

# **Neurodegenerative Marker im Serum von COVID-19 Patienten**

**Eine Untersuchung bei Patienten mit  
mildem und kritischem Verlauf**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität  
Bonn

**Simon Schade**  
aus Mechernich  
2025

Angefertigt mit der Genehmigung  
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. Eicke Latz
2. Gutachterin: Prof. Dr. Eva Bartok

Tag der Mündlichen Prüfung: 25.02.2025

Aus dem Institut für Angeborene Immunität

für meine Großeltern



## Inhaltsverzeichnis

	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>7</b>
<b>1.</b>	<b>Einleitung</b>	<b>8</b>
1.1	COVID-19 – Klinik und Pathomechanismus	8
1.2	Marker für neuronalen Schaden	10
1.3	Fragestellung	13
<b>2.</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>14</b>
2.1	Studiendesign und Patientenkohorte	14
2.2	Probengewinnung und Lagerung	15
2.3	Quantifizierung der Konzentrationen von SARS-CoV-2 N-Protein	15
2.4	Quantifizierung der Konzentrationen neuroinflammatorischer Marker	15
2.5	Software und statistische Analyse	16
<b>3.</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>16</b>
3.1	Bestimmung des N-Proteins von SARS-CoV-2 und neuroinflammatorischer Marker im Serum von SARS-CoV-2 infizierten Patienten mit mildem Verlauf	16
3.1.1	Nf-light	18
3.1.2	GFAP	22
3.1.3	Abeta40	25
3.1.4	Abeta42	28
3.2	Bestimmung neuroinflammatorischer Marker im Serum von SARS-CoV-2 infizierten Patienten mit kritischem Verlauf	31
3.2.1	Nf-light	32
3.2.2	GFAP	34
3.2.3	Abeta40	35
3.2.4	Abeta42	36
<b>4.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>38</b>
4.1	Nf-light	38
4.2	GFAP	41
4.3	Abeta40	42
4.4	Abeta42	44

<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>47</b>
<b>6.</b>	<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>48</b>
<b>7.</b>	<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>54</b>
<b>8.</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>55</b>
<b>9.</b>	<b>Danksagung</b>	<b>60</b>

## Abkürzungsverzeichnis

Abeta	Amyloid Beta
Abeta40	Amyloid Beta 40
Abeta42	Amyloid Beta 42
ACE-2	Angiotensin Converting Enzyme 2
APP	Amyloid-Precursor-Protein
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
ECMO	Extrakorporale Membranoxygenierung
GFAP	glial fibrillary acidic protein
MW	Mittelwert
Nf-heavy	Neurofilament high molecular weight
Nf-light	Neurofilament low molecular weight
Nf-medium	Neurofilament medium molecular weight
N-Protein	Nukleoprotein
qRT-PCR	quantitative real-time polymerase chain reaction
RNA	ribonucleic acid
SARS-CoV-2	Severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2
SD	Standardabweichung
SEM	Standardfehler
TMPRSS2	transmembrane protease serine subtype 2
ZNS	zentrales Nervensystem

# 1. Einleitung

## 1.1 COVID-19 – Klinik und Pathomechanismus

Das Virus SARS-CoV-2, welches erstmals in Wuhan, China bekannt wurde, breitet sich seit Anfang 2020 weltweit aus. Bei dem Virus handelt es sich um ein behülltes Positivstrang-RNA-Virus, welches zu den Beta-Coronaviren in der Familie der Coronaviridae gehört (Wu, et al. 2020). SARS-CoV-2 verursacht hauptsächlich respiratorische Erkrankungen, die von leichten Erkältungen bis hin zu schweren Lungenentzündungen mit Multiorganbeteiligung reichen.

Der hauptsächliche Übertragungsweg sind Aerosole, die über die Atemwege in den menschlichen Organismus gelangen. Die Inkubationszeit beträgt im Mittel 5,2 Tage (Wu, et al. 2020). Diese Zeitspanne kann jedoch von Patient zu Patient stark variieren. Eine Infektion mit SARS-CoV-2 ist zu Beginn meist nur schwer von anderen Infektionskrankheiten zu unterscheiden. Erste Symptome sind in der Regel Abgeschlagenheit, Fieber und Husten (Wu, et al. 2020). Zusätzlich zu dieser klassischen Symptomtrias einer einfachen Erkältungskrankheit gibt es auch ein sehr typisches und spezifisches Symptom, welches für eine COVID-19 Erkrankung spricht. Der Verlust beziehungsweise die Beeinträchtigung des Geruchssinnes tritt bei 85,6 %, der des Geschmackssinnes bei 88,0% der Patienten mit milden bis moderaten Verläufen auf (Lechien, et al. 2020). Eine Inflammation des olfaktorischen Epithels sowie eine Herabregulierung der olfaktorischen Rezeptoren spielt bei dieser Art von Symptomen eine Rolle (Cardoso, et al. 2022). Allerdings konnte auch gezeigt werden, dass SARS-CoV-2 über die olfaktorische Mukosa in die dortigen Nervenendigungen eindringen kann, und die Fila olfactoria befällt (Meinhardt et al. 2021). Ein neuroinvasives Potential konnte auch schon bei anderen Coronaviren wie SARS-CoV-1 gezeigt werden (Li et al. 2020).

Das Symptom der Geruchs- und Geschmackseinschränkung so früh in der Erkrankung ist ein relatives Alleinstellungsmerkmal für Erkrankungen mit SARS-CoV-2 im Vergleich zu anderen respiratorischen Erkrankungen. Zudem kommt es nicht selten vor, dass eine Anosmie das einzige Symptom der Erkrankung ist.

Allerdings ist bekannt, dass auch im Verlauf von anderen Virusinfektionen der Verlust des Geruchssinns auftreten kann. So kann zum Beispiel auch das Influenzavirus zu Anosmie oder Geruchshalluzinationen führen. Insgesamt treten 11% aller Riechstörungen postviral auf (Schenk 2020).

Durch die primäre SARS-CoV-2 Infektion der Lunge gelangt das Virus auch in die Blutbahn, von wo aus es andere Organe befallen kann. Dadurch können sich im weiteren Verlauf der SARS-CoV-2 Infektion viele verschiedene Symptome zeigen. Neben pulmonalen Erkrankungen sowie der Anosmie, Kakosmie und gustatorischen Ausfällen sind noch weitere diffuse Arten von neurologischen Symptomen sowie gastrointestinale Beschwerden beschrieben. Die gastrointestinalen Symptome äußern sich unter anderem in Malabsorption, Störung der gastrointestinalen Barriere und Eindringen von Darmmikrobiom in die Blutbahn (Wu et al. 2022).

Bei schweren Verläufen der COVID-19 Infektion kann die Erkrankung mit unterschiedlichen Schweregraden von respiratorischen Symptomen bis zum Vollbild eines ARDS (*acute respiratory distress syndrome*) voranschreiten. Dies macht die Behandlung der Patienten auf der Intensivstation mit zum Teil invasiver Beatmung oder Behandlung mit ECMO notwendig.

Vor allem die Entwicklung eines ARDS durch SARS-CoV-2 ist mit stärkeren neurologischen Ausfällen assoziiert. Diese reichen von Verwirrtheit, Enzephalopathie bis hin zu neuromuskulären Auffälligkeiten (Helms, et al. 2020).

Patienten mit sehr lange andauernden Symptomen werden als „Long Covid“ Patienten zusammengefasst. Long Covid Patienten haben kein einheitliches Symptombild, häufig sind aber beispielsweise neurologische Ausfälle und Fatigue sowie multiple Organbeteiligungen, vor allem bei Patienten, die auf Grund der Schwere ihrer Erkrankung auf der Intensivstation behandelt werden mussten (Yong 2021).

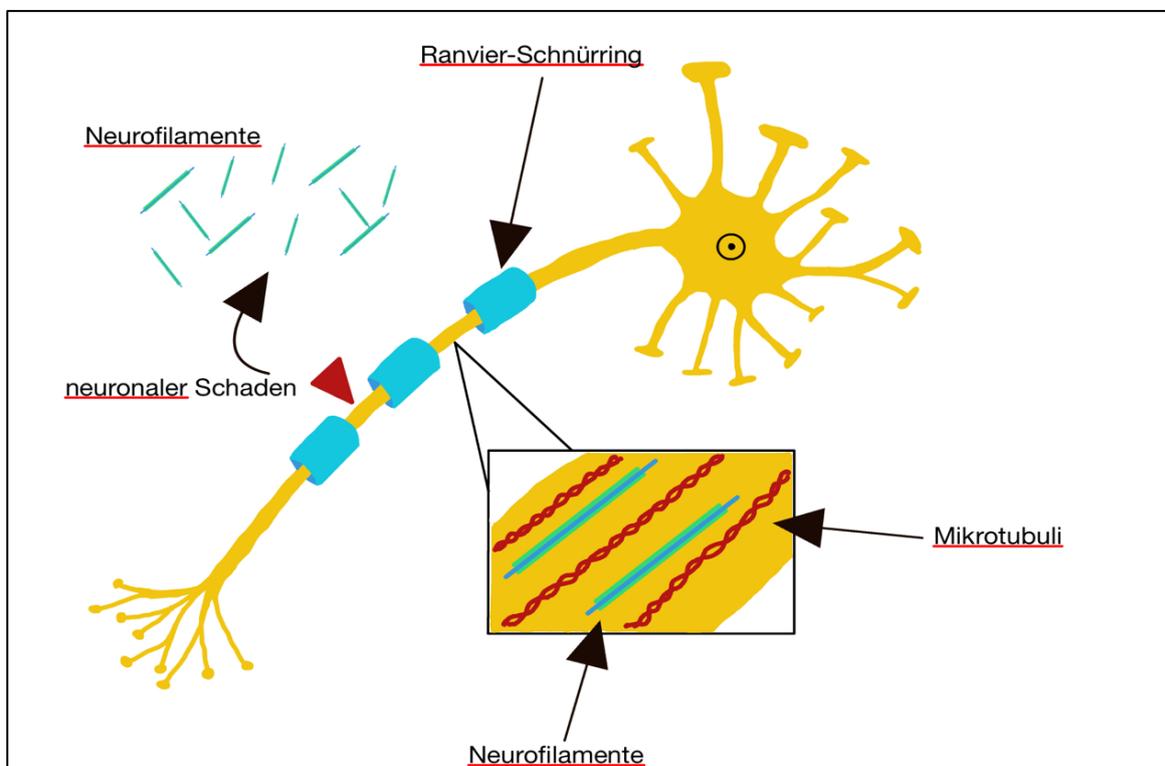
Der Erreger SARS-CoV-2 nutzt das vorwiegend in Lunge und Darm vorkommende Enzym ACE-2 als Rezeptor (Hoffmann et al. 2020). Die eigentliche Funktion dieses Proteins ist die Umwandlung von Angiotensin II in Angiotensin (1-7), ein vasodilatatorischer Faktor. Damit ist der ACE-2 Rezeptor als Bestandteil des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems wichtig in der Regulation des Blutdrucks. An diesem Rezeptor bindet das Virus mit seinem Spikeprotein. Die S1 Untereinheit dieses Proteins ist der Teil, welcher für die eigentliche Bindung an den zellulären Rezeptor zuständig ist. Die S2 Untereinheit ist für die Fusion

des Virus mit der Zielzelle verantwortlich. Beide Proteine werden aus einem Vorläufermolekül, dem S-Protein herausgeschnitten. Neben dem Rezeptor (ACE2) ist also auch eine Protease, die Serinprotease TMPRSS2 für die erfolgreiche Penetration des Virus in die menschliche Zelle erforderlich (Hoffmann, et al. 2020).

Neben dem S-Protein beinhaltet das Virus auch das N-Protein. Dieses Protein ist mit der RNA im Inneren assoziiert und bildet somit das Nukleokapsid um das Genom des Virus herum (Laue, et al. 2021).

## 1.2 Marker für neuronalen Schaden

Wenn Neuronen oder Gliazellen beschädigt werden oder absterben, gelangen Zellbestandteile auch in die Blutbahn, und lassen sich dort als Marker für neurodegenerativen Schaden nachweisen (Abbildung 1). Für die Erklärung der unterschiedlichen Ausprägung neurologischer Symptome im Rahmen einer SARS-CoV-2 Infektion werden einiger dieser Marker im Patientenblut in dieser Arbeit analysiert. Diese untersuchten Marker werden im Folgenden dargestellt.



**Abb. 1:** Freisetzung von Neurofilamenten bei neuronalem Schaden

Zwei dieser untersuchten Marker sind die Intermediärfilamente von Neuronen und von Astrozyten. Intermediärfilamente sind komplex aufgebaute Proteinfilamente, die aus vier Protofibrillen bestehen, welche wiederum aus mehreren Protofilamenten zusammengesetzt sind. Die so entstehenden Proteinkomplexe sind strukturgebend, sehr fest und damit essenziell für den Aufbau des Zytoskelettes jeder Zelle. Die neuronenspezifischen Intermediärfilamente sind Neurofilamente und setzen sich aus den drei Polypeptidketten Neurofilament low molecular weight (Nf-light), Neurofilament medium molecular weight (Nf-medium) und Neurofilament high molecular weight (Nf-heavy) zusammen (Welsch 2006, 67-68). Während der Entwicklung des Axons sind die Neurofilamente mitverantwortlich für dessen Dicke, und bestimmen somit auch die Fortleitungsgeschwindigkeit innerhalb der Neuronen. Auf Grund der Elastizität der Intermediärfilamente ist die unterschiedliche Form jedes einzelnen Neurons möglich. Eine weitere Funktion von Neurofilamenten ist die Limitation des Wachstums und der Anzahl von Mikrotubuli innerhalb der Neuronen. Jedes Neurofilament besitzt eine Region, die die Polymerisation von Mikrotubuli inhibieren kann. (Yuan, et al. 2012)

Neurofilamente, die im Serum nachgewiesen werden, dienen als Biomarker für neuronalen Schaden und Neurodegeneration (Liu et al., 2011). Wenn Neurone beschädigt werden oder absterben, gelangt Nf-light aus den Neuronen in den Extrazellulärraum und ins Blut (Le, et al. 2020) (Abbildung 1).

Bei neurodegenerativen Krankheiten wie bei Multipler Sklerose konnte schon eine Korrelation zwischen verminderten olfaktorischen Funktionen und erhöhten Spiegeln von Neurofilamenten im Serum festgestellt werden (Bsteh et al. 2019).

Astrozyten sind wichtig, um die normale Funktion von Neuronen zu ermöglichen. Sie spielen eine wichtige Rolle im Kaliumhaushalt der Neurone, der Aufnahme von Neurotransmittern und in der Abschirmung der Synapsen von äußeren Einflüssen. Auch in Astrozyten kommen, wie in jeder Zelle Intermediärfilamente vor. In Astrozyten bilden sich diese aus GFAP (glial fibrillary acidic protein) (Welsch 2006). GFAP ist ebenso wie die Neurofilamente unter anderem wichtig für die Strukturgebung und ein stabiles Zytoskelett der Astrozyten. Auch in der Funktion und Differenzierung von Astrozyten spielt GFAP eine wichtige Rolle. Die unterschiedlichen Funktionen der Astrozyten werden unter anderem auch

durch die Expression von unterschiedlichen Isoformen von GFAP bestimmt (Middeldorp und E.M.Hol 2011).

Nur bei Zelltod oder Verletzung der Astrozyten kann GFAP im Blut gefunden werden (Zurek 2017). Da Astrozyten essenziell wichtig sind für die Funktion von Neuronen, würde ein Untergang dieser Zellen auch neuronale Ausfälle begründen. In Studien konnte gezeigt werden, dass die Astrozyten eines der Hauptziele von SARS-CoV-2 im Nervengewebe sind. Aufgrund der dadurch entstehenden Inflammation und Störung im Energiehaushalt der Neuronen kann es so auch zum neuronalen Zelltod kommen (Huang und Fishel 2022).

Im Hinblick auf neurodegenerative Erkrankungen sind die beiden Proteine Abeta40 und Abeta42 mit am besten erforscht. Diese beiden Unterformen von Abeta spielen vor allem in der Pathogenese der Alzheimer Erkrankung eine entscheidende Rolle.

Abeta40 und Abeta42 (Beta-Amyloide) entstehen durch Spaltung des Amyloid-Precursor-Proteins (APP). Die dabei entstehenden Peptide besitzen eine hohe Neigung zur Aggregation (Olubiyi 2013).

Abeta40 und Abeta42 entstehen auch in physiologischen Zellen, ob die Proteine eine Funktion haben, und wenn ja welche, ist noch nicht abschließend geklärt. Bei der Alzheimer Erkrankung treten charakteristische Plaques auf, welche vor allem die aggregierten Abeta42 Peptide enthalten. Diese Plaques sind neurotoxisch und induzieren neuronalen Zelltod (Liu, et al. 2019). Abeta42 aggregiert besonders schnell und bildet so Plaques. Dieser Vorgang kann von Abeta40 in Abhängigkeit von der Konzentration jedoch inhibiert werden (Kuperstein, et al. 2010).

Erhöhtes Beta-Amyloid im Blutserum lässt sich bei Patienten mit Alzheimer Demenz sowie bei Patienten mit Tumoren nachweisen (Jin, et al. 2016). Außerdem ist bei erhöhten Aβ42 Spiegel in bei nicht dementen Patienten die Wahrscheinlichkeit, eine Alzheimer Demenz oder kognitive Einschränkungen zu entwickeln, erhöht (Schupf, et al. 2007).

Eine erhöhte Konzentration von diesen Proteinen im Serum zeigen also eine Schädigung von Neuronen oder Astrozyten an.

### 1.3. Fragestellung

Olfaktorische und gustatorische Beeinträchtigungen sind eines der häufigsten Symptome bei milden und mittelschweren Verläufen einer SARS-CoV-2 Infektion. Diese Symptome stehen insbesondere bei milden Verläufen des Krankheitsbildes im Vordergrund, zum Teil auch über einen längeren Zeitraum. Vor allem bei den mild verlaufenden SARS-CoV-2 Infektionen bestimmen sie die subjektive Schwere des Krankheitsempfinden. Daher wird sich diese Arbeit damit befassen, ob für diese Sinnesstörung ein Zelltod beziehungsweise eine Beschädigung von Neuronen ursächlich ist. Bei den in der Studie untersuchten kritisch kranken Patienten mit ARDS soll analysiert werden, inwiefern eine Beschädigung von Neuronen mit der Schwere des Krankheitsbildes assoziiert ist.

In der hier vorgelegten Studie wurden die Konzentrationen von Nf-light, GFAP, A $\beta$ 40 und A $\beta$ 42 im Patientenserum von mit SARS-CoV-2 infizierten Personen quantifiziert und mit olfaktorischen und gustatorischen Symptomen korreliert. Gleichzeitig wurde die Konzentration von N-Protein im Serum der Infizierten als Marker für die Viruslast untersucht, und mit der Konzentration von Nf-light, GFAP und Abeta40/42 verglichen.

