ομοιάζει με εκείνο της ενεργοποίησης μακροφάγων

MAS: macrophage activation syndrome, σύνδρομο ενεργοποίησης μακροφάγων

MASR: Mas receptor, υποδοχέας Mas

MBL: mannose binding lectine, λεκτίνη που δεσμεύει μαννόζη

MDA5: Melanoma differentiation-associated protein-5, πρωτεΐνη-5 συσχετιζόμενη με τη διαφοροποίηση μελανώματος

MERS-CoV: Middle East respiratory syndrome coronavirus, κορωνοϊός αναπνευστικού συνδρόμου Μέσης Ανατολής

mg: milligram, χιλιοστόγραμμα

min: minute, λεπτό

ml: milliliter, χιλιοστόλιτρο

mRNA: messenger ribonucleic acid, αγγελιαφόρο ριβονουκλεϊκό οξύ

NA: non applicable, μη εφαρμόσιμο

NET: Neutrophil extracellular traps, εξωκυτταρικές παγίδες ουδετεροφίλων

ng: nanogram, νανογραμμάριο

NOD1: Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 1, πρωτεΐνη 1 που περιέχει περιοχή ολιγομερισμού δέσμησης νουκλεοτιδίων

NSPs: non-structural proteins, μη δομικές πρωτεΐνες

OP: organizing pneumonia, οργανούμενη πνευμονία

OR: odds ratio, πηλίκο πιθανοτήτων

ORF: open reading frame, ανοιχτό πλαίσιο ανάγνωσης

PAI-1: plasminogen activator inhibitor-1, αναστολέας-1 του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου

PAMPs: pathogen-associated molecular patterns, μοριακά μοτίβα που συσχετίζονται με παθογόνα

PaO₂/FiO₂: partial pressure of oxygen in arterial blood/fraction of inspiratory oxygen concentration, μερική πίεση οξυγόνου στο αρτηριακό αίμα/κλάσμα συγκέντρωσης εισπνεόμενου οξυγόνου

PBMCs: peripheral blood mononuclear cells, περιφερικά μονοπύρρηνα αίματος

PLT: absolute platelet count, απόλυτος αριθμός αιμοπεταλίων

PMN: absolute neutrophil count, απόλυτος αριθμός ουδετερόφιλων

PRRs: pattern recognition receptors, υποδοχείς αναγνώρισης μοτίβων

PTX3: Pentraxin-3 (protein), πεντραξίνη-3 (πρωτεΐνη)

RAAS: renin-angiotensin-aldosterone system, σύστημα ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης

RNA: ribonucleic acid, ριβονουκλεϊκό οξύ

RTC: replication and transcription complex, σύμπλεγμα αντιγραφής και μεταγραφής

SARS-CoV: severe acute respiratory syndrome coronavirus, κορωνοϊός σοβαρού οξέως αναπνευστικού συνδρόμου

SOFA: Sequential Organ Failure Assessment (score), Διαδοχική Εκτίμηση Ανεπάρκειας Οργάνων (βαθμολογία)

suPAR: soluble urokinase plasminogen activator receptor, διαλυτός υποδοχέας ενεργοποιητή πλασμινογόνου ουροκινάσης

Th: T helper cells, T βοηθητικά κυτταρα

TLR: toll-like receptors, toll-like υποδοχείς

TMPRSS2: transmembrane protease, serine 2, διαμεμβρανική προτεάση σερίνης 2

TNF: tumour necrosis factor, παράγοντας νέκρωσης όγκου

t-PA: tissue-type plasminogen activator, ιστικός ενεργοποιητής πλασμινογόνου

u-PA: urokinase-type plasminogen activator, ενεργοποιητής πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης

vWF: von Willebrand factor, παράγοντας von Willebrand

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Εισαγωγή

Σε λιγότερο από τέσσερις μήνες από την πρώτη περιγραφή σειράς περιπτώσεων πνευμονίας άγνωστου αιτιολογικού παράγοντα στην πόλη Wuhan της επαρχίας Hubei στην Κίνα τον Δεκέμβριο του 2019 και αργότερα την απομόνωση και ταυτοποίηση του ιού τον Ιανουάριο του 2020^{1,2,3}, η νόσος COVID-19 γρήγορα ανέκυψε ως διεθνούς ενδιαφέροντος κατάσταση εκτάκτου ανάγκης για τον τομέα της δημόσιας υγείας⁴ και κηρύχθηκε πανδημία από τον ΠΟΥ⁵. Μέχρι τις 19 Δεκεμβρίου του 2021 περισσότερα από 273 εκατομμύρια κρούσματα και πάνω από 5,3 εκατομμύριο θάνατοι έχουν καταγραφεί παγκοσμίως⁶. Η εξάπλωση συμβαίνει κυρίως μέσω επαφής, σταγονιδίων και αερολυμάτων, με αποτέλεσμα η καραντίνα εφαρμόστηκε ως προληπτικό μέτρο για τον περιορισμό της εξάπλωσης του ιού και καθόσον η ανάπτυξη φαρμάκων ήταν υπό συνεχείς μελέτες και δοκιμές⁷. Η ανάπτυξη των εμβολίων έφερε μια νέα εποχή από την πρώτη τους εισαγωγή τον Δεκέμβριο του 2020⁸, που επί καιρό εθεωρείτο ως μέτρο κλειδί για την πρόληψη και τον μετριασμό της σοβαρότητας της νόσου⁹. Ωστόσο, ο συνεχής ρυθμός μετάλλαξης του ιού με την εμφάνιση διαρκώς παραλλαγών διαφυγής του ανοσοποιητικού, η σύντομη διάρκεια της προστασίας που προσφέρουν, ο αποκλεισμός νεότερων ηλικιών από τις στρατηγικές ανοσοποίησης, η περιορισμένη πρόσβαση και η άνιση κατανομή εμβολίων, η ανεπαρκής ανοσοποίηση σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς, έχουν αρνητικά επηρεάσει την αποτελεσματικότητα της επαγόμενης από το εμβολιο προόδου ανοσοποίησης^{10,11,12,13}, αναθεωρώντας την αξία μιας δραστικής θεραπείας. Είναι θέμα προτεραιότητας ο εντοπισμός και η αναγνώριση φαρμάκων-στόχων για τον SARS-CoV-2, κάτι που με τη σειρά του απαιτεί την απόκτηση μιας βαθύτερης κατανόησης για τον ίδιο τον ιό.

2. Παθογονικότητα του SARS CoV-2

Οι κοροναϊοί ανήκουν στην υποοικογένεια *Orthocoronavirinae*, οικογένεια *Coronaviridae*¹⁴ και μπορούν να προσβάλλουν τόσο είδη πτηνών όσο και θηλαστικών, συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπων^{15,16}. Περαιτέρω ταξινομούνται σε τέσσερα γένη, τα άλφα, βήτα, γάμμα και δέλτα¹⁴, από τα οποία τα δύο πρώτα έχουν ιδιαίτερη σημασία λόγω του γεγονότος ότι έχουν δυναμικό ζωνόσου και επομένως μπορούν να προσβάλλουν τον άνθρωπο^{15,16}. Μέχρι στιγμής, τρεις νέοι λοιμογόνοι κοροναϊοί από τα επτά συνολικά τεκμηριωμένα ανθρώπινα στελέχη έχουν αναγνωριστεί ως απειλητικοί για τη ζωή λόγω της ικανότητάς τους να μολύνουν την κατώτερη αναπνευστική οδό και είναι υπεύθυνοι για μεγάλες εξάρσεις τα τελευταία 20 χρόνια, συγκεκριμένα ο SARS-CoV το 2002, ο MERS-CoV το 2012 και ο SARS-CoV-2 το 2019¹⁵. Στην περίπτωση του SARS-CoV-2, οι νυχτερίδες θεωρούνται ότι είναι η ζωική δεξαμενή, ενώ οι παγκολίνοι έχουν ενοχοποιηθεί ως ενδιάμεσοι ξενιστές¹⁵.

Αυτό που διακρίνει το νέο στέλεχος από τα προηγούμενα είναι ότι ο SARS-CoV-2 είναι πολύ λιγότερο παθογόνος οδηγώντας σε χαμηλότερα ποσοστά θνητότητας^{17,18} και κατέχει υψηλότερα ποσοστά μετάδοσης^{17,19,20}, εν μέρει αποδιδόμενα σε αντιγραφή του ιού στην ανώτερη αναπνευστική οδό κατά τη διάρκεια της φάσης επώασης^{17,25}. Επιπροσθέτως, μέχρι στιγμής είναι η μόνη νόσος κορωνοϊού στην οποία έχει περιγραφεί καλώς μια «ασυμπτωματική» κατάσταση φορέας²¹. Σε συνδυασμό με τη διεθνή συνδεσιμότητα υποδομών και το εκτεταμένο δίκτυο μεταφορών, αυτά τα βασικά γνωρίσματα έχουν διαδραματίσει καθοριστικό ρόλο στην παγκόσμια εξάπλωση του ιού.

Οι κοροναϊοί είναι μη-κατατετημημένοι μονόκλωνοι θετικής πολικότητας RNA ιοί^{22,23} των οποίων το γονιδίωμα είναι πακεταρισμένο μαζί με μία δομική πρωτεΐνη περιβλήματος επανομαζόμενη "N" (εκ της πρωτεΐνης νουκλεοκαψιδίου) σε ένα ελικοειδές νουκλεοκαψίδιο²³. Με τη σειρά του, το νουκλεοκαψίδιο περικλείεται σε ένα σφαιρικό έλυτρο που αποτελείται από τις ακόλουθες τρεις δομικές πρωτεΐνες: τις ολίγες διαμεμβρανικές πρωτεΐνες ελύτρου «E», σημαντικές για τη συναρμολόγηση και την απελευθέρωση του ιού,

την άφθονη «M» μεμβρανική πρωτεΐνη που προσκολλάται στο νουκλεοκαψίδιο και βοηθάει στην ολοκλήρωση της συναρμολόγησης και την πρωτεΐνη ακίδα «S» (spike) που δίνει στον ιό τη χαρακτηριστική του εμφάνιση δίκην ηλιακού στέμματος και μεσολαβεί στην προσκόλληση και είσοδο του ιού, καθορίζοντας τοιουτοτρόπως τον κυτταρικό τροπισμό του ιού²³.

Προκειμένου να αναπτυχθούν αποτελεσματικά φάρμακα είναι απαραίτητο να κατανοηθεί η παθοφυσιολογία της νόσου, από τις πρώτες κιόλας στιγμές εισόδου και αναπαραγωγής του ιού μέχρι την ανοσολογική απόκριση του ξενιστή στη λοίμωξη. Ο κύκλος ζωής του SARS-CoV-2 μπορεί να συνοψιστεί σε τέσσερα βήματα. Στο αρχικό στάδιο της εισόδου του ιού, η υπομονάδα S1 της πρωτεΐνης S που προβάλλει από το έλυτρο προσκολλάται στον ACE2 υποδοχέα στην κυτταρική μεμβράνη του ξενιστή²⁴. Αυτή η αλληλεπίδραση προάγει τη στερεοτακτική αναδιάταξη που επιτρέπει την πρωτεολυτική διάσπαση της πρωτεΐνης S από την πρωτεάση σερίνης TMPRSS2 της επιφάνειας του κυττάρου ξενιστή ή την ενδοσωμιακή πρωτεάση κυστεΐνης καθεψίνη B ή καθεψίνη L, οδηγώντας σε αποβολή της υπομονάδας S1 και έκθεση της υποκείμενης υπομονάδας S2²⁴. Η S2 με τη σειρά της υφίσταται μια μετάβαση της τριτογενούς δομικής της διάταξης που φέρνει πιο κοντά τις μεμβράνες του ιού και των κυττάρων, με αποτέλεσμα τη σύντηξή τους και την απελευθέρωση του ιικού γονιδιώματος στο κυτταρόπλασμα²⁴. Μετά την είσοδο, η αποκάλυψη του γενωμικού RNA επιτρέπει την έκφραση του γονιδίου αντιγραφής από τα ριβοσώματα του ξενιστή²⁴. Το γονίδιο αντιγραφής περιέχει δύο ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης, τα ORF1a και ORF1b, τα οποία είναι αρκετά μεγάλα ώστε να καταλαμβάνουν τα δύο τρίτα του ιικού γονιδιώματος και κωδικοποιούν δύο πολυπρωτεΐνες οι οποίες με τη σειρά τους υφίστανται περαιτέρω πρωτεολυτική διάσπαση σε δεκαέξι μεμονωμένες μη δομικές πρωτεΐνες (NSPs) από δύο ιικά κωδικοποιούμενες πρωτεάσες που βρίσκονται εντός αυτών των NSPs²⁵. Αυτές οι NSPs πιστεύεται ότι παίζουν ρόλο στην αναδιάρθρωση των ενδομεμβρανών του ξενιστή νωρίς στον κύκλο αντιγραφής σε οργανίδια αντιγραφής δημιουργώντας ένα προστατευτικό μικροπεριβάλλον²⁵. Δεκαπέντε NSPs συναρμολογούνται για να σχηματίσουν το σύμπλεγμα αντιγραφής και μεταγραφής (RTC) που ξεκινά το τρίτο στάδιο της ιικής

αντιγραφής και μεταγραφής στο οποίο τόσο τα γενωμικά όσο και τα υπογενωμικά RNA συντίθενται μέσω ενδιάμεσων αρνητικών κλώνων²⁵. Τα νέα ιικά γενωμικά RNA υποβάλλονται σε παραγωγή περισσότερων NSPs και RTC ή συναρμολογούνται σε ιικά σωμάτια²⁵. Τα υπογενωμικά ιικά RNA λειτουργούν ως mRNA για τη μετάφραση των δομικών και επικουρικών γονιδίων που εντοπίζονται στο άλλο ένα τρίτο του γονιδιώματος²⁵. Τέλος, η μετάφραση των δομικών πρωτεϊνών S, E και M, η εισαγωγή των στις μεμβράνες του ενδοπλασματικού δικτύου και η διαμετακίνηση μέσω του ενδιάμεσου διαμερίσματος ενδοπλασματικό δίκτυο-Golgi παράλληλα με τη συσκευασία του ιικού γονιδιώματος με την πρωτεΐνη N σε νουκλεοκαψίδια, έχει ως αποτέλεσμα τη συναρμολόγηση και την εκβλάστηση νεοπαραγόμενων ιικώνσωματίων που μεταφέρονται στην κυτταρική επιφάνεια σε κυστίδια και απελευθερώνονται με εξωκυττάρωση²⁵.

Η παθογονικότητα της σοβαρής νόσου SARS CoV-2 περιλαμβάνει πολλαπλά επίπεδα. Η πρώιμη φάση λοίμωξης και πολλαπλασιασμού του ιού ακολουθείται από μια μεταγενέστερη φάση άκρατης φλεγμονώδους ανοσιακής απάντησης του ξενιστή και πολυοργανικής ανεπάρκειας, οφειλόμενη σε ένα καταρράκτη κυτταροκινών, διάχυτη υπερβολική ενεργοποίηση φλεγμονωδών κυττάρων, διαταραγμένη ισορροπία μεταξύ της σηματοδότησης των αξόνων ACE/ANGII/AT1R και ACE2/ANG(1-7)/MasR και επακόλουθη βλάβη ιστού²⁶.

Κεντρικό στοιχείο και στις δύο φάσεις εξέλιξης της COVID-19 νόσου είναι ο ιικός υποδοχέας. Ο ACE2 υποδοχέας έχει ένα τεράστιο εύρος κατανομής σε ιστούς, προπαντός στην αναπνευστική οδό, τον εντερικό σωλήνα, τους νεφρούς, τους όρχεις, τη χοληδόχο κύστη, την καρδιά, τα μάτια και τα αγγεία, υπογραμμίζοντας τις κυριότερες θέσεις ιικής αναπαραγωγής, οδούς μετάδοσης και εν μέρει ευθυνόμενος για τη συμπτωματολογία που συσχετίζεται με τα αντίστοιχα όργανα και τις μεταλοιμώδεις επιπλοκές όπως η καρδιακή βλάβη και σεξουαλική δυσλειτουργία^{26,27,28}. Επιπλέον, το ACE2 παίζει κρίσιμο ρόλο ως μέρος του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης. Η κύρια λειτουργία του είναι να αντισταθμίζει την ισομορφή ACE διασπώντας την αγγειοσυσταλτική ANGII στο αγγειοδιασταλτικό πεπτιδίο ANG(1-7) καθώς και

την βιολογικά ανενεργή πρόδρομη ANGI στο ANG(1-9) πεπτιδίο, περαιτέρω αποδομούμενο σε ANG(1-7) πεπτιδίο από το ACE²⁹. Το ANG(1-7) πεπτιδίο με τη σειρά του μεσολαβεί τις αντιφλεγμονώδεις, νευρικές, καρδιαγγειακές και νεφροπροστατευτικές του επιδράσεις μέσω του υποδοχέα Mas²⁹. Ο SARS CoV-2 προκαλεί εσωτερίκευση και αποδόμηση του ACE2 υποδοχέα, διαταράσσοντας την ισορροπία και επιτρέποντας έτσι σε επόμενα στάδια τις επιβλαβείς επιδράσεις του άξονα αγγειοτενσινογόνο/ρενίνη/ACE/ANGII/AT1R/αλδοστερόνη χωρίς ανταγωνισμό, οδηγώντας σε αγγειοσυστολή και ευνοώντας ινωτικές και προφλεγμονώδεις διεργασίες^{26,29,30}. Ακόμη περισσότερο, έχει προταθεί ότι η ανεξέλεγκτη υπερ-κυτταροκιναιμία προάγει τη συστηματική δυσανάλογη υπερκφραση του ACE2 υποδοχέα προσπαθώντας να κάνει έκκληση στον προστατευτικό ACE2/ANG(1-7)/MasR άξονα²⁶. Εντούτοις, αυτό αφήνει τα όργανα και τους ιστούς σε όλο το σώμα εκτεθειμένα στις άμεσες βλαβερές συνέπειες της ιαιμίας και της καταστροφικής ACE/ANGII/AT1R σηματοδότησης, συντηρώντας έναν καταστροφικό φαύλο κύκλο²⁶.

Ο SARS CoV-2 εισβάλλει κυρίως στα κροσσωτά κύτταρα του ρινικού βλεννογόνου^{31,32}. Κατά την έναρξη της ιικής αντιγραφής, οι υποδοχείς αναγνώρισης μοτίβων RNA (RNA PRRs), ήτοι MDA5, LGP2 και NOD1, ανιχνεύουν μοριακά μοτίβα που συσχετίζονται με παθογόνα (PAMPs) σε ιικά dsRNA ενδιάμεσα, σηματοδοτώντας ένα καθοδικό μονοπάτι παραγόντων μεταγραφής που πυροδοτούν μια σχετικά καθυστερημένη έκφραση της ιντερφερόνης τύπου I και III³³. Μέσω παρακρινούς σηματοδότησης σε γειτονικά μη μολυσμένα κύτταρα, και οι δύο τύποι ιντερλευκίνης ασκούν τις πολυάριθμες άμεσες αντιικές επιδράσεις τους δεσμεύοντας στους υποδοχείς τους και ενεργοποιώντας γονίδια που διεγείρονται από την ιντερφερόνη μέσω της JAK-STAT οδού³⁴. Εκτός αυτού, φέρουν επίσης ανοσοτροποποιητικό δυναμικό ρυθμίζοντας τη χυμική και κυτταρομεσολαβούμενη ανοσολογική απόκριση επιχειρώντας συνολικά την κάθαρση του ιού³⁴. Επιπλέον, ο SARS-CoV-2 μέσω των C-τύπου υποδοχέων λεκτίνης και της πρωτεΐνης Tweety family member 2 σε μυελοειδή κύτταρα συμβάλλει στη καταιγίδα των κυτταροκινών³⁵ και στο σχηματισμό NET³⁶. Εάν η έμφυτη και επίκτητη ανοσία αποτύχει να περιορίσει τη λοίμωξη, ο ιός αναπαράγεται και αποβάλλει πολυάριθμα αντίγραφα,

διασπειρόμενος κατά μήκος του τραχειοβρογχικού δέντρου μέσω μικρο-εισρόφησης και γαστροοισοφαγικής εισρόφησης των ιοσωματίων³¹. Μια εναλλακτική κοπρανοστοματική πηγή λοίμωξης έχει επίσης προταθεί λόγω ανίχνευσης του ιικού RNA σε δείγματα κοπράνων και στο γαστρεντερικό σωλήνα, σε συμφωνία με την αυξημένη έκφραση του ACE2 στα εντεροκύτταρα³⁷. Οι ασθενείς σε αυτό το στάδιο μπορεί να παραμείνουν ασυμπτωματικοί ή μετά από μια περίοδο επώασης 3-7 ημερών να εμφανίσουν ήπια έως μέτρια συμπτώματα όπως πυρετός, ξηρός βήχας, δύσπνοια, κόπωση, ναυτία, έμετος, διάρροια, μυαλγία, ανοσμία ή αγευσία³⁸.

