

Aus dem

Institut für Immunologie
Abteilung Peptid-basierte Immuntherapie

**Analyse des Post-COVID-Syndrom im Bezug zu
Antikörper-Antworten und klinischen Parametern bei
SARS-CoV-2 Rekonvaleszenten**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Hackenbruch, Christopher

2023

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professorin Dr. J. S. Walz
2. Berichterstatter: Professor Dr. O. Planz

Tag der Disputation: 08.11.2023

Abkürzungsverzeichnis	6
1. Einleitung	8
1.1. Coronaviren und SARS-CoV-2.....	8
1.1.1. SARS-CoV-2: Viruscharakteristika, Infektionsverlauf und Immunsystem	9
1.1.2. Überblick über den zeitlichen Verlauf einer SARS-CoV-2 Infektion und die COVID-19 Nomenklatur	11
1.1.3. COVID-19.....	13
1.1.4. Post-COVID-Syndrom	14
1.2. Fragestellung dieser Arbeit	15
2. Material und Methoden.....	17
2.1. Studiendesign und Spender	17
2.2. Probensammlung und Antikörper Analysen	18
2.3. Erhebung allgemeiner Charakteristika der Spender und postinfektiöser Symptome	19
2.4. Software und statistische Methoden	19
3. Ergebnisse	21
3.1. Überblick der Spender.....	21
3.2. Postinfektiöse Symptome (Häufigkeit, Art und Verteilung postinfektiöser Symptome)	22
3.3. Allgemeine Charakteristika und postinfektiöse Symptome	24
3.4. Humorale Immunantwort und postinfektiöse Symptome	28
3.4.1. Humorale Immunantwort und Anzahl der postinfektiösen Symptome..	28
3.4.2. Humorale Immunantwort und postinfektiöse Symptomlast	32
3.4.3. Humorale Immunantwort und einzelne postinfektiöse Symptome	36
3.4.4. Humorale Immunantwort und postinfektiöse Symptomkategorien	46
3.5. Allgemeine Charakteristika und humorale Immunantwort	51
4. Diskussion	57

4.1.	Auftreten von postinfektiösen Symptomen nach SARS-CoV-2 Infektion und post-COVID-Syndrom.....	57
4.2.	Analyse der Korrelation von klinischen Parametern, humoraler Immunantwort, postinfektiösen Symptomen nach SARS-CoV-2 Infektion und post-COVID-Syndrom	58
4.3.	Schlussfolgerung aus der Arbeit	62
5.	Zusammenfassung.....	64
6.	Literaturverzeichnis.....	66
7.	Erklärung zum Eigenanteil.....	79
8.	Veröffentlichungen	81
9.	Danksagung	82
Tabelle 1:	Charakteristika der Spender	21
Tabelle 2:	Postinfektiöse Symptome	23
Tabelle 3:	Antikörperreaktion und Serokonversionsraten	28
Abbildung 1:	Zeitlicher Ablauf einer SARS-CoV-2 Infektion und aktuelle COVID-19 Nomenklatur.....	12
Abbildung 2:	Geschlecht und Anzahl der postinfektiösen Beschwerden sowie postinfektiöse Symptomlast.....	24
Abbildung 3:	Alter und Anzahl der postinfektiösen Beschwerden sowie postinfektiöse Symptomlast.....	25
Abbildung 4:	Body Mass Index und Anzahl der postinfektiösen Beschwerden sowie postinfektiöse Symptomlast.....	27
Abbildung 5:	Anzahl der Symptome (2 Gruppen) und Antikörperantworten. ..	29
Abbildung 6:	Anzahl der Symptome (3 Gruppen) und Antikörperantworten. ..	31
Abbildung 7:	Symptomlast (2 Gruppen) und Antikörperantworten.....	33
Abbildung 8:	Symptomlast (3 Gruppen) und Antikörperantworten.....	35
Abbildung 9:	Leistungsminderung und Antikörperantworten.	36
Abbildung 10:	Fatigue und Antikörperantworten.....	37
Abbildung 11:	Geruchs- und Geschmacksveränderungen und Antikörperantworten.	38

Abbildung 12: Hörminderung und Antikörperantworten.....	39
Abbildung 13: Palpitationen und Antikörperantworten.....	40
Abbildung 14: Kopfschmerzen und Antikörperantworten.....	41
Abbildung 15: Reizbarkeit und Antikörperantworten.....	42
Abbildung 16: Unruhe und Antikörperantworten.....	43
Abbildung 17: Husten und Antikörperantworten.	44
Abbildung 18: Dyspnoe und Antikörperantworten.	45
Abbildung 19: Allgemeine Symptome und Antikörperantworten.....	47
Abbildung 20: Veränderte Sinneswahrnehmung und Antikörperantworten. ...	48
Abbildung 21: Neuropsychiatrische Symptome und Antikörperantworten.	49
Abbildung 22: Pulmonale Symptome und Antikörperantworten.....	50
Abbildung 23: Geschlecht und Antikörperantworten.....	52
Abbildung 24: Alter und Antikörperantworten.	53
Abbildung 25: Body Mass Index und Antikörperantworten.	55

Abkürzungsverzeichnis

ACE2	„Angiotensin-Converting Enzyme 2“
ARDS	Akutes respiratorisches “Distress” Syndrom
BMI	Body Mass Index
CFS	Chronisches Erschöpfungssyndrom („chronic fatigue syndrome“)
COVID-19	Coronavirus-Krankheit 2019 (“coronavirus-disease” 2019)
DAMP	“Damage-associated molecular patterns”
ECLIA	Elektrochemilumineszenz-Immunoassay
ELISA	“Enzyme-linked Immunosorbent Assay”
hCoV	humanpathogene Corona-Viren
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
ME	Myalgische Enzephalomyelitis
MERS-CoV	“Middle East respiratory syndrome” Coronavirus
NICE	“National Institute for Health and Care Excellence”
ORF	“Open reading frame”
PAMP	“pathogen-associated molecular patterns”
PCR	Polymerase-Kettenreaktion (“polymerase chain reaction“)
PRR	“pattern recognition receptors”
RBD	“Receptor-binding domain”
RBM	“Receptor-binding motif”
RLR	“RIG-I-like” Rezeptoren

RNA	Ribonucleinsäure (“ribonucleic acid”)
SARS-CoV-1	“Severe acute respiratory syndrome” Coronavirus 1
SARS-CoV-2	“Severe acute respiratory syndrome” Coronavirus 2
SD	Standardabweichung („standard deviation“)
TLR	“Toll-like” Rezeptor
WHO	Weltgesundheitsorganisation (“World Health Organisation”)
Z _F	Früher Zeitpunkt
Z _S	Später Zeitpunkt

1. Einleitung

1.1. Coronaviren und SARS-CoV-2

Coronaviren gehören zu den Plusstrang-Ribonukleinsäure (RNA) Viren. Sie haben einen Durchmesser von circa 120 nm und innerhalb ihrer Hülle findet sich ein Kapsid mit dem RNA-Genom (ca. 30 kB)¹. Der Name der Coronaviren stammt vom lateinischen Wort für Krone „corona“ ab, da die Virusoberfläche mit ihren Fortsätzen, den so genannten Spikes, elektronenmikroskopisch hieran erinnert¹.

Es gibt innerhalb des Stammes der Coronaviren nach aktuellem Wissensstand sieben humanpathogene Coronaviren (hCoV). Sie teilen sich in die Gattungen Alpha-Coronaviren und Beta-Coronaviren auf. Im Unterschied dazu infizieren Gamma-Coronaviren und Delta-Coronaviren keine Menschen².

Die hCoVs HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-OC43, HKU1 führen in der Regel zu milden Erkältungserkrankungen der oberen Atemwege und sind in Deutschland und Europa weit verbreitet³⁻⁵. Neben diesen bereits länger bekannten Coronaviren, trat 2002 erstmals das damals neuartige Coronavirus „severe acute respiratory syndrome“ Coronavirus 1 (SARS-CoV-1) auf und zeigte, unter anderem aufgrund ausgeprägter interstitieller Pneumonien, die teilweise zu einem akuten respiratorischen „distress“ Syndrom (ARDS) führten, eine hohe Letalität^{2,6-10}.

Im Jahr 2012 wurde erstmals das „Middle East respiratory syndrome“ Coronavirus (MERS-CoV) festgestellt, welches nach seinem ersten Auftreten in Saudi-Arabien benannt wurde, und ebenfalls mit einer hohen Letalität einherging¹¹.

In der chinesischen Stadt Wuhan wurde 2019 erstmals, im Rahmen eines Ausbruches einer neuen Erkrankung, die zunächst vor allem durch atypische Lungenentzündungen mit teilweise schweren und tödlichen Verläufen imponierte, das „severe acute respiratory syndrome“ Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) nachgewiesen¹²⁻¹⁴. Das aus dieser Infektion resultierende akute Krankheitsbild wurde in der Folge als Coronavirus-Krankheit 2019 („coronavirus disease 2019“,

COVID-19) bezeichnet und es erfolgte im März 2020 die Einstufung als Pandemie durch die World Health Organisation (WHO)¹⁵. COVID-19 breitete sich im Folgenden auf der ganzen Welt aus und führte zu Millionen infizierten Menschen und Todesfällen¹⁶. Im Verlaufe der Pandemie entstanden immer wieder Varianten von SARS-CoV-2 mit veränderter Infektiosität, Virulenz und Morbidität. Insbesondere die Möglichkeit zur Immunflucht ist hierbei von zentraler Bedeutung. Deshalb wurden so genannte „Variants of Concern“ klassifiziert. Wichtige Beispiele hierfür sind die Varianten Alpha (B.1.1.7), Beta (B.1.351), Gamma (P.1), Delta (B.1.617.2) und Omikron (B.1.1.529)¹⁷. Erst über 3 Jahre später am 05. Mai 2023 wurde der Gesundheitsnotstand durch die WHO als beendet erklärt¹⁸. Bis zum Mai 2023 zählte die WHO mehr als 750 Millionen bestätigte Infektionen und mehr als 6,9 Millionen Todesfälle¹⁶.

1.1.1. SARS-CoV-2: Viruscharakteristika, Infektionsverlauf und Immunsystem

SARS-CoV-2 ist ein Coronavirus aus der Gattung der Betacoronaviren und deren Untergattung der Sarbecoviren^{19,20}. Das RNA-Genom von SARS-CoV-2 beinhaltet die für Betacoronaviren typischen funktionellen Open reading frames (ORFs) und kodiert sowohl die viralen Strukturproteine als auch Nicht-Strukturproteine und akzessorische Proteine. Die vier Strukturproteine von SARS-CoV-2 sind das Membranprotein, das Hüllprotein, das Spike-Protein und das Nukleokapsid-Protein^{13,21}.

Das Membranprotein ist das größte Strukturprotein von SARS-CoV-2 und ist entscheidend für den Aufbau des Virus²². Das Hüllprotein ist das kleinste der Strukturproteine und bildet die äußere Hülle von SARS-CoV-2^{23,24}. Durch das Spike-Protein wird die Bindung an die Wirtszelle vermittelt. Es beinhaltet 2 Untereinheiten, S1 und S2²⁵. Die S-1 Untereinheit beinhaltet die „Receptor-binding domain“ (RBD), die sehr wichtig für das Eindringen des Virus in Wirtszellen ist, und als Hauptziel neutralisierender Antikörper identifiziert wurde, da sie sehr immunogen ist^{25,26}. Über das „receptor-binding motive“ (RBM), eine Untereinheit der RBD, bindet SARS-CoV-2 an den „Angiotensin-Converting Enzyme 2“ (ACE2)-Rezeptor, den Hauptrezeptor für das SARS-COV-2 Virus²⁷.

Die S-2 Untereinheit wird durch Wirtsproteasen gespalten und vermittelt die Membrantransfusion²⁸.

Das Nukleokapsid-Protein bindet die virale RNA, bildet das Nukleokapsid und ist hoch immunogen^{21,26,29-31}. Die neun akzessorischen Proteine von SARS-CoV-2 beeinflussen hauptsächlich die Immunflucht und verstärken die Virulenz von SARS-CoV-2^{32,33}.

Die Hauptübertragung der Infektion erfolgt über die Atemwege durch Tröpfcheninfektionen oder Aerosole³⁴. Die Inkubationszeit ist abhängig von der Virusvariante und reicht bei Infektionen durch das Wildtyp Virus von drei bis 14 Tagen³⁵. Zunächst bindet SARS-CoV-2 an Epithelzellen der Atemwege, das Virus dringt hauptsächlich durch Bindung an den ACE2-Rezeptor in diese ein²⁷. In der Folge beginnt die Replikation und das Virus kann durch die Atemwege in die Epithelzellen der Lungenalveolen wandern. Im Alveolarbereich kann sich dann eine starke Entzündung mit Einschränkung des Gasaustausches entwickeln und, u. a. durch die schnelle Replikation von SARS-CoV-2, eine starke Immunreaktion ausgelöst werden³⁶⁻⁴².

Das Immunsystem des infizierten Wirtes reagiert auf die SARS-CoV-2 Infektion auf verschiedenen Ebenen. Das angeborene Immunsystem, die erste Verteidigungslinie eines Wirtes, erkennt bei Virusinfektionen, u. a. durch Makophagen und dendritische Zellen, bestimmte molekulare Strukturen, so genannte „pathogen“ oder „damage-associated molecular patterns“ (PAMP and DAMP)⁴³. Dies geschieht über „pattern recognition“-Rezeptoren (PRRs). Hauptsächlich erfolgt dies für RNA-Viren, wie SARS-CoV-2, über „Toll-like“ Rezeptoren (TLR) in Endosomen und durch „RIG-I-like“ Rezeptoren (RLR) im Zytoplasma⁴⁴. In der Folge entstehen unter anderem Inflammasome, zytosolische Multiproteinkomplexe, und es werden Interferone produziert und Immuneffektorzellen, wie z. B. natürliche Killerzellen, werden aktiviert⁴⁵⁻⁴⁸. Das angeborene Immunsystem bildet bei den allermeisten Infizierten im Verlauf der Infektion virusspezifische B- und T-Zellen⁴⁹⁻⁵⁸. T-Zellen tragen direkt zur Neutralisation und Eliminierung des Virus durch das Abtöten infizierter Zellen bei, spielen aber auch in der Immunmodulation und der Rekrutierung von

virusspezifischen B-Zellen sowie für das Immungedächtnis eine wichtige Rolle^{57,59,60}. Es konnte mehrfach gezeigt werden, dass die T-Zell-Immunität zentral für die Kontrolle der Schwere der Erkrankung im Rahmen der akuten Erkrankung ist^{50,61,62}. Die Entwicklung von Anti-SARS-CoV-2 Antikörper wiederum ist vor allem entscheidend für die Neutralisierung des Virus. Die meisten Rekonvaleszenten entwickeln Antikörper gegen das Spike-Protein, inklusive der RBD, und das Nukleokapsid-Protein⁶³⁻⁶⁵. Neutralisierende Antikörper sind oft gegen die RBD gerichtet, können die Bindung des viralen Spike-Proteins an den ACE2-Rezeptor blockieren und wurden bis zu einem Jahr nach Infektion nachgewiesen^{66,67}. Generell sind höhere Titer an neutralisierenden Antikörpern bei schweren Verläufen häufiger⁶⁸. Ebenso ist bekannt, dass die humorale Immunantwort stärker ausgeprägt ist nach schwererer COVID-19 Erkrankung und dass SARS-CoV-2-spezifische Antikörper über die Zeit abnehmen^{50,68,69}. Insgesamt ist die adaptive Immunantwort, die durch SARS-CoV-2-spezifische Antikörper und SARS-CoV-2-spezifische T-Zell-Antworten vermittelt wird, nicht nur wichtig für die Virusneutralisation und den Schutz vor schweren Verläufen und Todesfällen, sondern auch zum Schutz vor Reinfektion^{63,70}. Die SARS-CoV-2 spezifische T-Zell-Immunität nach initialer Infektion bleibt im Gegensatz zur humoralen Immunität über längere Zeiträume erhalten und kann gegenüber SARS-CoV-2 rasch reaktiviert werden^{53,71}. Insgesamt entwickelt sich bei SARS-CoV-2 Rekonvaleszenten ein SARS-CoV-2-spezifisches Immungedächtnis, das bei erneuter Exposition zum Virus zu einer schnellen Immunreaktion beiträgt^{72,73}.

