

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

ΔΗΜΗΤΡΑ ΣΤΑΜΑΤΕΛΟΥ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Anakinra και ανοσολογικές μεταβολές στη νόσο COVID-19

ΑΘΗΝΑ 2021

Περιεχόμενα

- 1. Εισαγωγή**
- 2. Παθοφυσιολογία λοίμωξης από SARS-CoV-2**
- 3. Ο καταρράκτης κυτταροκινών**
- 4. Ο ρόλος του φλεγμονοσώματος**
- 5. Σύνδρομο ενεργοποίησης μακροφάγων (Macrophage Activation Syndrome-MAS)**
- 6. Στοχεύοντας την IL-1β**
- 7. Το anakinra στην COVID-19**
- 8. Συμπέρασμα**

«Anakinra και ανοσολογικές μεταβολές στη νόσο COVID-19»

Εισαγωγή

Το φάσμα των συμπτωματικών ασθενών με λοίμωξη SARS-CoV-2 είναι ευρύτατο και περιλαμβάνει ασθενείς που εμφανίζουν ήπια μόνο συμπτωματολογία έως πολύ σοβαρή που μπορεί να καταλήξει σε αναπνευστική ανεπάρκεια και θάνατο.

Η πλειοψηφία των ασθενών που ελέγχονται θετικοί για SARS-CoV-2 παραμένουν εντελώς ασυμπτωματικοί ή αναπτύσσουν μόνο ήπια συμπτώματα, όμως εκτιμάται ότι το 15-20% θα χρειαστεί νοσηλεία σε νοσοκομείο και το 5% αυτών θα εμφανίσει βαριά νόσο με αναπνευστική ανεπάρκεια, σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (Acute Respiratory Distress Syndrome- ARDS) ή/και πολυοργανική ανεπάρκεια που συνήθως απαιτεί νοσηλεία σε Μονάδα Εντατικής Θεραπείας (1).

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας έχει ορίσει τη σοβαρή COVID-19 ως τουλάχιστον ένα από τα παρακάτω:

- ο Κορεσμός οξυγόνου < 90% στον ατμοσφαιρικό αέρα
- ο Αριθμός αναπνοών >30/λεπτό για τους ενήλικες
- ο Κλινικά σημεία αναπνευστικής δυσχέρειας, όπως χρήση επικουρικών αναπνευστικών μυών ή αδυναμία ολοκλήρωσης προτάσεων κατά την ομιλία.

Η πολύ σοβαρή COVID-19 καθορίζεται από τα κριτήρια του ARDS, την παρουσία σήψης, σηπτικού σοκ, ή άλλης κατάστασης απειλητικής για τη ζωή.

Η βαρύτητα της νόσου σχετίζεται με την ηλικία και την παρουσία συννοσηροτήτων, όπως παχυσαρκία, υπέρταση, διαβήτη, καρδιαγγειακών νοσημάτων και ιστορικού κακοήθειας. [3,4].

Στη σοβαρή COVID-19, με σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS) φαίνεται ότι αυτό που προκαλεί την ιστική καταστροφή δεν είναι η ιική αναπαραγωγή, αλλά το αποτέλεσμα της απορρύθμισης της ανοσολογικής απάντησης και η επακόλουθη υπερφλεγμονή, σαν απάντηση στην λοίμωξη από SARS-CoV2.

Οι ασθενείς εμφανίζουν ταχεία εμφάνιση διηθημάτων θώρακα και πολυοργανική ανεπάρκεια, που είναι εικόνα συμβατή με απελευθέρωση φλεγμονωδών κυτταροκινών και βιοχημικών δεικτών φλεγμονής. Αυτός ο καταρράκτης

κυτταροκινών μπορεί να είναι η διαχωριστική γραμμή ανάμεσα στην ασυμπτωματική φορεία και τους ασθενείς με σοβαρά συμπτώματα. [5]

Στις βασικές ανοσολογικές διαταραχές στην covid-19 περιλαμβάνονται τα εξαιρετικά υψηλά επίπεδα κυτταροκινών (IL 1a, IL6, TNFα), ανεπαρκείς αποκρίσεις ιντερφερονών τύπου 1, και η λεμφοπενία. [6] Ταυτόχρονα ο εργαστηριακός έλεγχος συνήθως δείχνει αύξηση δεικτών φλεγμονής (C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, φερριτίνη, LDH, d-dimers). [1,2].

Η κατανόηση των βασικών παθοφυσιολογικών και ανοσολογικών διαδικασιών που καθορίζουν τις κλινικές εκδηλώσεις της Covid-19 είναι κρίσιμη για το σχεδιασμό και ανάπτυξη αποτελεσματικών θεραπειών.

Παθοφυσιολογία λοίμωξης από SARS-CoV-2

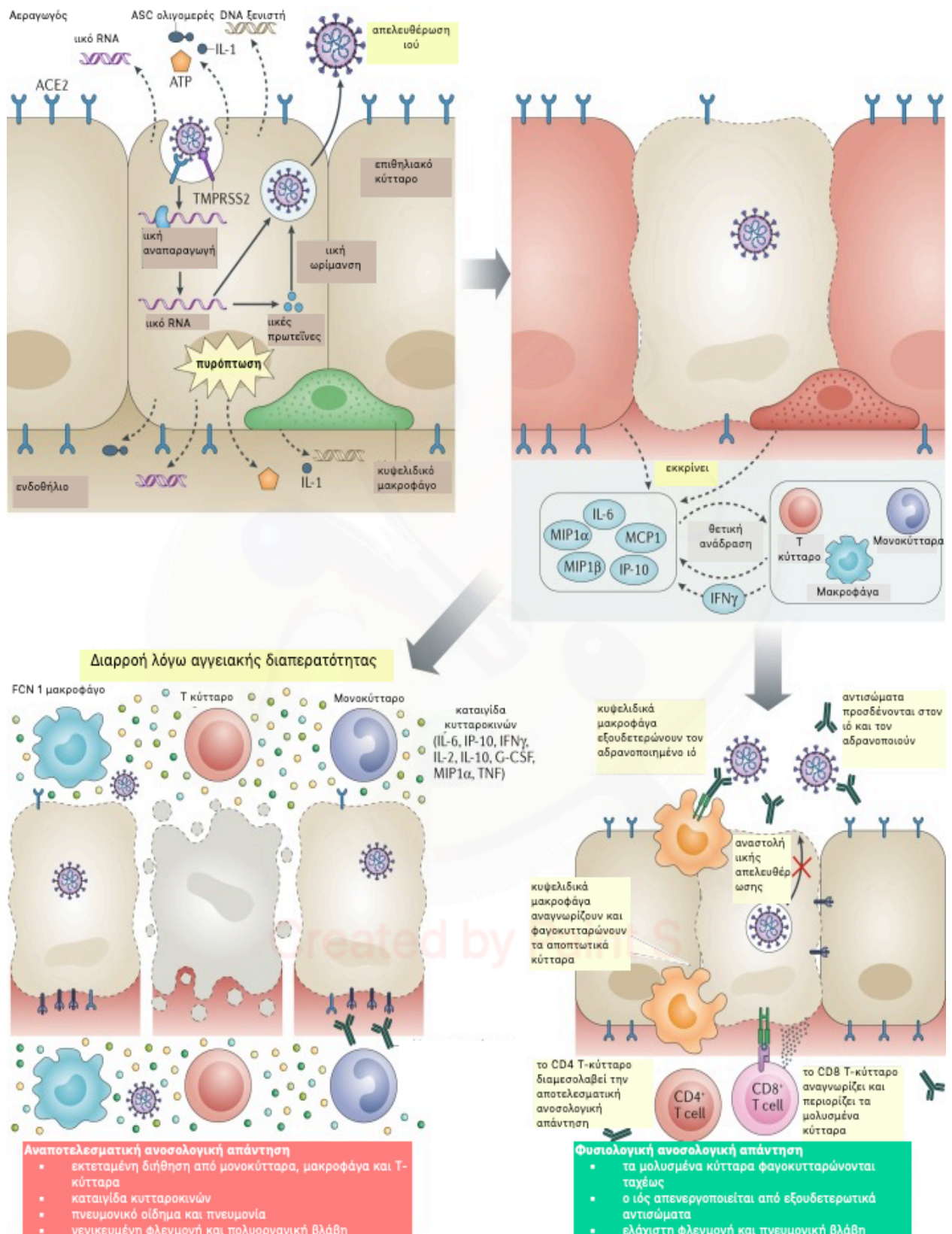
Με την είσοδο του στο αναπνευστικό σύστημα, ο SARS-CoV-2 συνδέεται μέσω της πρωτεΐνης ακίδας (spike) στον υποδοχέα του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης. Το ένζυμο αυτό υπάρχει στην επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων των αεραγωγών και των κυψελίδων, καθώς και των ενδοθηλιακών κυττάρων του αναπνευστικού συστήματος και των μακροφάγων του πνεύμονα. Απαραίτητη επίσης για την είσοδο του ιού είναι η ταυτόχρονη σύνδεση με τη διαμεμβρανική πρωτεάση της σερίνης 2 (TMPRSS2), η οποία κόβει ένα κομμάτι της πρωτεΐνης ακίδας, ενώ τα υπόλοιπα πεπτίδια της συνδέονται στέρεα στη μεμβράνη των επιθηλιακών κυττάρων. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται η είσοδος του ιού στο κύτταρο. [7, 8]