Στην κατώτερη αναπνευστική οδό, ο SARS CoV-2 φθάνει στους κυψελιδικούς χώρους όπου μολύνει κυρίως πνευμονοκύτταρα κυψελιδικού τύπου II, σημαντικά τόσο για την παραγωγή επιφανειοδραστικού παράγοντα όσο και για τη διαφοροποίησή τους σε κύτταρα τύπου I που σχηματίζουν την επιθηλιακή επένδυση της κυψελιδικής επιφάνειας καθοριστικής σημασίας για το φραγμό αέρα-αίματος^{31,39,40,41}, ενώ μπορεί επίσης να εισβάλει και στα ενδοθηλιακά κύτταρα του φραγμού⁴². Πυροδοτεί φλεγμονή που διαταράσσει την ανταλλαγή αερίων και προχωρά στην επόμενη φάση της νόσου³⁸. Ο ασθενής σε αυτό το στάδιο αναπτύσσει μέτρια έως σοβαρή δύσπνοια, υποξυγοναιμία και προοδευτική αναπνευστική ανεπάρκεια που μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρή COVID-19 νόσο που ακόμη και να πληροί τα κριτήρια για ARDS³⁸.

Ιστολογική εξέταση βασισμένη σε σειρές αυτοψιών αποκάλυψε ότι η οξεία πνευμονική βλάβη μπορεί να λάβει τη μορφή διάχυτης κυψελιδικής βλάβης (DAD), οξείας ινώδους και οργανούμενης πνευμονίας (AFOP) ή οργανούμενης πνευμονίας (OP)⁴³. Μεταξύ αυτών, το χαρακτηριστικό γνώρισμα της νόσου και ιστολογικό ισοδύναμο του ARDS πιστεύεται ότι είναι η διάχυτη κυψελιδική βλάβη⁴⁴. Τα παθολογικά στοιχεία υποδεικνύουν τέσσερα στάδια εξέλιξης της διάχυτης κυψελιδικής βλάβης στο κυριότερο και πιο καλά τεκμηριωμένο όργανο που προσβάλλεται, τον πνεύμονα. Το πρώτο στάδιο χαρακτηρίζεται από οίδημα, επιθηλιακή βλάβη, υπερπλασία των πνευμονοκυττάρων, νέκρωση κυψελιδικών μακροφάγων και ενδοθηλίτιδα⁴⁵. Στην εξιδρωματική φάση, το προεξάχον χαρακτηριστικό είναι οι πλούσιοι σε

υαλίνη κυψελιδοί χώροι, μία αύξηση του αριθμού των μακροφάγων, η υπερπλασία πνευμονοκυττάρων τύπου 2 και η περιστασιακή ενδοκυψελιδική αιμορραγία μαζί με θρομβωτικές μικροαγγειακές αποφράξεις από αιμοπεταλία-ινική ή/και επιλοιμώξεις⁴⁵. Ακολουθεί μία υποξεία φάση οργάνωσης κατά την οποία το ινώδες της μεμβράνης υαλίνης οργανώνεται και υπάρχει χημειοταξία ινοβλαστών που παράγουν χαλαρού τύπου κολλαγόνο⁴³. Εάν αυτές οι βλάβες δεν υποχωρήσουν, θα προχωρήσουν σε ένα χρόνια ινωτικό στάδιο προοδευτικής διάμεσης ίνωσης παράλληλο με εκείνες της διάμεσης πνευμονίτιδας⁴³.

Το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή επιστρατεύεται πολλαπλούς αλληλένδετους μηχανισμούς της μη ειδικής και ειδικής ανοσίας με στόχο την εξάλειψη της λοίμωξης. Εκτός από τις προαναφερθείσες ιντερφερόνες και το RAAS, η παραγωγή κυτταροκινών είναι ένα βήμα ζωτικής σημασίας στην παθολογία της νόσου. Πυροδοτείται είτε μέσω άμεσης αλληλεπίδρασης μορίων αναγνώρισης προτύπων, όπως τα PTX3, MBL, TLR, με συστατικά των ιών^{46,47} είτε έμμεσα μέσω της απελευθέρωσης μοριακών μοτίβων που συσχετίζονται με βλάβη (DAMPs) όπως το HMGB1 από τραυματισμένα κύτταρα^{48,49}. Μέχρι στιγμής, διάφορες κυτταροκίνες έχουν ενοχοποιηθεί στην παθοφυσιολογία της νόσου σε διαφορετικές φάσεις κατά την εξέλιξη της νόσου η καθεμία με το δικό της αντίκτυπο, ιδιαιτέρως οι προφλεγμονώδεις IL-1, IL-6 και TNF- α ⁵⁰. Το σύνδρομο απελευθέρωσης κυτταροκινών είναι το αποτέλεσμα μιας τέτοιας ανεξέλεγκτης παραγωγής προφλεγμονωδών κυτταροκινών⁵¹.

Ο ρόλος της κυτταρο-μεσολαβούμενης ανοσίας αναγνωρίστηκε αρκετά νωρίς στην πορεία της πανδημίας, διαγραμματίζοντας μία ήπια ουδετεροφιλία μαζί με λεμφοπενία T-κυττάρων σε ασθενείς με COVID-19 νόσο σε αναλογία που συμβαδίζει με τη σοβαρότητα της νόσου^{52,100}. Τα ουδετερόφιλα είναι από τα πρώτα κύτταρα που ανταποκρίνονται ταχέως μέσω χημειοταξίας στο σημείο της λοίμωξης και εκκρίνουν εξωκυτταρικές παγίδες ουδετερόφιλων (NETs) που αδρανοποιούν τα ελεύθερα ιικά σωματίδια⁵³. Ωστόσο, σε σοβαρή COVID-19 νόσο τα NET στον ορό έχουν χαμηλότερη ικανότητα αποδόμησης⁵⁴. Εάν αφεθούν χωρίς έλεγχο τα NET προκαλούν τοπική και συστηματική ιστική βλάβη μέσω

ενεργοποίησης μακροφάγων, κυτταροτοξικών εξωκυτταρικών ιστονών και προάγουν τη θρόμβωση μέσω αλληλεπίδρασης με το ινωδογόνο, τον παράγοντα von Willebrand και τα αιμοπετάλια, προκαλώντας έτσι πολλαπλή βλάβη οργάνων και ARDS⁵⁵. Από την άλλη πλευρά, η λεμφοπενία που παρατηρείται είναι εν μέρει αποτέλεσμα μείωσης σε όλους τους υποπληθυσμούς T-κυττάρων λόγω απόπτωσης, βλάβης του μυελού των οστών, κυτταρικού θανάτου που σχετίζεται με αυτοφαγία, μετατόπισης των λεμφοκυττάρων, και ο βαθμός περιγράφεται να είναι ανάλογος με τη σοβαρότητα της φλεγμονής^{56,57,58,59}. Η κυτταροτοξική απόκριση των CD8+ T-κυττάρων, συμπληρωματική των βλεννογονικών αντισωμάτων, θεωρείται κρίσιμη για την εξάλειψη των αναπνευστικών ιών, ικανή να αφήνει μακροχρόνια κύτταρα μνήμης και διασταυρούμενη αντίδραση έναντι διαφορετικών στελεχών ιών⁶⁰. Αυτός ο ρόλος έχει αναγνωριστεί στη COVID-19 λοίμωξη και έχει επιδιωχθεί σε στρατηγικές εμβολιασμού, παρόλο που η καταιγιστική ενεργοποίηση των κυτταροτοξικών T-κυττάρων είναι συνδεδεμένη με βλάβη των ιστών⁶¹.

Η χυμική ανοσία περικλείει τη βλεννογονική και τη συστηματική αντισωματο-μεσολαβούμενη απόκριση και αντιπροσωπεύεται από την παραγωγή IgG, IgA και IgM αντισωμάτων έναντι της ακίδας και των πρωτεϊνών νουκλεοκαψιδίου⁶² που δρουν μέσω της εξουδετέρωσης, της αντισωματο-εξαρτούμενης φαγοκυττάρωσης, της αντισωματο-εξαρτούμενης κυτταρικής κυτταροτοξικότητας και της πυροδότησης NETosis⁶³. Πολυάριθμες μελέτες έχουν καταδείξει μια συστηματική ισχυρή χυμική απάντηση στη COVID-19 λοίμωξη κυρίως σε πιο σοβαρές περιπτώσεις σε αντίθεση με τις πιο ήπιες^{64,65,66,67}, ενώ αυτό φαίνεται να εξαρτάται από την ηλικία και το φύλο^{68,69}. Μια υψηλότερη συγγένεια αντισωμάτων έναντι της ακίδας του SARS-CoV-2 τόσο στον ορό όσο και στα ρινικά εκπλύματα σκιαγραφεί μια ασυμπτωματική κατάσταση, ενδεικτική ενός ικανού ξενιστή στο να περιορίζει τη λοίμωξη⁷⁰. Επιπροσθέτως, έχει αναφερθεί ότι υψηλότερη IgG συγγένεια σε σοβαρή νόσο υποδηλώνει την ανάπτυξη B κυττάρων μνήμης όντα σε εγρήγορση για να εμποδίσουν πιθανή επαναλοίμωξη⁷¹. Τα αντισώματα έναντι του SARS CoV-2 παρουσιάζουν διασταυρούμενη αντίδραση με άλλους εποχικούς ανθρώπινους

κοροναϊούς⁷² μετριάζοντας τα συμπτώματα και τη σοβαρότητα της COVID-19 νόσου^{73,74}.

Η ανοσοθρόμβωση είναι ένα χαρακτηριστικό πολυπαραγοντικό στοιχείο του COVID-19. Η φλεγμονή που μεσολαβείται μέσω των DAMPs και των κυτταροκινών διεγείρει την έκφραση μορίων προσκόλλησης, συμπεριλαμβανομένης της P-selectin, E-selectin, του vWF, και επάγει τη συσσώρευση ουδετερόφιλων και αιμοπεταλίων⁷⁵. Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων από τον SARS CoV-2 μέσω της απελευθέρωσης του HMGB1 πυροδοτεί τη δημιουργία NETs από τα ουδετερόφιλα, ενώ μέσω θετικής παλίνδρομης ρύθμισης, τα αντιμικροβιακά πεπτιδία που απελευθερώνονται από τα NET υποστηρίζουν περαιτέρω την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων⁷⁵. Τα NETs προσκολλώνται στον ιστικό παράγοντα που εκφράζεται από τα μονοκύτταρα που επιστρατεύονται προάγοντας τη παραγωγή θρομβίνης, και η ουδετεροφιλική ελαστάση και μυελοϋπεροξειδάση, συστατικά των NETs, διασπούν τα φυσικά αντιπηκτικά⁷⁵. Επιπλέον, υπό συνθήκες υπερβολικής φλεγμονής τα αυξημένα επίπεδα του αναστολέα ινωδολύσης που ενεργοποιείται από τη θρομβίνη και του PAI-1 ξεπερνούν τον ινωδολυτικό ρόλο του u-PA και του t-PA⁷⁵. Τέλος, ο SARS-CoV-2 επάγει επίσης την ενεργοποίηση του συμπληρώματος μέσω της κλασικής οδού και της οδού της λεκτίνης⁷⁵.

3. Αποκρυπτογραφώντας τον ρόλο της IL-6 και μηχανισμού στόχου της τοσιλιζουμάμπης

Έχοντας περιγραφεί το 1973 ως διαλυτός παράγοντας που παράγεται από T βοηθητικά κύτταρα που επάγει τον πολλαπλασιασμό και την ωρίμανση των B κυττάρων σε πλασματοκύτταρα διεγείροντας έτσι την παραγωγή αντισωμάτων, η IL-6 αρχικά ονομάστηκε παράγοντας διέγερσης B κυττάρων ή παράγοντας διαφοροποίησης B-κυττάρων⁷⁶. Ακολούθως της κλωνοποίησης και δομικής της ανάλυσης το 1986⁷⁷, η συνεχής αναγκαιότητα για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων για αυτοάνοσες ασθένειες έριξε φως στους μηχανισμούς σηματοδότησης της IL-6, τις βιολογικές επιδράσεις και τον ρόλο της σε διάφορες αυτοάνοσες νόσους, διερευνώντας το ενδεχόμενο αναστολέων της IL-6 ως εν δυνάμει επιλογές θεραπείας⁷⁸. Η IL-6 έκτοτε έχει αναδειχθεί ως ο κεντρικός συντονιστής της φλεγμονής και αιμοποίησης, καταδειγμένη ότι παίζει πλειοτροπικό ρόλο σε πολυάριθμες μεταβολικές καταστάσεις, λοιμώξεις, στο νευροενδοκρινικό σύστημα, στη νευροψυχολογική συμπεριφορά και στη νεοπλασματική νόσο^{79,80}.

Η IL-6 συντίθεται από μια ποικιλία στρωματικών κυττάρων, κυττάρων όγκου, κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος, αστροκυττάρων, κυττάρων μικρογλοίας, με τις πιο αξισημείωτες πηγές να είναι τα ενδοθηλιακά κύτταρα, οι ινοβλάστες και τα μονοκύτταρα/μακροφάγα κατά τη διάρκεια μιας συστηματικής φλεγμονής⁸¹. Μεταξύ των ερεθισμάτων που πυροδοτούν την έκφραση και την απελευθέρωσή της, η IL-1, ο TNF-α, οι βακτηριδιακοί λιποπολυσακχαρίτες και οι ιοί είναι οι πιο εξέχοντες ενεργοποιητές⁸¹. Οι συγκεντρώσεις της IL-6 στον ορό ανταποκρίνονται γρήγορα και αυξάνονται άμεσα σε τεράστιες ποσότητες σε κρίσιμη νόσο, υποδηλώνοντας ομοιόσταση της IL-6 μεταξύ της βασικής ρύθμισης και της ταχείας επαγωγής σε συνθήκες λοίμωξης, αυτοανοσίας ή καρκίνου⁸⁰.

Προκειμένου να ασκήσει τις λειτουργίες της, η IL-6 χρειάζεται να συνδεθεί με τον υποδοχέα IL-6 (IL-6R), σχηματίζοντας ένα σύμπλοκο που στη συνέχεια πρέπει να προσκολληθεί σε μια δεύτερη πρωτεΐνη επιφανείας που στερείται από μόνη της ιδιότητες δέσμευσης της IL-6, τη γλυκοπρωτεΐνη 130

(gp130)^{82,83,87}. Μη ομοιόμορφα κατανομημένος, ο δεσμευμένος στη μεμβράνη υποδοχέας IL-6 περιορίζεται κυρίως στην επιφάνεια των ηπατοκυττάρων, λευκοκυττάρων και λεμφοκυττάρων^{84,85,86}, σε αντίθεση με τη gp130 που εκφράζεται απανταχού στα κύτταρα⁸⁷. Μια διαλυτή μορφή του IL-6R επιτυγχάνεται με πρωτεολυτική αποβολή της δεσμευμένης στη μεμβράνη μορφής που μεσολαβείται κυρίως από το ADAM10 και ADAM17^{88,89} ή με μετάφραση από εναλλακτικό μάτισμα του mRNA^{90,91}. Η μεταγωγή καθοδικής σηματοδότησης θα λάβει χώρα είτε μέσω "κλασικής σηματοδότησης" σε αυτά τα περιορισμένα κύτταρα που εκφράζουν και τις δύο υπομονάδες υποδοχέα είτε μέσω "διασηματοδότησης" στα κύτταρα που εκφράζουν μόνο gp130, μέσω δέσμευσης του συμπλόκου IL-6/διαλυτού IL-6R, διευρύνοντας με αυτόν τον τρόπο το φάσμα των στόχων της IL-6 και επεκτείνοντας τον χρόνο ημιζωής της κυκλοφορούσας IL-6⁸⁰. Η σημασία αυτών των διεργασιών σηματοδότησης έγκειται στη βάση διαφορετικών περιπτώσεων: η κλασική σηματοδότηση επιστρατεύεται στην απάντηση οξείας φάσης, στην άμυνα έναντι λοιμώξεων, στην αναγέννηση ιστών και στο μεταβολισμό, ενώ η διασηματοδότηση μεταξύ άλλων στην αναγέννηση του ήπατος, στην αιμοποίηση, στη διέγερση νευρικών και λείων μυϊκών κυττάρων, σε φλεγμονώδεις ασθένειες και καρκίνους που επάγονται από φλεγμονή^{92,93}. Έτσι, ο διαλυτός IL-6R θα μπορούσε να λειτουργήσει ως αλαρμίνη (alarmin) που όταν αποβάλλεται από μεταναστευμένα ουδετερόφιλα επιτρέπει στην IL-6 να ασκεί τις παρακρινείς λειτουργίες της σε κοντινά κύτταρα ως ενδεχόμενη απάντηση κινδύνου σε νόσο, προάγοντας έμφυτες και επίκτητες ανοσολογικές αποκρίσεις⁹⁴.

Η βιβλιογραφία τα τελευταία 40 χρόνια έχει δώσει έμφαση στις προφλεγμονώδεις επιδράσεις της. Η IL-6 είναι ένας καλά αναγνωρισμένος μείζονας ρυθμιστής της απάντησης οξείας φάσης στα ηπατοκύτταρα διεγείροντας μια τεράστια σειρά πρωτεϊνών οξείας φάσης, συμπεριλαμβανομένης της CRP και του αμυλοειδούς A ορού⁸¹. Η IL-6 ενισχύει τον πολλαπλασιασμό των αιμοποιητικών προγονικών βλαστοκυττάρων και δρα συνεργικά με τον GM-CSF⁸¹. Επίσης, η IL-6 διαμορφώνει τη χημειοταξία και την ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων ρυθμίζοντας την έκκριση χημειοκινών και την έκφραση των μορίων προσκόλλησης⁸⁰. Επιπλέον, στο πλαίσιο της επίκτητης

ανοσίας, η IL-6 δρα απευθείας στα B κύτταρα που ενεργοποιούνται από την IL-4 και την IL-5 επάγοντας το τελικό στάδιο της διαφοροποίησης σε κύτταρα που παράγουν ανοσοσφαιρίνες⁹⁵. Η IL-6 σε συνέργεια με την IL-1 εμπλέκεται στην εξαρτώμενη από T κυτταρικούς υποδοχείς ενεργοποίηση των T κυττάρων και την κλωνική επέκταση, καθώς και στον πολλαπλασιασμό των θυμοκυττάρων, ενώ βελτιώνει τη δράση της IL-2 στην όψιμη φάση της δημιουργίας CD8+ T κυττάρων⁸¹. Η IL-6 καθοδηγεί επίσης τη δημιουργία και τη συντήρηση των θυλακιωδών T βοηθητικών κυττάρων, ενός υποσυνόλου εξειδικευμένων T κυττάρων που βρίσκονται στα λεμφοζύδια, σημαντικά για την κλωνική επέκταση των B κυττάρων και την μεταγωγή κατηγορίας (class-switching)⁹⁶. Ακόμη περισσότερο, υπάρχουν ενδείξεις ότι η IL-6 ενισχύει την κυτταρική επέκταση των Th1 ή Th2 υποομάδων ανάλογα με το φλεγμονώδες πλαίσιο, ενώ θεωρείται βασικός παράγοντας στην Th17 κυτταρική σειρά μαζί με τη σχέση της με ρυθμιστικά T κύτταρα⁸⁰. Πρόσφατα όμως, αυτό που κερδίζει την αναγνώριση είναι οι αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες της IL-6 οι οποίες μέσω της παρεμβολής στη διαφοροποίηση των μακροφάγων και την παραγωγή της IL-10 από τα T κύτταρα προάγουν την επούλωση των πληγών⁸⁰.