1.1.2. Überblick über den zeitlichen Verlauf einer SARS-CoV-2 Infektion und die COVID-19 Nomenklatur

Im Laufe der COVID-19 Pandemie zeigte sich, dass viele durch SARS-CoV-2 infizierte Personen auch nach der akuten Erkrankung noch Beschwerden beklagen⁷⁴. Die große Anzahl an COVID-19 Fällen führte zu rasch wachsendem Interesse an der Untersuchung von postinfektiösen Langzeitschäden, insbesondere da diese auch eine große Herausforderung für Gesundheitssysteme und Gesellschaften weltweit darstellen⁷⁵. Eine

Vereinheitlichung der Nomenklatur als Basis für weitere Forschung, Diagnostik und Therapie wurde notwendig und entsprechende Empfehlungen wurden durch das „National Institute for Health and Care Excellence“ (NICE) in Großbritannien, die WHO und in der deutschen S1-Leitlinie (federführend von der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie erstellt) aufgestellt⁷⁶⁻⁷⁸. Abbildung 1 gibt einen Überblick über den zeitlichen Verlauf einer SARS-CoV-2 Infektion und die aktuelle COVID-19 Nomenklatur.

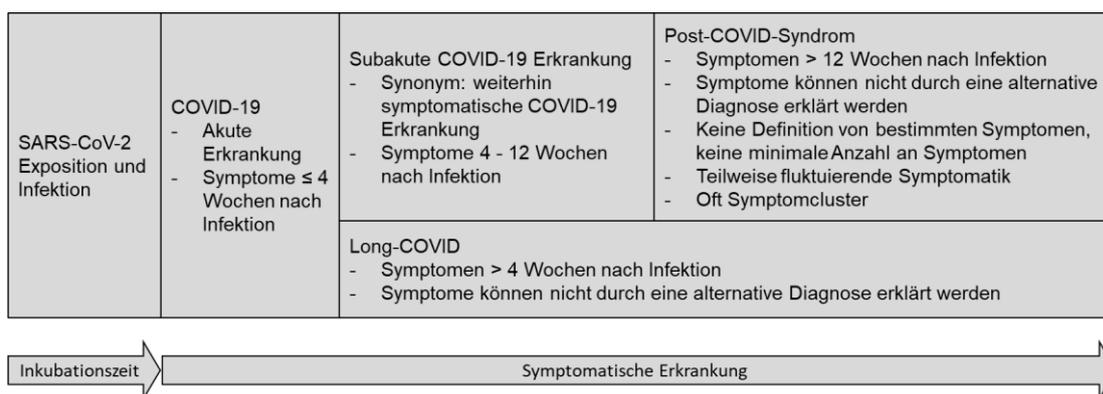


Abbildung 1: Zeitlicher Ablauf einer SARS-CoV-2 Infektion und aktuelle COVID-19 Nomenklatur. Ablauf und Nomenklatur nach der Klassifikation der NICE COVID-19 rapid Guideline mit Anpassungen basierend auf der WHO Delphi Konsens Definition und der deutschen S1-Leitlinie Long/ Post-COVID.

Unter COVID-19 im engeren Sinne versteht man die akute Erkrankung mit Symptomen bis vier Wochen nach SARS-CoV-2 Infektion. Eine subakute COVID-19 Erkrankung, auch „weiterhin symptomatisches COVID-19“ genannt, bezeichnet Symptome, die vier bis zwölf Wochen nach der Infektion bestehen. post-COVID-Syndrom wiederum wird definiert als Auftreten oder Fortbestehen von Symptomen drei Monate nach akuter COVID-19 Erkrankung, die nicht durch eine alternative Ursache erklärt werden können. In Ergänzung wird der Begriff Long-COVID verwendet, um Symptome zu beschreiben, die nach akutem COVID-19 bestehen bleiben oder auftreten, einschließlich sowohl von anhaltendem symptomatischem COVID-19 (von vier bis zwölf Wochen) als auch des post-COVID-Syndroms (mehr als zwölf Wochen)^{76,77,79}. Die hier aufgeführten drei Definitionen sind sehr ähnlich, wenn auch nicht komplett identisch. So fordert die WHO-Definition abweichend von den beiden anderen Definitionen ein Existieren von postinfektiösen Beschwerden über mindestens zwei Monate⁷⁸. In

dieser Arbeit wurde die Klassifikation des NICE als Grundlage für die Nomenklatur verwendet.

1.1.3. COVID-19

Nach SARS-CoV-2 Übertragung, zumeist über die Atemwege durch Tröpfcheninfektionen oder Aerosole, und einer Inkubationszeit von drei bis 14 Tagen kommt es zur akuten Erkrankung COVID-19^{34,35}. Die Schwere der Krankheitsverläufe ist sehr unterschiedlich und reicht von asymptomatischen bis zu tödlichen Verläufen⁸⁰⁻⁸². Ebenso sind die Beschwerden, die bei COVID-19 auftreten sehr heterogen. Häufig zeigen sich Fieber, Schüttelfrost, Kurzatmigkeit, Husten, Auswurf, Hämoptysen, Rhinorrhoe, Halsschmerzen, thorakale Schmerzen, Kopfschmerzen, Müdigkeit, Schwäche, Myalgien, Übelkeit, Erbrechen, Durchfall sowie Anosmie und Ageusie⁸⁰⁻⁸⁴. Die Erkrankung führt zu vielfältigen Komplikationen und Schäden, wie unter anderem Lungenentzündungen mit akutem ARDS, Thrombosen, Embolien, Schlaganfälle, Herzschäden, Herzrhythmusstörungen, Nierenerkrankungen, Leberschäden, Rhabdomyolyse, Sepsis und neurologischen Erkrankungen⁸³⁻⁸⁹, die auch zum Tode führen können. Die berichtete Schwere und Letalität von COVID-19 divergiert in einzelnen Untersuchungen stark und hängt neben der infizierenden Virusvariante von den medizinischen Ressourcen der jeweiligen Länder, demographischen Aspekten, dem Einfluss von COVID-19 Impfungen, den verfügbaren antiviralen Therapien, politischen Entscheidungen und dem zum Zeitpunkt der Infektionswelle vorherrschenden Sozialverhalten ab⁹⁰⁻⁹⁴. Eine große Untersuchung in China, die circa 70.000 bis Februar 2020 aufgetretene Fälle untersuchte und somit einen guten Überblick über die Erkrankungsschwere der Infektion durch das initiale Wildtypvirus bietet, berichtete über 81 % asymptomatische und milde Verläufe, 14 % schwere Verläufe mit Beatmung auf einer Intensivstation und 5 % kritische Verläufe mit Multiorganversagen, septischem Schock oder respiratorischem Versagen⁹⁵. Bei der Variante Alpha (B.1.1.7) zeigte sich am ehesten eine erhöhte Aufnahme in Krankenhäuser und auf Intensivstationen sowie eine erhöhte Sterblichkeit verglichen zum Wildtypvirus⁹⁶⁻¹⁰⁰. Für Beta (B.1.351) ergaben sich erhöhte Aufnahme in

Krankenhäuser und auf Intensivstationen, mit der höchsten Hospitalisierungsrate aller Varianten, und eine erhöhte Mortalität verglichen zum Wildtypvirus^{98,100,101}. Delta (B.1.617.2) wiederum hatte die höchsten Aufnahmezeiten auf Intensivstationen überhaupt und die höchste Mortalität^{100,101}. Omikron (B1.1.529) schlussendlich zeigte eine geringere Krankheitsschwere als Delta und Alpha⁹⁴.

1.1.4. Post-COVID-Syndrom

Das post-COVID-Syndrom ist definiert als Vorhandensein von Symptomen drei Monate nach akuter COVID-19 Erkrankung, die nicht durch eine alternative Ursache erklärt werden können (siehe auch Kapitel 1.1.2). Trotz der Fortschritte in der Vereinheitlichung der COVID-19 Nomenklatur ist eine Definition bestimmter Symptome, die vorhanden sein müssen, um ein post-COVID-Syndrom zu diagnostizieren weiterhin nicht vorhanden¹⁰².

Das post-COVID-Syndrom zeigt ein sehr heterogenes klinisches Bild mit Symptomen unterschiedlichster Organsysteme. Die Häufigkeit der postinfektiösen Symptome variiert zwischen den vielen verschiedenen Studien wobei die häufigsten berichteten Symptome Müdigkeit, Luftnot, Geruchs- oder Geschmacksveränderungen, Kopfschmerzen, Muskelschmerzen, Gelenkschmerzen, Husten, kognitive Beeinträchtigungen und Schlafstörungen sind^{74,95,103-109}. Es ist bekannt, dass postinfektiöse Symptome häufiger nach schweren COVID-19 Verläufen auftreten^{74,95,108,109}. Asymptomatische bis mittelschwere Verläufe, die im ambulanten Bereich stattfinden, machen die Mehrheit aller COVID-19 Fälle aus, während nur 5-10 % der akuten Patienten ins Krankenhaus eingeliefert werden, aber auch nach maximal mittelschwerer COVID-19 Erkrankung treten postinfektiöse Langzeitsymptome in relevanter Häufigkeit auf^{74,95,109}. Die Anzahl der postinfektiösen Symptome nach COVID-19 nimmt mit der Zeit ab, aber auch bereits verschwundene Symptome können wieder auftreten^{60,110,111}. Über zwölf Wochen nach Infektion zeigten sich im Rahmen einer Untersuchung, die im Raum Tübingen durchgeführt wurde, eine Prävalenz des post-COVID-Syndroms von 46 % bei nicht-hospitalisierten und 73 % bei hospitalisierten Rekonvaleszenten⁷⁴. Das post-COVID-Syndrom kann zu relevanten Einschränkungen im Leben Betroffener führen und es wurde kürzlich

berichtet, dass 11 % aller Patienten nach milder COVID-19 Erkrankung auch noch sieben Monate nach Infektion im täglichen Leben und Arbeitsalltag eingeschränkt waren¹¹². Patienten mit erhöhtem Risiko für post-COVID-Syndrom zu identifizieren ist folglich eine der zentralen Aufgaben von behandelnden Ärzten und Gesundheitssystemen im Allgemeinen¹¹³.

Derzeit ist die Pathophysiologie des post-COVID-Syndroms noch nicht vollständig verstanden, es gibt keine pathognomonischen klinischen Untersuchungsergebnisse oder laborchemischen Befunde und die Erkenntnisse sind teilweise sogar widersprüchlich, wobei eine dysregulierte Immunantwort, die Bildung von Autoantikörpern, direkte Virustoxizität, eine Endothelschädigung, endokrine Veränderungen und die Dysregulation des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems eine Rolle zu spielen scheinen^{79,114-122}. Mehrere Studien haben gezeigt, dass ein höheres Alter, ein höherer „Body mass index“ (BMI), das weibliche Geschlecht und eine höhere Anzahl von Symptomen bei Krankheitsbeginn mit einem größeren Risiko für post-COVID-Syndrome einhergehen¹²³⁻¹²⁶.

1.2. Fragestellung dieser Arbeit

Das Wissen über Art und Auftreten postinfektiöser Symptome nach SARS-CoV-2 Infektion, die Pathophysiologie des post-COVID-Syndroms und die Rolle der humoralen Immunantwort, sowie mögliche Risikofaktoren ist im Laufe der COVID-19 Pandemie rapide gewachsen. Aber immer noch sind viele Fragen offen und die Erkenntnisse teilweise widersprüchlich. Insbesondere im Hinblick auf, im Rahmen der Akuterkrankung, nichthospitalisierte Rekonvaleszente mit milderem COVID-19 Verläufen ist der Wissenstand weiter unvollständig, da die Mehrzahl der Studien bei hospitalisierten Personen durchgeführt wurde.

Das Hauptziel dieser Arbeit ist zu untersuchen, ob es einen Zusammenhang von post-COVID-19 Symptomen mit humoralen SARS-CoV-2 spezifischen Immunantworten gibt, um so neue Prädiktoren und Biomarker des post-COVID-Syndroms zu identifizieren. Um dieses Ziel zu erreichen sollen folgende Untersuchungen durchgeführt bzw. folgende Fragestellungen adressiert werden:

- Die Darstellung postinfektiöser Symptome sechs Monate nach milder bis moderater SARS-CoV-2 Infektion in einer Kohorte von 51 Rekonvaleszenten, die nicht hospitalisiert waren.
- Die Untersuchung, ob eine Korrelation zwischen Auftreten postinfektiöser Symptome und der humoralen Immunantwort (Anti-Spike Antikörper und Anti-Nukleokapsid Antikörper) in der subakuten Phase und der post-COVID-Phase des Verlaufs der SARS-CoV-2 Infektion in dieser Kohorte besteht.
- Die Untersuchung, ob eine Korrelation zwischen Auftreten postinfektiöser Symptome und weiteren klinischen Parametern (Alter, Geschlecht und BMI) der untersuchten Personen besteht.

2. Material und Methoden

2.1. Studiendesign und Spender

Die in dieser Arbeit ausgewerteten Daten wurden in einer monozentrischen, experimentellen Studie, die durch die Klinische Kooperationseinheit Translationale Immunologie (unter Leitung von Frau Prof. Walz) von 04/2020 bis 08/2020 durchgeführt wurde, erhoben. Das primäre Ziel dieser Studie war zunächst die Charakterisierung der SARS-CoV-2 T-Zell-Antworten nach COVID-19. Die Studie wurde von der lokalen Ethikbehörde genehmigt und wurde gemäß deren Richtlinien durchgeführt (179/2020/BO2).

Die Blutproben von 51 rekonvaleszenten Erwachsenen nach asymptomatischer, leichter oder mittelschwerer SARS-CoV-2 Infektion (n = 51) wurden zwischen 04/2020 und 08/2020 am Universitätsklinikum Tübingen gesammelt. Die Einteilung zum Schweregrad der Erkrankung erfolgte nach den WHO-Kriterien¹¹⁰. Es wurde von allen Teilnehmern der Studie eine Einwilligung nach umfassender Aufklärung gemäß des Protokolls der Deklaration von Helsinki eingeholt.

Eine Infektion mit dem SARS-CoV-2-Virus wurde anhand eines Nasen-Rachen-Abstrichs mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) - Test nachgewiesen. Die Blutproben zum frühen Zeitpunkt (Z_F) wurden 35 bis 56 Tage nach positiver PCR entnommen, im Median nach 40 Tagen, die Blutentnahme zum späten Zeitpunkt (Z_S) erfolgte zwischen dem 141. bis 183. Tag, im Median nach 159 Tagen, nach positiver PCR.

Die Daten zu klinischen Charakteristika, den analysierten SARS-CoV-2 spezifischen Antikörperspiegeln und den postinfektiösen Symptomen wurden vor Beginn des Dissertationsprojekt erhoben. Ergebnisse der, in der klinischen Kooperationseinheit Translationale Immunologie durchgeführten, Gesamtstudie, in die diese Dissertation eingebettet ist, wurden bereits in anderen Arbeiten veröffentlicht (siehe auch Kapitel 7 Erklärung zum Eigenanteil)^{60,127-129}.