Όταν ο SARS-CoV-2 μολύνει τα κύτταρα που εκφράζουν υποδοχείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης και την πρωτεΐνη επιφανείας TMPRSS2, ξεκινά ο πολλαπλασιασμός του και η απελευθέρωση του. Κάθε μολυνθέν κύτταρο υφίσταται μια έντονη φλεγμονώδη αντίδραση, που οφείλεται στη δημιουργία φλεγμονοσωμάτων. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η πυρόπτωση του κυττάρου, μια εξαιρετικά φλεγμονώδης μορφή κυτταρικού θανάτου, με ταυτόχρονη απελευθέρωση θραυσμάτων του γονιδιώματος και κυτταρικών δομών του ξενιστή που αναγνωρίζονται ως σήματα κινδύνου από τα κύτταρα της φυσικής ανοσίας (DAMPs- Danger Associated Molecular Patterns) . [9, 11]

Γειτονικά επιθηλιακά κύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα και κυψελιδικά μακροφάγα ενεργοποιούνται, πυροδοτώντας την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών και χυμοκινών. Αυτά τα μόρια προσελκύουν μονοκύτταρα, μακροφάγα και Τ λεμφοκύτταρα στο σημείο της λοίμωξης, οδηγώντας σε περαιτέρω πυροδότηση φλεγμονώδους απάντησης που καταλήγει σε ένα φαύλο κύκλο. Η συσσώρευση φλεγμονωδών κυττάρων στους πνεύμονες και η διήθηση των αεραγωγών από λεμφοκύτταρα μπορεί να εξηγεί τη λεμφοπενία που παρατηρείται στο περιφερικό αίμα. [9]

Σε μια αναποτελεσματική ανοσολογική αντίδραση (εικόνα 1, αριστερό σχήμα) ο φαύλος κύκλος της φλεγμονής οδηγεί τελικά στην καταστροφή του αναπνευστικού επιθηλίου και του πνευμονικού παρεγχύματος. Ο τελικός καταρράκτης της φλεγμονώδους απάντησης επηρεάζει και τα υπόλοιπα όργανα του σώματος, οδηγώντας σε πολυοργανική ανεπάρκεια.

Αντίθετα, σε μια υγιή ανοσολογική απάντηση (εικόνα 1, δεξί σχήμα) η αρχική φλεγμονή προσελκύει ειδικά για τον ιό Τ κύτταρα στο σημείο της λοίμωξης, όπου μπορούν να περιορίσουν τα μολυσμένα κύτταρα πριν ο ιός επεκταθεί. Εξουδετερωτικά αντισώματα σε αυτή την περίπτωση μπορούν να εμποδίσουν την ιογενή λοίμωξη και τα κυψελιδικά μακροφάγα αναγνωρίζουν τα αποπτωτικά κύτταρα και τα απομακρύνουν με φαγοκυττάρωση. Όλη αυτή η διαδικασία οδηγεί σε κάθαρση από τον ιό, ελάχιστη καταστροφή του πνευμονικού παρεγχύματος και τελικά σε ανάρρωση. [10, 12]



Εικόνα 1. Η παθοφυσιολογία της λοίμωξης με SARS-CoV-2. [9]

Ο καταρράκτης κυτταροκινών

Ο καταρράκτης κυτταροκινών είναι μια κατάσταση ανεξέλεγκτης συστηματικής υπερφλεγμονώδους απάντησης που προκαλείται από υπερπαραγωγή κυτταροκινών και οδηγεί σε πολυοργανική ανεπάρκεια και τελικά θάνατο.

Αρχικά παρατηρήθηκε σε ασθενείς που εμφάνιζαν νόσο μοσχεύματος-ξενιστή μετά από μεταμόσχευση μυελού, αλλά στη συνέχεια φάνηκε ότι εμφανίζεται και σε άλλες καταστάσεις, όπως κακοήθειες, ρευματολογικά και αυτοάνοσα νοσήματα και στη σήψη.

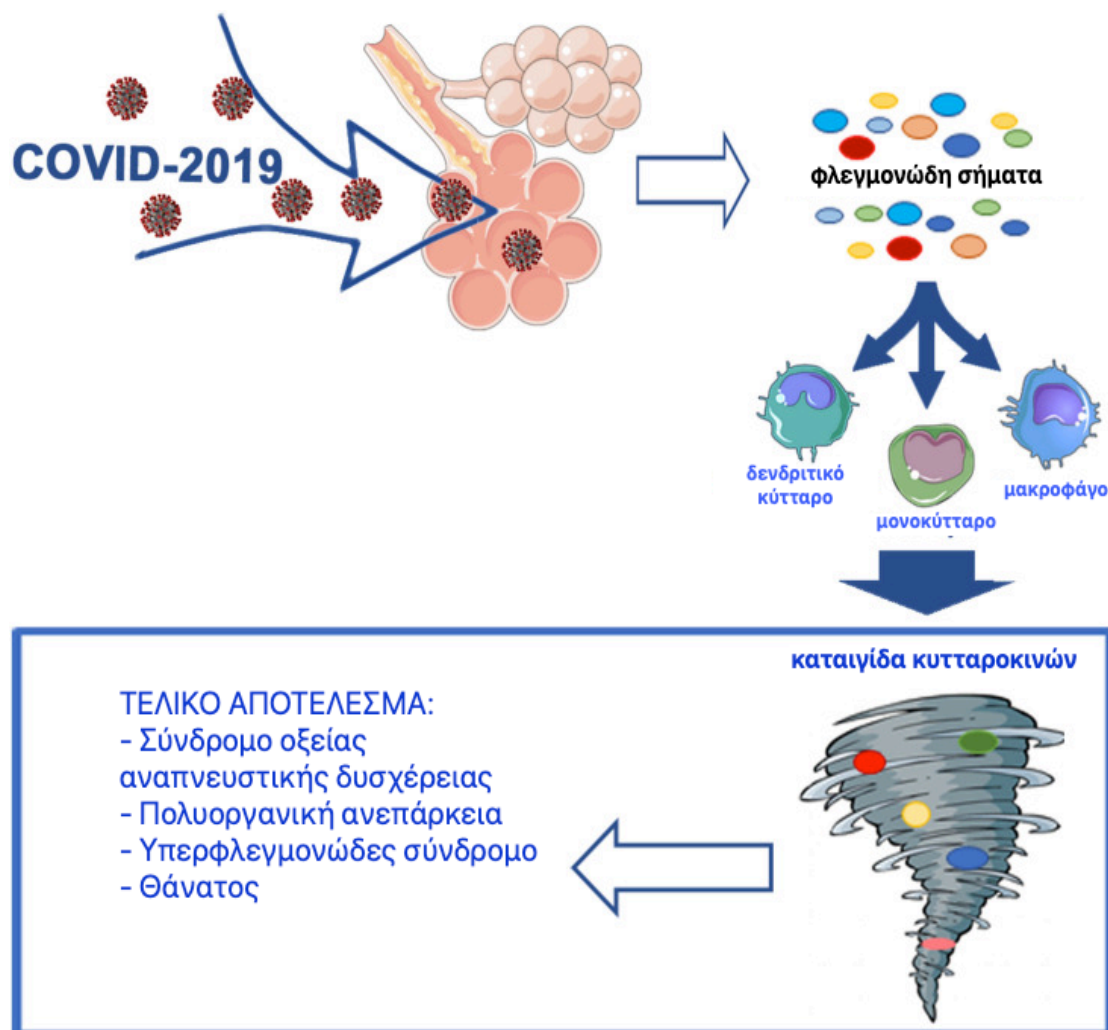
Στον καταρράκτη αυτό έχει φανεί ότι συμμετέχει ποικιλία κυτταροκινών, συμπεριλαμβανομένων της οικογένειας της IL-1, της IL-6, της IL-10 και του TNF α . Αναλόγως μάλιστα της υποκείμενης νόσου, φαίνεται να υπερισχύει η μία ή η άλλη κυτταροκίνη, πχ η IL-1 β παίζει κυρίαρχο ρόλο στη νεανική ρευματοειδή αρθρίτιδα, ενώ στην εμφάνιση συνδρόμου ενεργοποίησης μακροφάγων στην ίδια νόσο η καθοριστική κυτταροκίνη μάλλον είναι η IL-18. Είναι σημαντικό λοιπόν να προσδιοριστεί η κάθε φορά κυτταροκίνη κλειδί.