Η IL-6 εμπλέκεται ως κεντρικό στοιχείο στην παθοφυσιολογία της καταγίδιας των κυτταροκινών. Έχοντας αρχικά περιγραφεί στη ρευματοειδή αρθρίτιδα και στη νόσο μοσχεύματος έναντι του ξενιστή, η IL-6 αντανάκλα μια ασυνήθιστα υπερ-ενεργοποίηση κυττάρων ανοσίας που απελευθερώνουν τεράστιες ποσότητες κυτταροκινών, μεταξύ των οποίων προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες που συντηρούν έναν κύκλο θετικής παλίνδρομης ανάδρασης, με αποτέλεσμα την ατυχή αυτοκαταστροφή των οργάνων του ξενιστή μαζί με την επιθυμητή εξάλειψη των παθογόνων⁹⁷. Το σύνδρομο απελευθέρωσης κυτταροκινών, η κλινική οντότητα που προκαλείται από την καταγίδα των κυτταροκινών, είχε προηγουμένως παρατηρηθεί στις λοιμώξεις SARS-CoV, MERS-CoV και σε ασθενείς με λευχαιμία που λάμβαναν θεραπεία με γενετικά τροποποιημένα T κύτταρα⁹⁷. Οι ήπιες περιπτώσεις χαρακτηρίζονται από πυρετό, κόπωση, κεφαλαλγία, εξάνθημα, αρθραλγία/μυαλγία, ενώ οι σοβαρές περιπτώσεις μπορεί να οδηγήσουν σε διάχυτη ενδαγγειακή πήξη, σοκ, πολυοργανική ανεπάρκεια και θάνατο⁹⁷.

Μεταξύ των πολλαπλών κυτταροκινών που αυξάνονται στις καταιγίδες κυτταροκινών που μεσολαβούνται από ιούς, η προφλεγμονώδης IL-6 είναι αδιαμφισβήτητα σημαντική⁹⁷. Ήδη από την αρχή της έξαρσης της COVID-19 λοίμωξης, μία καταιγίδα κυτταροκινών έχει προταθεί ως παθοφυσιολογικός μηχανισμός σε σοβαρές περιπτώσεις νόσου και τα αυξημένα επίπεδα IL-6 ορού συσχετίστηκαν με αναπνευστική ανεπάρκεια, ARDS, πολυοργανική ανεπάρκεια ή φτωχή επιβίωση^{98,99,100,101,102}, υποδηλώνοντας την IL-6 ως πιθανό βιοδείκτη για την παρακολούθηση της νόσου σε σοβαρή COVID-19 λοίμωξη^{102,103}. Μια μετα-ανάλυση έξι μελετών που διερευνούσαν τη συγκέντρωση IL-6 στη COVID-19 υποστήριξε περαιτέρω αυτήν την πεποίθηση, δείχνοντας 2,9 φορές υψηλότερα επίπεδα IL-6 σε ασθενείς με επιπλεγμένη COVID-19 σε σύγκριση με ασθενείς με μη επιπλεγμένη νόσο¹⁰⁴. Οι Zhou *et al* περιέγραψαν επίσης αυξημένα επίπεδα IL-6 ορού ως αρνητικό προγνωστικό παράγοντα για την ενδονοσοκομειακή επιβίωση¹⁰⁵. Επιπροσθέτως, οι Zhou *et al* κατέδειξαν μέσω ενδοκυτταρικής χρώσης κυτταροκινών ότι τα ανώμαλα παθογόνα CD4+ T κύτταρα και CD14+ CD16+ φλεγμονώδη μονοκύτταρα από ασθενείς με σοβαρή COVID-19 πνευμονία παρουσίασαν υψηλό ποσοστό έκφρασης IL-6+ σε βαθμό που συμβάδιζε με τη σοβαρότητα της νόσου, ικάζοντας ένα υψηλό κίνδυνο για καταιγίδα κυτταροκινών¹⁰⁶. Από τη στιγμή που η IL-6 είναι κομβικής σημασίας για την καθοδήγηση του συνδρόμου απελευθέρωσης κυτταροκινών στον COVID-19, η αναστολή της οδού σηματοδότησης της έχει θεωρηθεί ως ουσιώδης θεραπευτική προσέγγιση.

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η γνώση ενός αναστολέα IL-6 προϋπήρχε ήδη. Λαμβάνοντας υπόψη ότι οι συγκεντρώσεις του υποδοχέα IL-6 ήταν λιγότερο ετερογενείς μεταξύ των ατόμων σε σύγκριση με εκείνες της IL-6, ο IL-6R αποτελούσε καλύτερο στόχο για την ανάπτυξη φαρμάκου, ευνοώντας την ευκολότερη επιλογή δόσης και σχήματος⁷⁸. Η τοσιλιζουμάμπη είναι το προκύπτον ανασυνδυασμένο ανθρώπινο IgG1 αντίσωμα που ασκεί τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές της στοχεύοντας τον επίτοπο δέσμησης της IL-6 είτε των μεμβρανικών είτε των διαλυτών υποδοχέων IL-6, εμποδίζοντας έτσι τη σύνδεση της IL-6¹⁰⁷. Δεν κάνει διάκριση ωστόσο μεταξύ των δύο διεργασιών σηματοδότησης, εμποδίζοντας και τις δύο και στερώντας έτσι στον ξενιστή τις

ομοιοστατικές και επιδιορθωτικές λειτουργίες που διαμεσολαβούνται από την κλασική σηματοδότηση⁹⁴.

Δοκιμασμένη αρχικά για τη νόσο Castleman, λαμβάνοντας άδεια στην Ιαπωνία το 2005¹⁰⁸, έως το 2020 αδειοδοτήθηκε για τη θεραπεία της ρευματοειδούς αρθρίτιδας, της συστηματικής νεανικής ιδιοπαθούς αρθρίτιδας, της νεανικής ιδιοπαθούς πολυαρθρίτιδας, της γιγαντοκυτταρικής αρτηρίτιδας και του συνδρόμου απελευθέρωσης κυτταροκινών⁷⁸. Κατά τη διάρκεια της πανδημίας, έλαβε έγκριση για ενδοφλέβια χορήγηση στη νόσο COVID-19 από τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (EMA) τον Δεκέμβριο του 2021¹⁰⁹, άδεια χρήσης έκτακτης ανάγκης από τον Αμερικάνικο Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) τον Ιούνιο του 2021¹¹⁰ και έγκριση ενάμιση χρόνο αργότερα, τον Δεκέμβριο του 2022¹¹¹.

4. Τρέχουσα εμπειρία με την τοσιλιζουμάμπη στη νόσο COVID-19

4.1. Πρώτες περιγραφές με ενθαρρυντικά αποτελέσματα

Μετά την ηλεκτρονική δημοσίευση δύο αναφορών περιστατικών (case reports) που περιγράφουν δύο άνδρες ασθενείς μέσης ηλικίας που έλαβαν θεραπεία με τοσιλιζουμάμπη δεδομένων των υψηλών επιπέδων IL-6, ο πρώτος με νεφρική νόσο τελικού σταδίου που παρουσίαζε ταχεία έκπτωση της αναπνευστικής του κατάστασης και καταπληξία¹¹² και ο δεύτερος με πολλαπλό μύελωμα που ακολουθούσε μια ηπιότερη πορεία εξέλιξης της νόσου¹¹³, τα πρώτα δεδομένα που υποστήριξαν το ενδεχόμενο ενός αναστολέα υποδοχέα IL-6 στη COVID-19 προήλθαν από μικρές κοόρτες στο Wuhan της Κίνας. Οι Xu *et al* παρουσίασαν αναδρομικά την εμπειρία τους με τη τοσιλιζουμάμπη σε 21 ασθενείς με σοβαρό ή κρίσιμο COVID-19, αυξημένα επίπεδα IL-6 και επιδεινούμενα διηθήματα δίκην θαμβής υάλου εντός των πρώτων 7 ημερών μετά την εισαγωγή¹¹⁴. Μετά τη χορήγηση, μία σημαντική κλινική βελτίωση παρατηρήθηκε που περιελάμβανε μείωση των συμπτωμάτων, ελάττωση της πρόσληψης οξυγόνου εντός των πρώτων 5 ημερών σε 15 ασθενείς, ακτινολογική βελτίωση με λύση των πυκνώσεων στην αξονική τομογραφία σε 19 από αυτούς, επάνοδο στο φυσιολογικό του ποσοστού των λεμφοκυττάρων σε 10, απουσία ανεπιθύμητων ενεργειών και εξιτήριο σε όλους τους ασθενείς, ακόμη και σε εκείνους σε κρίσιμη κατάσταση με μέσο χρόνο νοσηλείας $15,1 \pm 5,8$ ημέρες μετά τη χορήγηση τοσιλιζουμάμπης¹¹⁴. Επιπλέον, οι Luo *et al* περιέγραψαν τη χρήση της τοσιλιζουμάμπης σε 15 ασθενείς με μέτρια έως κρίσιμη κατάσταση με αυξημένη IL-6, σε συνδυασμό με μεθυλπρεδνιζολόνη σε 8 από αυτούς¹¹⁵. Σε ασυνήθιστη δόση 80 - 600 mg και έως και 3 φορές ανά ασθενή, αν και παρατηρήθηκε ταχεία μείωση της CRP και της IL-6 εντός 7 ημερών στην πλειονότητα των ασθενών παράλληλα με κλινική βελτίωση ή σταθεροποίηση (με μοναδική εξαίρεση έναν που επιδεινώθηκε παρά τη βελτίωση των εργαστηριακών δεικτών), 4 από αυτούς που είχαν ταξινομηθεί ως κρίσιμοι τελικώς πέθαναν ή επιδεινώθηκαν συνοδευόμενοι από εργαστηριακό εύρημα κατακόρυφης αύξησης της IL-6, υπογραμμίζοντας τα προγνωστικά

χαρακτηριστικά της IL-6 στην καταιγίδα των κυτταροκινών και στη σοβαρότητα της νόσου¹¹⁵. Και οι 5 ασθενείς που επιδεινώθηκαν ή πέθαναν εντός 7 ημερών από τη χορήγηση της τοσιλιζουμάμπης είχαν λάβει μόνο μία δόση τοσιλιζουμάμπης παρά την ταυτόχρονη χορήγηση μεθυλπρεδνιζολόνης, επομένως προτείνοντας ότι οι επαναλαμβανόμενες δόσεις θα πρόσφεραν κλινικό όφελος¹¹⁵. Αυτές οι μελέτες και άλλες ανέκδοτες παρατηρήσεις άνοιξαν το δρόμο για την εκτός εγκεκριμένων ενδείξεων (off-label) χρήση της τοσιλιζουμάμπης στη σοβαρή COVID-19 πνευμονία¹⁶⁰.

Για καλύτερη παρουσίαση και πιο ξεκάθαρη εικόνα των μελετών που ακολουθούν, θα παρουσιαστούν διαρθρωμένες σύμφωνα με τον αναδρομικό ή προοπτικό τους σχεδιασμό και αναφορικά με τον πληθυσμό μελέτης τους στη γενική πτέρυγα νοσηλείας ή στη ΜΕΘ.

4.2. Πληθυσμός μελέτης στη γενική πτέρυγα νοσηλείας

Ένας αριθμός αναδρομικών μελετών ασθενών-μαρτύρων που δημοσιεύθηκαν διαδικτυακά μεταξύ Μαΐου 2020 και Δεκεμβρίου 2020 με περιορισμένο πληθυσμό μελέτης υπό των 200 ασθενών στη γενική πτέρυγα νοσηλείας, ευνόησαν τη χρήση της τοσιλιζουμάμπης -χορηγούμενη σε προχωρημένο στάδιο αναπνευστικής νόσου στην πλειονότητα των μελετών - είτε ως προς την επιβίωση^{117,118,119,120,121,122}, την αναπνευστική βελτίωση^{117,123}, την ανάγκη για επεμβατικό αερισμό^{124,125}, το ARDS¹²², την ανάγκη για αγγειοσυσπαστικά¹²⁶ ή την εισαγωγή στη ΜΕΘ¹¹⁸. Οι Klopfenstein *et al* σε μια αναδρομική κοόρτη 206 ασθενών σε κρίσιμη κατάσταση κατέγραψαν ότι η χορήγηση τοσιλιζουμάμπης ως θεραπεία διάσωσης γενικά μείωσε το αθροιστικό ποσοστό ασθενών που πέθαναν ή έλαβαν μηχανικό αερισμό¹²⁷. Παρόμοια ευρήματα αναφέρθηκαν επίσης από τους Rossi *et al* σε μια αναδρομική μελέτη 247 ασθενών¹²⁸. Η SAM-COVID, μια μεγάλη αναδρομική πολυκεντρική μελέτη με 778 ασθενείς με παρακολούθηση 21 ημερών, κατέδειξε μια ευνοϊκή συσχέτιση της θεραπείας με τοσιλιζουμάμπη με χαμηλότερο σύνθετο αποτέλεσμα διασωλήνωσης ή θανάτου, υψηλότερο ποσοστό ασθενών με βαθμολογία ταξικής κλίμακας κατά ΠΟΥ ≤ 3 την ημέρα 21 και δεν παρατηρήθηκε διαφορά στις δευτερογενείς βακτηριακές λοιμώξεις¹²⁹. Σε άλλη μεγάλη αναδρομική πολυκεντρική μελέτη με 1229 ασθενείς, οι Martínez-Sanz *et al* υπέδειξαν ένα στατιστικά σημαντικό όφελος της τοσιλιζουμάμπης ως προς τη θνητότητα και σύνθετο εισαγωγής στη ΜΕΘ ή θάνατος, περιορισμένο ωστόσο σε εκείνους με επίπεδα CRP άνω των 150 mg/L¹³⁰. Οι Chilimuri *et al* ανέλυσαν αναδρομικά δεδομένα από 1225 ασθενείς με μέτρια προς σοβαρή COVID-19 νόσο και επεσήμαναν μια μικρότερη πιθανότητα σύνθετου θανάτου ή διασωλήνωσης στους ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με τοσιλιζουμάμπη¹³¹. Είναι ενδιαφέρον ότι η μεγαλύτερη αναδρομική πολυκεντρική μελέτη 5776 ασθενών που κατηγοριοποιήθηκαν σε 6 ομάδες ανάλογα με την ανοσοτροποποιητική COVID-19 θεραπεία τους, συγκεκριμένα ανακίνρα, τοσιλιζουμάμπη, κορτικοστεροειδή, συνδυασμός κορτικοστεροειδών και ανακίνρα, κορτικοστεροειδών και τοσιλιζουμάμπης, καθιερωμένη ιατρική περίθαλψη (standard of care), έδειξε όφελος επιβίωσης στην θεραπεία με

τοσιλιζουμάμπη μόνο όταν συνδυάζεται με κορτικοστεροειδή έναντι των άλλων πέντε ομάδων, ενώ η μονοθεραπεία με τοσιλιζουμάμπη δεν αποδείχθηκε ωφέλιμη σε σύγκριση με τις άλλες ομάδες¹³². Οι Lewis *et al* σε έναν πληθυσμό 994 σοβαρών περιπτώσεων νόσου από τρία κέντρα μελέτης έδειξαν αναδρομικά μια σχετιζόμενη με τη τοσιλιζουμάμπη ενισχυμένη επιβίωση εις βάρος της αυξημένης διάρκειας παραμονής στη ΜΕΘ και του ποσοστού λοιμώξεων¹³³. Οι Ruiz-Antorán *et al* μεταξύ 506 ασθενών με σοβαρή COVID-19 νόσο συμφώνησαν με τα προαναφερθέντα ευρήματα χαμηλότερης θνητότητας στο σκέλος της τοσιλιζουμάμπης, ενώ πρόσθεσαν ότι το όφελος αυτό είναι στατιστικά σημαντικό μόνο σε εκείνους με ταυτόχρονη έναρξη στεροειδών εντός των πρώτων 48 ωρών από τη χορήγηση τοσιλιζουμάμπης¹³⁴. Τέλος, οι Buzon-Martín *et al* επίσης συσχέτισαν τη τοσιλιζουμάμπη με καλύτερα ποσοστά επιβίωσης σε έναν πληθυσμό μελέτης 374 ασθενών¹³⁵.

Έξι αναδρομικές, μελέτες ασθενών-μαρτύρων στην Ιταλία, ΗΠΑ και Ισπανία με περιορισμένο πληθυσμό μελέτης λιγότερο από 100 ασθενείς στην πτέρυγα και μόνο μία από αυτές περιλαμβάνοντας ασθενείς με σοβαρή αναπνευστική προσβολή, απέτυχαν να αποδείξουν μια ευδιάκριτη επίδραση της τοσιλιζουμάμπης σε θέματα κλινικής βελτίωσης^{136,137}, εισαγωγής στη ΜΕΘ¹³⁸, εξόδου από το νοσοκομείο¹³⁹, θνητότητας^{136,137,138,140,141}, εξέλιξης ARDS¹⁴⁰ και οξείας νεφρικής βλάβης που απαιτεί αιμοκάθαρση¹⁴⁰, ενώ τα ευρήματα σχετικά με δευτερογενείς λοιμώξεις ήταν αντιφατικά^{136,137}. Επιπλέον, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, σε ορισμένες αναδρομικές μελέτες παρά το όφελος στη θνητότητα, η τοσιλιζουμάμπη συσχετίστηκε με μία αύξηση της νοσηλείας^{122,133,142}. Αποθαρρυντικά αποτελέσματα αναφέρθηκαν επίσης από δύο άλλες αμερικανικές αναδρομικές μελέτες. Οι Tsai *et al* σε μια μελέτη 132 ασθενών δεν κατέδειξαν όφελος από τη τοσιλιζουμάμπη στη μείωση της θνητότητας¹⁴³. Οι Rojas-Martel *et al* σε έναν πληθυσμό μελέτης 193 ασθενών με σοβαρή νόσο COVID-19 περιέγραψαν υψηλότερα ποσοστά βακτηριαιμίας και μη στατιστικά σημαντική χαμηλότερη θνητότητα στο σκέλος της τοσιλιζουμάμπης¹⁴⁴. Ωστόσο, ο αποκλεισμός των διασωληνωμένων ασθενών κατέστησε αυτή τη διαφορά στη θνητότητα σημαντική, ένα αποτέλεσμα που θα

πρέπει να ερμηνεύεται με προσοχή λαμβάνοντας υπόψη ότι οι ομάδες δεν ήταν συγκρίσιμες¹⁴⁴.

Μία από τις πρώτες προοπτικές, αν και με ένα σκέλος, μελέτες που δημοσιεύθηκαν περιελάμβανε 63 ασθενείς από τέσσερα νοσοκομεία της Ιταλίας με αποκορεσμό σε συνθήκες ατμοσφαιρικού οξυγονου¹⁴⁵. Μέσα σε 14 ημέρες ακολούθως της χορήγησης της τοσιλιζουμάμπης σημειώθηκε βελτίωση στα επίπεδα της φερριτίνης, της CRP και των D-Dimer καθώς επίσης και στην αναπνευστική παράμετρο του λόγου PaO₂/FiO₂, η αναφερόμενη συνολική θνητότητα ήταν 11% ανεξάρτητα από την οδό της χορήγησης, ενώ η πρώιμη χορήγηση τοσιλιζουμάμπης εντός 6 ημερών από την εισαγωγή συσχετίστηκε με διπλάσια αυξημένη πιθανότητα επιβίωσης¹⁴⁵. Ακολούθησε μια άλλη μικρή μελέτη παρατήρησης ασθενών-μαρτύρων 44 περιπτώσεων που έδειξε αναπνευστική βελτίωση την ημέρα 14 στην ομάδα της τοσιλιζουμάμπης¹⁴⁶. Οι Perrone *et al* στην TOCIVID-19, μια προοπτική πολυκεντρική μελέτη ενός σκέλους που περιλαμβάνει μια κύρια πρόθεση-για-θεραπεία (Intention-To-Treat, ITT) φάσης 2 κούρτη 301 ασθενών και μια δευτερεύουσα ITT κούρτη επικύρωσης 920 ασθενών παρατήρησαν ένα διαρκώς μειούμενο ποσοστό θνητότητας στις 30 ημέρες και στις δύο κούρτες¹⁴⁷. Το ποσοστό θνητότητας απέρριψε δε την προκαθορισμένη μηδενική υπόθεση του αναμενόμενου ποσοστού θνητότητας 35% όπως αυτό προερχόταν από δεδομένα του Ιταλικού Εθνικού Ινστιτούτου Υγείας¹⁴⁷. Η TOCICOVID, μια μονοκεντρική κούρτη 96 ασθενών με σοβαρή ταχέως επιδεινούμενη COVID-19 πνευμονία εκ των οποίων οι ασθενείς που έλαβαν τοσιλιζουμάμπη επιστρατεύτηκαν προοπτικά, ενώ η ομάδα ελέγχου επιλέχθηκε αναδρομικά, σε μια ανάλυση στάθμισης θεραπείας αντίστροφης πιθανότητας (Inverse Probability Treatment Weighting, IPTW) έδειξε ότι οι ασθενείς που έλαβαν τοσιλιζουμάμπη είχαν σημαντικά μειωμένη ανάγκη για συνολική αναπνευστική υποστήριξη, υψηλότερο ποσοστό απογαλακτισμού από το οξυγόνο την ημέρα 28, νωρίτερο απογαλακτισμό από τη συμπληρωματική οξυγονοθεραπεία, υψηλότερο ποσοστό εξιτηρίου από το νοσοκομείο, ωστόσο καμία βελτίωση της συνολικής επιβίωσης¹⁴⁸. Η EMPACTA, μια τυχαιοποιημένη, διπλή-τυφλή διεθνής μελέτη μέσω 377 περιπτώσεων πρώιμου έως μέτριου σταδίου νόσου υποστήριξε περαιτέρω αυτή την άποψη,

με τη θεραπεία με τοσιλιζουμάμπη να μειώνει το σύνθετο αποτέλεσμα μηχανικού αερισμού ή θανάτου έως την ημέρα 28, αν και όχι τη συνολική θνητότητα¹⁴⁹.