Anhand der Quantifizierung dieser Proteine im Patientenserum soll untersucht werden, ob die Geruchs- und Geschmacksstörungen mit dem Untergang oder axonalem Schaden von Neuronen oder Gliazellen einhergehen. Auch soll beobachtet werden, wie sich im Laufe der Erkrankung und der Genesung die Spiegel besagter Proteine im Blut verändern. Da neben den olfaktorischen und gustatorischen Ausfällen aber auch andere neurologische Beeinträchtigungen im Verlauf einer COVID-19 Infektion zu beobachten sind, könnte auch hier der Untergang von Neuronen eine Rolle spielen.

Zudem soll erforscht werden, inwiefern sich die Spiegel der gemessenen Proteine im Serum von Patienten auf der Intensivstation verändern. Vor allem der zeitliche Verlauf der Serumspiegel über die Dauer des Aufenthaltes auf der Intensivstation ist von Interesse.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Studiendesign und Patientenkohorte

Für die Durchführung der Studie wurden Blutproben von SARS-CoV-2 positiven Probanden gesammelt und analysiert. Die Infektion wurde entweder per qRT-PCR oder Antigen-test bestätigt. Alle Proben wurden innerhalb Deutschlands, in Nordrhein-Westfalen gesammelt. Die Proben aus der milden Kohorte wurden von November 2020 bis Februar 2021 gesammelt, die Proben der kritisch kranken Patienten von April 2020 bis Mai 2021. Die Studie wurde gemäß der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Die vor Ort ansässige Ethikkommission hat der Studie sowie dem Sammeln der Blutproben von infizierten Patienten und der Kontrollgruppe zugestimmt (Universitätsklinikum Bonn, Ethikantrag 468/20). Einige der erhobenen Daten wurden schon im Rahmen des Forschungsprojektes COVIMMUNE in einer Studie mit anderer Fragestellung verwendet (Odainic et al. 2022).

Zur Einteilung der Patienten in verschiedene Kohorten wurden Informationen über Vorerkrankungen, die medizinische Vorgeschichte sowie das Alter erhoben.

In die Kategorie „mild“ wurden Patienten eingeteilt, wenn die Krankheit im häuslichen Umfeld kuriert wurde. Die Symptome umfassten den Geruch- und Geschmacksverlust, Fieber, Kopfschmerzen und gastrointestinale Beschwerden.

Die Blutproben wurden unter Einhaltung der zum Zeitpunkt der Entnahme geltenden Quarantänerichtlinien mit Unterstützung der medizinischen Abteilung der Bundeswehr entnommen. So konnten in einem Zeitraum von 21 Tagen bis zu sechs Blutproben pro Proband im häuslichen Umfeld der Probanden entnommen werden.

Patienten, welche aufgrund eines ARDS im Zuge ihrer SARS-CoV-2 Infektion auf der Intensivstation des Universitätsklinikum Bonn behandelt werden mussten, wurden der Kohorte „kritisch“ zugeteilt. Die intensivmedizinische Behandlung umfasste den Einsatz von invasiven Beatmungsverfahren bis hin zur extrakorporalen Membranoxygenierung (ECMO). Diesen Probanden wurde im Zeitraum von maximal 28 Tagen seit Aufnahme auf der Intensivstation bis zu sechsmal Blut entnommen.

Probanden, welche keinen positiven Testnachweis, und auch sonst keine SARS-CoV-2 Infektion in der Vergangenheit hatten, wurden der Kategorie „gesunde Kontrollen“

zugeordnet. Diese Kohorte wurde unter Berücksichtigung des Alters in zwei Untergruppen aufgeteilt, um eine altersangepasste Kontrollgruppe für die Kohorten „kritisch“ und „mild“ zu generieren. Dadurch soll der Einfluss von physiologischen altersbedingten Erhöhungen der neurodegenerativen Marker auf die Ergebnisse minimiert werden. Der Kontrollgruppe wurden in einem Zeitraum von zwei Wochen bis zu fünf Blutproben entnommen.

## 2.2. Probengewinnung und Lagerung

Zur Entnahme der Blutproben aus einer peripheren Vene wurden 7,5 ml Z-Gel-S-Monovetten (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) verwendet. Die Serum-Röhrchen wurden für 10 min bei Raumtemperatur und  $2500 \times g$  zentrifugiert. Bis zur Verwendung der Proben wurden diese bei  $-80^{\circ}\text{C}$  gelagert.

## 2.3. Quantifizierung der Konzentrationen von SARS-CoV-2 N-Protein

Die Bestimmung der Konzentrationen des SARS-CoV-2 N-Proteins im Patientenserum erfolgte mit Hilfe des Simoa<sup>®</sup> SARS CoV-2 N-Protein Advantage Kit (Quanterix, Billerica, MA, USA), gemäß dem Protokoll des Herstellers mit dem Simoa<sup>®</sup> HD-X Analyzer<sup>™</sup> (Quanterix).

## 2.4. Quantifizierung der Konzentrationen neuroinflammatorischer Marker

Die Bestimmung der Konzentrationen der neuroinflammatorischen Marker Abeta 40, Abeta 42, Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP<sup>™</sup>) und Neurofilament leichte Kette (Nf-light) erfolgte mittels dem Simoa<sup>®</sup> Human Neurology 4-Plex E assay (Quanterix) gemäß dem Protokoll des Herstellers mit dem Simoa<sup>®</sup> HD-X Analyzer<sup>™</sup> (Quanterix).

## 2.5. Software und statistische Analyse

Die statistische Auswertung der gemessenen Laborwerte erfolgte mit GraphPad PRISM® (Version 9.4.1).

Zur Testung auf Normalverteilung der Datensätze wurde der Shapiro-Wilk-Test durchgeführt. Für die Bestimmung der  $p$ -Werte wurde bei Normalverteilung eine Ein-Weg-ANOVA mit anschließendem *post-hoc*-Test (Dunnett oder Tukey) durchgeführt, ansonsten ein Kruskal-Wallis-Test mit anschließendem *post-hoc*-Test (Dunn). Bei einem Unterschied der Konzentrationen der gemessenen Laborparameter zweier Vergleichsgruppen gilt ein  $p$ -Wert  $< 0,05$  als statistisch signifikant.

Zur Untersuchung von möglichen Korrelationen zwischen neuronalen bzw. glialen Markern und viralem Antigen (N-Protein) wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson ( $r$ ) sowie der Determinationskoeffizient ( $R^2$ ) bestimmt.

## 3. Ergebnisse

### 3.1 Bestimmung des N-Proteins von SARS-CoV-2 und neuroinflammatorischer Marker im Serum von SARS-CoV-2 Infizierten Patienten mit mildem Verlauf

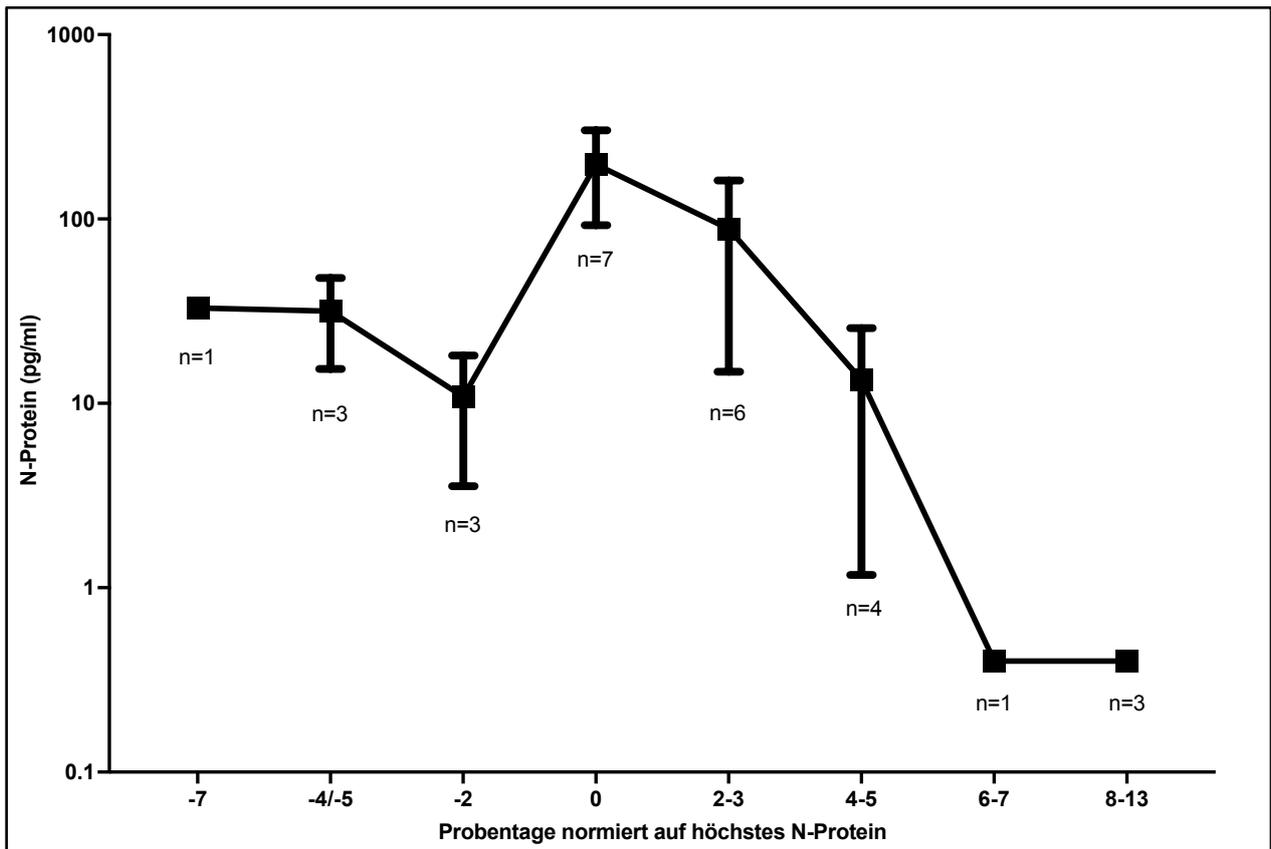
Im Zuge der Studie wurden Serumproben von 19 Probanden auf die Konzentration neuroinflammatorischer Marker und die Konzentration des N-Proteins von SARS-CoV-2 untersucht (7 männlich/ 11 weiblich/ 1 keine Angabe). Bei 7 Probanden (4 weiblich/ 2 männlich/ 1 keine Angabe), wurde durch die Anamneseerhebung eine Beeinträchtigung des Geruchs- und Geschmackssinns festgestellt (Tabelle 1). Diese 7 Probanden wurden in die Studie eingeschlossen. Die restlichen 12 Probanden wurden für die Auswertung der Studie nicht berücksichtigt, da der Geruchs-/Geschmacksverlust als Einschlusskriterium galt. Alle 7 der in die Studie eingeschlossenen Probanden gaben an, während der Infektion an Husten beziehungsweise Schnupfen zu leiden. Zwei dieser Probanden waren Raucher. Der Altersdurchschnitt lag in dieser Gruppe bei 47 Jahren (ein Proband keine Angabe). In der gesunden Kontrollgruppe wurden 9 Patienten untersucht (7 männlich/ 2 weiblich), der Altersdurchschnitt lag bei 38 Jahren.

Patienten der Kohorte „mild“ kurierten die SARS-CoV-2 Infektion im häuslichen Umfeld aus. Durch die hohe Ansteckungsrate des SARS-CoV-2 Virus sind genaue Infektionsketten nur sehr schwer nachzuvollziehen. Einen exakten Zeitpunkt der Infektion beziehungsweise den Ausbruch der Erkrankung zu definieren war aufgrund der unterschiedlichen Inkubationszeiten und der milden Symptomatik bei der Kohorte nicht möglich. Um eine Vergleichbarkeit der Konzentrationen der neurodegenerativen Marker herzustellen, wurde bei den Probanden die Konzentration des SARS-CoV-2 Nucleoprotein (N-Protein) im Serum bestimmt. Da zu dem Zeitpunkt mit der höchsten Konzentration von N-Protein im Serum die höchste Viruslast vorlag, wurde jeweils die Probe mit dem höchsten N-Protein Wert als Zeitpunkt 0 definiert. Die restlichen Proben wurden gemäß deren Abnahmezeitpunkt in die Gruppen t -7; t-4/-5; t-2; t2-3; t4-5; t6-7; t8-13; und t14-20 zugeteilt (Abbildung 2).

Für die Gruppen t -7 und t 6-7 lag jeweils nur ein Datenpunkt vor, sodass auf Grund der zu kleinen Stichprobe für diese beiden Zeitpunkte zu keinem der in dieser Arbeit untersuchten Parameter eine statistische Auswertung durchgeführt werden konnte. Aus Gründen der Übersichtlichkeit werden diese Datenpunkte in den Graphen 3, 6, 9 und 12 daher nicht dargestellt.

**Tab.1:** Patientendaten der mild an COVID-19 erkrankten Kohorte

	Gesamt (n)	Männlich (n)	Weiblich (n)	keine Angabe (n)
Probanden (mild erkrankt)	19	7	11	1
- mit Geschmacksverlust	7	4	2	1
- Husten/Schnupfen	7	4	2	1
- Raucher	2	0	2	0



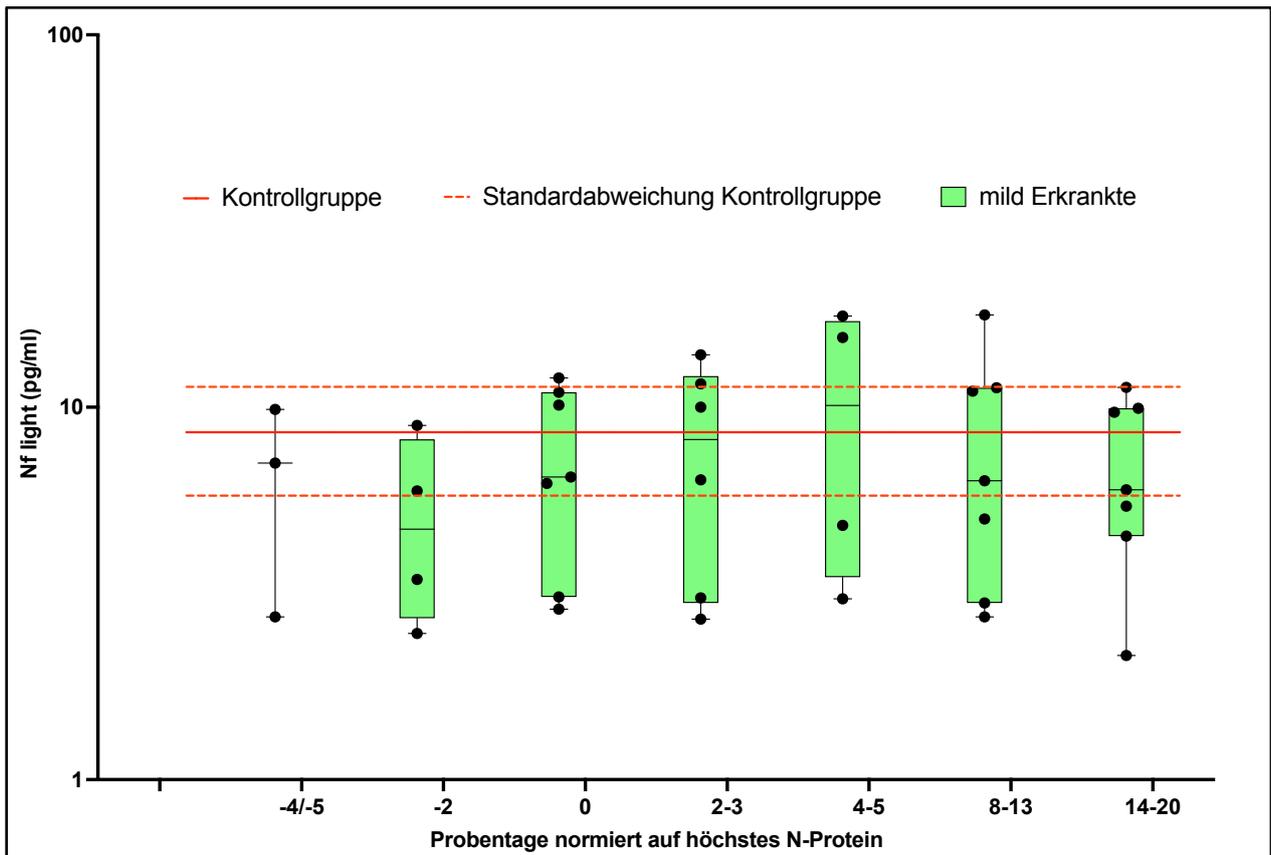
**Abb. 2:** N-Protein Werte bei Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/Geschmacksstörungen normiert auf höchsten Wert des N-Proteins; n = 7; Daten sind dargestellt als MW  $\pm$  SEM

### 3.1.1 Nf-light

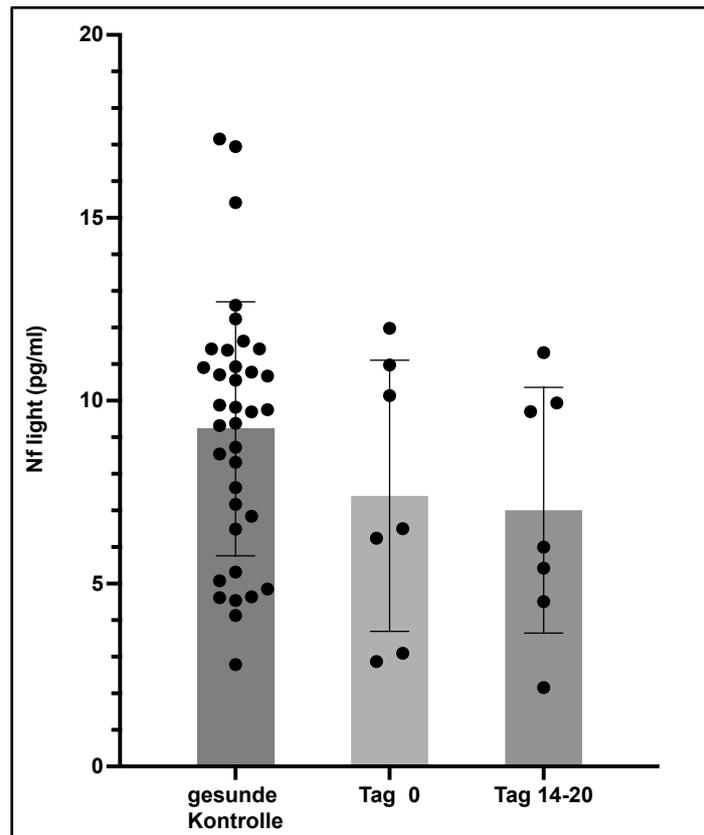
Um einen potentiellen Neuronenschaden bei mild erkrankten SARS-CoV-2 Patienten zu erforschen, wurden die Konzentrationen von Nf-light zu den unterschiedlichen Probenzeitpunkten mit dem Simoa<sup>®</sup> Human Neurology 4-Plex E assay (Quanterix) analysiert. Eine Erhöhung dieser Werte im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe würde für einen solchen Schaden sprechen. Dafür wurden die Konzentrationen von Nf-light im Patientenserum aller Zeitpunkte gegen die der gesunden Kontrollen mittels einer Ein-Weg-ANOVA gefolgt von Dunnets *post-hoc*-Test ausgewertet. Ein Anstieg dieses Parameters im zeitlichen Verlauf der Infektion würde eine Progredienz des Nervenzellschadens im Laufe der

Infektion anzeigen. Um dies zu untersuchen wurden die Konzentrationen von Nf-light im Patientenserum aller Zeitpunkte gegeneinander mittels einer Ein-Weg-ANOVA gefolgt von Tukeys *post-hoc*-Test ausgewertet. Mit diesem Vorgehen wurde auch die Entwicklung der weiteren Laborparameter GFAP, Abeta40 und Abeta42 bei Patienten mit mildem Verlauf untersucht.