2.2. Probensammlung und Antikörper Analysen

Anti-SARS-CoV-2-Nukleokapsid, Anti-SARS-CoV-2-Spike Immunglobulin G (IgG) und Anti-SARS-CoV-2-Spike Immunglobulin A (IgA) Antikörper wurden zu den Zeitpunkten Z_F und Z_S bestimmt. Mittels Elecsys® Anti-SARS-CoV-2-Immunoassay (Roche Diagnostics) wurden Anti-SARS-CoV-2 Nukleokapsid Antikörper Indexwerte (einschließlich IgG und IgA) bestimmt. Für Anti-SARS-CoV-2-Spike IgG und IgA Antikörper erfolgte die Bestimmung der Titer mittels des Euroline Anti-SARS-CoV-2® Test (Euroimmune).

Gemäß den Angaben des Herstellers wurde der 96-Well Euroline Anti-SARS-CoV-2® Test (Euroimmune, 2606A_A_DE_C03, Stand: 22. April 2020) auf einem automatisierten BEP 2000 Advance System (Siemens Healthcare Diagnostics GmbH) durchgeführt. Der „Enzyme-linked Immunosorbent Assay“ (ELISA) weist Anti-SARS-CoV-2 IgG und IgA nach, welche gegen die S1-Domäne des viralen Spike-Proteins (einschließlich der immunologisch relevanten RBD) gerichtet sind. Die Untersuchung basiert auf einem Assay-spezifischen Kalibrationsprozesses, der das Verhältnis der Probenabsorption zur Kalibratorabsorption angibt. Durch das Verhältnis oberhalb eines vom Hersteller angegebenen Schwellenwerts wird die endgültige Interpretation der Nachweisbarkeit bestimmt: positiv (Verhältnis $\geq 1,1$), grenzwertig (Verhältnis $0,8 - 1,0$) oder negativ (Verhältnis $< 0,8$). Die Werte der Anti-Spike IgG und Anti-Spike IgA Antikörper werden in den Abbildungen als Verhältnis über dem Schwellenwert angegeben. Die Qualitätskontrolle wurde an jedem Testtag gemäß den Anweisungen des Herstellers durchgeführt.

Der Elecsys® anti-SARS-CoV-2-Immunoassay ist ein Elektrochemilumineszenz-Immunoassay (ECLIA), welcher von der Roche Diagnostics GmbH entwickelt wurde. Er wurde gemäß den Angaben des Herstellers (V. 1.0, Stand Mai 2020) verwendet und ist für den Nachweis von hochaffinen Gesamtantikörpern (einschließlich IgG und IgA) gegen das Nukleokapsid-Protein von SARS-CoV-2 in Humanserum bestimmt. Die Auslesung erfolgte auf dem Cobas e411-Analysegerät (Roche Diagnostics). Negative Ergebnisse wurden durch einen Cut-off-Index von $< 1,0$ definiert. Die Werte der Anti-Nukleokapsid Antikörper sind

in den Abbildungen als Indexwerte angegeben. Die Qualitätskontrolle wurde an jedem Testtag gemäß den Anweisungen des Herstellers durchgeführt.

2.3. Erhebung allgemeiner Charakteristika der Spender und postinfektiöser Symptome

Anhand eines Fragebogens erfolgten die Erfassung allgemeiner Charakteristika der Spender (Geschlecht, Alter, Größe, Gewicht), sowie die Selbsteinschätzung von zehn postinfektiösen Symptomen, inklusive Schweregrad, zum Zeitpunkt Z_s (141 bis 183 Tage nach positiver SARS-CoV-2-PCR). Der Schweregrad konnte als keine, leichte, mittelschwere oder schwere Symptome angegeben werden.

Die Einzelsymptome wurden anhand ihrer Natur in 4 übergeordnete Kategorien eingeteilt: allgemeine Symptome (Müdigkeit und verminderte Leistungsfähigkeit), veränderte Sinneswahrnehmung (Geruchs- und Geschmacksveränderungen und Hörminderung), neuropsychiatrische Symptome (Unruhe, Palpitationen, Reizbarkeit und Kopfschmerzen) und pulmonale Symptome (Husten und Dyspnoe). Die Spender wurden als symptomatisch für eine Kategorie gewertet bei Auftreten von mindestens eines Symptoms der jeweiligen Kategorie.

Der Symptomscore zur Abschätzung der Gesamtsymptomlast wurde durch die Summe der Schweregrade der Symptome (keine = 0, leicht = 1, mittelschwer = 2, schwer = 3) aufgrund der Selbsteinschätzung der Spender gebildet.

Um eine altersspezifische Korrelation der Symptomlast und der SARS-CoV-2-spezifischen humoralen Immunantwort zu untersuchen, wurden die Spender in 3 Alterskohorten unterteilt: unter Dreißigjährige, Dreißig- bis Fünfzigjährige und über Fünfzigjährige.

Der BMI wurde anhand des Gewichts und der Größe errechnet. Entsprechend den WHO-Kriterien erfolgte die Einteilung der Spender in drei Gruppen: normalgewichtige Personen mit einem BMI unter 25, präadipöse Personen mit einem BMI von 25 bis 30 und adipöse Personen mit einem BMI über 30.

2.4. Software und statistische Methoden

Die Auswertung der Daten erfolgt mit Hilfe von JMP Pro (SAS Institute, V. 16). Es werden die jeweils geeigneten statistischen Tests wie, z. B. Mann-Whitney-U oder Kruskal-Wallis-Test, verwendet. Die Darstellung der Daten erfolgt anhand des Mittelwerts mit Standardabweichung (SD), Boxplots mit Median und mit 25. und 75. Perzentile und Min/Max-Whisker, sowie einzelner Datenpunkte. P-Werte unter 0,05 wurden als statistisch signifikant gewertet. Die Diagramme wurden mittels GraphPad Prism (V. 9.1.2) erstellt.

3. Ergebnisse

3.1. Überblick der Spender

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Daten von 51 Rekonvaleszenten nach milder bis moderater SARS-CoV-2 Infektion analysiert. Zum Zeitpunkt der COVID-19 Erkrankung waren diese im Mittel 43,4 (SD \pm 13,7) Jahre alt. Die Geschlechterverteilung war gleichmäßig mit 26 Frauen und 25 Männern. Der BMI lag im Mittel bei 25 (SD \pm 3). Normalgewichtig waren mit einem BMI bis 25 kg/m² 50% aller untersuchten Personen, bei 41 % lag eine Präadipositas mit einem BMI von 25 - 29,9 kg/m² vor und 9 % waren adipös mit einem BMI > 30 kg/m². Von den 51 Rekonvaleszenten war keiner schwer an COVID-19 erkrankt, gemäß den WHO Kriterien oder wurde hospitalisiert¹¹⁰. Tabelle 1 gibt einen Überblick über die Charakteristika der untersuchten Population^{60,128}.

Tabelle 1: Charakteristika der Spender

n: Anzahl. BMI: Body Mass Index (adaptiert an Hackenbruch et al. und Bilich et al.^{60,128}).

Spender	
Anzahl	51
Geschlecht (n [%])	
Weiblich	26 (51)
Männlich	25 (49)
Alter (Jahren)	
Mittelwert	43
Standardabweichung	14
Median	43
Spannweite	21 - 66
Verteilung des Alters (n [%])	
< 30 Jahre	13 (26)
30 – 50 Jahre	20 (39)
> 50 Jahre	18 (35)
BMI (kg/m²)	
BMI vorhanden (n [%])	44 (86)
Mittelwert	25
Standardabweichung	3
Median	25
Spannweite	20-33
Verteilung des BMI (n [%])	
> 30 kg/m ²	4 (9)
25 – 30 kg/m ²	18 (41)
< 25 kg/m ²	22 (50)

3.2. Postinfektiöse Symptome (Häufigkeit, Art und Verteilung postinfektiöser Symptome)

Bei 76 % der Spender zeigte sich mindestens ein postinfektiöses Symptom am Zeitpunkt Z_s (141 bis 183 Tage nach positivem PCR-Test auf SARS-CoV-2). Im Median wurden zwei postinfektiöse Symptome angegeben (Spannweite 0 bis 9 Symptome). Drei oder mehr postinfektiöse Symptome gaben 41 %, ein bis zwei postinfektiöse Symptome 35 % und gar keine postinfektiösen Symptome 24 % aller untersuchten Personen an (Tabelle 2)¹²⁸.

Fatigue (45 %), Geruchs- oder Geschmacksstörung (29 %), Kopfschmerzen (28 %) und Leistungsminderung (28 %) waren die häufigsten postinfektiösen Symptome. Darüber hinaus berichteten die Spender über Reizbarkeit (22 %), Dyspnoe (16 %), Unruhe (14 %), Palpitationen (14 %), Husten (12 %) und Hörminderung (10 %) (Tabelle 2)¹²⁸.

Die Symptome wurden basierend auf Ihrer Natur 4 Kategorien zugeordnet. Bei Auftreten mindestens eines postinfektiösen Symptoms der jeweiligen Kategorie wurden die Rekonvaleszenten als symptomatisch für diese Kategorie gewertet. Es zeigten sich allgemeine Symptome (Müdigkeit, Leistungsminderung) bei 69 %, veränderte Sinneswahrnehmungen (Geruchs- oder Geschmacksstörung, Hörminderung) bei 43 %, neuro-psychiatrische Symptome (Unruhe, Palpitationen, Reizbarkeit und Kopfschmerzen) bei 45 % und pulmonale Symptome (Dyspnoe, Husten) bei 25 % aller untersuchten Personen (Tabelle 2)¹²⁸.

Basierend auf der Anzahl der berichteten Beschwerden und deren Schweregraden wurde ein summierter Symptomscore gebildet. Im Median wiesen die Rekonvaleszenten drei Scorepunkte auf (Reichweite 0-17 Punkt). Bei 37% aller Personen zeigten sich mehr als drei Scorepunkte, bei 39 % ein bis drei Scorepunkte und bei 24 % null Scorepunkte (Tabelle 2)¹²⁸.

Nur 14 Personen schrieben die angegebenen Beschwerden einer postinfektiösen Genese nach durchgemachter COVID-19 Erkrankung zu^{60,128}. In

dieser Arbeit wurden alle angegebenen Symptome für die durchgeführten weiterführenden Untersuchungen berücksichtigt (Tabelle 2).

Rekonvaleszente Personen, die einen Symptomscore über drei aufwiesen oder drei oder mehr Symptome zeigten, wurden in dieser Arbeit als Patienten mit post-COVID-Syndrom betrachtet. Tabelle 2 gibt einen detaillierten Überblick über die aufgetretenen postinfektiösen Symptome (Tabelle 2)^{60,128}.

Tabelle 2: Postinfektiöse Symptome

Zs: später Zeitpunkt, 141 bis 183 Tage nach positiver PCR (adaptiert an Hackenbruch et al. und Bilich et al.^{60,128}).

Anzahl postinfektiöser Symptome an Zs (n)	
Median	2
Spannweite	0 - 9
Anzahl postinfektiöser Symptome an Zs (n [%])	
≥ 3	21 (41)
1 - 2	18 (35)
0	12 (24)
Einzelsymptome an Zs (n [%])	
Fatigue	23 (45)
Geruchs- oder Geschmacksstörung	15 (29)
Kopfschmerzen	14 (28)
Leistungsminderung	14 (28)
Reizbarkeit	11 (22)
Dyspnoe	8 (16)
Unruhe	7 (14)
Palpitationen	7 (14)
Husten	6 (12)
Hörminderung	5 (10)
Kategorisierte Symptome an Zs (n [%])	
Allgemeine Symptome	25 (49)
Veränderte Sinneswahrnehmung	22 (43)
Neuro-psychiatrische Symptome	23 (45)
Pulmonale Symptome	13 (25)
Symptomscore an Zs (Punktwert)	
Median	3
Spannweite	0 - 17
Verteilung des Symptomscores an Zs (n [%])	
> 3	19 (37)
1 - 3	20 (39)
0	12 (24)
Selbsteinschätzung der Spender an Zs (n [%])	
Asymptomatische Spender	12 (24)
Symptomatische Spender	39 (76)

3.3. Allgemeine Charakteristika und postinfektiöse Symptome

Die untersuchten Personen wurden im Hinblick auf ihr Geschlecht aufgeteilt und auf Unterschiede in der Anzahl der Symptome oder des Symptomscores untersucht. Hierbei zeigte sich zwischen weiblichen und männlichen Rekonvaleszenten kein Unterschied (p-Werte: 0,527 und 0,668; Abbildung 2A und B).

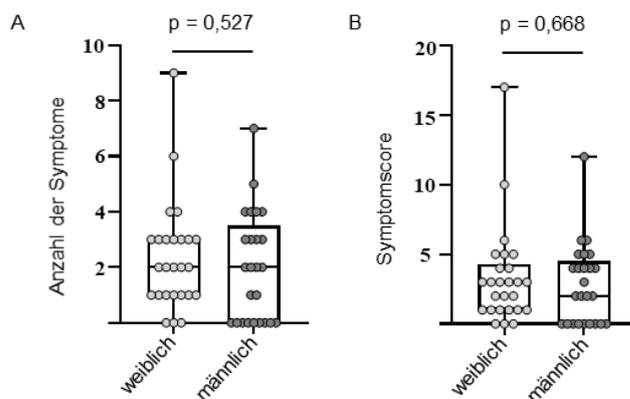


Abbildung 2: Geschlecht und Anzahl der postinfektiösen Beschwerden sowie postinfektiöse Symptomlast.

Anzahl der Symptome (A), sowie Symptomscore (B) wurden zum Zeitpunkt Z_s (später Zeitpunkt 141 bis 183 Tage nach positiver PCR) erhoben. Die Spender wurden anhand ihres angegebenen Geschlechts unterteilt (weiblich/ männlich). Die Daten werden als Boxplots mit 25. und 75. Perzentile und Min/Max-Whisker dargestellt. Die p-Werte wurden mittels Mann-Whitney-U-Test berechnet. p, p-Wert.

Ein Vergleich des Alters der Spender und der Anzahl an postinfektiösen Symptomen ergab, dass Personen mit zunehmendem Lebensalter signifikant mehr Symptome zeigten (p-Wert: 0,029, Abbildung 3A). Ebenso imponierte bei älteren Rekonvaleszenten ein signifikant höherer Symptomscore (p-Wert: 0,029, Abbildung 3C).

Zur weiterführenden Untersuchung wurde die Population in drei Altersgruppen (< 30 Jahre, 30 – 50 Jahre und > 50 Jahre) aufgeteilt. Hierbei zeigten sich bei den unter Dreißigjährigen signifikant weniger postinfektiöse Symptome sowohl verglichen mit den Dreißig- bis Fünfzigjährigen als auch mit den über Fünfzigjährigen (P-Werte: 0,043 und 0,045; Abbildung 3B). Zwischen den

Dreißig- bis Fünfzigjährigen und den über Fünfzigjährigen fand sich kein Unterscheid (p -Wert: 0,988; Abbildung 3B). Ebenso imponierten sowohl zwischen den unter Dreißigjährigen und den Dreißig- bis Fünfzigjährigen als auch zwischen den unter Dreißigjährigen und den über Fünfzigjährigen signifikant unterschiedliche Symptomscores mit höheren Werten für die jeweils ältere Gruppe (p -Werte: 0,043 und 0,035; Abbildung 3D). Zwischen den Dreißig- bis Fünfzigjährigen und den über Fünfzigjährigen fand sich auch im Hinblick auf den Symptomscore kein Unterscheid (p -Wert: 0,941; Abbildung 3D).