Παρ' όλα αυτά, άλλες προοπτικές μελέτες που δημοσιεύθηκαν στις περιλαμβάνοντας ασθενείς στη γενική πτέρυγα νοσηλείας αμφισβήτησαν τα οφέλη της τοσιλιζουμάμπης. Η μελέτη RCT-TCZ-COVID-19, μια ιταλική προοπτική τυχαιοποιημένη ανοιχτή πολυκεντρική μελέτη με 126 ασθενείς ηπίας νόσου, διακόπηκε πρόωρα μετά από μια ενδιάμεση ανάλυση για τη ματαιότητα της συνέχισης, καθώς δεν βρέθηκε ανιχνεύσιμη σημαντική διαφορά σχετικά με το σύνθετο αποτέλεσμα της διασωλήνωσης, συνολικής θνητότητας ή αναπνευστικής έκπτωσης και με καθένα από τα επιμέρους συστατικά του στις 14 και 30 ημέρες μετά την τυχαιοποίηση μεταξύ των δύο ομάδων¹⁵⁰. Οι Wang *et al* σε μια τυχαιοποιημένη ανοιχτή μελέτη 65 ασθενών επίσης απέτυχαν να αποκαλύψουν μια στατιστικά σημαντική διαφορά στο ποσοστό ίασης των ασθενών που έλαβαν τοσιλιζουμάμπη που ορίστηκε ως το σύνθετο εξασθένησης του πυρετού για 1 εβδομάδα, δις αρνητικής μοριακής ανίχνευσης του ιού και βελτίωσης της αξονικής τομογραφίας¹⁵¹. Στη συνέχεια, η CORIMUNO-TOCI 1, μια τυχαιοποιημένη, ανοιχτή πολυκεντρική μελέτη 130 ασθενών περιέγραψε απουσία διαφοράς στη θνητότητα διαστήματος 28 ημερών ή μείωσης της βαθμολογίας ταξικής κλίμακας κατά ΠΟΥ κάτω του 5 την ημέρα 4¹⁵². Ομοίως, οι Stone *et al* στην τυχαιοποιημένη, διπλή τυφλή, πολυκεντρική μελέτη BACC BAY 243 ασθενών δεν κατάφεραν να μειώσουν τη διασωλήνωση ή το ποσοστό θνητότητας εντός 28 ημερών στο σκέλος της τοσιλιζουμάμπης¹⁵³. Επιπροσθέτως, η TOCIBRAS πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη, ανοιχτή μελέτη με 130 ασθενείς σοβαρής έως κρίσιμης κατάστασης κατέγραψε μια στατιστικά ασήμαντη επιβλαβή συσχέτιση μεταξύ της χορήγησης τοσιλιζουμάμπης και του σύνθετου καταληκτικού σημείου θανάτου ή μηχανικού αερισμού την ημέρα 15, καθώς και θανάτου την ημέρα 15 και ημέρα 28 και ενδονοσοκομειακής θνητότητας¹⁵⁴. Η COVINTOC τυχαιοποιημένη, ανοιχτή πολυκεντρική μελέτη μέσω ενός πληθυσμού μελέτης 130 περιπτώσεων μέτριου έως σοβαρού σταδίου ανέφερε αναποτελεσματικότητα της τοσιλιζουμάμπης ως προς την παρεμπόδιση της

εξέλιξης της COVID-19 νόσου έως την ημέρα 14 και 28, μείωση της ανάγκης για μηχανικό αερισμό και αύξηση των ημερών εκτός αναπνευστήρα, μείωση των ημερών εκτός οργανικής ανεπάρκειας, μείωση της επίπτωσης εισαγωγών στη ΜΕΘ, διάρκειας παραμονής στη ΜΕΘ, θνητότητας ή αύξησης των ημερών ελεύθερων συμπληρωματικής οξυγονοθεραπείας¹⁵⁵. Η τυχαιοποιημένη, διπλή-τυφλή πολυκεντρική μελέτη COVACTA με 438 βαρέως πάσχοντες ασθενείς δεν απέδειξε μία σημαντικά καλύτερη κλινική κατάσταση ή καλύτερη επιβίωση στις 28 ημέρες με τη χρήση της τοσιλιζουμάμπης¹⁵⁶. Τέλος, στην τυχαιοποιημένη, διπλή-τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, πολυκεντρική μελέτη REMDACTA με 649 βαρέως πάσχοντες ασθενείς, η προσθήκη τοσιλιζουμάμπης στη θεραπεία με ρεμδεσιβίρη δεν προσέφερε πλεονέκτημα όσον αφορά τη μείωση της νοσηλείας εντός 28 ημερών¹⁵⁷.

4.3. Πληθυσμός μελέτης περιλαμβανομένων ασθενών της ΜΕΘ

Υποστηρικτικά δεδομένα υπέρ της τοσιλιζουμάμπης σε ασθενείς ΜΕΘ προήλθαν από μια προοπτική μονοκεντρική μελέτη ενός σκέλους που διεξήχθη από τους Toniatì *et al* στην Ιταλία, στην οποία εντός 10 ημερών μετά από τη χορήγηση της τοσιλιζουμάμπης από έναν πληθυσμό μελέτης 100 ασθενών με ARDS που απαιτούσε μη επεμβατικό ή μηχανικό αερισμό, η αναπνευστική κατάσταση βελτιώθηκε ή σταθεροποιήθηκε σε 77 ασθενείς, με τους 61 να εμφανίζουν ακτινολογική λύση των διηθημάτων στην ακτινογραφία θώρακος και 15 να εξέρχονται από το νοσοκομείο, ενώ μόνο 2 θανατηφόρα λοιμώδη ανεπιθύμητα συμβάματα καταγράφηκαν¹⁵⁸. Ανάλογα ευρήματα αναπνευστικής βελτίωσης ή χαμηλότερου ποσοστού θνητότητας σε άλλες αναδρομικές μελέτες υποστήριξαν τη χρήση της τοσιλιζουμάμπης στη ΜΕΘ, μεταξύ των οποίων μια μη ελεγχόμενη μελέτη 25 ασθενών ΜΕΘ στην οποία ο αριθμός των ασθενών σε επεμβατικό αερισμό μειώθηκε από 21 κατά την έναρξη της τοσιλιζουμάμπης έως 7 την 14η ημέρα και 9 ασθενείς εξήλθαν από τη ΜΕΘ, ανεξάρτητα από το αν ήταν σε επεμβατικό αερισμό ή όχι. Ακόμη περισσότερο, από τις ανεπιθύμητες ενέργειες που αναφέρθηκαν μόνο μία ήταν λοιμώδους αρχής¹⁵⁹. Οι Guaraldi *et al* στη μελέτη TESEO, μια αναδρομική, πολυκεντρική μελέτη στην Ιταλία που περιελάμβανε 544 ασθενείς με σοβαρή COVID-19 νόσο, 99 από τους οποίους έχρηζαν μηχανικό αερισμό, έδειξε μειωμένο αθροιστικό ποσοστό ασθενών που έλαβαν επεμβατικό μηχανικό αερισμό ή πέθαναν στις 14 μέρες στο σκέλος της τοσιλιζουμάμπης ανεξάρτητα από την οδό χορήγησης, με τίμημα τις αυξημένες νέες λοιμώξεις¹⁶⁰. Δύο άλλες αναδρομικές, πολυκεντρικές μελέτες ασθενών-μαρτύρων στις ΗΠΑ, η καθεμία εκ 547 και 630 ασθενών ΜΕΘ αποκάλυψε μία μειωμένη συσχέτιση θνητότητας με την τοσιλιζουμάμπη, ωστόσο μία από αυτές δεν αποδείχθηκε στατιστικά σημαντική από άποψη αποσωλήνωσης, ανάγκης για αγγειοσυσπαστικά ή την εξιτηρίου^{161,162}. Παρόμοια ευρήματα με μείωση της θνητότητας στον πληθυσμό της ΜΕΘ αναφέρθηκαν και σε άλλες αναδρομικές μελέτες^{163,164}. Αντιστρόφως, μια μικρότερη αναδρομική μελέτη κοόρτης 87 ασθενών απέτυχε να δείξει στατιστικά σημαντική μείωση της θνητότητας με την τοσιλιζουμάμπη, αλλά έδειξε νωρίτερο απογαλακτισμό από τον μηχανικό αερισμό και πρόωμη έξοδο από το

νοσοκομείο και τη ΜΕΘ¹⁶⁵, ενώ μια άλλη μικρή αναδρομική κοόρτη 85 μη διασωληνωμένων ασθενών ΜΕΘ έδειξε τόσο χαμηλότερα ποσοστά θνητότητας όσο και ανάγκης για κλιμάκωση σε επεμβατικό ή μη επεμβατικό αερισμό¹⁶⁶. Τέλος, μια μεγάλη αναδρομική, πολυκεντρική μελέτη στις ΗΠΑ, η STOP-COVID, περιλαμβάνοντας 3924 ασθενείς σε ΜΕΘ με σοβαρό COVID-19, έως και 60% εκ των οποίων υπό μηχανικό αερισμό, ανέφερε ότι η τοσιλιζουμάμπη που χορηγήθηκε εντός των πρώτων 2 ημερών από την εισαγωγή στη ΜΕΘ συσχετίστηκε με χαμηλότερο κίνδυνο θανάτου (Hazard ratio 0,71) με μία διάμεση παρακολούθηση 27 ημερών, με την ευεργετική επίδραση να εκτιμάται ότι είναι ιδιαίτερα έντονη στην υποομάδα που εισήχθη στη ΜΕΘ εντός 3 ημερών από την έναρξη των συμπτωμάτων, αντικατοπτρίζοντας μία μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα της τοσιλιζουμάμπης σε άτομα με δραματική μείωση της αναπνευστικής λειτουργίας¹⁶⁷. Επιπλέον, το ποσοστό των δευτερογενών λοιμώξεων ήταν παρόμοιο και στις δύο ομάδες¹⁶⁷.

Οι Moiseev *et al* σε μια αναδρομική πολυκεντρική μελέτη 328 ασθενών δεν απέδειξαν χαμηλότερη θνητότητα ούτε κατά την πρώιμη χορήγηση tocilizumab σε μη διασωληνωμένους ασθενείς ΜΕΘ ούτε κατά την καθυστερημένη έγχυση μετά την έναρξη του μηχανικού αερισμού¹⁶⁸. Οι Fisher *et al* επίσης δε συσχέτισαν τη θεραπεία με τοσιλιζουμάμπη με χαμηλότερο κίνδυνο θανάτου εντός 30 ημερών από τη διασωλήνωση ή διαφορά στο ποσοστό των ασθενών που αποσωληνώθηκαν στις 14 ημέρες σε έναν πληθυσμό μελέτης 110 διασωληνωμένων ασθενών¹⁶⁹. Επιπροσθέτως, μια τρίτη αναδρομική, ασθενών-μαρτύρων, μονοκεντρική μελέτη με 111 ασθενείς χωρισμένους σε τρεις ομάδες, η πρώτη με 27 σοβαρές COVID-19 περιπτώσεις στη ΜΕΘ που έλαβαν τοσιλιζουμάμπη, η δεύτερη με 15 σοβαρές COVID-19 περιπτώσεις στην παθολογική πτέρυγα που έλαβαν τοσιλιζουμάμπη και η τρίτη με 69 ήπιας βαρύτητας ασθενείς στην παθολογική πτέρυγα που κατανεμήθηκε στην καθιερωμένη ιατρική περίθαλψη (standard of care), έδειξε μία γενικά δυσμενή έκβαση στους ασθενείς της ΜΕΘ που έλαβαν τοσιλιζουμάμπη σε σύγκριση με των άλλων δύο, με υψηλότερη θνητότητα και ποσοστό βακτηριακής επιλοίμωξης, ενώ κανένας της ομάδας καθιερωμένης ιατρικής περίθαλψης δεν πέθανε ή υπέφερε από επιλοίμωξη, συμπεραίνοντας ότι η

τοσιλιζουμάμπη θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη σε ασθενείς εκτός επεμβατικού αερισμού με χαρακτηριστικά καταιγίδας κυτταροκινών εκτός του πλαισίου της ΜΕΘ¹⁷⁰. Αξίζει να σημειωθεί βέβαια ότι οι ομάδες δεν ήταν συγκρίσιμες όσον αφορά τη βαρύτητα και τη φλεγμονώδη κατάσταση, καθώς και οι δύο ομάδες τοσιλιζουμάμπης είχαν υψηλότερους δείκτες φλεγμονής αναφοράς σε σύγκριση με την τρίτη ομάδα, αντανακλώντας υψηλότερη πιθανότητα για επιπτώσεις και κινδύνους μιας καταιγίδας κυτταροκινών και όσον αφορά τους ανεξάρτητους παράγοντες προδιάθεσης για επιλοίμωξη, δεδομένου ότι η πλειονότητα των βακτηριακών επιλοίμωξεων ήταν περιορισμένες στη ΜΕΘ χωρίς κανέναν από τους ασθενείς της τρίτης ομάδας να εκτίθεται σε αυτό.

Όσον αφορά τις προοπτικές μελέτες ασθενών-μαρτύρων που αποκάλυψαν όφελος από τη χορήγηση της τοσιλιζουμάμπης στο πλαίσιο της ΜΕΘ, οι Somers *et al* σε μια μονοκεντρική μελέτη παρατήρησης 154 διασωληνωμένων ασθενών μεταξύ των πρώτων υπέδειξαν ότι η τοσιλιζουμάμπη χορηγούμενη στην πλειονότητα (74%) εντός 24 ωρών από τη διασωλήνωση συσχετίστηκε με χαμηλότερη θνητότητα στις 28 ημέρες και μέχρι το τέλος της παρακολούθησης (28-67 ημέρες)¹⁷¹. Αν και η χορήγησή της συνδέθηκε με υψηλότερο ποσοστό ευκαιριακής λοίμωξης, δεν σημειώθηκε διαφορά στο ποσοστό θνητότητας 28 ημερών μεταξύ εκείνων που έλαβαν τοσιλιζουμάμπη και εμφάνισαν λοίμωξη και εκείνων που δεν εμφάνισαν λοίμωξη¹⁷¹. Επίσης, δεν αναδείχθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά σχετικά με τη διάρκεια του μηχανικού αερισμού¹⁷¹. Η μεγαλύτερη πολυκεντρική διεθνής μελέτη ασθενών μόνο ΜΕΘ, η REMAP-CAP, περιλάμβανε 865 ασθενείς που έχρηζαν είτε καρδιαγγειακής υποστήριξης με αγγειοσυσπαστικά είτε αναπνευστικής υποστήριξης με επεμβατικό ή μη επεμβατικό αερισμό, με σχεδόν το 30% από αυτούς υπό επεμβατικό μηχανικό αερισμό και 20% υπό αγγειοσυσπαστικά κατά την τυχαιοποίησή τους¹⁷². Περιέγραψε έναν διάμεσο αριθμό 10 ημερών εκτός αναπνευστικής-καρδιαγγειακής υποστήριξης στο σκέλος της τοσιλιζουμάμπης σε σύγκριση με 0 στην ομάδα ελέγχου έως την ημέρα 21, με μια μέση προσαρμοσμένη αθροιστική αναλογία πιθανοτήτων (odds ratio) 1,64, αποδίδοντας δεσμευμένη πιθανότητα υπεροχής έναντι του

ελέγχου άνω του 99,9%¹⁷². Επιπλέον, η αποτελεσματικότητα της τοσιλιζουμάμπης αποδείχθηκε στατιστικά σημαντική στη μείωση της ενδονοσοκομειακής θνητότητας, στη βελτίωση της επιβίωσης 90 ημερών, στον περιορισμό του χρόνου παραμονής στη ΜΕΘ και έξοδο από το νοσοκομείο, στη βελτίωση της ταξικής κλίμακας του ΠΟΥ την ημέρα 14 και στον μετριασμό της συνολικής προόδευσης σε επεμβατικό μηχανικό αερισμό, ECMO ή θάνατο σε αυτούς που δεν ήταν διασωληνωμένοι κατά την τυχαιοποίηση, ενώ οι σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες που αναφέρθηκαν ήταν σημαντικά λιγότερες από της ομάδας ελέγχου¹⁷².

Η μεγαλύτερη, προοπτική, τυχαιοποιημένη, ανοιχτή πολυκεντρική μελέτη, η RECOVERY, περιλάμβανε έναν πληθυσμό μελέτης 4116 ασθενών στο Ηνωμένο Βασίλειο, 14% εκ των οποίων υπό επεμβατικό μηχανικό αερισμό κατά τη δεύτερη τυχαιοποίηση¹⁷³. Η ITT ανάλυση απέδειξε στατιστική σημαντικότητα στη μείωση της θνητότητας 28 ημερών, παρουσιάζοντας ένα ποσοστό θανάτου 31% στο σκέλος της τοσιλιζουμάμπης έναντι του 35% στο σκέλος ελέγχου, ενώ ανάλογα αποτελέσματα επαληθεύτηκαν στην προκαθορισμένη υποομάδα σύγχρονης χρήσης κορτικοστεροειδών κατά τη στιγμή της τυχαιοποίησης¹⁷³. Ακόμη περισσότερο, η τοσιλιζουμάμπη συσχετίστηκε με σημαντικά πρωιμότερη έξοδο από το νοσοκομείο (57% έναντι 50%), καθώς και χαμηλότερη πιθανότητα οι ασθενείς με μη μηχανικό αερισμό κατά την τυχαιοποίηση να προχωρήσουν στο σύνθετο καταληκτικό σημείο επεμβατικού μηχανικού αερισμού ή θανάτου (35% έναντι 42%)¹⁷³.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ:

Η άνοδος της προσωποποιημένης ανοσοθεραπείας στη νόσο COVID-19· η συνεισφορά της μελέτης ESCAPE

1. Εισαγωγή

Η ανοσοπαράλυση είναι ένας όρος που χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τους Volk *et al* προκειμένου να περιγράψει μια παρεμποδισμένη μονοκυτταρική ικανότητα έκκρισης TNF και μονοκυτταρικής έκφρασης HLA-DR αντιγόνου σε μια ομάδα σηπτικών ασθενών, μια κατάσταση που απηχεί μια γενικευμένη *in vivo* απενεργοποίηση της κυτταρο-μεσολαβούμενης έμφυτης ανοσίας και συσχετίζεται με υψηλό κίνδυνο θανατηφόρου έκβασης λόγω ευκαιριακών λοιμώξεων που οδηγούν σε πολυοργανική ανεπάρκεια¹⁷⁴. Επιπλέον, αποτέλεσε τη βάση για την πρώτη μελέτη στρατηγικής θεραπευτικής παρέμβασης στη σήψη χρησιμοποιώντας παραμέτρους ανοσολογικής παρακολούθησης ως κατευθυντήρια γραμμή για θεραπεία¹⁷⁵. Η HLA-DR καταστολή και η ανοσοπαράλυση έχουν έκτοτε καταδειχθεί σε αρκετές περιπτώσεις, συσχετιζόμενες με σοβαρότητα της νόσου και θνητότητα^{176,177,178,179}.

