



Patienter med covid-19 infektion i behov av BIVA vård

Immunopatologiska mekanismer och medicinsk behandlingsplan

Baserad på en litteraturgenomgång av publicerade artiklar

Inledning - Covid-19 (Coronavirus disease 2019)

Covid-19 orsakas av viruset SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2). Virusinfektionen rapporterades från Wuhan, Kina december 2019 och klassades som pandemi 11 mars 2020 av WHO. SARS-CoV-2 är ett enkelsträngat RNA virus (single-stranded RNA, ssRNA) innehållande 14 gener som bildar ca 27 proteiner, inkluderande enzymer (bl.a. RNA polymeraser, proteaser), spike-, envelope-, membran- och nucleocapsid- proteiner [1]. Spike-proteinerna skapar virusets coronaliknande utseende och gett upphov till dess namn. Spike-proteinets uppbyggnad på SARS-CoV-2 är unik och binder sig till angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) på cellernas yta. SARS-CoV-2 har ännu inte återfunnits på fladdermöss eller andra djurslag, varför dess härkomst fortfarande är oklar [2]. Ett beta-coronavirus som närmast liknar SARS-CoV-2 (96,2 % genöverensstämmelse) är fladdermössviruset, RaTG13, som hämtades från Yunnan provinsen i Kina 2013 och användes vid forskning på coronavirus vid Wuhan Institute of Virology i Kina [3]. Detta har lett till en fortsatt debatt om virusets härstamning och tillkomst samt lett till att president Biden, USA tillsatt en kommitté för att utreda frågan närmare 2021. Utredning har kommit med ett utlåtande baserat på insamlad information fram till augusti 2021 [4]. Utredarna noterar att flera preliminära forskningsrapporter och föredrag om forskning på just coronaviruset kom från Wuhan Institutet före pandemins utbrott. Vidare noteras att flera forskare vid Wuhan Institutet uppges ha insjuknat med covid-19 liknande symtom under hösten 2019, varav en dog under oklara förhållande. Tre forskargrupper anser att viruset har en genetiskt manipulerad arvs massa. Eftersom man inte kunnat identifiera de första fallen, genetisk manipulation är svårvärderad och att kinesiska myndigheter inte låter WHO representanter prata med forskarna vid Wuhan Institutet kan man inte med säkerhet avgöra om smittan kommer från djur eller är en läcka från laboratoriet vid Wuhan Institutet. Utredarna verkar dock besvikna på att kinesiska myndigheter motarbetar försök till klargörande, men anser att de kinesiska myndigheternas officiella förklaring – nämligen att viruset importerats med fryst mat från utlandet och att det spridits och skapats av USA är osannolikt [4].

SARS-CoV-2 sprider sig via små luftburna aerosoler och spridas upptill 5-8 m från en infekterad individ speciellt i dåligt ventilerat rum eller utrymmen [5, 6]. I en vetenskaplig studie på ett liknande ssRNA virus som inte bedöms så smittsamt som SARS-CoV-2 viruset, nämligen respiratory syncytial viruset (RSV), påvisade författarna att levande RSV förekom i luft aerosoler i flera timmar upptill 5 meter från de infekterade barnen, t.o.m. i intensivvårdsrum med 10 luftomsättningar per tim. Eftersom SARS-CoV-2 verkar ha en ännu större spridningspotential genom att snabbt sprida sig globalt trots pågående restriktioner och munskydd får man anta att detta virus är ännu mer smittsamt [7].



Covid-19 ger i ca 80 % inga till milda symtom, i 20 % måttliga symtom, i 5 % blir patienterna svårt sjuka och kräver intensivvård. Mortaliteten uppskattas f.n. till ca 2,3 %, men är åldersberoende med högre dödlighet hos äldre, men har pga förbättrad och systematiserad intensivvård, nytillkomna behandlingar, förändrade virusegenskaper, vaccinationer minskat eftersom pandemin fortgått [8]. Mortaliteten hos intensivvårdade patienter som får "standardbehandling" inkluderande steroider ligger på ca 20-25 % enligt publicerade studier, men har också sjunkit under 20 % [9].

För att kunna förstå varför vissa virus ger harmlösa luftvägsinfektion, men SARS-CoV-2 ger en potentiellt livshotande infektion bör man känna till hur SARS-CoV-2 skiljer sig från andra virus och hur viruset påverkar kroppens inflammatoriska och immunologiska försvarssystem. Sammanställningen beskriver dessa mekanismer och avslutas med en behandlings- och handlägningsplan som vi försöker följa på patienter med covid-19 på BIVA/Lund och som utgår från de publicerade vetenskapliga artiklarna som ingår in denna litteraturgenomgång.

Kroppens ospecifika immunförsvar

Epitelceller och immunologiska celler (makrofager (AM) , dendritiska celler (DC) och T-celler), som är lokaliserade i luftvägen, infekteras när virus inandas. Olika virus binder sig till olika cellulära membranstrukturer när de tar sig in i cellerna, där ofarliga coronavirus (229E, NL63, OC43, HKU1) binder sig till dipeptidyl-peptidas och/eller amino-peptidas, rhinovirus till ICAM-1 receptorn, respiratory syncytial virus (RSV) till IGF1R med intracellulär nucleolin receptor aktivering etc. [10, 11].

SARS-CoV-2, binder sig till enzymet angiotensin converting enzyme 2 (ACE2). Viruset tas upp bundet till ACE2 via endocytos. Denna process bildar små vesiklar i cellen som kallas endosomer. Virusets proteaser och RNA frigörs i endosomen och cellen infekteras. De infekterade cellerna har förmåga att känna igen främmande patogener (Patogen-Associated Molecular Pattern – PAMP) eller skadade egna celler (Damage-Associated Molecular Pattern – DAMP) via speciella receptorer s.k. pattern recognition receptors – (PRR). En viktig typ av PRR är s.k. Toll-Like Receptorer (TLRs) som dels finns extracellulärt på cellernas yta (TLR 1,2,4-6, 10), dels intracellulärt i endosomerna (TLR 3,7,8, 9) [12, 13]. Basal forskning har påvisat att olika ämnen aktiverar olika TLR. Extracellulära TLR reagerar på membranbundna komponenter från bakterier och svamp (hydrofoba proteiner, glykoproteiner och lipider). TLR som finns i endosomerna reagerar på nukleinsyror (DNA/RNA). TLR 3 reagerar på dubbelsträngad RNA, TLR 9 på dubbelsträngad DNA och TLR7/TLR 8 på enkelsträngad RNA (single-stranded RNA, ssRNA) [12].

Två andra intracellulära cytoplasmatiske PRR är nucleotide-oligomerization domain (NOD)-liknande receptorer som känner av bakteriens peptidoglykaner och retinoid-liknande receptorer (RLRs) som känner av virala nukleinsyror. Olika RLRs, som utgörs av bl.a. RIG-I retinoic acid-inducible gene-I-, MDA5 (melanoma differentiation-associated gene 5), and LGP2 (laboratory of genetics and physiology 2) känner igen olika specifika virala RNA, men ingen reagerar säkert mot enkelsträngad RNA (ssRNA) och vid aktivering mot dubbelsträngad RNA ger de huvudsakligen ett Typ I interferonsvar [14, 15]. Således finns inga säkra fynd som stöder att intracellulära



cytoplasmatiska PRR är aktiverade vid SARS-CoV-2 (ssRNA virus) utan att det sker via aktiveringen av TLR i endosomen och således TLR 7/8 [16].

SARS-CoV-2 aktivering av det ospecifika försvaret via TLR7/8

Artiklar om hur SARS-CoV-2 aktiverar det ospecifika försvarets TLRs är svårbedömda på grund av att de till stor del är baserade på experimentella musmodeller. Speciellt när det gäller de specifika TLR 7 och TLR 8 i endosomerna som reagerar på enkelsträngat RNA virus (ssRNA) [16]. Där visar det sig att TLR 8 är aktiv i humana celler men är inaktiv i de musmodeller som använts och därigenom gett en skev uppfattning om dess roll vid SARS-CoV-2 infektionen [16, 17]. Campbell et al. visade att SARS-CoV-2 aktiverar TLR 8 hos människa och därigenom triggar ett proinflammatoriskt cytokin svar [18]. Deras studie är gjord på humana makrofager in vitro, vilket tyvärr innebär att deras fynd att NLRP3 inflammasomen aktiveras (se nedan; IL-1 β och covid-19) i deras laboriemodell inte verkar stämma med de kliniska fynden, där man inte kan verifiera att pro-IL-1 β eller pro-IL-18 aktiveras via caspase-1 vid covid19 [19]. Flera forskare har verifierat att SARS-CoV-2 binds till cellerna via ACE2 och tas upp i cellens endosomer, vilket också gör det mindre troligt att SARS-CoV-2 skulle binda sig i första hand till extracellulära TLR 2 och TLR 4 som en förklaring till det proinflammatoriska svaret. Det finns flera indirekta fynd som talar för att ssRNA virus aktiverar ett TLR 8 beroende proinflammatoriskt svar i humana monocyters/makrofagers endosomer.

TLR 8 aktivering ger en 100-faldigt kraftigare cytokinfrisättning än TLR 7 aktivering [20]. TLR8 aktiveringen hämmar dessutom TLR7 och TLR9 [17]. Aktiveringen av TLR8 i endosomen ger bl.a. upphov till bildningen av transkriptionsfaktorn nuklear factor kappa beta (NF κ B) och transkriptionsfaktorn interferon regulator factor 3 (IRF3) via MyD88. NF κ B inducerar bildningen av flera proinflammatoriska cytokiner (pro-IL-1, pro-IL-18, IL-6, IL-12, TNF- α , IL-8) och kemokiner (MCP-1; monocyte chemoattractant protein -1 även kallat CCL2, MIP-1A; macrophage inflammatory protein 1 alpha, IP-10; interferon- γ -inducible protein 10, även kallat CXCL10, CCL5, även kallat RANTES) som mäts upp på patienter med covid-19 [21]. Via transkriptionsfaktorn IRF3 induceras bildningen av interferon β .

Även om TLR 8 aktiveringen hämmar TLR 7 så sker sannolikt en viss aktivering av TLR7 i dendritiska celler förekommande i plasma, som också bidrar till bildningen av transkriptionsfaktorn NF κ B och interferon regulator factor 7 (IRF7). TLR7 inducerar via IRF7 bildning av interferon α (IFN α).

Vid SARS-CoV-2 infektioner har man noterat ett relativt kraftigt cytokinsvar och ett hämrat Typ I interferonsvar (IFN α/β), med låga nivåer av IFN α , vilket således överensstämmer med en TLR 8 aktivering [19]. Brist på TLR 7 aktivering medför således att Typ I interferon bildningen minskar, vilket visat sig direkt vara associerat med svår covid19 [22]. Signaleringsvägen för typ I interferonerna är däremot intakt och att signaleringsvägens genuttryck till och med är uppreglerat [19]. Typ I interferonerna IFN- α och IFN- β har normalt en viktig antiviral effekt genom att hämma viruset nukleinsyre-replikering. En hämmad virusreplikation minskar virusets förmåga att ytterligare stimulera infektionsförsvaret via reinfektion från infekterade celler. SARS-CoV-2 viruset ger således en begränsad bildning av Typ 1 interferonerna och betydelsen och avsaknad av endogen antiviral effekt påvisas också av att man i drygt 10 % av individerna med svår covid-19



dessutom hittar autoantikroppar mot Typ I - interferoner [23]. Att patienter med TLR7 brist och/eller autoantikroppar mot Typ I interferoner får svår covid19 antyder också att interferonsvaret har betydelse för sjukdomsprocessen.

Interferon α har också visat sig vara viktig för överlevnaden och expansionen av framförallt s.k. memory B-celler som styr antikroppsbildningen och ger upphov till att kroppens immunsystem minns virusets antigena egenskaper. TLR8 aktiveringen med hämmat Typ 1 interferonsvar kan därför också förklara varför infektioner med ssRNA virus inte ger långvarig immunitet och inte ett tillfredställande långvarigt antikroppssvar [20, 24-26]. Ett annat ssRNA virus (respiratory syncytial virus) hämmar också IFN α bildningen, vilket hämmar bildningen av specifika IgA memory B-celler. Detta verkar vara en huvudorsak till ett försämrat försvar för reinfektion vid RSV infektioner och hämningen av typ I interferonerna skulle därför kunna vara en förklaring till att ssRNA virus inte ger så lång immunitet [27].

Dessutom finns s.k. Typ 2 interferon som utgörs av interferon gamma (IFN- γ) som bildas av aktiverade T-celler. IFN- γ aktiverar makrofagernas bildning av ytreceptorn CD40 och ökar deras HLA aktivitet vid presentation av virusantigen. IFN γ stimulerar Janus kinase (JAK) receptorer som via fosforylering aktiverar transkriptionsfaktorn STAT som ytterligare potentierar induktionen av bl.a CD40, IFN γ inducerbart protein-10 (IP-10), IL-12 och nitric oxide synthase (iNOS), som bildar kvävemonoxid (NO), beroende på vilken celltyp som stimuleras [28]. Om induktionen av iNOS sker samtidigt med en NF κ B medierad induktion av iNOS, kan man få en synergistisk stimulering med produktion av stora mängder NO vilket ger upphov till en cirkulatorisk refraktär chock vid t.ex. SARS-CoV-2 infektioner [29].

Cathelicidin, D-vitamin och inaktiveringen av SARS-CoV-2 spike protein

TLR 8 aktiveringen i endosomen inducerar också lokal bildning av den antimikrobiella peptiden, cathelicidin [30]. Detta sker genom att TLR 8 aktiverar cytochrome P450 enzymet, 1 α -hydroxylase (CYP27B1) som överför inaktiv 25-OH-Vitamin D till den biologisk aktiva 1,25-OH-Vitamin D. 1,25-OH-Vitamin D binder sig till vitamin D receptorn (VDR) och transporteras till kärnan där det fungerar som en promotor för bildningen av cathelicidin. Cathelicidin binder sig till spike proteinet på SARS-CoV-2 och inhibera virusets förökning och leder till icke inflammatorisk autofagi [31, 32]. Cathelicidin medverkar således till eliminationen av SARS-CoV-2 antigenet [18, 30, 31]. Vid D-vitaminbrist elimineras inte SARS-CoV-2 antigenet via denna mekanism utan genom att binda sig till specifika SARS-CoV-2 IgG.

När så dessa specifika IgG produceras och binder sig till kvarvarande SARS-CoV-2 antigen, bildas IgG-SARS-CoV-2-antigen komplex som binder sig till makrofagernas/monocyternas Fc-gamma receptorer (CD64) för att bli eliminerade. Makrofagernas/monocyternas frisätter då proinflammatoriska mediatorer som ytterligare bidrar till att potentiera hyperinflammationen [33], vilket kan vara en förklaring till MISC (Multisystem inflammatory syndrom in children) eller MISA (Multisystem inflammatory syndrom in adult).



Aktivt vitamin D 1,25-OH-vitamin D har också visat sig inducera gener som kodar för andra antimikrobiella peptider, men särskilt cathelicidin kan i princip bildas i alla celltyper (epitelceller, makrofager/monocyter och neutrofiler) [34]. D-vitamin nivån har varit mycket låg till odetektbar hos alla MISC patienter som vårdats på BIVA/Lund. Orsaken kan vara att barnen haft en D-vitaminbrist före insjuknandet och att detta bidragit till oförmåga att eliminera SARS-CoV-2 antigenet via autofagi eller att D-vitaminet konsumerats i samband med TLR 8 aktiveringen av 1 α -hydroxylaset. D-vitamin bör således kontrolleras på patienter med covid-19, MISC och MISA och vid behov substitueras.

CD80, CD86 och aktiveringen av T-cellernas CD40L

TLR8 aktiveringen i endosomen inducerar bildning av ytreceptorerna CD80 och CD86 på infekterade epitelceller, AM och DC [35]. T-cellerna kan sedan via sin ytreceptor CD28 binda sig till CD80 och CD86 på de infekterade cellerna varvid T-cellerna aktiveras och uttrycker liganden CD40L (även kallad CD154) på cellytan. De aktiva T-cellernas CD40L binder sig sedan till andra celler som presenterar ytreceptorn CD40. CD40 finns på trombocyternas cellyta [36], men uppregleras också vid infektioner på AM, DC, B-celler, endotelceller och glatta muskelceller [37]. Aktiverade T-celler kommer via CD40L/CD40 ge en bidirektionell aktivering som ytterligare stimulerar både T-cellerna, B-cellerna, monocytorna/AM, DC och endotelcellerna att uppreglera sin proinflammatoriska aktivitet.

