

BLAŽENJE SINDROMA SPROŠČANJA CITOKINOV PRI COVID-19

ALLEVIATING CYTOKINE RELEASE SYNDROME IN COVID-19

AVTOR / AUTHOR:

Izr. prof. dr. Žiga Jakopin, mag. farm.¹
Izr. prof. dr. Mojca Lunder, mag. farm.²
Prof. dr. Marko Anderluh, mag. farm.¹
Izr. prof. dr. Tomaž Bratkovič, mag. farm.²

¹ Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Katedra za farmacevtsko kemijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

² Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Katedra za farmacevtsko biologijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
E-mail: tomaz.bratkovic@ffa.uni-lj.si

1 UVOD

Covid-19 je infekcijska bolezen, ki jo povzroča respiratorni betakoronavirus SARS-CoV-2 (1). Velika večina obolelih to bolezen preboli v blažji obliki, a pri nekaterih posameznikih,

POVZETEK

Za hudo obliko koronavirusne bolezni 19 (covid-19) je značilno zajetno sproščanje vnetnih citokinov, imenovano tudi citokinska nevihta. Ker imunski mehanizmi ne uspejo zamejiti namnoževanja virusa SARS-CoV-2 v zgodnji fazi okužbe, sta kasnejši velika virusna obremenitev ter obsežna apoptoza endotelijskih celic in pnevmocitov odgovorni za vdor nevtrofilcev in makrofagov v pljučno tkivo. Ti sproščajo citokine, ki na mesto vnetja privabljajo nove imunske celice. Visoka koncentracija vnetnih citokinov izzove povečano prepustnost kapilar in sindrom akutne dihalne stiske zaradi alveolarnega edema ter aktivira koagulacijsko kaskado, kar vodi v dihalno odpoved in odpoved drugih organov. Zaviranje sproščanja vnetnih citokinov ali blokiranje njihove signalizacije tako predstavlja potencialno podporno zdravljenje hude oblike covid-19. V prispevku predstavljamo terapevtske strategije blaženja citokinske nevihte, ki spremlja covid-19. Trenutno kot imunomodulatorje v ta namen v kliničnih raziskavah vrednotijo predvsem zaviralce Janusove kinaze, antagonist interlevkinov 6 in 1, azitromicin in hidroksiklorokin.

KLJUČNE BESEDE:

citokinska nevihta, covid-19, imunomodulatorji, SARS-CoV-2, sindrom sproščanja citokinov

ABSTRACT

Severe coronavirus disease 19 (covid-19) is characterized by a surge of pro-inflammatory cytokines, termed cytokine storm. As the SARS-CoV-2 virus evades early clearance by the immune system, high viral load, and endothelial and pulmonary epithelial cell apoptosis in later stages of infection are responsible for infiltration of lung tissue by neutrophils and macrophages. These, in turn, release cytokines, attracting further immune cells to the site of inflammation. High concentration of cytokines induces leakage of blood vessels, acute respiratory distress due to alveolar edema, activation of coagulation pathways, and consequent irreversible damage to lungs and other organs. Blocking the release or interfering with pro-inflammatory cytokine signalling should thus be considered as supportive therapy for severe covid-19. Here, we review therapeutic strategies aimed at alleviating covid-19-related cytokine storm. Some of the most promising im-

munomodulatory drugs being evaluated for this indication in on-going clinical trials are Janus kinase inhibitors, interleukin 6 and 1 antagonists, azithromycin and hydroxychloroquine.

KEY WORDS:

covid-19, cytokine release syndrome, cytokine storm, immunomodulators, SARS-CoV-2

pretežno starejših in kroničnih bolnikih, lahko bolezen poteka v hujši obliki. Hujša oblika bolezni prizadene tudi spodnje dihalne poti in se kasneje lahko razvije v življenje ogrožajočo pljučnico, sistemska okužba v nekaterih primerih privede celo do odpovedi več notranjih organov. Pri tem igra pomembno vlogo zakasnen imunski odziv v zgodnji fazi okužbe, kar virusu omogoči hitro namnoževanje, in pretiran ter nadzorovan imunski odziv v kasnejši fazi bolezni, za katerega je značilen t. i. sindrom sproščanja citokinov, ki je odgovoren za nepovratne poškodbe pljuč in drugih organov (2).

2 SINDROM SPROŠČANJA CITOKINOV V POZNIH STADIJH OKUŽBE S SARS-COV-2

Hitra in obsežna aktivacija mehanizmov prirojene imunosti je ključnega pomena za zamejitev namnoževanja virusov, ki vdrejo v organizem. Evolucijsko ohranjene strukture virusa (PAMP, *pathogen-associated molecular patterns*; kot je npr. dvoverižna RNA) aktivirajo receptorje PRR (*pattern recognition receptors*) v okuženih celicah, kar privede do sproščanja interferonov (IFN) tipa I in aktivacije transkripcijskega dejavnika NF- κ B. IFN tipa I v sosednjih celicah sprožijo nastajanje protivirusnih proteinov, ki se aktivirajo v prisotnosti virusne RNA in izzovejo nespecifično razgradnjo RNA v citosolu ter zavrejo translacijo, s čimer zamejijo širjenje virusa. Hkrati IFN spodbudijo tudi izražanje pglavitnega histokompatibilnega kompleksa (MHC) I in tako povečajo verjetnost predstavljanja virusnih epitopov na površini okuženih celic, na katere se odzovejo citotoksični limfociti T (Tc), ter uravnavajo delovanje naravnih celic ubijalk (NK), antigen-predstavitvenih celic (APC), limfocitov B, T-celic pomagalk (Th) in Tc (3). V levkocitih transkripcijski dejavnik NF- κ B nadzira izražanje številnih genov, ki kodirajo vnetne citokine, med drugim dejavnik tumorske nekroze α (TNF α) ter interlevkina (IL) 6 in IL-1 β . To so pleiotropni citokini, ki sodelujejo pri aktivaciji in novačenju imunskih celic

na mestu vnetja ter predstavljajo pomembno vez med prirojeno in pridobljeno imunostjo (4).

Koronavirusi poleg genov za strukturne proteine in proteine, potrebne za replikacijo, nosijo v genomu zapis za t. i. pomožne proteine (*accessory proteins*). Številni med njimi se vpletajo v signalne poti receptorjev prirojene imunosti in ovirajo sproščanje citokinov iz okuženih celic, s čimer se virusi uspešno izmikajo imunskim mehanizmom. Tako raziskave *in vitro* (z respiratornimi epitelijskimi celicami, dendritičnimi celicami in makrofagi) kot poskusi na živalskih modelih nakazujejo, da SARS-CoV-1 in MERS-CoV učinkovito zavrejo sproščanje vnetnih in kemotaktičnih citokinov v zgodnji fazi okužbe, medtem ko kasneje beležimo okrepjeno sproščanje zlasti IL-1 β , IL-6, TNF α in nekaterih kemokinov (CCL2, CCL3 in CCL5). Ti nastajajo kot odziv na obsežno tvorbo vnetnih eikozanoidov (levkotrienov in prostaglandinov) v alveolarnih makrofagih, sproženo z apoptozo okuženih celic (5), in so verjetno odgovorni za nadaljnjo infiltracijo nevtrofilcev in monocitov. Ker slednji sproščajo še več citokinov, to privede do nepovratnih poškodb pljučnega tkiva zaradi apoptoze epitelijskih in endotelijskih celic in pojava edema, t. i. sindroma akutne respiratorne stiske, ter pridružene odpovedi drugih organov (2). Opisan sindrom sproščanja citokinov, v najhujši obliki imenovan citokinska nevihta, tudi pri bolnikih s covid-19 povezujemo s povišano smrtnostjo. Bolniki s hujšo obliko bolezni imajo značilno višje plazemske ravni IL-6, IL-2R, IL-10 in TNF α ter kljub višjim številom levkocitov manj limfocitov Th in Tc v primerjavi z bolniki, pri katerih bolezen poteka blažje (6). Razumevanje patofizioloških procesov, povezanih z okužbo z virusom SARS-CoV-2, razkriva potencialne nove strategije zdravljenja bolezni covid-19. Medtem ko bi s protivirusnimi učinkovinami lahko učinkovito zamejili namnoževanje virusa v zgodnji fazi okužbe, bo verjetno za bolnike v kasnejših stadijih bolezni potrebno razviti pristope zdravljenja s tarčnimi imunomodulatornimi zdravili (7). V prispevku podajamo pregled obetavnih učinkovin za omejevanje vnetnih procesov, ki so neposreden vzrok razmeroma visoke smrtnosti pri okužbi s SARS-CoV-2.