Όταν το ανοσολογικό σύστημα δεν μπορεί πλέον να σταματήσει τη φλεγμονώδη αντίδραση, αυτή η μη φυσιολογική παραγωγή κυτταροκινών οδηγεί σε υπερενεργοποίηση των μακροφάγων, με αποτέλεσμα να εκδηλώνονται συστηματικά συμπτώματα, όπως πυρετός, αναιμία, βλάβη πολλών οργάνων (ήπαρ, καρδιά, νεφροί, αιμοποιητικό). Η εξέλιξη σε μη αναστρέψιμη πολυοργανική ανεπάρκεια οδηγεί τελικά σε θάνατο. [13]

Είναι γνωστό ότι οι κυτταροκίνες ενέχονται στην ανοσοπαθολογία των ιογενών λοιμώξεων. Η πρώτη απάντηση στην ιογενή λοίμωξη είναι μια συγχρονισμένη και γρήγορη αντίδραση της φυσικής ανοσίας, που αν συνεχιστεί σε υπερβολικό βαθμό και ανεξέλεγκτα μπορεί να αποβεί καταστροφική. [14]

Σε ασθενείς που έχουν προσβληθεί από SARS-CoV-2, η προφλεγμονώδης απάντηση και ιδιαίτερα ο καταρράκτης κυτταροκινών έχουν κεντρικό ρόλο στην παθογένεια της COVID-19. Ασθενείς με COVID-19 έχουν υψηλά επίπεδα προ- και φλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως ιντερλευκίνη (IL)-1 β , IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-18, παράγοντα νέκρωσης όγκων α (tumor necrosis factor -TNF- α), granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF), granulocyte-macrophage colony-

stimulating factor, fibroblast growth factor, macrophage inflammatory protein 1, σε σύγκριση με υγιή πληθυσμό. [15-17]



Εικόνα 2. Ο καταρράκτης κυτταροκινών [19]

Χωρίς να έχει κατανοηθεί πλήρως, ο καταρράκτης κυτταροκινών στην COVID19 φαίνεται να ξεκινάει οκτώ με δέκα ημέρες μετά την έναρξη των συμπτωμάτων. Κλινικά χαρακτηρίζεται από υψηλό πυρετό, δύσπνοια, υποξυγοναιμία, και αμφοτερόπλευρα πνευμονικά διηθήματα και μπορεί ταχύτατα να εξελιχθεί σε ARDS και πολυοργανική ανεπάρκεια και θάνατο. Συχνά συνυπάρχουν διαταραχές πήξης. [18, 19]

Ο έγκαιρος προσδιορισμός αυτών των ασθενών με την υπερφλεγμονώδη αντίδραση καθώς και το υποκείμενο ανοσολογικό προφίλ, θα μπορούσε να καθορίσει τη θεραπευτική παρέμβαση. [20]

Ο ρόλος του φλεγμονοσώματος

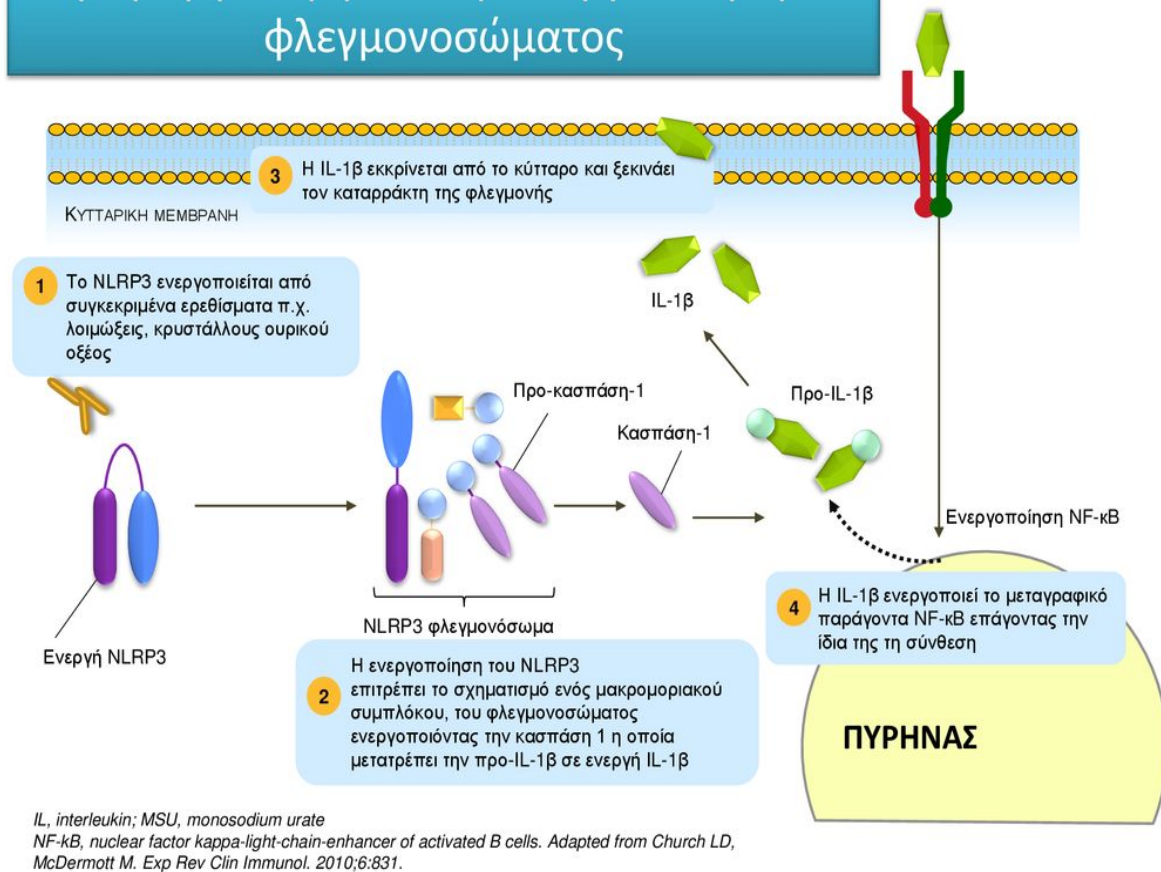
Το σύστημα της έμφυτης ανοσίας αναγνωρίζει τα σημάδια «κινδύνου» εντοπίζοντας μικροβιακά μοτίβα μέσω υποδοχέων αναγνώρισης προτύπων (pattern-recognition receptors-PRRs). Αυτοί οι υποδοχείς εκφράζονται στα κύτταρα άμυνας της πρώτης γραμμής. Οι PRRs αναγνωρίζουν δομές από εξωγενείς μικροοργανισμούς (pathogen-associated molecular patterns-PAMPs) ή από ενδογενή συστατικά του οργανισμού (danger associated molecular patterns -DAMPs) ως κίνδυνο, οπότε σημαίνουν «συναγερμό». [21]

Ένα είδος τέτοιων υποδοχέων (PRR) είναι οι κυτταροπλασματικοί υποδοχείς Nod-like receptors-NLRs (Nucleotide-binding oligomerization domain, leukine-rich repeat family). Μέλη της οικογένειας των NLRs σχηματίζουν μεγάλα πρωτεϊνικά συμπλέγματα που ονομάζονται φλεγμονοσώματα.

Τα φλεγμονοσώματα ενεργοποιούν την πρωτεάση κασπάση 1, που με τη σειρά της ενεργοποιεί την απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτταροκινών της οικογένειας της IL-1 (προ-ιντερλευκίνης 1β, IL18) και τη μετατροπή τους σε ιντερλευκίνη 1β. [22, 23] (Εικόνα 3)

Το NLRP3 φλεγμονόσωμα ανήκει στην οικογένεια των ενδοκυττάρων υποδοχέων NLR. Έχει μελετηθεί ο ρόλος του σε πνευμονικές νόσους, συμπεριλαμβανομένων και των λοιμώξεων του αναπνευστικού αλλά και της εκδήλωσης ARDS. [24]

Παραγωγή IL-1β μετά την ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος



Εικόνα 3.

Στην COVID19, η άμεση απάντηση του οργανισμού καθοδηγείται κυρίως από τα κυψελιδικά μακροφάγα που ενεργοποιούνται από PAMPs και DAMPs που απελευθερώνονται από τα μολυνθέντα, αποπίπτοντα πνευμονοκύτταρα. Τα κυψελιδικά μακροφάγα εκκρίνουν TNFα και IL-1β, που σηματοδοτούν την έναρξη της προφλεγμονώδους κατάστασης που έπεται της αρχικής μόλυνσης. Η έκκριση TNFα και IL-1β προκαλεί κυτταρική βλάβη, περαιτέρω παραγωγή PAMPs και DAMPs, συγκέντρωση φλεγμονωδών κυττάρων και ευρεία ενεργοποίηση του NLRP3 φλεγμονοσώματος, τροφοδοτώντας περαιτέρω τη φλεγμονή (positive feedback). Αυτός ο τοπικός κυτταρικός θάνατος επεκτείνεται στο αγγειακό δίκτυο.