Αντίθετα, το σύνδρομο που ομοιάζει με εκείνο της ενεργοποίησης μακροφάγων (macrophage activation-like syndrome, MALS) είναι ένας όρος που χρησιμοποιήθηκε από τους Kyriazopoulou *et al* για να περιγράψει χαρακτηριστικά μιας ανοσολογικής υπερ-ενεργοποίησης ιστικών μακροφάγων και ιστιοκυττάρων που παρατηρείται στην αιμοφαγοκυτταρική λεμφοϊστιοκυττάρωση δευτεροπαθώς σε σοβαρή λοίμωξη, χωρίς ωστόσο να αποδεικνύεται η παρουσία αιματοκυττάρωσης μυελού των οστών, μία πρακτική δύσκολη να διενεργηθεί σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς¹⁸⁰. Επίπεδα φερριτίνης στον ορό που υπερβαίνουν τα 4420 ng/ml καταδείχθηκε ότι έχουν ειδικότητα μεγαλύτερη από 97% για υποκείμενο MALS, καθώς επίσης και ότι συσχετίζονται με υψηλότερα επίπεδα IL-6, IL-18, IFN- γ και διαλυτού CD163 και χαμηλότερο λόγο IL-10/TNF- α ορού, υποστηρίζοντας περαιτέρω μια θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων φερριτίνης και μιας προφλεγμονώδους

κατάστασης¹⁸⁰. Σε συμφωνία με αυτά τα ευρήματα, σε μια πρωιμότερη τυχαίοποιημένη φάσης III μελέτη που διερευνούσε την αποτελεσματικότητα του ανακίνρα σε σοβαρή σήψη¹⁸¹, μια υποανάλυση σε μια υποομάδα ασθενών με σύνδρομο ενεργοποίησης μακροφάγων (macrophage activation syndrome, MAS) που ορίστηκε ως διάχυτη ενδαγγειακή πήξη μαζί με ηπατοχολική δυσλειτουργία υπέδειξε όφελος επιβίωσης από τη θεραπεία με ανακίνρα¹⁸². Ως εκ τούτου, η φερριτίνη ορού θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως παράμετρος ανοσολογικής παρακολούθησης για την καθοδήγηση εξατομικευμένης ανοσοθεραπείας στη σήψη¹⁸⁰.

Βασιζόμενοι σε εκείνα τα ευρήματα, οι Giamarellos-Bourboulis *et al* πρότειναν τρεις ανοσοφαινότυπους σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς με σήψη: το MALS, την ανοσοπαράλυση και μια ενδιάμεση λειτουργική κατάσταση¹⁸³. Ωστόσο, στη μελέτη 54 ασθενών με COVID-19, εκ των οποίων 28 με σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια, παρατήρησαν ότι σχεδόν το ένα τέταρτο των ασθενών με σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια είχαν MALS, κανείς δεν παρουσίασε την ενδιάμεση ανοσολογική κατάσταση, ενώ η πλειονότητα έπασχε από άλλο ανοσοφαινότυπο διαφορετικό από την ανοσοπαράλυση που παρατηρείται στη βακτηριακή σήψη ή τη γρίπη, στην οποία εκτός από το μειωμένο μονοκυτταρικό HLA-DR και αναμενόμενα χαμηλό σκόρ αιμοφαγοκυττάρωσης, περιφερικά μονοπύρηννα αίματος (peripheral blood mononuclear cells, PBMCs) έδειξαν διατηρημένη παραγωγή διεγερμένου από λιποπολυσακχαρίτες TNF-α μαζί με παραγωγή IL-6, αντίθετα με την απόκριση που αναμένονταν σε ανοσοπαράλυση. Ανοσιακή δυσρύθμιση είναι ο όρος που υιοθετήθηκε από τους ερευνητές για να περιγράψει αυτή τη νέα οντότητα σε σοβαρά πάσχοντες ασθενείς με COVID-19, οδηγώντας στην υπόθεση ότι υπάρχει μια μοναδική ελαττωματική αντιγονοπαρουσίαση σε συνδυασμό με την SARS CoV-2 παρατηρούμενη λεμφοπενία που έχει ως αποτέλεσμα διαταραγμένη λειτουργία των λεμφικών κυττάρων, ενώ τα μονοκύτταρα παραμένουν ικανά για την παραγωγή TNF-α και IL-6¹⁸³. Η προσθήκη τοσιλιζουμάμπης εν μέρει αποκατέστησε τη μονοκυτταρική HLA-DR έκφραση σε όλους τους ασθενείς με ανοσιακή δυσρύθμιση, μαζί με αύξηση του απόλυτου αριθμού λεμφοκυττάρων τις πρώτες 24 ώρες σε έξι από αυτούς¹⁸³.

Δεδομένων αυτών των αποτελεσμάτων, η αναγκαιότητα αναγνώρισης διαφορετικών ανοσοφαινοτύπων στη σοβαρή COVID-19 πνευμονία που θα πρέπει εξιδανικευμένα να αντιμετωπίζονται νωρίς στην πορεία της νόσου, προ περαιτέρω επιδείνωσης, αποτέλεσε τον στόχο της μελέτης ESCAPE.

2. Ασθενείς και Μέθοδοι

Η ESCAPE ήταν μια προοπτική ανοιχτή φάσης II κλινική μελέτη που έλαβε χώρα σε 4 γενικές πτέρυγες νοσηλείας και 7 ΜΕΘ τριτοβάθμιων νοσοκομείων στην Ελλάδα κατά την περίοδο Απριλίου του 2020 έως Νοεμβρίου του 2020, σχεδιασμένη να εξετάσει το δυναμικό εξατομικευμένης ανοσοθεραπείας στην κλινική βελτίωση της κρίσιμης COVID-19 λοίμωξης.

Τα κριτήρια ένταξης περιλάμβαναν ενήλικες ασθενείς και των δύο φύλων που παρέχουν γραπτή ενημερωμένη συγκατάθεση είτε οι ίδιοι είτε μέσω των νόμιμων εκπροσώπων τους και να παρουσιάζουν ARDS με εργαστηριακά ευρήματα συνδρόμου που ομοιάζει με εκείνο της ενεργοποίησης μακροφάγων (macrophage activation-like syndrome, MALS) ή ανοσιακής δυσρύθμισης (complex immune dysregulation, CID). Επίπεδα φερριτίνης ορού $>4420\text{ng/ml}$ όριζαν το MALS, ενώ ο ορισμός της CID απαιτούσε τόσο επίπεδα φερριτίνης ορού $\leq 4420\text{ng/ml}$ όσο και <5000 μεμβρανικούς HLA-DR υποδοχείς ή 30 μονάδες μέσης έντασης φθορισμού HLA-DR σε CD14+ μονοκύτταρα αίματος όπως προσδιορίζονται με κυτταρομετρία ροής. Τα κριτήρια αποκλεισμού περιλάμβαναν κακοήθεια σταδίου IV, απόφαση μη αναζωογόνησης, ενεργό φυματίωση, μόλυνση από τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας, πρωτοπαθείς ανοσοανεπάρκειες, λήψη κορτικοστεροειδών >15 ημέρες, βιολογικές θεραπείες κατά των κυτταροκινών κατά τον τελευταίο μήνα, ιστορικό συστηματικού ερυθματώδους λύκου ή απομυελινωτικής διαταραχής και εγκυμοσύνη ή γαλουχία.

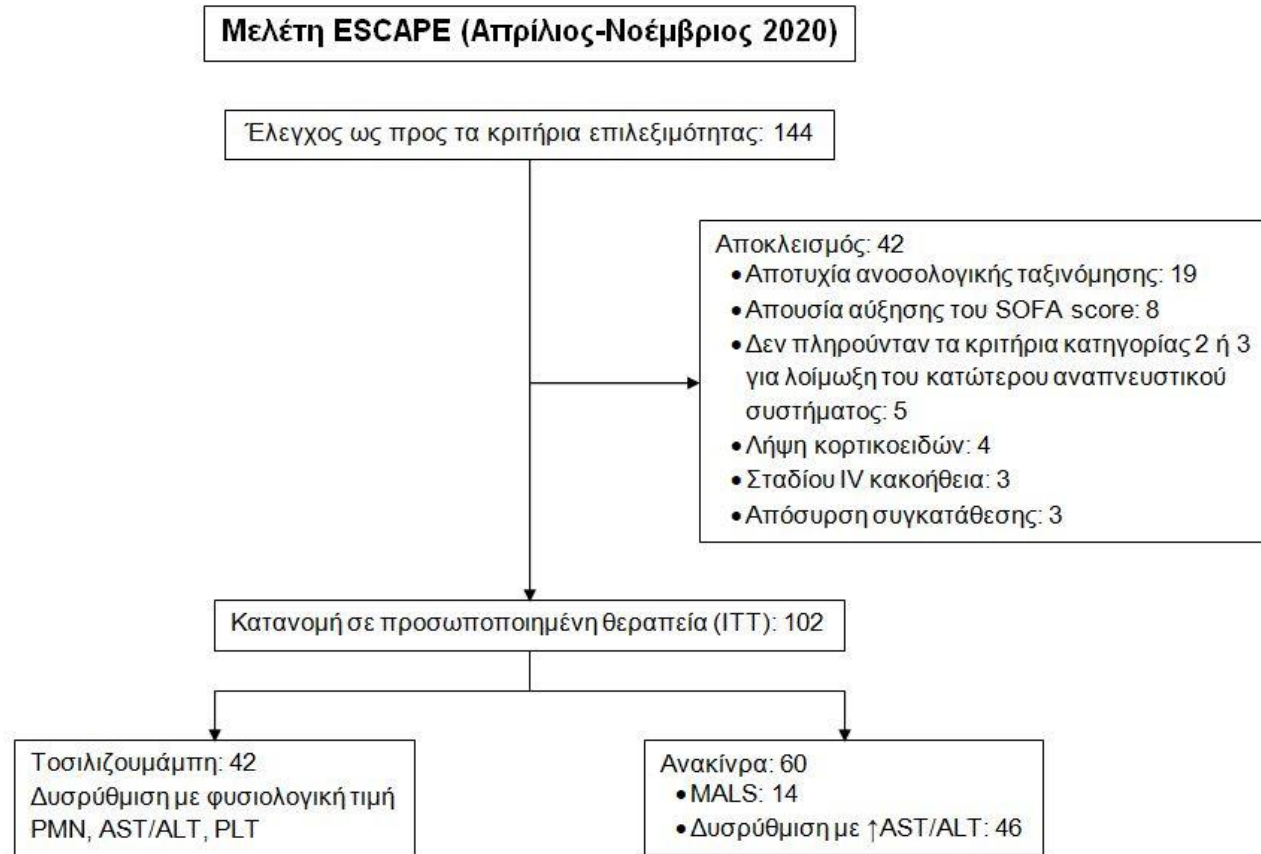
Οι ασθενείς που πληρούσαν τα κριτήρια για MALS κατανεμήθηκαν στο σκέλος ανακίνρα, ενώ εκείνοι που εισήχθησαν σύμφωνα με τα κριτήρια CID κατανεμήθηκαν στο σκέλος τοσιλιζουμάμπης εκτός από μια υποομάδα ασθενών με συγχρόνως αριθμό ουδετερόφιλων $<2.500/\text{mm}^3$ ή αριθμό αιμοπεταλίων $<100.000/\text{mm}^3$ ή τιμή αμινοτρανσφερασών ορού $>1,5$ φορές της ανώτερης φυσιολογικής τιμής στους οποίους η τοσιλιζουμάμπη αντενδείκνυται και παρόλο που το ανακίνρα δεν θεωρούνταν το καλύτερο κατάλληλο υποψήφιο φάρμακο, η ανάγκη για κάποια άλλη βιολογική θεραπεία και τα μέτρια χαρακτηριστικά ενεργοποίησης μακροφάγων που υπάρχουν στην CID,

καθοδήγησαν την απόφαση για θεραπεία με ανακίνρα. Και τα δύο φάρμακα χορηγήθηκαν ενδοφλεβίως: η τοσιλιζουμάμπη ως εφάπαξ δόση 8mg/kg έως και 800mg μέγιστη δόση και το ανακίνρα 200mg (προσαρμοσμένη στα 100mg εάν η κάθαρση κρεατινίνης <30ml/min) κάθε 8 ώρες για 7 ημέρες. Η ανοσοθεραπεία ξεκίνησε το συντομότερο δυνατό μετά την γνωστοποίηση των αποτελεσμάτων των ανοσοπαραμέτρων στους ερευνητές της μελέτης. Η ανοσοθεραπεία ήταν συμπληρωματική στη καθιερωμένη ιατρική περίθαλψη όπως αποφασίστηκε από τους θεράποντες ιατρούς.

Σε αυτή τη μελέτη το πρωτεύον καταληκτικό σημείο ορίστηκε ως μια μείωση $\geq 25\%$ της αρχικής βαθμολογίας SOFA ή/και $\geq 50\%$ αύξηση του αρχικού $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ λόγου την ημέρα 8. Τα δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία της μελέτης ήταν η θνητότητα 28 ημερών, η αλλαγή της βαθμολογίας SOFA κατά την ημέρα 28 και αλλαγές των βιοδεικτών ορού και παραγωγής κυτταροκινών από PBMCs. Τα διερευνητικά καταληκτικά σημεία ήταν η κλίμακα κλινικής προόδου του ΠΟΥ και η διάρκεια της παραμονής στο νοσοκομείο.

Ως ομάδα σύγκρισης που δεν έλαβε καμία ανοσοθεραπεία, από μια βάση δεδομένων 136 ασθενών με ARDS που εισήχθησαν σε 3 άλλες ΜΕΘ ελληνικών τριτοβάθμιων νοσοκομείων κατά την ίδια χρονική περίοδο, επέλεξαν 84 ασθενείς που πληρούσαν τα ίδια κριτήρια της μελέτης ESCAPE, εκτός από τα εργαστηριακά κριτήρια για CID λόγω μη διαθεσιμότητας.

3. Αποτελέσματα



Εικόνα 1. Διάγραμμα ροής μελέτης ασθενών. ALT: αλανινική αμινοτρανσφεράση, AST: ασπαρτική αμινοτρανσφεράση, ITT: πρόθεση-για-θεραπεία. MALS: σύνδρομο που ομοιάζει με την ενεργοποίηση μακροφάγων. PLT: απόλυτος αριθμός αιμοπεταλίων. PMN: απόλυτος αριθμός ουδετερόφιλων.

Πίνακας 1. Βασικά χαρακτηριστικά των ασθενών κατά την εισαγωγή στην μελέτη ESCAPE

	Ανακίρα (N=60)	Τοσιλιζουμάμπη (N=42)	p value
Ηλικία			
Μέση (SD), έτη	61,6 (16,4)	66,3 (10,8)	0,13
>65 ετών, n (%)	28 (46,7)	25 (59,5)	0,28
≤65 ετών, n (%)	32 (53,3)	17 (40,5)	
Φύλο, n (%)			
Θήλυ	15 (25,0)	8 (19,0)	0,63
Άρρεν	45 (75,0)	34 (81,0)	
Φυλή (λευκή), n (%)	60 (100)	42 (100)	1,00
Επεμβατικός μηχανικός αερισμός, n (%)	39 (65,0)	32 (76,2)	0,28
Βαθμολογίες σοβαρότητας, μέσες (SD)			
CCI	2,63 (2,38)	2,72 (1,48)	0,83
PSI	82,4 (32,9)	89,1 (29,6)	0,31
APACHE II	10,3 (7,9)	11,3 (11,3)	0,61
SOFA	4,42 (2,31)	4,74 (2,06)	0,48
Συννοσηρότητες, n (%)			
Τύπου 2 σακχαρώδης διαβήτης	9 (15,0)	10 (23,8)	0,31
Χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια	3 (5,0)	1 (2,4)	0,64
Χρόνια νεφρική νόσος	3 (5,0)	1 (2,4)	0,64
Στεφανιαία νόσος	8 (13,3)	7 (16,7)	0,78
Αρτηριακή υπέρταση	12 (20,0)	20 (47,6)	0,005
Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο	2 (3,3)	0 (0,0)	0,51
Χρόνια Αναπνευστική Πνευμονοπάθεια	3 (5,0)	1 (2,4)	0,64
Κολπική μαρμαρυγή	5 (8,3)	1 (2,4)	0,40
Δυσλιπιδαιμία	12 (20,0)	14 (33,3)	0,17
Υποθυρεοειδισμός	5 (8,3)	2 (4,8)	0,70
Εργαστηριακές τιμές, μέσες (SD)			
Απόλυτος αριθμός ουδετεροφίλων, /mm ³	7.284,6 (4.605,1)	9.392,0 (5.501,3)	0,06
Απόλυτος αριθμός λεμφοκυττάρων, /mm ³	879,5 (624,8)	835,0 (693,4)	0,78
Αριθμός αιμοπεταλίων, x10 ³ /mm ³	238,6 (107,8)	281,9 (96,1)	0,06
AST, U/L	61,5 (39,7)	36,4 (15,9)	<0,0001
ALT, U/L	65,7 (48,6)	31,9 (13,9)	<0,0001
Κρεατινίνη ορού, mg/dl	1,03 (0,51)	0,87 (0,25)	0,13
Θεραπεία, n (%)			
Αναστολέας β-λακταμάσης	13 (21,7)	4 (9,5)	0,18
Πιπερακιλλίνη/ταζοβακτάμη	24 (40,0)	17 (40,5)	1,00
3 ^{ης} γενιάς κεφαλοσπορίνη	21 (35,0)	10 (23,8)	0,28
Κεφταρολίνη	16 (26,7)	15 (35,7)	0,38
Κεφαζιδίμη/αβιβακτάμη	5 (8,3)	8 (19,1)	0,14
Κολιστίνη	25 (41,7)	23 (54,8)	0,23
Μεροπενέμη	22 (36,7)	22 (52,4)	0,16
Γλυκοπεπτιδίο	11 (18,3)	17 (40,5)	0,02
Λινεζολίδη	26 (43,3)	24 (57,1)	0,23
Τιγκεκυκλίνη	14 (23,3)	17 (40,5)	0,08
Μοξιφλοξασίνη	5 (8,3)	11 (26,2)	0,03
Αζιθρομυκίνη	38 (63,3)	19 (45,2)	0,11

Υδροξυχλωροκίνη	9 (15,0)	9 (21,4)	0,44
Ρεμντεσιβίρη	17 (28,3)	14 (33,3)	0,66
Δεξαμεθαζόνη	35 (58,3)	30 (71,4)	0,21

n: αριθμός ασθενών, SD: τυπική απόκλιση, AST: ασπαρτική αμινοτρανσφεράση, ALT: αλανινική αμινοτρανσφεράση, CCI: Charlson's Comorbidity Index, PSI: Pneumonia Severity Index, APACHE: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation, SOFA: Sequential Organ Failure Assessment. Τα έντονα γράμματα υποδεικνύουν στατιστική σημαντικότητα με p value <0,05.

Συνολικά 102 ασθενείς εισήχθησαν, με τον πρώτο ασθενή να εισάγεται στις 2 Απριλίου 2020 και τον τελευταίο στις 16 Νοεμβρίου 2020. Από αυτούς, 42 περιπτώσεις κατανεμήθηκαν σε θεραπεία με τοσιλιζουμάμπη και 60 σε θεραπεία με ανακίνρα, περιλαμβανομένων 14 ασθενών με MALS και 46 με CID αλλά αυξημένες αμινοτρανσφεράσες (Εικ. 1). Οι δύο ομάδες ήταν συγκρίσιμες ως προς τα δημογραφικά και βασικά χαρακτηριστικά τους και δεν παρατηρήθηκαν αξιοσημείωτες στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους, εκτός από την αρτηριακή υπέρταση που ήταν πιο επικρατούσα στους ασθενείς που έλαβαν τοσιλιζουμάμπη και τα επίπεδα αμινοτρανσφερασών ορού που ήταν πιο αυξημένα στην ομάδα ανακίνρα ως αναμενόταν από τα κριτήρια ένταξης (Πίνακας 1).