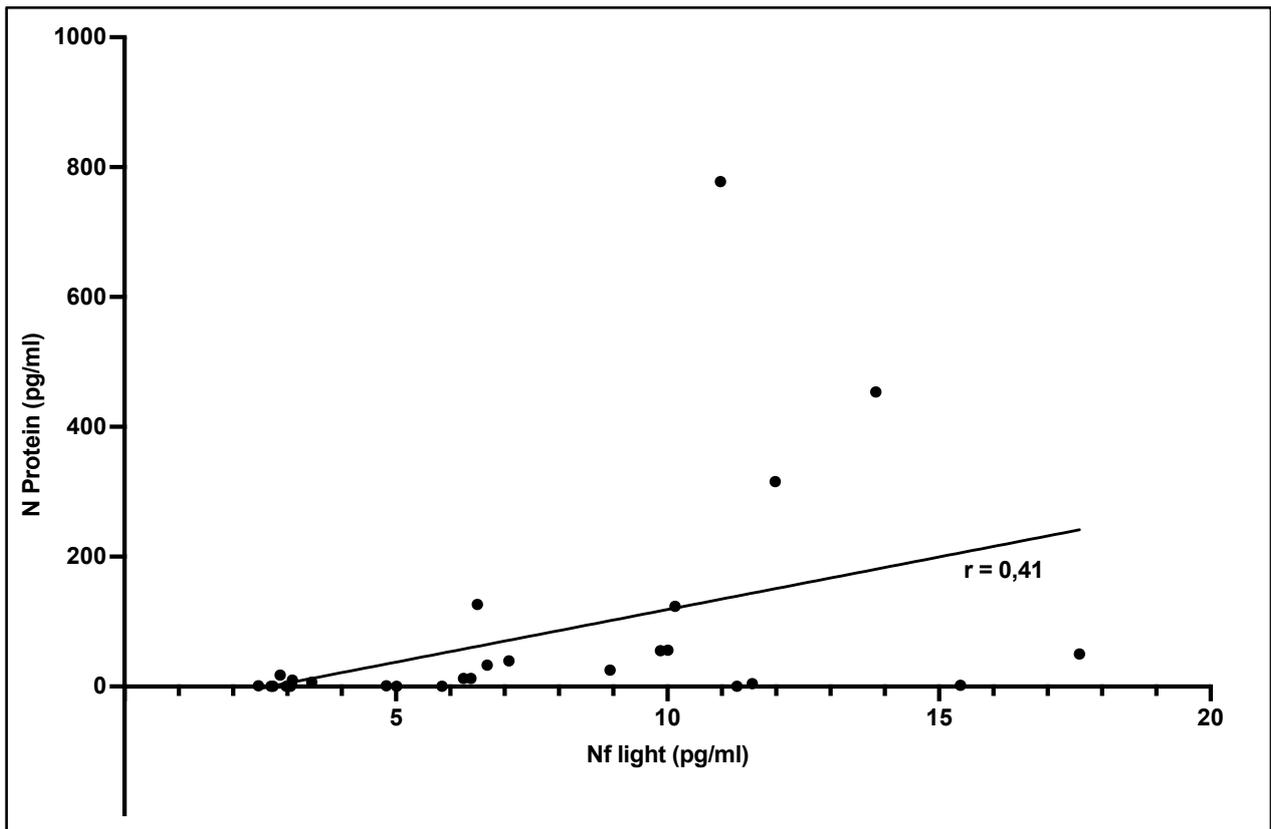
Im Zeitverlauf der Erkrankung konnte ein leichter Anstieg der Konzentrationen von Nf-light von t-2 bis t4-5 gezeigt werden. So war vier bis fünf Tage nach dem Tag der höchsten Viruslast die höchste Konzentration von Nf-light im Patientenserum messbar. Über die Zeit sanken die Konzentrationen bis zu t14-20 im Schnitt wieder ab. Die Unterschiede der Nf-light Spiegel der verschiedenen Zeitpunkte untereinander waren jedoch nicht statistisch signifikant (Abbildung 3). Auch waren die Werte weder zum Zeitpunkt t0, noch zum Zeitpunkt der letzten Abnahme t14-20 (MW  $\pm$  SD: 7,0  $\pm$  3,4 pg/ml) oder an einem anderen Zeitpunkt gegenüber der Kontrollgruppe (MW  $\pm$  SD: 9,23  $\pm$  3,47 pg/ml) signifikant verändert (Abbildung 4). Nf-light und N-Protein im Serum korrelieren aber signifikant schwach positiv miteinander, mit einem r-Wert von 0,41 ( $p = 0,03$ ) (Abbildung 5)



**Abb. 3:** Boxplot der Entwicklung der Konzentrationen von Nf-light im Serum von Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/Geschmacksstörungen im Krankheitsverlauf. Die Zeitpunkte wurden normiert auf die höchste N-Protein Konzentration im Serum ( $t_0$ , siehe Abb. 2);  $n = 7$ ; Ein-Weg-ANOVA aller Zeitpunkte gegeneinander, gefolgt von Tukeys *post-hoc*-Test. Keine signifikanten Unterschiede. Daten sind dargestellt als Boxplot mit Median, die Antennen markieren Minimum und Maximum, die Box wird durch das 25. und 75. Perzentil gebildet.



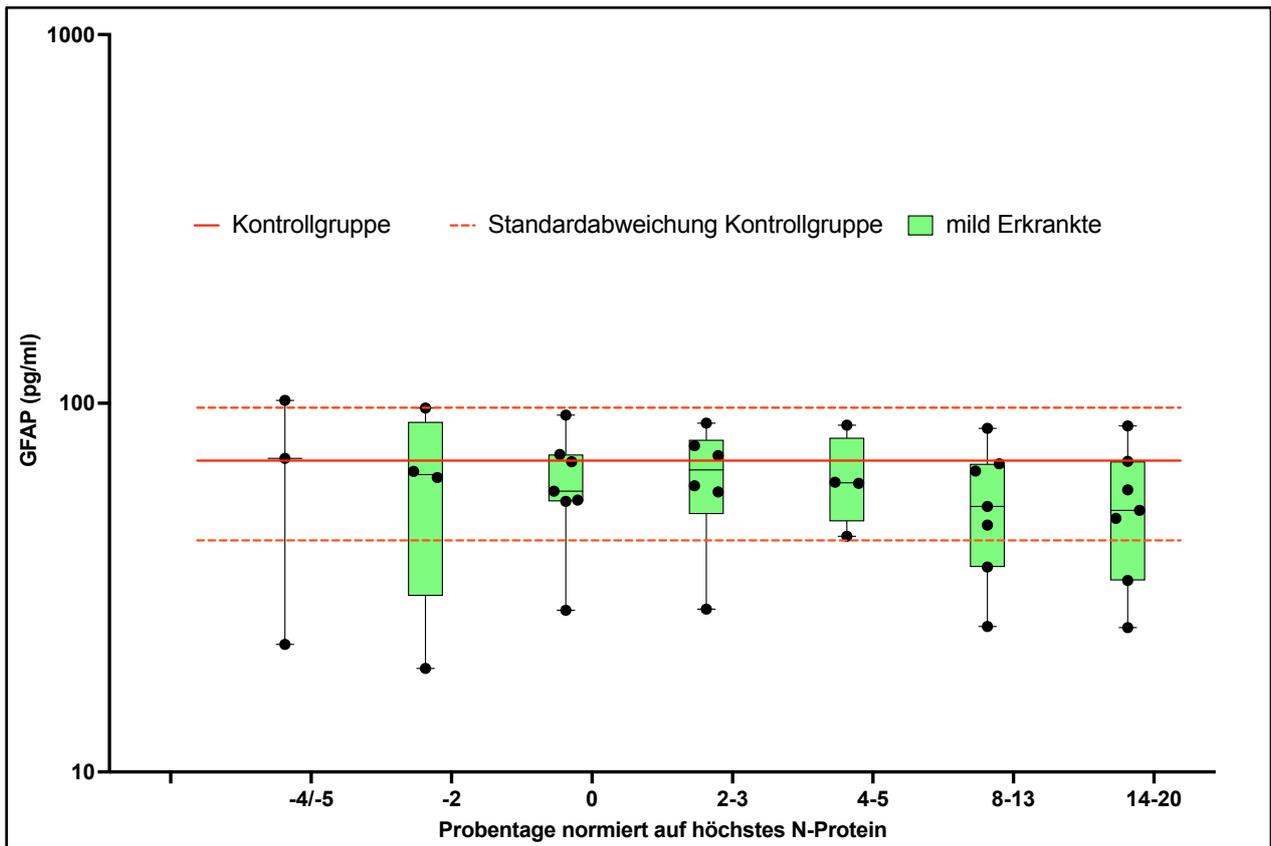
**Abb. 4:** Vergleich der Konzentrationen von Nf-light im Serum bei gesunden Probanden mit den Konzentrationen von Nf-light im Serum zum Zeitpunkt t0 und t 14-20 der Infektion von Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/ Geschmacksstörungen. Die Zeitpunkte wurden normiert auf die höchste N-Protein Konzentration im Serum (t0, siehe Abb. 2); Ein-Weg-ANOVA der untersuchten Zeitpunkte gegen die gesunden Kontrollen, gefolgt von Dunnetts *post-hoc*-Test. Keine signifikanten Unterschiede. Daten sind dargestellt als MW  $\pm$  SD.



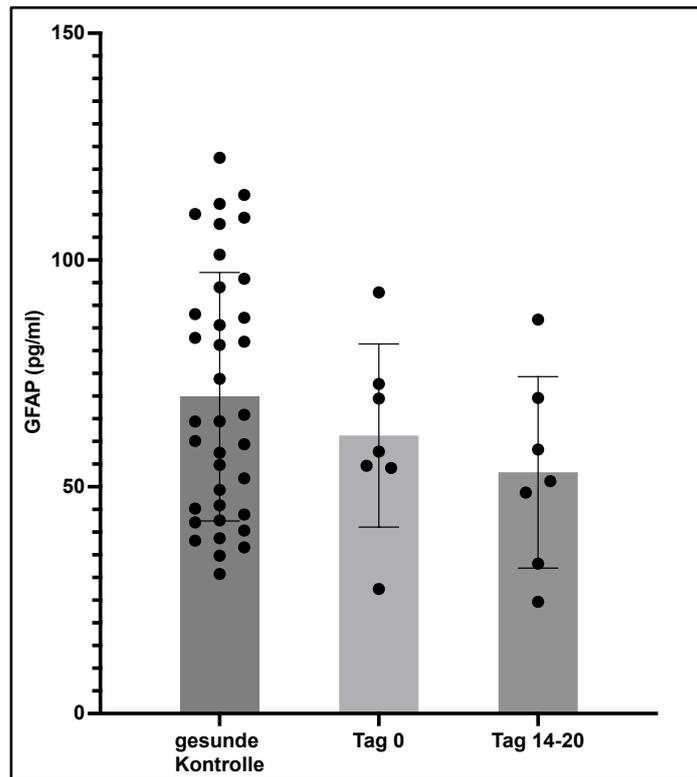
**Abb. 5:** Dotplot zur Korrelation von Nf-light und N-Protein bei Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/ Geschmacksstörungen; Pearson Korrelation:  $r = 0,41$  ( $p = 0,03$ );  $R^2 = 0,16$

### 3.1.2. GFAP

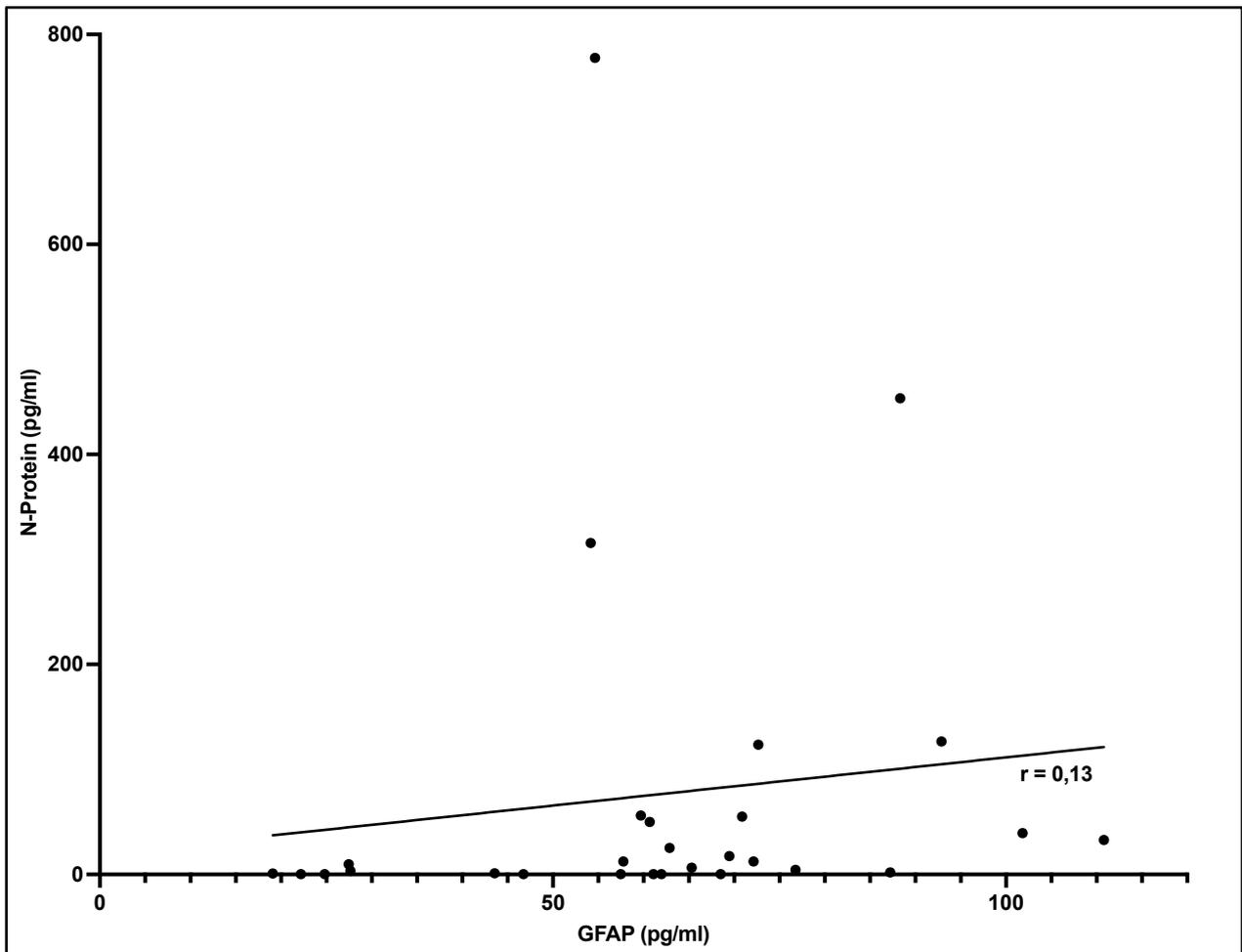
Da auch ein Schaden von Astrozyten zu einer Funktionseinschränkung oder zum Zelltod von Neuronen führen kann, wurde der Marker GFAP als Detektor für Astrozytenschaden im Patientenserum bestimmt. Auch bei den Serumspiegeln von GFAP konnte im untersuchten Zeitraum keine Veränderung der Konzentrationen an verschiedenen Untersuchungstagen festgestellt werden (Abbildung 6). Ebenfalls waren die Werte der infizierten Personen gegenüber der gesunden Kohorte zu keinem Zeitpunkt signifikant verändert (Abbildung 7). Auch konnte zwischen GFAP und N-Protein keine signifikante Korrelation gezeigt werden (Abbildung 8).



**Abb. 6:** Boxplot der Entwicklung der Konzentrationen von GFAP im Serum von Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/Geschmacksstörungen im Krankheitsverlauf. Die Zeitpunkte wurden normiert auf die höchste N-Protein Konzentration im Serum ( $t_0$ , siehe Abb. 2);  $n = 7$ ; Ein-Weg-ANOVA aller Zeitpunkte gegeneinander, gefolgt von Tukeys *post-hoc*-Test. Keine signifikanten Unterschiede. Daten sind dargestellt als Boxplot mit Median, die Antennen markieren Minimum und Maximum, die Box wird durch das 25. und 75. Perzentil gebildet.



**Abb. 7:** Vergleich der Konzentrationen von GFAP im Serum bei gesunden Probanden mit den Konzentrationen von GFAP im Serum zum Zeitpunkt t0 und t 14-20 der Infektion von Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/ Geschmacksstörungen. Die Zeitpunkte wurden normiert auf die höchste N-Protein Konzentration im Serum (t0, siehe Abb. 2); Ein-Weg-ANOVA der untersuchten Zeitpunkte gegen die gesunden Kontrollen, gefolgt von Dunnetts *post-hoc*-Test. Keine signifikanten Unterschiede. Daten sind dargestellt als MW  $\pm$  SD.