Στην εξέλιξη της λοίμωξης από SARS-CoV σε ARDS κομβικό ρόλο έχει η ταχεία, έντονη ενεργοποίηση της φυσικής ανοσίας που πυροδοτεί την ενεργοποίηση του NLRP3 φλεγμονοσώματος και την απελευθέρωση των προϊόντων του. Η IL-1β, ως βασικό προϊόν του φλεγμονοσώματος, φαίνεται να παίζει βασικό ρόλο στην πνευμονική βλάβη. [25, 26]

Σύνδρομο ενεργοποίησης μακροφάγων (Macrophage Activation Syndrome-MAS)

Το σύνδρομο ενεργοποίησης μακροφάγων ή αλλιώς δευτεροπαθής αιμοφαγοκυτταρική λεμφοϊστοκυττάρωση (secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis- sHLH) χαρακτηρίζεται από ταχεία εμφάνιση καταιγίδας κυτταροκινών που οδηγεί σε πολυοργανική ανεπάρκεια. Έχει περιγραφεί ως επιπλοκή αιματολογικών νοσημάτων, αυτοάνοσων νοσημάτων και λοιμώξεων, ιδίως ιογενών. [27]

Η κλινική του εικόνα περιλαμβάνει πυρετό, σπληνομεγαλία, επηρεασμένη ηπατική λειτουργία, κυτταροπενίες (λεμφοπενία, θρομβοπενία), αυξημένα τριγλυκερίδια, αυξημένη φερριτίνη και νευρολογικές διαταραχές. [28] Η παθογένεια του συνδρόμου σχετίζεται με αυξημένη ενεργοποίηση των μακροφάγων και των κυττάρων φυσικοί φονείς (Natural Killers-NK cells), τα οποία υπερπαραγωγή IL-1β. Η υπερπαραγωγή IL-1β δρα με αυτοκρινή τρόπο (δηλαδή στο κύτταρο που την παράγαγε) και οδηγεί σε υπερπαραγωγή IL-6, IL-18, IFN γ , φερριτίνης, ενώ η συνεχιζόμενη ενεργοποίηση των μακροφάγων οδηγεί σε ένα φαύλο κύκλο περαιτέρω παραγωγής κυταροκινών και φλεγμονώδους απάντησης. [29]

Ο κεντρικός ρόλος της IL-1 στην παθογένεια του συνδρόμου υπογραμμίζεται από την άριστη κλινική ανταπόκριση στον αποκλεισμό της.

Η διάγνωση γίνεται με κλινικά και εργαστηριακά κριτήρια. Ευρέως χρησιμοποιείται το HScore που περιλαμβάνει εννέα μεταβλητές με αντίστοιχη βαθμολογία για την καθεμία. Υπολογίζεται η ύπαρξη υποκείμενης ανασοκαταστολής, πυρετού, ηπατοσπληνομεγαλίας, υπερτριγλυκεριδαιμίας, υπερφερριτιναιμίας, αυξημένης ασπαρτικής τρανσαμινάσης –AST, υποϊνωδογοναιμίας, κυτταροπενίας και η

παρουσία αιμοφαγοκυττάρωσης στο μυελό των οστών. Η τιμή του συνολικού σκορ κυμαίνεται από 0 έως 337, με πιθανότητα <1% να υπάρχει HLH αν το σκορ είναι <90 βαθμοί και αντίστοιχα, πιθανότητα >99% αν το Hscore είναι ≥ 241 . [30]

Όλο και περισσότερες μελέτες παρομοιάζουν την εικόνα του καταρράκτη κυτταροκινών που σχετίζεται με σοβαρή COVID19 με το βιοχημικό προφίλ του MAS/sHLH. Τυπικά οι ασθενείς αυτοί θα αναπτύξουν ARDS, ενώ φαίνεται ότι η ανεύρεση σταθερά αυξημένων επιπέδων IL-6 και IL-1 στον ορό συνδέεται με μειωμένη επιβίωση. Η υπερφλεγμονή αυτή στην COVID-19 φαίνεται να αφορά κυρίως το πνευμονικό παρέγχυμα, άρα και την ανάπτυξη ARDS. [31-34]

Το ερώτημα που πρέπει να απαντηθεί είναι σε ποια συχνότητα οι ασθενείς με σοβαρή COVID-19 και κλινικές εκδηλώσεις καταρράκτη κυτταροκινών έχουν επιπλέον χαρακτηριστικά MAS και άρα θα ωφεληθούν από ειδική ανοσοκατασταλτική θεραπεία. Επίσης ποιοι επιπλέον βιοδείκτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διάγνωση του συνδρόμου, αφού τα εργαστηριακά και κλινικά κριτήρια συχνά είναι μη ειδικά.

Οι *Giamarellos-Bourboulis et al.* έδειξαν ότι σε ασθενείς με σοβαρή COVID-19, που εξελίσσεται σε αναπνευστική ανεπάρκεια που συνήθως απαιτεί μηχανικό αερισμό, φαίνεται να κυριαρχούν δύο ξεχωριστά ανοσολογικά πρότυπα. Το ένα τέταρτο των ασθενών αυτών έχουν χαρακτηριστικά του συνδρόμου ενεργοποίησης μακροφάγων, με αυξημένα επίπεδα IL-1 β στον ορό. Οι υπόλοιποι ασθενείς εμφανίζουν μια πιο σύνθετη ανοσιακή απάντηση, με χαρακτηριστικά ανοσιακής απορρύθμισης, λεμφοπενία και υπερπαραγωγή IL-6. [35]

Η χρήση του Hscore για τον προσδιορισμό αυτών των ασθενών ίσως δεν εφαρμόζεται με την ίδια ευαισθησία και ειδικότητα στην COVID-19, καθώς συνήθως απουσιάζει η οργανομεγαλία, οι πενίες αφορούν κατά κύριο λόγο τη λεμφοπενία και στην κλινική πράξη είναι δύσκολο να ελεγχθεί ο μυελός των οστών. Παρόλα αυτά, η ύπαρξη κάποιων κριτηρίων θα εγείρει ισχυρή κλινική υποψία για υπερφλεγμονή και κατ' επέκταση επιδείνωση της κλινικής εικόνας του ασθενούς. [36, 37]

Άλλοι προτεινόμενοι βιοδείκτες είναι η δραστηριότητα των NK κυττάρων, οι διαλυτοί υποδοχείς ιντερλευκίνης 2 (Soluble IL-2 receptor), [38] ο διαλυτός υποδοχέας ουροκινάσης πλασμινογόνου (Soluble urokinase plasminogen activator receptor - suPAR) [39].

Ο προσδιορισμός των ασθενών που εντάσσονται στο ένα ή το άλλο πρότυπο υπερφλεγμονώδους αντίδρασης μέσω του προφίλ της ανοσολογικής απόκρισης και

ορισμένων βιοδεικτών θα μπορούσε να κατευθύνει την επιλογή ειδικού φαρμάκου έναντι της δράσης των κυτταροκινών, ακόμη και συνδυασμού τους. Ο χρόνος έναρξης, η διάρκεια θεραπείας και η δοσολογία χορήγησης είναι υπό διερεύνηση. [16, 35, 38, 40]

Στοχεύοντας την IL-1β

Η IL-1β παράγεται κυρίως από τα μονοκύτταρα, τα μακροφάγα και τα δενδριτικά κύτταρα, αλλά και από επιθηλιακά και ενδοθηλιακά κύτταρα. Η οικογένεια της IL-1 περιλαμβάνει τις IL-1α και IL-1β, τις IL-18, IL-33, IL-36, IL-37 και IL-38 και τον αναστολέα της, την IL-1Ra (IL-1 Receptor antagonist). Η IL-1 είναι η μοναδική κυτταροκίνη με φυσικό αναστολέα.