3 MOŽNI TERAPEVTSKI PRISTOPI BLAŽENJA CITOKINSKE NEVIHTE

3.1 ZAVIRALCI KINAZE JAK

Znaten delež bolnikov s hudim respiratornim obolenjem kot posledico okužbe z virusom SARS-CoV-2 lahko razvije

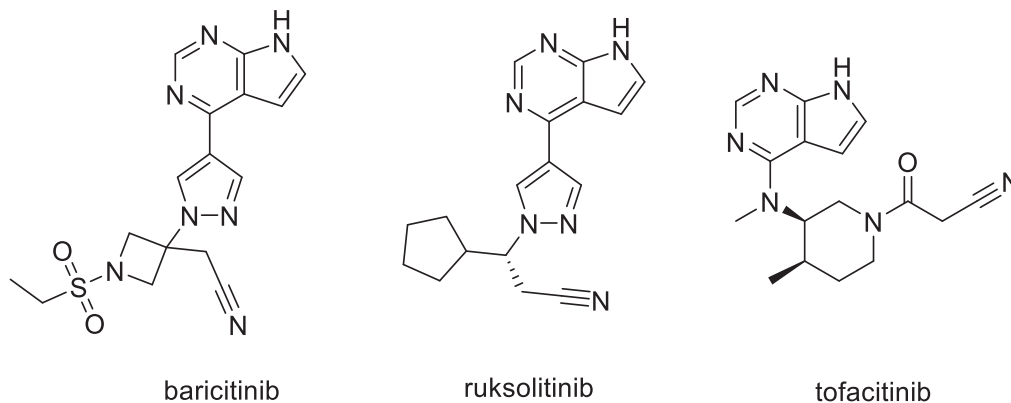


vnetni sindrom, imenovan sekundarna hemofagocitna limfocitocitoza (SHLH), za katerega sta značilni hipercitokinemija in posledična odpoved več organov (8). Pri bolnikih s hudim potekom covid-19 so v serumu odkrili povišane koncentracije citokinov in kemokinov, vključno z IL-1 β , TNF α , IL-6 in IFN- γ (9, 10). Ta pretiran imunski odziv je zelo podoben citokinski nevihti in je tesno povezan s povečano aktivacijo signalne poti JAK (*Janus kinase*)-STAT (*signal transducer and activator of transcription proteins*), zlasti preko citokina IL-6, ki ga izločajo monociti in makrofagi. V družino JAK uvrščamo štiri proteine, in sicer JAK1, JAK2, JAK3 ter TYK2, ki so povezani z različnimi citokinskimi receptorji. Po vezavi ustreznega citokina pride do fosforilacije proteinov STAT, ki se nato translocirajo v jedro, kjer sprožijo transkripcijo genov (11). Zaviralce JAK danes uspešno uporabljamo za zdravljenje revmatoidnega artritisa (baricitinib, peficitinib, upadacitinib in tofacitinib) in mielofibroze (ruksolitinib in fedratinib) (11, 12). Zanje je značilno, da so zelo selektivni v primerjavi z ostalimi kinazami, a niso specifični za posamezno JAK (11). Razlog za predlagano uporabo zaviralcev JAK za blaženje citokinske nevihte je torej njihova sposobnost, da utišajo prenos signala preko poti JAK-STAT, ki se sicer sproži po aktivaciji citokinskih receptorjev z interferoni in interleukini (13, 14). V nasprotju s podpornim zdravljenjem citokinske nevihte z zdravili za revmatoidni artritis, ki blokirajo le en citokin (npr. IL-6), namreč zaviralci JAK preprečijo signalizacijo več vnetnih citokinov in kemokinov (15). Pri normalnih terapevtskih plazemskih koncentracijah zaviralci JAK zmanjšajo obseg aktivnosti citokinov, a le-te ne zavrejo popolnoma, saj ciljajo patološko povišane aktivnosti citokinov, ne pa normalne funkcije citokinov (15). Po drugi strani pa nekateri citokini, kot sta IFN- γ in IL-4, katerih signalizacija poteka preko

JAK, zavirajo izražanje proteina ACE2, kar otežuje pipenjanje virusa na celico. Iz tega sledi, da bi zaviranje signalizacije teh citokinov privedlo do povečanega izražanja ACE2, kar bi potencialno povečalo možnost okužbe (16). Baricitinib, ruksolitinib in tofacitinib (slika 1) trenutno prekušajo kot podporno zdravljenje covid-19 v številnih kliničnih raziskavah, ki so predstavljene v preglednici 1.

Baricitinib ima večplastni mehanizem delovanja, saj je zaviralec JAK1/2 in zaviralec dveh proteinov družine kinaz NAK (*numb-associated kinase*), z adapterjem povezane protein kinaze 1 (AAK1, *adapter-associated protein kinase 1*) in s ciklinom G povezane kinaze (GAK, *cyclin G-associated kinase*), ki sodelujeta pri s klatrinom posredovani endocitozi virusa SARS-CoV-2 v celico (17, 18). Ta raznovrstni mehanizem delovanja bi zato lahko v prvi vrsti ublažil vnetne procese in hkrati zmanjšal obseg vnosa virusa (19). Ob tem velja omeniti, da že z zelo nizkimi peroralnimi odmerki v območju 2–4 mg na dan dosežemo zadostne plazemske koncentracije za zaviranje AAK1 (20). V pilotni klinični raziskavi, ki so jo izvedli na 12 bolnikih s pljučnico, ki so 14 dni prejeli po 4 mg baricitiniba, so ugotovili značilno izboljšanje nekaterih kliničnih znakov in pljučne funkcije (21). Trenutno poteka še deset kliničnih raziskav, ki vrednotijo učinkovitost in varnost zaviranja JAK pri zdravljenju hudih oblik bolezni covid-19 (preglednica 1). V predhodnih kliničnih raziskavah so sicer ugotovili, da dolgoročno zdravljenje z baricitinibom lahko poveča tveganje za reaktivacijo latentnih virusnih okužb (varicella zoster, herpes simpleks, Epstein Barr), in sicer zaradi motenega protivirusnega odziva, posredovanega z interferoni (22, 23).

Ruksolitinib je zaviralec JAK1/2, trenutno odobren za zdravljenje bolnikov z mieloproliferativnimi novotvorbami, vključno s pacienti s policitemijo vera, ki so se nezadostno



Slika 1: Strukture reprezentativnih zaviralcev JAK.