CD80 och CD86 är således viktig för aktiveringen av T-cellerna, men också en förutsättning för T-cellernas via den bidirektionella aktiveringen skall svara på de presenterande immuncellernas HLA uttryck (se nedan) och bilda vissa cytokiner, bl.a. IL-2 [38].

CD40/CD40L medierad mikrotrombotisering

Aktiverade T-celler binder sig med CD40L direkt till CD40 receptorn på trombocyterna som därigenom aktiveras [39-41]. Trombocyterna frisätter bl.a. CCL5 (RANTES) som attraherar ytterligare T-celler och leukocyter och löslig CD40L [41-44]. Löslig CD40L från trombocyterna interagerar med CD40 receptorer som presenteras på kärlens endotelceller. Detta leder till att endotelcellerna aktiveras med frisättning av proinflammatoriska mediatorer samtidigt som trombomodulin produktionen hämmas, och bildningen av tissue factor och plaminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) stimuleras. Trombocyterna är hyperaktiva vid covid-19 infektioner [45, 46]. Aktiverade monocyter, T-celler och trombocyter binder sig till endotelcellerna via CD40/CD40L och ger upphov till en heparinresistent trombosbildning i lungans mikrokärl. Prevalensen trombos hos covid-19 patienter med profylaktisk och terapeutisk heparinbehandling var 43 % i publicerad multicenter studie [47]. Denna immunologiskt baserade trombosbildning är experimentellt undersökt och är resistent mot heparin, protein C och hirudin, vilket överensstämmer med fynden vid covid-19. Trombosbildningen hämmas endast av antitrombin III tillförsel i experimentella försök, samt har visat sig vara angiotensin II beroende [47-50]. Detta antyder att hämning av trombin-bildningen kan och bör vara effektiv, vilket i preliminära rapporter visat sig vara fallet [51, 52]. Trombosbildningen är inte kopplad till förekomst av virusantigen eller virusreplikation utan förekommer i anslutning till immunopatologiska reaktioner, d.v.s. via CD40/CD40L



aktivitetsökningen vid covid-19 [39, 53]. Det är den immunopatologiska reaktionen och inte viruset i sig som ger upphov till den livshotande mikroangiopatin.

Sammanfattningsvis aktiveras infekterade celler genom att presentera CD80 och CD86 på cellytan. CD80 och CD86 binder T-cellernas ytreceptor CD28 som därigenom aktiveras och presenterar CD40L på cellytan. T-celler med CD40L binder sig till andra immunologiska celler, trombocyter och endotelceller som har CD40 på sin yta och bidrar till den inflammatoriska potentieringen och mikroangiopatin.

HLA och aktiveringen av det specifika infektionsförsvaret

Kroppens celler uttrycker även MHC (Major Histocompatibility gene-Complex). Hos människa kallas det "Human Leukocyte Antigen" (HLA) och kan skilja främmande från egna molekülstrukturer. HLA presenteras på cellernas yta och består av dels MHC klass I motsvarande HLA-A, HLA-B, och HLA-C, dels av MHC klass II motsvarande HLA-DP, HLA-DR, och HLA-DQ. MHC klass I finns på alla celler och presenterar endogena peptider för de immunologiska cellerna som därigenom känner igen egna celler. Om MHC klass I presenterar främmande antigen tillsammans med det co-stimulerande proteinet CD86, aktiveras CD8 (T-celler) till cytotoxiska T-celler (CD8+) som sedan lyserar t.ex. virusangripna celler. MHC klass II finns huvudsakligen på immunologiskt aktiverade celler som via sina aktiverade CD40, CD80/86 presenterar antigenet för T-helper celler (CD4+). Hos alla SARS-CoV-2 infekterade patienter har man noterat att både CD4+ (T-helper celler) och CD8+ (cytotoxiska T-celler) uttrycker HLA-DR+ [19]. Virusantigenen presenteras således bundet till HLA molekyler inte bara för T-cellerna utan för olika immunologiska effektorceller, som t.ex. B-cellerna som bildar antikroppar. Härigenom aktiveras successivt kroppens infektionsförsvaret och går över i det specifika infektionsförsvaret direkt riktat mot virusets antigena strukturer. Antikroppar bildas från 4 till 16 dagar efter symtomdebut vid SARS-CoV-2, med en serologisk konvertering i blodet i medeltal efter 12 dagar för IgM och 14 dagar för IgG [54-58]. Specifika IgA minnes B-celler är färre och försvinner snabbare än IgG minnes B-celler [59]. Olika HLA konstitutioner presenterar antigen olika effektivt vilket kan bidra till att olika personer infektionsförsvaret reagerar på olika sätt. HLA-grupperna kartläggs för att klargöra om någon specifik HLA-grupp är kopplad till svår covid-19 [60]. Man har statistiskt funnit att HLA-B*07, HLA-B*46, HLA-DRB1*12 och HLA-Cw*08 är mer känsliga för att utveckla svår covid-19 medan de som uttrycker HLA-DRB1*03, HLA-A*02, och HLA-Cw*15 skyddas vid SARS-CoV infektioner [61]. Man har också noterat att personer med blodgrupp O är något mer skyddade mot svår covid-19 jämfört med blodgrupp A. Det finns ingen säker statistisk korrelation mellan blodgrupp (ABO-systemet) och HLA systemet.

Renin-angiotensin-aldosteron-systemet (RAAS)

Vid luftvägsinfektioner aktiveras renin-angiotensin-aldosteron-systemet (RAAS) och bidrar till det primära infektionsförsvaret. Angiotensinogen som bildas i levern omvandlas av enzymet renin till angiotensin 1 (ANG I). ANG I omvandlas via enzymet angiotensin converting enzyme 1 (ACE 1), huvudsakligen lokaliserad i lungans kapillärer, till det kraftigt proinflammatoriska ämnet angiotensin 2 (ANG II). När ANG II nivån i lungan stiger stimuleras angiotensin 1 receptorn (AT-



1rec), vilket bidrar till att potentiära lungans infektionsförsvar via flera proinflammatoriska funktioner som cytokin-bildning, CD40/CD40L-frisättning, kapillärläckage och ökad immunologisk cellaktivitet [62]. Angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) bryter sedan ner ANG II till det vasodilaterande och antiinflammatoriska angiotensin 1-7 (ANG 1-7) [63, 64]. Vid SARS-CoV-2 infektionen inaktiveras ACE2, vilket bidrar till att ANGII nivån kvarstår hög [65, 66].

SARS-CoV-2 effekt på RAAS

”Vanliga och ofarliga” corona-virus binder sig till de membranbundna enzymen, dipeptidyl-peptidas och/eller amino-peptidas och ger inga livshotande infektioner. SARS-CoV-2, liksom andra ssRNA virus smittar lätt via aerosoldroppar [7, 67], binder sitt spike (S) proteinet till enzymet ACE2 på cellytan. S-proteinet delas sedan av proteaser i två steg, proteaset furin vid S1 delen och proteaset TMPRSS2 (transmembrane protease serine 2) vid S2 delen, varefter S-proteinets fusionsdel exponeras och viruset kommer in i cellen via endocytos tillsammans med ACE2 [68]. ACE2 finns på lungans typ 2 pneumocyter, tunntarmens enterocyter och i nässlemhinnans celler [66]. När virus binder sig till ACE2 och tar sig in i epitelcellerna inaktiveras således membranbundet ACE2. SARS-CoV-2 inaktiverar inte bara membranbundet ACE2 utan ger också en kvarstående hämning av mRNA ACE2 produktionen i cellen sannolikt via viruset förmåga att hämma interferonproduktionen [69]. Detta innebär att nedbrytning av ANG II till ANG 1-7 begränsas och ANG II nivån kvarstår förhöjd vid covid-19. Bindningen och inaktiveringen av ACE2 skiljer sig således mellan ofarliga och farliga coronavirus och kan således ha en betydelse för att den proinflammatoriska processen fortskrider och potentiäras.

ACE2 betydelse vid covid-19

ACE2 nivån är högre hos kvinnor före menopaus jämfört med män och hos yngre personer jämfört med äldre. Incidensen covid-19 är ca 15 % högre hos kvinnor jämfört med åldersmatchade män, men incidensen fatal covid-19 är ca 50 % högre hos män [70]. Höga ACE2 nivåer skulle kunna innebära att det blir lättare för SARS-CoV-2 att binda sig till cellerna och att ta sig in, vilket skulle kunna förklara en ökad infektionsincidens hos kvinnor. Låga ACE2 koncentrationer är associerad med svår covid-19, vilket skulle kunna förklara en högre incidens av svår covid-19 hos män och äldre [71, 72]. Estrogen inducerar och ökar ACE2 bildningen, vilket har varit en förklaring till en högre ACE2 koncentration hos kvinnor, samtidigt som man noterar en lägre kvinnlig mortalitet vid covid-19 [70, 73]. Tillskott med estradiol hos kvinnor > 50 år, som ökar ACE2 nivån, reducerade mortaliteten vid covid-19 med mer än 50 % [70]. Ökad mortalitet vid covid-19 är också associerad med låga halter av thyreoideahormoner [74] och låga vitamin D nivåer [75, 76], båda också kopplade till lägre bildningen av ACE2.

Vid låga nivåer och/eller inaktivering av enzymet ACE2 hämmas nedbrytningen av den kraftig proinflammatoriska ANGII molekylen. Höga ANG II koncentrationer med proinflammatorisk potentiäring och hyperinflammation kan förklara kopplingen mellan ACE2 och ökad risk för svår covid-19 och ökad mortalitet. Analys av ANG II hos patienter med covid-19 visar att kvarstående förhöjda ANG II nivåer är korrelerade med lungskadans svårighetsgrad, och är korrelerade med ökande sjukdomsgrad och mortalitet [77-80]. Tillförsel av exogen löslig ACE2 sänker ANGII nivån



och har i flera studier visat skyddande effekt vid inflammatoriska tillstånd, luftvägsinfektioner, ARDS och minskande cytokinnivåerna [81-83]. Behandling med AT-1rec blockad (Angiotensin receptor blockerare, ARB) är protektiv i epidemiologiska studier och randomiserad kontrollerad studie visar att den minskar mortaliteten signifikant vid covid-19 [84] och vid ARDS [72], vilket också indirekt antyder att den negativa effekten av låga ACE2 nivåer går via fördröjd nedbrytning av ANGII och ökad AT-1rec stimulering. Att ARB i en multicenter, randomiserad och kontrollerad studie visat den största mortalitetssänkande effekten vid covid19 på 18, 25 %, från 22,54 % till 4.21 % talar indirekt för att ACE2 hämningen i lungan kan vara den mest betydelsefulla patofysiologiska mekanismen som förklarar varför SAR-CoV-2 har en sådan hög dödlighet.

ANG II och lungskadan

ANG II ger via AT-1rec upphov till kapillärläckage genom att kontrahera endotelcellerna via fosforylering av myosin-light-kinase [85, 86]. ANG II ger därigenom upphov till ett interstitiellt vätskeutträde och lungödem verifierat i humana, djurexperimentella och "in vitro" studier [85, 86]. ANGII ökningen är korrelerad med försämrad syresättning och liknar den initiala försämringsfasen vid covid-19 med liten påverkan på lungcompliance och god effekt av syrgastillförsel, tydande på en diffusionskada [87]. Kapillärläckaget kan hämmas eller blockeras med de flesta ARB [83, 88]. ANG II har i flera studier visat sig ha en central roll vid lungskador och ARB som blockerar effekten av ANG II är protektiv vid lungskada både djurexperimentellt och hos människa. ARB minskar både sjukdomsgraden och mortaliteten vid influensa, pneumonier och covid-19 [84, 88, 89].

ANG II och lungfibros

Lungfibros uppträder till följd av en förhöjd och förlängd AT-1rec stimulering via ANG II som kan blockeras av ARB [90, 91]. Således bör ARB alltid övervägas som profylax bl.a. mot lungfibros vid låga ACE2 nivåer med potentiellt förhöjda ANGII koncentrationer. Behandlingen är relativt riskfri, medan lungfibrosutveckling kan vara potentiellt livshotande. Individer som vårdas med ECMO kan utsättas för en ihållande långvarig AT-1rec stimulering och lungfibros kan således utvecklas [90, 92, 93]. Utveckling av lungfibrosen verkar medierad via PAK1 (serin/treonin proteinkinas 1) och kan förutom med ARB, experimentellt även profylaktiskt blockeras med bl.a. melatonin [94].

ANG II och den proinflammatoriska potentieringen

ANG II är kraftigt proinflammatorisk och potentierar aktiveringen av T-celler, makrofager/monocyter och endotelceller, bl.a. genom att öka frisättningen av proinflammatoriska kemokiner och cytokiner (IFN γ , GM-CSF, IL2 och IL6) [86, 95-97]. ANG II verkar dessutom potentiera bildningen av ytreceptorerna CD40/CD40L i olika celler [98, 99].

ANG II proinflammatoriska effekt via ADAM17

ANG II inducerar bildning av proteaset, ADAM17, som är ett enzym som klyver och frisätter flera proinflammatoriska cytokiner från cellytan bl.a TNF- α , IFN- γ , TGF- β , IL-4, IL-13, IL-6R och EGFR (Epidermal Growth Factor receptor) [100, 101]. Frisättningen av dessa cytokiner från sitt



cellmembran sprider den inflammatoriska reaktionen i kroppen och ADAM17 har därför kallats för ADAM17-sheddase. ADAM17 möjliggör synergistisk frisättning av TNF- α och IFN- γ , vilket kan leda till en vasodilatorisk orsakad cirkulatorisk instabilitet [101]. Enzymet ADAM17 klyver och frisätter även ACE2 enzymet från cellmembranet [102].

ANG II och den heparinresistenta mikrotrombotiseringen vid covid-19

Aktiverade T-celler aktiverar trombocyterna som frisätter lösligt CD40L som i sin tur aktiverar endotelcellerna. Endotelcellerna presenterar då ytreceptorn CD40, nedreglerar trombomodulin, uppreglerar tissue factor och PAI-1. Detta medför att monocyter och aktiverade T-celler kan binda sig till kärlväggens endotel samtidigt som endotelet blir kraftigt prokoagulant. [42, 103, 104]. ANGII potentierar den CD40/CD40L medierade trombogenesis genom ökad trombin-aktivering [97, 98]. Experimentellt är det visat att denna typ av tromboser inte kan blockeras med protein C, heparin eller lågmolekylärt heparin, utan endast av antitrombin III [48], vilket stämmer överens med att "Trombosbildningen vid covid-19 är resistent mot både terapeutisk och profylaktisk heparinbehandling" [47, 105]. Således bör antitrombin III nivån alltid följas och korrigeras vid covid-19 för att förebygga och behandla trombosbildningen. ARB eller ACE inhibitorbehandling minskar risken för tromboser vilken också antyder att AT-1rec stimuleringen bidrar till trombosbildningen. Vid trombosbildning trots normalt-höga antitrombin III nivåer bör ställningstagande till insättning av trombin-hämning med argatroban övervägas [51, 52].

ANG II och aldosteron

ANG II stimulerar produktion av aldosteron, som i sin tur aktiverar Angiotensin Converting Enzyme (ACE) att producera mer ANG II. Förhöjda aldosteronnivåer är associerad med svår covid-19 [106]. Aldosteron stimulerar bildning av PAI-1, möjligen via ANG II [107]. Hämning av aldosteron kan därför indirekt minska bildningen av ANG II utöver sin effekt som kaliumsparande diuretikum [108].

Covid-19 och cytokinfrisättningen

Flera cytokiner och kemokiner har detekterats i blod hos patienter med svår covid-19 [109]. Cytokinnivåerna som frisätts vid covid-19 är dock bara en bråkdel av den cytokinfrisättning som noteras vid ARDS, cytokine releasing syndrome (CRS) och septiska tillstånd [110]. Som jämförelse, så är IL-6 frisättningen vid covid-19 endast 1/10 - 1/1000 av nivåerna som detekteras vid dessa tillstånd. Även om det har ifrågasatts om cytokinaktiveringen har någon väsentlig betydelse vid covid-19 har en omfattande kartläggning av cytokin- och kemokinfrisättningen skett p.g.a. sjukdomens höga mortalitet. Ingen blockad av cytokiner har ännu i någon randomiserad, blind, kontrollerad studie kunnat påvisa en betryggande säkerställd effekt på mortaliteten, även om man sett effekt av cytokinblockad i retrospektiva studier där man jämfört med historiska kontroller. Frisättningen av cytokiner och kemokiner är ett indirekt mått på olika cellers proinflammatoriska aktivitetsnivå och infektionens profil. Flera cytokiner och kemokiner frisätts således till blodbanan från infektionens fokus, som vid covid-19 är lokaliserad till lungan och ger upphov till diverse symtom som kan uppträda vid svår covid-19 och MIS-C, såsom feber – IL-6 [111], gastrointestinala



problem med smärtor, diarre, kräkningar – TNF α och IFN γ [112-115], hudutslag - IFN- γ , CXCL9, CXCL10, and CXCL11 [116, 117], cirkulatorisk instabilitet med viss myokardiell påverkan -TNF α och IFN γ [29, 118].