Πρόσφατες μελέτες έχουν αποδείξει το σημαντικό ρόλο της οικογένειας της IL-1 στη φλεγμονή, όπου μέσω σύνθετων λειτουργιών ενορχηστρώνει τη φυσική και επίκτητη ανοσολογική απάντηση. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις δρα σαν τοπικός μεσολαβητής της φλεγμονής, ενώ σε μεγαλύτερες έχει συστηματική δράση με πυρετό, επαγωγή έκκρισης IL-6 από τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων, επαγωγή της σύνθεσης πρωτεϊνών οξείας φάσεως, ουδετεροφιλία, θρομβοκυττάρωση, αναιμία. Καθοριστικός φαίνεται να είναι ο ρόλος τους σε πολλές παθολογικές καταστάσεις, το φάσμα των οποίων περιλαμβάνει αυτοάνοσα και αυτοφλεγμονώδη νοσήματα μέχρι καρδιαγγειακές διαταραχές και μορφές καρκίνου. [41, 42]

Το anakinra είναι ανταγωνιστής του υποδοχέα της ανθρώπινης ιντερλευκίνης-1 . Εξουδετερώνει τη βιολογική δραστηριότητα της ιντερλευκίνης -1α (IL-1α) και της ιντερλευκίνης-1β (IL-1β) αναστέλλοντας ανταγωνιστικά τη δέσμευσή τους στον υποδοχέα τύπου I της ιντερλευκίνης -1 (IL-1RI)

Οι θεραπευτικές ενδείξεις του περιλαμβάνουν:

- A) Τη ρευματοειδή αρθρίτιδα
- B) Τα περιοδικά σύνδρομα σχετιζόμενα με την κρουοπυρίνη (CAPS)
- Γ) Τον Οικογενή Μεσογειακό Πυρετό (FMF)

Δ) Τη συστηματική νεανική ιδιοπαθή αρθρίτιδα (SJIA) και τη νόσο Still των ενηλίκων (AOSD) [43]

Υπάρχουν δεδομένα για την αποτελεσματικότητα από τη χρήση του anakinra , στην αντιμετώπιση του καταρράκτη κυτταροκινών και του συνδρόμου ενεργοποίησης μακροφάγων στη σήψη. [44]

Σε μελέτη από τους Kyriazorouliou et al εξετάστηκε το όφελος στην επιβίωση σε ασθενείς με σήψη και χαρακτηριστικά συνδρόμου ενεργοποίησης μακροφάγων με αποκλεισμό της IL-1. Υπολογίστηκε ότι η συχνότητα του συνδρόμου ενεργοποίησης μακροφάγων στους σηπτικούς ασθενείς είναι 3,7-4,3%. Το σημείο κλειδί έγκειται στην υπερενεργοποίηση των ιστικών μακροφάγων που οδηγεί σε εκτεταμένη παραγωγή IL-1β, IL-18 και φερριτίνης, με την τελευταία να αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την επιβίωση (με τιμές μεγαλύτερες ή ίσες με 4.420ng/ml να έχουν ειδικότητα 97%). [45]

Οι Monteagudo et al. ανέφεραν 5 περιστατικά με καταρράκτη κυτταροκινών (τα δύο με επιβεβαιωμένη ιογενή λοίμωξη) , στα οποία συνεχής ενδοφλέβια έγχυση anakinra είχε σαν αποτέλεσμα κλινική και εργαστηριακή βελτίωση. [46]

Σε ανάλυση δεδομένων πολυκεντρικής μελέτης , οι Shakoory et al απέδειξαν όφελος στην επιβίωση ασθενών με σήψη και χαρακτηριστικά συνδρόμου ενεργοποίησης μακροφάγων που έλαβαν θεραπεία με anakinra. [47]

To anakinra στην COVID19

Τα δεδομένα για την παθοφυσιολογία της σοβαρής COVID-19 οδήγησαν αρκετές ομάδες επιστημόνων στην υπόθεση ότι το anakinra, έχοντας δείξει αποτελεσματικότητα σε καταστάσεις sHLH, μπορεί να αποτελέσει υποσχόμενη θεραπεία, αναστέλλοντας την εξέλιξη της υπερφλεγμονής. [48,49]

Κατά την εξέλιξη της πανδημίας COVID-19 έχουν δημοσιευτεί αρκετά δεδομένα από τη χρήση του anakinra, σε case report και μελέτες κοορτής ασθενών που νοσηλεύονταν με συμπτώματα ενδεικτικά επιδεινούμενης αναπνευστικής λειτουργίας που περιγράφουν ωφέλεια από τη χρήση του anakinra.

Οι Aouba A et al παρουσίασαν εννέα ασθενείς με μέτρια και σοβαρή COVID-19, νοσηλευόμενους εκτός Μονάδας Εντατικής Θεραπείας, με ανάγκη χορήγησης οξυγόνου ως και 6 λίτρα/λεπτό και τιμές C-αντιδρώσας πρωτεΐνης ≥ 50 mg/L .

Η χρήση του anakinra (υποδορίως 100mg/12ώρες για 3 ημέρες και στη συνέχεια 100mg/24ώρες για άλλες επτά ημέρες) ήταν καλά ανεκτή και αποτελεσματική στην κλινική και εργαστηριακή βελτίωση. Εκτός από μία ασθενή που δεν ολοκλήρωσε τη μελέτη λόγω κλινικής επιδείνωσης και μεταφοράς σε Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, οι υπόλοιποι εννέα ασθενείς παρέμειναν απύρετοι από την 3^η ημέρα χορήγησης του anakinra και εμφάνισαν βελτίωση της αναπνευστικής λειτουργίας και των δεικτών φλεγμονής. Η τιμή της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης εμφάνισε σταδιακή πτώση και ο απεικονιστικός έλεγχος με υπολογιστική τομογραφία θώρακος έδειξε αναστολή της εξέλιξης της νόσου. Οι συγγραφείς καταλήγουν στην ανάγκη αυτά τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα που κατέγραψαν να επιβεβαιωθούν σε μεγαλύτερες μελέτες. [50]

Οι Navarro-Millán I. et al δημοσίευσαν την κλινική εξέλιξη 14 ασθενών με COVID-19 και συμπτώματα καταρράκτη κυτταροκινών και οξείας αναπνευστικής ανεπάρκειας, μετά τη χορήγηση anakinra. Στη μελέτη συμπεριελήφθησαν ασθενείς που είχαν πυρετό, τιμές φερριτίνης $>1,000$ ng/ml και έναν επιπλέον δείκτη υπερφλεγμονής. Η οξεία αναπνευστική ανεπάρκεια προσδιορίστηκε ως ανάγκη χορήγησης οξυγόνου 15 lt με μάσκα μη επανεισπνοής σε συνδυασμό με 6-lt ρινική κάνουλα ή η χρήση υψηλής ροής ρινικής κάνουλας (high-flow nasal cannula). Η χορήγηση anakinra έγινε με δόση 100 mg υποδορίως κάθε 6 ώρες με προοδευτική μείωση, ενώ το πρωτογενές καταληκτικό σημείο ήταν η ανάγκη για μηχανικό αερισμό. Από τους 14 ασθενείς που πληρούσαν τα κριτήρια εισόδου, οι 11 έλαβαν anakinra, με μέγιστη διάρκεια χορήγησης τις 19 ημέρες. Οι 7 από τους ασθενείς που έλαβαν αγωγή με anakinra τις πρώτες 36 ώρες από την έναρξη της αναπνευστικής ανεπάρκειας δεν χρειάστηκαν μηχανικό αερισμό και εξήλθαν του νοσοκομείου, ενώ από τους υπόλοιπους 4 ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με anakinra αλλά χρειάστηκαν υποστήριξη με μηχανικό αερισμό, οι 3 αποσωληνώθηκαν και ο ένας ασθενής πέθανε. Σημειώνεται ότι οι 4 τελευταίοι ασθενείς ξεκίνησαν τη θεραπεία με anakinra μετά την 4^η ημέρα εμφάνισης οξείας αναπνευστικής ανεπάρκειας, ενώ οι ασθενείς που πληρούσαν τα κριτήρια και δεν έλαβαν θεραπεία με anakinra, όλοι χρειάστηκαν επεμβατικό αερισμό.

Τα παραπάνω δεδομένα υποδηλώνουν το πιθανό όφελος από τη θεραπεία ασθενών με COVID-19 και ενδείξεις καταρράκτη κυτταροκινών, όταν αυτή ξεκινά έγκαιρα. [51]

Σε προοπτική μελέτη κοόρτης, οι Kooistra EJ et al, εξέτασαν την αποτελεσματικότητα της θεραπείας με anakinra στην εξέλιξη της κλινικής εικόνας και των δεικτών φλεγμονής σε 21 βαρέως πάσχοντες διασωληνωμένους ασθενείς με COVID-19 και χαρακτηριστικά υπερφλεγμονής, σε σύγκριση με ομάδα που έλαβε τη βασική θεραπεία. Η ομάδα που έλαβε θεραπεία με anakinra εμφάνισε βελτίωση στις τιμές κλινικών και εργαστηριακών παραμέτρων, όπως πυρετού, φερριτίνης, προκαλσιτονίνης, κρεατινίνης και χολερυθρίνης. Δεν παρατηρήθηκε διαφορά στην ομάδα που έλαβε θεραπεία με anakinra με την ομάδα ελέγχου στην τιμή των κυκλοφορούντων κυτταροκινών και στη διάρκεια του μηχανικού αερισμού και της παραμονής σε Μονάδα Εντατικής Θεραπείας την 28^η ημέρα.

Οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι η θεραπεία με anakinra είναι αποτελεσματική στη βελτίωση της υπερφλεγμονής στους ασθενείς με σοβαρή COVID-19, καταλήγοντας στην ανάγκη τυχαιοποιημένης μελέτης για να επιβεβαιώσει τα παραπάνω. [52]

Σε αναδρομική μελέτη κοόρτης 9 ασθενών με COVID-19 ARDS και καταρράκτη κυτταροκινών από τους Iglesias-Julían E. et al, χορηγήθηκε anakinra υποδορίως, 100 mg κάθε 6 ώρες. Μετά από θεραπεία για επτά ημέρες, βελτιώθηκε ο λόγος PaO₂/FiO₂ και σημειώθηκε σημαντική μείωση στις τιμές της φερριτίνης, της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης, καθώς και της IL-6. Σε σύγκριση με ομάδα ασθενών που λάμβανε tocilizumab, η θεραπεία με anakinra είχε παρόμοιο όφελος, χωρίς την ανεπιθύμητη ενέργεια της αύξησης των τιμών των αμινοτρανσφερασών. [53]

Οι Balkhair A et al πραγματοποίησαν μια προοπτική παρεμβατική μελέτη με στόχο να αξιολογήσουν την αποτελεσματικότητα της θεραπείας με anakinra σε νοσηλευόμενους ασθενείς με σοβαρή COVID-19 και ανάγκη χορήγησης οξυγόνου. Χορηγήθηκε anakinra υποδορίως, 100 mg δύο φορές την ημέρα για 3 ημέρες, και στη συνέχεια 100 mg την ημέρα για 7 ημέρες, επιπλέον της βασικής θεραπείας σε 45 ασθενείς, ενώ η ομάδα ελέγχου 24 ασθενών έλαβε τη βασική και υποστηρικτική θεραπεία. Τα κύρια καταληκτικά σημεία ήταν η ανάγκη για μηχανικό αερισμό και ο θάνατος, ενώ δευτερευόντως η απεξάρτηση από την οξυγονοθεραπεία και η βελτίωση των δεικτών φλεγμονής. Στην ομάδα που έλαβε θεραπεία με anakinra το

31% χρειάστηκε υποστήριξη με μηχανικό αερισμό, έναντι του 75% της ομάδας ελέγχου, με ταυτόχρονη βελτίωση των δεικτών φλεγμονής και σταδιακή αποκλιμάκωση της ανάγκης χορήγησης οξυγόνου.

Συμπερασματικά, σε ασθενείς με σοβαρή πνευμονία και ανάγκη για χορήγηση υψηλής παροχής οξυγόνου η θεραπεία με anakinra μπορεί να αποτελέσει αποτελεσματική επιλογή και να επιφέρει κλινική βελτίωση. [54]

Οι Cavalli et al. παρουσίασαν 29 ασθενείς με COVID-19, ARDS και υπερφλεγμονή (η οποία ορίστηκε ως C-αντιδρώσα πρωτεΐνη $\geq 100\text{mg/L}$ ή/και φερριτίνη $\geq 900\text{ng/mL}$), που αντιμετωπίστηκαν με μη επεμβατικό μηχανικό αερισμό, εκτός μονάδας εντατικής θεραπείας και έλαβαν θεραπεία με υδροξυχλωροκίνη και lopinavir-ritonavir. Σύγκριναν τα αποτελέσματα στη συνολική επιβίωση, στην επιβίωση εκτός μηχανικού αερισμού, τις αλλαγές στην τιμή της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης, της αναπνευστικής λειτουργίας και της κλινικής εικόνας σε μια κοορτή ασθενών που έλαβαν επιπλέον θεραπεία με anakinra (είτε 5 mg/kg δύο φορές την ημέρα ενδοφλεβίως, είτε 100mg δύο φορές την ημέρα υποδορίως) με κοορτή ασθενών που δεν έλαβαν anakinra. Τα αποτελέσματα αξιολογήθηκαν την 21^η ημέρα. Το 72% των ασθενών που έλαβαν υψηλή δόση anakinra εμφάνισαν μείωση στην τιμή της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης και της αναπνευστικής λειτουργίας, ενώ το 17% χρειάστηκε μηχανικό αερισμό και το 10% κατέληξε. Στην ομάδα της βασικής θεραπείας το 50% εμφάνισε αναπνευστική βελτίωση, το 6% χρειάστηκε μηχανικό αερισμό, ενώ το 44% είχε θανατηφόρα έκβαση.

Σε αυτή την αναδρομική μελέτη κοορτής ασθενών με COVID-19 and ARDS εκτός Μονάδας Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ), η θεραπεία με υψηλή δόση anakinra ήταν ασφαλής και συσχετίστηκε με κλινική βελτίωση στο 72% των ασθενών. [55]

Οι Huet et al σε αναδρομική μελέτη κοορτής (retrospective cohort study) αξιολόγησαν τη χορήγηση anakinra σε ασθενείς με σοβαρή COVID-19 και συμπτώματα ενδεικτικά επιδεινούμενης αναπνευστικής λειτουργίας

Συμπεριέλαβαν 52 ασθενείς που έλαβαν υποδορίως anakinra (100 mg δύο φορές την ημέρα για 72 ώρες και στη συνέχεια 100 mg την ημέρα για 7 ημέρες) και ομάδα ελέγχου με 44 ασθενείς, με καταληκτικό σημείο είτε τη μετάβαση σε ΜΕΘ λόγω ανάγκης μηχανικού αερισμού είτε το θάνατο. Ανάγκη για επεμβατικό μηχανικό αερισμό και νοσηλεία σε ΜΕΘ ή θάνατος καταγράφηκε στο 25% των ασθενών που

έλαβαν anakinra , ενώ αντίστοιχα στην ομάδα ελέγχου στο 73% των ασθενών. Το όφελος της θεραπείας με anakinra παρέμεινε σημαντικό και στην πολυπαραγοντική ανάλυση των δεδομένων.

Τα δεδομένα της μελέτης υποστηρίζουν ότι η θεραπεία με anakinra μείωσε την ανάγκη για μηχανικό αερισμό και τη θνητότητα σε ασθενείς με σοβαρή COVID-19, χωρίς να καταγραφούν σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες. [56]

Οι Dimopoulos et al. περιέγραψαν 8 περιστατικά ασθενών με σοβαρή COVID-19, οι επτά νοσηλεύομενοι σε Μονάδα Εντατικής Θεραπείας και ένας εκτός, που έλαβαν θεραπεία με anakinra , 200 mg ενδοφλεβίως /8 ώρες για επτά ημέρες. Οι ασθενείς είχαν χαρακτηριστικά δευτεροπαθούς αιμοφαγοκυτταρικής λεμφοϊστικοκυττάρωσης, βάσει του HScore, που περιλάμβανε παραμέτρους όπως διαταραχές πήξης, παγκυτταροπενία, οξεία νεφρική βλάβη, διαταραχή ηπατικής λειτουργίας. Με το πέρας της θεραπείας οι ασθενείς στη ΜΕΘ είχαν λιγότερη ανάγκη για αγγειοσύσπασση, σημαντική βελτίωση αναπνευστικής λειτουργίας και χαμηλότερη τιμή HScore.

Οι συγγραφείς υποστηρίζουν ότι η χορήγηση Anakinra μπορεί να ωφελήσει ασθενείς με σοβαρή COVID-19 και χαρακτηριστικά sHLH. [57]

Σε μία πολυκεντρική τυχαιοποιημένη ανοιχτή μελέτη, την CORIMUNO-ANA-1, 116 ασθενείς από 16 νοσοκομεία στη Γαλλία με μέτρια προς σοβαρή COVID-19. τυχαιοποιήθηκαν με αναλογία 1:1 και έλαβαν είτε τη συνήθη θεραπεία συν θεραπεία με anakinra (σε δόση 200 mg δύο φορές την ημέρα για 3 ημέρες, 100 mg δύο φορές την 4^η ημέρα και 100 mg άπαξ την 5^η ημέρα) είτε μόνο τη συνήθη θεραπεία. Τα κριτήρια εισόδου περιλάμβαναν την ανάγκη οξυγονοθεραπείας με χορήγηση τουλάχιστον 3 lt/λεπτό σε μη επεμβατικό αερισμό, σκορ 5 στην κλίμακα βαρύτητας του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO Clinical Progression Scale, WHO-CPS) [59] και τιμή C- αντιδρώσας πρωτεΐνης >25 mg/L και μη ανάγκη νοσηλείας σε Μονάδα Εντατικής Θεραπείας κατά την προσέλευση στο νοσοκομείο.