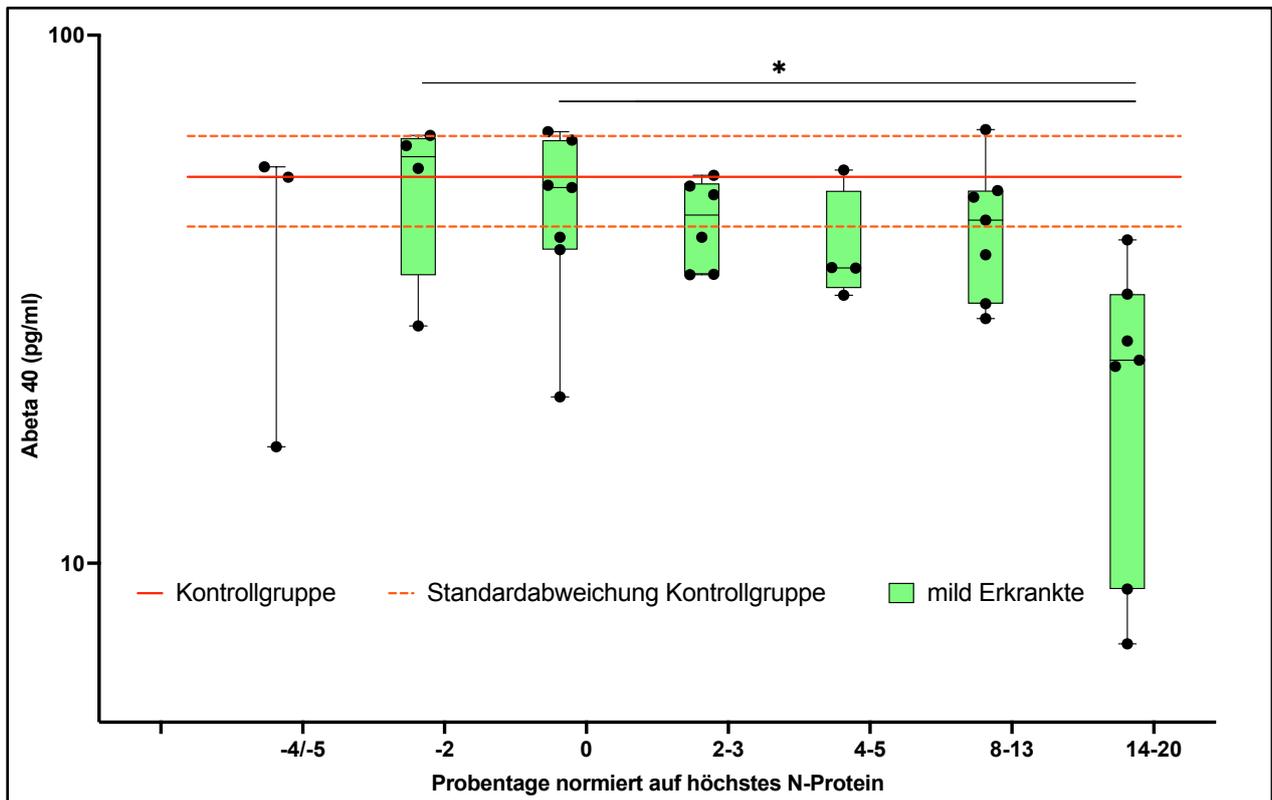


**Abb. 8:** Dotplot zur Korrelation von GFAP und N-Protein bei Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/ Geschmacksstörungen; Pearson Korrelation:  $r = 0,13$ ;  $R^2 = 0,016$

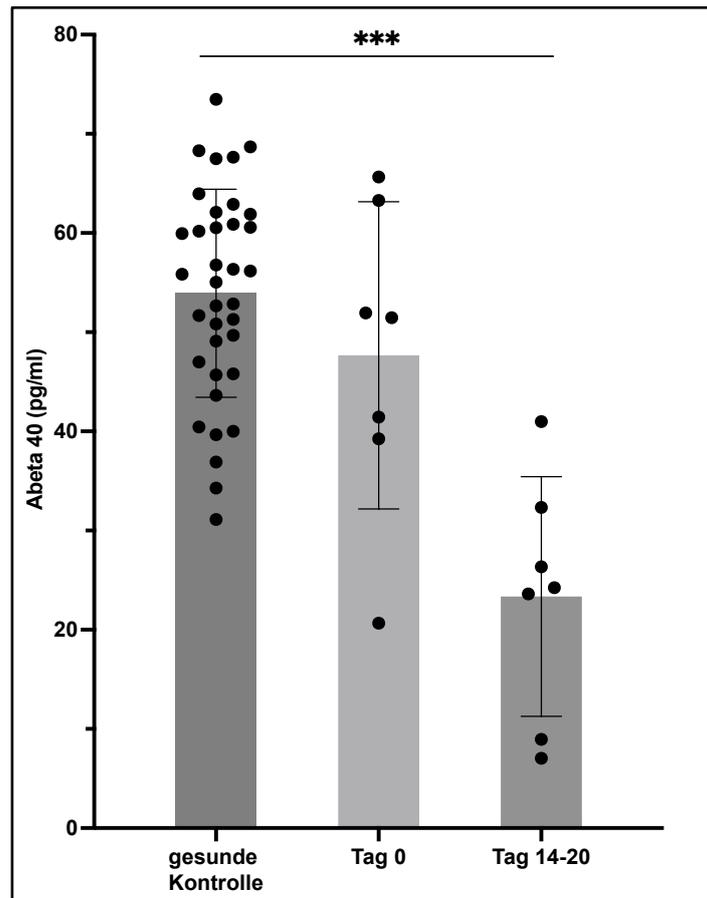
### 3.1.3. Abeta40

Die Serumkonzentrationen von Abeta40 verringerten sich in der untersuchten Kohorte im Laufe der Infektion. Während sich bis zum t8-13 kein signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen Zeitpunkten feststellen ließ, konnte ein starker Abfall der Abeta40 Konzentrationen zum letzten Zeitpunkt t14-20 (MW  $\pm$  SD: 23,35  $\pm$  12,08 pg/ml) beobachtet werden. Im Vergleich zu den Zeitpunkten t-2 (MW  $\pm$  SD: 52,63  $\pm$  16,70 pg/ml) und t0 (MW  $\pm$  SD: 47,67  $\pm$  15,48 pg/ml) zeigten sich signifikant erniedrigte Konzentrationen von Abeta40 im Serum zum Zeitpunkt t 14-20 (Abbildung 9).

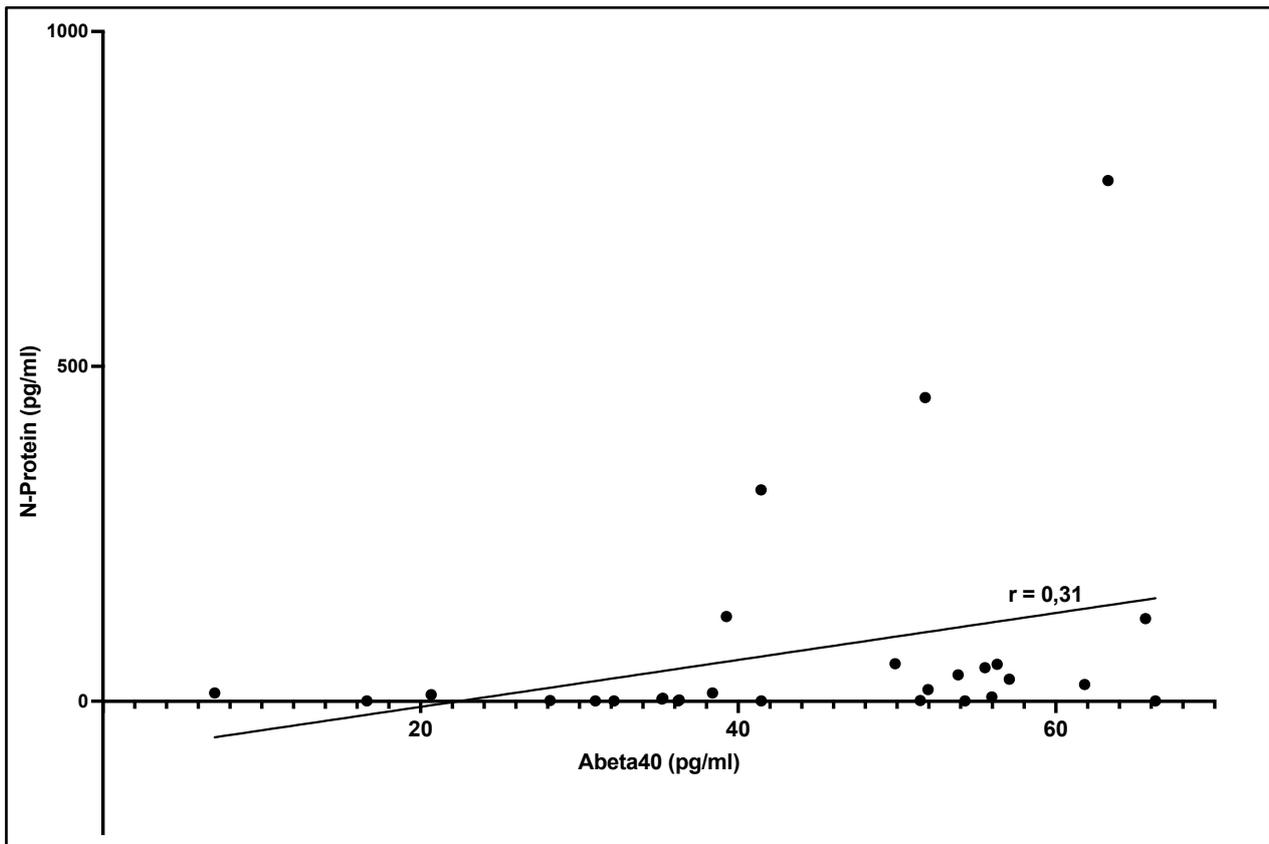
Ebenfalls waren die Serumkonzentrationen von Abeta40 zum Zeitpunkt t14-20 gegenüber der Kontrollkohorte (MW  $\pm$  SD: 53,93  $\pm$  10,49 pg/ml) signifikant erniedrigt (Abbildung 10). Zwischen Abeta40 und N-Protein im Serum, bestand keine signifikante Korrelation (Abbildung 11).



**Abb. 9:** Boxplot der Entwicklung der Konzentrationen von Abeta40 im Serum von Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/Geschmacksstörungen im Krankheitsverlauf. Die Zeitpunkte wurden normiert auf die höchste N-Protein Konzentration im Serum (t0, siehe Abb. 2); n = 7; Ein-Weg-ANOVA aller Zeitpunkte gegeneinander, gefolgt von Tukeys *post-hoc*-Test. Nur signifikante Unterschiede sind angezeigt. \*  $p < 0,05$ . Daten sind dargestellt als Boxplot mit Median, die Antennen markieren Minimum und Maximum, die Box wird durch das 25. und 75. Perzentil gebildet.



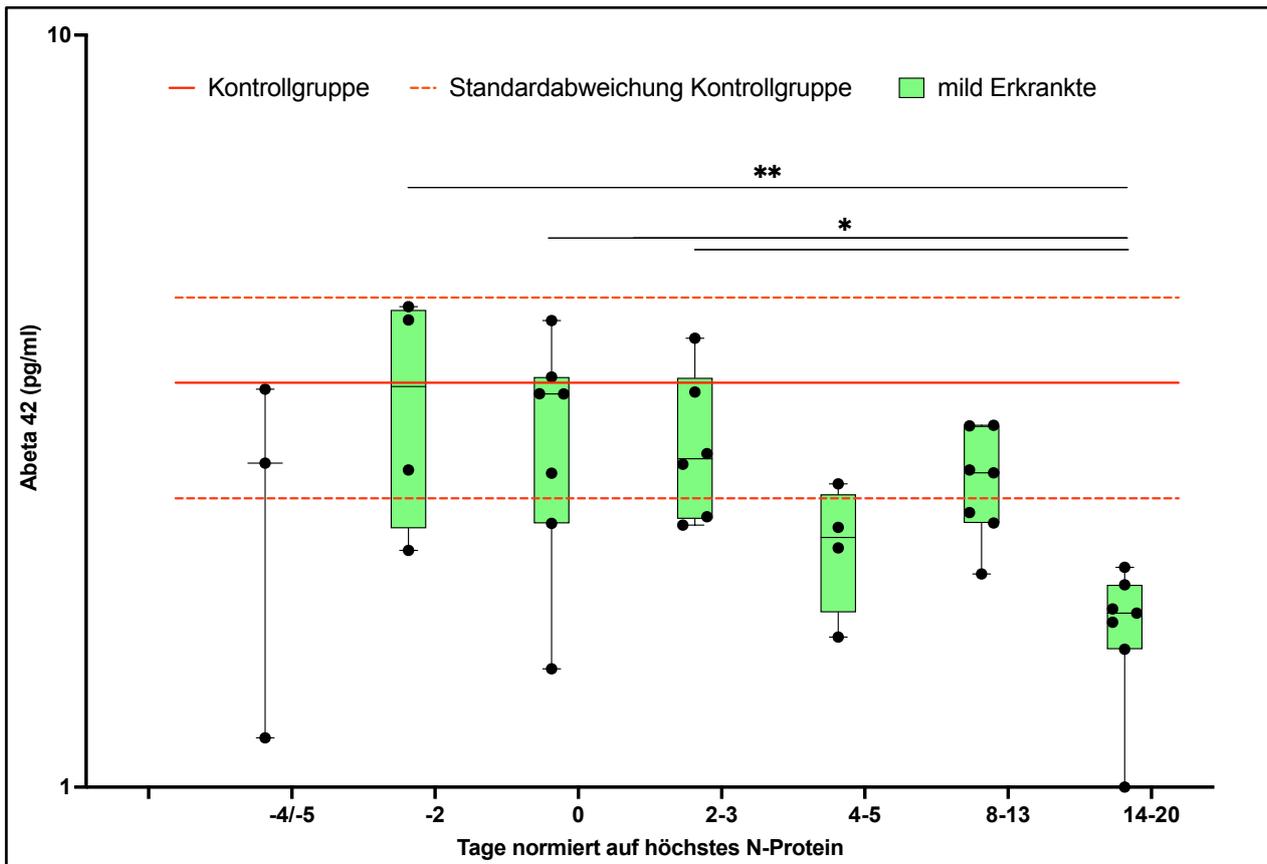
**Abb. 10:** Vergleich der Konzentrationen von Abeta40 im Serum bei gesunden Probanden mit den Konzentrationen von Abeta40 im Serum zum Zeitpunkt t0 und t 14-20 der Infektion von Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/ Geschmacksstörungen. Die Zeitpunkte wurden normiert auf die höchste N-Protein Konzentration im Serum (t0, siehe Abb. 2); Ein-Weg-ANOVA der untersuchten Zeitpunkte gegen die gesunden Kontrollen, gefolgt von Dunnetts *post-hoc*-Test. Nur signifikante Unterschiede sind angezeigt. \*\*\* $p < 0,001$ . Daten sind dargestellt als MW  $\pm$  SD.



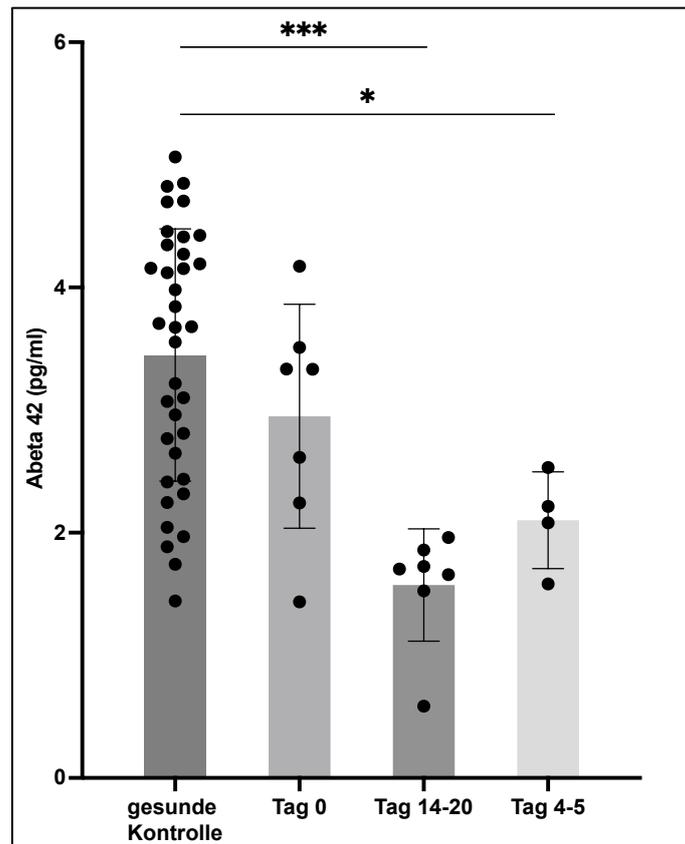
**Abb. 11:** Dotplot zur Korrelation von Abeta40 und N-Protein bei Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/ Geschmacksstörungen; Pearson Korrelation:  $r = 0,31$ ;  $R^2 = 0,097$

#### 3.1.4. Abeta42

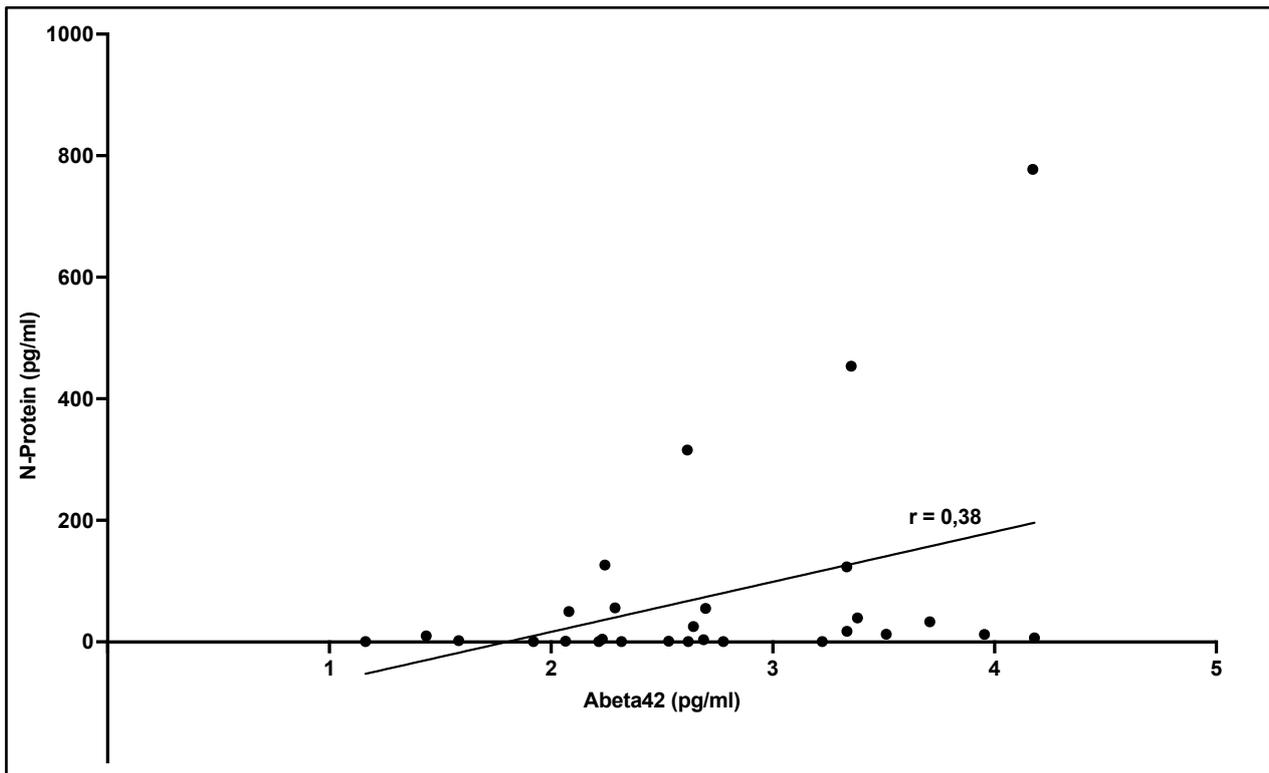
Ein ähnlicher Trend wie bei Abeta40 konnte sich in den Abeta42 Serumkonzentration der milden Kohorte zeigen. Zum Zeitpunkt t14-20 (MW  $\pm$  SD:  $1,57 \pm 0,46$  pg/ml), waren die Serumkonzentrationen von Abeta42 im Vergleich zu t -2 (MW  $\pm$  SD:  $3,31 \pm 1,13$  pg/ml); t0 (MW  $\pm$  SD:  $2,95 \pm 0,91$  pg/ml) und t 2-3 (MW  $\pm$  SD:  $2,88 \pm 0,66$  pg/ml) signifikant erniedrigt. Zu den Zeitpunkten t4-5 (MW  $\pm$  SD:  $2,1 \pm 0,39$  pg/ml) und t8-13 (MW  $\pm$  SD:  $2,54 \pm 0,41$  pg/ml) zeigte sich jedoch kein signifikanter Unterschied zur letzten Probenentnahme (Abbildung 12). Sowohl am Zeitpunkt t4-5 als auch zum Zeitpunkt t14-20 waren die Serumkonzentrationen signifikant niedriger als in der Kontrollkohorte (MW  $\pm$  SD:  $3,45 \pm 1,03$  pg/ml) (Abbildung 13). Die Serumkonzentration des N-Proteins korrelierten schwach positiv mit den Konzentrationen von Abeta42 mit einem r-Wert von 0,38 ( $p = 0,04$ ) (Abbildung 14).