Cytokinerna och kemokinerna bildas av celler som finns eller ansamlas i och omkring infektionsfokus (epitelceller, endotelceller, makrofager, dendritiska celler, monocyter, aktiverade T-celler (CD4+, CD8+). Cytokiner frisätts via exocytos och aktiveras sedan av bl.a. ADAM17 sheddaset [100, 119].

Följande cytokiner och kemokiner uppvisar förhöjda koncentrationer vid covid-19 (SARS-CoV-2) jämfört med normalvärden:

De Valle et al [120]	TNF- α	IL-6						
Qin et al [121]	TNF- α	IL-6	IL-8	IL-7	IL-2R	IL-10		
Huang et al [122]	TNF- α	IL-2	G-CSF	IL-7	IFN- γ	IL-10	IP-10	MCP-1
Varchetta et al [123]		IL-6	IL-8			IL-10		
Gil-Etayo et al [124]	IL-2	IL-6	IL-15				IP-10	
Lodge et al [125]			IL-8	IL-7	IL-1RA	MIP-1A	IP-10	MCP-1
Zhao et al [126]	TNF- α	IL-6	GM-CSF	IL-1RA	IFN- γ	IL-10	IP-10	MCP-1
Cheng et al [127]	TNF- α	IL-6			IL-2R	IL-10		
Hadjadj et al [19]	TNF- α	IL-6						
Övrigt [128]			IL-33	CCL5	MIP-1B	G-CSF	IP-10	

IL – interleukin-, TNF- α (tumour necrosis factor α), IP-10 (interferon- γ -inducible protein 10, även kallat CXCL10), G-CSF (granulocyt - colony stimulating factor), MCP-1 (monocyte chemoattractant protein -1 även kallat CCL2), MIP-1A (macrophage inflammatory protein 1 alpha), GM-CSF (granulocyt-makrofag colony stimulating factor), IL-1RA (IL-1 receptor antagonist), IFN- γ . IL-2R (IL-2 receptor), CCL5 (RANTES). [129]

Av de proinflammatoriska mediatorerna TNF- α , IL-6, IL-10, IL-4 och IFN- γ , var det bara IFN- γ som var statistiskt högre hos covid-19 patienter som avled jämfört med de som överlevde [130]. I en annan studie hos individer som levde noterade man att IL-6 och IL-10 var statistiskt högre hos svårt sjuka jämfört med de med lindrig covid-19. Flera av cytokinerna och kemokinerna attraherar ytterligare proinflammatoriska celler till infektionsområdet som T-celler, monocyter/makrofager och neutrofiler och ökar frisättning av IL-15, MCP-1, IP-10, MCP 1A, MCP 1B, GM-CSF och G-CSF.

IL-1 β och covid-19

Artikeln av Hadjadj et al. [19] är av speciellt intresse då den, liksom flera andra författare, visar att IL-1 β nivån i blod är låga (<5 pg/mL) till odetekterbara vid covid-19, men att genen för pro-IL-1 β induceras och pro-IL-1 β mRNA bildas. Pro-IL-1 β mRNA induceras av NF κ B när viruset stimulerar TLR8 i endosomen. För att Pro-IL-1 β och pro-IL-18 skall aktiveras till IL-1 β och IL-18 krävs att ett enzym, caspase-1 aktiveras. Caspase-1 finns bundet som inaktivt procaspase-1 till en makromolekyl som kallas inflammasom [131]. För att procaspase-1 skall aktiveras krävs ytterligare



en intracellulär stimulering [38]. D.v.s. för att IL-1 β och IL-18 skall aktiveras och frisättas krävs både TLR 8 receptorstimulering i endosomen för att aktivera NF κ B och sedan en sekundär stimulering för att aktivera inflammasomen. Det har diskuterats och publicerats experimentella fynd att en typ av inflammasomer (NLRP3) aktiveras via kaliumutflöde i cytosolen vid covid-19 [18], men eftersom IL-1 β och IL-18 nivåerna är låga eller odetekterbara vid covid-19 [120, 126, 132, 133] trots att mRNA-pro-IL-1 β detekteras, tyder det på att SARS-CoV-2 viruset ger en svag eller obefintlig aktivering av procaspase-1 i inflammasomen via denna mekanism [19, 134]. Eftersom TLR8 aktiveringen inducerar bildning av pro-IL-1 β vid covid-19 via transkriptionsfaktor NF κ B, förklarar det däremot varför celler från covid-19 patienter lätt frisätter IL-1 β vid experimentellt "ex vivo" caspase-1 aktivering t.ex. vid endotoxinstimulering (LPS) utan att det sker "in vivo". TLR4 stimulering aktiverar nämligen NLRP3 inflammasomen. Tyvärr använder flera författare "ex vivo" försök som en intäkt för att IL-1 β frisättning även sker vid covid-19 och att IL-1 β blockad (Anakinra) skall ges. De antar således att SARS-CoV-2 aktiverar procaspase-1, trots att IL-1 β inte kan detekteras i blodet hos covid-19 patienter [120, 121, 125]. Varken De Valle et al, Lodge et al, Hadjadj et al. kunde detektera IL-1 β . Analyser av IL-1 β vid covid -19 tyder således på att caspase-1 inte aktiveras vid SARS-CoV-2. Hos patienter som utvecklat sekundära bakteriella infektioner(pneumonier) eller uttalad celldöd kan man däremot förvänta sig att få en sekundär stimulering och aktivering av inflammasomen, med frisättning av IL-1 β och IL-18 [135, 136]. IL-1 α är inte heller detekterbar vid covid19 [19]. Däremot är mRNA för IL-1RA (IL-1 receptor antagonist) inducerad och IL-1RA koncentrationen hög i blod talande för kraftig anti-IL-1 aktivitet vid svår covid-19 [19].

Förhöjda IL-1 β nivåer är således inget vanligt fynd vid svår covid-19 eller MISC.

Varken anakinra, som är en IL-1 blockerare, eller canakinumab. som är en monoklonal antikropp mot il-1 β , hade någon signifikant effekt i randomiserade, kontrollerade studier vid covid19, vilket också talar för att IL-1 inte har någon större betydelse vid covid19 infektionen [137, 138].

IL-6 och TNF α vid covid-19

IL-6 är anti-inflammatoriskt när det är bundet till cellen via sin receptor (R) (klassisk signalering). Om IL-6 och dess receptor R (IL-6R) frisätts till cirkulationen blir komplexet kraftigt proinflammatoriskt. Löslig IL6R binder sig till gp130 receptorer (transsignalering) på många cellslag och ger upphov till en generell aktivering av endotelcellerna och immunsystemet [139, 140]. D.v.s samtidigt som IL-6 kan bromsa upp infektionsförsvaret lokalt, så accentuerar IL-6 det om och när IL-6R frisätts, t.ex. av ADAM17 sheddaset som induceras av ANGII. Transsignalering medför att CD40, collagenas III och IV, Tissue Factor och PAI-1 aktiveras och gör endotelcellerna prokoagulant [133, 140].

IL-6R kan kopplas till febern som covid-19 patienterna har, där frisatt IL-6R receptorer i hjärnan är kopplade till prostaglandin syntes som styr temperaturregleringen i hypothalamus [111].

IL-6/IL-6R blockad med sirukumab minskade induktionen av CD40, collagens III och IV, Tissue Factor och PAI-1, men blockad med tocilizumab hade ingen påverkan på induktionen av dessa mediatorer, vilket kan tyda på att olika IL-6/IL6R blockerare är olika effektiva [140].



IL-6 och TNF- α nivåerna är förhöjda i blodet vid SARS-CoV-2 infektionen, men de aktiverade cirkulerande monocyter visar inga tecken på att vara inducerade att bilda mRNA IL-6 eller mRNA TNF- α . Detta talar för att det är celler som är lokaliserade i lungan, mest sannolikt lungkärlens endotelceller, som producerar dessa cytokiner [19].

Blockad av IL-6 har i publicerade randomiserade studier visat mycket varierande fynd, där flera studier t.o.m. har påvisat ökad mortalitet i behandlingsgruppen, vilket indikerar att IL-6 sannolikt inte är av avgörande betydelse för förloppet vid covid19 [141-144].

Lymfocytopeni:

Covid-19 kännetecknas av en signifikant lymfocytopeni som är korrelerad till sjukdomsgraden. Cellanalyser visar lägre antal NK-celler (natural killer T-celler), CD3+ (utmognade T-celler), CD4+ (helper T-celler) och CD8+ (cytotoxiska T-celler) jämfört med friska, vilket kan orsakas av att de ansamlas i lungan. Monocyter (CD14+, CD16+) och B-lymfocyter är ökade i antal hos de svårast sjuka [19].

Monocyterna stimuleras bl.a. av förhöjda nivåer av MCP-1 och GM-CSF som genereras av aktiverade CD4+ celler.

Kliniskt förlopp vid covid-19

Medel inkubationstiden mellan smitta och sjukdomssymtom är 5,2 dagar (95% konfidensintervall 4,1 – 7,0 dagar) [145]. Vanliga symtom på en pågående luftvägsinfektion uppträder med feber (98-100 %), hosta (76 %), upphostningar och myalgi (44 %). Hos ett mindre antal individer (< 20 %) inträder en försämring i tillståndet omkring 7-12 dagar efter symtomdebut i form av dyspne, ökad andningsfrekvens, och försämrade syresättning [19, 122, 132, 145]. Eftersom försämringen sker när virusantalet minskar och när det specifika humoral och cellförmiddade immunförsvaret aktiveras, misstänker man att en överaktivitet eller patologisk reaktion i det immunologiska och inflammatoriska försvaret bidrar till symtomen [122].

Försämringen har ett karakteristiskt förlopp som börjar med att lungans förmåga att syresätta blodet försämras vid luftandning. Patienten upplever dyspne. Extra syrgastillförsel, vilket höjer syrgasens partialtryck, förbättrar syresättningen, vilket tyder på en ren diffusionskada i lungan. Detta orsakas vid inflammatoriska tillstånd av interstitiell vätskeansamling i lungan. Detta utvecklas vid ett kapillärläckage, när kontraktion i endotelets cytoskeletala arkitektur uppträder, vilket kan ske när ANGII, som bildas lokalt i lungan stimulerar AT-1rec [85, 86]. Lungans compliance (tjänjbarhet) är relativt oförändrad. Ökning i kärlpermeabiliteten kan hämmas eller blockeras med läkemedel som hämmar AT-1 receptorn, inkluderande de flesta ARB [86]. När den inflammatoriska processen tilltar, med frisättning av cellattraherande cytokiner, kemokiner och endotelaktiverande receptorer (CD40/CD40L), ansamlas trombocyter, monocyter, T-celler och neutrofiler i lungans kärl och alveoler. Lungcompliance sjunker (ökat lungstelhet), alveolära dead-space volym (VD_{alv}) ökar och effekten av extra syrgas minskar (shuntfraktionen ökar) [87]. Covid-19 kännetecknas av mikro-trombotisering som är 9 gånger mer utbredd än vid influensa-orsakad ARDS och trombosbenägenheten är mycket svårbehandlad eftersom den inte svarar på profylaktisk eller terapeutisk heparinbehandling [47, 105, 146].

**Immunopatologiska fynd vid obduktion av avlidna covid-19 patienter**

Obduktion med immuno-patologisk analyser hos patienter som avlidit i covid-19 visar att SARS-CoV-2-RNA kan påvisas i alla organ, mest i luftvägarna, men även i gastrointestinal kanal, hjärta, muskler, lever, njure, endokrina organ och övriga organ [53]. Virusets S-protein förekom huvudsakligen i epitelceller från luftvägarna och gastrointestinal kanalen och endast i begränsad mängd i makrofager och endotelceller. Högst förekomst av SARS-CoV-2 S-protein finns i näsans slemhinnor och minskar ju längre ner i luftvägen man kommer, vilket också beskriver förekomsten av ACE2 [147]. I nedre luftvägen är virusfördelningen fläckvis fördelat, huvudsakligen i Typ 2 pneumocyterna, vilket antyder att virus sprider sig till andningsvägen, möjligen via mikroaspirationer från den övre luftvägen och inte är hematogent spridd [147]. Virusantalet eller virusspridningen i kroppen är inte korrelerad till mortaliteten. Trots SARS-CoV-2 förekomst och replikering i nästan alla kroppens organ kunde inflammatoriska reaktioner mot viruset endast påvisas i luftvägarna, mjälten och benmärg hos individer som avlidit med svår covid-19. Dorward et al. fann att en signifikant del av den immunmedierade patologiska processen i lungan förekom helt oberoende av virusförekomst. I lungan noteras att de inflammatoriska områdena, i form av diffusa alveolära skador med inflammatoriska celler, vaskulit förändringar och mikrotromboser, förekommer utan korrelation till förekomsten av viruspartiklar eller mRNA aktivitet som vid virusreplikering [53]. Samtidigt noteras områden med SARS-CoV-2 förekomst utan tecken på inflammatorisk reaktion. Inga inflammatoriska tecken kunde detekteras i njure, tarm eller lever trots förekomst av virus. Detta indikerar också att svår covid-19 inte orsakas av virusets direkta cytotoxiska effekter utan av en indirekt cellmedierad immuno-patologisk reaktion [53].

Lungkärlsvaskulit med MRP8 positiva monocyter, CD4+ och CD8+ är ej korrelerad med virusförekomst

I lungkärnen hos patienter med svår covid19 noteras utbredda ojämnt spridda vaskulitförändringar med huvudsakligen infiltrerande monocyter som producerar myeloid response protein 8 (MRP8), omgivande av CD4+ (helper T-celler), färre antal CD8+ (cytotoxiska T-celler) och makrofager [53]. Inte heller i vaskulitområdena kunde SARS-CoV-2 RNA eller S-antigen identifieras i inflammerat kärlendotel, vilket också talar mot direkt virusangrepp som orsak till vaskuliten.

MRP8/MRP14, kallas även calprotectin. Calprotectin attraherar immunologiska celler och stimulerar cytokinfrisättning. Calprotectin är direkt associerat med sjukdomsgrad vid covid-19 [148]. Patienter med svår covid-19 har visat sig frisätta "massiva" mängder. Calprotectin är också direkt associerad med dålig syresättning, förekomst av tromboser och i överensstämmelse med ovan som en markör för monocytinfiltrationen i lungan. Calprotectin föregår cytokinfrisättningen och ökar signifikant mest av förekommande biomarkörer vid svår covid-19, jämfört med IL-6, ferritin, D-dimerer. Calprotectin föreslås därför ingå i rutinproverna för att riskbedöma huruvida patienter med covid-19 kommer att försämrats [148-153]. Förekomst av stora mängder monocyter i lungkärnen och i bronkoalveolär vätska vid svår covid-19, tyder på att dessa celler verkar vara viktiga i den immunopatologiska processen [53, 154]. Monocyter interagerar synergistiskt med CD4+ (T-helper celler), CD8+ (T-cytotoxiska celler) och aktiverade trombocyter som frisätter



CD40/CD40L [37]. Cellerna bidrar ytterligare till att aktivera och stimulera endotelcellerna att vidhäfta inflammatoriska celler och inducerar trombocytbildning.

Lungkärslsvaskuliten och den respiratoriska svikten

”Progressiv respiratorisk svikt är den primära dödsorsaken vid covid-19 med uttalad endotelial lungkärslsskada, upplöst endotelmembran (splittrade intercellulära junction), monocytär kärilfiltration, mikroangiopati med utbredda trombbildningar i alveolära kapillärer samt en påtaglig angiogenes med nybildning av kärl” enligt Ackermann, N E J M [146].

Sammanfattning:

SARS-CoV-2 viruset startar en proinflammatorisk cytokinfrisättning via TLR aktiveringen i endosomerna. Kroppens anti-virala försvar med interferon frisättning hämmas av SARS-CoV-2 viruset, samtidigt som det proinflammatoriska svaret potentieras via den kraftigt proinflammatoriska ANG II, när SARS-CoV-2 inaktiverar det i lungan membranbundna enzymet ACE2. Induktionen av ytreceptorer och aktivering av T-celler, monocyter och trombocyter med frisättningen av cytokiner attraherar MPR8 producerande monocytära celler, CD4+ och CD8+ celler till lungans kapillärbädd, via en CD40/CD40L medierad process. Mikroangiopatin utvecklas och mikrotrombotisering är heparinresistent. Den proinflammatoriska/immunopatologiska svaret potentieras ytterligare hos vissa individer, speciellt med låg ACE2 och höga ANG II vilket kan leda till en ARDS-lik bild och multipel organsvikt med fatal utgång.