Πίνακας 2. Πρωτογενές και δευτερογενή καταληκτικά σημεία της μελέτης ESCAPE

	Ανακίνρα (N=60)	Τοσιλιζουμάμπη (N=42)	OR (95% CI)	p value
Πρωτογενές καταληκτικό σημείο, n (%) (95% CI)	35 (58,3; 44,9-70,7)	14 (33,3; 20,0-49,6)	2,80 (1,23-6,37)	0,02
Τουλάχιστον 25% μείωση του αρχικού SOFA score έως τη μέρα 8	23 (38,3; 26,4-51,8)	7 (16,7; 7,5-32,0)	3,11 (1,19-8,15)	0,03
Τουλάχιστον 50% αύξηση του αρχικού PaO ₂ /FiO ₂ λόγου έως τη μέρα 8	18 (30,0; 19,2-43,4)	12 (28,6; 16,2-44,8)	1,07 (0,45-2,55)	1,00
28 ημερών θνητότητα, n (%) (95% CI)	20 (33,3; 22,0-46,8)	14 (33,3; 20,0-49,6)	1,00 (0,43-2,31)	1,00
Δέλτα SOFA τη μέρα 28, μέση (Q1-Q3)	-10,0 (-75 με 257)	0 (-55 με 440)	NA	0,32

n: αριθμός ασθενών, CI: διάστημα εμπιστοσύνης, NA: μη εφαρμόσιμο, OR: πηλίκο πιθανοτήτων, Q: τεταρτημόριο, PaO₂/FiO₂: μερική πίεση οξυγόνου στο αρτηριακό αίμα/κλάσμα συγκέντρωσης εισπνεόμενου οξυγόνου. SOFA: Sequential Organ Failure Assessment. Τα έντονα γράμματα υποδεικνύουν στατιστική σημαντικότητα με p value <0,05.

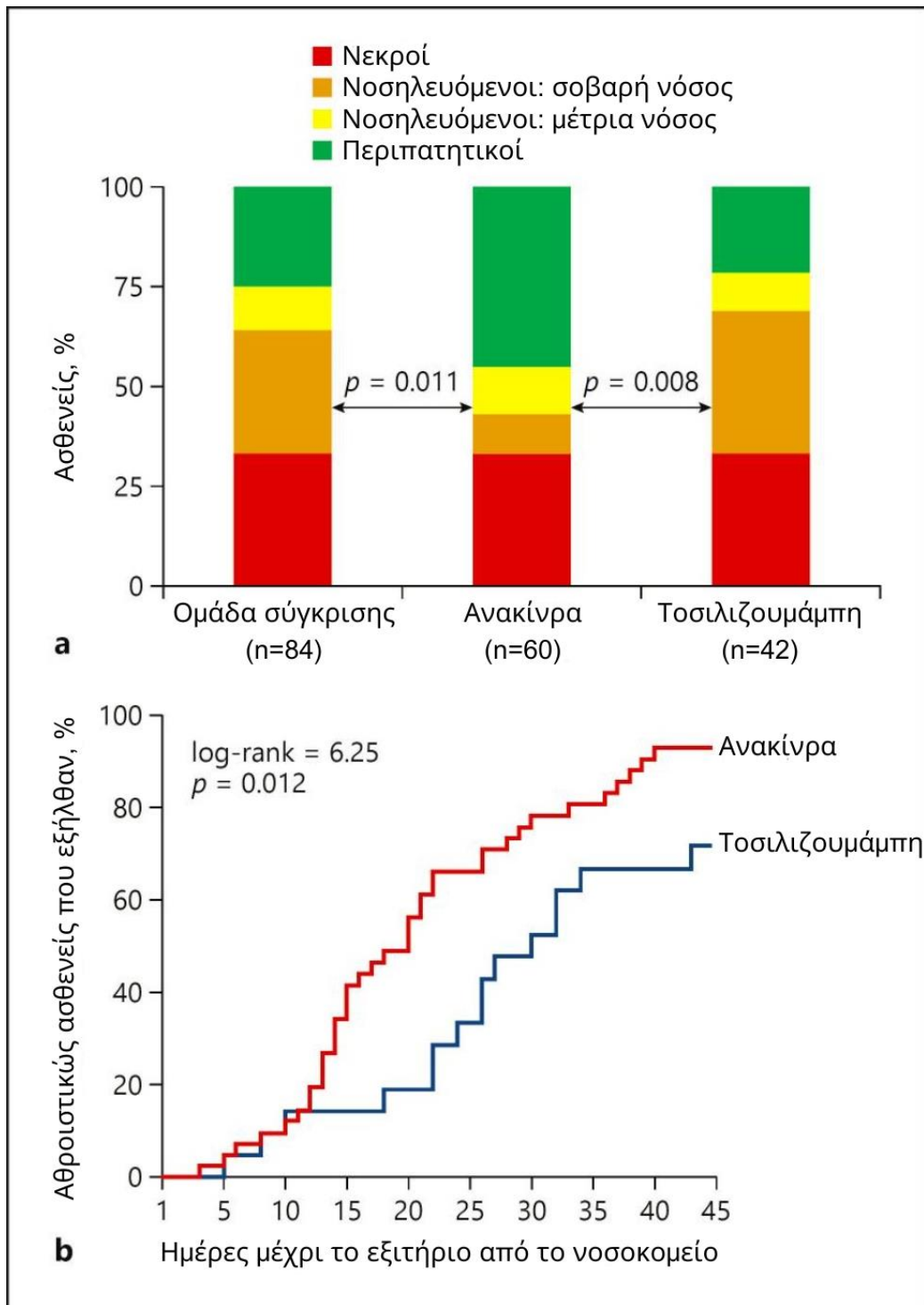
Το πρωτεύον καταληκτικό σημείο επιτεύχθηκε σε 35/60 ή 58,3% των ασθενών που έλαβαν ανακίνρα και σε 14/42 ή 33,3% των ασθενών που έλαβαν θεραπεία με τοσιλιζουμάμπη και ήταν στατιστικά σημαντικό υπέρ της ανοσοθεραπείας με ανακίνρα (OR 2,80, 95% CIs 1,23 – 6,37 p=0,02) (Πίνακας 2). Αυτή η διαφορά επιβεβαιώθηκε επίσης μετά από πολυπαραγοντική ανάλυση εμπροσθόδρομης λογιστικής παλινδρόμησης (OR 3,11, 95% CIs 1,29–7,73, p=0,01) (Πίνακας 3). Ωστόσο, δεν σημειώθηκε διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων σχετικά με τη θνητότητα 28 ημερών και την αλλαγή της βαθμολογίας SOFA έως την ημέρα 28 (Πίνακας 2).

Πίνακας 3. Πολυπαραγοντική ανάλυση παραμέτρων που συσχετίζονται με την επίπτωση του πρωτογενούς καταληκτικού σημείου

	Πλήρωση πρωτογενούς καταληκτικού σημείου (N=49)	Μη πλήρωση πρωτογενούς καταληκτικού σημείου (N=53)	Μονοπαραγοντική ανάλυση		Πολυπαραγοντική ανάλυση	
			OR (95% CIs)	p value	OR (95% CIs)	p value
Ηλικία, έτη, μέση (SD)	60,0 (15,3)	66,7 (13,1)	0,97 (0,94-0,99)	0,02	*	
Άρρεν φύλο, n (%)	37 (75,5)	42 (79,2)	0,81 (0,32-2,05)	0,81	**	
Μηχανικός αερισμός, n (%)	29 (59,2)	42 (79,2)	0,38 (0,16-0,91)	0,03	*	
CCI, μέση (SD)	2,19 (1,75)	3,12 (2,22)	0,79 (0,63-0,98)	0,03		0,77 (0,62-0,96) 0,02
PSI, μέση (SD)	77,3 (31,9)	92,9 (29,7)	0,98 (0,97-0,99)	0,02	*	
APACHE II, μέση (SD)	11,1 (12,6)	10,4 (4,4)	1,00 (0,96-1,05)	0,75	**	
SOFA, μέση (SD)	4,46 (2,29)	4,62 (2,14)	0,96 (0,81-1,15)	0,69	**	
PaO ₂ /FiO ₂ , mmHg, μέση (SD)	175,1 (117,9)	136,8 (61,7)	1,00 (0,99-1,01)	0,06	*	
Απόλυτος αριθμός ουδετεροφίλων, /mm ³ , μέση (SD)	8.212,7 (4.937,8)	8.287,3 (5.348,2)	1,00 (0,99-1,00)	0,85	**	
Απόλυτος αριθμός λεμφοκυττάρων, /mm ³ , μέση (SD)	949,7 (707,6)	767,0 (577,9)	1,00 (0,99-1,00)	0,24	**	
Αριθμός αιμοπεταλίων, x10 ³ /mm ³ , μέση (SD)	242,0 (83,7)	275,2 (120,7)	1,00 (0,99-1,00)	0,16	**	
AST, U/L, μέση (SD)	51,9 (32,7)	48,1 (34,4)	1,00 (0,99-1,02)	0,60	**	
ALT, U/L, μέση (SD)	52,7 (40,3)	47,8 (41,7)	1,00 (0,99-1,01)	0,58	**	
Φερριτίνη, ng/ml, μέση (SD)	1.635,5 (1.643,1)	2.416,6 (3.103,9)	1,00 (0,99-1,00)	0,14	**	
Ανακίνρα, n (%)	35 (70,0)	25 (48,1)	2,80 (1,23-6,37)	0,02		3,11 (1,29-7,73) 0,01
Αζιθρομυκίνη, n (%)	32 (65,3)	24 (45,3)	2,10 (0,94-4,68)	0,07	*	
Υδροξυχλωροκίνη, n (%)	5 (27,8)	13 (72,2)	0,35 (0,11-1,07)	0,07	*	
Γλυκοπεπτιδίο, n (%)	17 (34,7)	11 (20,8)	2,02 (0,83-4,92)	0,13	*	
Δεξαμεθαζόνη, n (%)	28 (57,1)	37 (69,8)	0,58 (0,26-1,30)	0,19	**	
Ρεμντεσιβίρη, n (%)	14 (28,6)	17 (32,1)	0,85 (0,36-1,98)	0,70	**	

n: αριθμός ασθενών, SD: τυπική απόκλιση, CI: διάστημα εμπιστοσύνης, OR: πηλίκο πιθανοτήτων, PaO₂/FiO₂: μερική πίεση οξυγόνου στο αρτηριακό αίμα/κλάσμα συγκέντρωσης εισπνεόμενου οξυγόνου, AST: ασπαρτική αμινοτρανσφεράση, ALT: αλανινική αμινοτρανσφεράση, APACHE: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation, CCI: Charlson's Comorbidity Index, PSI: Pneumonia Severity Index, SOFA: Sequential Organ Failure Assessment. Τα έντονα γράμματα υποδεικνύουν στατιστική σημαντικότητα με p value ≤0,06. *Μεταβλητές που συμπεριλήφθησαν στην εξίσωση της πολυπαραγοντικής ανάλυσης αλλά εξαιρέθηκαν μετά από 2 βήματα ανάλυσης. **Μεταβλητές που δεν συμπεριλήφθησαν στην εξίσωση.

Επιπλέον, οι ασθενείς υπό μηχανικό αερισμό κατά τη διάρκεια της εισαγωγής είχαν μικρότερη πιθανότητα να επιτύχουν το πρωτεύον καταληκτικό σημείο (OR 0,38; 95% CIs 0,16–0,91; $p=0,03$), παρομοίως με ασθενείς με χαμηλότερο δείκτη συννοσηρότητας Charlson (Charlson's Comorbidity Index) και χαμηλότερο δείκτη σοβαρότητας πνευμονίας (Pneumonia Severity Index) (Πίνακας 3).



Εικόνα 2. Διερευνητικά καταληκτικά σημεία μελέτης. a Συγκριτική κατανομή των κλιμάκων κλινικής εξέλιξης του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας κατά την ημέρα 28 μεταξύ ασθενών που έλαβαν θεραπεία με ανακίρα, ασθενών που έλαβαν τοσιλιζουμάμπη και διαθέσιμων ασθενών σύγκρισης. Οι υποδεικνυόμενες συγκρίσεις έγιναν με τη χ^2 δοκιμή του Pearson. b Χρόνος έως την έξοδο από το νοσοκομείο των ασθενών που λαμβάνουν θεραπεία με ανακίρα και τοσιλιζουμάμπη. Παρέχεται η p value σύγκρισης με τη δοκιμή log-rank.

Όσον αφορά τα γεγονότα διερευνητικών καταληκτικών σημείων, η κλίμακα κλινικής εξέλιξης του ΠΟΥ και η διάρκεια της νοσηλείας στο νοσοκομείο ευνόησαν επίσης τη θεραπεία με ανακίνρα (Εικ. 2). Πιο συγκεκριμένα, οι επιζήσαντες την ημέρα 28 που έλαβαν ανακίνρα κατανεμήθηκαν σε λιγότερο σοβαρές κλίμακες από ότι οι ασθενείς που έλαβαν τοσιλιζουμάμπη ($p=0,008$) και έφεραν ακόμη καλύτερη κλίμακα κλινικής εξέλιξης του ΠΟΥ σε σύγκριση με την ομάδα σύγκρισης ($p=0,011$) (Εικ. 2Α). Ο διάμεσος χρόνος μέχρι την έξοδο από το νοσοκομείο ήταν 20 ημέρες στη θεραπεία με ανακίνρα και 31 ημέρες στη θεραπεία με τοσιλιζουμάμπη (Εικ. 2Β).

4. Συζήτηση

Παρόλο που τα συνολικά αποτελέσματα ευνοούν το ανακίνρα έναντι της τοσιλιζουμάμπης, αυτό δεν υποδηλώνει απαραίτητα υπεροχή του ανακίνρα. Πιθανώς, αυτά τα ευρήματα θα μπορούσαν να υποδηλώνουν ότι οι συγκεκριμένες παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν για την ταξινόμηση των MALS και CID ενθαρρύνουν περισσότερο τη χρήση του ανακίνρα έναντι της τοσιλιζουμάμπης.

Δεδομένου ότι η μελέτη ESCAPE ήταν μια μη τυχαιοποιημένη, ανοιχτή δοκιμή περιορισμένου πληθυσμού, χωρίς ανοσολογική αξιολόγηση για περίπλοκη ανοσιακή δυσρύθμιση της σύγχρονης ομάδας σύγκρισης, μόνο περιορισμένες υποθέσεις μπορούν να γίνουν για το ρόλο της τοσιλιζουμάμπης στη περίπλοκη ανοσιακή δυσρύθμιση. Ακόμη περισσότερο, λαμβάνοντας υπόψη τις προαναφερθείσες μεγαλύτερες τυχαιοποιημένες διπλές-τυφλές μελέτες, η αποτελεσματικότητα της τοσιλιζουμάμπης αποδείχθηκε όχι μόνο στο πλαίσιο της ΜΕΘ αλλά και στη γενική πτέρυγα νοσηλείας.

Παρά τους περιορισμούς αυτούς, η μελέτη ESCAPE εξακολουθεί να παραμένει η πρώτη μελέτη που δημοσιεύτηκε στοχεύοντας τους βαρέως πάσχοντες ασθενείς με COVID-19 λοίμωξη μέσω μιας προσωποποιημένης προσέγγισης που καθοδηγήθηκε από παραμέτρους ανοσιακής παρακολούθησης. Απαιτούνται μεγαλύτερες τυχαιοποιημένες, διπλά τυφλές, διπλού εικονικού φαρμάκου για να επιβεβαιωθούν αυτά τα ευρήματα.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Allam Z. The First 50 days of COVID-19: A Detailed Chronological Timeline and Extensive Review of Literature Documenting the Pandemic. *Surveying the Covid-19 Pandemic and its Implications* 2020,1-7. doi:10.1016/B978-0-12-824313-8.00001-2
2. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. (2020) Clinical Features of Patients Infected With 2019 Novel Coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020, 395: 497–506.
3. The-nCoV Outbreak Joint Field Epidemiology Investigation Team, Qun Li. An Outbreak of NCIP (2019-nCoV) Infection in China — Wuhan, Hubei Province, 2019–2020. *China CDC Weekly* 2020, 2(5): 79-80
4. World Health Organization. Statement on the second meeting of the International Health Regulations (2005) Emergency Committee regarding the outbreak of novel coronavirus (2019-nCoV). World Health Organization; 2020. Accessed June 19, 2022. [https://www.who.int/news/item/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-international-health-regulations-\(2005\)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)](https://www.who.int/news/item/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-(2019-ncov))
5. World Health Organization. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020. Accessed June 19, 2022. <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>
6. World Health Organization. COVID-19 Weekly Epidemiological Update. Edition 71. World Health Organization; December 21, 2021. Accessed September 1, 2022. <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---21-december-2021>
7. World Health Organization. Transmission of SARS-CoV-2: implications for infection prevention precautions. WHO; March 29, 2020. Updated July 9, 2020. Accessed September 1, 2022. <https://www.who.int/news-room/commentaries/>

detail/transmission-of-sars-cov-2-implications-for-infection-prevention-precautions

8. AJMC Staff. A Timeline of COVID-19 Developments in 2020. AJMC. January 1, 2021

9. Immunization, Vaccines and Biologicals team. Global Covid-19 Vaccination Strategy in a Changing World July 2022 update. World Health Organization; July 22, 2022. Accessed September 1, 2022. <https://www.who.int/publications/m/item/global-covid-19-vaccination-strategy-in-a-changing-world--july-2022-update>

10. Rouzine IM, Rozhnova G. Evolutionary implications of SARS-CoV-2 vaccination for the future design of vaccination strategies. *Commun Med (Lond)* 2023, 3(1):86

11. Ashwanden C. Why herd immunity for COVID is probably impossible. *Nature* 2021, 591:520–522

12. Lee ARYB, Wong SY, Chai LYA, Lee SC, Lee MX, Muthiah MD, et al. Efficacy of covid-19 vaccines in immunocompromised patients: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2022, 376:e068632

13. Di Fusco M, Lin J, Vaghela S, Lingohr-Smith M, Nguyen JL, Scassellati Sforzolini T, et al. COVID-19 vaccine effectiveness among immunocompromised populations: a targeted literature review of real-world studies. *Expert Rev Vaccines* 2022, 21(4):435-451

14. International Committee on Taxonomy of Viruses ICTV. Virus Taxonomy: 2021 Release. *ictvonline.org* website. Approved July, 2019. Accessed June 12, 2022. https://talk.ictvonline.org/taxonomy/p/taxonomy-history?taxnode_id=202101868

15. Ye ZW, Yuan S, Yuen KS, Fung SY, Chan CP, Jin DY. Zoonotic origins of human coronaviruses. *Int J Biol Sci* 2020, 16(10):1686-1697

16. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* 2019, 17(3):181-192
17. Osuchowski MF, Winkler MS, Skirecki T, Cajander S, Shankar-Hari M, Lachmann G, et al. The COVID-19 puzzle: deciphering pathophysiology and phenotypes of a new disease entity. *Lancet Respir Med* 2021, 9(6):622-642
18. Rabaan AA, Al-Ahmed SH, Haque S, Sah R, Tiwari R, Malik YS, et al. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-COV: A comparative overview. *Infez Med* 2020, 28(2):174-184
19. Zhu Z, Lian X, Su X, Wu W, Marraro GA, Zeng Y. From SARS and MERS to COVID-19: a brief summary and comparison of severe acute respiratory infections caused by three highly pathogenic human coronaviruses. *Respir Res* 2020, 21(1):224. doi: 10.1186/s12931-020-01479-w
20. Zhou H, Yang J, Zhou C, Chen B, Fang H, Chen S, et al. A Review of SARS-CoV2: Compared With SARS-CoV and MERS-CoV. *Front Med (Lausanne)* 2021, 8:628370. doi: 10.3389/fmed.2021.628370.
21. Pustake M, Tambolkar I, Giri P, Gandhi C. SARS, MERS and CoVID-19: An overview and comparison of clinical, laboratory and radiological features. *J Family Med Prim Care* 2022, 11(1):10-17
22. Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol* 2020, 92(4):418-423
23. Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol Biol* 2015, 1282:1-23
24. Yang H, Rao Z. Structural biology of SARS-CoV-2 and implications for therapeutic development. *Nat Rev Microbiol* 2021, 19(11):685-700
25. V'kovski P, Kratzel A, Steiner S, Stalder H, Thiel V. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. *Nat Rev Microbiol* 2021,19(3):155-170