**Abb. 12:** Boxplot der Entwicklung der Konzentrationen von Abeta42 im Serum von Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/Geschmacksstörungen im Krankheitsverlauf. Die Zeitpunkte wurden normiert auf die höchste N-Protein Konzentration im Serum ( $t_0$ , siehe Abb. 2);  $n = 7$ ; Ein-Weg-ANOVA aller Zeitpunkte gegeneinander, gefolgt von Tukeys *post-hoc*-Test. Nur signifikante Unterschiede sind angezeigt. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ . Daten sind dargestellt als Boxplot mit Median, die Antennen markieren Minimum und Maximum, die Box wird durch das 25. und 75. Perzentil gebildet.



**Abb. 13:** Vergleich der Konzentrationen von Abeta42 im Serum bei gesunden Probanden mit den Konzentrationen von Abeta42 im Serum zum Zeitpunkt t0, t4-5 und t 14-20 der Infektion von Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/ Geschmacksstörungen. Die Zeitpunkte wurden normiert auf die höchste N-Protein Konzentration im Serum (t0, siehe Abb. 2); Ein-Weg-ANOVA der untersuchten Zeitpunkte gegen die gesunden Kontrollen, gefolgt von Dunnetts *post-hoc*-Test. Nur signifikante Unterschiede sind angezeigt. \* $p < 0,05$ ; \*\*\* $p < 0,001$ . Daten sind dargestellt als  $MW \pm SD$ .



**Abb. 14:** Dotplot zur Korrelation von Abeta42 und N-Protein bei Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/ Geschmacksstörungen; Pearson Korrelation:  $r = 0,38$  ( $p = 0,04$ );  $R^2 = 0,15$

### 3.2 Bestimmung neuroinflammatorischer Marker im Serum von SARS-CoV-2 infizierten Patienten mit kritischem Verlauf

In der kritisch erkrankten Kohorte wurden Serumproben von Probanden auf die Konzentration neuroinflammatorischer Marker untersucht, welche aufgrund eines ARDS durch ihre SARS-CoV-2 Infektion auf der Intensivstation behandelt wurden. Insgesamt wurden von 40 verschiedenen Probanden Serumproben gesammelt (33 männlich/ 7 weiblich). Von den zur Verfügung stehenden Proben konnten die von insgesamt 39 Probanden ausgewertet werden (32 männlich/ 7 weiblich) (Tabelle 2). Wenige einzelne Probenzeitpunkte der in die Studie eingeschlossenen Probanden konnten auf Grund von Fehlermeldungen des Analysegerätes nicht berücksichtigt werden. Der Altersdurchschnitt der kritischen Kohorte lag bei 58 Jahren. Für die Kontrollgruppe wurden 11 Probanden untersucht (6 männlich/ 5 weiblich). Der Altersdurchschnitt lag bei 62 Jahren.

Der Tag der Aufnahme auf die Intensivstation wurde als d0 definiert. Die restlichen Proben

wurden gemäß ihres Abnahmezeitpunktes in die Gruppen d1; d3; d5; d6-7; d8-9; d14-15 und d21-28 eingeteilt. Um die Entwicklung der Konzentrationen der untersuchten Parameter Nf-light, GFAP, Abeta40 und Abeta42 im Serum der aufgrund eines ARDS bei COVID-19 auf der Intensivstation behandelten Patienten statistisch zu untersuchen, wurde der Kruskal-Wallis-Test aller gemessener Zeitpunkte gegeneinander, gefolgt von Dunns *post-hoc*-Test durchgeführt. Um einen Unterschied der Konzentrationen im Serum der auf der Intensivstation behandelten Patienten gegenüber der gesunden Vergleichskohorte zu bestimmen, wurde der Kruskal-Wallis-Test aller Zeitpunkte gegen die gesunde Kontrollkohorte, ebenfalls gefolgt von Dunns *post-hoc*-Test durchgeführt.

**Tab. 2:** Patientendaten der kritisch an COVID-19 erkrankten Kohorte

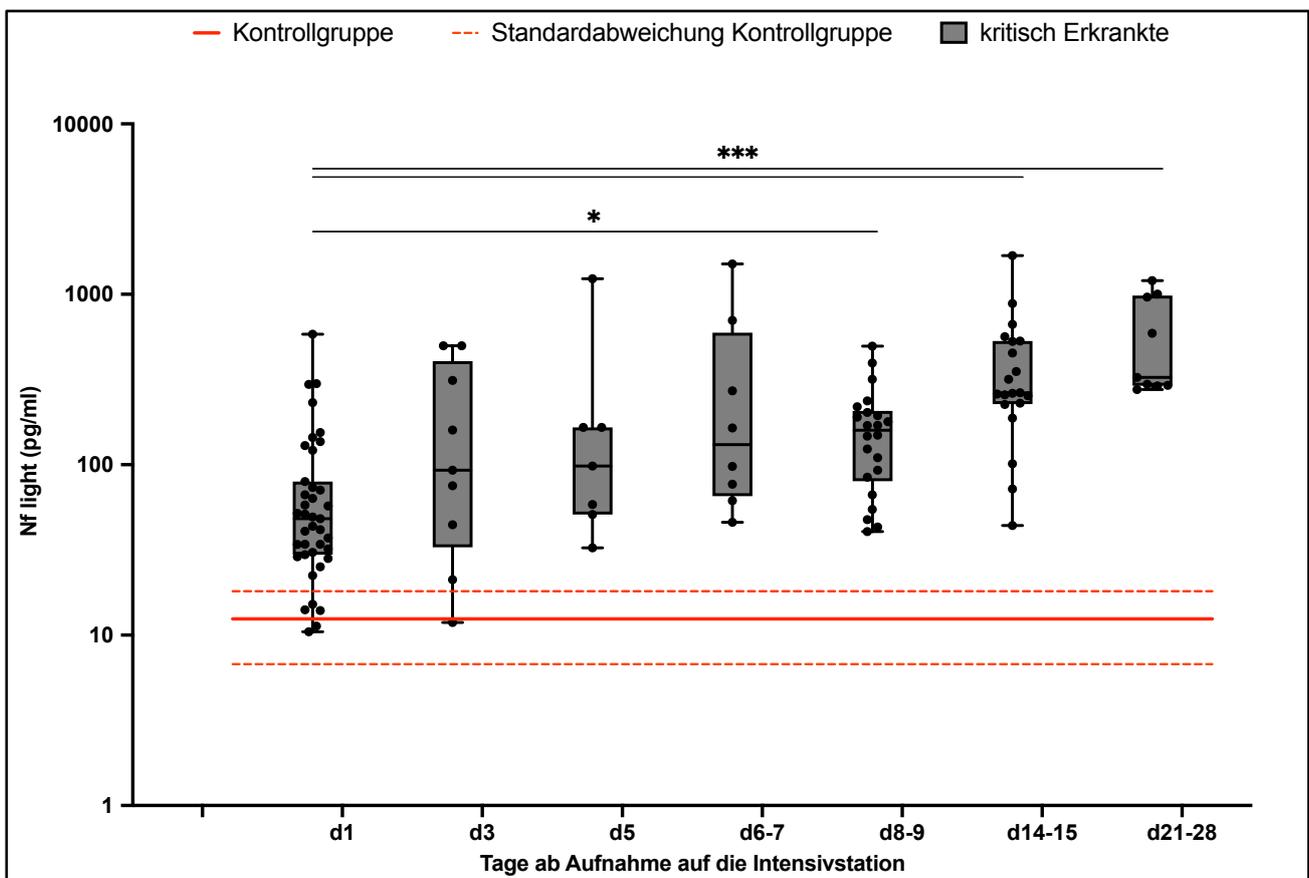
	Gesamt (n)	Männlich (n)	Weiblich (n)
Probanden (kritisch erkrankt)	39	32	7
- ECMO	32	26	6
- (erworbene) Gerinnungsstörung	19	14	5
- Vorerkrankung Hypertonie	17	15	2
- Vorerkrankung COPD/Asthma	8	6	2
- Antivirale Therapie	11	9	2

### 3.2.1 Nf-light

Während der Behandlung der kritisch an SARS-CoV-2 erkrankten Probanden auf der Intensivstation konnte eine kontinuierliche Zunahme der Serumkonzentrationen von Nf-light detektiert werden. Während die Serumkonzentration von Nf-light zu Beginn der Behandlung auf der Intensivstation an d3, d5 und d6-7 gegenüber denen vom Aufnahmetag d1 (MW  $\pm$  SEM: 84,42  $\pm$  17,34 pg/ml) noch keinen signifikanten Unterschied zeigten, waren die Nf-light Konzentrationen an d8-9 (MW  $\pm$  SEM: 169,5  $\pm$  24,6 pg/ml), d 14-15 (MW  $\pm$  SEM: 407,0  $\pm$  82,0 pg/ml) und d21-28 (MW  $\pm$  SEM: 582,1  $\pm$  124,6 pg/ml) gegenüber denen von d1 signifikant erhöht.

Zu jedem Zeitpunkt auf der Intensivstation waren die Werte der betroffenen Probanden gegenüber der Kontrollkohorte (MW  $\pm$  SEM: 12,44  $\pm$  1,14 pg/ml) signifikant erhöht (Kruskal-Wallis-Test aller Zeitpunkte gegen gesunde Kontrollen, gefolgt von Dunns *post-hoc*-Test,  $p_{(\text{alle Zeitpunkte/Kontrollgruppe})} < 0,01$ ).

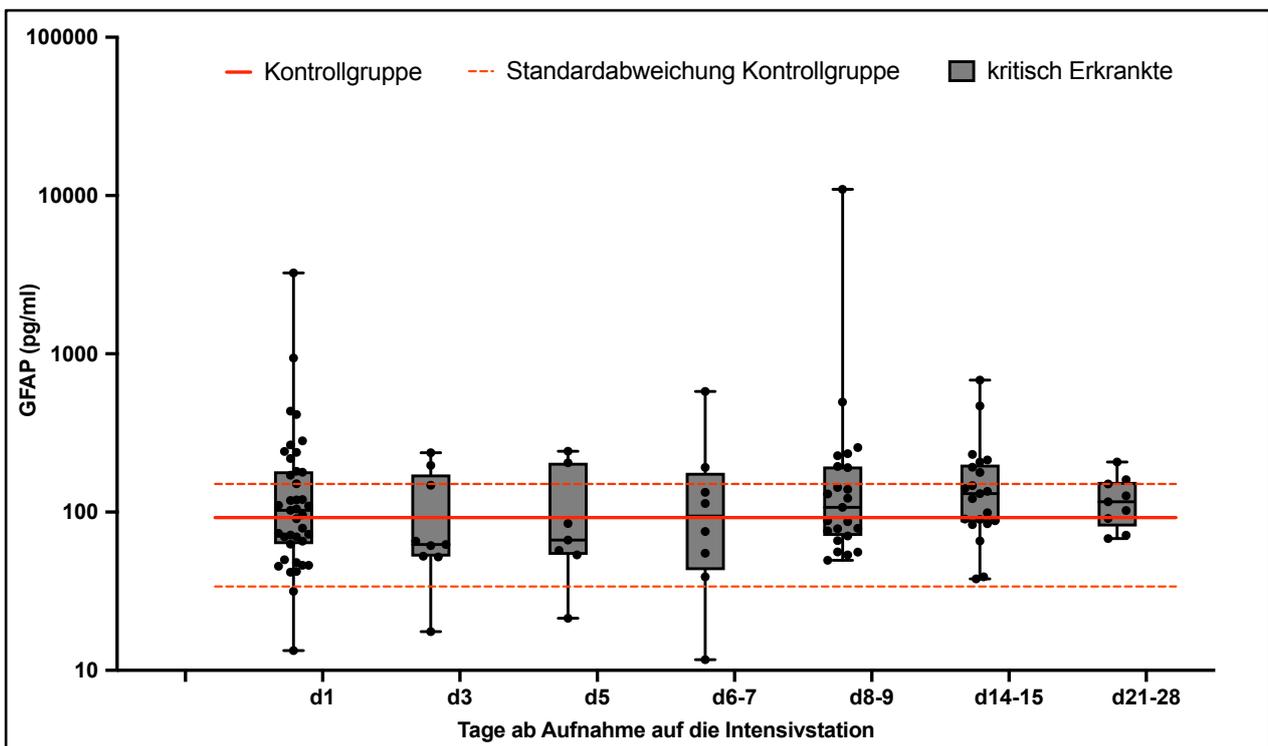
Es konnte also eine starke Erhöhung der Nf-light Konzentrationen aller Intensivpatienten im Vergleich zur Kontrollkohorte erkannt werden. Zudem konnte beobachtet werden, dass die Konzentrationen von Nf-light über den Zeitraum der Hospitalisierung kontinuierlich zunahmen (Abbildung 15).



**Abb. 15:** Boxplot der Entwicklung der Serumkonzentrationen von Nf-light bei Patienten mit ARDS auf Grund von SARS-CoV-2 auf der Intensivstation; n = 39; Kruskal-Wallis-Test aller Zeitpunkte gegeneinander, gefolgt von Dunns *post-hoc*-Test. Nur signifikante Unterschiede sind angezeigt. \* $p < 0,05$ ; \*\*\* $p < 0,001$ . Daten sind dargestellt als Boxplot mit Median, die Antennen markieren Minimum und Maximum, die Box wird durch das 25. und 75. Perzentil gebildet.

### 3.2.2 GFAP

Im Gegensatz zu Nf-light konnte bei der Untersuchung von GFAP keine Dynamik der Serumspiegel über die Dauer des Aufenthaltes auf der Intensivstation detektiert werden. So ist selbst zwischen dem Tag der Aufnahme auf der Intensivstation d1 (MW und SEM:  $227,1 \pm 83,47$  pg/ml) und dem Zeitpunkt der letzten Probenentnahme d21-28 (MW und SEM:  $121,5 \pm 15,09$  pg/ml) kein signifikanter Unterschied zu bemerken. Ebenso konnte zu keinem der untersuchten Zeitpunkte ein signifikanter Unterschied der Konzentrationen von GFAP im Patientenserum gegenüber der Kontrollkohorte (MW  $\pm$  SEM:  $92,22 \pm 11,67$  pg/ml) festgestellt werden (Kruskal-Wallis-Test aller Zeitpunkte gegen gesunde Kontrollen, gefolgt von Dunns *post-hoc*-Test) (Abbildung 16). Die Konzentration von GFAP scheint sich also selbst bei kritischem Verlauf der COVID-19 Erkrankung mit Behandlung auf der Intensivstation, auch bei längerem Aufenthalt auf dieser nicht zu verändern.



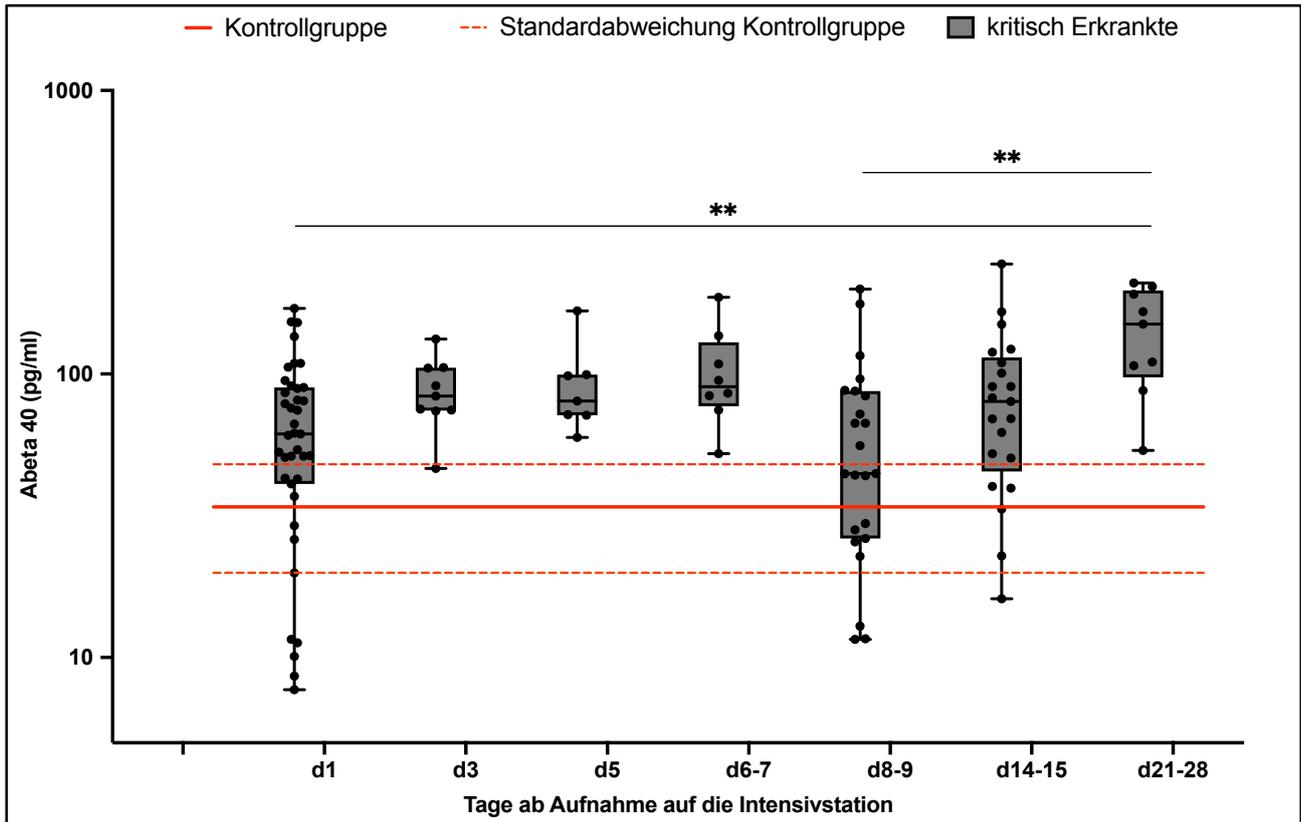
**Abb. 16:** Boxplot der Entwicklung der Serumkonzentrationen von GFAP bei Patienten mit ARDS auf Grund von SARS-CoV-2 auf der Intensivstation; n = 39; Kruskal-Wallis-Test aller Zeitpunkte gegeneinander, gefolgt von Dunns *post-hoc*-Test. Keine signifikanten Unterschiede. Daten sind dargestellt als Boxplot mit Median, die Antennen markieren Minimum und Maximum, die Box wird durch das 25. und 75. Perzentil gebildet.