Figure 1: Structures of representative JAK inhibitors.

odzvali na ali so intolerantni na hidrokortikoidno, bolnikov z intermediarno ali visokotvegano mielofibrozo ter za zdravljenje odraslih in pediatričnih bolnikov z akutno zavrnitvijo presadka (24). Ruksolitini tako kot ostali zaviralci JAK zavira signalno pot JAK-STAT in učinkovito zniža serumsko koncentracijo vnetnih citokinov, še posebej IL-6 in TNF α (25, 26). S preliminarno raziskavo na bolnikih s SHLH, ki so dvakrat dnevno jemali 15 mg ruksolitini, so pokazali, da je terapija izboljšala njihovo celokupno preživetje (27). Podobno kot pri baricitinibu so kot dodaten mehanizem delovanja predpostavili zaviranje s klatrinom posredovane endocitoze preko inhibicije AAK1. Ker je ruksolitini dokaj šibak zaviralec tega encima, verjetno deluje le preko omejevanja vnetja kot posledice covid-19 (19). Med zaviralci JAK ruksolitini uporabljajo v največ kliničnih raziskavah, njegovo učinkovitost za preprečevanje citokinske nevihte pri covid-19 trenutno vrednotijo v 14 kliničnih raziskavah po vsem svetu. V splošnem velja, da je najpogosteje predpisan odmerek v trenutnih kliničnih preskušanih 10 mg ruksolitini dvakrat na dan. V predhodnih kliničnih raziskavah so sicer ugotovili, da dolgoročno zdravljenje z ruksolitini lahko poveča tveganje za reaktivacijo latentnih virusnih okužb (28), npr. s hepatitisom B (29), kot tudi bakterijskih okužb, npr. tuberkulozo (30). V kohortni raziskavi so odkrili, da ruksolitini pri odmerku 20 mg/dan povzročata anemijo, trombocitopenijo, nevtropenijo, edeme in transaminitis (31). **Tofacitinib** je zaviralec JAK3/1, ki je odobren za zdravljenje nekaterih revmatoidnih obolenj (11). Za razliko od baricitiniba in v manjši meri tudi ruksolitini tofacitinib ne zavira AAK1 (19). Trenutno potekata dve klinični raziskavi, ki vrednotita učinkovitost in varnost zaviranja poti JAK/STAT s tofacitinibom pri zdravljenju hudih oblik bolezni covid-19 (preglednica 1). V klinični raziskavi faze II (NCT04332042) bo 50 bolnikov, ki so razvili pljučnico, prejemale 10 mg tofacitiniba dvakrat na dan v obdobju 14 dni. S to raziskavo želijo v prvi fazi oceniti vpliv terapije s tofacitinibom na potrebo po mehanskem predihavanju. Z drugo raziskavo pa želijo ovrednotiti, ali je sočasno zdravljenje s tofacitinibom in hidrokortikoidom učinkovitejše v primerjavi z monoterapijo s hidrokortikoidom (NCT04390061). V sklopu predhodnih varnostnih raziskav so ugotovili, da zdravljenje s tofacitinibom lahko poveča tveganje za reaktivacijo latentnih virusnih okužb s herpes virusi in bakterijskih okužb zgornjega respiratornega trakta (32). Jemanje tofacitiniba so povezali tudi z anemijo, limfopenijo in nevtropenijo (33).

Čeprav so zaviralci JAK na splošno varne učinkovine, vseeno zavirajo imunski odziv telesa, saj blokirajo delovanje več citokinov, vključno z IFN- α , ki je bistveni sestavni del protivirusnega imunskega odziva (13). Za zaviralce JAK je prav

tako značilno, da povzročajo limfocitopenijo (zmanjšajo tudi število celic NK) in nevtropenijo, zato pri bolnikih s covid-19 povečajo tveganje za oportunistične okužbe ali reaktivacijo latentnih virusnih ali bakterijskih okužb (13, 20, 22, 34, 35). Uporabo zaviralcev JAK so povezali tudi s povečanim tveganjem za tromboembolijo, kar je še posebej pomembno v luči podatka, da se pri nekaterih bolnikih kot posledica covid-19 pojavljajo motnje v koagulaciji (35). Zaradi vseh naštetih neželenih učinkov je potrebno dobro premisliti, v katerih primerih in v kateri časovni točki je uporaba zaviralcev JAK pri blaženju citokinske nevihte kot posledice hudega poteka covid-19 smotrna. Zagotovo jih ni smiselno uporabljati v zelo zgodnji fazi okužbe in ob blagem poteku bolezni, saj se mora imunski sistem aktivirati za boj proti virusu, pri čemer pomembno sodelujejo interferoni. Predpostavili so, da jih je bolje aplicirati v drugi fazi bolezni, ko se virusna obremenitev nekoliko zmanjša, a še pred pojavom citokinske nevihte, kar se običajno zgodi v drugem tednu po okužbi (20).

3.2 ANTAGONISTI IL-6

IL-6 velja za enega ključnih mediatorjev vnetja v kontekstu sindroma sproščanja citokinov. Sproščajo ga aktivirani monociti in makrofagi, ki se odzivajo na evolucijsko ohranjene strukture virusov. Med drugim je IL-6 odgovoren za spodbujanje diferenciacije celic Th17, katerih prekomerno aktivnost povezujemo s številnimi avtoimunskimi in kroničnimi vnetnimi boleznimi. Zaviranje signalizacije IL-6 se je izkazalo kot učinkovita terapevtska strategija za blaženje citokinske nevihte, ki občasno spremlja zdravljenje limfomov in levkemij z avtologno transfuzijo citotoksičnih limfocitov T, transduciranih s himernimi antigenskimi receptorji (CAR-T). Na osnovi sicer omejenih kliničnih raziskav sta tako EMA kot FDA odobrili uporabo tocilizumaba za preprečevanje citokinske nevihte, povezane s CAR-T (36).

Tocilizumab je humanizirano monoklonsko protitelo razreda IgG1, primarno indicirano za zdravljenje hudih oblik aktivnega revmatoidnega artritisa in juvenilnega idiopatskega artritisa. Veže se na receptor za IL-6 (IL-6R), tako na njegovo topno kot membransko obliko (obe se povezuje z membranskim proteinom gp130, ki prevaja signale v celico), in prepreči njegovo asociacijo z IL-6. Za preprečevanje sindroma sproščanja citokinov pri CAR-T ga odraslim bolnikom apliciramo v obliki enourne infuzije v odmerku 8 mg/kg telesne mase, bodisi v obliki monoterapije ali v kombinaciji s kortikosteroidi. Če se stanje po prvi infuziji ne izboljša, lahko zdravilo apliciramo še do trikrat v razmiku najmanj 8 ur. Podoben terapevtski režim (1 do 8 mg/kg z največjim dovoljenim odmerkom 800 mg in ponovitev in-

Preglednica 1: Pregled potekajočih in načrtovanih kliničnih raziskav s ciljem ovrednotenja učinkovitosti in varnosti zaviralcev JAK za blaženje citokinske nevihte pri covid-19 (vir: clinicaltrials.gov).

Table 1: Overview of on-going and planned clinical trials evaluating efficacy and safety of JAK inhibitors for alleviating cytokine storm in covid-19 (source: clinicaltrials.gov).