Eftersom sjukdomsgraden vid covid-19 inte är korrelerad till virusantalet eller direkta skador av virusangreppet, talar allt för att det är den immuno-patologiska aktivitetsökningen med cellinfiltration i lungkärlen (lungkärslsvaskuliten och trombocyteteten) som är huvudorsaken till den deletära utvecklingen. Nivån av calprotektin, ferritin, löslig IL-2R, IL-6, andra cytokiner och kemokiner är indirekta tecken på graden av cellaktivitet och mikroangiopati.

Patofysiologisk inriktad behandlingsstrategi

Allt tyder på att aktiverade T-celler och monocyter/makrofagerna som ansamlas på endotelcellerna är den väsentligaste komponenten som bidrar till den patoimmunologiska reaktiviteten med tilltagande cytokin-, kemokin frisättning och trombocytbenägenheten. Teoretiskt är därför en immunosuppressiv behandling mot de aktiverade T-cellerna och monocytorna mer ändamålsenlig än att blockera cellernas sekundära respons, nämligen cytokinfrisättningen. Detta har föreslagits av flera författare [155-158].

Etoposide är en immunosuppressiv medicin som selektivt hämmar aktiverade T-celler och monocyter samt minskar cytokinfrisättningen. Etoposide behandling angriper således direkt den immunopatologiska problematiken vid covid-19. Det finns flera rapporter om att Etoposide använts vid covid-19 med goda resultat. Patienter med svår covid-19 med organpåverkan och tecken på hyperinflammation, som inte svarat på steroidbehandling och immunomodulerande



behandling (tocilizumab eller anakinra) fick Etoposide. Redan efter en till två doser med 50 – 150 mg/m² Etoposide noterades en snabb förbättrad syresättning och >80% av patienterna kunde skrivas ut. Patienter som inte förbättrades hade trombosor och embolier, tydande på att behandling mot den heparinresistenta trombostendensen sannolikt inte var optimal. En randomiserade kontrollerad studie pågår - NCT04356690. [155, 157, 159].

Etoposide behandling har getts till barn vid hyperinflammatoriskt tillstånd som hemofagocyterande lymphohistiocytos med god effekt utan allvarliga biverkningar eller infektioner [160].

Eftersom behandling är lättillgänglig, relativt billig, biverkningarna få och behandling är direkt inriktad mot cellaktiviteten vid covid-19 (mortalitet 20-30 % vid intensivvårdskrävande tillstånd) rekommenderas att man vid behandlingssvikt tar ställning till Etoposide behandling. Även andra immunosuppressiva ämnen har föreslagits, men Etoposide verkar vara mer specifik mot monocytära celler som aktiveras vid covid19 infektionen, i enstaka doser i princip utan biverkningar och således ändamålsenlig.

Allmän översikt och kommentarer till olika behandlingar och resultat.

I princip alla studier, oavsett behandling, har visat positiva resultat när man jämfört med historiska kontroller, tydande på att inläringen, den systematiska handläggningen av patienter, viruspartikelns ändrade patogenicitet, vaccinationsprogram vid covid-19 har större betydelse för resultatet än den specifikt undersökta behandlingen. Detta innebär att huvudsakligen randomiserade, kontrollerade, helst blindade studier, där risken för störfaktorer "confounding factors" minimeras, är vetenskapligt tillförlitliga.

Glucocorticoidbehandling

I kontrollerad randomiserad studie fann man att glukocorticoid behandling (dexametason) minskade 28 dagars mortaliteten från 25,7 % till 22,9 % ($p < 0.001$) på respiratorvårdade patienter med covid-19 [161].

Glucocorticoider går in i cellen och binder sig till glucocorticoid receptorer som bildar ett komplex som translokeras in i cellkärnan. Komplexet binder sig till ett "glucocorticoid responsivt element" i promotor regionen och stimulerar induktion av anti-inflammatoriska molekyler (t.ex. lipocortin 1, annexin) s.k. transactivation, samtidigt som histon deacetylas aktiveras, vilket vid inflammatoriska tillstånd anses vara speciellt viktigt eftersom detta hämmar NF κ B bindning till DNA molekylen s.k. transrepression [162]. Detta inhiberar induktionen av flera proinflammatoriska cytokiner (pro-IL-1b, IL-6, IL-11, TNF- α , GM-CSF), kemokiner (MCP-1, eotaxin, IL-8, RANTES, MIP-1a), enzymer (iNOS, COX-2, fosfolipas A2) och adhesionsmolekylen ICAM-1 [162-164].

Glucocorticoidbehandling hämmar den generella proinflammatoriska aktiviteten med en signifikant mortalitetsänkning på ca 3 %. Det har medfört att behandlingen numera hos många vårdgivare ingår som basal grundbehandling vid covid-19.



IL-6 blockad

IL-6 blockad med tocilizumab, som är en monoklonal antikropp mot IL-6R, binder specifikt till både cellbundet IL-6 och lös IL-6R.

I BACC Bay Tocilizumab Trial behandlades mindre svårt sjuka covid-19 patienter i en blind randomiserad studie och ingen skillnad noterades i behandlad vs kontrollgruppen [143]. I en randomiserad kontrollerad studie på svårt sjuka covid-19 patienter jämförande standardbehandling med standardbehandling och tocilizumab, fick studien avbrytas i förtid efter att 129 patienter inkluderats pga ökad mortalitet i gruppen som behandlades med tocilizumab [144].

REMAP CAP studien, där randomiseringsprocessen är svårbedömd, noterades ökad överlevnad hos svårt sjuka som fick tocilizumab, om behandling påbörjades inom 24 timmar från organsvikt [165].

I EMPACTA studien jämfördes standardbehandling och placebo med standardbehandling och tocilizumab och man fann ingen skillnad i mortalitet [142]. I COVACT studien, randomiserad, dubbel blind studie på 452 patienter noterades ingen skillnad i frekvens respiratorvård eller mortalitet [141].

Det är intressant hur systematiska reviewer med meta-analyser kan utfalla. Ett exempel är Crichton et al. som påvisar en signifikant 3.6 % minskning vid behandling med IL-6 blockad, men vid närmare granskning visar endast 1 av 11 ingående studier effekt. Den enda som visar sänkt mortalitet är REMAP CAP studien – enligt ovan [166].

Avsaknad av definitiv effekt vid IL-6 blockad talar för att IL-6 inte är avgörande för sjukdomsprocessen och mortaliteten [167].

IL-6/IL-6R blockad med sirukumab minskade induktionen av CD40, kollagens III och IV, Tissue Factor och PAI-1, men blockad med tocilizumab hade ingen påverkan på induktionen av dessa mediatorer, vilket kan tyda på att olika IL-6/IL6R blockerare är olika effektiva [140].

IL-1 β blockad

Trots att IL-1 β inte kan detekteras hos covid-19 patienter och att caspase-1 sannolikt inte aktiveras, samt att kraftig endogen antagonistisk IL-1 β effekt redan föreligger via aktiverat IL-1RA, så har IL-1 β blockad getts vid covid-19. CORIMUNO-19 som är den första randomiserad kontrollerade studien visar ingen effekt av IL-1 β blockad (Anakinra), på varken primära eller sekundära utfallsvariabler [137]. Ny randomiserad kontrollerad studie med Canakinumab, som är en monoklonal antikropp mot IL-1 β visade inte heller någon effekt jämfört med placebo [138] (Caricchio 2021 JAMA). Även om tidigare icke kontrollerade studier med historiska kontroller visat effekt så tyder dessa randomiserade studie på att IL-1 inte har någon avgörande betydelse för sjukdomsprocessen och mortaliteten vid covid-19.

TNF α blockad

Resultat från RCT (randomized controlled trials) inväntas fortfarande.

Janus kinase blockad (JAK-blockad)



Guimaraes et al. fann i en randomiserad och kontrollerad studie som jämförde tofacitinib (JAK-blockad) med placebo på sjukhusintagna patienter med pneumoni på basen av en covid-19, att tofacitinib minskade 28 dagars mortaliteten med ca 11 %, från 29 % i placebogruppen till 18,1 % i behandlingsgruppen ($p = 0.04$). Det var lägre incidens av infektioner i tofacitinib gruppen än i placebogruppen 3,5 % vs 4,2 %. [168].

Icke randomiserade studier med anti-JAK behandling (Baricitinib eller Ruxolitinib) har publicerats med positiva resultat på förlopp och mortalitet [169-171].

JAK/STAT signaleringsvägar används av flera cytokiner (IL-2, IL-4, IL-15, IL-21, IL-6R/gp130 och IFN- γ) och AT-1rec, vilket resulterar i att receptorn fosforileras och transkriptionsfaktorn STAT bildas som påverkar bildningen av proinflammatoriska mediatorer. Samtidigt stimulerar JAK differentieringen av T-helper cellerna (CD4+). JAK blockad hämmar således effekten av dessa cytokiner och differentieringen av CD4+.

Eftersom IFN γ inducerar iNOS via JAK stimulering, så kan JAK blockad övervägas vid tecken på vasodilatation och refraktär vaskulär chock som finns beskriven vid covid-19 [29, 172].

INF γ blockad

IFN- γ koncentrationer i blodet är signifikant högre hos patienter som avlider i covid-19 än de som överlever [130] till skillnad från både TNF α och IL-6R som inte är associerad med mortalitet, d.v.s. det är ingen skillnad i koncentrationerna mellan de som överlever och dör. P.g.a associationen mellan IFN- γ och mortaliteten har man föreslagit behandling med INF- γ blockad. Det kan göras med Emapalumab, som är en antikropp mot IFN- γ som nyligen har blivit godkänd av FDA. Det finns inga resultat från kontrollerade studier publicerade med INF- γ blockad. INF- γ blockad hämmar INF- γ signalvägen via JAK/STAT och induktionen av bl.a. iNOS som kan ge upphov till hemodynamisk instabilitet [29].

GM-CSF blockad (granulocyt, monocyt/makrofag – colony stimulating factor).

Positiva resultat i en retrospektiva kontrollerad pilotstudie med GM-CSF blockad vid svår covid påvisade ingen mortalitet i behandlad grupp (0 %) jämfört med kontrollgruppen (27 %) [173]. Efter detta resultat har en multicenter, blindad, randomiserad placebo kontrollerad, prospektiv fas 2 studie påbörjats med monoklonal antikropp mot GM-CSF (Mavrilimumab). Frisättningen av GM-CSF accelerera den inflammatoriska processen och ansamlar monocyter till lungan (CD14/CD16). Preliminära resultat från den randomiserade kontrollerade studien visar ingen säker effekt på mortalitet eller behov av mekanisk ventilation. Detta understryker ytterligare vikten att inte använda retrospektiva studier när man jämför behandlingseffekter.

Angiotensin 1 receptor (AT-1REC) blockad med ARB (Angiotensin receptor blockare)

Randomiserad kontrollerad multicenterstudie på covid-19 patienter där man jämför standardbehandling med standardbehandling och telmisartan (ARB) påvisar positiv effekt med sjunkande CRP och minskad 30 dagars mortalitet med nästan 18%, 22,54 % i kontrollgruppen och 4,29 % i telmisartan gruppen ($p = 0,0023$) [84].



Blockeringen med ARB eller ACE hämmare har också visat sig vara skyddande mot lungskada, mot trombosbildningen och sänkt mortaliteten i tidigare coronavirus infektioner talande starkt för att ANGII och AT-1rec har en viktig roll vid SARS-CoV infektioner [174].

Studier och meta-analyser påvisar liknade resultat vid SARS-CoV-2 både kliniskt och experimentellt [101, 175-179].

Förhöjda nivåer av ANG II och AT-1rec stimulering leder också till lungfibros. Utvecklingen av lungfibros kan blockeras av ARB [90, 91]. Lungfibrosen orsakad av ANGII stimulering på AT-1rec är medierad via PAK1 (serin/treonin proteinkinas 1), vilken experimentellt kan blockeras med bl.a. melatonin.

Melatonin

Melatonin hämmar flera proinflammatoriska vägar och förhindrar utveckling av lungfibros, är antiviral och fungerar som anti-oxidantia och rekommenderas vid covid-19 [13, 180-182].

Aldosteron blockad

Som tidigare nämnts så är förhöjda aldosteronnivåer associerad med svår covid-19 [106].

Aldosteronhämmare har en potentiell skyddande roll vid covid-19, genom att indirekt minska produktionen av ANG II [108]. ANG II stimulerar nämligen produktion av aldosteron, som i sin tur aktiverar angiotensin converting enzyme (ACE1) att producera mer ANG II [183].

Randomiserade kontrollerade studier vid covid-19 saknas.

D-vitamin substitution

D-vitamin behövs tillsammans med cathelicidin för att eliminera SARS-CoV-2 spike-protein via autofagi [30, 31, 34]. Låga D-vitamin nivåer är korrelerad med sjukdomsgrad och mortalitet vid covid-19 [76, 184, 185]. D-vitamin tillförsel bidrar således till antigen eliminationen, men anses också kunna stimulera bildningen av ACE2, sänker därigenom ANG II nivån samt inhiberar renin frisättningen [75]. Låga D-vitamin nivåer kan bidra till ökad risk för IgG-SARS-Cov-2 komplex och utvecklingen av MISC. Svårigheten i vissa studier att korrelera låga nivåer av D-vitamin till covid-19 kan tala för att man får en konsumtion av D-vitamin vid eliminationen av SARS-CoV-2 antigenet, och att bristen uppkommer med sjukdomen.

C-vitamin substitution

Studier har publicerats som beskriver snabbare tillfrisknande från svår covid-19 efter administrering av höga doser vitamin C. Vitamin C anrikas i binjuremärgen och är viktigt vid produktionen av stresshormoner. C-vitamin anses vara anti-inflammatoriskt, immunmodulerande, antitrombotiskt, antioxidant och anti-viralt i olika studier [186]. Beroende på administreringsätt, dosnivåer och bl.a. sjukdomsgrad har systematiska meta-analyser inte kunna påvisa någon säker effekt på mortaliteten eller behov av mekanisk ventilation vid covid19.

**Convalescent plasma rik på IgG SARS-CoV-2**

Tillförsel av convalescent plasma från patienter som varit sjuka med SARS-CoV-2 visade ingen positiv effekt i en studie [187], men om det tillförs hos patienter som inte fått mekanisk ventilation minskar risken för mortalitet 22.3 %, vs 27,4 %. Ingen effekt noterades vid tillförsel till respiratorvårdade patienter med covid-19 [188]. En samordnad systematisk review och meta-analys av randomiserade kliniska studier kunde inte påvisa någon effekt på mortaliteten [189].

Hydroxoklorokin behandling

Behandling med Hydroxoklorokin har visat på negativa resultat och möjligen en ökad dödlighet i behandlingsgruppen, så det rekommenderas f.n. inte [190, 191].

Antiviral behandling med Remsdivir

Remsdivir behandling kunde inte påvisa någon signifikant förbättring i randomiserad dubbel-blind, placebo-kontrollerad studie till covid-19 patienter och WHO rekommenderar därför att man inte skall använda den vid behandlingen [192].

Ivermektin behandling

Parasitmedel med antiviral effekt. I en meta-analys av 15 studier kunde man påvisa att ivermektin minskade risken för död signifikant [193]. Europeiska läkemedelsmyndigheten (EMA) avråder dock från användning utanför kliniska prövningar även om vissa studier påvisade nytta, p.g.a. att studierna var små och hade begränsningar i doseringsrekommendationer och samtidigt använt andra behandlingar med potentiell positiv effekt (Läkemedelsverket).

Trombocythämmande behandling

Aktiveringen av monocyter och T-celler sker via CD40/CD40L, vilka via CD40 receptorer också aktiverar trombocyterna. Aktiverade trombocyter frisätter proinflammatoriska mediatorer (bl.a. cytokiner, kemokiner, proteinaser, P-selektin, CD40L, RANTES) som potentierar endotelaktiveringen och den heparinresistenta trombostendens som karaktäriserar covid-19 med nedreglering av trombomodulin [42-44]. Trombocytaaktiveringen bidrar även till ansamling av inflammatoriska celler i mikrocirkulationen. Trombocythämning kan hämma denna aktivering och mikroaggregeringen [46, 194]. Goda resultat har påvisats i preliminära studier [195]. I en nyligen publicerad multicenter studie noterades minskad risk för död vid användning av trombocythämmande behandling [196].