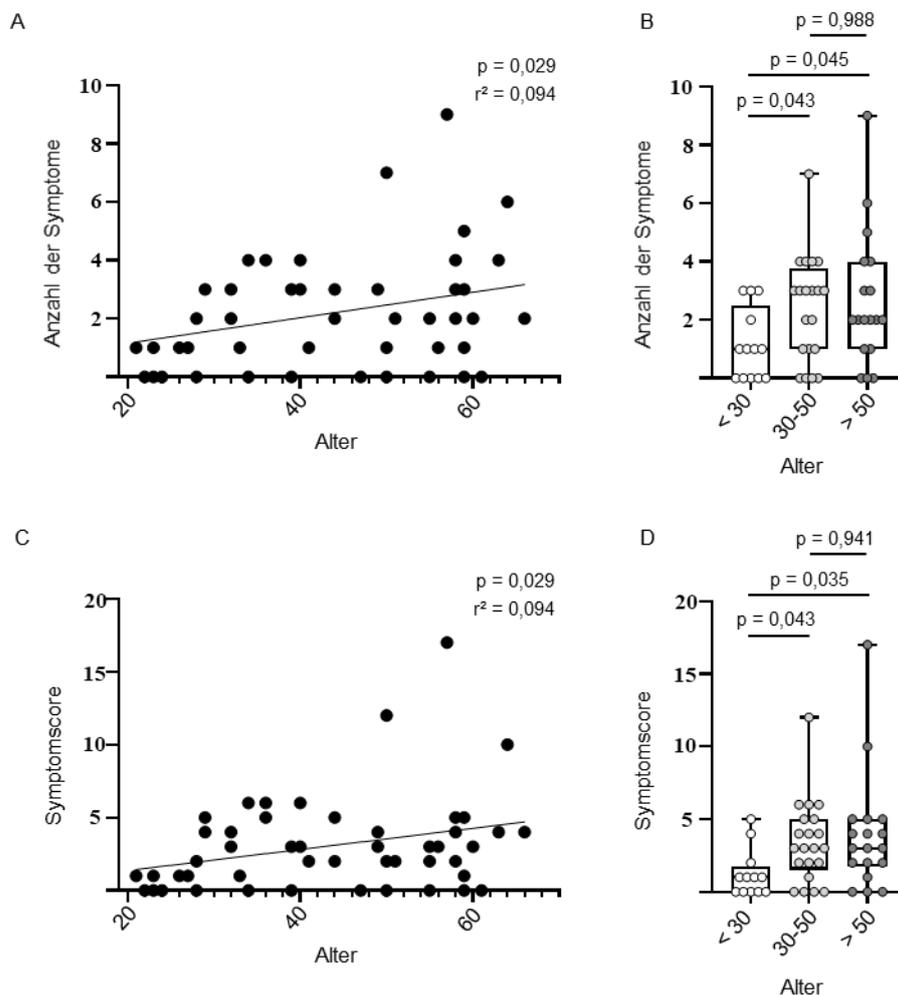


Abbildung 3: Alter und Anzahl der postinfektiösen Beschwerden sowie postinfektiöse Symptomlast.

Die Anzahl der Symptome (oben), sowie der Symptomscore (unten) wurden zum Zeitpunkt Z_s (später Zeitpunkt 141 bis 183 Tage nach positiver PCR) erhoben. Die Spender wurden anhand ihres Alters in 3 Gruppen unterteilt (B und D). Die Daten werden als Streudiagramm (A und C) und als Boxplots mit 25. und 75. Perzentile und Min/Max-Whisker (B und D) dargestellt. Die p -Werte und die r^2 -Werte wurden mittels einfacher linearer Regression (A und C) und mittels Kruskal-Wallis-Test (B und D) berechnet. p , p -Wert; r^2 , Bestimmtheitsmaß.

Eine Analyse des BMIs der untersuchten Personen und der Anzahl der Symptome ergaben keine Korrelation (p-Wert: 0,507; Abbildung 4A). Gleichmaßen war keine Korrelation zwischen BMI und den erhobenen Symptom scores festzustellen (p-Wert: 0,476 Abbildung 4C).

Im nächsten Schritt wurden die Personen in Normalgewichtige (BMI < 25), Personen mit Präadipositas (BMI 25 – 30) und adipöse Rekonvaleszente (BMI > 30) aufgeteilt. Es zeigte sich lediglich ein nicht signifikanter Trend zu mehr Symptomen bei Personen mit einem BMI von 25 – 30 verglichen zu Rekonvaleszenten mit einem BMI unter 25 (p-Wert: 0,064; Abbildung 4B). Im Vergleich eben dieser präadipösen Personen mit Normalgewichtigen ergab sich ein signifikant höherer Symptom score für die präadipöse Gruppe (p-Wert: 0,041; Abbildung 4D). Zwischen allen anderen Gruppen fanden sich keine signifikanten Unterschiede (p-Werte: 0,913, 0,301, 0,971 und 0,132; Abbildung 4B und D).

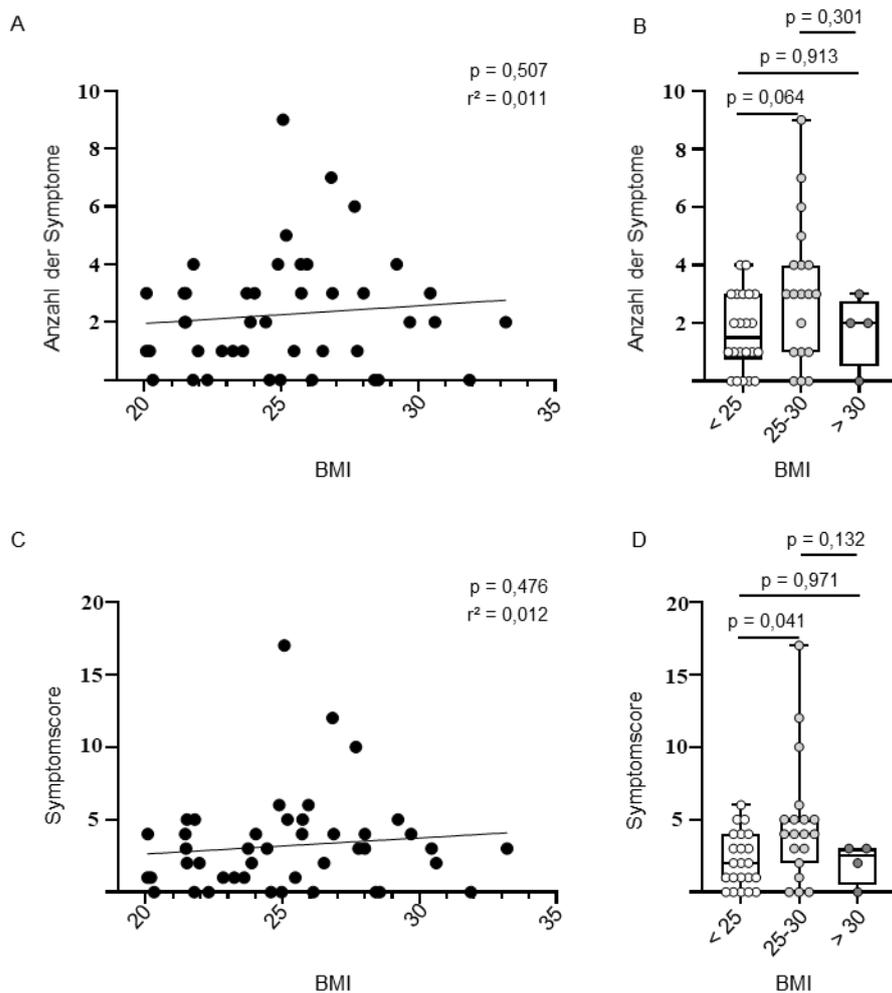


Abbildung 4: Body Mass Index und Anzahl der postinfektiösen Beschwerden sowie postinfektiöse Symptomlast.

Die Anzahl der Symptome (A und B), sowie der Symptomscore (C und D) wurden zum Zeitpunkt Z_s (später Zeitpunkt 141 bis 183 Tage nach positiver PCR) erhoben. Die Spender wurden anhand ihres BMIs in 3 Gruppen unterteilt (B und D). Die Daten werden als Streudiagramm (A und C) und als Boxplots mit 25. und 75. Perzentile und Min/Max-Whisker (B und D) dargestellt. Die p-Werte und die r^2 -Werte wurden mittels einfacher linearer Regression (A und C) und mittels Kruskal-Wallis-Test (B und D) berechnet. p, p-Wert; r^2 , Bestimmtheitsmaß.

Zusammenfassend wiesen unter dreißigjährige Spender signifikant weniger Symptome auf als beide Gruppen älterer Personen (p-Werte: 0,043 und 0,045; Abbildung 3B). Passend hierzu hatten unter Dreißigjährige einen signifikant niedrigeren Symptomscore als Dreißig- bis Fünfzigjährige und über Fünfzigjährige (p-Werte: 0,043 und 0,035; Abbildung 3D). In Bezug auf den BMI konnte ein signifikant höherer Symptomscore bei Spendern mit einem BMI von 25 bis 30 im Vergleich zu normalgewichtigen Personen festgestellt werden mit dem gleichen Trend für die Anzahl der Beschwerden ohne statistische

Signifikanz (p-Werte: 0,041, 0,064; Abbildung 4D und C). Geschlechtsspezifische Unterschiede bezüglich der Symptomanzahl und des Symptomscores konnten nicht nachgewiesen werden.

3.4. Humorale Immunantwort und postinfektiöse Symptome

Es wurden am frühen Zeitpunkt Z_F (35 bis 56 Tage nach positiver PCR) und am späten Zeitpunkt Z_S (141 bis 183 Tage nach positiver PCR) Anti-Nukleokapsid Antikörper, Anti-Spike IgG Antikörper und Anti-Spike IgA Antikörper bestimmt. Positive Anti-Nukleokapsid Antikörper zeigten sich an beiden Zeitpunkten für 88% der untersuchten Personen. Im Unterschied hierzu sank die Serokonversionsrate von Anti-Spike Antikörpern sowohl bei IgG von 84 % auf 75 % als auch bei IgA von 80 % auf 71 % im zeitlichen Verlauf nach durchgemachter SARS-CoV-2 Infektion (Tabelle 3)^{60,128}.

Tabelle 3: Antikörperreaktion und Serokonversionsraten

Z_F : früher Zeitpunkt 35 bis 56 Tage nach positiver PCR. Z_S : später Zeitpunkt 141 bis 183 Tage nach positiver PCR (adaptiert an Hackenbruch et al. und Bilich et al.^{60,128}).

SARS-CoV-2 Antikörper Testpositivität (n [%])	
Anti-Nukleokapsid Antikörper	
Anti-Nukleokapsid Antikörper Z_F	45 (88)
Anti-Nukleokapsid Antikörper Z_S	45 (88)
Anti-Spike IgG Antikörper	
Anti-Spike IgG Antikörper Z_F	43 (84)
Anti-Spike IgG Antikörper Z_S	38 (75)
Anti-Spike IgA Antikörper	
Anti-Spike IgA Antikörper Z_F	41 (80)
Anti-Spike IgA Antikörper Z_S	36 (71)

3.4.1. Humorale Immunantwort und Anzahl der postinfektiösen Symptome

Es wurden die untersuchten Personen nach der Anzahl der berichteten postinfektiösen Symptome in zwei Gruppen eingeteilt (≤ 2 Symptome (n = 30) versus ≥ 3 Symptome (n = 21) = post-COVID-Syndrom), um die SARS-CoV-2 spezifische humorale Immunantworten bei Rekonvaleszenten mit unterschiedliche vielen postinfektiösen Symptomen zu analysieren. Die Gruppe der Personen mit post-COVID-Syndrom wies signifikant höhere Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel an Z_F und Z_S sowie signifikant erhöhte Anti-Spike

IgG Antikörperspiegel bei Z_F und einen Trend zu erhöhten Anti-Spike IgG Antikörperspiegeln auch bei Z_S auf (p-Werte: 0,007, 0,045, 0,024 bzw. 0,062; Abbildung 5A, D, B, und E). Zwischen beiden Gruppen zeigte sich im Hinblick auf Anti-Spike IgA Antikörperspiegel kein Unterschied an beiden Zeitpunkten (p-Werte: 0,368, 0,485; Abbildung 5C und F)¹²⁸.

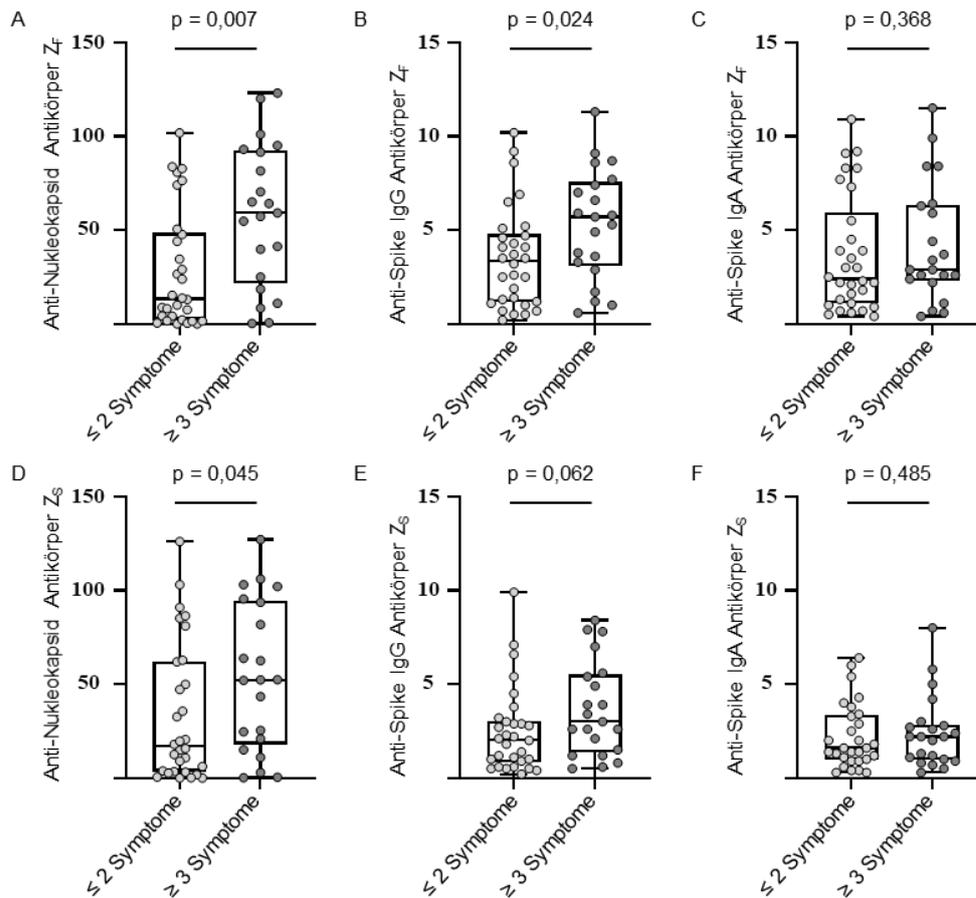


Abbildung 5: Anzahl der Symptome (2 Gruppen) und Antikörperantworten. Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel (A und D), Anti-Spike IgG Antikörperspiegel (B und E) und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel (C und F) wurden bei rekonvaleszenten Personen (n = 51) zum Zeitpunkt Z_F (früher Zeitpunkt 35 bis 56 Tage nach positiver PCR, A, B und C) und Z_S (später Zeitpunkt 141 bis 183 Tage nach positiver PCR, D, E und F) bestimmt. Die Spender wurden nach der Anzahl der postinfektiösen Symptome zum Zeitpunkt Z_S in 2 Gruppen aufgeteilt. Die Werte der Anti-Spike IgG Antikörper und Anti-Spike IgA Antikörper sind als Verhältnis über dem Schwellenwert angegeben. Die Werte der Anti-Nukleokapsid Antikörper sind als Indexwert angegeben. Die Daten werden als Boxplots mit 25. und 75. Perzentile und Min/Max-Whisker dargestellt. Die p-Werte wurden mittels Mann-Whitney-U-Test berechnet. p, p-Wert (adaptiert an Hackenbruch et al.¹²⁸).