Σε ότι αφορά τα κύρια καταληκτικά σημεία της βελτίωσης την 4^η ημέρα και την ανάγκη για μηχανικό αερισμό ή θάνατο τη 14^η ημέρα, δεν βρέθηκε σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο ομάδες ασθενών.

Το βασικό συμπέρασμα της μελέτης ήταν ότι η θεραπεία με anakinra δεν βελτίωσε την κλινική έκβαση των ασθενών με μέτρια προς σοβαρή COVID-19, σε ό,τι αφορά

τα χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης και τη δόση χορήγησης του anakinra που χρησιμοποιήθηκε. Απαιτούνται περαιτέρω μελέτες που θα αξιολογήσουν την επίδραση της θεραπείας με anakinra σε ομάδες ασθενών με σοβαρή COVID-19.[58]

Οι Kyriazopoulou et al, έδειξαν ότι η χορήγηση anakinra σε ασθενείς με πνευμονία COVID-19 και δείκτη suPAR \geq 6ng/ml μπορεί να εμποδίσει την εξέλιξη σε αναπνευστική ανεπάρκεια και μηχανικό αερισμό και να μειώσει τη θνητότητα. Φάνηκε ότι το anakinra βελτίωσε το ανοσολογικό προφίλ και την ισορροπία προφλεγμονωδών και αντιφλεγμονωδών δεικτών, προστατεύοντας από την εξέλιξη της νόσου. Συγκεκριμένα, 130 ασθενείς με δείκτη suPAR \geq 6 ng/ml, έλαβαν υποδορίως anakinra σε δόση 100 mg μία φορά την ημέρα για 10 ημέρες. Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο ήταν η σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια την 14^η ημέρα, οριζόμενη ως respiratory ratio κάτω των 150 mmHg που χρήζει επεμβατικό ή μη αερισμό. Τα δευτερογενή καταληκτικά σημεία ήταν η συνολική θνητότητα την 30^η ημέρα και οι τιμές των δεικτών φλεγμονής. Σε σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια εξελίχθηκε το 22.3% των ασθενών που έλαβαν θεραπεία με anakinra και το 59.2% της ομάδας σύγκρισης. Η θνητότητα την 30^η ημέρα ήταν 11.5% και 22.3% αντίστοιχα. Επίσης η θεραπεία με Anakinra συσχετίσθηκε με μείωση δεικτών φλεγμονής.

Οι συγγραφείς προτείνουν τη χρήση του βιοδείκτη suPAR για έγκαιρη εντόπιση των ασθενών που είναι υψηλού κινδύνου για εξέλιξη σε σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια και θα έχουν όφελος από τη χορήγηση του anakinra. [60]

Παρά τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα αυτών των μελετών, χρειάζονται παραπάνω κλινικές τυχαίοποιημένες μελέτες ώστε να επιβεβαιωθεί η αποτελεσματικότητα.

Συμπέρασμα

Στην COVID-19, υπάρχει ομάδα ασθενών που εμφανίζουν σοβαρή νόσο και έχουν τα χαρακτηριστικά του Συνδρόμου ενεργοποίησης μακροφάγων (MAS/sHLH). Η σοβαρή νόσος με MAS εκδηλώνεται μέσω της ενεργοποίησης του φλεγμονωσώματος και της IL-1. Ο στόχος άρα είναι να σταματήσει ο καταρράκτης κυτταροκινών καθώς αυτές διατηρούν τη συνεχή ενεργοποίηση του φλεγμονωσώματος, δηλαδή η ίδια η IL-1 προκαλεί εκ νέου παραγωγή IL-1 και ως εκ τούτου ένα φαύλο κύκλο ενεργοποίησης.

Μάλιστα, λόγω της ταχείας επιδείνωσης που μπορεί να εμφανίσουν οι ασθενείς αυτοί, είναι απαραίτητη η έγκαιρη διάγνωση για την έναρξη της κατάλληλης θεραπείας. Ένας ασφαλής τρόπος να σταματήσει αυτός ο φαύλος κύκλος είναι να αποκλειστεί ο υποδοχέας της IL-1 με τη χορήγηση του anakinra.

Σε ότι αφορά την αναστολή της IL-1 στην COVID-19, υπάρχουν ακόμη κομβικά ερωτήματα. Η κύρια πρόκληση φαίνεται να είναι πώς θα προσδιοριστεί αυτή η ομάδα των ασθενών που θα έχει το μέγιστο όφελος από τη χορήγηση του anakinra, καθώς επίσης και ο χρόνος έναρξης της θεραπείας, η δοσολογία και η χρονική διάρκεια αυτής.

Καθώς η μέτρηση των κυκλοφορούντων επιπέδων της IL-1α και IL-β έχει δυσκολίες, κλινικά χρήσιμοι βιοδείκτες για τον προσδιορισμό αυτών των ασθενών είναι η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, η IL-6, η φερριτίνη και ο δείκτης suPAR.

Βιβλιογραφικές αναφορές

1. 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) 130:2620–9
2. Fei Zhou, MD et al Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study *The Lancet*
- 3 Richardson S, Hirsch JS, Narasimhan M, Crawford JM, McGinn T, Davidson KW, et al. Presenting characteristics, comorbidities, and outcomes among 5700 patients hospitalized with COVID-19 in the New York City area. *JAMA.* (2020) 323:2052–9
4. 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) 130:2620–9.
5. Gong J, Dong H, Xia SQ, Huang YZ, Wang D, Zhao Y, et al. *Correlation analysis between disease severity and inflammation-related parameters in patients with COVID-19 pneumonia.* *Infect Dis (except HIV/AIDS)* 2020. doi: 10.1101/2020.02.25.20025643
6. Channappanavar R, Fehr AR, Vijay R, Mack M, Zhao J, Meyerholz DK, et al. Dysregulated type I interferon and inflammatory monocyte-macrophage responses cause lethal pneumonia in SARS-CoV-infected mice. *Cell Host Microbe.* (2016) 19:181–93.
7. Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Kruger, N., Herrler, T., Erichsen et al.. *SARSCoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor.* *Cell* 181, 271–280.e8. (2020)
8. Bourgonje AR, Abdulle AE, Timens W, Hillebrands JL, Navis GJ, Gordijn SJ et al., *Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), SARS-CoV-2 and the pathophysiology of coronavirus disease 2019 (COVID-19).* *J Pathol.* 2020 Jul; 251(3):228-248.
9. Matthew Zirui Tay, Chek Meng Poh, Laurent Rénia, Paul A. MacAry & Lisa F. P. Ng, *The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention,* *Nat Rev Immunol.* 2020 Jun;20(6):363-374

10. Daniel Blanco-Melo, Benjamin E. Nilsson-Payant, Wen-Chun Liu, Skyler Uhl, Daisy Hoagland, Rasmus Møller *Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19*, Cell 181, 1036–1045
May 28, 2020
11. Bergsbaken T, Fink SL, Cookson BT. *Pyroptosis: host cell death and inflammation*. Nat Rev Microbiol. (2009) 7:99–109. 10.1038
12. Keam S, Megawati D, Patel SK, Tiwari R, Dhama K, Harapan H. *Review: Immunopathology and immunotherapeutic strategies in severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection*. Med Virol. 2020 Sep;30 (5):e2123
13. Behrens, E. M., & Koretzky, G. A. (2017). *Review: Cytokine Storm Syndrome: Looking Toward the Precision Medicine Era*. Arthritis & Rheumatology, 69(6), 1135–1143. doi:10.1002/art.40071
14. Jae Seok Kim, Jun Young Lee, Jae Won Yang, Keum Hwa Lee, Effenberger M., Wladimir Szpirer, *Immunopathogenesis and treatment of cytokine storm in COVID-19*, 2021; 11(1): 316-329
15. Yang, Y. et al *Plasma IP-10 and MCP-3 levels are highly associated with disease severity and predict the progression of COVID-19*, J Allergy Clin Immunol. 2020 Jul; 146(1): 119–127.e4
16. Iannaccone G., Scacciavillania R, Del Buono M G, Camillia M, Roncob C, Lavied C et al, *Weathering the Cytokine Storm in COVID-19: Therapeutic Implications* Cardioresnal Med, 2020
17. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. *Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China*. Lancet., 2020 Feb;395(10223):497–506.
18. Moore JB, June CH. Cytokine release syndrome in severe COVID-19. Science 2020; 368:473–4
19. Castelli V, Cimini A and Ferri C (2020) *Cytokine Storm in COVID-19: “When You Come Out of the Storm, You Won’t Be the Same Person Who Walked in”*. Front. Immunol. 11:2132. *εικόνα 2
20. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ, et al. . *COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression*. Lancet. (2020) 395:1033– 1034
21. Kumar H, Kawai T, Akira S. *Pathogen recognition by the innate immune system*. Int Rev Immunol. 2011 Feb;30(1):16-34