Ident. št.	Načrt raziskave	Intervencija	Št. bolnikov	Predviden zaključek
NCT04359290	OKR, ES, F2	ruksolitinib	15	nov. 2020
NCT04361903	OpR, RKR, UC	ruksolitinib	13	maj 2020
NCT04348071	OKR, ES, F2/F3, UC	ruksolitinib	80	okt. 2020
NCT04334044	OKR, ES, F1/F2	ruksolitinib	20	jun. 2020
NCT04331665	OKR, ES	ruksolitinib	64	jan. 2021
NCT04338958	OKR, NRR, ES, F2	ruksolitinib	200	avg. 2021
NCT04362137	RR, DS, F3, MC	ruksolitinib vs. placebo	402	jul. 2020
NCT04377620	RR, DS, F3, MC	ruksolitinib (5 vs. 15 mg) vs. placebo	500	jul. 2020
NCT04354714	OKR, ES, F2	ruksolitinib	25	dec. 2021
NCT04366232	OKR, RR, F2b/3	ruksolitinib +anakinra vs. anakinra vs. standardno zdravljenje	54	avg. 2020
NCT04374149	OKR, NRR, F2	ruksolitinib +plazmafereza vs. plazmafereza	20	apr. 2021
NCT04348695	OKR, RR, F2	ruksolitinib +simvastatinom vs. standardno zdravljenje	94	maj 2020
NCT04355793	razširjen dostop	ruksolitinib	?	/
NCT04337359	razširjen dostop	ruksolitinib	srednja	/
NCT04320277	OKR, NRR, N, F2/3	baricitinib +lopinavir/ritonavir ^a	200	jul. 2020
NCT04321993	OKR, NRR, F2	baricitinib vs. hidroksiklorokin vs. lopinavir/ritonavir	1000	mar. 2022
NCT04340232	OKR, ES, F2/F3	baricitinib	80	okt. 2020
NCT04358614	OKR, NRR, N, F2/F3	baricitinib +protivirusna zdravila ^b	12	zaključena
NCT04373044	OKR, F2	baricitinib vs. hidroksiklorokin vs. lopinavir/ritonavir vs. remdesivir	59	apr. 2022
NCT04362943	OpR, RSR	baricitinib vs. anakinra	576	jul. 2020
NCT04346147	OKR, RR, P, F2	baricitinib vs. hidroksiklorokin vs. imatinib vs. lopinavir/ritonavir	165	sep. 2020
NCT04390464	OKR, RR, F4	baricitinib vs. ravulizumab ^c vs. standardno zdravljenje	1167	maj 2022
NCT04345289	DS, RR, F3, MC	konvalescentna plazma vs. sarilumab vs. hidroksiklorokin vs. baricitinib vs. placebo (p.o. vs. i.v.)	1500	jun. 2021
NCT04365764	OpR	različna zdravljenja, vključujoč baricitinib	400	dec. 2020
NCT04332042	OKR, P, ES, F2	tofocitinib	50	jul. 2020
NCT04390061	OKR, RR, F2, MC	tofocitinib +hidroksiklorokin vs. hidroksiklorokin	116	okt. 2020

2S – dvostopenjska raziskava; DS – dvojno slepa raziskava; ES – enoskupinska raziskava; F2 – raziskava druge faze; F3 – raziskava tretje faze; F4 – raziskava četrte faze; F – factorialna raziskava; MC – multicentrična raziskava; N – navzkrižna raziskava; NRR – nerandomizirana raziskava; OKR – odprta klinična raziskava; OpR – opazovalna raziskava; P – prospektivna raziskava; RR – randomizirana raziskava; RKR – retrospektivna kohortna raziskava; RSR – retrospektivna raziskava; UC – unicentrična raziskava

^a Bolniki, zdravljeni z baricitinibom in lopinavirjem/ritonavirjem od začetka, vs. bolniki, prvotno zdravljeni le s protivirusnimi zdravili in/ali hidroksiklorokinom

^b Bolniki, zdravljeni z baricitinibom in protivirusnimi zdravili od začetka, vs. bolniki, prvotno deležni le standardnega zdravljenja

^c Ravulizumab je monoklonsko protitelo, usmerjeno proti komplementu C5, ki prepreči s komplementom izzvano celično lizo

fuzije po 12 urah, če se stanje ne izboljša) uporabljajo v večini kliničnih raziskav, v katerih vrednotijo učinkovitost tocilizumaba za preprečevanje citokinske nevihte pri covid-19 (preglednica 2). Ob tocilizumabu proučujejo za enako terapevtsko indikacijo še nekatere novejša biološka učinkovina, ki zavirajo prenos signala IL-6 (preglednica 2). **Sarilumab**, humano monoklonsko protitelo razreda IgG1 za zdravljenje revmatoidnega artritisa, ki ga apliciramo subkutano, deluje kot klasičen antagonist receptorja IL-6R (37), medtem ko so **siltuksimab** (IgG1), **klazakizumab** (aglikozilirani IgG1), **olokizumab** (IgG4) in **sirukumab** (IgG1) monoklonska protitelesa, ki z vezavo na IL-6 preprečijo signalizacijo tega vnetnega citokina (37). Siltuksimab je sicer zdravilo sirota za zdravljenje multicentrične Castlemanove bolezni pri odraslih, ki niso okuženi z virusom humane imunske pomanjkljivosti (HIV) in humanim virusom herpesa tipa 8 (HHV-8). Apliciramo ga v obliki infuzije. Klazakizumab in olokizumab sta učinkovini v razvoju, katerih varnost in učinkovitost pri zdravljenju kroničnega idiopatskega artritisa (revmatoidnega, juvenilnega idiopatskega in psoriaznega artritisa ter ankilizirajočega spondilitisa) vrednotijo v kliničnih raziskavah, medtem ko je razvoj sirukumaba za enak nabor indikacij zastal, potem ko sta tako EMA kot FDA pri ocenjevanju dosjaja vloge za pridobitev tržnega dovoljenja zahtevali dodatne klinične podatke.

3.3 ANTAGONISTI IL-1

Ob IL-6 igra verjetno najpomembnejšo vlogo v patogenezi bronhoalveolarnega edema citokin IL-1 β (38). Tudi IL-1 β sproščajo aktivirani makrofagi in ima številne podobne funkcije kot IL-6. Zaviranje signalizacije IL-1 je uveljavljena terapevtska strategija pri blaženju kroničnih vnetnih bolezni, pri čemer izkoriščamo rekombinantni antagonist receptorja za IL-1 (anakinra) in protitelo, usmerjeno proti IL-1 β (canakinumab), medtem ko rilonacept, topen receptor za IL-1 (fuzijski protein IL-1R-Fc) ni več v uporabi (39). Trenutno poteka šest kliničnih raziskav, ki vrednotijo učinkovitost in varnost zaviranja signalizacije IL-1 pri zdravljenju hudih oblik bolezni covid-19 (preglednica 2). Dve raziskavi ocenjujeta primernost **anakinre**, ki jo sicer predpisujejo bolnikom z revmatoidnim artritisom, bolnikom s periodičnimi vročinskimi sindromi, povezanimi s kriopirinom, in bolnikom s Stillovo boleznijo (39). Anakinro apliciramo v obliki subkutanih injekcij. V treh raziskavah vrednotijo **canakinumab**. Šesta raziskava vrednoti **RPH-104**, rekombinantni antagonist IL-1 (fuzijski protein, heterodimer regije Fc IgG1 in ektodomene IL-1RI ter IL1RAP (pomožni protein receptorja za IL-1)) v primerjavi z olokizumabom in placebom pri zdravljenju covid-19.

Preglednica 2: Pregled potekajočih in načrtovanih kliničnih raziskav s ciljem ovrednotenja učinkovitosti in varnosti bioloških zdravil za blaženje citokinske nevihte pri covid-19 (vir: clinicaltrials.gov).

Table 2: Overview of on-going and planned clinical trials evaluating efficacy and safety of biologics for alleviating cytokine storm in covid-19 (source: clinicaltrials.gov).