Antikoagulation

Den immunopatologiskt orsakade heparinresistenta prokoagulativa aktiviteten i kärlendotelet som orkestreras via CD40/CD40L, trombocyter, monocyter och aktiva T-celler ger upphov till en



mikroangiopati och mikrotromboser som experimentellt endast hämmas av antitrombin III tillförsel [48, 49]. Upprätthållande av antitrombin III nivån är därför av sannolikt avgörande betydelse för att tillsammans med annan anti-inflammatorisk behandling förhindra mikrotrombotiseringen. Då svår covid-19 även är förenlig med immobilisering bör även en allmän trombosprofylax ges, vilket dock också förutsätter adekvata antitrombin III nivåer. Inte ens terapeutisk heparin behandling var associerad med minskad dödlighet i en randomiserad kontrollerad studie, men verkar påverka den allmänna risken för död utan att öka risken för blödningar [197]. Flera författare har också noterat att den heparinresistenta trombosbildningen vid relativt adekvata antitrombin nivåer kan stoppas med trombin hämmare – argatroban [51, 52].

IVIG behandling

IVIG har i vissa mindre studier visat positiva effekter, men i publicerad randomiserade kontrollerad studie kunde man inte påvisa någon effekt på mortaliteten [198]. IVIG är sannolikt inte aktuell vid den akuta covid-19 infektionen eftersom den immuno-patologiska mekanismen sannolikt inte är IgG medierad.

Specifika SARS-CoV-2 riktade monoklonala antikroppar har tagits fram, men viss information som ännu inte är publicerad gör gällande att dessa har en sämre till ingen effekt mot det nya omikron SARS-CoV-2. Ytterligare information kommer.

Eftersom tidigare studier påvisat skyddande effekt av IVIG i högdos 2g/kg x 1 på kranskärnen vid Kawasakis sjukdom ingår det i behandlingen av barn med MISC alternativt Kawasaki liknande syndrom. Sannolikt beror den skyddande effekten på att IVIG blockera IgG-SARS-CoV-2-antigen komplexets effekt att stimulera makrofagernas/monocyternas via Fc gamma-receptorn (CD64). Därigenom blockeras den proinflammatoriska signalvägen i makrofager/monocyterna. IVIG hämmar också komplement aktiveringen och B-cellernas IgG produktion [199]. IVIG bör vid MISC ges tillsammans med steroider som då samtidigt bromsar NFκβ stimuleringen och frisättningen av proinflammatoriska mediatorer, vilket gör att man får en synergistisk effekt, även visat kliniskt [200]. Se PM – Patienter med MISC i behov av BIVA vård.

ECMO behandling

Om covid-19 patienter försämras och utvecklar ett livshotande kardiorespiratoriskt kristillstånd är ECMO en möjlig behandling.

Orsaken till behov av ECMO kan vara tilltagande respiratorisk insufficiens med livshotande hypoxi och/eller cirkulatorisk chock som inte svarar på insatt behandling.

Den respiratoriska insufficiensen orsakas av en tilltagande ansamling av monocyter, aktiva T-celler och trombocyter i lungcirkulationen som skadar lungan. Det är samtidigt stor risk för trombosutveckling och utveckling av lungfibros. ECMO behandling bör därför kompletteras med aggressiv behandling av mikroangiopatin och cellansamlingen i lungan enligt tidigare kommentarer, antitrombotisk behandling med bl.a. antitrombin III (ev. argatroban) och profylax mot utveckling av lungfibros.



Vid behov kombineras ECMO behandlingen med dialys (CRRT). Vissa rekommenderar att detta kombineras med adsorptionsfilter som uppges kunna avlägsna cytokiner och endotoxiner: I en randomiserad kontrollerad studie på covid-19 patienter i behov av ECMO jämförde man Cytosorb® filtret med placebo. Man noterade ingen effekt på IL-6 nivåerna och en överlevnad på 76 % i placebogruppen, jämfört med endast 13 % överlevnad i Cytosorb filter gruppen [201]. Fyndet innebär att användning av Cytosorb fileter bör ske inom ramen för randomiserade kontrollerade studier [202, 203].

Oxiris filtret (Baxter) är ett annat filter som visat sig minska på endotoxin och cytokiner vid sepsis och kan vara ett alternativ [204]. Randomiserade kontrollerade studier på covid-19 patienter inväntas.

Svårt sjuka patienter med hyperinflammation kan utveckla en kardiovaskulär svikt med vasoplegi som uttrycker sig som en behandlingsresistent chock, där vasopressor behandling med noradrenalin, vasopressin, och/eller adrenalin inte hjälper. Orsaken verkar vara en kraftig bildning av inducerbart nitric oxide syntase (iNOS) som ger en kraftfull kväveoxid (NO) produktion. NO stimulerar guanylat cyklas att bilda cGMP som i sin tur är vasodilaterande. Vid dessa tillstånd kan metylenblått blockera guanylat cyklas och öka blodtrycket [205], t.ex. i väntan på att etablera en ECMO behandling.

Nyligen har man noterat att både IFN γ och TNF α behövs för att aktivera makrofager/monocyter att bilda stora mängder iNOS, NO och celldöd [29]. Aktiveringen av iNOS går via JAK/STAT1/IRF1 signaleringsvägen för IFN γ och via NF κ B för TNF α [206, 207]. Behandling med antikroppar mot TNF- α and IFN- γ skyddar från mortalitet vid experimentell SARS-CoV-2 infektion [29, 118]. Dessa data talar också för att NO-inhalation sannolikt är skadligt [29]. IL-1 blockad påverkar däremot inte utfallet vid svår sepsis [208].

Några utvalda publicerade randomiserade kontrollerade studier (RCT) som publicerats och som redogjort 28-30 dagars mortalitet och som ger en uppfattning om graden av protektion och signifikans ($p < 0.05$). Detta är ingen fullständig lista på alla RCT:

Behandling	Antal (n)	Placebo (Stand)	Beh grupp	Mortalitetssänkning 28-30 dagar	p-värde
ARB [84]	162	22,54 %	4,21 %	18,3 %	0,0023
JAK blockad [168]	289	29,0 %	18,1 %	10,9 %	0,04
Dexametason [161]	2104	25,7 %	22,9	2,8 %	<0,001
IL-6 blockad [141]	452	19,4 %	19,7	-0,3 %	0,94
IL-6 blockad [144]	129	3 %	17 %	-14 %	n.s.
IL-6 blockad [143]	243	3,8 %	5,6 %	-1,6 %	n.s.
IL-6 blockad [142]	389	8,6 %	10,4 %	-1,8%	n.s.
IL-1 blockad [137]	153	22 %	24 %	2 %	0,77
IL-1 β blockad [138]	448	7,2 %	4,9 %	2,3 %	0,29



Handläggnings- och behandlingsförslag för barn med covid-19:

Andningsinsufficiensen:

Det huvudsakliga primära intensivvårdsproblemet är en tilltagande hypoxi (desaturation) med kvarstående elastiska lungor (hög lungcompliance). Detta orsakas av ett tilltagande interstiellt ödem som svarar på ökad syrgastillförsel (ren diffusionsskada). I senare fas tillkommer ansamling av proinflammatoriska celler i lungan, sekretproblematik, trombosbildning och möjligen brist på surfactant med tillkomst av atelektaser och ev. pneumoniska sekundär infektioner som gör lungan stel (sänker lungans compliance) och liknar den klassiska ARDS bilden:

Andningsvård:

- O₂-tillförsel (upptill 100 %) med befuktad syrgas kan ges till barn som har en SpO₂ alt SaO₂ < 90 % på luftandning.
- Höglödesbehandling rekommenderas för god befuktning. Syrgasnivån titreras in för att nå målet SpO₂, SaO₂ > 92 %.
- På BIVA, kan man istället välja NIV på näsmask/ansiktsmask för att minska aerosolbildningen, men se upp med hyperventilation och stora tidalvolymmer som teoretiskt kan ge ett volutrauma på lungan.
- Ställningstagande till respiratorvård vid otillräcklig effekt enligt nedan. Observera att profylaktisk behandling med bl.a. ARB/ACE-inhibitor, fysiologisk steroidsubstitution, diuretika och spironolakton bör insättas tidigt för att förhindra denna utveckling.

Några tänkbara indikationer för respiratorvård kan vara:

- Oacceptabelt andningsarbete. Uttalade indragningar. Nedsatt medvetandegrad.
- Bestående oacceptabel syresättning (SaO₂ < 85 %) trots 100 % syrgas.
- Oacceptabel koldioxidretention och tecken på inadekvat andning med acidotutveckling.
- Tecken på sviktande cirkulation med laktatstegring.
- En snabb progress i utvecklingen av den respiratoriska svikten innebär att individuell bedömning bör göras och att man inte väntar för länge med beslutet.

Intubation - Läkemedel och utrustning enligt önskemål av ansvarig intubatör:

- Förslagsvis: Ketamin, rocuronium, remifentanyl, noradrenalin, Albumin 5%.
- Förbered fortsatt initial sedering enligt rutin på BIVA med Ketogan/Dexdor/ev. midazolam.
- Kontrollera att sugkatetrar finns, sug fungerar, virusfilter finns på suger, andningsmask, rätt tracheal-tubstorlek, magills tång, laryngoskop, ledare, ev. behov av videolaryngoskop.
- Skyddsklädseln är OK.



- Aktiv befuktning.
- Använd slutet sugsystem.
- Respiratorinställningar enligt ansvarig läkare och enligt sedvanliga riktlinjer för lungprotektiv ventilation.

Inhalationsbehandling:

SARS-CoV-2 pneumonit är känd för att ge segt sekret och ansamling av vita blodkroppar i luftvägen. Behov av inhalationsbehandling måste bedömas utifrån potentiell risk för ökande aerosolspridning.

- Pulmicort inhalation 0,25 mg/ml. 0,25 - 0,50 mg/dygn
- Pulmozyme behandling 2,5 mg (1 ml) x 1-2 inhalation/dygn enligt PM när så bedöms behövt.
- Ventoline inhalation 2 mg/ml, 0,08 ml/kg x 4-6.

Direktpåvisning av agens, antigen (PCR), odlingar och/eller serologi:

Förslagsvis 1-2 ggr per vecka.

- Bakterie-odlingar: blod, urin, NPH alternativt trachealtub
- Svampodling, Beta-d-glucan – (svampantigen i serum), Aspergillus – galactomannan
- Odling "Atypiska bakterier"
- Utvidgat luftvägsblock – inklusive SARS-CoV-2 (ev. bestämning av Ct-värdet)
- SARS-CoV-2 serologi
- Ev. PCR - EBV, CMV, Parvovirus, Enterovirus



Cirkulation och koagulation:

AT-1-receptor blockering med angiotensin receptorblockerar (ARB) bör övervägas redan vid inkomst och när diagnosen verifierats. AT-1-receptorstimulering via ANG II ökar den proinflammatoriska aktiviteten och bidra till endoteldysfunktionen, ödem-utvecklingen, trombosbildningen. ARB behandling väljs i första hand då man anser att den i lungan bildade ANG II i viss mån kan omvandlas till ANG 1-7, trots ACE2 brist. ANG 1-7 stimulerar AT-2receptorn som är anti-inflammatorisk, minskar lungfibros, förbättra hjärt- och njurfunktionen. ACE-inhibition kan vara effektivare för att blockera PAI-1 aktiviteten än vissa ARB, men ger biverkningar p.g.a. utebliven inhibering av substance P och bradykinin, som kan vara kopplat till ökad kärlpermeabilitet i lungan:

RCT visar att AT-1 receptor blockad minskar mortaliteten mest av alla hittills publicerade RCT som undersökt olika behandlingar [84]. I avvaktan till motsatsen påvisas rekommenderas därför insättning av denna behandling.

ARB behandling:

- Losartan 1:a dagen: 0,25 mg/kg x 2, 2:a dagen: 0,5 mg/kg x 2 och om blodtrycket och kreatinin tillåter, 1 mg/kg x2.
- Telmisartan 1:a dagen: 0,25 mg/kg x 2, 2:a dagen: 0,5 mg/kg x 2 och om blodtrycket tillåter, 1 mg/kg x2.
(Telmisartan är mer lipofil, har längre halveringstid än Losartan och partiell agonist för peroxisom proliferator-aktiverad receptor (PPAR-γ). Telmisartan användes i RCT med 18 % mortalitetssänkning vid covid-19 och kan vara att föredra [84, 209, 210].)

Eftersom mikrotrombotiseringen vid covid-19 enligt flera studier är heparinresistent och enligt experimentella studier endast verkar svara på antitrombin behandling föreslås att nivån på Antitrombin III hålls ≥ 1 kIE/L. Följ antitrombin III dagligen i början av vårdförloppet.

Antikoagulation och trombocythämning:

- Antitrombin III: - Atenativ 50 -100 E/kg i.v.
- Inj Fragmin 60 E/kg x 2 sc.
- Vid påverkad perifer cirkulation – ev heparininfusion – startdos 10E/kg/tim.

Vid trombosbildning trots ovan föreslås enligt publicerade studier som påvisat god effekt:

- Argatroban (Novastan) **Startdos:** 0,75 mcg/kg/min som kontinuerlig infusion. Höj/sänk med 0,25 mcg/kg/min om leversvikt $\frac{1}{4}$ - $\frac{1}{2}$ av ordinarie dos. (FDA rekommendation för pediatrikt bruk).
- Heparin/Fragmin/LMWA behandlingen avbryts. APTT 1,5 - 3 ggr förlängning men alltid < 100 s. APTT kontrolleras efter 2 timmars infusion.



- Mixtur ASA, T. Trombyl: 2-5 mg/kg x 1 Preliminära studier talar för positiv effekt vid covid-19 [195].
- Vid behov kan infusion Flolan (prostacyklin) 2 ng/kg/min ges vid CRRT eller ECMO enligt särskilt PM på BIVA.

UKG

- Kammarkontraktilitet.
- Tecken på pulmonell hypertension (TI VTI>3 m/s).
- Shuntflödets riktning om sådana finns.
- Tecken på hyperkinetisk cirkulation och/eller hypovolemi.

Upprätthåll blodvolymen:

- Ge ev. SAG för att optimera Hb, speciellt vid låg SaO₂. Vid SaO₂ < 85 %, bör Hb nivån sannolikt ligga ≥ 130 g/L för optimal syretillförsel till vävnaden och acceptabelt SvO₂ (erfarenhetsmässigt från barn med cyanotisk hjärtfel).
- Ge ev. Albumin för att optimera kolloidosmotiska trycket och för att minimera ödembildningen generellt och i lungorna.
- Ge ev. Addex-NaCl för att upprätthåll kristalloidosmotiska trycket, håll förslagsvis S-Na > 136 mmol/L.

Optimera kammarkontraktilitet:

- Milrinon 0,5-0,7 µg/kg/min vid tecken på nedsatt kontraktilitet, volyms- eller tryckbelastad höger kammare.
- Addera inotropa medel med β-stimulerande effekt för synergistisk effekt med milrinon. Förslagsvis dopamin 5-10 µg/kg/min alternativt adrenalin 0.05-0,2 µg/kg/min.

Upprätthåll blodtrycket:

- Medelartärblodtryck (MAP) ≥ 40 mmHg på neonatala barn (SAP ≥ 50 mm Hg). Om hypovolemi inte föreligger, och behov av att höja blodtrycket föreligger vasokonstringera med noradrenalin 0,01 - 0,2 µg/kg/min och/eller vasopressin 0,0003-0,001 E/kg/min. Sätt inte ut anti-inflammatoriska behandling med ARB. Blodtrycksänkning orsakad av ARB tyder på hypovolemi. Vid refraktär vasoplegi tas individuellt ställningstagande.
- OBS! En viktig mekanism vid refraktär hypotension vid hyperinflammation är medierad via iNOS med kraftig NO produktion orsakad av TNFα + INFγ. Metylen blått hämmar guanylat cyklas och den NO medierade vasodilatationen – kan ges som rescue-behandling inför ställningstagande till ECMO. Se upp för pulmonell hypertension och HK svikt.



- Metylenblått: (Mehylthioninum chloride Proveblue 10 mg/ml). 1-2 mg/kg iv under 10-20 min följd av en infusion 0,1-0,5 mg/kg/tim.