Zur Untersuchung von Unterschieden in der SARS-CoV-2-spezifischen humoralen Immunantwort speziell zwischen asymptomatische Personen und Personen mit ein bis zwei postinfektiösen Symptomen wurde die Gruppe der

Rekonvaleszenten ohne post-COVID-Syndrom in eben diese beiden Untergruppen weiter unterteilt. Es wurden drei Gruppen ausgewertet (0 Symptome (n = 12), 1 - 2 Symptome (n = 18), ≥ 3 Symptome (n = 21) = post-COVID-Syndrom)¹²⁸.

Passend zu den vorherigen Ergebnissen im Vergleich von nur 2 Gruppen fanden sich in der post-COVID-Syndrom Gruppe sowohl im Vergleich zu asymptomatischen Personen und solchen mit ein bis zwei Symptomen signifikant erhöhte Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel an Z_F (p-Werte: 0,035 bzw. 0,019; Abbildung 6A). Am Zeitpunkt Z_S zeigte sich ein ähnlicher, aber nicht signifikanter Trend (p-Werte: 0,161 bzw. 0,059; Abbildung 6D). Anti-Spike IgG Antikörperspiegel waren bei Rekonvaleszenten mit post-COVID-Syndrom an Z_F ebenso erhöht, wobei sich nur zwischen Personen mit ein bis zwei und \geq drei Symptomen eine statistische Signifikanz zeigte (p-Wert: 0,032; Abbildung 6B). Auch am Zeitpunkt Z_S fiel derselbe Trend zu höheren Anti-Spike IgG Antikörperspiegeln bei Personen mit post-COVID-Syndrom auf. Jedoch erreichte dieser sowohl im Vergleich zu asymptomatischen als auch zu Rekonvaleszenten mit ein bis zwei Symptomen keine statistische Signifikanz (p-Werte: 0,269 bzw. 0,057; Abbildung 6E). Zwischen den nicht post-COVID-Syndrom Gruppen, den asymptomatischen Personen und Rekonvaleszenten mit ein bis zwei Symptomen, gab es bei den Anti-Nukleokapsid und Anti-Spike IgG Antikörperspiegeln zu den beiden Zeitpunkten keine signifikanten Unterschiede (p-Werte: 0,849, 0,597, 0,751 und 0,446; Abbildung 6A, D, B und E). Ebenso wie im Vergleich von zwei Gruppen fanden sich im Hinblick auf Anti-Spike IgA Antikörperspiegel auch zwischen allen drei Gruppen zu keinem Zeitpunkt statistische relevante Unterschiede (p-Werte: 0,341, 0,896, 0,225, 0,703, 0,667, 0,490; Abbildung 6C und F)¹²⁸.

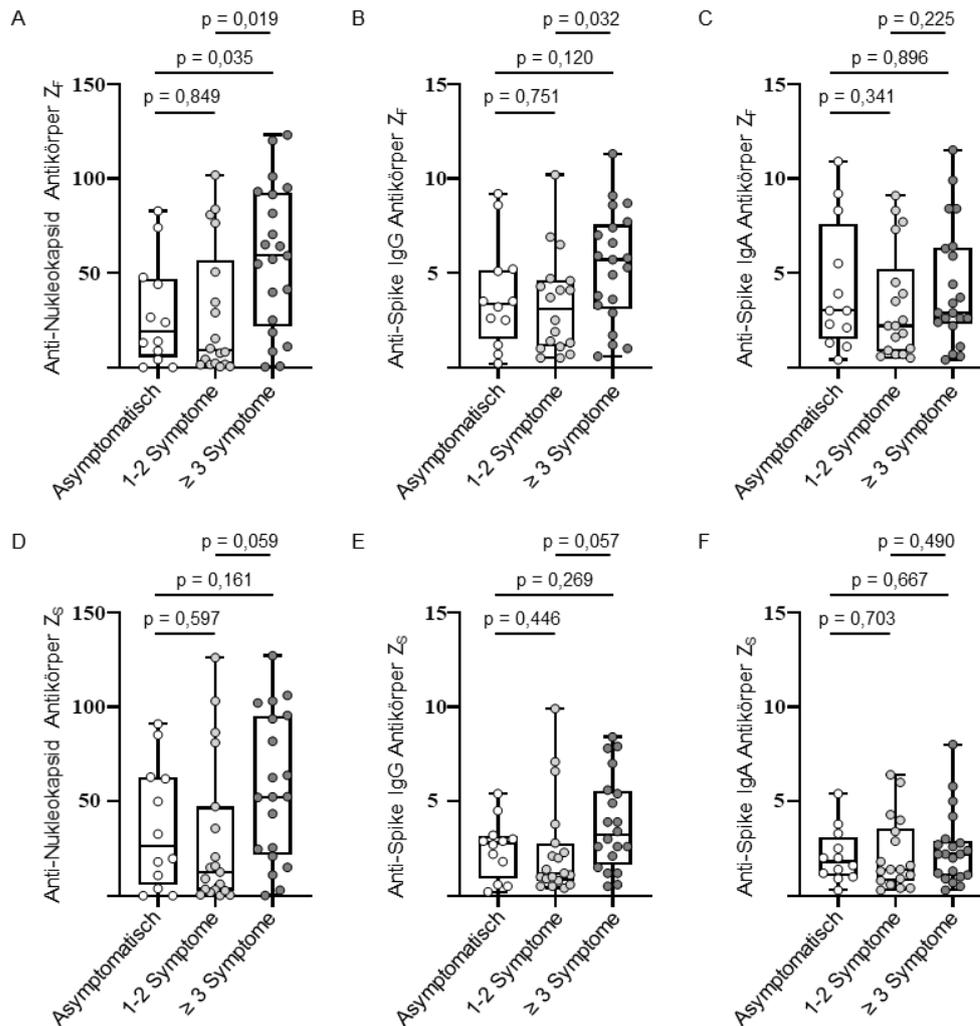


Abbildung 6: Anzahl der Symptome (3 Gruppen) und Antikörperantworten.

Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel (A und D), Anti-Spike IgG Antikörperspiegel (B und E) und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel (C und F) wurden bei rekonvaleszenten Personen ($n = 51$) zum Zeitpunkt Z_f (früher Zeitpunkt 35 bis 56 Tage nach positiver PCR, A, B und C) und Z_s (später Zeitpunkt 141 bis 183 Tage nach positiver PCR, D, E und F) bestimmt. Die Spender wurden nach der Anzahl der angegebenen Symptome zum Zeitpunkt Z_s in 3 Gruppen aufgeteilt. Die Werte der Anti-Spike IgG Antikörper und Anti-Spike IgA Antikörper sind als Verhältnis über dem Schwellenwert angegeben. Die Werte der Anti-Nukleokapsid Antikörper sind als Indexwert angegeben. Die Daten werden als Boxplots mit 25. und 75. Perzentile und Min/Max-Whisker dargestellt. Die p-Werte wurden mittels Kruskal-Wallis-Test berechnet. p, p-Wert (adaptiert an Hackenbruch et al.¹²⁸).

Insgesamt zeigten sich bei der Korrelation zwischen Symptomanzahl und humoraler Immunantwort signifikant höhere Anti-Nukleokapsid und Anti-Spike

IgG Antikörperspiegel bei Personen mit post-COVID-Syndrom im Vergleich zu asymptomatischen Personen und Rekonvaleszenten mit wenigen Beschwerden. Für Anti-Spike IgA Antikörperspiegel konnten keine Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden¹²⁸.

3.4.2. Humorale Immunantwort und postinfektiöse Symptomlast

Um die Auswirkungen der Gesamtsymptomlast der postinfektiösen Symptome auf die SARS-CoV-2 spezifische humorale Immunantwort zu untersuchen wurden die Spender anhand des Symptomscores in zwei Gruppen eingeteilt (Scorewert ≤ 3 (n = 32) versus Scorewert > 3 (n = 19) = post-COVID-Syndrom). Die Personen mit post-COVID-Syndrom zeigten signifikant erhöhte Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel an Z_F mit demselben, aber statistisch nicht signifikanten Trend an Z_S und signifikant höhere Anti-Spike IgG Antikörperspiegel an Z_F und Z_S (p-Werte: 0,019, 0,070, 0,031 bzw. 0,033; Abbildung 7A, C, B und E). Im Unterschied zu den anderen beiden Antikörperspiegeln fanden sich im Hinblick auf Anti-Spike IgA Antikörperspiegel zwischen Personen mit post-COVID-Syndrom und Rekonvaleszenten mit einem Symptomscore von drei oder weniger zu keinem der beiden Zeitpunkte Unterschiede (p-Werte: 0,316, 0,219; Abbildung 7C und F)¹²⁸.

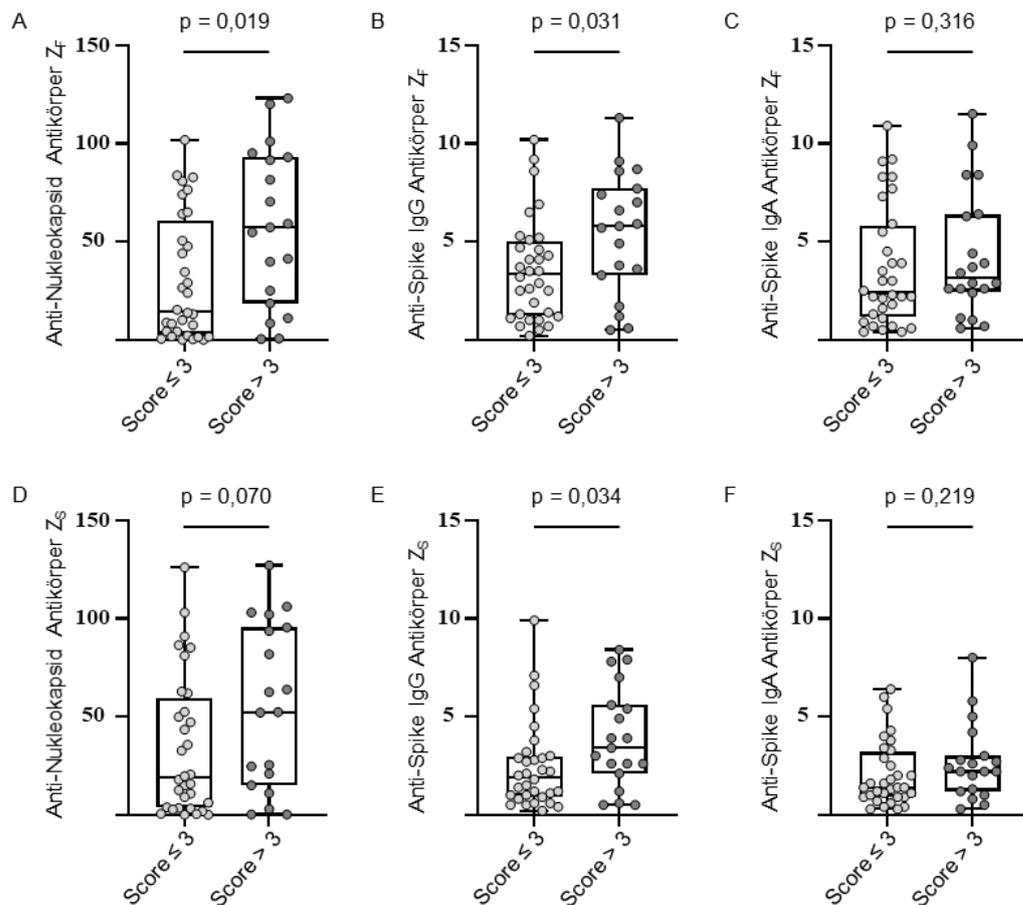


Abbildung 7: Symptomlast (2 Gruppen) und Antikörperantworten.

Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel (A und D), Anti-Spike IgG Antikörperspiegel (B und E) und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel (C und F) wurden bei rekonvaleszenten Personen (n = 51) zum Zeitpunkt Z_F (früher Zeitpunkt 35 bis 56 Tage nach positiver PCR, A, B und C) und Z_S (später Zeitpunkt 141 bis 183 Tage nach positiver PCR, D, E und F) bestimmt. Die Spender wurden anhand ihres errechneten Symptomscores zum Zeitpunkt Z_S in 2 Gruppen aufgeteilt. Die Werte der Anti-Spike IgG Antikörper und Anti-Spike IgA Antikörper sind als Verhältnis über dem Schwellenwert angegeben. Die Werte der Anti-Nukleokapsid Antikörper sind als Indexwert angegeben. Die Daten werden als Boxplots mit 25. und 75. Perzentile und Min/Max-Whisker dargestellt. Die p-Werte wurden mittels Mann-Whitney-U-Test berechnet. p, p-Wert (adaptiert an Hackenbruch et al.¹²⁸).

Für weitergehende Analysen im Hinblick auf Unterschiede in der SARS-CoV-2-spezifischen humoralen Immunantwort innerhalb der Gruppe ohne post-COVID-Syndrom wurde diese Gruppe mit drei oder weniger postinfektiösen Symptomen in asymptotische Rekonvaleszente und Personen mit einem Symptom-Scorewert von 1 bis 3 aufgeteilt. Es wurden folglich nun 3 Gruppen ausgewertet (Scorewert = 0 (n = 12), Scorewert 1 – 3 (n = 20), Scorewert > 3 (n = 19) = post-COVID-Syndrom).

Im Vergleich von nun drei Gruppen zeigten sich für die Personen mit post-COVID-Syndrom erhöhte Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel an Z_F im Vergleich zu asymptomatischen Personen und Rekonvaleszenten mit einem niedrigen Symptom-Score mit ein bis drei Scorepunkten auf (p-Werte: 0,049 bzw. 0,045; Abbildung 8A), mit ähnlicher Tendenz auch bei Z_S ohne statistische Signifikanz (p-Werte: 0,162 und 0,103; Abbildung 8D). Anti-Spike IgG Antikörperspiegel zeigten sich bei Rekonvaleszenten mit einem Symptomscore von drei oder mehr im Vergleich zu beiden anderen Gruppen an Z_F und Z_S erhöht, wobei sich eine statistische Signifikanz nur verglichen mit Personen mit einem Score von eins bis drei zeigte (p-Werte: 0,128, 0,040, 0,167 und 0,036; Abbildung 8B und E). Zwischen den beiden nicht post-COVID-Syndrom Untergruppen, den asymptomatischen Personen und den Rekonvaleszenten mit einem Symptomscore von eins bis drei, ergab sich zu keinem der beiden Zeitpunkte für Anti-Nukleokapsid oder Anti-Spike IgG Antikörperspiegel ein Unterschied (p-Werte: 0,923, 0,712, 0,892 und 0,381; Abbildung 8A, D, B und E). Erneut, wie bereits im Hinblick auf die Anzahl der Symptome, ließen sich zwischen allen drei Gruppen keine Unterschiede der Anti-Spike IgA Antikörperspiegel zu einem der beiden Zeitpunkte feststellen (p-Werte: 0,391, 0,903, 0,177, 0,520, 0,441 und 0,221; Abbildung 8C und F)¹²⁸.