Ident. št.	Načrt raziskave	Intervencija	Št. bolnikov	Predviden zaključek
NCT04315480	OKR, ES, F2, UC, 2S	tocilizumab	38	maj 2020
NCT04359667	OpR, ES, P, UC	tocilizumab	30	apr. 2020
NCT04310228	OKR, RR, MC	tocilizumab vs. favipiravir vs. favipiravir+ tocilizumab	150	maj 2020
NCT04335305	OKR, RR, F2, MC	tocilizumab +pembrolizumab vs. standardno zdravljenje	24	maj 2020
NCT04306705	OpR, RKR	tocilizumab vs. standardno zdravljenje vs. kontinuirana dializa	120	jun. 2020
NCT04346355	OKR, RR, F2, MC	tocilizumab vs. standardno zdravljenje	398	maj 2020
NCT04365764	OpR, RSR	različna zdravljenja, vključno s tocilizumabom	400	dec. 2020
NCT04333914	OKR, RR, F2, MC	GNS561 (analog klorokina) vs. tocilizumab vs. nivolumab vs. standardno zdravljenje	273 ^a	avg. 2020
NCT04356937	DS, RR, F3, UC	tocilizumab vs. placebo	300	avg. 2020
NCT04363853	OKR, ES, F2, P	tocilizumab	200	avg. 2020
NCT04363736	OKR, RR, F2, MC	tocilizumab (4 vs. 8 mg/kg i.v.)	100	avg. 2020

NCT04331795	OKR, NRR, F2, UC	tocilizumab (200 vs. 80 mg) ^b	50	dec. 2020
NCT04366206	OpR, P	različna zdravljenja, vključno s tocilizumabom in sarilumabom	143	jul. 2020
NCT04372186	DS, RR, F3, MC	tocilizumab vs. placebo	379	okt. 2020
NCT04320615	DS, RR, F3, MC	tocilizumab vs. placebo	330	sep. 2020
NCT04330638	P, RKR, OKR, F, F4, MC	anakinra, siltuksimab, anakinra+siltuksimab, tocilizumab, anakinra+tocilizumab vs. standardno zdravljenje	342	dec. 2020
NCT04332094	OKR, RR, F2, MC	tocilizumab +hidroksiklorokin+azitromicin vs. hidroksiklorokin+azitromicin	276	okt. 2020
NCT04361032	OKR, RR, F3, MC	tocilizumab +enoksaparin vs. deferoxamin +enoksaparin	260	okt. 2020
NCT04335071	DS, RR, F2, MC	tocilizumab vs. placebo	100	okt. 2020
NCT04345445	OKR, RR, N, UC	tocilizumab , metilprednizolon	310	okt. 2020
NCT04332913	OpR, P	tocilizumab	30	mar. 2021
NCT04317092	OKR, ES, F2, MC	tocilizumab	400	dec. 2022
NCT04331808	OKR, RR, F2	tocilizumab vs. standardno zdravljenje	228	dec. 2021
NCT04322773	OKR, RR, F2, MC	tocilizumab (i.v. vs. s.c.) vs. sarilumab (s.c.) vs. standardno zdravljenje	200	jun. 2021
NCT04370834	OKR, ES, F2	tocilizumab	200 ^c	jan. 2022
NCT04361552	OKR, RR, F3, UC	tocilizumab vs. standardno zdravljenje	180	maj 2022
NCT04339712	OKR, NRR, F, MC	anakinra, tocilizumab	40	apr. 2022
NCT04341870	OKR, RR, F2/3, MC	sarilumab vs. sarilumab +azitromicin+hidroksiklorokin	27	avg. 2020
NCT04357808	OKR, RR, F2, UC	sarilumab vs. standardno zdravljenje	30	jun. 2020
NCT04327388	DS, RR, F2/F3	sarilumab vs. placebo	300	avg. 2020
NCT04357860	OKR, RR, F2, UC	sarilumab (200 vs. 400 mg) vs. placebo	120	jul. 2020
NCT04321993	OKR, NRR, F2	sarilumab vs. lopinavir/ritonavir vs. hidroksiklorokin vs. baricitinib vs. standardno zdravljenje	1000	jul. 2021
NCT04315298	DS, RR, F2/F3	sarilumab (visok vs. nizek odmerek) vs. placebo	400	apr. 2021
NCT04359901	OKR, RR, F2, UC	sarilumab vs. standardno zdravljenje	120	apr. 2023
NCT04324073	OKR, RR, F2/3	sarilumab vs. standardno zdravljenje	239	dec. 2021
NCT04345289	DS, RR, F3, MC	sarilumab vs. konvalescentna plazma vs. hidroksiklorokin vs. baricitinib vs. placebo (p. o. vs. i. v.)	1500	jun. 2021
NCT04322188	OpR, RSR	siltuksimab vs. standardno zdravljenje	50	maj 2020
NCT04329650	OKR, RR, F2	siltuksimab vs. prednizolon	200	maj 2020
NCT04380519	DS, RR, MC	RPH-104^d vs. olokizumab vs. placebo	372	nov. 2020
NCT04380961	DS, RR, F2	sirukumab vs. placebo	270	sep. 2020

NCT04381052	DS, RR, F2/3	klazakizumab vs. placebo	30	avg. 2020
NCT04343989	DS, RR, F2/3	klazakizumab (25 vs. 12,5 mg) vs. placebo	90	jul. 2020
NCT04348500	DS/OKR, RR, F2	klazakizumab vs. placebo	60	mar. 2021
NCT04363502	DS, RR	klazakizumab vs. placebo	30	avg. 2020
NCT04351724	OKR, RR, MC	klorokin ali hidroksiklorokin vs. lopinavir/ritonavir vs. rivaroksaban vs. tromboprofilaksa vs. kandesartan vs. antihipertenzivi, ki ne blokirajo poti RAS vs. klazakizumab vs. standardno zdravljenje vs. placebo (za klazakizumab)	500	dec. 2020
NCT04362813	DS, RR, F3, MC	canakinumab vs. placebo	450	okt. 2020
NCT04348448	OpR, P	canakinumab	100	sep. 2020
NCT04365153	DS, RR, F, F2, UC	canakinumab (300 mg vs. 600 mg) vs. placebo	45	dec. 2020

2S – dvostopenjska raziskava; DS – dvojno slepa raziskava; ES – enoskupinska raziskava; F2 – raziskava druge faze; F3 – raziskava tretje faze; F4 – raziskava četrte faze; F – faktorialna raziskava; MC – multicentrična raziskava; N – navzkrižna raziskava; NRR – nerandomizirana raziskava; OKR – odprta klinična raziskava; OpR – opazovalna raziskava; P – prospektivna raziskava; RR – randomizirana raziskava; RKR – retrospektivna kohortna raziskava; RSR – retrospektivna raziskava; UC – unicentrična raziskava

^a Bolniki z napredovanimi ali metastatskimi raki in covid-19

^b Hospitalizirani bolniki s pljučnico covid-19 s tveganjem/brez tveganja za dekompenzacijo

^c Bolniki z rakom in covid-19

3.4 OSTALE IMUNOMODULATORNE UČINKOVINE

3.4.1 Azitromicin

Azitromicin je makrolidni antibiotik, ki ga med drugim uporabljamo za zdravljenje bakterijskih bronhitisov in pljučnic in ima poleg protibakterijskega tudi imunomodulatorni učinek (40). Sočasno zdravljenje z makrolidnimi in beta-laktamskimi antibiotiki zmanjša smrtnost pri hospitaliziranih bolnikih z zunajbolnišnično pljučnico, medtem ko kombinacije beta-laktamov z drugimi antibiotiki, ki so sicer učinkoviti tudi proti atipičnim patogenom, nimajo enakega terapevtskega izida (41). Točen imunomodulatorni mehanizem delovanja azitromicina še ni povsem pojasnjen. Obstajajo dokazi, da makrolidi zavirajo aktivnost nevtrofilcev, sintezo in sproščanje številnih interlevkinov (npr. IL-8 in IL-1 β) (40) in kemokinov (42). Dodaten mehanizem delovanja azitromicina, ki bi utegnil biti zanimiv pri zdravljenju covid-19, je oviranje endosomskega zorenja virusa SARS-CoV-2, pomembnega za zlitje virusne ovojnice z membrano endosomov, kot tudi eksocitoznih mehanizmov, ki jih virus izkorišča za izstop iz celic (43). Azitromicin je namreč po svojih fizikalno-kemijskih lastnostih lizosomotropična učinkovina. Znatna lipofilnost in šibka bazičnost mu omogočata vstop v endosomske vezikle s pasivno difuzijo, kjer se v kislem okolju protonira. Kopičenje azitromicina v endolizosomih domnevno spremeni normalen pH v teh organelih, kar ovira življenjski cikel virusa (43). Seveda ne gre zane-

mariti tudi protibakterijskega delovanja azitromicina pri preprečevanju superinfekcij. Kombinacija protivnetnega, imunomodulatornega in opisanega protivirusnega delovanja azitromicina bi utegnila prispevati k sočasnemu zmanjšanju obremenitve z virusom in blaženju sproščanja citokinov, a bo potrebno učinkovitost takšnega zdravljenja pri covid-19 potrditi v kliničnih raziskavah.