Njurfunktion och diures:

Upprätthåll diuresen och dehydrera inte patienten initialt:

Diuretica:

- Furosemid förslagsvis 0,5 mg/kg x 2-4 iv., ev Furosemid infusion 0,1 – 1 mg/kg/tim.
- Metolazon 0,05 – 0,1 mg/kg p.o/p.s
- HANP (Carperitide) 25 – 50 ng/kg/min (hämmar ANG II orsakad hypersekretion av aldosteron och resulterande hyponatremi)

Aldosteron ökar PAI-1 och därigenom risken för trombosbildning. Aldosteron stimulerar ACE1 och ökar ANG II. Obs! kan interagera med ACE/ARB och ge hyperkalemi – följ kaliumnivåerna.

Aldosteronhämning:

- T. Spironolakton: 2 mg/kg/dygn p.o/p.s alternativ Sordactone 2 mg/kg/dygn iv.

Upprätthåll Magnesium och kalium:

- Magnesium sulfat: 0,1-0,2 mmol/kg under 3-5 tim, vilket kan upprepas.
- Kalium: 0,1-0,5 mmol/kg/tim po/ps/iv.

CRRT:

- Vid behov av dialys välj gärna ST-60 eller större filter om adsorptionsfilter planeras ingå i behandlingen. (Antikoagulation med heparin 10E/kg/tim + Flolan 2 ng/kg/min) – Se PM)
- F.n. finns två adsorptionsfilter för adsorption av endotoxin och cytokiner att välja på Cytosorb respektive Oxiris filter. Indikationen och effekten oklar och rekommenderas inte utanför randomiserade studier, speciellt sedan kontrollerad studie med Cytosorb påvisat ökad mortalitet.

Hyperinflammation och infektionsproblematiken:

Steroidbehandling:

- Lågdos behandling insättes profylaktiskt:
SoluCortef som vid kapillärläckage (halveringstid 1,5 tim): 2 mg/kg x 4 i.v.
Alternativt
Dexametason (halveringstid 3.5 tim): 0.1 mg/kg x 2 (i.v. eller p.o.).



Vid kraftig hyperinflammation eller MIS-C övervägs högre doser (3 alternativ) :

- Methylprednisolon 30 mg/kg/d i 3 dygn – därefter 1mg/kg x 2 i 5-7 dagar – följt av Prednisolon 2 mg/kg/d som trappas ut under 2-3 veckor.
- Dexametason 2,5 mg/kg x 2 i 3 dygn – därefter 0,1 mg/kg x 2 i 5-7 dag dagar – följt av Prednisolon 2 mg/kg/d som trappas ut under 2-3 veckor.
- Hydrocortison 30mg/kg x 4 i 3 dygn – därefter 1mg/kg x 4 i 5-7 dagar – följt av Prednisolon 2 mg/kg/d som trappas ut under 2-3 veckor.

Vitamin D, Vitamin C, Thiamin och Melatonin:

Vitamin D tillskott rekommenderas, åtminstone tills D-vitamin analysen kommer.

- Detremin
 - Ålder <1 år: 1 droppe dagligen eller 7 droppar en gång i veckan.
 - Ålder 1-10 år: 1-2 droppar dagligen eller 7-14 droppar en gång i veckan.
 - Ålder > 10 år: 1-5 droppar dagligen eller 7-35 droppar en gång i veckan.
- Vitamin C: 20 mg/kg x 4, ges på 40 min [186].
- Thiamine: 2,5 mg/kg x 2 ges på 30 min (kan ges outspätt 50 mg/ml).
- Melatonin 0,2 mg/kg x 2 po/ps.

Profylaktisk antibiotikaskydd rekommenderas:

- Cefotaxim 100 mg/kg/d uppdelat på 3 doser (sedvanlig rutin)

Vid oklar sepsis – eller om antiinflammatorisk behandling ges utöver fysiologisk steroidbehandling bör bredare antibiotika behandling övervägas:

- Meropenem 20 mg/kg *4 iv, alt 60 mg(6ml)/kg/dygn = 2,5mg (0,25 ml)/kg/h) infusion /Vancocin Laddningsdos IV 20 mg/kg (4 ml/kg) på 1 h därefter kontinuerlig infusion med (Vancocin 5 mg/ml) startdos 30mg (6ml)/kg/dygn = 1,25 mg (0,25 ml)/kg/h.
Alternativt
- Piperacillin/Tazobactam: 80 mg piperacillin/10 mg tazobaktam per kg kroppsvikt/var 6:e timme.
- Diflucan profylax 6 mg/kg*1 (1:a dos) därefter 3 mg/kg * 1 dagligen.
- Azitromycin har använts enligt vissa författare: 10 mg/kg första dagen i engångsdos, därefter 5 mg/kg i engångsdos.

För att öka ventrikelpassagen (tarmmotilitets- stimulerande medel):

- Azitromycin 2-3 mg/kg x 1; alternativt _ Erytromycin 2 mg/kg x3



- **Immunomodulerande behandling:**

Om tecken på en tilltagande hyperinflammation trots antiinflammatorisk behandling enligt ovan, ANGII-blockad, aldosteronhämning (RAAS), antibiotika, trombocythämning, antikoagulation och vitaminsubstitution kan det finnas indikation för mer aktiv immunomodulerande behandling. Vi har på BIVA hittills hämmat utvecklingen av covid-19 med den ovan beskrivna profylaktiska behandlingen och inte behövt sätta in immunomodulerande behandling på något barn.

Stigande kalprotektin koncentrationer, feber, stigande IL-6, löslig IL2-rec, ferritin och LD nivåer med sjunkande lymfocyter ($<0,8 \times 10^9/L$) och klinisk försämring med behov av respiratorvård, lunginfiltrat och kardiovaskulär påverkan är aggraverande tecken som indikerar att kraftfullare behandling bör övervägas. Kalprotektin- och ferritin- ökningen antyder ansamling av kalprotektin frisättande monocyter i lungcirkulationen och cytokinökningen påvisar att de immunologiska cellerna (monocyterna, CD4+, CD8+) och endotelcellerna aktiverats samtidigt som det är den mest plausibla patofysiologiska förklaringen till försämringen. Ansamlingen av de aktiverade proinflammatoriska immunologiska cellerna i lungan bör hämmas för att minska aggregationen och därigenom minska cytokin- och kemokin frisättningen. Etoposid behandlingen är effektivt och i preliminära studier utan att öka infektionsrisken. [157, 159]

- Etoposide 100 mg/m²/dygn 2-5 dygn som långsam intravenös dos på 30-60 min. Kontroll av vita, trombocyter och Hb.

Alternativet är JAK-inhibition som i randomiserad kontrollerad studie visat kunna minska mortaliteten vid covid-19:

- Toficitinib (Xeljanz[®]) p.o.
 - 3 - 4 kg - 0,75 mg x 2, 5 - 6 kg – 1 mg x 2, 7 – 9 kg – 1,5 mg x 2, 10- 12 kg - 2 mg x 2, 13 – 15 kg - 2,5 mg x 2, 16 – 19 kg - 3 mg x 2, 20 – 22 kg - 3,5 mg x 2, 23 – 26 kg - 4 mg x 2, 27 – 29 kg – 4,5 mg x 2, > 30 kg – 5 mg x 2 gives upptill 14 dagar p.o eller till utskrivning från BIVA. Pediatrisk dosering enligt Ruperto. [168, 211]

Behandling med IL-6 och IL-1 β blockerare har inte påvisat sig ha någon effekt på mortaliteten i randomiserade (blindade) kontrollerade studier:

- Tocilizumab (RoActerna[®]) som blockerar IL-6/IL-6R [141, 142].
- Anakinra (Kineret[®]) som blockerar IL-1 och inte heller canakinumab som blockerar IL-1 β [137, 138].

Resultat vid behandling med TNF α blockad - inväntas.

- Infliximab (Remicade) Startdos 2,5 mg/kg x 2 iv. under 3 dagar därefter 1-1,5 mg/kg, extrapolerad från behandling till vuxna.



Provtagning:

Inkomstprover – Se PM BIVA

+

Kalprotektin, TNF α , IL-1 β , löslig IL-2rec, IL-6, ferritin, TG, Troponin, Pro BNP, Thyreoidea prover (TSH, T3, T4), 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D), Antitrombin III (koagulationsstatus), CRP/PCT, LD.

Förslag på startbehandling vid covid-19 (kom-ihåg lista):

Sedering vid respiratorvård:

Inf Ketogan 10-20 μ g/kg/tim

Inf Dexmedetomidine 0 – 1,5 μ g/kg/tim

Antiinflammatorisk behandling:

Inj Solu-cortef 2 mg/kg x 4 i.v.

Mixtur ASA, T. Trombyl: 2-5 mg/kg x 1 po/ps

Vitamin C: 20 mg/kg x 4 i.v.

Thiamine: 2,5 mg/kg x 2 i.v.

Vitamin D Detremin 1-5 drp po/ps – Dosering efter ålder och brist – se s 26

Melatonin 0,2 mg/kg x 2 po/ps

T. Losartan: 1:a dagen: 0,25 mg/kg x 2, 2:a dagen: 0,5 mg/kg x 2, 1 mg/kg x2. po/ps. Se alt Telmisatran (s 23).

T. Spironolakton: 2 mg/kg/dygn p.o/p.s alternativ Soldactone 2 mg/kg/dygn iv.

Antikoagulation:

Inj Fragmin 60 E/kg x 2 sc.

Atenativ 50 -100 E/kg i.v.

Antibiotika

Cefotaxim 100 mg/kg/d uppdelat på 3 doser i.v.

Inhalationsbehandling efter behov

Ventoline enligt BIVA PM

Pulmicort enligt BIVA PM

Pulmozyme enligt BIVA PM

Diuretika efter behov

Furosemid 0,5 mg/kg x 2-4 iv. ev Furosemid infusion 0,1 – 1 mg/kg/tim.

Metolazon 0,05 – 0,1 mg/kg p.o/p.s

HANP (Carperitide) 25 – 50 ng/kg/min

Magnesium sulfat: 0,1-0,2 mmol/kg

Kalium: 0,1-0,5 mmol/kg/tim po/ps/iv

Inotropi, vasopressorer efter behov

Milrinon 0,5-0,75 μ g/kg/min

Noradrenalin 0,01 – 0,2 μ g/kg/min, Vasopressin 0,0003 – 0,001 E/kg/min, Adrenalin

Lars Lindberg Öl, BIVA, Skånes Universitetssjukhuset i Lund



Referenslista:

1. Huang, Y., et al., *Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19*. Acta Pharmacol Sin, 2020. **41**(9): p. 1141-1149.
2. Jaimes, J.A., et al., *Phylogenetic Analysis and Structural Modeling of SARS-CoV-2 Spike Protein Reveals an Evolutionary Distinct and Proteolytically Sensitive Activation Loop*. J Mol Biol, 2020. **432**(10): p. 3309-3325.
3. Burki, T., *The origin of SARS-CoV-2*. Lancet Infect Dis, 2020. **20**(9): p. 1018-1019.
4. NIC National Intelligence Council - Update assessment on covid-19 origin www.dni.gov/files/ODNI/documents/assessments/Declassified-Assessment-on-COVID-19-Origins.pdf, 2021.
5. Li, Y., et al., *Probable airborne transmission of SARS-CoV-2 in a poorly ventilated restaurant*. Build Environ, 2021. **196**: p. 107788.
6. Ou, C., et al., *Insufficient ventilation led to a probable long-range airborne transmission of SARS-CoV-2 on two buses*. Build Environ, 2022. **207**: p. 108414.
7. Kulkarni, H., et al., *Evidence of Respiratory Syncytial Virus Spread by Aerosol. Time to Revisit Infection Control Strategies?* Am J Respir Crit Care Med, 2016. **194**(3): p. 308-16.
8. Hasan, M.N., et al., *The Global Case-Fatality Rate of COVID-19 Has Been Declining Since May 2020*. Am J Trop Med Hyg, 2021. **104**(6): p. 2176-2184.
9. Bateson, M.L. and J.M. McPeake, *Critical care survival rates in COVID-19 patients improved as the first wave of the pandemic developed*. Evid Based Nurs, 2022. **25**(1): p. 13.
10. Mastrangelo, P., et al., *Identification of RSV Fusion Protein Interaction Domains on the Virus Receptor, Nucleolin*. Viruses, 2021. **13**(2).
11. Griffiths, C.D., et al., *IGF1R is an entry receptor for respiratory syncytial virus*. Nature, 2020. **583**(7817): p. 615-619.
12. Khanmohammadi, S. and N. Rezaei, *Role of Toll-like receptors in the pathogenesis of COVID-19*. J Med Virol, 2021. **93**(5): p. 2735-2739.
13. Root-Bernstein, R., *Innate Receptor Activation Patterns Involving TLR and NLR Synergisms in COVID-19, ALI/ARDS and Sepsis Cytokine Storms: A Review and Model Making Novel Predictions and Therapeutic Suggestions*. Int J Mol Sci, 2021. **22**(4).
14. Kouwaki, T., et al., *RIG-I-Like Receptor-Mediated Recognition of Viral Genomic RNA of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 and Viral Escape From the Host Innate Immune Responses*. Front Immunol, 2021. **12**: p. 700926.
15. Matsumiya, T. and D.M. Stafforini, *Function and regulation of retinoic acid-inducible gene-I*. Crit Rev Immunol, 2010. **30**(6): p. 489-513.
16. Heil, F., et al., *Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8*. Science, 2004. **303**(5663): p. 1526-9.
17. Wang, J., et al., *The functional effects of physical interactions among Toll-like receptors 7, 8, and 9*. J Biol Chem, 2006. **281**(49): p. 37427-34.
18. Campbell, G.R., et al., *SARS-CoV-2, SARS-CoV-1, and HIV-1 derived ssRNA sequences activate the NLRP3 inflammasome in human macrophages through a non-classical pathway*. iScience, 2021. **24**(4): p. 102295.
19. Hadjadj, J., et al., *Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients*. Science, 2020. **369**(6504): p. 718-724.



20. Gorden, K.B., et al., *Synthetic TLR agonists reveal functional differences between human TLR7 and TLR8*. J Immunol, 2005. **174**(3): p. 1259-68.
21. Liu, T., et al., *NF-kappaB signaling in inflammation*. Signal Transduct Target Ther, 2017. **2**.
22. Solanich, X., et al., *Genetic Screening for TLR7 Variants in Young and Previously Healthy Men With Severe COVID-19*. Front Immunol, 2021. **12**: p. 719115.
23. Bastard, P., et al., *Autoantibodies against type I IFNs in patients with life-threatening COVID-19*. Science, 2020. **370**(6515).
24. Badr, G., et al., *Type I interferon (IFN-alpha/beta) rescues B-lymphocytes from apoptosis via PI3Kdelta/Akt, Rho-A, NFkappaB and Bcl-2/Bcl(XL)*. Cell Immunol, 2010. **263**(1): p. 31-40.
25. Kiefer, K., et al., *Role of type I interferons in the activation of autoreactive B cells*. Immunol Cell Biol, 2012. **90**(5): p. 498-504.
26. Le Bon, A. and D.F. Tough, *Links between innate and adaptive immunity via type I interferon*. Curr Opin Immunol, 2002. **14**(4): p. 432-6.
27. Habibi, M.S., et al., *Impaired Antibody-mediated Protection and Defective IgA B-Cell Memory in Experimental Infection of Adults with Respiratory Syncytial Virus*. Am J Respir Crit Care Med, 2015. **191**(9): p. 1040-9.
28. Delgado, M., *Inhibition of interferon (IFN) gamma-induced Jak-STAT1 activation in microglia by vasoactive intestinal peptide: inhibitory effect on CD40, IFN-induced protein-10, and inducible nitric-oxide synthase expression*. J Biol Chem, 2003. **278**(30): p. 27620-9.
29. Karki, R., et al., *Synergism of TNF-alpha and IFN-gamma Triggers Inflammatory Cell Death, Tissue Damage, and Mortality in SARS-CoV-2 Infection and Cytokine Shock Syndromes*. Cell, 2021. **184**(1): p. 149-168 e17.
30. Campbell, G.R. and S.A. Spector, *Toll-like receptor 8 ligands activate a vitamin D mediated autophagic response that inhibits human immunodeficiency virus type 1*. PLoS Pathog, 2012. **8**(11): p. e1003017.
31. Wang, C., et al., *Human Cathelicidin Inhibits SARS-CoV-2 Infection: Killing Two Birds with One Stone*. ACS Infect Dis, 2021.
32. Chung, C., et al., *Vitamin D-Cathelicidin Axis: at the Crossroads between Protective Immunity and Pathological Inflammation during Infection*. Immune Netw, 2020. **20**(2): p. e12.
33. Hoepel, W., et al., *High titers and low fucosylation of early human anti-SARS-CoV-2 IgG promote inflammation by alveolar macrophages*. Sci Transl Med, 2021. **13**(596).
34. White, J.H., *Vitamin D as an inducer of cathelicidin antimicrobial peptide expression: past, present and future*. J Steroid Biochem Mol Biol, 2010. **121**(1-2): p. 234-8.
35. Sansom, D.M., C.N. Manzotti, and Y. Zheng, *What's the difference between CD80 and CD86?* Trends Immunol, 2003. **24**(6): p. 314-9.
36. Danese, S., et al., *Cutting edge: T cells trigger CD40-dependent platelet activation and granular RANTES release: a novel pathway for immune response amplification*. J Immunol, 2004. **172**(4): p. 2011-5.
37. Tang, T., et al., *Molecular basis and therapeutic implications of CD40/CD40L immune checkpoint*. Pharmacol Ther, 2021. **219**: p. 107709.
38. Thompson, M.R., et al., *Pattern recognition receptors and the innate immune response to viral infection*. Viruses, 2011. **3**(6): p. 920-40.
39. Gavins, F.N., et al., *Microvascular thrombosis and CD40/CD40L signaling*. J Thromb Haemost, 2011. **9**(3): p. 574-81.