### 3.2.3. Abeta40

Bei den Serumkonzentrationen von Abeta40 im Patientenserum der kritisch an SARS-CoV-2 erkrankten Probanden lässt sich ein genereller positiver Trend der Mittelwerte im zeitlichen Verlauf verzeichnen. Gegenüber den Konzentrationen von Abeta40 am ersten Tag auf der Intensivstation (MW  $\pm$  SEM: 67,3  $\pm$  6,6 pg/ml) waren die Serumkonzentrationen an d21-28 (MW  $\pm$  SEM: 142,0  $\pm$  18,4 pg/ml) auch signifikant erhöht.

An d8-9 (MW  $\pm$  SEM: 63,20  $\pm$  10,24 pg/ml) sanken die Serumkonzentrationen von Abeta40 aber plötzlich recht stark ab, sodass der Mittelwert der Konzentration an d8-9 sogar knapp unter dem von d1 lag. Allerdings war dieser Abfall gegenüber keinem der vorherigen Zeitpunkte signifikant. Dieses plötzliche Absinken der Konzentrationen an d8-9 relativierte sich dann aber schnell wieder, sodass an d21-28 die höchsten Konzentrationen im Serum gemessen wurden (MW  $\pm$  SEM: 142,0  $\pm$  18,39 pg/ml) und diese signifikant höher waren als die Konzentrationen an d8-9 (Abbildung 17).

Somit konnte gezeigt werden, dass Abeta40, ähnlich wie Nf-light, ein Parameter ist, welcher im Laufe der Intensivbehandlung ansteigt. Auch waren zu allen Zeitpunkten bis auf d8-9 die Serumkonzentrationen von Abeta40 der untersuchten Probanden signifikant höher als die der Kontrollkohorte (MW  $\pm$  SEM: 33,97  $\pm$  2,7 pg/ml) (Kruskal-Wallis-Test aller Zeitpunkte gegen gesunde Kontrollen, gefolgt von Dunns *post-hoc*-Test,  $p$  (alle Zeitpunkte/Kontrollgruppe)  $\leq 0,01$ ).

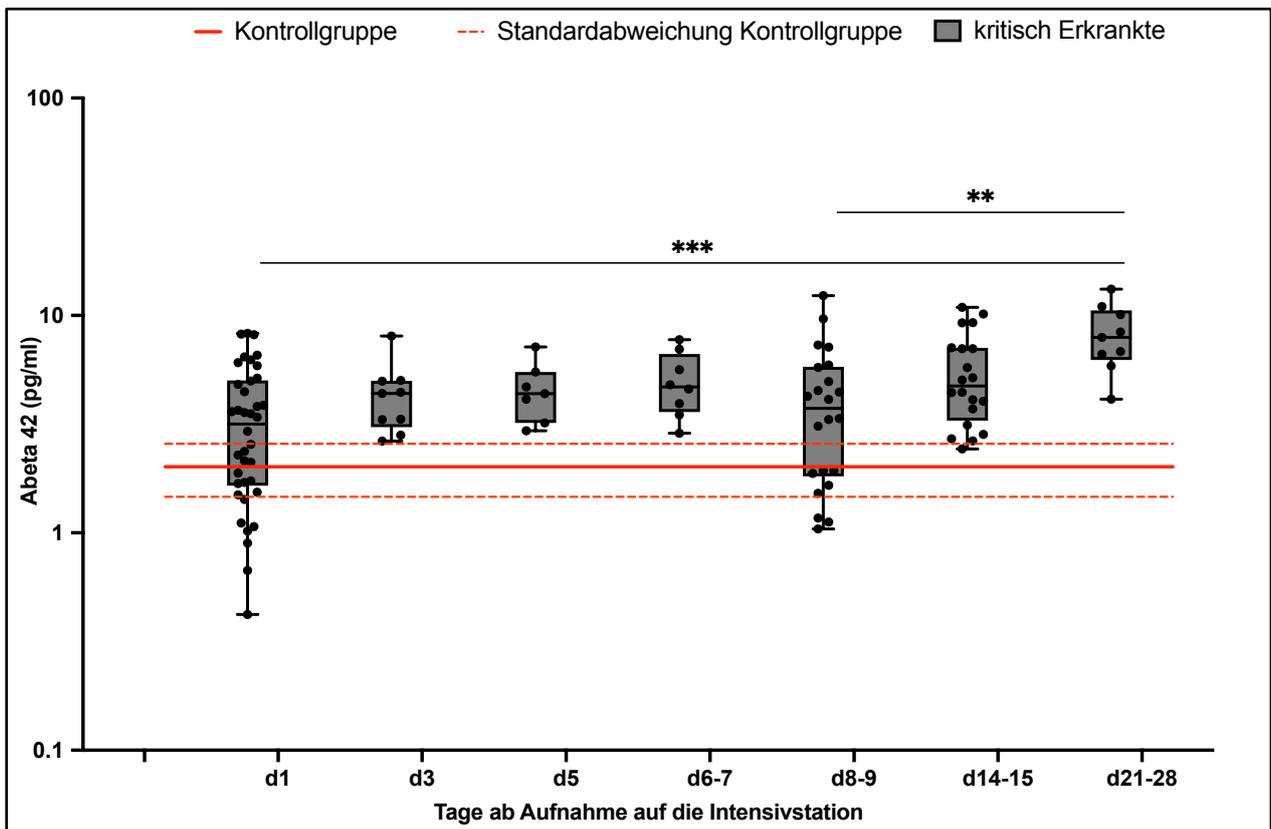


**Abb. 17:** Boxplot der Entwicklung der Serumkonzentrationen von Abeta40 bei Patienten mit ARDS auf Grund von SARS-CoV-2 auf der Intensivstation; n = 39; Kruskal-Wallis-Test aller Zeitpunkte gegeneinander, gefolgt von Dunns *post-hoc*-Test. Nur signifikante Unterschiede sind angezeigt. \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ . Daten sind dargestellt als Boxplot mit Median, die Antennen markieren Minimum und Maximum, die Box wird durch das 25. und 75. Perzentil gebildet.

### 3.2.4 Abeta42

Ein ähnlicher Trend wie bei Abeta40 konnte auch bei Abeta42 gezeigt werden. Im Laufe der Behandlung auf der Intensivstation stiegen die Konzentrationen von Abeta42 an. Aber auch hier konnte ein temporärer Abfall der Serumspiegel zum Zeitpunkt d8-9 (MW  $\pm$  SEM: 4,201  $\pm$  0,626 pg/ml) im Vergleich zum vorherigen Zeitpunkt d6 (MW  $\pm$  SEM: 5,005  $\pm$  0,5975 pg/ml) bemerkt werden, welcher allerdings ebenfalls nicht signifikant war. Die gemessenen Konzentrationen waren zu jedem Zeitpunkt bis auf d1 signifikant höher als die der gesunden Vergleichskohorte (Kruskal-Wallis-Test aller Zeitpunkte gegen gesunde Kontrollen, gefolgt von Dunns *post-hoc*-Test,  $p$  (alle Zeitpunkte/Kontrollgruppe)  $\leq 0,01$ ).

Zudem waren die gemessenen Serumspiegel von Abeta42 an d21-28 (MW  $\pm$  SEM: 8,229  $\pm$  0,9365 pg/ml) gegenüber den Zeitpunkten d1 (MW  $\pm$  SEM: 3,468  $\pm$  0,3644 pg/ml) sowie d8 signifikant erhöht (Abbildung 18).



**Abb. 18:** Boxplot der Entwicklung der Serumkonzentrationen von Abeta42 bei Patienten mit ARDS auf Grund von SARS-CoV-2 auf der Intensivstation; n = 39; Kruskal-Wallis-Test aller Zeitpunkte gegeneinander, gefolgt von Dunns *post-hoc*-Test. Nur signifikante Unterschiede sind angezeigt. \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ . Daten sind dargestellt als Boxplot mit Median, die Antennen markieren Minium und Maximum, die Box wird durch das 25. und 75. Perzentil gebildet.

## 4. Diskussion

In der hier vorliegenden Studie wurde der Zusammenhang von neurologischen Ausfällen wie Geruchs- und Geschmacksstörungen und dem Vorhandensein von neurodegenerativen Markern im Serum von mild an SARS-CoV-2 infizierten Patienten untersucht. Zudem wurden dieselben Marker im Serum von Probanden bestimmt, welche auf Grund der Schwere ihrer Erkrankung an SARS-CoV-2 intensivmedizinisch behandelt wurden. Ein Zusammenhang der Schwere der Infektion und eines vorliegenden Neuronenschadens sollte somit untersucht werden.

### 4.1 Nf-light

Nf-light ist ein Intermediärfilament, welches an der Struktur von Neuronen beteiligt ist und somit ubiquitär in Neuronen vorkommt. Erhöhte Serumspiegel von Neurofilamenten sind stark assoziiert mit erhöhten Spiegeln im Liquor und korrelieren mit neuronalem Schaden (Brureau, et al. 2017).

In der mild an SARS-CoV-2 erkrankten Kohorte konnte zu keinem Zeitpunkt eine Erhöhung von Nf-light im Serum nachgewiesen werden. Dies ist ein Zeichen dafür, dass bei mild erkrankten Patienten kein Neuronenschaden entsteht oder zumindest, dass bei einem potenziellen Schaden der Neuronen deren Intermediärfilamente nicht ins Serum abgegeben werden. Zur Eruiierung dieser Frage müssten weitere Studien folgen, bei welcher auch der Liquor der betroffenen Patienten untersucht wird. Alle untersuchten Patienten litten unter neuronalen Ausfällen wie Geruchs- und Geschmacksstörungen. Eine andere Studie konnte zeigen, dass bei Patienten, welche an COVID-19 erkrankten und innerhalb von 40 Tagen neu auftretende neuronale Symptome entwickelten, Nf-light sowohl im Liquor als auch im Serum signifikant erhöht war (Ziff, et al. 2022). Allerdings erstreckten sich hier die neurologischen Symptome über das Guillain–Barre Syndrome, Enzephalitiden, die akute disseminierte Enzephalomyelitis, intrakranielle Hypertension, und das zentrale Schmerzsyndrom. Auch eine weitere Studie konnte eine Erhöhung der Serumspiegel von Nf-light von COVID-19 Patienten zeigen (Frontera, et al. 2022). Allerdings wurden dort im Gegensatz zu der hier vorliegenden Studie hospitalisierte Patienten mit einer

gesunden Kohorte verglichen und keine Probanden, welche ihre Erkrankung zu Hause auskurierten.

In der hier vorliegenden Arbeit konnte also gezeigt werden, dass bei Patienten, welche einen milden Verlauf der SARS-CoV-2 Infektion hatten und die Krankheit im häuslichen Umfeld kurieren konnten, keine Hinweise auf einen Neuronenschaden im Serum vorliegen. Offen bleibt jedoch, warum es trotzdem zu den neuronalen Ausfallerscheinungen wie Geruchs- und Geschmacksstörungen auch bei mild erkrankten COVID-19 Patienten kommt. Eine Hypothese wäre, dass der Geruchs- bzw. Geschmacksverlust nicht durch den Untergang von Neuronen, sondern durch eine vorübergehende Funktionseinschränkung begründet ist. Diese könnte zu einer geringeren Sensitivität dieser Sinneszellen führen, deren Ursache und biochemischer Nachweis noch geklärt werden muss.

Erstaunlich ist der Abfall der Konzentrationen von Nf-light im Serum nach Zeitpunkt t4-5, auch wenn dieser nicht signifikant ist. Von insgesamt 14 Proben der Zeitpunkte t14-20 und t8-13 wurden jedoch zwölf auf der gleichen Platte gemessen, während alle anderen Zeitpunkte auf anderen Platten gemessen wurden. Daher wäre dieser Abfall auch durch einen Batch-Effekt erklärbar. Aufgrund von finanziellen Einschränkungen konnten die Messungen nicht in anderen Aufteilungen wiederholt werden.

Ganz anders stellen sich die Ergebnisse der auf der Intensivstation behandelten Kohorte dar. Analog zu den eben erwähnten Studien, konnte auch in dieser Studie eine signifikante Elevation der Neurofilamente im Serum gegenüber gesunden Patienten zu jedem Zeitpunkt auf der Intensivstation nachgewiesen werden. Zudem steigen die Parameter signifikant im Laufe der Intensivbehandlung an. Fraglich ist nur, inwiefern die ansteigenden Konzentrationen von Nf-light im Serum allein auf den kritischen Verlauf mit SARS-CoV-2 zurückzuführen ist. In einer Untersuchung von Intensivpatienten mit und ohne ZNS-Beteiligung konnte gezeigt werden, dass Patienten, welche auf der Intensivstation behandelt werden, generell einen erhöhten Nf-light Spiegel im Serum haben (Fisse, et al. 2021). Sowohl intensivmedizinisch betreute Patienten mit einem diagnostizierten neuronalen Schaden wie Hirntod, Enzephalopathie und Hirninfarkt hatten signifikant erhöhte Serumspiegel von Nf-light gegenüber gesunden Probanden, als auch intensivmedizinisch betreute Patienten ohne diagnostizierten Hirnschaden. Zwischen diesen beiden Gruppen gab es jedoch auch einen signifikanten Unterschied. So lag in besagter Studie der Median der Nf-light Konzentration im Serum bei den Patienten mit ZNS-Beteiligung (n = 18) am

Tag der Aufnahme bei 528 pg/ml während der Median der Patienten ohne diagnostizierte ZNS-Beteiligung (n = 4) am Tag der Aufnahme bei 83 pg/ml lag. Die Messwerte dieser Studie wurden ebenfalls mit einem Simoa<sup>®</sup> Assay bestimmt. Der Altersdurchschnitt dort lag bei 65 ± 12 Jahren und ist somit ähnlich zu dem in der hier vorliegenden Studie.

In der hier untersuchten Kohorte liegt der Median der Nf-light Konzentrationen im Serum am Tag der Aufnahme auf der Intensivstation bei 48,3 pg/ml, während der Median der untersuchten gesunden Kontrollgruppe bei 10,7 pg/ml liegt.

Wie in der zitierten Studie gezeigt, führt also allein die Schwere einer Erkrankung, welche intensivbehandlungspflichtig ist, zu einem Anstieg der Neurofilamente im Blutserum. Der in der hier vorliegenden Studie gemessene Median der Nf-light Konzentrationen im Serum am Tag der Aufnahme von 48,3 pg/ml bei intensivpflichtigen COVID-19 Patienten liegt aber sogar unter dem Niveau von 83 pg/ml, wie von Fisse et al. (2020) bei intensivmedizinisch behandelten Probanden ohne diagnostizierte ZNS-Beteiligung gemessen wurde. Ein signifikanter Unterschied liegt allerdings im Vergleich mit den Rohdaten von Fisse et al. nicht vor (Mann-Whitney-Test,  $p = 0,76$ ). Dies könnte ein Indiz dafür sein, dass der vorliegende Neuronenschaden bei COVID-19 Patienten auf der Intensivstation alleine durch die Schwere der Erkrankung, welche eine Intensivbehandlung nötig macht, entsteht, und die COVID-19 Infektion keinen zusätzlichen Schaden im Vergleich zu anderen ebenfalls intensivbehandlungsbedürftigen Krankheiten bewirkt. Im Vergleich zu den von Fisse et al. untersuchten Patienten auf Intensivstation mit ZNS-Beteiligung haben die hier untersuchten COVID-19 Patienten jedoch signifikant erniedrigte Nf-light Serumwerte am Tag der Aufnahme (Mann-Whitney-Test,  $p < 0,001$ ). Der neurologische Schaden bei auf Intensivstation behandelten COVID-19 Patienten scheint also nicht vergleichbar hoch mit dem Schaden zu sein, welcher durch Hirntod, Enzephalopathie und Hirninfarkt ausgelöst wird.

Einschränkend ist aber zu sagen, dass die hier gezogenen Vergleiche mit der Studie von Fisse et al. störanfällig sind. Zum einen liegen keine weiteren Patientendaten zu den von Fisse et al. analysierten Proben vor, sodass mögliche Confounder nicht ausgeschlossen werden können. Zum anderen ist die Größe der Stichproben sehr unterschiedlich (Fisse et al. – Patienten mit ZNS-Beteiligung: n = 4/ Fisse et al. – Patienten ohne ZNS-Beteiligung: n = 18/ intensivpflichtige Patienten dieser Studie: n = 39).

## 4.2 GFAP

GFAP, als Intermediärfilament von Astrozyten, ist ein Marker für Astrozytenschaden. Die Höhe von GFAP im Serum korreliert dabei mit dem Ausmaß des Schadens (Kleine 2019). Da Astrozyten eine wichtige Rolle in der Aufrechterhaltung der Funktion von Neuronen spielen, ist der Untergang dieser Zellen mit neuronalen Pathologien und Ausfällen assoziiert (Siracusa, et al. 2019). Eine Erhöhung dieser Parameter im Patientenblut könnte also auch eine Erklärung für neuronale Ausfälle wie den Geruchs- und Geschmacksverlust bei Patienten mit SARS-CoV-2 liefern.

In der untersuchten Kohorte der mild erkrankten COVID-19 Patienten konnte jedoch zu keinem Zeitpunkt der Untersuchung eine signifikante Veränderung der Parameter ermittelt werden. Weder im Vergleich zur gesunden Kohorte noch innerhalb der erkrankten Kohorte an unterschiedlichen Zeitpunkten konnte ein Anstieg oder Abfall von GFAP im Serum gemessen werden.