3.4.2 Hidroksiklorokin in klorokin

Hidroksiklorokin in klorokin sta učinkovini, ki ju povezujemo primarno z zdravljenjem malarije, a imata tudi številne imunomodulatorne učinke (44), ki jih izkoriščamo pri blaženju simptomov avtoimunskih bolezni, kot sta revmatoidni artritis in sistemski lupus eritematosus. Njuno imunomodulatorno delovanje je posledica vpletanja v zakisanje vsebine lizosomov (podobno kot azitromicin sta lizosomotropični učinkovini in tako izkazujeta tudi protivirusno delovanje (45)), kar ovira proteolizo in predstavljanje antigenov s strani makrofagov (46) ter zavira signalizacijo endosomskih PRR – receptorjev TLR (*Toll-like receptors*) (47). Poleg tega zavirata fosfolipazo A2, s čimer je zmanjšano nastajanje prostaglandinov, omejitja sproščanje IL-1 in IL-6 (48) ter zmanjšata aktivacijo limfocitov T (49). Predvsem hidroksiklorokin (tudi v kombinaciji s sinergistično delujočim azitromicinom) vrednotijo v številnih kliničnih raziskavah po svetu za zdravljenje bolezni covid-19. Opozoriti velja na resne neželene učinke, povezane z uporabo visokih odmerkov (hidroksi)klorokina, kakršne uporabljajo pri zdravljenju okužb s SARS-CoV-2.

EMA je na podlagi zgodnjih rezultatov nedavnih kliničnih raziskav o uporabi klorokina in hidroksiklorokina pri bolnikih s covid-19 (50, 51) izdala opozorilo, da učinkovini lahko izzoveta srčno aritmijo (specifično: podaljšanje intervala QT), ki je lahko celo vzrok smrti, povzročita poškodbe jeter in ledvic, hipoglikemijo ter periferno nevropatijo (52).

3.4.3 Zaviralci tirozin kinaz

Zaviralci tirozin kinaz, kot so imatinib, nilotinib, dasatinib, bosutinib in ponatinib, so učinkovine, indicirane za zdravljenje kronične mieloidne levkemije, specifičnih akutno limfoblastnih levkemij in nekaterih tumorjev (53). Odkrili so, da imajo tudi protivnetno delovanje, hkrati pa lahko blago dejno vplivajo tudi na imunski odziv, saj privedejo do reaktivacije limfocitov T in NK-celic (54). V tem pogledu je zlasti izstopal imatinib, ki so ga zaradi dobrega varnostnega profila (55) že vključili v nekaj kliničnih raziskav na bolnikih s covid-19 (NCT04357613, NCT04356495 in NCT04346147). Tudi bosutinib in nilotinib sta v raziskavah *in vivo* pokazala protivnetno delovanje, ki se je odražalo predvsem v blokadi signalne poti NF- κ B in s tem v zmanjšanem izločanju vnetnih citokinov (56-58). Kljub temu da se je bosutinib v varnostnih študijah izkazal kot bolj varen od imatiniba (59), ga zaenkrat še niso vključili v nobeno klinično raziskavo na bolnikih s covid-19. V primeru nilotiniba so se na podlagi raziskave, ki je nilotinib povezala s kardiovaskularnimi zapleti (60), odločili proti vključitvi v tovrstne klinične raziskave.

3.4.4 Antagonisti TNF α

Koncentracije TNF α so v serumu bolnikov s hujšo obliko covid-19 nekoliko povišane, a ne tako izrazito, kot to velja za nekatere druge vnetne citokine (6). Kljub temu je zaviranje signalizacije TNF α med citokinsko nevihto morda smiselno, saj prav ta citokin nadzira številne vnetne procese in spodbuja sproščanje IL-6. Temu v prid govori tudi dejstvo, da so v raziskavah na miših, okuženih z virusom SARS-CoV-1, pokazali, da nevtralizacija TNF α poveča verjetnost preživetja živali (61). Tako imenovane antagoniste TNF α , rekombinantna monoklonska protitelesa (npr. adalimumab, golimumab in infliximab) ali topni receptor (etanercept), ki z vezavo citokina preprečijo njegovo asociacijo z receptorjem, uporabljamo za zdravljenje številnih kroničnih vnetnih bolezni. Ob nevtralizaciji TNF α te učinkovine izzovejo tudi znižanje števila aktiviranih monocitov in makrofagov, ki izražajo membransko obliko receptorja za TNF α , po mehanizmu s protitelesi posredovane celične citotoksičnosti (62). Ker so prav monociti/makrofagi eni od osrednjih krivcev za citokinsko nevihto, predstavljajo antagonisti

TNF α še eno potencialno pomembno skupino učinkovin za preprečevanje simptomov pri hudi obliki bolezni covid-19. V klinične raziskave blaženja citokinske nevihte pri covid-19 jih (še) niso vključili.

3.4.5 Modulatorji eikozanoidnega odziva

Kot inovativen pristop zaviranja vnetne reakcije pri covid-19 so predlagali terapevtsko uporabo sicer endogenih avtakoidnih mediatorjev (resolvinov, lipoksinov in protektinov; skupno poimenovanih tudi SPM (*specialized pro-resolving mediators*)), ki spodbujajo sprotno odstranjevanje celičnih komponent, nastalih pri apoptotičnih procesih med virusno okužbo, s fagocitozo (5). To bi utegnilo voditi do manjše aktivacije alveolarnih makrofagov in preprečitve t. i. eikozanoidne nevihte, ki je podlaga sproščanja vnetnih citokinov. Še ena možnost blaženja vnetja je uporaba zaviralcev epoksid hidrolaze, encima, ki katalizira hidrolizo epoksi-eikozatrienojskih kislin (EET). EET so namreč parakrino delujoče epoksimasčobne kisline, ki nastajajo iz arahidonske kisline in spodbujajo sproščanje lipoksinov in tako posredno zavrejo tvorbo prostaglandinov in levkotrienov (5). Tako SPM kot EET oslabijo proces tromboze, ki v nekaterih primerih dodatno zaplete potek težke bolezni covid-19.

4 SKLEP

Sindrom sproščanja citokinov je resen zaplet, ki pri nekaterih obolelih za covid-19 spremlja pozno fazo okužbe. Obsežna vnetna reakcija in infiltracija tkiv z imunskimi celicami je odgovorna za pljučni edem, nepovratne poškodbe pljuč in drugih organov. Medtem ko bodo cepiva omogočila preprečevanje okužb z virusom SARS-CoV-2 in protivirusne učinkovine zavrle njegovo namnoževanje v zgodnji fazi okužbe, bo za omejitev nenadzorovanega odziva imunskega sistema, značilnega za kasnejši hujši potek bolezni, ključno s podpornim zdravljenjem tarčno utišati signalizacijo specifičnih mediatorjev vnetja. Preusmeritev zdravil, katerih uporaba je odobrena za druge terapevtske indikacije (in sta torej njihova farmakokinetika in varnostni profil dobro raziskana), v zdravljenje hudih oblik covid-19 se ponuja kot možnost za razvoj razmeroma hitrega farmakološkega posredovanja. Izpostaviti velja, da svetovna zdravstvena organizacija (WHO) v aktualnih smernicah zdravljenja covid-19 (63) ne omenja uporabe imunomodulatornih ali imunosupresivnih zdravil z izjemo kortikosteroidov. Rutinsko

uporabo kortikosteroidov pri virusnih pljučnicah (tudi covid-19) zaradi pomanjkanja dokazov o učinkovitosti in možnostih neželenih učinkov sicer odsvetujejo (64). Trenutno še ni dovolj podatkov o učinkovitosti tovrstnega zdravljenja covid-19 (niti za tocilizumab, edino učinkovino, odobreno za preprečevanje citokinske nevihte) za izdajo splošnih priporočil. Zaviranje delovanja imunskega sistema med resno in obsežno virusno okužbo je namreč dvorezen meč. Vsa kršna uporaba imunomodulatornih/imosupresivnih zdravil je tako omejena na klinične raziskave. Številne med njimi bodo prve rezultate dale že kmalu.