26. Trougakos IP, Stamatelopoulos K, Terpos E, Tsitsilonis OE, Aivalioti E, Paraskevis D, et al. Insights to SARS-CoV-2 life cycle, pathophysiology, and rationalized treatments that target COVID-19 clinical complications. *J Biomed Sci* 2021, 28(1):9. doi: 10.1186/s12929-020-00703-5
27. Hikmet F, Méar L, Edvinsson Å, Micke P, Uhlén M, Lindskog C. The protein expression profile of ACE2 in human tissues. *Mol Syst Biol* 2020, 16(7):e9610. doi: 10.15252/msb.20209610
28. Beyerstedt S, Casaro EB, Rangel ÉB. COVID-19: angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) expression and tissue susceptibility to SARS-CoV-2 infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2021, 40(5):905-919.
29. Li XC, Zhang J, Zhuo JL. The vasoprotective axes of the renin-angiotensin system: Physiological relevance and therapeutic implications in cardiovascular, hypertensive and kidney diseases. *Pharmacol Res* 2017, 125(Pt A):21-38
30. Heyman SN, Walther T, Abassi Z. Angiotensin-(1-7)-A Potential Remedy for AKI: Insights Derived from the COVID-19 Pandemic. *J Clin Med* 2021, 10(6):1200. doi: 10.3390/jcm10061200
31. Hou YJ, Okuda K, Edwards CE, Martinez DR, Asakura T, Dinnon KH 3rd, et al. SARS-CoV-2 Reverse Genetics Reveals a Variable Infection Gradient in the Respiratory Tract. *Cell* 2020, 182(2):429-446.e14.
32. Ahn JH, Kim J, Hong SP, Choi SY, Yang MJ, Ju YS, et al. Nasal ciliated cells are primary targets for SARS-CoV-2 replication in the early stage of COVID-19. *J Clin Invest* 2021, 131(13):e148517. doi: 10.1172/JCI148517
33. Yin X, Riva L, Pu Y, Martin-Sancho L, Kanamune J, Yamamoto Y, et al. MDA5 Governs the Innate Immune Response to SARS-CoV-2 in Lung Epithelial Cells. *Cell Rep* 2021, 34(2):108628. doi: 10.1016/j.celrep.2020.108628
34. Lazear HM, Schoggins JW, Diamond MS. Shared and Distinct Functions of Type I and Type III Interferons. *Immunity* 2019, 50(4):907-923

35. Lu Q, Liu J, Zhao S, Gomez Castro MF, Laurent-Rolle M, Dong J, et al. SARS-CoV-2 exacerbates proinflammatory responses in myeloid cells through c-type lectin receptors and tweety family member 2. *Immunity* 2021, 54(6):1304–1319.e9
36. Sung PS, Hsieh SL. C-type lectins and extracellular vesicles in virus-induced NETosis. *J BioMed Sci* 2021, 28(1):46. doi: 10.1186/s12929-021-00741-7
37. Zhang J, Garrett S, Sun J. Gastrointestinal symptoms, pathophysiology and treatment in COVID-19. *Genes Dis* 2021, 8(4):385-400
38. Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, Peacock SJ, Prescott HC. Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA* 2020, 324(8):782-793
39. Katsura H, Sontake V, Tata A, Kobayashi Y, Edwards CE, Heaton BE, et al. Human Lung Stem Cell-Based Alveolospheres Provide Insights into SARS-CoV-2-Mediated Interferon Responses and Pneumocyte Dysfunction. *Cell Stem Cell* 2020, 27(6):890-904.e8
40. Huang J, Hume AJ, Abo KM, Werder RB, Villacorta-Martin C, Alysandratos KD, et al. SARS-CoV-2 Infection of Pluripotent Stem Cell-derived Human Lung Alveolar Type 2 Cells Elicits a Rapid Epithelial-Intrinsic Inflammatory Response. *Cell Stem Cell* 2020, 27(6):962-973
41. Lamers MM, van der Vaart J, Knoops K, Riesebosch S, Breugem TI, Mykytyn AZ, et al. An organoid-derived bronchioalveolar model for SARS-CoV-2 infection of human alveolar type II-like cells. *EMBO J* 2021, 40(5):e105912. doi: 10.15252/emj.2020105912
42. Liu F, Han K, Blair R, Kenst K, Qin Z, Upcin B, et al. SARS-CoV-2 Infects Endothelial Cells In Vivo and In Vitro. *Front Cell Infect Microbiol* 2021, 11:701278. doi: 10.3389/fcimb.2021.701278

43. Hariri LP, North CM, Shih AR, Israel RA, Maley JH, Villalba JA, et al. Lung Histopathology in Coronavirus Disease 2019 as Compared With Severe Acute Respiratory Syndrome and H1N1 Influenza: A Systematic Review. *Chest* 2021, 159(1):73-84
44. Cardinal-Fernández P, Lorente JA, Ballén-Barragán A, Matute-Bello G. Acute Respiratory Distress Syndrome and Diffuse Alveolar Damage. New Insights on a Complex Relationship. *Ann Am Thorac Soc* 2017, 14(6):844-850
45. Bösmüller H, Matter M, Fend F, Tzankov A. The pulmonary pathology of COVID-19. *Virchows Arch* 2021,478(1):137-150
46. Stravalaci M, Pagani I, Paraboschi EM, Pedotti M, Doni A, Scavello F, et al. Recognition and inhibition of SARS-CoV-2 by humoral innate immunity pattern recognition molecules. *Nat Immunol* 2022, 23(2):275-286
47. Totura AL, Whitmore A, Agnihothram S, Schäfer A, Katze MG, Heise MT, et al. Toll-Like Receptor 3 Signaling via TRIF Contributes to a Protective Innate Immune Response to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Infection. *mBio* 2015, 6(3):e00638-15. doi: 10.1128/mBio.00638-15
48. Land WG. Role of DAMPs in respiratory virus-induced acute respiratory distress syndrome—with a preliminary reference to SARS-CoV-2 pneumonia. *Genes Immun* 2021, 22(3):141-160
49. Andersson U, Ottestad W, Tracey KJ. Extracellular HMGB1: a therapeutic target in severe pulmonary inflammation including COVID-19? *Mol Med* 2020, 26(1):42. doi: 10.1186/s10020-020-00172-4
50. Costela-Ruiz VJ, Illescas-Montes R, Puerta-Puerta JM, Ruiz C, Melguizo-Rodríguez L. SARS-CoV-2 infection: The role of cytokines in COVID-19 disease. *Cytokine Growth Factor Rev* 2020,54:62-75
51. Moradian N, Gouravani M, Salehi MA, Heidari A, Shafeghat M, Hamblin MR, et al. Cytokine release syndrome: inhibition of pro-inflammatory cytokines

as a solution for reducing COVID-19 mortality. *Eur Cytokine Netw* 2020, 31(3):81-93

52. Chen G, Wu D, Guo W, Cao Y, Huang D, Wang H, et al. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *J Clin Invest* 2020, 130(5):2620-2629

53. Schönrich G, Raftery MJ. Neutrophil Extracellular Traps Go Viral. *Front Immunol* 2016, 7:366. doi: 10.3389/fimmu.2016.00366

54. Torres-Ruiz J, Absalón-Aguilar A, Nuñez-Aguirre M, Pérez-Fragoso A, Carrillo-Vázquez DA, Maravillas-Montero JL, et al. Neutrophil Extracellular Traps Contribute to COVID-19 Hyperinflammation and Humoral Autoimmunity. *Cells* 2021, 10(10):2545. doi: 10.3390/cells10102545

55. McKenna E, Wubben R, Isaza-Correa JM, Melo AM, Mhaonaigh AU, Conlon N, et al. Neutrophils in COVID-19: Not Innocent Bystanders. *Front Immunol* 2022, 13:864387. doi: 10.3389/fimmu.2022.864387

56. Jiang M, Guo Y, Luo Q, Huang Z, Zhao R, Liu S, et al. T-Cell Subset Counts in Peripheral Blood Can Be Used as Discriminatory Biomarkers for Diagnosis and Severity Prediction of Coronavirus Disease 2019. *J Infect Dis* 2020, 222(2):198-202

57. Chen G, Wu D, Guo W, Cao Y, Huang D, Wang H, et al. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *J Clin Investig* 2020, 130(5):2620–2629

58. Wang F, Nie J, Wang H, Zhao Q, Xiong Y, Deng L, et al. Characteristics of Peripheral Lymphocyte Subset Alteration in COVID-19 Pneumonia. *J Infect Dis* 2020, 221(11):1762-1769

59. Jafarzadeh A, Jafarzadeh S, Nozari P, Mokhtari P, Nemati M. Lymphopenia an important immunological abnormality in patients with COVID-19: Possible mechanisms. *Scand J Immunol* 2021, 93(2):e12967. doi: 10.1111/sji.12967.

60. Schmidt ME, Varga SM. The CD8 T cell response to respiratory virus infections. *Front Immunol* 2018, 9: 678 doi: 10.3389/fimmu.2018.00678
61. Hermens JM, Kesmir C. Role of T cells in severe COVID-19 disease, protection, and long term immunity. *Immunogenetics* 2023, 75(3):295-307
62. Kurano M, Morita Y, Nakano Y, Yokoyama R, Shimura T, Qian C, et al. Response kinetics of different classes of antibodies to SARS-CoV2 infection in the Japanese population: The IgA and IgG titers increased earlier than the IgM titers. *Int Immunopharmacol* 2022, 103:108491. doi: 10.1016/j.intimp.2021.108491
63. Yaugel-Novoa M, Bourlet T, Paul S. Role of the humoral immune response during COVID-19: guilty or not guilty? *Mucosal Immunol* 2022, 15(6):1170-1180
64. Legros V, Denolly S, Vogrig M, Boson B, Siret E, Rigail J, et al. A longitudinal study of SARS-CoV-2-infected patients reveals a high correlation between neutralizing antibodies and COVID-19 severity. *Cell Mol Immunol* 2021, 18(2):318-327.
65. Al-Mughales JA, Al-Mughales TJ, Saadah OI. Monitoring Specific IgM and IgG Production Among Severe COVID-19 Patients Using Qualitative and Quantitative Immunodiagnostic Assays: A Retrospective Cohort Study. *Front Immunol* 2021, 12:705441. doi: 10.3389/fimmu.2021.705441
66. Zervou FN, Louie P, Stachel A, Zacharioudakis IM, Ortiz-Mendez Y, Thomas K, et al. SARS-CoV-2 antibodies: IgA correlates with severity of disease in early COVID-19 infection. *J Med Virol* 2021, 93(9):5409-5415.
67. Pisanic N, Randad PR, Kruczynski K, Manabe YC, Thomas DL, Pekosz A, et al. COVID-19 Serology at Population Scale: SARS-CoV-2-Specific Antibody Responses in Saliva. *J Clin Microbiol* 2020, 59(1):e02204-20. doi: 10.1128/JCM.02204-20.
68. Konik M, Lindemann M, Zettler M, Meller L, Dolff S, Rebmann V, et al. Long-Term SARS-CoV-2 Specific Immunity Is Affected by the Severity of Initial

COVID-19 and Patient Age. *J Clin Med* 2021, 10(19):4606. doi: 10.3390/jcm10194606.

69. Sasson JM, Campo JJ, Carpenter RM, Young MK, Randall AZ, Trappi-Kimmons K, et al. Diverse Humoral Immune Responses in Younger and Older Adult COVID-19 Patients. *mBio* 2021, 12(3):e0122921. doi: 10.1128/mBio.01229-21.

70. Ravichandran S, Grubbs G, Tang J, Lee Y, Huang C, Golding H, et al. Systemic and mucosal immune profiling in asymptomatic and symptomatic SARS-CoV-2-infected individuals reveal unlinked immune signatures. *Sci Adv* 2021, 7(42):eabi6533. doi: 10.1126/sciadv.abi6533.

71. den Hartog G, Vos ERA, van den Hoogen LL, van Boven M, Schepp RM, Smits G, et al. Persistence of Antibodies to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 in Relation to Symptoms in a Nationwide Prospective Study. *Clin Infect Dis* 2021, 73(12):2155-2162

72. Woudenberg T, Pelleau S, Anna F, Attia M, Donnadieu F, Gravet A, et al. Humoral immunity to SARS-CoV-2 and seasonal coronaviruses in children and adults in north-eastern France. *EBioMedicine* 2021, 70:103495. doi: 10.1016/j.ebiom.2021.103495.

73. Ortega N, Ribes M, Vidal M, Rubio R, Aguilar R, Williams S, et al. Seven-month kinetics of SARS-CoV-2 antibodies and role of pre-existing antibodies to human coronaviruses. *Nat Commun* 2021, 12(1):4740. doi: 10.1038/s41467-021-24979-9.

74. Greenbaum U, Klein K, Martinez F, Song J, Thall PF, Ramdial JL, et al. High levels of common cold coronavirus antibodies in convalescent plasma are associated with improved survival in COVID-19 patients. *Front. Immunol* 2021, 12: 675679 doi: 10.3389/fimmu.2021.675679

75. Jing H, Wu X, Xiang M, Liu L, Novakovic VA, Shi J. Pathophysiological mechanisms of thrombosis in acute and long COVID-19. *Front Immunol* 2022, 13:992384. doi: 10.3389/fimmu.2022.992384

76. Kishimoto T, Ishizaka K. Regulation of antibody response in vitro. VII. Enhancing soluble factors for IgG and IgE antibody response. *J Immunol* 1973, 111(4):1194-205
77. Hirano T, Yasukawa K, Harada H, Taga T, Watanabe Y, Matsuda T, et al. Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature* 1986, 324(6092):73-6
78. Choy EH, De Benedetti F, Takeuchi T, Hashizume M, John MR, Kishimoto T. Translating IL-6 biology into effective treatments. *Nat Rev Rheumatol* 2020,16(6):335-345
79. Taga T, Kishimoto T. Gp130 and the interleukin-6 family of cytokines. *Annu Rev Immunol* 1997, 15:797-819
80. Hunter CA, Jones SA. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. *Nat Immunol* 2015, 16(5):448-57. doi: 10.1038/ni.3153. Erratum in: *Nat Immunol* 2017, 18(11):1271
81. Heinrich PC, Castell JV, Andus T. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J* 1990, 265(3):621-36
82. Taga T, Hibi M, Hirata Y, Yamasaki K, Yasukawa K, Matsuda T, et al. Interleukin-6 triggers the association of its receptor with a possible signal transducer, gp130. *Cell* 1989, 58(3):573-81
83. Yamasaki K, Taga T, Hirata Y, Yawata H, Kawanishi Y, Seed B, et al. Cloning and expression of the human interleukin-6 (BSF-2/IFN beta 2) receptor. *Science* 1988, 241(4867):825-8
84. Gauldie J, Richards C, Harnish D, Lansdorp P, Baumann H. Interferon beta 2/B-cell stimulatory factor type 2 shares identity with monocyte-derived hepatocyte-stimulating factor and regulates the major acute phase protein response in liver cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987, 84(20):7251-5

85. Taga T, Kawanishi Y, Hardy RR, Hirano T, Kishimoto T. Receptors for B cell stimulatory factor 2. Quantitation, specificity, distribution, and regulation of their expression. *J Exp Med* 1987, 166(4):967-81
86. Oberg HH, Wesch D, Grüssel S, Rose-John S, Kabelitz D. Differential expression of CD126 and CD130 mediates different STAT-3 phosphorylation in CD4+CD25- and CD25high regulatory T cells. *Int Immunol* 2006, 18(4):555-63
87. Hibi M, Murakami M, Saito M, Hirano T, Taga T, Kishimoto T. Molecular cloning and expression of an IL-6 signal transducer, gp130. *Cell* 1990, 63(6):1149-57
88. Müllberg J, Schooltink H, Stoyan T, Günther M, Graeve L, Buse G, et al. The soluble interleukin-6 receptor is generated by shedding. *Eur J Immunol* 1993, 23(2):473-80
89. Garbers C, Jänner N, Chalaris A, Moss ML, Floss DM, Meyer D, et al. Species specificity of ADAM10 and ADAM17 proteins in interleukin-6 (IL-6) trans-signaling and novel role of ADAM10 in inducible IL-6 receptor shedding. *J Biol Chem* 2011, 286(17):14804-11
90. Lust JA, Donovan KA, Kline MP, Greipp PR, Kyle RA, Maihle NJ. Isolation of an mRNA encoding a soluble form of the human interleukin-6 receptor. *Cytokine* 1992, 4(2):96-100
91. Horiuchi S, Koyanagi Y, Zhou Y, Miyamoto H, Tanaka Y, Waki M, et al. Soluble interleukin-6 receptors released from T cell or granulocyte/macrophage cell lines and human peripheral blood mononuclear cells are generated through an alternative splicing mechanism. *Eur J Immunol* 1994, 24(8):1945-8
92. Rose-John S, Winthrop K, Calabrese L. The role of IL-6 in host defence against infections: immunobiology and clinical implications. *Nat Rev Rheumatol* 2017, 13(7):399-409
93. Calabrese LH, Rose-John S. IL-6 biology: implications for clinical targeting in rheumatic disease. *Nat Rev Rheumatol* 2014, 10(12):720-7

94. Jones SA, Scheller J, Rose-John S. Therapeutic strategies for the clinical blockade of IL-6/gp130 signaling. *J Clin Invest* 2011, 121(9):3375-83
95. Kishimoto T, Hirano T. A new interleukin with pleiotropic activities. *Bioessays* 1988, 9(1):11-5
96. Ma CS, Deenick EK, Batten M, Tangye SG. The origins, function, and regulation of T follicular helper cells. *J Exp Med* 2012, 209(7):1241-53
97. Tang L, Yin Z, Hu Y, Mei H. Controlling Cytokine Storm Is Vital in COVID-19. *Front Immunol* 2020, 11:570993. doi: 10.3389/fimmu.2020.570993
98. Chen G, Wu D, Guo W, Cao Y, Huang D, Wang H, et al. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *J Clin Invest* 2020, 130(5):2620-2629
99. Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Song J. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Med* 2020, 46(5):846-848
100. Liu J, Li S, Liu J, Liang B, Wang X, Wang H, et al. Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients. *EBioMedicine* 2020, 55:102763. doi: 10.1016/j.ebiom.2020.102763.
101. Wan S, Yi Q, Fan S, Lv J, Zhang X, Guo L, et al. Relationships among lymphocyte subsets, cytokines, and the pulmonary inflammation index in coronavirus (COVID-19) infected patients. *Br J Haematol* 2020, 189(3):428-437
102. Liu T, Zhang J, Yang Y, Ma H, Li Z, Zhang J, et al. The role of interleukin-6 in monitoring severe case of coronavirus disease 2019. *EMBO Mol Med* 2020, 12(7):e12421. doi: 10.15252/emmm.202012421
103. Ulhaq ZS, Soraya GV. Interleukin-6 as a potential biomarker of COVID-19 progression. *Med Mal Infect* 2020, 50(4):382-383

104. Coomes EA, Haghbayan H. Interleukin-6 in Covid-19: A systematic review and meta-analysis. *Rev Med Virol* 2020, 30(6):1-9
105. Zhou F. Clinical course and risk factors for mortality of adult in patients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet* 2020, 395(10229):1054–1062.
106. Zhou Y, Fu B, Zheng X, Wang D, Zhao C, Qi Y, et al. Pathogenic T-cells and inflammatory monocytes incite inflammatory storms in severe COVID-19 patients. *Natl Sci Rev* 2020, 7(6):998-1002
107. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Therapeutic targeting of the interleukin-6 receptor. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2012, 52:199-219
108. Nishimoto N, Kanakura Y, Aozasa K, Johkoh T, Nakamura M, Nakano S, et al. Humanized anti-interleukin-6 receptor antibody treatment of multicentric Castleman disease. *Blood* 2005, 106(8):2627-32.
109. EMA recommends approval for use of RoActemra in adults with severe COVID-19. European Medicines Agency. December 6, 2021. Accessed June 4, 2022. <https://www.ema.europa.eu/en/news/ema-recommends-approval-use-roactemra-adults-severe-covid-19>
110. RADM Denise M. Hinton. Emergency Use Authorization 099. Food and Drug Administration. June 24, 2021. Accessed June 4, 2022. <https://www.fda.gov/media/150319/download>
111. FDA News Release. FDA roundup: December 23, 2022. Available at: <https://bit.ly/3CAn6X1>. Accessed January 9, 2023.
112. Ferrey AJ, Choi G, Hanna RM, Chang Y, Tantisattamo E, Ivaturi K, et al. A Case of Novel Coronavirus Disease 19 in a Chronic Hemodialysis Patient Presenting with Gastroenteritis and Developing Severe Pulmonary Disease. *Am J Nephrol* 2020, 51(5):337-342