40. Henn, V., et al., *CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells*. *Nature*, 1998. **391**(6667): p. 591-4.
41. Aloui, C., et al., *The signaling role of CD40 ligand in platelet biology and in platelet component transfusion*. *Int J Mol Sci*, 2014. **15**(12): p. 22342-64.
42. Danese, S. and C. Fiocchi, *Platelet activation and the CD40/CD40 ligand pathway: mechanisms and implications for human disease*. *Crit Rev Immunol*, 2005. **25**(2): p. 103-21.
43. Danese, S., M. Sans, and C. Fiocchi, *The CD40/CD40L costimulatory pathway in inflammatory bowel disease*. *Gut*, 2004. **53**(7): p. 1035-43.
44. Dewitte, A., et al., *New frontiers for platelet CD154*. *Exp Hematol Oncol*, 2015. **4**: p. 6.
45. Comer, S.P., et al., *COVID-19 induces a hyperactive phenotype in circulating platelets*. *PLoS Biol*, 2021. **19**(2): p. e3001109.
46. Canzano, P., et al., *Platelet and Endothelial Activation as Potential Mechanisms Behind the Thrombotic Complications of COVID-19 Patients*. *JACC Basic Transl Sci*, 2021. **6**(3): p. 202-218.
47. Helms, J., et al., *High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study*. *Intensive Care Med*, 2020.
48. Senchenkova, E.Y., et al., *Roles of Coagulation and fibrinolysis in angiotensin II-enhanced microvascular thrombosis*. *Microcirculation*, 2014. **21**(5): p. 401-7.
49. Senchenkova, E.Y., et al., *A critical role for both CD40 and VLA5 in angiotensin II-mediated thrombosis and inflammation*. *FASEB J*, 2018. **32**(6): p. 3448-3456.
50. Lax, S.F., et al., *Pulmonary Arterial Thrombosis in COVID-19 With Fatal Outcome : Results From a Prospective, Single-Center, Clinicopathologic Case Series*. *Ann Intern Med*, 2020. **173**(5): p. 350-361.
51. Arachchilage, D.J., et al., *Anticoagulation with argatroban in patients with acute antithrombin deficiency in severe COVID-19*. *Br J Haematol*, 2020. **190**(5): p. e286-e288.
52. Seshadri, M., J. Ahamed, and J. Laurence, *Intervention in COVID-19 linked hypercoagulable states characterized by circuit thrombosis utilizing a direct thrombin inhibitor*. *Thrombosis Update*, 2020. **1**(December).
53. Dorward, D.A., et al., *Tissue-Specific Immunopathology in Fatal COVID-19*. *Am J Respir Crit Care Med*, 2021. **203**(2): p. 192-201.
54. Chvatal-Medina, M., et al., *Antibody Responses in COVID-19: A Review*. *Front Immunol*, 2021. **12**: p. 633184.
55. Siracusano, G., C. Pastori, and L. Lopalco, *Humoral Immune Responses in COVID-19 Patients: A Window on the State of the Art*. *Front Immunol*, 2020. **11**: p. 1049.
56. Huang, A.T., et al., *A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: kinetics, correlates of protection, and association with severity*. *Nat Commun*, 2020. **11**(1): p. 4704.
57. Huang, M., et al., *Temporal antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of coronavirus disease 2019*. *Cell Discov*, 2020. **6**: p. 64.
58. Zhao, J., et al., *Antibody Responses to SARS-CoV-2 in Patients With Novel Coronavirus Disease 2019*. *Clin Infect Dis*, 2020. **71**(16): p. 2027-2034.
59. Winklmeier, S., et al., *Persistence of functional memory B cells recognizing SARS-CoV-2 variants despite loss of specific IgG*. *iScience*, 2022. **25**(1): p. 103659.
60. Tavasolian, F., et al., *HLA, Immune Response, and Susceptibility to COVID-19*. *Front Immunol*, 2020. **11**: p. 601886.



61. Mohamed Khosroshahi, L., et al., *Immunology, immunopathogenesis and immunotherapeutics of COVID-19; an overview*. Int Immunopharmacol, 2021. **93**: p. 107364.
62. Rieder, M., et al., *Serum ACE-2, angiotensin II, and aldosterone levels are unchanged in patients with COVID-19*. Am J Hypertens, 2020.
63. Kreutz, R., et al., *Hypertension, the renin-angiotensin system, and the risk of lower respiratory tract infections and lung injury: implications for COVID-19*. Cardiovasc Res, 2020.
64. Ingraham, N.E., et al., *Understanding the renin-angiotensin-aldosterone-SARS-CoV axis: a comprehensive review*. Eur Respir J, 2020. **56**(1).
65. Hrenak, J. and F. Simko, *Renin-Angiotensin System: An Important Player in the Pathogenesis of Acute Respiratory Distress Syndrome*. Int J Mol Sci, 2020. **21**(21).
66. Ziegler, C.G.K., et al., *SARS-CoV-2 Receptor ACE2 Is an Interferon-Stimulated Gene in Human Airway Epithelial Cells and Is Detected in Specific Cell Subsets across Tissues*. Cell, 2020.
67. Zhong, J., et al., *The immunology of COVID-19: is immune modulation an option for treatment?* Lancet Rheumatol, 2020. **2**(7): p. e428-e436.
68. Hoffmann, M., et al., *SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor*. Cell, 2020. **181**(2): p. 271-280 e8.
69. Walls, A.C., et al., *Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein*. Cell, 2020. **183**(6): p. 1735.
70. Seeland, U., et al., *Evidence for treatment with estradiol for women with SARS-CoV-2 infection*. BMC Med, 2020. **18**(1): p. 369.
71. Chen, J., et al., *Individual variation of the SARS-CoV-2 receptor ACE2 gene expression and regulation*. Aging Cell, 2020. **19**(7).
72. Cheng, H., Y. Wang, and G.Q. Wang, *Organ-protective effect of angiotensin-converting enzyme 2 and its effect on the prognosis of COVID-19*. J Med Virol, 2020.
73. Stilhano, R.S., et al., *SARS-CoV-2 and the possible connection to ERs, ACE2, and RAGE: Focus on susceptibility factors*. FASEB J, 2020. **34**(11): p. 14103-14119.
74. Kumari, K., G.B.N. Chainy, and U. Subudhi, *Prospective role of thyroid disorders in monitoring COVID-19 pandemic*. Heliyon, 2020. **6**(12): p. e05712.
75. Malek Mahdavi, A., *A brief review of interplay between vitamin D and angiotensin-converting enzyme 2: Implications for a potential treatment for COVID-19*. Rev Med Virol, 2020. **30**(5): p. e2119.
76. De Smet, D., et al., *Serum 25(OH)D Level on Hospital Admission Associated With COVID-19 Stage and Mortality*. Am J Clin Pathol, 2020.
77. Huang, F., et al., *Angiotensin II plasma levels are linked to disease severity and predict fatal outcomes in H7N9-infected patients*. Nat Commun, 2014. **5**: p. 3595.
78. Liu, Y., et al., *Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury*. Sci China Life Sci, 2020. **63**(3): p. 364-374.
79. Liu, N.H., Y. Chen, R-G. Zhu, H-M., *High rate of increased level of plasma angiotensin II and its gender difference in ccovid-19: An analysis of 55 hospitalized patients with covid-19 in a single hospital, wuhan, China*. J Clin Toxicol, 2021. **11**(S16): p. 6.
80. Wu, Z., et al., *Elevation of plasma angiotensin II level is a potential pathogenesis for the critically ill COVID-19 patients*. Crit Care, 2020. **24**(1): p. 290.

81. Zhang, H. and A. Baker, *Recombinant human ACE2: acing out angiotensin II in ARDS therapy*. Crit Care, 2017. **21**(1): p. 305.
82. Zoufaly, A., et al., *Human recombinant soluble ACE2 in severe COVID-19*. Lancet Respir Med, 2020. **8**(11): p. 1154-1158.
83. Kuba, K., et al., *A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury*. Nat Med, 2005. **11**(8): p. 875-9.
84. Duarte, M., et al., *Telmisartan for treatment of Covid-19 patients: An open multicenter randomized clinical trial*. EClinicalMedicine, 2021. **37**: p. 100962.
85. Bodor, C., et al., *Angiotensin II increases the permeability and PV-1 expression of endothelial cells*. Am J Physiol Cell Physiol, 2012. **302**(1): p. C267-76.
86. Parikh, S.M., et al., *Excess circulating angiopoietin-2 may contribute to pulmonary vascular leak in sepsis in humans*. PLoS Med, 2006. **3**(3): p. e46.
87. Gattinoni, L., et al., *COVID-19 pneumonia: different respiratory treatments for different phenotypes?* Intensive Care Med, 2020.
88. Yan, Y., et al., *Angiotensin II receptor blocker as a novel therapy in acute lung injury induced by avian influenza A H5N1 virus infection in mouse*. Sci China Life Sci, 2015. **58**(2): p. 208-11.
89. Mortensen, E.M., et al., *Population-based study of statins, angiotensin II receptor blockers, and angiotensin-converting enzyme inhibitors on pneumonia-related outcomes*. Clin Infect Dis, 2012. **55**(11): p. 1466-73.
90. Wang, J., et al., *Chronic Activation of the Renin-Angiotensin System Induces Lung Fibrosis*. Sci Rep, 2015. **5**: p. 15561.
91. Uhal, B.D., et al., *Angiotensin signalling in pulmonary fibrosis*. Int J Biochem Cell Biol, 2012. **44**(3): p. 465-8.
92. Huang, Z., et al., *Inhibitors of the renin-angiotensin system: The potential role in the pathogenesis of COVID-19*. Cardiol J, 2020. **27**(2): p. 171-174.
93. Lu, S., et al., *PTEN (Phosphatase and Tensin Homolog) Protects Against Ang II (Angiotensin II)-Induced Pathological Vascular Fibrosis and Remodeling-Brief Report*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2020. **40**(2): p. 394-403.
94. Maruta, H. and H. He, *PAK1-blockers: Potential Therapeutics against COVID-19*. Med Drug Discov, 2020. **6**: p. 100039.
95. Forrester, S.J., et al., *Angiotensin II Signal Transduction: An Update on Mechanisms of Physiology and Pathophysiology*. Physiol Rev, 2018. **98**(3): p. 1627-1738.
96. Seltzer, S., *Linking ACE2 and angiotensin II to pulmonary immunovascular dysregulation in SARS-CoV-2 infection*. Int J Infect Dis, 2020. **101**: p. 42-45.
97. Zhou, Y.F., B, *Pathogenic T-cells and inflammatory monocytes incite inflammatory storms in severe COVID-19 patents*. Natl Sci Rev, 2020. **7**(6): p. 5.
98. Hausding, M., et al., *CD40L contributes to angiotensin II-induced pro-thrombotic state, vascular inflammation, oxidative stress and endothelial dysfunction*. Basic Res Cardiol, 2013. **108**(6): p. 386.
99. Steven, S., et al., *CD40L controls obesity-associated vascular inflammation, oxidative stress, and endothelial dysfunction in high fat diet-treated and db/db mice*. Cardiovasc Res, 2018. **114**(2): p. 312-323.
100. de Queiroz, T.M., N. Lakkappa, and E. Lazartigues, *ADAM17-Mediated Shedding of Inflammatory Cytokines in Hypertension*. Front Pharmacol, 2020. **11**: p. 1154.



101. Zipeto, D., et al., *ACE2/ADAM17/TMPRSS2 Interplay May Be the Main Risk Factor for COVID-19*. Front Immunol, 2020. **11**: p. 576745.
102. Jia, H., *Pulmonary Angiotensin-Converting Enzyme 2 (ACE2) and Inflammatory Lung Disease*. Shock, 2016. **46**(3): p. 239-48.
103. Miller, D.L., R. Yaron, and M.J. Yellin, *CD40L-CD40 interactions regulate endothelial cell surface tissue factor and thrombomodulin expression*. J Leukoc Biol, 1998. **63**(3): p. 373-9.
104. Slupsky, J.R., et al., *Activated platelets induce tissue factor expression on human umbilical vein endothelial cells by ligation of CD40*. Thromb Haemost, 1998. **80**(6): p. 1008-14.
105. Llitjos, J.F., et al., *High incidence of venous thromboembolic events in anticoagulated severe COVID-19 patients*. J Thromb Haemost, 2020. **18**(7): p. 1743-1746.
106. Villard, O., et al., *The Plasmatic Aldosterone and C-Reactive Protein Levels, and the Severity of Covid-19: The Dyhor-19 Study*. J Clin Med, 2020. **9**(7).
107. Brown, N.J., et al., *Aldosterone modulates plasminogen activator inhibitor-1 and glomerulosclerosis in vivo*. Kidney Int, 2000. **58**(3): p. 1219-27.
108. Stoll, D., et al., *Both aldosterone and spironolactone can modulate the intracellular ACE/ANG II/AT1 and ACE2/ANG (1-7)/MAS receptor axes in human mesangial cells*. Physiol Rep, 2019. **7**(11): p. e14105.
109. Liu, B.M., et al., *Clinical significance of measuring serum cytokine levels as inflammatory biomarkers in adult and pediatric COVID-19 cases: A review*. Cytokine, 2021. **142**: p. 155478.
110. Sinha, P., M.A. Matthay, and C.S. Calfee, *Is a "Cytokine Storm" Relevant to COVID-19?* JAMA Intern Med, 2020. **180**(9): p. 1152-1154.
111. Eskilsson, A., et al., *Immune-induced fever is mediated by IL-6 receptors on brain endothelial cells coupled to STAT3-dependent induction of brain endothelial prostaglandin synthesis*. J Neurosci, 2014. **34**(48): p. 15957-61.
112. Eriguchi, Y., et al., *Essential role of IFN-gamma in T cell-associated intestinal inflammation*. JCI Insight, 2018. **3**(18).
113. Obermeier, F., et al., *Interferon-gamma (IFN-gamma)- and tumour necrosis factor (TNF)-induced nitric oxide as toxic effector molecule in chronic dextran sulphate sodium (DSS)-induced colitis in mice*. Clin Exp Immunol, 1999. **116**(2): p. 238-45.
114. Ojetti, V., et al., *COVID-19 and intestinal inflammation: Role of fecal calprotectin*. Dig Liver Dis, 2020. **52**(11): p. 1231-1233.
115. Wang, F., et al., *IFN-gamma-induced TNFR2 expression is required for TNF-dependent intestinal epithelial barrier dysfunction*. Gastroenterology, 2006. **131**(4): p. 1153-63.
116. Han, J.H., et al., *Elevated circulating levels of the interferon-gamma-induced chemokines are associated with disease activity and cutaneous manifestations in adult-onset Still's disease*. Sci Rep, 2017. **7**: p. 46652.
117. Galvan Casas, C., et al., *Classification of the cutaneous manifestations of COVID-19: a rapid prospective nationwide consensus study in Spain with 375 cases*. Br J Dermatol, 2020. **183**(1): p. 71-77.
118. Salim, T., C.L. Sershen, and E.E. May, *Investigating the Role of TNF-alpha and IFN-gamma Activation on the Dynamics of iNOS Gene Expression in LPS Stimulated Macrophages*. PLoS One, 2016. **11**(6): p. e0153289.
119. Dusterhoft, S., J. Lokau, and C. Garbers, *The metalloprotease ADAM17 in inflammation and cancer*. Pathol Res Pract, 2019. **215**(6): p. 152410.