5 VIRI

1. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen YM, Wang W, Song ZG et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020;579(7798):265-9.
2. Ye Q, Wang B, Mao J. The pathogenesis and treatment of the 'Cytokine Storm' in COVID-19. *J Infect*. 2020;80(6):607-13.
3. McNab F, Mayer-Barber K, Sher A, Wack A, O'Garra A. Type I interferons in infectious disease. *Nat Rev Immunol*. 2015;15(2):87-103.
4. Liu T, Zhang L, Joo D, Sun SC. NF-kappaB signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther*. 2017;2:17023.
5. Panigrahy D, Gilligan MM, Huang S, Gartung A, Cortes-Puch I, Sime PJ et al. Inflammation resolution: a dual-pronged approach to averting cytokine storms in COVID-19? *Cancer Metastasis Rev*. 2020;
6. Chen G, Wu D, Guo W, Cao Y, Huang D, Wang H et al. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *J Clin Invest*. 2020;130(5):2620-9.
7. Pedersen SF, Ho YC. SARS-CoV-2: a storm is raging. *J Clin Invest*. 2020;130(5):2202-5.
8. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet*. 2020;395(10229):1033-4.
9. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;395(10223):497-506.
10. Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Song J. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Med*. 2020;46(5):846-8.
11. Chaplin S. Janus kinase inhibitors for autoimmune disorders. *Prescriber*. 2017;28(12):33-7.
12. Roskoski R, Jr. Janus kinase (JAK) inhibitors in the treatment of inflammatory and neoplastic diseases. *Pharmacol Res*. 2016;111:784-803.
13. Schwartz DM, Kanno Y, Villarino A, Ward M, Gadina M, O'Shea JJ. JAK inhibition as a therapeutic strategy for immune and inflammatory diseases. *Nat Rev Drug Discov*. 2017;17(1):78.
14. Sanchez GAM, Reinhardt A, Ramsey S, Wittkowski H, Hashkes PJ, Berkun Y et al. JAK1/2 inhibition with baricitinib in the treatment of autoinflammatory interferonopathies. *J Clin Invest*. 2018;128(7):3041-52.
15. Peterson D, Damsky W, King B. The use of Janus kinase inhibitors in the time of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *J Am Acad Dermatol*. 2020;82(6):e223-6.
16. de Lang A, Osterhaus AD, Haagmans BL. Interferon-gamma and interleukin-4 downregulate expression of the SARS coronavirus receptor ACE2 in Vero E6 cells. *Virology*. 2006;353(2):474-81.
17. Sorrell FJ, Szklarz M, Abdul Azeez KR, Elkins JM, Knapp S. Family-wide structural analysis of human numb-associated protein kinases. *Structure*. 2016;24(3):401-11.
18. Bekerman E, Neveu G, Shulla A, Brannan J, Pu SY, Wang S et al. Anticancer kinase inhibitors impair intracellular viral trafficking and exert broad-spectrum antiviral effects. *J Clin Invest*. 2017;127(4):1338-52.
19. Stebbing J, Phelan A, Griffin I, Tucker C, Oechsle O, Smith D et al. COVID-19: combining antiviral and anti-inflammatory treatments. *Lancet Infect Dis*. 2020;20(4):400-2.
20. Richardson P, Griffin I, Tucker C, Smith D, Oechsle O, Phelan A et al. Baricitinib as potential treatment for 2019-nCoV acute respiratory disease. *Lancet*. 2020;395(10223):e30-1.
21. Cantini F, Niccoli L, Matarrese D, Nicastrì E, Stobbione P, Goletti D. Baricitinib therapy in COVID-19: A pilot study on safety and clinical impact. *J Infect*. 2020.
22. Praveen D, Puvvada RC, M VA. Janus kinase inhibitor baricitinib is not an ideal option for management of COVID-19. *Int J Antimicrob Agents*. 2020;105967.
23. Smolen JS, Genovese MC, Takeuchi T, Hyslop DL, Macias WL, Rooney T et al. Safety profile of baricitinib in patients with active rheumatoid arthritis with over 2 years median time in treatment. *J Rheumatol*. 2019;46(1):7-18.
24. Mascarenhas J, Hoffman R. Ruxolitinib: the first FDA approved therapy for the treatment of myelofibrosis. *Clin Cancer Res*. 2012;18(11):3008-14.
25. Arana Yi C, Tam CS, Verstovsek S. Efficacy and safety of ruxolitinib in the treatment of patients with myelofibrosis. *Future Oncol*. 2015;11(5):719-33.
26. Albeituni S, Verbist KC, Tedrick PE, Tillman H, Picarsic J, Bassett R et al. Mechanisms of action of ruxolitinib in murine models of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood*. 2019;134(2):147-59.
27. Ahmed A, Merrill SA, Alsawah F, Bockenstedt P, Campagnaro E, Devata S et al. Ruxolitinib in adult patients with secondary haemophagocytic lymphohistiocytosis: an open-label, single-centre, pilot trial. *Lancet Haematol*. 2019;6(12): e630-e7.
28. Sant'Antonio E, Bonifacio M, Breccia M, Rumi E. A journey through infectious risk associated with ruxolitinib. *Br J Haematol* 2019; 187 (3): 286-295.
29. Caocci G, Murgia F, Podda L, Solinas A, Atzeni S, La Nasa G. Reactivation of hepatitis B virus infection following ruxolitinib treatment in a patient with myelofibrosis. *Leukemia*. 2014;28(1):225-7.
30. Khalid F, Damlaj M, AlZahrani M, Abuelgasim KA, Gmati GE. Reactivation of tuberculosis following ruxolitinib therapy for primary myelofibrosis: Case series and literature review. *Hematol Oncol Stem. Cell Ther* 2020.
31. Hui L, Qi L, Guoyu H, Xuliang S, Meiao T. Ruxolitinib for treatment of steroid-refractory graft-versus-host disease in adults: a systematic review and meta-analysis. *Expert Rev Hematol*. 2020;13(5):565-75.
32. Papp KA, Menter MA, Abe M, Elewski B, Feldman SR, Gottlieb AB et al. Tofacitinib, an oral Janus kinase inhibitor, for the treatment of chronic plaque psoriasis: results from two randomized, placebo-controlled, phase III trials. *Br J Dermatol*. 2015;173(4):949-61.