113. Zhang X, Song K, Tong F, Fei M, Guo H, Lu Z, et al. First case of COVID-19 in a patient with multiple myeloma successfully treated with tocilizumab. *Blood Adv* 2020, 4(7):1307-1310
114. Xu X, Han M, Li T, Sun W, Wang D, Fu B, et al. Effective treatment of severe COVID-19 patients with tocilizumab. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2020, 117(20):10970-10975
115. Luo P, Liu Y, Qiu L, Liu X, Liu D, Li J. Tocilizumab treatment in COVID-19: A single center experience. *J Med Virol* 2020, 92(7):814-818
116. Radbel J, Narayanan N, Bhatt PJ. Use of Tocilizumab for COVID-19-Induced Cytokine Release Syndrome: A Cautionary Case Report. *Chest* 2020, 158(1):e15-e19. doi: 10.1016/j.chest.2020.04.024
117. Capra R, De Rossi N, Mattioli F, Romanelli G, Scarpazza C, Sormani MP, et al. Impact of low dose tocilizumab on mortality rate in patients with COVID-19 related pneumonia. *Eur J Intern Med* 2020, 76:31-35.
118. Klopfenstein T, Zayet S, Lohse A, Balblanc JC, Badie J, Royer PY, et al; HNF Hospital Tocilizumab multidisciplinary team. Tocilizumab therapy reduced intensive care unit admissions and/or mortality in COVID-19 patients. *Med Mal Infect* 2020, 50(5):397-400
119. De Rossi N, Scarpazza C, Filippini C, Cordioli C, Rasia S, Mancinelli CR, et al; Montichiari COVID-19 Study Group. Early use of low dose tocilizumab in patients with COVID-19: A retrospective cohort study with a complete follow-up. *EClinicalMedicine* 2020, 25:100459. doi: 10.1016/j.eclinm.2020.100459
120. Gokhale Y, Mehta R, Kulkarni U, Karnik N, Gokhale S, Sundar U, et al. Tocilizumab improves survival in severe COVID-19 pneumonia with persistent hypoxia: a retrospective cohort study with follow-up from Mumbai, India. *BMC Infect Dis* 2021, 21(1):241. doi: 10.1186/s12879-021-05912-3

121. Patel K, Gooley TA, Bailey N, Bailey M, Hegerova L, Batchelder A, et al. Use of the IL-6R antagonist tocilizumab in hospitalized COVID-19 patients. *J Intern Med* 2021, 289(3):430-433
122. Tian J, Zhang M, Jin M, Zhang F, Chu Q, Wang X, et al. Repurposed Tocilizumab in Patients with Severe COVID-19. *J Immunol* 2021, 206(3):599-606
123. Potere N, Di Nisio M, Rizzo G, La Vella M, Polilli E, Agostinone A, et al. Low-dose subcutaneous tocilizumab to prevent disease progression in patients with moderate COVID-19 pneumonia and hyperinflammation. *Int J Infect Dis* 2020, 100:421-424
124. Canziani LM, Trovati S, Brunetta E, Testa A, De Santis M, Bombardieri E, et al; Humanitas and Gavazzeni / Castelli COVID-19 Task Forces. Interleukin-6 receptor blocking with intravenous tocilizumab in COVID-19 severe acute respiratory distress syndrome: A retrospective case-control survival analysis of 128 patients. *J Autoimmun* 2020, 114:102511. doi: 10.1016/j.jaut.2020.102511
125. Menzella F, Fontana M, Salvarani C, Massari M, Ruggiero P, Scelfo C, et al. Efficacy of tocilizumab in patients with COVID-19 ARDS undergoing noninvasive ventilation. *Crit Care* 2020, 24(1):589. doi: 10.1186/s13054-020-03306-6
126. Kewan T, Covut F, Al-Jaghbeer MJ, Rose L, Gopalakrishna KV, Akbik B. Tocilizumab for treatment of patients with severe COVID-19: A retrospective cohort study. *EClinicalMedicine* 2020, 24:100418. doi: 10.1016/j.eclinm.2020.100418
127. Klopfenstein T, Zayet S, Lohse A, Selles P, Zahra H, Kadiane-Oussou NJ, et al; HNF Hospital Tocilizumab multidisciplinary team. Impact of tocilizumab on mortality and/or invasive mechanical ventilation requirement in a cohort of 206 COVID-19 patients. *Int J Infect Dis* 2020, 99:491-495
128. Rossi B, Nguyen LS, Zimmermann P, Boucenna F, Dubret L, Baucher L, et al. Effect of Tocilizumab in Hospitalized Patients with Severe COVID-19

Pneumonia: A Case-Control Cohort Study. *Pharmaceuticals (Basel)* 2020, 13(10):317. doi: 10.3390/ph13100317

129. Rodríguez-Baño J, Pachón J, Carratalà J, Ryan P, Jarrín I, Yllescas M, et al. Treatment with tocilizumab or corticosteroids for COVID-19 patients with hyperinflammatory state: a multicentre cohort study (SAM-COVID-19). *Clin Microbiol Infect* 2021, 27(2):244-252

130. Martínez-Sanz J, Muriel A, Ron R, Herrera S, Pérez-Molina JA, Moreno S, et al. Effects of tocilizumab on mortality in hospitalized patients with COVID-19: a multicentre cohort study. *Clin Microbiol Infect* 2021, 27(2):238-243

131. Chilimuri S, Sun H, Alemam A, Kang KS, Lao P, Mantri N, et al. Tocilizumab use in patients with moderate to severe COVID-19: A retrospective cohort study. *J Clin Pharm Ther* 2021, 46(2):440-446

132. Narain S, Stefanov DG, Chau AS, Weber AG, Marder G, Kaplan B, et al; Northwell COVID-19 Research Consortium. Comparative Survival Analysis of Immunomodulatory Therapy for Coronavirus Disease 2019 Cytokine Storm. *Chest* 2021, 159(3):933-948

133. Lewis TC, Adhikari S, Tatapudi V, Holub M, Kunichoff D, Troxel AB, et al. A Propensity-Matched Cohort Study of Tocilizumab in Patients With Coronavirus Disease 2019. *Crit Care Explor* 2020, 2(11):e0283. doi: 10.1097/CCE.0000000000000283

134. Ruiz-Antorán B, Sancho-López A, Torres F, Moreno-Torres V, de Pablo-López I, García-López P, et al; TOCICOV-study group. Combination of Tocilizumab and Steroids to Improve Mortality in Patients with Severe COVID-19 Infection: A Spanish, Multicenter, Cohort Study. *Infect Dis Ther* 2021, 10(1):347-362

135. Luis BM, Miguel MB, Pedro DL, David IP, Itziar A, Ana GH, et al; HUBU-COVID-19 group. Benefits of early aggressive immunomodulatory therapy (tocilizumab and methylprednisolone) in COVID-19: Single center cohort study

of 685 patients. *J Transl Autoimmun* 2021, 4:100086. doi: 10.1016/j.jtauto.2021.100086

136. Campochiaro C, Della-Torre E, Cavalli G, De Luca G, Ripa M, Boffini N, et al; TOCI-RAF Study Group. Efficacy and safety of tocilizumab in severe COVID-19 patients: a single-centre retrospective cohort study. *Eur J Intern Med* 2020, 76:43-49

137. Hill JA, Menon MP, Dhanireddy S, Wurfel MM, Green M, Jain R, et al. Tocilizumab in hospitalized patients with COVID-19: Clinical outcomes, inflammatory marker kinetics, and safety. *J Med Virol* 2021, 93(4):2270-2280

138. Colaneri M, Bogliolo L, Valsecchi P, Sacchi P, Zuccaro V, Brandolino F, et al. Tocilizumab for Treatment of Severe COVID-19 Patients: Preliminary Results from SMAteo COvid19 REgistry (SMACORE). *Microorganisms* 2020, 8(5):695. doi: 10.3390/microorganisms8050695

139. Rodríguez-Molinero A, Pérez-López C, Gálvez-Barrón C, Miñarro A, Macho O, López GF, et al; COVID-19 research group of CSAPG. Matched cohort study on the efficacy of tocilizumab in patients with COVID-19. *One Health* 2021, 12:100214. doi: 10.1016/j.onehlt.2021.100214

140. Okoh AK, Bishburg E, Grinberg S, Nagarakanti S. Tocilizumab use in COVID-19-associated pneumonia. *J Med Virol* 2021, 93(2):1023-1028

141. Holt GE, Batra M, Murthi M, Kambali S, Santos K, Bastidas MVP, et al. Lack of tocilizumab effect on mortality in COVID19 patients. *Sci Rep* 2020, 10(1):17100. doi: 10.1038/s41598-020-74328-x

142. Rossotti R, Travi G, Ughi N, Corradin M, Baiguera C, Fumagalli R, et al; Niguarda COVID-19 Working Group. Safety and efficacy of anti-il6-receptor tocilizumab use in severe and critical patients affected by coronavirus disease 2019: A comparative analysis. *J Infect* 2020, 81(4):e11-e17

143. Tsai A, Diawara O, Nahass RG, Brunetti L. Impact of tocilizumab administration on mortality in severe COVID-19. *Sci Rep* 2020, 10(1):19131. doi: 10.1038/s41598-020-76187-y
144. Rojas-Marte G, Khalid M, Mukhtar O, Hashmi AT, Waheed MA, Ehrlich S, et al. Outcomes in patients with severe COVID-19 disease treated with tocilizumab: a case-controlled study. *QJM* 2020, 113(8):546-550
145. Sciascia S, Aprà F, Baffa A, Baldovino S, Boaro D, Boero R, et al. Pilot prospective open, single-arm multicentre study on off-label use of tocilizumab in patients with severe COVID-19. *Clin Exp Rheumatol* 2020, 38(3):529-532
146. Albertini L, Soletchnik M, Razurel A, Cohen J, Bidegain F, Fauvelle F, et al. Observational study on off-label use of tocilizumab in patients with severe COVID-19. *Eur J Hosp Pharm* 2021, 28(1):22-27
147. Perrone F, Piccirillo MC, Ascierio PA, Salvarani C, Parrella R, Marata AM, et al; TOCIVID-19 investigators, Italy. Tocilizumab for patients with COVID-19 pneumonia. The single-arm TOCIVID-19 prospective trial. *J Transl Med* 2020, 18(1):405. doi: 10.1186/s12967-020-02573-9. Erratum in: *J Transl Med* 2021, 19(1):442
148. Roumier M, Paule R, Vallée A, Rohmer J, Ballester M, Brun AL, et al; Foch COVID-19 Study Group. Tocilizumab for Severe Worsening COVID-19 Pneumonia: a Propensity Score Analysis. *J Clin Immunol* 2021, 41(2):303-314
149. Salama C, Han J, Yau L, Reiss WG, Kramer B, Neidhart JD, et al. Tocilizumab in Patients Hospitalized with Covid-19 Pneumonia. *N Engl J Med* 2021, 384(1):20-30
150. Salvarani C, Dolci G, Massari M, Merlo DF, Cavuto S, Savoldi L, et al; RCT-TCZ-COVID-19 Study Group. Effect of Tocilizumab vs Standard Care on Clinical Worsening in Patients Hospitalized With COVID-19 Pneumonia: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Intern Med* 2021, 181(1):24-31

151. Wang D, Fu B, Peng Z, Yang D, Han M, Li M, et al. Tocilizumab in patients with moderate or severe COVID-19: a randomized, controlled, open-label, multicenter trial. *Front Med* 2021, 15(3):486-494
152. Hermine O, Mariette X, Tharaux PL, Resche-Rigon M, Porcher R, Ravaud P; CORIMUNO-19 Collaborative Group. Effect of Tocilizumab vs Usual Care in Adults Hospitalized With COVID-19 and Moderate or Severe Pneumonia: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Intern Med* 2021, 181(1):32-40. doi: 10.1001/jamainternmed.2020.6820. Erratum in: *JAMA Intern Med* 2021, 181(1):144. Erratum in: *JAMA Intern Med* 2021, 181(7):1021
153. Stone JH, Frigault MJ, Serling-Boyd NJ, Fernandes AD, Harvey L, Foulkes AS, et al; BACC Bay Tocilizumab Trial Investigators. Efficacy of Tocilizumab in Patients Hospitalized with Covid-19. *N Engl J Med* 2020, 383(24):2333-2344
154. Veiga VC, Prats JAGG, Farias DLC, Rosa RG, Dourado LK, Zampieri FG, et al; Coalition covid-19 Brazil VI Investigators. Effect of tocilizumab on clinical outcomes at 15 days in patients with severe or critical coronavirus disease 2019: randomised controlled trial. *BMJ* 2021, 372:n84. doi: 10.1136/bmj.n84
155. Soin AS, Kumar K, Choudhary NS, Sharma P, Mehta Y, Kataria S, et al. Tocilizumab plus standard care versus standard care in patients in India with moderate to severe COVID-19-associated cytokine release syndrome (COVINTOC): an open-label, multicentre, randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Respir Med* 2021, 9(5):511-521
156. Rosas IO, Bräu N, Waters M, Go RC, Hunter BD, Bhagani S, et al. Tocilizumab in Hospitalized Patients with Severe Covid-19 Pneumonia. *N Engl J Med* 2021, 384(16):1503-1516
157. Rosas IO, Diaz G, Gottlieb RL, Lobo SM, Robinson P, Hunter BD, et al. Tocilizumab and remdesivir in hospitalized patients with severe COVID-19 pneumonia: a randomized clinical trial. *Intensive Care Med* 2021, 47(11):1258-1270

158. Toniati P, Piva S, Cattalini M, Garrafa E, Regola F, Castelli F, et al. Tocilizumab for the treatment of severe COVID-19 pneumonia with hyperinflammatory syndrome and acute respiratory failure: A single center study of 100 patients in Brescia, Italy. *Autoimmun Rev* 2020, 19(7):102568. doi: 10.1016/j.autrev.2020.102568
159. Alattar R, Ibrahim TBH, Shaar SH, Abdalla S, Shukri K, Daghfal JN, et al. Tocilizumab for the treatment of severe coronavirus disease 2019. *J Med Virol* 2020, 92(10):2042-2049
160. Guaraldi G, Meschiari M, Cozzi-Lepri A, Milic J, Tonelli R, Menozzi M, et al. Tocilizumab in patients with severe COVID-19: a retrospective cohort study. *Lancet Rheumatol* 2020, 2(8):e474-e484. doi: 10.1016/S2665-9913(20)30173-9. Erratum in: *Lancet Rheumatol* 2020, 2(10):e591
161. Ip A, Berry DA, Hansen E, Goy AH, Pecora AL, Sinclair BA, et al. Hydroxychloroquine and tocilizumab therapy in COVID-19 patients-An observational study. *PLoS One* 2020, 15(8):e0237693. doi: 10.1371/journal.pone.0237693
162. Biran N, Ip A, Ahn J, Go RC, Wang S, Mathura S, et al. Tocilizumab among patients with COVID-19 in the intensive care unit: a multicentre observational study. *Lancet Rheumatol* 2020, 2(10):e603-e612
163. Rajendram P, Sacha GL, Mehkri O, Wang X, Han X, Vachharajani V, et al. Tocilizumab in Coronavirus Disease 2019-Related Critical Illness: A Propensity Matched Analysis. *Crit Care Explor* 2021, 3(1):e0327. doi: 10.1097/CCE.0000000000000327
164. Villatoro Santos CR, Bhargava A, Coyle M, Szpunar S, Saravolatz LD. Tocilizumab: A retrospective multi-center cohort study of critically ill patients with COVID-19. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2021, 59(11):705-712
165. Eimer J, Vesterbacka J, Svensson AK, Stojanovic B, Wagrell C, Sönnnerborg A, et al. Tocilizumab shortens time on mechanical ventilation and

length of hospital stay in patients with severe COVID-19: a retrospective cohort study. *J Intern Med* 2021, 289(3):434-436

166. Nasa P, Singh A, Upadhyay S, Bagadia S, Polumuru S, Shrivastava PK, et al. Tocilizumab Use in COVID-19 Cytokine-release Syndrome: Retrospective Study of Two Centers. *Indian J Crit Care Med* 2020, 24(9):771-776

167. Gupta S, Wang W, Hayek SS, Chan L, Mathews KS, Melamed ML, et al; STOP-COVID Investigators. Association Between Early Treatment With Tocilizumab and Mortality Among Critically Ill Patients With COVID-19. *JAMA Intern Med* 2021, 181(1):41-51. doi: 10.1001/jamainternmed.2020.6252. Erratum in: *JAMA Intern Med* 2021, 181(4):570

168. Moiseev S, Avdeev S, Tao E, Brovko M, Bulanov N, Zykova A, et al. Neither earlier nor late tocilizumab improved outcomes in the intensive care unit patients with COVID-19 in a retrospective cohort study. *Ann Rheum Dis* 2023, 82(1):e3. doi: 10.1136/annrheumdis-2020-219265

169. Fisher MJ, Marcos Raymundo LA, Monteforte M, Taub EM, Go R. Tocilizumab in the treatment of critical COVID-19 pneumonia: A retrospective cohort study of mechanically ventilated patients. *Int J Infect Dis* 2021, 103:536-539

170. Quartuccio L, Sonaglia A, McGonagle D, Fabris M, Peghin M, Pecori D, et al. Profiling COVID-19 pneumonia progressing into the cytokine storm syndrome: Results from a single Italian Centre study on tocilizumab versus standard of care. *J Clin Virol* 2020, 129:104444. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104444

171. Somers EC, Eschenauer GA, Troost JP, Golob JL, Gandhi TN, Wang L, et al. Tocilizumab for Treatment of Mechanically Ventilated Patients With COVID-19. *Clin Infect Dis* 2021, 73(2):e445-e454

172. REMAP-CAP Investigators; Gordon AC, Mouncey PR, Al-Beidh F, Rowan KM, Nichol AD, Arabi YM, et al. Interleukin-6 Receptor Antagonists in Critically Ill Patients with Covid-19. *N Engl J Med* 2021, 384(16):1491-1502

173. RECOVERY Collaborative Group. Tocilizumab in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial. *Lancet* 2021, 397(10285):1637-1645
174. Volk HD, Reinke P, Döcke WD. Clinical aspects: from systemic inflammation to 'immunoparalysis'. *Chem Immunol* 2000, 74:162-77
175. Döcke WD, Randow F, Syrbe U, Krausch D, Asadullah K, Reinke P, et al. Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN-gamma treatment. *Nat Med* 1997, 3(6):678-81
176. Muehlstedt SG, Lyte M, Rodriguez JL. Increased IL-10 production and HLA-DR suppression in the lungs of injured patients precede the development of nosocomial pneumonia. *Shock* 2002, 17(6):443-50
177. Monneret G, Lepape A, Voirin N, Bohé J, Venet F, Debard AL, et al. Persisting low monocyte human leukocyte antigen-DR expression predicts mortality in septic shock. *Intensive Care Med* 2006, 32(8):1175-83
178. Venet F, Tissot S, Debard AL, Faudot C, Crampé C, Pachot A, et al. Decreased monocyte human leukocyte antigen-DR expression after severe burn injury: Correlation with severity and secondary septic shock. *Crit Care Med* 2007, 35(8):1910-7
179. Lukaszewicz AC, Grienay M, Resche-Rigon M, Pirracchio R, Faivre V, Boval B, et al. Monocytic HLA-DR expression in intensive care patients: interest for prognosis and secondary infection prediction. *Crit Care Med* 2009, 37(10):2746-52
180. Kyriazopoulou E, Leventogiannis K, Norrby-Teglund A, Dimopoulos G, Pantazi A, Orfanos SE, et al; Hellenic Sepsis Study Group. Macrophage activation-like syndrome: an immunological entity associated with rapid progression to death in sepsis. *BMC Med* 2017, 15(1):172. doi: 10.1186/s12916-017-0930-5

181. Opal SM, Fisher CJ Jr, Dhainaut JF, Vincent JL, Brase R, Lowry SF, et al. Confirmatory interleukin-1 receptor antagonist trial in severe sepsis: a phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. The Interleukin-1 Receptor Antagonist Sepsis Investigator Group. *Crit Care Med* 1997, 25(7):1115-24
182. Shakoory B, Carcillo JA, Chatham WW, Amdur RL, Zhao H, Dinarello CA, et al. Interleukin-1 Receptor Blockade Is Associated With Reduced Mortality in Sepsis Patients With Features of Macrophage Activation Syndrome: Reanalysis of a Prior Phase III Trial. *Crit Care Med* 2016, 44(2):275-81
183. Giamarellos-Bourboulis EJ, Netea MG, Rovina N, Akinosoglou K, Antoniadou A, Antonakos N, et al. Complex Immune Dysregulation in COVID-19 Patients with Severe Respiratory Failure. *Cell Host Microbe* 2020, 27(6):992-1000.e3