In einer 2022 veröffentlichten Studie konnte bei SARS-CoV-2 Patienten mit neurologischen Ausfällen ein Abfall der GFAP-Konzentration im Serum im Vergleich zur gesunden Kontrollkohorte gemessen werden (Ziff, et al. 2022). Dieser Abfall war allerdings nur in der Liquoruntersuchung signifikant, während im Serum nur ein insignifikanter, negativer Trend beobachtet wurde. Dieser Trend bestätigte sich in der hier vorliegenden Studie ebenfalls bei der mild erkrankten Kohorte, jedoch auch ohne statistische Signifikanz.

Im Gegensatz dazu konnten Frontera, et al. (2022) eine signifikante Erhöhung von GFAP im Serum bei hospitalisierten SARS-CoV-2 Patienten beobachten. Da es sich dort allerdings um hospitalisierte Patienten handelte ist ein Vergleich nur bedingt möglich.

Ein ähnlicher Trend von signifikant gesteigerten GFAP-Konzentrationen im Serum in Verbindung mit einer SARS-COV-2 Infektion konnte in einer weiteren Studie bei hospitalisierten Patienten nachgewiesen werden. Die dort analysierte Patientengruppe mit mildem Verlauf, welche nicht hospitalisiert war, hatte jedoch, wie auch in der hier vorliegenden Studie gezeigt, keine erhöhten Serumkonzentrationen (Kanberg, et al. 2020). Auch konnte dort keine Veränderung der Parameter im zeitlichen Verlauf der Untersuchung festgestellt werden. In der dort untersuchten kritischen Kohorte, welche ebenfalls wie in der hier vorliegenden Studie aus Patienten, welche auf der Intensivstation behandelt wurden, bestand, konnte eine signifikante Erhöhung von GFAP im Serum nachgewiesen

werden. Diesen Ergebnissen widersprechen die hier analysierten Serumwerte. Bei den hier untersuchten kritisch kranken Patienten konnte ebenso wie bei den mild Erkrankten keine Veränderung der GFAP-Konzentrationen gemessen werden. Die analysierten Proben waren zu keinem Zeitpunkt gegenüber der Kontrollkohorte oder im zeitlichen Verlauf untereinander verändert.

Da die Literatur hier zu verschiedenen Ergebnissen kommt, die zwischen Erhöhung und Erniedrigung von GFAP im Serum schwankt, und alle 3 zitierten Studien vergleichbar Assays von Simoa<sup>®</sup> verwendeten sind weitere Studien nötig, um eine definitive Aussage zu ermöglichen.

### 4.3 Abeta40

Die Proteine der Abeta Familie gehören zu den besterforschten Proteinen im Bezug auf die Alzheimerdemenz. So werden Ablagerungen von Plaques aus Abeta im Gehirn für die Entstehung von Alzheimer verantwortlich gemacht. Hier liegen insbesondere Forschungsergebnisse, die sich mit der Analyse von Liquor befassen, in umfangreichem Maße vor. Somit gilt es als allgemeiner Konsens, dass eine Erniedrigung von Abeta42 im Liquor, eine Ablagerung von Abeta42 in Form von Plaques zeigt. Zudem konnte gezeigt werden, dass Abeta40 und Abeta42 gegensätzliche Wirkungen haben. Während Abeta42 die Ablagerung von Plaques fördert, kann Abeta40 diesen Prozess hemmen (Kim, et al. 2007). Generell ist zu sagen, dass bisher mehr Forschungsergebnisse zu Abeta42 als zu Abeta40 veröffentlicht wurden. Vor allem Daten über die Konzentrationen von Abeta40 im Serum und deren Aussagekraft sind rar. Neuere Daten konnten jedoch die Evidenz eines Bluttests zeigen, welcher Alzheimer diagnostizieren kann. Dabei wird jedoch das Verhältnis von Abeta42 zu Abeta40 bestimmt. Je kleiner dieses Verhältnis ist, desto höher die Wahrscheinlichkeit für Plaquesablagerungen im Gehirn (Schindler, et al. 2019). Eine andere Studie, welche sich mit den Spiegeln von Abeta im Serum bei Krebspatienten und Alzheimer Patienten beschäftigte, konnte signifikant erhöhte Serumspiegel in beiden Krankheitsbildern finden (Jin, et al. 2016). Außerdem konnte im Mausmodell gezeigt werden, dass eine Erhöhung von Abeta im Plasma mit der Amyloidbelastung im Hippocampus korreliert (Demattos, et al. 2002).

Eine finale Aussage, was eine Veränderung der Abeta40 Konzentrationen im Serum konkret bedeutet, ist nach der aktuellen Datenlage also schwer zu treffen. Eine Erhöhung von Abeta im Serum scheint jedoch vor allem in der Alzheimer Erkrankung eine Rolle spielen, und ist somit auch als ein Zeichen von neuronalen Pathologien zu werten. Somit ist Abeta als Marker für pathologische Prozesse im Nervensystem auch bei neurologischen Symptomen im Rahmen einer COVID-19 Infektion von Interesse.

In der hier vorliegenden Studie konnte bei der mild an SARS-CoV-2 erkrankten Kohorte zu keinem Zeitpunkt der Untersuchung eine Erhöhung von Abeta40 im Serum im Vergleich zur gesunden Kontrolle detektiert werden. Die gegenteilige Entwicklung, der signifikante Abfall des Parameters zum letzten Abnahmezeitpunkt, im Vergleich zur Kontrolle konnte gezeigt werden. Auch konnte der zunehmende Abfall des Parameters im Verlauf der Genesung der Erkrankung beobachtet werden. So waren am Tag der letzten Probe die Abeta40 Spiegel im Serum am niedrigsten. Im Vergleich zu d -2 und d0 war dieser Abfall auch signifikant. Dennoch muss auch hier wieder ein möglicher Batch-Effekt beachtet werden, da die Konzentrationen von Abeta40 aller Proben der letzten beiden Abnahmezeitpunkte, bis auf zwei, mit der gleichen Platte bestimmt wurden.

Diese Ergebnisse zeigen also eine gegensätzliche Entwicklung des Laborparameters Abeta40 als es bei der Alzheimer Demenz der Fall ist. Was dieser Abfall nun konkret bedeutet und ob daraus Effekte entstehen, muss in Folgestudien eruiert werden.

Das bei mild erkrankten Patienten kein Anstieg von Abeta40 im Serum zu beobachten ist, passt also auch zu den Ergebnissen aus der Analyse von Nf-light. Ein starker Neuronenschaden, welcher durch die hier analysierten Blutparameter quantifiziert werden kann, scheint bei mild Erkrankten trotz neuronaler Ausfälle wie Geruchs- und Geschmacksverlust nicht vorzuliegen. Diese Beobachtung schließt jedoch keineswegs einen tatsächlichen Neuronenschaden aus, welcher sich jedoch nicht durch Blutparameter als Korrelat im Serum niederschlägt. Zudem sollten auch noch andere neurodegenerative Marker untersucht werden, welche potenziell schon früher im Serum nachweisbar sind.

In der kritisch erkrankten Kohorte konnten jedoch signifikant steigende Abeta40 Werte im Serum gemessen werden. So waren einerseits die Serumspiegel zu jedem Zeitpunkt außer zum Zeitpunkt d 8-9 der Studie gegenüber der gesunden Kontrolle erhöht, andererseits konnte auch im Laufe des Aufenthaltes auf der Intensivstation ein positiver Trend des Parameters bemerkt werden, welcher am letzten Tag der Blutabnahme signifikant

war. Diese Beobachtung ist also ein weiteres starkes Anzeichen, dass sich bei kritisch erkrankten COVID-19 Patienten ein Neuronenschaden manifestiert. In der Studie von Jin et al. (2016) wurde bei den untersuchten Alzheimer Patienten ein Mittelwert von  $100,42 \pm 99,62$  pg/ml Abeta40 im Serum bestimmt. An d21-28 betrug der Mittelwert in der hier gemessenen kritischen Kohorte  $142 \pm 55,17$  pg/ml Abeta40 im Serum. Nach einem langen Intensivaufenthalt auf Grund von COVID-19 lassen sich also sogar höhere Spiegel von Abeta40 im Serum als bei Patienten mit Alzheimer nachweisen.

Die hohen Konzentrationen von Abeta40 im Serum sind also vermutlich Ausdruck neurologischer Pathologien, und ähneln zumindest in diesem Parameter der Alzheimer Erkrankung. Interessant wäre es, in Langzeitstudien den neurologischen Status der Überlebenden der kritischen Kohorte zu analysieren, und eine mögliche frühzeitige Entwicklung von Alzheimer Demenz zu untersuchen. So konnte in ersten Studien schon gezeigt werden, dass ältere Patienten über 65 Jahre, welche sich mit COVID-19 infizieren innerhalb von 360 Tagen nach der Diagnose der Infektion mit SARS-CoV-2 COVID ein signifikant erhöhtes Risiko haben, eine Alzheimerdiagnose gestellt zu bekommen (Wang et al. 2022). Außerdem wäre eine histopathologische Untersuchung von Hirnschnitten verstorbener COVID-19 Patienten zur möglichen Detektion von Beta-Amyloid-Plaques interessant.

#### 4.4. Abeta42

Der Einfluss von Abeta42 bei der Alzheimer Erkrankung ist gut erforscht. So ist ein Abfall der Konzentration von Abeta42 im Liquor ein Zeichen der Bildung von Beta-Amyloid-Plaques. Hohe Werte von Abeta42 im Blut erhöhen die Wahrscheinlichkeit an einer Alzheimer Demenz zu erkranken. So konnte in einer Studie gezeigt werden, dass bei gesunden Patienten, ohne dementielle Vorerkrankungen, hohe Abeta42 Plasmaspiegel das Risiko zur Entwicklung einer Alzheimer Demenz mehr als verdoppelten (Schupf, et al. 2007). Und auch in der schon zitierten Studie von Jin et al. (2016) konnten signifikant erhöhte Serumspiegel von Abeta42 im Serum von Alzheimer- und Krebspatienten nachgewiesen werden.

Ein erhöhter Abeta42 Wert im Serum ist also beispielsweise mit der Alzheimer Erkrankung assoziiert und somit Zeichen von neurologischem Schaden.

Interessanterweise konnte gezeigt werden, dass Abeta42 die Bindung von SARS-CoV-2 an seinen Rezeptor, das Angiotensin-konvertierendes Enzym 2 (ACE2) verstärkt. Somit wird der Eintritt des Virus in die befallene Zelle erleichtert (Hsu, et al. 2021). Dadurch entsteht die Annahme, dass eine durch Abeta42 induzierte Verstärkung der Bindung des Virus an die Zielzelle, den Verlauf der SARS-CoV-2 Infektion verschlimmert. In der mild an COVID-19 erkrankten Kohorte zeigte sich eine ähnliche Entwicklung von Abeta42 im Serum wie bei Abeta40.

Im Laufe der Genesung sanken die Konzentrationen von Abeta42 im Serum stetig und erreichten ein Minimum zum Zeitpunkt der letzten Probenentnahme. Zudem sanken die Serumspiegel von Abeta42 signifikant unter das Niveau der gesunden Kontrollen ab. Auch dieser Parameter lässt also keinen Schluss auf einen im Blut nachweisbaren Neuronenschaden bei mild erkrankten Patienten zu. Warum es jedoch im Laufe der Genesung zu einem Abfall von Abeta42 im Serum kommt, obwohl die Parameter gegenüber der gesunden Kontrolle nie erhöht waren und so das Niveau der Kontrollgruppe sogar signifikant unterschritten wird, ist weiter unklar. Da auch die Konzentrationen von Abeta40 aller Proben der letzten beiden Abnahmezeitpunkte bis auf zwei mit der gleichen Platte bestimmt wurden, muss aber auch hier wieder ein tagesabhängiger Batch-Effekt in Betracht gezogen werden.

Da Abeta42 jedoch laut Hsu, et al. (2021) den Befall der Wirtszellen durch das SARS-CoV-2 Virus erleichtert, scheint es logisch, dass die Abeta42 Spiegel bei mild erkrankten niedrig sind. Ob ein niedriger Abeta42 Spiegel protektiv einem schweren Krankheitsverlauf entgegenwirkt und wie es zu diesem Abfall genau kommt, muss in weiteren Studien erforscht werden.

In der kritischen Kohorte zeigte sich ähnlich wie bei Abeta40 ein starker Anstieg von Abeta42 im Serum. So waren die Werte zu jedem Zeitpunkt bis auf den ersten Tag auf der Intensivstation gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöht. Außerdem stiegen die Parameter im Laufe der Intensivbehandlung so weit an, dass dieser Anstieg am letzten Probenentnahmetag stark signifikant war. Durch diesen Anstieg erhärtet sich die Hypothese eines Neuronenschadens bei kritisch kranken COVID-19 Patienten. Dieses Phänomen steht im Einklang mit der durch Hsu, et al. (2021) erforschten Bindungsverstärkung des SARS-CoV-2 Virus an seinen Rezeptor durch Abeta42. Ob ein schwerer Krankheitsverlauf eine Erhöhung von Abeta42 durch Neurotoxizität bedingt, und die Progredienz der

Erkrankung durch den dadurch erleichterten Viruseintritt in die Zelle noch weiter verstärkt wird, muss in weiteren Studien analysiert werden. Eine weitere Möglichkeit wäre aber, dass Patienten mit erhöhten Abeta42 Spiegeln schon vor einer COVID-19 Erkrankung, auf Grund der bindungsverstärkenden Wirkung von Abeta42 ein erhöhtes Risiko haben, schwer zu erkranken. Dafür spräche auch, dass die Serumkonzentrationen von Abeta42 an Tag 1 auf der Intensivstation im Mittel höher war als die der gesunden Kontrollkohorte. Allerdings ist diese Erhöhung nicht signifikant. Dies muss in Folgestudien analysiert werden, um einen möglichen prädiktiven Parameter zur Schwere der Erkrankung zu entdecken.

## 5. Zusammenfassung

In dieser Studie wurde der Zusammenhang von im Blut quantifizierbarem neuronalem Schaden und der Schwere einer SARS-CoV-2 Infektion untersucht.

Es konnte gezeigt werden, dass mild an COVID-19 erkrankte Patienten mit neuronalen Ausfällen wie Geruchs- und Geschmacksverlust keinen mit den hier analysierten neurodegenerativen Markern im Blut nachweisbaren Untergang von Neuronen erleiden. Die Parameter Nf-light, welcher einen Neuronenschaden anzeigt, und GFAP, der beim Untergang von Astrozyten nachweisbar ist, waren beide in der untersuchten Kohorte nicht erhöht. Die neuronalen Ausfälle liegen also vermutlich nicht daran, dass Neuronen durch die Infektion absterben, sondern dass deren Funktion eingeschränkt wird. Die Parameter Abeta40 und Abeta42 zeigten jedoch signifikante Veränderungen. Bei diesen beiden Parametern spricht ein Ansteigen im Blut für pathologische Prozesse im Nervensystem (Jin et al. 2016). In dieser Studie konnte jedoch ein Abfall der Konzentrationen von Abeta40 und Abeta42 im Serum unter das Niveau von gesunden Probanden gezeigt werden. Was dieser Abfall bedeutet und durch welche Prozesse er zu Stande kommt, muss weiter erforscht werden.

In der Kohorte der kritisch an SARS-CoV-2 erkrankten Patienten, die auf der Intensivstation behandelt wurden, konnten stark erhöhte Parameter von Neurodegeneration gemessen werden. So waren die Serumspiegel von Nf-light, Abeta40 und Abeta42 in dieser Kohorte gegenüber der Kontrollkohorte signifikant erhöht. Hierdurch zeigt sich also ein Untergang von Neuronen bei kritisch an COVID-19 erkrankten Patienten. Inwiefern dieser Untergang den Progress der Erkrankung weiter verschlimmert oder ob ein Neuronenschaden sogar mitunter ursächlich für schwere Verläufe ist, muss in weiterer Forschung herausgefunden werden.

## 6. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Freisetzung von Neurofilamenten bei neuronalem Schaden	10
Abbildung 2:	N-Protein Werte bei Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/Geschmacksstörungen normiert auf höchsten Wert des N-Proteins; n = 7; Daten sind dargestellt als MW $\pm$ SEM	18
Abbildung 3:	Boxplot der Entwicklung der Konzentrationen von Nf-light im Serum von Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/Geschmacksstörungen im Krankheitsverlauf. Die Zeitpunkte wurden normiert auf die höchste N-Protein Konzentration im Serum (t <sub>0</sub> , siehe Abb. 2); n = 7; Ein-Weg-ANOVA aller Zeitpunkte gegeneinander, gefolgt von Tukeys <i>post-hoc</i> -Test. Keine signifikanten Unterschiede. Daten sind dargestellt als Boxplot mit Median, die Antennen markieren Minimum und Maximum, die Box wird durch das 25. und 75. Perzentil gebildet.	20
Abbildung 4:	Vergleich der Konzentrationen von Nf-light im Serum bei gesunden Probanden mit den Konzentrationen von Nf-light im Serum zum Zeitpunkt t <sub>0</sub> und t 14-20 der Infektion von Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/ Geschmacksstörungen. Die Zeitpunkte wurden normiert auf die höchste N-Protein Konzentration im Serum (t <sub>0</sub> , siehe Abb. 2); Ein-Weg-ANOVA der untersuchten Zeitpunkte gegen die gesunden Kontrollen, gefolgt von Dunnetts <i>post-hoc</i> -Test. Keine signifikanten Unterschiede. Daten sind dargestellt als MW $\pm$ SD.	21

- Abbildung 5: Dotplot zur Korrelation von Nf-light und N-Protein bei Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/ Geschmacksstörungen; Pearson Korrelation:  $r = 0,41$  ( $p = 0,03$ );  $R^2 = 0,16$  22
- Abbildung 6: Boxplot der Entwicklung der Konzentrationen von GFAP im Serum von Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/Geschmacksstörungen im Krankheitsverlauf. Die Zeitpunkte wurden normiert auf die höchste N-Protein Konzentration im Serum ( $t_0$ , siehe Abb. 2);  $n = 7$ ; Ein-Weg-ANOVA aller Zeitpunkte gegeneinander, gefolgt von Tukeys *post-hoc*-Test. Keine signifikanten Unterschiede. Daten sind dargestellt als Boxplot mit Median, die Antennen markieren Minimum und Maximum, die Box wird durch das 25. und 75. Perzentil gebildet. 23
- Abbildung 7: Vergleich der Konzentrationen von GFAP im Serum bei gesunden Probanden mit den Konzentrationen von GFAP im Serum zum Zeitpunkt  $t_0$  und  $t_{14-20}$  der Infektion von Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/ Geschmacksstörungen. Die Zeitpunkte wurden normiert auf die höchste N-Protein Konzentration im Serum ( $t_0$ , siehe Abb. 2); Ein-Weg-ANOVA der untersuchten Zeitpunkte gegen die gesunden Kontrollen, gefolgt von Dunnetts *post-hoc*-Test. Keine signifikanten Unterschiede. Daten sind dargestellt als  $MW \pm SD$ . 24
- Abbildung 8: Dotplot zur Korrelation von GFAP und N-Protein bei Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/ Geschmacksstörungen; Pearson Korrelation:  $r = 0,13$ ;  $R^2 = 0,016$  25