22. Lamkanfi M, Dixit VM. *Mechanisms and functions of inflammasomes*. Cell. 2014 May 22;157(5):1013-22. .
23. Zhao C, Zhao W. *NLRP3 inflammasome-a key player in antiviral responses*. Front Immunol. (2020) 11:211. 10.3389
24. Howrylak JA, Nakahira K. *Inflammasomes: Key Mediators of Lung Immunity*. Annu Rev Physiol. 2017 Feb 10;79:471-494.
25. Freeman T.L. and Swartz T.H, *Targeting the NLRP3 Inflammasome in Severe COVID-19*, Front Immunol. 2020
26. Yap, J. K. Y., Moriyama, M., Iwasaki, A., *Inflammasomes and Pyroptosis as Therapeutic Targets for COVID-19*. J Immunol 2020 Jul 15;205(2):307-312
27. Ramos-Casals, *Adult haemophagocytic syndrome*. Lancet 2014
28. Karakike E. *Macrophage activation-like syndrome: a distinct entity leading to early death in sepsis*. Front Immunol 2019; Jan 31;10:55.
29. Crayne C.B, Albeituni S, Nichols K.E. Cron R.Q., *The Immunology of Macrophage Activation Syndrome* Front. Immunol.2019, 10:119.
30. Fardet L., Galicier L., Lambotte O., Marzac C., Aumont C., Chahwan D. et al. *Development and validation of the HScore, a score for the diagnosis of reactive hemophagocytic syndrome*. Arthritis. Rheumatol. 2014 ;66:2613–2620.
31. Soy M, Atagündüz P, Atagündüz I, Sucak GT., *Hemophagocytic lymphohistiocytosis: a review inspired by the COVID-19 pandemic.*, Rheumatol Int. 2021 Jan;41(1):7-18
32. McGonagle D, Sharif K, O'Regan A, Bridgewood C. *The role of cytokines including interleukin-6 in COVID-19 induced pneumonia and macrophage activation Syndrome-Like disease*. Autoimmun Rev 2020;19:102537
33. Opoka-Winiarska V, Grywalska E, Roliński *Could hemophagocytic lymphohistiocytosis be the core issue of severe COVID-19 cases?* J.BMC Med. 2020 Jul 15;18(1):214
34. Prilutskiy A, Kritselis M, Shevtsov A, Yambayev I, Vadlamudi C, Zhao Q, et al, *SARS-CoV-2 Infection-Associated hemophagocytic lymphohistiocytosis*. Am J Clin Pathol 2020;154:466–474
35. Giamarellos-Bourboulis et al *Complex Immune Dysregulation in COVID-19 Patients with Severe Respiratory Failure*, Cell Host Microbe, 2020 Jun 10;27(6):992-1000.e3.

36. Hakim NN, Chi J, Olazagasti C, Liu JM. *Secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis versus cytokine release syndrome in severe COVID-19 patients*. *Exp Biol Med*. 2021 Jan; 246(1):5-9. Epub 2020 Sep 24.
37. Yongzhi X. *COVID-19-associated cytokine storm syndrome and diagnostic principles: an old and new Issue*. *Emerg Microbes Infect*. 2021 Dec;10(1):266-276
38. Chu R, van Eeden C, Suresh S, Sligl WI, Osman M, Cohen Tervaert JW *Do COVID-19 Infections Result in a Different Form of Secondary Hemophagocytic Lymphohistiocytosis*. *Int J Mol Sci*. 2021 Mar 15;22(6): 2967
39. Rovina N, Akinosoglou K, Eugen-Olsen J, Hayek S, Reiser J, Giamarellos-Bourboulis EJ. 2020. *Soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) as an early predictor of severe respiratory failure in patients with COVID-19 pneumonia*. *Critical Care* 24:187.
40. Wood H, Jones J, Hui K, Mare T, Pirani T, Galloway J et al, *Secondary HLH is uncommon in severe COVID-19*. *Br J Haematol* 2020
41. Mantovani A, Dinarello CA, Molgora M, Garlanda C., *Interleukin-1 and Related Cytokines in the Regulation of Inflammation and Immunity*. *Immunity*. 2019 Apr 16;50(4):778-795.
42. Yazdi AS, Ghoreschi K., *The Interleukin-1 Family*. *Adv Exp Med Biol*. 2016;941:21-29
43. EMA (European Medicines Agency), EMA/258677/2020 EMEA/H/C/000363 Kineret (ανακίνρα) Ανασκόπηση του Kineret και αιτιολογικό έγκρισης στην ΕΕ
44. Mehta P, Cron RC, Hartwell J, Manson JJ, Tattersall RS. *Silencing the cytokine storm: the use of intravenous anakinra in haemophagocytic lymphohistiocytosis or macrophage activation syndrome*. *Lancet Rheumatol* 2020
45. Kyriazopoulou E, Leventogiannis K, Norrby-Teglund A, Dimopoulos G, Pantazi A, Orfanos SE, *Macrophage activation-like syndrome: an immunological entity associated with rapid progression to death in sepsis*, *BMC Med*. 2017 Sep 18;15(1):172.
46. Monteagudo LA, Boothby A, Gertner E. *Continuous Intravenous Anakinra Infusion to Calm the Cytokine Storm in Macrophage Activation Syndrome*. *ACR Open Rheumatol*. 2020 May;2(5):276-282
47. 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;44:275–81.

48. Van de Veerdonk F, Netea M.G. *Blocking IL-1 to prevent respiratory failure in COVID-19* Critical Care (2020) 24:445

49. Priyanka Nemchand, Hassan Tahir, Rapti Mediwake, Jeffrey Lee *Case report Cytokine storm and use of anakinra in a patient with COVID-19*

50. Aouba A, Baldolli A, Geffray L, et al. *Targeting the inflammatory cascade with anakinra in moderate to severe COVID-19 pneumonia: case series.* Ann Rheum Dis. 2020

51. Navarro-Millán I, Sattui SE, Lakhanpal A, Zisa D, Siegel CH, Crow MK. *Arthritis Rheumatol. Use of Anakinra to Prevent Mechanical Ventilation in Severe COVID-19: A Case Series.* 2020 Dec;72(12):1990-1997.

52. Kooistra EJ, Waalders NJB, Grondman I, Janssen NAF, de Nooijer AH, Netea MG et al; *Anakinra treatment in critically ill COVID-19 patients: a prospective cohort study* RCI-COVID-19 Study Group. Crit Care. 2020 Dec 10;24(1):688

53. Iglesias-Julián E, López-Veloso M, de-la-Torre-Ferrera N, Barraza-Vengoechea JC, Delgado-López PD, Colazo-Burlato M, *High dose subcutaneous Anakinra to treat acute respiratory distress syndrome secondary to cytokine storm syndrome among severely ill COVID-19 patients.*, J Autoimmun. 2020 Dec;115:102537. doi: 10.1016/j.jaut.2020.102537

54. Balkhair A, Al-Zakwani I, Al Busaidi M, Al-Khribash A, Al Mubaihsi S, BaTaher H *Anakinra in hospitalized patients with severe COVID-19 pneumonia requiring oxygen therapy: Results of a prospective, open-label, interventional study.* Int J Infect Dis. 2021 Feb;103:288-296.

55. Cavalli G, De Luca G, Campochiaro C, Della-Torre E, Ripa M, Canetti D et al *Interleukin-1 blockade with high-dose anakinra in patients with COVID-19, acute respiratory distress syndrome, and hyperinflammation: a retrospective cohort study.* Lancet Rheumatol. 2020 Jun; 2(6):e325-e331.

56. Huet T, Beaussier H, Voisin O, Jouveshomme S, Dauriat G, Lazareth I, et al *Anakinra for severe forms of COVID-19: a cohort study.* Lancet Rheumatol. 2020 Jul; 2(7):e393-e400.

57. Dimopoulos G, de Mast Q, Markou N, Theodorakopoulou M, Komnos A, Mouktaroudi M. et al. *Favorable anakinra responses in severe covid-19 patients with*

secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis. Cell Host Microbe 2020; 28:117–123

58. CORIMUNO-19 Collaborative group *Effect of anakinra versus usual care in adults in hospital with COVID-19 and mild-to-moderate pneumonia (CORIMUNO-ANA-1): a randomised controlled trial* Lancet Respir Med 2021 Mar;9(3):295-304.

59. WHO Working Group on the Clinical Characterisation and Management of COVID-19 infection *A minimal common outcome measure set for COVID-19 clinical research* Lancet Infect Dis 2020 June 12, [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30483-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30483-7)

60. Kyriazopoulou et al, *An open label trial of anakinra to prevent respiratory failure in COVID-19*, eLife 2021