33. Cervantes F, Vannucchi AM, Kiladjian JJ, Al-Ali HK, Sirulnik A, Stalbovskaya V et al. Three-year efficacy, safety, and survival findings from COMFORT-II, a phase 3 study comparing ruxolitinib with best available therapy for myelofibrosis. *Blood*. 2013;122(25):4047-53.
34. Cinats A, Heck E, Robertson L. Janus kinase inhibitors: A review of their emerging applications in dermatology. *Skin Therapy Lett*. 2018;23(3):5-9.
35. Spinelli FR, Conti F, Gadina M. HiJAKing SARS-CoV-2? The potential role of JAK inhibitors in the management of COVID-19. *Sci Immunol*. 2020;8;5(47):eabc5367.
36. Kotch C, Barrett D, Teachey DT. Tocilizumab for the treatment of chimeric antigen receptor T cell-induced cytokine release syndrome. *Expert Rev Clin Immunol*. 2019;15(8):813-22.
37. Karkhur S, Hasanreisoglu M, Vigil E, Halim MS, Hassan M, Plaza C et al. Interleukin-6 inhibition in the management of non-infectious uveitis and beyond. *J Ophthalmic Inflamm Infect*. 2019;9(1):17.
38. Tisoncik JR, Korth MJ, Simmons CP, Farrar J, Martin TR, Katze MG. Into the eye of the cytokine storm. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2012;76(1):16-32.
39. Rigante D. A systematic approach to autoinflammatory syndromes: a spelling booklet for the beginner. *Expert Rev Clin Immunol*. 2017;13(6):571-97.
40. Zimmermann P, Ziesenitz VC, Curtis N, Ritz N. The immunomodulatory effects of macrolides - A systematic review of the underlying mechanisms. *Front Immunol*. 2018;9:302.
41. Amsden GW. Anti-inflammatory effects of macrolides--an underappreciated benefit in the treatment of community-acquired respiratory tract infections and chronic inflammatory pulmonary conditions? *J Antimicrob Chemother*. 2005;55(1):10-21.
42. Schultz MJ, Speelman P, Hack CE, Buurman WA, van Deventer SJ, van Der Poll T. Intravenous infusion of erythromycin inhibits CXC chemokine production, but augments neutrophil degranulation in whole blood stimulated with *Streptococcus pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother* 2000;46(2):235-40.
43. Homolák J, Kodvanj I. Widely available lysosomotropic agents should be considered as a potential therapy for COVID-19. *Preprints* 2020;2020030345.
44. Ben-Zvi I, Kivity S, Langevitz P, Shoenfeld Y. Hydroxychloroquine: from malaria to autoimmunity. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2012;42(2):145-53.
45. Vincent MJ, Bergeron E, Benjannet S, Erickson BR, Rollin PE, Ksiazek TG et al. Chloroquine is a potent inhibitor of SARS coronavirus infection and spread. *Virology*. 2005; 2:69.
46. Ziegler HK, Unanue ER. Decrease in macrophage antigen catabolism caused by ammonia and chloroquine is associated with inhibition of antigen presentation to T cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1982;79(1):175-8.
47. Kyburz D, Brentano F, Gay S. Mode of action of hydroxychloroquine in RA-evidence of an inhibitory effect on toll-like receptor signaling. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2006;2(9):458-9.
48. Sperber K, Quraishi H, Kalb TH, Panja A, Stecher V, Mayer L. Selective regulation of cytokine secretion by hydroxychloroquine: inhibition of interleukin 1 alpha (IL-1-alpha) and IL-6 in human monocytes and T cells. *J Rheumatol*. 1993;20(5):803-8.
49. Goldman FD, Gilman AL, Hollenback C, Kato RM, Premack BA, Rawlings DJ. Hydroxychloroquine inhibits calcium signals in T cells: a new mechanism to explain its immunomodulatory properties. *Blood*. 2000;95(11):3460-6.
50. Silva Borba MG, Almeida Val FF, Sousa Sampaio V, Araújo Alexandre MA, Cardoso Melo G, Brito M et al. Chloroquine diphosphate in two different dosages as adjunctive therapy of hospitalized patients with severe respiratory syndrome in the context of coronavirus (SARS-CoV-2) infection: Preliminary safety results of a randomized, double-blinded, phase IIb clinical trial (CloroCovid-19 Study). *medRxiv* 2020.
51. Lane JCE, Weaver J, Kosta K, Duarte-Salles T, Abrahao MTF, Alghoul H et al. Safety of hydroxychloroquine, alone and in combination with azithromycin, in light of rapid wide-spread use for COVID-19: a multinational, network cohort and self-controlled case series study. *medRxiv* 2020.
52. EMA. COVID-19: reminder of risk of serious side effects with chloroquine and hydroxychloroquine. 2020 [cited 2020 June 2]; <https://www.ema.europa.eu/en/news/covid-19-reminder-risk-serious-side-effects-chloroquine-hydroxychloroquine>
53. Jain P, Kantarjian H, Cortes J. Chronic myeloid leukemia: overview of new agents and comparative analysis. *Curr Treat Options Oncol*. 2013;14(2):127-43.
54. Galimberti S, Baldini C, Barate C, Ricci F, Balducci S, Grassi S et al. The CoV-2 outbreak: how hematologists could help to fight Covid-19. *Pharmacol Res*. 2020;157:104866.
55. Olivieri A, Locatelli F, Zecca M, Sanna A, Cimminiello M, Raimondi R et al. Imatinib for refractory chronic graft-versus-host disease with fibrotic features. *Blood*. 2009;114(3):709-18.
56. Ma L, Manaenko A, Ou YB, Shao AW, Yang SX, Zhang JH. Bosutinib attenuates inflammation via inhibiting salt-inducible kinases in experimental model of intracerebral hemorrhage on mice. *Stroke*. 2017;48(11):3108-16.
57. Lonskaya I, Hebron ML, Selby ST, Turner RS, Moussa CE. Nilotinib and bosutinib modulate pre-plaque alterations of blood immune markers and neuro-inflammation in Alzheimer's disease models. *Neuroscience*. 2015;304 316-27.
58. Marinelli Busilacchi E, Costantini A, Viola N, Costantini B, Olivieri J, Butini L et al. Immunomodulatory effects of tyrosine kinase inhibitor in vitro and in vivo study. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2018;24(2):267-75.
59. Cortes JE, Gambacorti-Passerini C, Deininger MW, Mauro MJ, Chuah C, Kim DW et al. Bosutinib versus imatinib for newly diagnosed chronic myeloid leukemia: results from the randomized BFORE trial. *J Clin Oncol*. 2018;36(3):231-7.
60. Caocci G, Mulas O, Annunziata M, Luciano L, Bonifacio M, Orlandi EM et al. Cardiovascular toxicity in patients with chronic myeloid leukemia treated with second-generation tyrosine kinase inhibitors in the real-life practice: Identification of risk factors and the role of prophylaxis. *Am J Hematol*. 2018;93(7):E159-61.
61. Channappanavar R, Fehr AR, Vijay R, Mack M, Zhao J, Meyerholz DK et al. Dysregulated type I interferon and inflammatory monocyte-macrophage responses cause lethal pneumonia in SARS-CoV-infected mice. *Cell Host Microbe*. 2016;19(2):181-93.
62. Mitoma H, Horiuchi T, Tsukamoto H, Ueda N. Molecular mechanisms of action of anti-TNF-alpha agents - Comparison among therapeutic TNF-alpha antagonists. *Cytokine*. 2018;101:56-63.
63. WHO. Clinical management of severe acute respiratory infection (SARI) when COVID-19 disease is suspected. Interim guidance. [Internet] 2020 [cited 2020 May 19]; [https://www.who.int/publications-detail/clinical-management-of-severe-acute-respiratory-infection-when-novel-coronavirus-\(ncov\)-infection-is-suspected](https://www.who.int/publications-detail/clinical-management-of-severe-acute-respiratory-infection-when-novel-coronavirus-(ncov)-infection-is-suspected)
64. Li H, Chen C, Hu F, Wang J, Zhao Q, Gale RP et al. Impact of corticosteroid therapy on outcomes of persons with SARS-CoV-2, SARS-CoV, or MERS-CoV infection: a systematic review and meta-analysis. *Leukemia*. 2020;34:1503-11.