120. Del Valle, D.M., et al., *An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival*. Nat Med, 2020. **26**(10): p. 1636-1643.
121. Qin, C., et al., *Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China*. Clin Infect Dis, 2020. **71**(15): p. 762-768.
122. Huang, C., et al., *Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China*. Lancet, 2020. **395**(10223): p. 497-506.
123. Varchetta, S., et al., *Unique immunological profile in patients with COVID-19*. Cell Mol Immunol, 2021. **18**(3): p. 604-612.
124. Gil-Etayo, F.J., et al., *T-Helper Cell Subset Response Is a Determining Factor in COVID-19 Progression*. Front Cell Infect Microbiol, 2021. **11**: p. 624483.
125. Lodge, S., et al., *NMR Spectroscopic Windows on the Systemic Effects of SARS-CoV-2 Infection on Plasma Lipoproteins and Metabolites in Relation to Circulating Cytokines*. J Proteome Res, 2021. **20**(2): p. 1382-1396.
126. Zhao, Y., et al., *Longitudinal COVID-19 profiling associates IL-1RA and IL-10 with disease severity and RANTES with mild disease*. JCI Insight, 2020. **5**(13).
127. Chen, J., et al., *The clinical and immunological features of pediatric COVID-19 patients in China*. Genes Dis, 2020. **7**(4): p. 535-541.
128. Zizzo, G. and P.L. Cohen, *Imperfect storm: is interleukin-33 the Achilles heel of COVID-19?* Lancet Rheumatol, 2020. **2**(12): p. e779-e790.
129. Fajgenbaum, D.C. and C.H. June, *Cytokine Storm*. N Engl J Med, 2020. **383**(23): p. 2255-2273.
130. Gadotti, A.C., et al., *IFN-gamma is an independent risk factor associated with mortality in patients with moderate and severe COVID-19 infection*. Virus Res, 2020. **289**: p. 198171.
131. Kelley, N., et al., *The NLRP3 Inflammasome: An Overview of Mechanisms of Activation and Regulation*. Int J Mol Sci, 2019. **20**(13).
132. Chen, G., et al., *Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019*. J Clin Invest, 2020. **130**(5): p. 2620-2629.
133. Kang, S., et al., *IL-6 trans-signaling induces plasminogen activator inhibitor-1 from vascular endothelial cells in cytokine release syndrome*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2020. **117**(36): p. 22351-22356.
134. Christgen, S., D.E. Place, and T.D. Kanneganti, *Toward targeting inflammasomes: insights into their regulation and activation*. Cell Res, 2020. **30**(4): p. 315-327.
135. Freeman, T.L. and T.H. Swartz, *Targeting the NLRP3 Inflammasome in Severe COVID-19*. Front Immunol, 2020. **11**: p. 1518.
136. Sami, R., et al., *Characterizing the immune responses of those who survived or succumbed to COVID-19: Can immunological signatures predict outcome?* Cytokine, 2021. **140**: p. 155439.
137. group, C.-C., *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.
138. Caricchio, R., et al., *Effect of Canakinumab vs Placebo on Survival Without Invasive Mechanical Ventilation in Patients Hospitalized With Severe COVID-19: A Randomized Clinical Trial*. JAMA, 2021. **326**(3): p. 230-239.
139. Rose-John, S., *The Soluble Interleukin 6 Receptor: Advanced Therapeutic Options in Inflammation*. Clin Pharmacol Ther, 2017. **102**(4): p. 591-598.

140. Kang, S., et al., *Targeting Interleukin-6 Signaling in Clinic*. Immunity, 2019. **50**(4): p. 1007-1023.
141. Rosas, I.O., *Tocilizumab in Hospitalized Patients With COVID-19 Pneumonia*. MedRxiv, 2020.
142. Salama, C., et al., *Tocilizumab in Patients Hospitalized with Covid-19 Pneumonia*. N Engl J Med, 2021. **384**(1): p. 20-30.
143. Stone, J.H., et al., *Efficacy of Tocilizumab in Patients Hospitalized with Covid-19*. N Engl J Med, 2020. **383**(24): p. 2333-2344.
144. Veiga, V.C., et al., *Effect of tocilizumab on clinical outcomes at 15 days in patients with severe or critical coronavirus disease 2019: randomised controlled trial*. BMJ, 2021. **372**: p. n84.
145. Li, Q., et al., *Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia*. N Engl J Med, 2020. **382**(13): p. 1199-1207.
146. Ackermann, M., et al., *Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19*. N Engl J Med, 2020.
147. Hou, Y.J., et al., *SARS-CoV-2 Reverse Genetics Reveals a Variable Infection Gradient in the Respiratory Tract*. Cell, 2020. **182**(2): p. 429-446 e14.
148. Silvin, A., et al., *Elevated Calprotectin and Abnormal Myeloid Cell Subsets Discriminate Severe from Mild COVID-19*. Cell, 2020. **182**(6): p. 1401-1418 e18.
149. Kaya, T., et al., *Serum calprotectin as a novel biomarker for severity of COVID-19 disease*. Ir J Med Sci, 2021.
150. Luis Garcia de Guadiana, R., et al., *Circulating levels of GDF-15 and calprotectin for prediction of in-hospital mortality in COVID-19 patients: A case series*. J Infect, 2021. **82**(2): p. e40-e42.
151. Mahler, M., et al., *Circulating Calprotectin as a Biomarker of COVID-19 Severity*. Expert Rev Clin Immunol, 2021: p. 1-13.
152. Shi, H., et al., *Neutrophil calprotectin identifies severe pulmonary disease in COVID-19*. J Leukoc Biol, 2021. **109**(1): p. 67-72.
153. Udeh, R., et al., *Calprotectin, an Emerging Biomarker of Interest in COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis*. J Clin Med, 2021. **10**(4).
154. Liao, M., et al., *Single-cell landscape of bronchoalveolar immune cells in patients with COVID-19*. Nat Med, 2020. **26**(6): p. 842-844.
155. M, M.B., et al., *Etoposide treatment adjunctive to immunosuppressants for critically ill COVID-19 patients*. J Infect, 2020. **81**(3): p. 452-482.
156. Hamizi, K., S. Aouidane, and G. Belaaloui, *Etoposide-based therapy for severe forms of COVID-19*. Med Hypotheses, 2020. **142**: p. 109826.
157. Patel, M., et al., *Etoposide as Salvage Therapy for Cytokine Storm Due to Coronavirus Disease 2019*. Chest, 2021. **159**(1): p. e7-e11.
158. Takami, A., *Possible role of low-dose etoposide therapy for hemophagocytic lymphohistiocytosis by COVID-19*. Int J Hematol, 2020. **112**(1): p. 122-124.
159. Delgado-Lopez, P.D., et al., *Etoposide for Cytokine Storm Because of Coronavirus Disease 2019*. Chest, 2021. **159**(4): p. 1678-1679.
160. Bergsten, E., et al., *Confirmed efficacy of etoposide and dexamethasone in HLH treatment: long-term results of the cooperative HLH-2004 study*. Blood, 2017. **130**(25): p. 2728-2738.
161. Group, R.C., et al., *Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19 - Preliminary Report*. N Engl J Med, 2020.



162. Williams, D.M., *Clinical Pharmacology of Corticosteroids*. Respir Care, 2018. **63**(6): p. 655-670.
163. van der Velden, V.H., *Glucocorticoids: mechanisms of action and anti-inflammatory potential in asthma*. Mediators Inflamm, 1998. **7**(4): p. 229-37.
164. Xavier, A.M., et al., *Gene Expression Control by Glucocorticoid Receptors during Innate Immune Responses*. Front Endocrinol (Lausanne), 2016. **7**: p. 31.
165. Gordon, A.C., *Interleukin-6 Receptor Antagonists in Critically Ill Patients with Covid-19. The REMAP-CAP Investigators*. MedRxiv, 2020.
166. Crichton, M.L., et al., *The impact of therapeutics on mortality in hospitalised patients with COVID-19: systematic review and meta-analyses informing the European Respiratory Society living guideline*. Eur Respir Rev, 2021. **30**(162).
167. McCreary, E.K. and N.J. Meyer, *Covid-19 controversies: the tocilizumab chapter*. BMJ, 2021. **372**: p. n244.
168. Guimaraes, P.O., et al., *Tofacitinib in Patients Hospitalized with Covid-19 Pneumonia*. N Engl J Med, 2021.
169. Gozzetti, A., E. Capochiani, and M. Bocchia, *The Janus kinase 1/2 inhibitor ruxolitinib in COVID-19*. Leukemia, 2020. **34**(10): p. 2815-2816.
170. La Rosee, F., et al., *The Janus kinase 1/2 inhibitor ruxolitinib in COVID-19 with severe systemic hyperinflammation*. Leukemia, 2020. **34**(7): p. 1805-1815.
171. Stebbing, J., et al., *JAK inhibition reduces SARS-CoV-2 liver infectivity and modulates inflammatory responses to reduce morbidity and mortality*. Sci Adv, 2020.
172. Hollenberg, S.M., et al., *Hemodynamic Profiles of Shock in Patients With COVID-19*. Am J Cardiol, 2021.
173. De Luca, G., et al., *GM-CSF blockade with mavrilimumab in severe COVID-19 pneumonia and systemic hyperinflammation: a single-centre, prospective cohort study*. Lancet Rheumatol, 2020. **2**(8): p. e465-e473.
174. Lumpuy-Castillo, J., et al., *Cardiovascular Damage in COVID-19: Therapeutic Approaches Targeting the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*. Int J Mol Sci, 2020. **21**(18).
175. Guo, J., et al., *Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) and Cardiovascular Disease: A Viewpoint on the Potential Influence of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors/Angiotensin Receptor Blockers on Onset and Severity of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection*. J Am Heart Assoc, 2020. **9**(7): p. e016219.
176. Hrenak, J., S. Zorad, and F. Simko, *Renin-angiotensin system and SARS-CoV-2 interaction: underlying mechanisms and potential clinical implications*. Gen Physiol Biophys, 2020. **39**(3): p. 203-204.
177. Baral, R., M. White, and V.S. Vassiliou, *Effect of Renin-Angiotensin-Aldosterone System Inhibitors in Patients with COVID-19: a Systematic Review and Meta-analysis of 28,872 Patients*. Curr Atheroscler Rep, 2020. **22**(10): p. 61.
178. Pranata, R., et al., *The use of renin angiotensin system inhibitor on mortality in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19): A systematic review and meta-analysis*. Diabetes Metab Syndr, 2020. **14**(5): p. 983-990.
179. Wang, Y., et al., *The use of renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) inhibitors is associated with a lower risk of mortality in hypertensive COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis*. J Med Virol, 2020.
180. Zhao, X., et al., *Melatonin Protects against Lung Fibrosis by Regulating the Hippo/YAP Pathway*. Int J Mol Sci, 2018. **19**(4).



181. Shneider, A., A. Kudriavtsev, and A. Vakhrusheva, *Can melatonin reduce the severity of COVID-19 pandemic?* Int Rev Immunol, 2020. **39**(4): p. 153-162.
182. Camp, O.G., et al., *Melatonin interferes with COVID-19 at several distinct ROS-related steps.* J Inorg Biochem, 2021. **223**: p. 111546.
183. Henry, R., *The central role of the aldosterone in covid-19 provides a treatment target.* Authorea, 2020(July 13): p. 6.
184. Akbar, M.R., et al., *Low Serum 25-hydroxyvitamin D (Vitamin D) Level Is Associated With Susceptibility to COVID-19, Severity, and Mortality: A Systematic Review and Meta-Analysis.* Front Nutr, 2021. **8**: p. 660420.
185. Benskin, L.L., *A Basic Review of the Preliminary Evidence That COVID-19 Risk and Severity Is Increased in Vitamin D Deficiency.* Front Public Health, 2020. **8**: p. 513.
186. Holford, P., et al., *Vitamin C-An Adjunctive Therapy for Respiratory Infection, Sepsis and COVID-19.* Nutrients, 2020. **12**(12).
187. Simonovich, V.A., et al., *A Randomized Trial of Convalescent Plasma in Covid-19 Severe Pneumonia.* N Engl J Med, 2020.
188. Joyner, M.J., et al., *Effect of Convalescent Plasma on Mortality among Hospitalized Patients with COVID-19: Initial Three-Month Experience.* New Engl J Med, 2021.
189. Axfors, C., et al., *Association between convalescent plasma treatment and mortality in COVID-19: a collaborative systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials.* BMC Infect Dis, 2021. **21**(1): p. 1170.
190. Lee, Z., et al., *The Rise and Fall of Hydroxychloroquine for the Treatment and Prevention of COVID-19.* Am J Trop Med Hyg, 2021. **104**(1): p. 35-38.
191. Axfors, C., et al., *Mortality outcomes with hydroxychloroquine and chloroquine in COVID-19 from an international collaborative meta-analysis of randomized trials.* Nat Commun, 2021. **12**(1): p. 2349.
192. Wang, Y., et al., *Remdesivir in adults with severe COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial.* Lancet, 2020. **395**(10236): p. 1569-1578.
193. Bryant, A., et al., *Ivermectin for Prevention and Treatment of COVID-19 Infection: A Systematic Review, Meta-analysis, and Trial Sequential Analysis to Inform Clinical Guidelines.* Am J Ther, 2021. **28**(4): p. e434-e460.
194. Godino, C., et al., *Antithrombotic therapy in patients with COVID-19? -Rationale and Evidence.* Int J Cardiol, 2020.
195. Viecca, M., et al., *Enhanced platelet inhibition treatment improves hypoxemia in patients with severe Covid-19 and hypercoagulability. A case control, proof of concept study.* Pharmacol Res, 2020. **158**: p. 104950.
196. Santoro, F., et al., *Antiplatelet therapy and outcome in COVID-19: the Health Outcome Predictive Evaluation Registry.* Heart, 2022. **108**(2): p. 130-136.
197. Sholzberg, M., et al., *Effectiveness of therapeutic heparin versus prophylactic heparin on death, mechanical ventilation, or intensive care unit admission in moderately ill patients with covid-19 admitted to hospital: RAPID randomised clinical trial.* BMJ, 2021. **375**: p. n2400.
198. Tabarsi, P., et al., *Evaluating the effects of Intravenous Immunoglobulin (IVIg) on the management of severe COVID-19 cases: A randomized controlled trial.* Int Immunopharmacol, 2021. **90**: p. 107205.
199. Lo, M.S. and J.W. Newburger, *Role of intravenous immunoglobulin in the treatment of Kawasaki disease.* Int J Rheum Dis, 2018. **21**(1): p. 64-69.



200. Ouldali, N., et al., *Association of Intravenous Immunoglobulins Plus Methylprednisolone vs Immunoglobulins Alone With Course of Fever in Multisystem Inflammatory Syndrome in Children*. JAMA, 2021.
201. Supady, A., et al., *Cytokine adsorption in patients with severe COVID-19 pneumonia requiring extracorporeal membrane oxygenation (CYCOV): a single centre, open-label, randomised, controlled trial*. Lancet Respir Med, 2021. **9**(7): p. 755-762.
202. Rieder, M., et al., *Cytokine adsorption in patients with severe COVID-19 pneumonia requiring extracorporeal membrane oxygenation: protocol for a randomised, controlled, open-label intervention, multicentre trial*. BMJ Open, 2021. **11**(1): p. e043345.
203. Supady, A., *Cytokine adsorption and ECMO in patients with COVID-19 - Author's reply*. Lancet Respir Med, 2021.
204. Broman, M.E., et al., *Endotoxin and cytokine reducing properties of the oXiris membrane in patients with septic shock: A randomized crossover double-blind study*. PLoS One, 2019. **14**(8): p. e0220444.
205. Kwok, E.S. and D. Howes, *Use of methylene blue in sepsis: a systematic review*. J Intensive Care Med, 2006. **21**(6): p. 359-63.
206. Marrero, M.B., et al., *Direct stimulation of Jak/STAT pathway by the angiotensin II AT1 receptor*. Nature, 1995. **375**(6528): p. 247-50.
207. Schieffer, B., et al., *Role of NAD(P)H oxidase in angiotensin II-induced JAK/STAT signaling and cytokine induction*. Circ Res, 2000. **87**(12): p. 1195-201.
208. Opal, S.M., 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): p. 1115-24.
209. Michel, M.C., et al., *A systematic comparison of the properties of clinically used angiotensin II type 1 receptor antagonists*. Pharmacol Rev, 2013. **65**(2): p. 809-48.
210. Rothlin, R.P., et al., *Telmisartan as tentative angiotensin receptor blocker therapeutic for COVID-19*. Drug Dev Res, 2020.
211. Ruperto, N., et al., *Pharmacokinetic and safety profile of tofacitinib in children with polyarticular course juvenile idiopathic arthritis: results of a phase 1, open-label, multicenter study*. Pediatr Rheumatol Online J, 2017. **15**(1): p. 86.