- Abbildung 9: Boxplot der Entwicklung der Konzentrationen von Abeta40 im Serum von Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/Geschmacksstörungen im Krankheitsverlauf. Die Zeitpunkte wurden normiert auf die höchste N-Protein Konzentration im Serum (t0, siehe Abb. 2); n = 7; Ein-Weg-ANOVA aller Zeitpunkte gegeneinander, gefolgt von Tukeys *post-hoc*-Test. Nur signifikante Unterschiede sind angezeigt. \*  $p < 0,05$ . Daten sind dargestellt als Boxplot mit Median, die Antennen markieren Minimum und Maximum, die Box wird durch das 25. und 75. Perzentil gebildet. 26
- Abbildung 10: Vergleich der Konzentrationen von Abeta40 im Serum bei gesunden Probanden mit den Konzentrationen von Abeta40 im Serum zum Zeitpunkt t0 und t 14-20 der Infektion von Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/ Geschmacksstörungen. Die Zeitpunkte wurden normiert auf die höchste N-Protein Konzentration im Serum (t0, siehe Abb. 2); Ein-Weg-ANOVA der untersuchten Zeitpunkte gegen die gesunden Kontrollen, gefolgt von Dunnetts *post-hoc*-Test. Nur signifikante Unterschiede sind angezeigt. \*\*\* $p < 0,001$ . Daten sind dargestellt als  $MW \pm SD$ . 27
- Abbildung 11: Dotplot zur Korrelation von Abeta40 und N-Protein bei Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/ Geschmacksstörungen; Pearson Korrelation:  $r = 0,31$ ;  $R^2 = 0,097$  28

- Abbildung 12: Boxplot der Entwicklung der Konzentrationen von Abeta42 im Serum von Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/Geschmacksstörungen im Krankheitsverlauf. Die Zeitpunkte wurden normiert auf die höchste N-Protein Konzentration im Serum (t0, siehe Abb. 2); n = 7; Ein-Weg-ANOVA aller Zeitpunkte gegeneinander, gefolgt von Tukeys *post-hoc*-Test. Nur signifikante Unterschiede sind angezeigt. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ . Daten sind dargestellt als Boxplot mit Median, die Antennen markieren Minimum und Maximum, die Box wird durch das 25. und 75. Perzentil gebildet. 29
- Abbildung 13: Vergleich der Konzentrationen von Abeta42 im Serum bei gesunden Probanden mit den Konzentrationen von Abeta42 im Serum zum Zeitpunkt t0, t4-5 und t 14-20 der Infektion von Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/ Geschmacksstörungen. Die Zeitpunkte wurden normiert auf die höchste N-Protein Konzentration im Serum (t0, siehe Abb. 2); Ein-Weg-ANOVA der untersuchten Zeitpunkte gegen die gesunden Kontrollen, gefolgt von Dunnetts *post-hoc*-Test. Nur signifikante Unterschiede sind angezeigt. \* $p < 0,05$ ; \*\*\* $p < 0,001$ . Daten sind dargestellt als MW  $\pm$  SD. 30
- Abbildung 14: Dotplot zur Korrelation von Abeta42 und N-Protein bei Probanden mit mild verlaufender SARS-CoV-2 Infektion und Geruchs-/ Geschmacksstörungen; Pearson Korrelation:  $r = 0,38$  ( $p = 0,04$ );  $R^2 = 0,15$  31

- Abbildung 15: Boxplot der Entwicklung der Serumkonzentrationen von Nf-light bei Patienten mit ARDS auf Grund von SARS-CoV-2 auf der Intensivstation; n = 39; Kruskal-Wallis-Test aller Zeitpunkte gegeneinander, gefolgt von Dunns *post-hoc*-Test. Nur signifikante Unterschiede sind angezeigt. \* $p < 0,05$ ; \*\*\* $p < 0,001$ . Daten sind dargestellt als Boxplot mit Median, die Antennen markieren Minimum und Maximum, die Box wird durch das 25. und 75. Perzentil gebildet. 33
- Abbildung 16: Boxplot der Entwicklung der Serumkonzentrationen von GFAP bei Patienten mit ARDS auf Grund von SARS-CoV-2 auf der Intensivstation; n = 39; Kruskal-Wallis-Test aller Zeitpunkte gegeneinander, gefolgt von Dunns *post-hoc*-Test. Keine signifikanten Unterschiede. Daten sind dargestellt als Boxplot mit Median, die Antennen markieren Minimum und Maximum, die Box wird durch das 25. und 75. Perzentil gebildet. 34
- Abbildung 17: Boxplot der Entwicklung der Serumkonzentrationen von Abeta40 bei Patienten mit ARDS auf Grund von SARS-CoV-2 auf der Intensivstation; n = 39; Kruskal-Wallis-Test aller Zeitpunkte gegeneinander, gefolgt von Dunns *post-hoc*-Test. Nur signifikante Unterschiede sind angezeigt. \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ . Daten sind dargestellt als Boxplot mit Median, die Antennen markieren Minimum und Maximum, die Box wird durch das 25. und 75. Perzentil gebildet. 36

Abbildung 18: Boxplot der Entwicklung der Serumkonzentrationen von Abeta42 bei Patienten mit ARDS auf Grund von SARS-CoV-2 auf der Intensivstation; n = 39; Kruskal-Wallis-Test aller Zeitpunkte gegeneinander, gefolgt von Dunns *post-hoc*-Test. Nur signifikante Unterschiede sind angezeigt. \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ . Daten sind dargestellt als Boxplot mit Median, die Antennen markieren Minimum und Maximum, die Box wird durch das 25. und 75. Perzentil gebildet. 37

## 7. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Patientendaten der mild an COVID-19 erkrankten Kohorte	17
Tabelle 2:	Patientendaten der kritisch an COVID-19 erkrankten Kohorte	32

## 8. Literaturverzeichnis

Brureau A, Blanchard-Bregeon V, Pech C, Hamon S, Chaillou P, Guillemot JC, Barneoud P, Bertrand P, Pradier L, Rooney T, Schussler N. NF-L in cerebrospinal fluid and serum is a biomarker of neuronal damage in an inducible mouse model of neurodegeneration. *Neurobiol Dis* 2017; 104: 73–84

Bsteh G, Berek K, Hegen H, Buchmann A, Voortman MM, Auer M, Wurth S, Zinganell A, Di Pauli F, Deisenhammer F, Khalil M, Berger T. Serum neurofilament light levels correlate with change of olfactory function in multiple sclerosis. *Mult Scler J Exp Transl Clin* 2019; 5: 2055217319885987

Cardoso CC, Rossi AD, Galliez RM, Faffe DS, Tanuri A, Castiñeiras TMPP. Olfactory Dysfunction in Patients With Mild COVID-19 During Gamma, Delta, and Omicron Waves in Rio de Janeiro, Brazil. *JAMA* 2022; 328: 582-583

DeMattos RB, Bales KR, Cummins DJ, Paul SM, Holtzman DM. Brain to Plasma Amyloid- $\beta$  Efflux: a Measure of Brain Amyloid Burden in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Science* 2002; 295: 2264–2267

Fisse AL, Pitarokoili K, Leppert D, Motte J, Pedreiturria X, Kappos L, Gold R, Kuhle J, Yoon MS. Serum neurofilament light chain as outcome marker for intensive care unit patients. *J Neurol* 2021; 268: 1323–1329

Frontera JA, Boutajangout A, Masurkar AV, Betensky RA, Ge Y, Vedvyas A, Debure L, Moreira A, Lewis A, Huang J, Thawani S, Balcer L, Galetta S, Wisniewski T. (Comparison of serum neurodegenerative biomarkers among hospitalized COVID-19 patients versus non-COVID subjects with normal cognition, mild cognitive impairment, or Alzheimer's dementia. *Alzheimers Dement* 2022; 18: 899–910.

Helms J, Kremer S, Merdji H, Clere-Jehl R, Schenck M, Kummerlen C, Collange O, Boulay C, Fafi-Kremer S, Ohana M, Anheim M, Meziani F. Neurologic Features in Severe SARS-CoV-2 Infection. *N Engl J Med* 2020; 382: 2268–2270

Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, Schiergens TS, Herrler G, Wu NH, Nitsche A, Müller MA, Drosten C, Pöhlmann S. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell* 2020; 181: 271-280.e8

Hsu JTA, Tien CF, Yu GY, Shen S, Lee YH, Hsu PC, Wang Y, Chao PK, Tsay HJ, Shie FS. The Effects of A $\beta$ 1-42 Binding to the SARS-CoV-2 Spike Protein S1 Subunit and Angiotensin-Converting Enzyme 2. *Int J Mol Sci* 2021; 22: 8226

Huang S, Fishell G. In SARS-CoV-2, astrocytes are in it for the long haul. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2022; 119: e2209130119

Jin WS, Bu XL, Liu YH, Shen LL, Zhuang ZQ, Jiao SS, Zhu C, Wang QH, Zhou HD, Zhang T, Wang YJ. Plasma Amyloid-Beta Levels in Patients with Different Types of Cancer. *Neurotox Res* 2016; 31: 283–288

Kanberg N, Ashton NJ, Andersson LM, Yilmaz A, Lindh M, Nilsson S, Price RW, Blennow K, Zetterberg H, Gisslén M. Neurochemical evidence of astrocytic and neuronal injury commonly found in COVID-19. *Neurology* 2020; 95: e1754-e1759

Kim J, Onstead L, Randle S, Price R, Smithson L, Zwizinski C, Dickson DW, Golde T, McGowan E. A $\beta$ 40 Inhibits Amyloid Deposition In Vivo. *J Neurosci* 2007; 27: 627-633

Kleine TO. Liquor-Glial fibrillary acidic protein. in: Gressner AM, Arndt T, eds. *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*. Berlin – Heidelberg: Springer, 2019: 1496

Kuperstein I, Broersen K, Benilova I, Rozenski J, Jonckheere W, Debulpaep M, Vandersteen A, Segers-Nolten I, Van Der Werf K, Subramaniam V, Braeken D, Callewaert G, Bartic C, D'Hooge R, Martins IC, Rousseau F, Schymkowitz J, De Strooper B. Neurotoxicity of Alzheimer's disease A $\beta$  peptides is induced by small changes in the A $\beta$ 42 to A $\beta$ 40 ratio. *EMBO J* 2010; 29: 3408–3420

Laue M, Kauter A, Hoffmann T, Möller L, Michel J, Nitsche A. Morphometry of SARS CoV and SARS-CoV-2 particles in ultrathin plastic sections of infected Vero cell cultures. *Sci Rep* 2021; 11: 3515

Le ND, Muri L, Grandgirard D, Kuhle J, Leppert D, Leib SL. Evaluation of neurofilament light chain in the cerebrospinal fluid and blood as a biomarker for neuronal damage in experimental pneumococcal meningitis. *J Neuroinflammation* 2020; 17: 293

Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, De Siaty DR, Horoi M, Le Bon SD, Rodriguez A, Dequanter D, Blečić S, El Afia F, Distinguin L, Chekkoury-Idrissi Y, Hans S, Delgado IL, Calvo-Henriquez C, Lavigne P, Falanga C, Barillari MR, Cammaroto G, Khalife M, Leich P, Souchay C, Rossi C, Journe F, Hsieh J, Edjlali M, Carlier R, Ris L, Lovato A, De Filippis C, Coppee F, Fakhry N, Ayad T, Saussez S. Olfactory and gustatory dysfunctions as a clinical presentation of mild-to-moderate forms of the coronavirus disease (COVID-19): a multicenter European study. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2020; 277: 2251-2261

Li YC, Bai WZ, Hashikawa T. The neuroinvasive potential of SARS-CoV2 may play a role in the respiratory failure of COVID-19 patients. *J Med Virol* 2020; 92: 552-555

Liu S, Ando F, Fujita Y, Liu J, Maeda T, Shen X, Kikuchi K, Matsumoto A, Yokomori M, Tanabe-Fujimura C, Shimokata H, Michikawa M, Komano H, Zou K. A clinical dose of angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitor and heterozygous ACE deletion exacerbate Alzheimer's disease pathology in mice. *J Biol Chem* 2019; 294: 9760-9770

Meinhardt J, Radke J, Dittmayer C, Franz J, Thomas C, Mothes R, Laue M, Schneider J, Brünink S, Greuel S, Lehmann M, Hassan O, Aschman T, Schumann E, Chua RL, Conrad C, Eils R, Stenzel W, Windgassen M, Rößler L, Goebel HH, Gelderblom HR, Martin H, Nitsche A, Schulz-Schaeffer WJ, Hakrrouch S, Winkler MS, Tampe B, Scheibe F, Körtvélyessy P, Reinhold D, Siegmund B, Kühl AA, Elezkurtaj S, Horst D, Oesterhelweg L, Tsokos M, Ingold-Heppner B, Stadelmann C, Drosten C, Corman VM, Radbruch H, Heppner FL. Olfactory transmucosal SARS-CoV-2 invasion as a port of central nervous system entry in individuals with COVID-19. *Nat Neurosci* 2021; 24: 168-175

Middeldorp J, Hol EM. GFAP in health and disease. *Prog Neurobiol* 2011; 93: 421-443

Odainic A, Spitzer J, Szlapa JB, Schade S, Krämer TJ, Neuberger J, Bode C, Steinhagen F, Schmithausen RM, Wilbring G, Sib E, Mutters NT, Rabenschlag F, Kettel L, Woznitza M, van Bremen K, Peers T, Medinger G, Kudaliyanage A, Kreutzenbeck M, Strube U, Johnson JM, Mattoon D, Ball AJ, Scory S, McGuire R, Putensen C, Abdullah Z, Latz C, Schmidt SV. Comparative Analysis of Antibody Titers against the Spike Protein of SARS-CoV-2 Variants in Infected Patient Cohorts and Diverse Vaccination Regimes. *Int J Mol Sci* 2022; 23: 12231

Olubiyi OO, 2013: Investigation of the interaction between Alzheimer's abeta peptide and aggregation inhibitors using molecular simulations. <https://d-nb.info/1043523499/34> (Zugriffsdatum: 09.12.2022)

Schenk M. Neurologische Manifestationen: Wie COVID-19 die Nerven tangiert. *Dtsch Arztebl* 2020; 117: A1001-A1004

Schindler SE, Bollinger JG, Ovod V, Mawuenyega KG, Li Y, Gordon BA, Holtzman DM, Morris JC, Benzinger TLS, Xiong C, Fagan AM, Bateman RJ. High-precision plasma  $\beta$  amyloid 42/40 predicts current and future brain amyloidosis. *Neurology* 2019; 93: e1647-e1659

Schupf N, Patel B, Pang D, Zigman WB, Silverman W, Mehta PD, Mayeux R. Elevated Plasma  $\beta$ -Amyloid Peptide A $\beta$ 42 Levels, Incident Dementia, and Mortality in Down Syndrome. *Arch Neurol* 2007; 64: 1007–1013.

Siracusa R, Fusco R, Cuzzocrea S. Astrocytes: Role and Functions in Brain Pathologies. *Front Pharmacol* 2019; 10: 1114

Wang L, Davis PB, Volkow ND, Berger NA, Kaelber DC, Xu R. Association of COVID-19 with New-Onset Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis* 2022; 89: 411-414

Welsch U. *Lehrbuch Histologie*. München – Jena: Urban & Fischer, 2006

Wu YC, Chen CS, Chan YJ. The outbreak of COVID-19: An overview. *J Chin Med Assoc* 2020 Mar; 83: 217-220

Wu X, Jing H, Wang C, Wang Y, Zuo N, Jiang T, Novakovic VA, Shi J. Intestinal Damage in COVID-19: SARS-CoV-2 Infection and Intestinal Thrombosis. *Front Microbiol* 2022; 13: 860931

Yong SJ. Long COVID or post-COVID-19 syndrome: putative pathophysiology, risk factors, and treatments. *Infect Dis (Lond)* 2021 Oct; 53: 737-754

Yuan A, Rao MV, Veeranna, Nixon RA. Neurofilaments at a glance. *J Cell Sci* 2012; 125: 3257-3263

Ziff OJ, Ashton NJ, Mehta PR, Brown R, Athauda D, Heaney J, Heslegrave AJ, Benedet AL, Blennow K, Checkley AM, Houlihan CF, Gauthier S, Rosa-Neto P, Fox NC, Schott JM, Zetterberg H, Benjamin LA, Paterson RW. Amyloid processing in COVID-19-associated neurological syndromes. *J Neurochem* 2022; 161: 146-157

Žurek J. Biomarkers in Traumatic Brain Injury. In: Prabhakar H, ed. *Essentials of Neuroanesthesia*. Amsterdam: Elsevier, 2017: 587-591

## 9. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen danken, die mir beim Verfassen meiner Dissertation eine große Hilfe waren.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Latz für die Überlassung des Themas, die gute Betreuung und seine freundliche Begleitung.

Großer Dank gebührt Frau Dr. Schmidt, meiner Zweitbetreuerin, für die enge Zusammenarbeit, dass sie mir mit Rat und Tat immer zur Seite stand und jederzeit ansprechbar war. Außerdem danke ich besonders Alexandru Odainic, der mir bei der Arbeit im Labor, der Auswertung und allen anderen Themen rund um die Promotion stets ein wertvoller, hilfreicher Ansprechpartner war.

Zudem bedanke ich mich sehr bei Anushka Kudaliyanaga, für seine Hilfe im Labor, bei der Aufbereitung und Organisation meiner Proben, sowie seine Unterstützung.

Mein Dank gilt allen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe „Immunogenomics“ von Frau Dr. Schmidt, die mich so freundlich und kollegial vom ersten Tag an in ihr Team aufgenommen haben.

Ich bedanke mich bei den vielen Helfern, die mir durch ihre Arbeit geholfen haben, die Serumproben zu gewinnen. Mein ganz besonderer Dank gilt hier Gero Wilbring.

Ich danke herzlich Frau PD. Dr. Fisse, die mir freundlicherweise die Rohdaten einer ihrer Studien für einen Vergleich zur Verfügung gestellt hat.

Außerdem bedanke ich mich bei PD Dr. Berger für die Beratung zur statistischen Auswertung.

Ich danke Tim Krämer und Jakob Neuberger, die ebenfalls im Rahmen ihrer Promotion mit mir im Labor gearbeitet haben.

Dank gebührt auch Philipp Müller, der mich sehr bei der Überarbeitung meiner Arbeit unterstützt hat.

Nicht zuletzt bedanke ich mich bei allen Probanden, die durch die Bereitstellung ihrer Blutproben diese Studie erst ermöglichten.