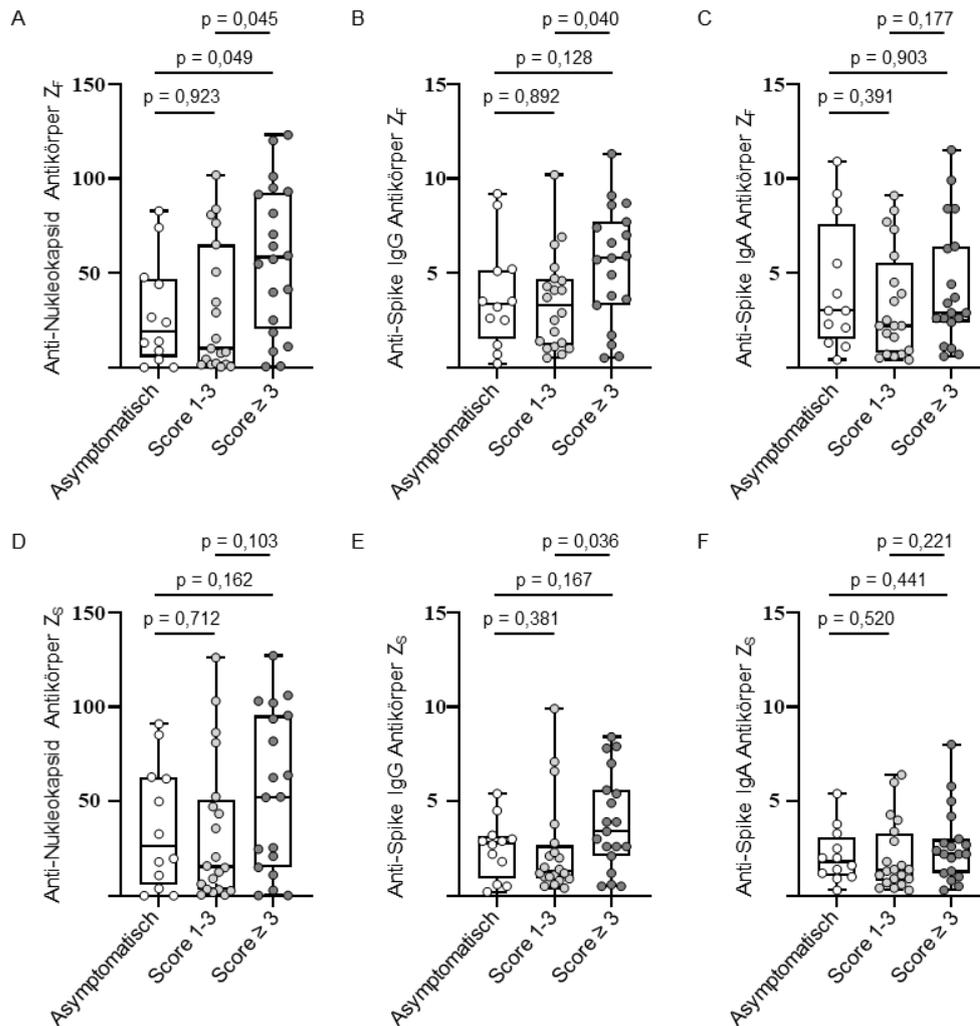


Abbildung 8: Symptomlast (3 Gruppen) und Antikörperantworten.

Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel (A und D), Anti-Spike IgG Antikörperspiegel (B und E) und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel (C und F) wurden bei rekonvaleszenten Personen ($n = 51$) zum Zeitpunkt Z_F (früher Zeitpunkt 35 bis 56 Tage nach positiver PCR, A, B und C) und Z_S (später Zeitpunkt 141 bis 183 Tage nach positiver PCR, D, E und F) bestimmt. Die Spender wurden anhand ihres errechneten Symptomscores zum Zeitpunkt Z_S in 3 Gruppen aufgeteilt. Die Werte der Anti-Spike IgG Antikörper und Anti-Spike IgA Antikörper sind als Verhältnis über dem Schwellenwert angegeben. Die Werte der Anti-Nukleokapsid Antikörper sind als Indexwert angegeben. Die Daten werden als Boxplots mit 25. und 75. Perzentile und Min/Max-Whisker dargestellt. Die p-Werte wurden mittels Kruskal-Wallis-Test berechnet. p, p-Wert (adaptiert an Hackenbruch et al.¹²⁸).

Zusammenfassend fanden sich für Personen mit post-COVID-Syndrom, analog zur Symptomanzahl, signifikant erhöhte Anti-Nukleokapsid und Anti-Spike IgG Antikörperspiegel im Vergleich zu asymptomatischen Personen und Rekonvaleszenten mit niedrigem Symptomscore. Auch hier konnten bei den Anti-Spike IgA Antikörperspiegeln keine Unterschiede festgestellt werden¹²⁸.

3.4.3. Humorale Immunantwort und einzelne postinfektiöse Symptome

Im Folgenden wurde die Überprüfung eines Zusammenhanges von SARS-CoV-2-spezifischer humoraler Immunantwort und den 10 einzelnen postinfektiösen Symptomen durchgeführt.

Zwischen Rekonvaleszenten, die eine Leistungsminderung angaben, und diesbezüglich beschwerdefreien Personen fand sich im Hinblick auf Anti-Nukleokapsid, Anti-Spike IgG und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel an beiden Zeitpunkten kein statistisch signifikanter Unterschied (p-Werte: 0,381, 1,000, 0,268, 0,321, 0,635 und 0,381; Abbildung 9A, D, B, E, C und F)¹²⁸.

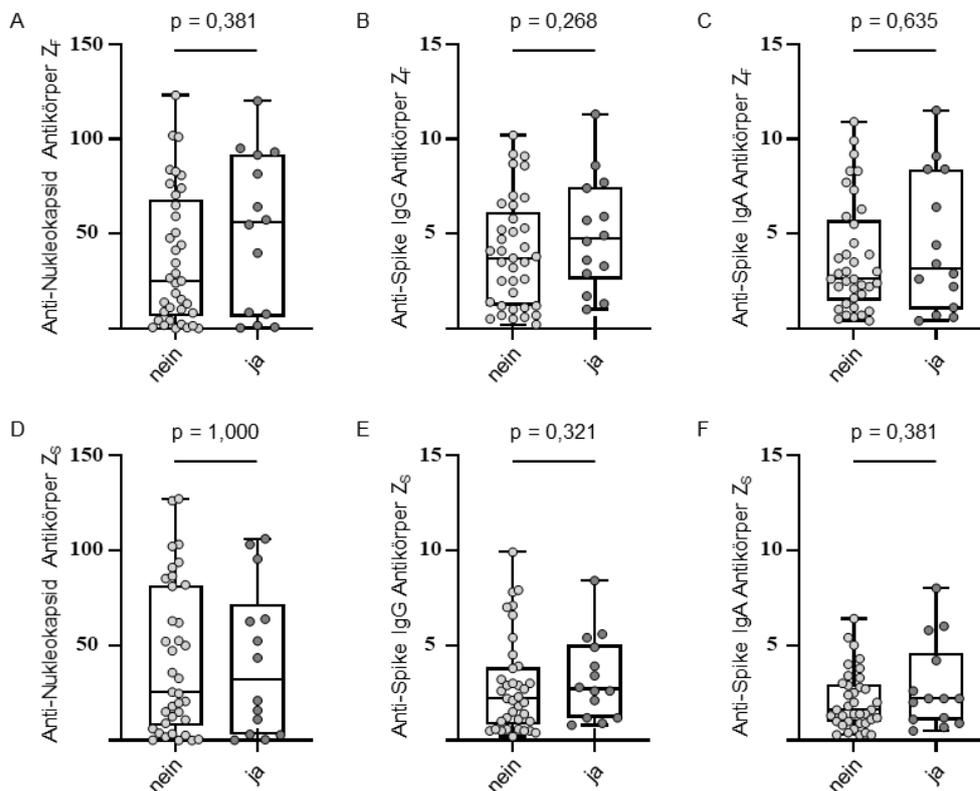


Abbildung 9: Leistungsminderung und Antikörperantworten.

Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel (A und D), Anti-Spike IgG Antikörperspiegel (B und E) und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel (C und F) wurden bei rekonvaleszenten Personen (n = 51) zum Zeitpunkt Z_F (früher Zeitpunkt 35 bis 56 Tage nach positiver PCR, A, B und C) und Z_S (später Zeitpunkt 141 bis 183 Tage nach positiver PCR, D, E und F) bestimmt. Die Spender wurden in Personen mit und Personen ohne Leistungsminderung (ja/ nein) zum Zeitpunkt Z_S in 2 Gruppen aufgeteilt. Die Werte der Anti-Spike IgG Antikörper und Anti-Spike IgA Antikörper sind als Verhältnis über dem Schwellenwert angegeben. Die Werte der Anti-Nukleokapsid Antikörper sind als Indexwert angegeben. Die Daten werden als Boxplots mit 25. und 75. Perzentile und Min/Max-Whisker dargestellt. Die p-Werte wurden mittels Mann-Whitney-U-Test berechnet. p, p-Wert (adaptiert an Hackenbruch et al.¹²⁸).

Ebenso zeigten sich bei Spendern mit angegebener Fatigue und Rekonvaleszenten ohne Fatigue kein Unterschied bezogen auf Anti-Nukleokapsid, Anti-Spike IgG und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel an beiden Zeitpunkten (p-Werte: 0,182, 0,374, 0,179, 0,147, 1,00, 0,399; Abbildung 10A, D, B, E, C und F)¹²⁸.

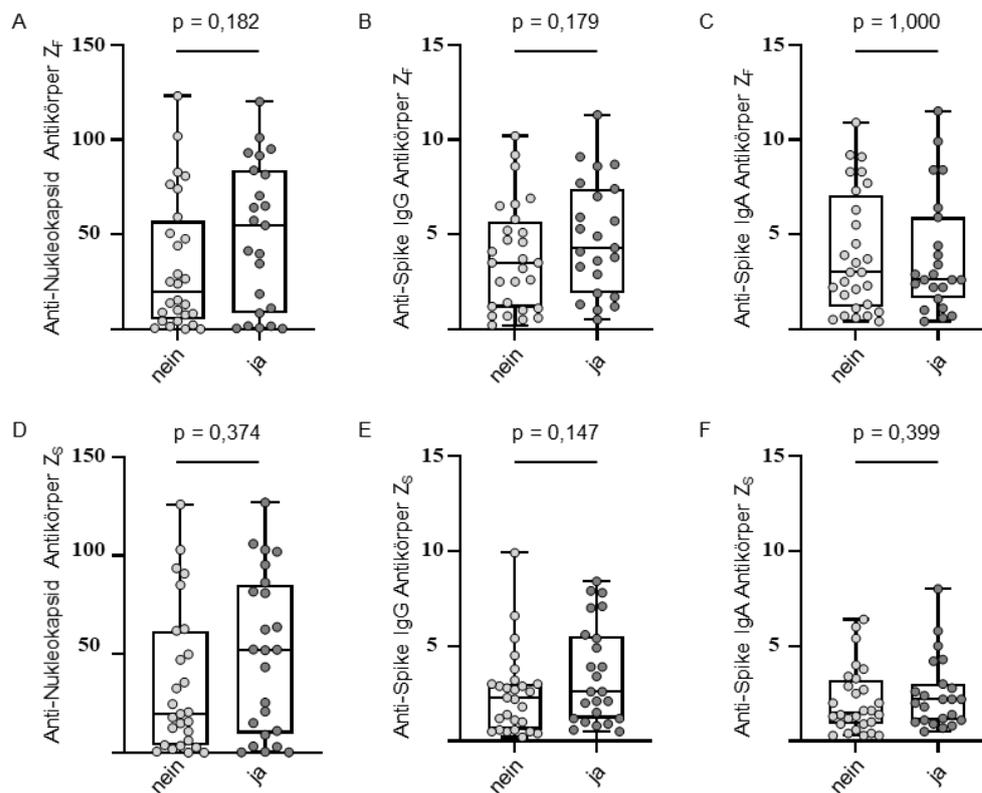


Abbildung 10: Fatigue und Antikörperantworten.

Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel (A und D), Anti-Spike IgG Antikörperspiegel (B und E) und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel (C und F) wurden bei rekonvaleszenten Personen (n = 51) zum Zeitpunkt Z_F (früher Zeitpunkt 35 bis 56 Tage nach positiver PCR, A, B und C) und Z_S (später Zeitpunkt 141 bis 183 Tage nach positiver PCR, D, E und F) bestimmt. Die Spender wurden in Personen mit und Personen ohne Fatigue (ja/ nein) zum Zeitpunkt Z_S in 2 Gruppen aufgeteilt. Die Werte der Anti-Spike IgG Antikörper und Anti-Spike IgA Antikörper sind als Verhältnis über dem Schwellenwert angegeben. Die Werte der Anti-Nukleokapsid Antikörper sind als Indexwert angegeben. Die Daten werden als Boxplots mit 25. und 75. Perzentile und Min/Max-Whisker dargestellt. Die p-Werte wurden mittels Mann-Whitney-U-Test berechnet. p, p-Wert (adaptiert an Hackenbruch et al.¹²⁸).

Im Vergleich von Personen mit und ohne berichtete Geruchs- und Geschmacksveränderungen ergaben sich im Hinblick auf Anti-Nukleokapsid, Anti-Spike IgG und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel an beiden Zeitpunkten keine statistisch signifikanten Unterschiede (p-Werte: 0,184, 0,180, 0,423, 0,738, 0,707 und 0,277; Abbildung 11A, D, B, E, C und F)¹²⁸.

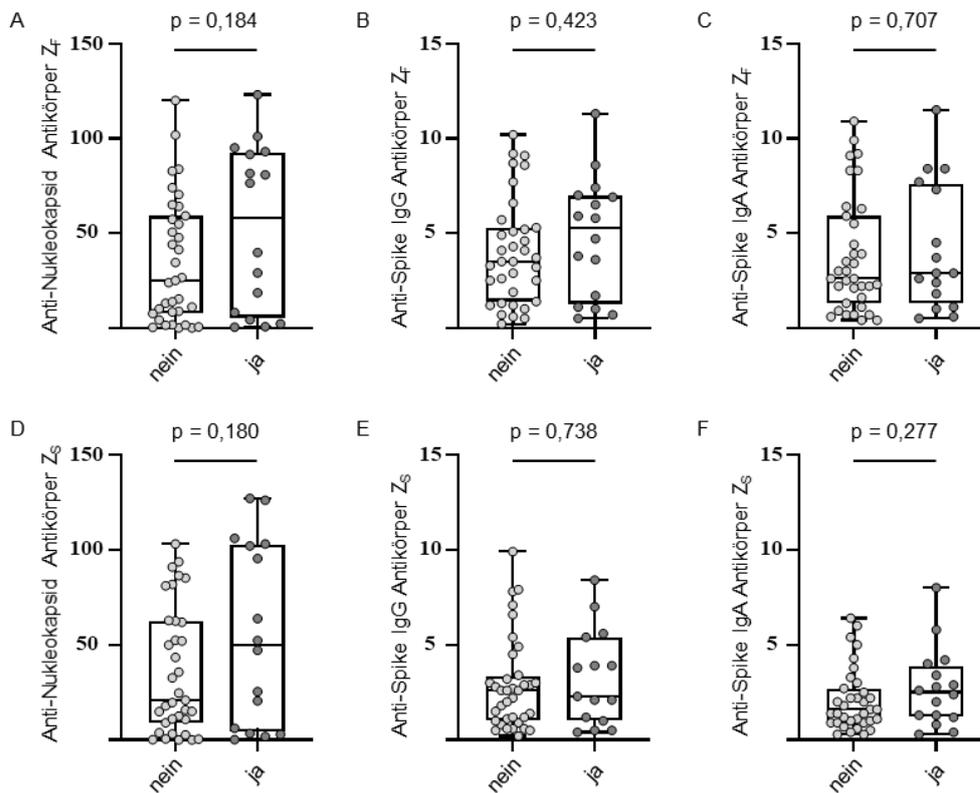


Abbildung 11: Geruchs- und Geschmacksveränderungen und Antikörperantworten.

Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel (A und D), Anti-Spike IgG Antikörperspiegel (B und E) und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel (C und F) wurden bei rekonvaleszenten Personen ($n = 51$) zum Zeitpunkt Z_f (früher Zeitpunkt 35 bis 56 Tage nach positiver PCR, A, B und C) und Z_s (später Zeitpunkt 141 bis 183 Tage nach positiver PCR, D, E und F) bestimmt. Die Spender wurden in Personen mit und Personen ohne Geruchs- und Geschmacksveränderungen (ja/ nein) zum Zeitpunkt Z_s in 2 Gruppen aufgeteilt. Die Werte der Anti-Spike IgG Antikörper und Anti-Spike IgA Antikörper sind als Verhältnis über dem Schwellenwert angegeben. Die Werte der Anti-Nukleokapsid Antikörper sind als Indexwert angegeben. Die Daten werden als Boxplots mit 25. und 75. Perzentile und Min/Max-Whisker dargestellt. Die p-Werte wurden mittels Mann-Whitney-U-Test berechnet. p, p-Wert (adaptiert an Hackenbruch et al.¹²⁸).

Zwischen Spendern, die über eine Hörminderung berichteten, und diesbezüglich beschwerdefreien Rekonvaleszenten ließen sich im Hinblick auf Anti-Nukleokapsid, Anti-Spike IgG und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel an beiden Zeitpunkten keine statistisch signifikanten Unterschiede feststellen (p-Werte: 0,289, 0,254, 0,106, 0,428, 0,149 und 0,612; Abbildung 12A, D, B, E, C und F)¹²⁸.

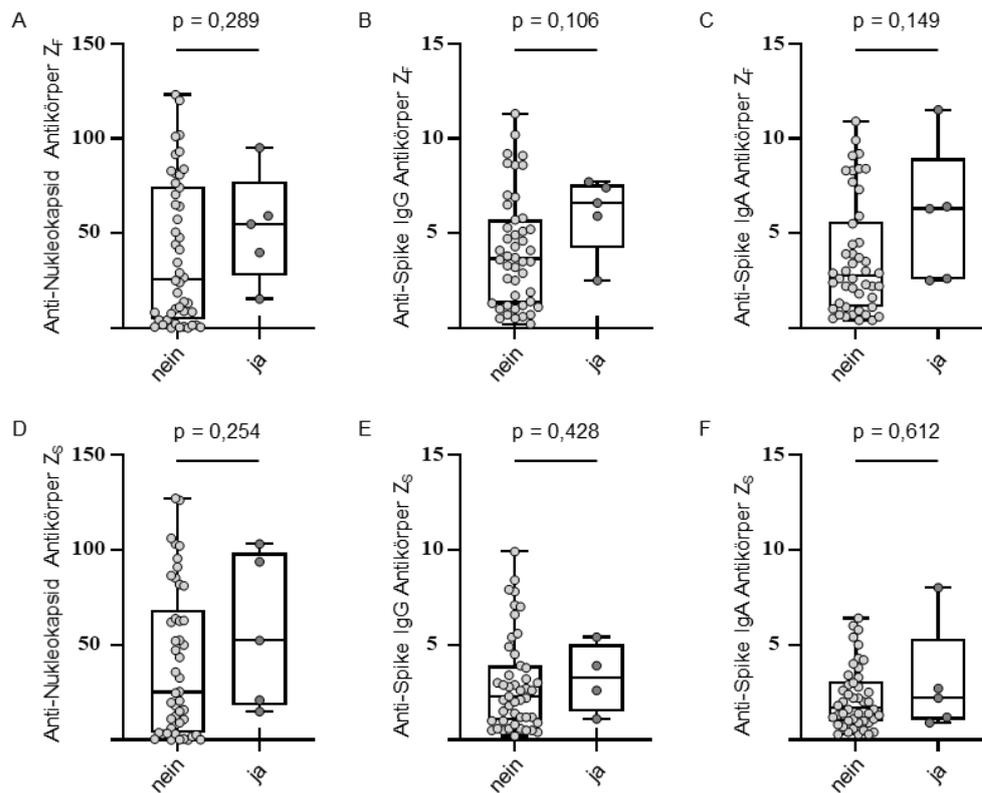


Abbildung 12: Hörminderung und Antikörperantworten.

Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel (A und D), Anti-Spike IgG Antikörperspiegel (B und E) und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel (C und F) wurden bei rekonvaleszenten Personen ($n = 51$) zum Zeitpunkt Z_f (früher Zeitpunkt 35 bis 56 Tage nach positiver PCR, A, B und C) und Z_s (später Zeitpunkt 141 bis 183 Tage nach positiver PCR, D, E und F) bestimmt. Die Spender wurden in Personen mit und Personen ohne Hörminderung (ja/ nein) zum Zeitpunkt Z_s in 2 Gruppen aufgeteilt. Die Werte der Anti-Spike IgG Antikörper und Anti-Spike IgA Antikörper sind als Verhältnis über dem Schwellenwert angegeben. Die Werte der Anti-Nukleokapsid Antikörper sind als Indexwert angegeben. Die Daten werden als Boxplots mit 25. und 75. Perzentile und Min/Max-Whisker dargestellt. Die p-Werte wurden mittels Mann-Whitney-U-Test berechnet. p, p-Wert (adaptiert an Hackenbruch et al.¹²⁸).

Im Vergleich von Rekonvaleszenten mit und ohne angegebene Palpitationen ergaben sich im Hinblick auf Anti-Nukleokapsid, Anti-Spike IgG und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel an beiden Zeitpunkten kein statistisch signifikanter Unterschied (p-Werte: 0,435, 0,352, 0,298, 0,427, 1,000 und 0,154; Abbildung 13A, D, B, E, C und F)¹²⁸.

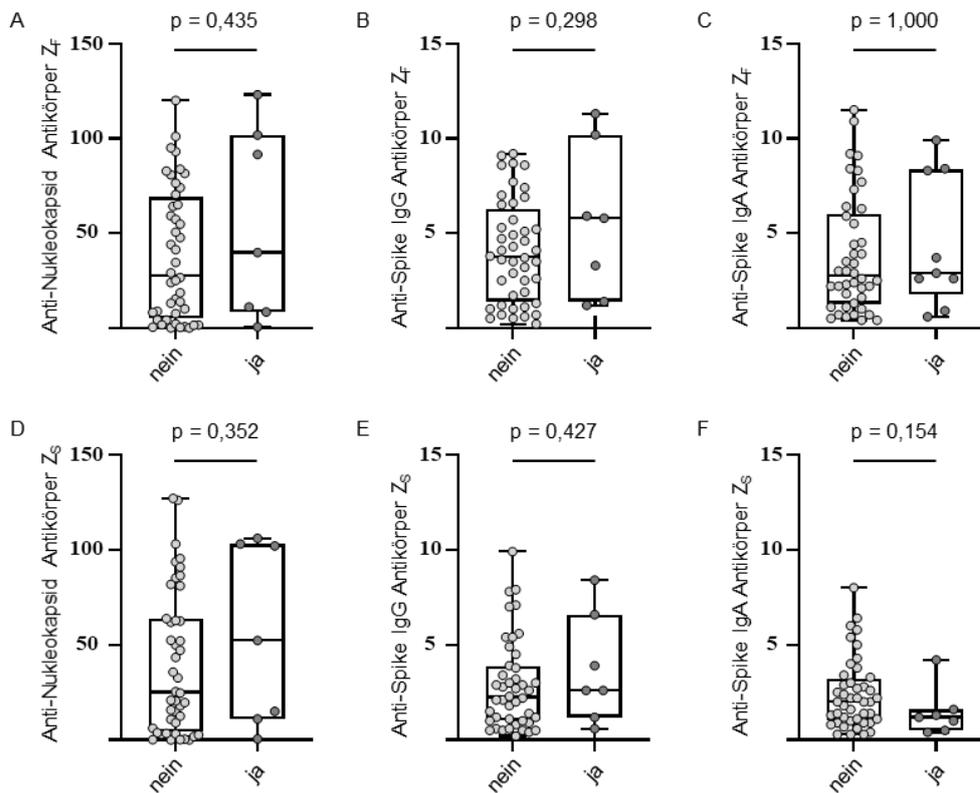


Abbildung 13: Palpitationen und Antikörperantworten.

Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel (A und D), Anti-Spike IgG Antikörperspiegel (B und E) und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel (C und F) wurden bei rekonvaleszenten Personen ($n = 51$) zum Zeitpunkt Z_F (früher Zeitpunkt 35 bis 56 Tage nach positiver PCR, A, B und C) und Z_S (später Zeitpunkt 141 bis 183 Tage nach positiver PCR, D, E und F) bestimmt. Die Spender wurden in Personen mit und Personen ohne Palpitationen (ja/ nein) zum Zeitpunkt Z_S in 2 Gruppen aufgeteilt. Die Werte der Anti-Spike IgG Antikörper und Anti-Spike IgA Antikörper sind als Verhältnis über dem Schwellenwert angegeben. Die Werte der Anti-Nukleokapsid Antikörper sind als Indexwert angegeben. Die Daten werden als Boxplots mit 25. und 75. Perzentile und Min/Max-Whisker dargestellt. Die p-Werte wurden mittels Mann-Whitney-U-Test berechnet. p, p-Wert (adaptiert an Hackenbruch et al.¹²⁸).

Spender, die über Kopfschmerzen berichteten, zeigten verglichen mit diesbezüglich beschwerdefreien Personen höhere Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel an Z_F , mit einem ähnlichen, wenn auch statistisch nicht signifikanten Trend an Z_S (p-Werte: 0,023 bzw. 0,316 Abbildung 14A und D). Im Hinblick auf Anti-Spike IgG und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel an beiden Zeitpunkten kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Rekonvaleszenten mit und ohne Kopfschmerzen (p-Werte: 0,272, 0,858, 0,194, und 0,657; Abbildung 14B, E, C und F)¹²⁸.

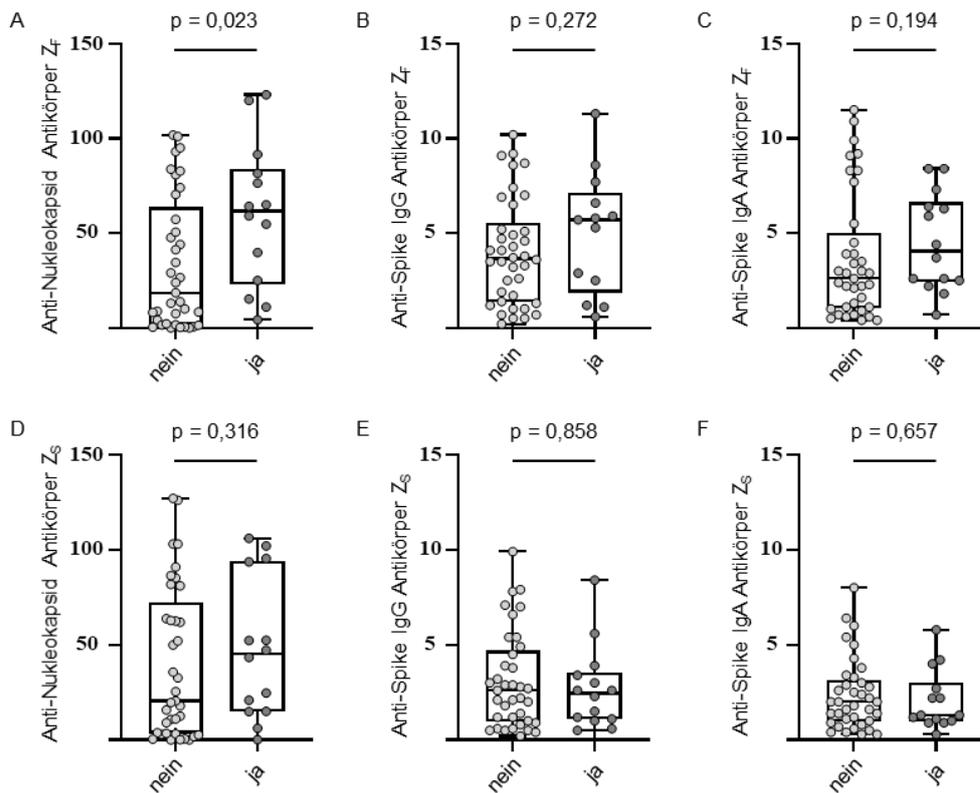


Abbildung 14: Kopfschmerzen und Antikörperantworten.

Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel (A und D), Anti-Spike IgG Antikörperspiegel (B und E) und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel (C und F) wurden bei rekonvaleszenten Personen ($n = 51$) zum Zeitpunkt Z_F (früher Zeitpunkt 35 bis 56 Tage nach positiver PCR, A, B und C) und Z_S (später Zeitpunkt 141 bis 183 Tage nach positiver PCR, D, E und F) bestimmt. Die Spender wurden in Personen mit und Personen ohne Kopfschmerzen (ja/ nein) zum Zeitpunkt Z_S in 2 Gruppen aufgeteilt. Die Werte der Anti-Spike IgG Antikörper und Anti-Spike IgA Antikörper sind als Verhältnis über dem Schwellenwert angegeben. Die Werte der Anti-Nukleokapsid Antikörper sind als Indexwert angegeben. Die Daten werden als Boxplots mit 25. und 75. Perzentile und Min/Max-Whisker dargestellt. Die p-Werte wurden mittels Mann-Whitney-U-Test berechnet. p, p-Wert (adaptiert an Hackenbruch et al.¹²⁸).

Bei Personen, die Reizbarkeit angaben, imponierten verglichen zu diesbezüglich asymptomatischen Rekonvaleszenten signifikant höhere Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel an Z_S sowie tendenziell erhöhten Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel an Z_F (p-Werte: 0,026 bzw. 0,065; Abbildung 15D und A). Ebenso zeigten sich Anti-Spike IgG Antikörperspiegel an beiden Zeitpunkten erhöht, wobei sich eine statistische Signifikanz nur an Z_F ergab (p-Werte; 0,026 und 0,056; Abbildung 15B und E)¹²⁸.

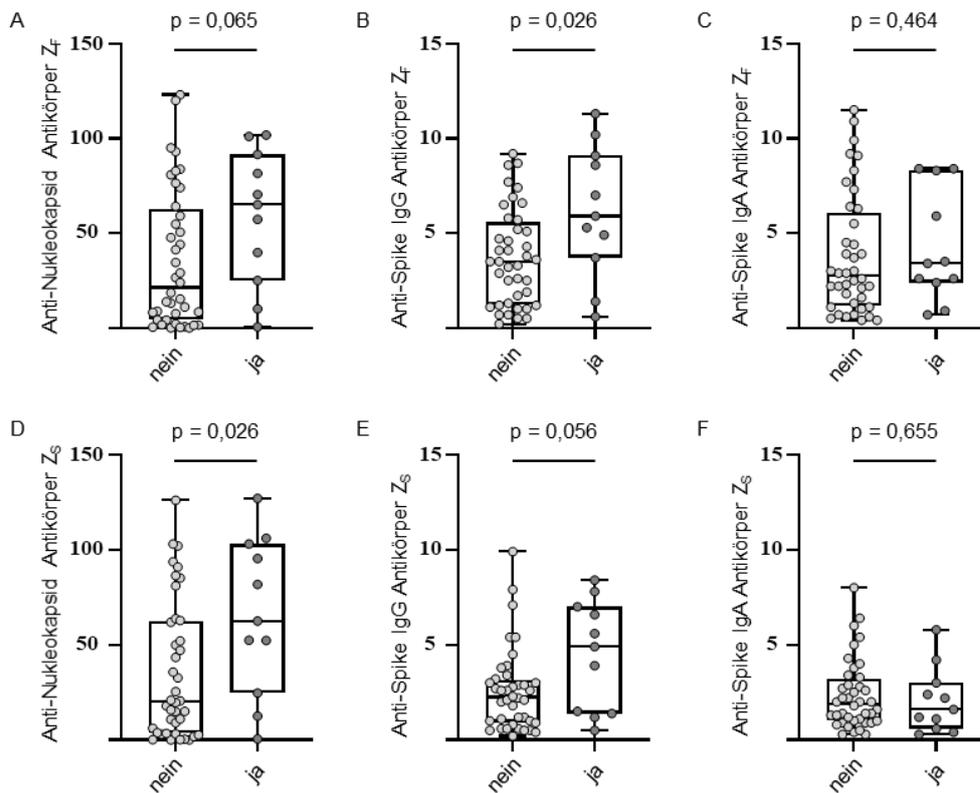


Abbildung 15: Reizbarkeit und Antikörperantworten.

Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel (A und D), Anti-Spike IgG Antikörperspiegel (B und E) und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel (C und F) wurden bei rekonvaleszenten Personen ($n = 51$) zum Zeitpunkt Z_f (früher Zeitpunkt 35 bis 56 Tage nach positiver PCR, A, B und C) und Z_s (später Zeitpunkt 141 bis 183 Tage nach positiver PCR, D, E und F) bestimmt. Die Spender wurden in Personen mit und Personen ohne Reizbarkeit (ja/ nein) zum Zeitpunkt Z_s in 2 Gruppen aufgeteilt. Die Werte der Anti-Spike IgG Antikörper und Anti-Spike IgA Antikörper sind als Verhältnis über dem Schwellenwert angegeben. Die Werte der Anti-Nukleokapsid Antikörper sind als Indexwert angegeben. Die Daten werden als Boxplots mit 25. und 75. Perzentile und Min/Max-Whisker dargestellt. Die p-Werte wurden mittels Mann-Whitney-U-Test berechnet. p, p-Wert (adaptiert an Hackenbruch et al.¹²⁸).

Zwischen Rekonvaleszenten, die Unruhe angaben, und diesbezüglich asymptomatischen Spendern fand sich im Hinblick auf Anti-Nukleokapsid, Anti-Spike IgG und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel an beiden Zeitpunkten kein statistisch signifikanter Unterschied (p-Werte: 0,374, 0,143, 0,468, 0,427, 0,732 und 1,000; Abbildung 16A, D, B, E, C und F)¹²⁸.

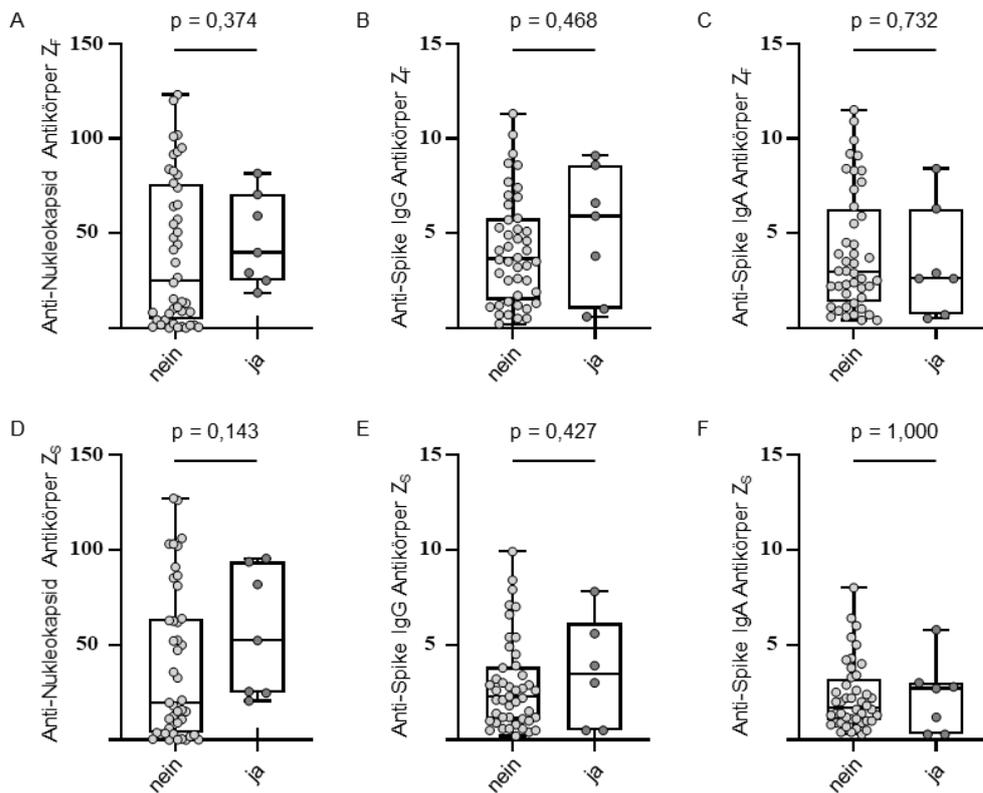


Abbildung 16: Unruhe und Antikörperantworten.

Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel (A und D), Anti-Spike IgG Antikörperspiegel (B und E) und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel (C und F) wurden bei rekonvaleszenten Personen ($n = 51$) zum Zeitpunkt Z_f (früher Zeitpunkt 35 bis 56 Tage nach positiver PCR, A, B und C) und Z_s (später Zeitpunkt 141 bis 183 Tage nach positiver PCR, D, E und F) bestimmt. Die Spender wurden in Personen mit und Personen ohne Unruhe (ja/ nein) zum Zeitpunkt Z_s in 2 Gruppen aufgeteilt. Die Werte der Anti-Spike IgG Antikörper und Anti-Spike IgA Antikörper sind als Verhältnis über dem Schwellenwert angegeben. Die Werte der Anti-Nukleokapsid Antikörper sind als Indexwert angegeben. Die Daten werden als Boxplots mit 25. und 75. Perzentile und Min/Max-Whisker dargestellt. Die p-Werte wurden mittels Mann-Whitney-U-Test berechnet. p, p-Wert (adaptiert an Hackenbruch et al.¹²⁸).

Im Vergleich von Rekonvaleszenten mit und ohne Husten ergaben sich im Hinblick auf Anti-Nukleokapsid, Anti-Spike IgG und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel an beiden Zeitpunkten kein statistisch signifikanter Unterschied (p-Werte: 0,781, 0,826 0,225, 0,465, 0,650 und 1,000; Abbildung 17A, D, B, E, C und F)¹²⁸.

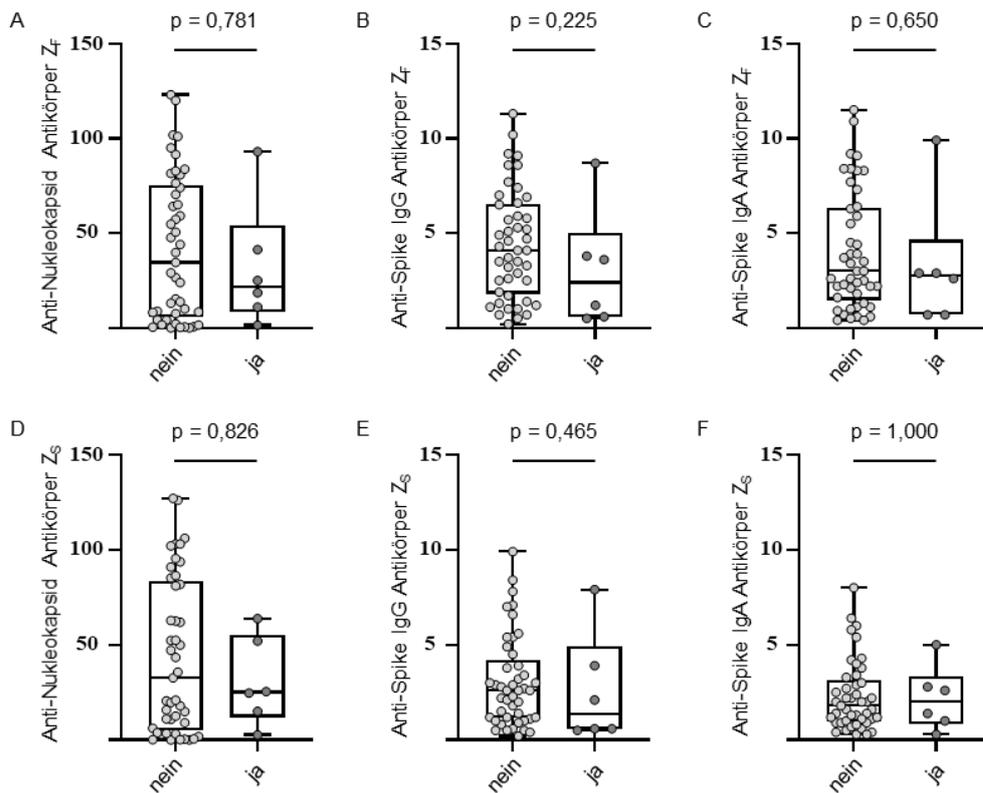


Abbildung 17: Husten und Antikörperantworten.

Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel (A und D), Anti-Spike IgG Antikörperspiegel (B und E) und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel (C und F) wurden bei rekonvaleszenten Personen ($n = 51$) zum Zeitpunkt Z_f (früher Zeitpunkt 35 bis 56 Tage nach positiver PCR, A, B und C) und Z_s (später Zeitpunkt 141 bis 183 Tage nach positiver PCR, D, E und F) bestimmt. Die Spender wurden in Personen mit und Personen ohne Husten (ja/ nein) zum Zeitpunkt Z_s in 2 Gruppen aufgeteilt. Die Werte der Anti-Spike IgG Antikörper und Anti-Spike IgA Antikörper sind als Verhältnis über dem Schwellenwert angegeben. Die Werte der Anti-Nukleokapsid Antikörper sind als Indexwert angegeben. Die Daten werden als Boxplots mit 25. und 75. Perzentile und Min/Max-Whisker dargestellt. Die p-Werte wurden mittels Mann-Whitney-U-Test berechnet. p, p-Wert (adaptiert an Hackenbruch et al.¹²⁸).

Bei Spendern mit Dyspnoe zeigten sich verglichen mit Rekonvaleszenten ohne Dyspnoe kein Unterschied bezogen auf Anti-Nukleokapsid, Anti-Spike IgG und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel an beiden Zeitpunkten (p-Werte: 0,707, 0,300, 0,195, 0,054, 0,632 0,300; Abbildung 18A, D, B, E, C und F)¹²⁸.

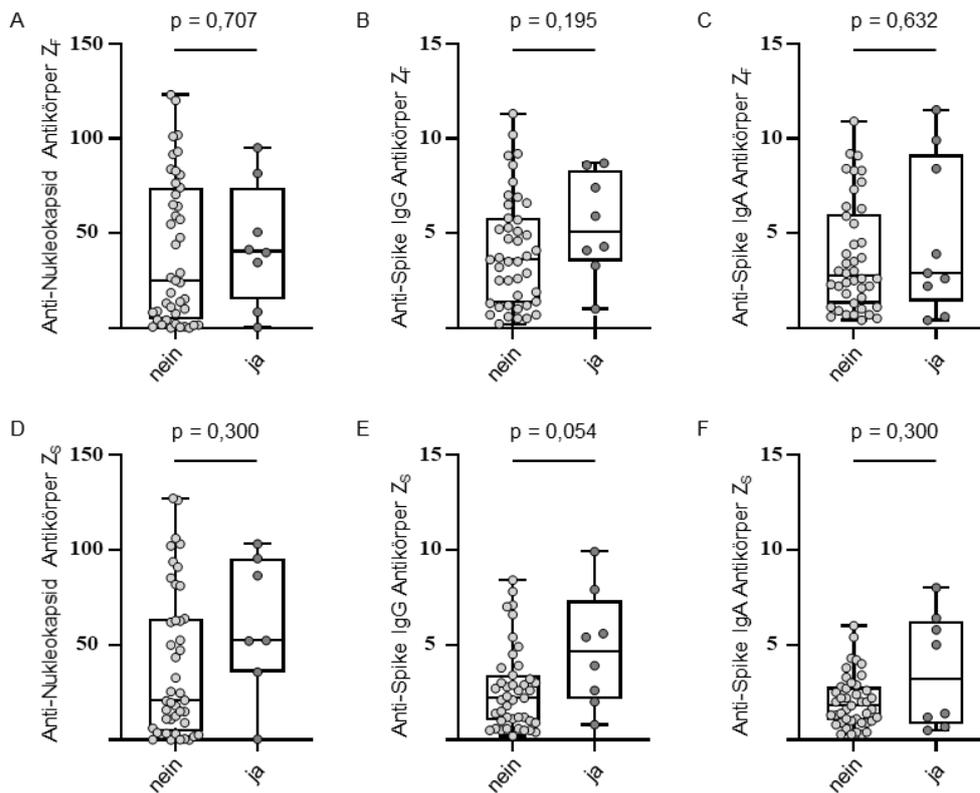


Abbildung 18: Dyspnoe und Antikörperantworten.

Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel (A und D), Anti-Spike IgG Antikörperspiegel (B und E) und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel (C und F) wurden bei rekonvaleszenten Personen (n = 51) zum Zeitpunkt Z_f (früher Zeitpunkt 35 bis 56 Tage nach positiver PCR, A, B und C) und Z_s (später Zeitpunkt 141 bis 183 Tage nach positiver PCR, D, E und F) bestimmt. Die Spender wurden in Personen mit und Personen ohne Hörminderung (ja/ nein) zum Zeitpunkt Z_s in 2 Gruppen aufgeteilt. Die Werte der Anti-Spike IgG Antikörper und Anti-Spike IgA Antikörper sind als Verhältnis über dem Schwellenwert angegeben. Die Werte der Anti-Nukleokapsid Antikörper sind als Indexwert angegeben. Die Daten werden als Boxplots mit 25. und 75. Perzentile und Min/Max-Whisker dargestellt. Die p-Werte wurden mittels Mann-Whitney-U-Test berechnet. p, p-Wert (adaptiert an Hackenbruch et al.¹²⁸).

Zusammenfassend zeigten sich in der Analyse von SARS-CoV-2-spezifischer humoraler Immunantwort und einzelnen postinfektiösen Symptomen erhöhte Anti-Nukleokapsid Antikörper für die postinfektiösen Einzelsymptome Kopfschmerzen und Reizbarkeit. Außerdem konnte beim Einzelsymptom Reizbarkeit ein höherer Anti-Spike IgG Antikörperspiegel festgestellt werden¹²⁸.

Im Hinblick auf die Anti-Nukleokapsid Antikörper und Anti-Spike IgG Antikörper zeigten sich bei keinem der anderen Einzelsymptome signifikante Unterschiede in der SARS-CoV-2-spezifischen Immunantwort. Ebenso ergaben sich bezüglich der Anti-Spike IgA Antikörperspiegel bei keiner einzelnen Untersuchung signifikante Unterschiede¹²⁸.

3.4.4. Humorale Immunantwort und postinfektiöse Symptomkategorien

Um zu überprüfen, ob es einen Zusammenhang zwischen SARS-CoV-2 spezifischer humoraler Immunantwort und bestimmten Arten von Symptomen bzw. von Symptomclustern gibt, erfolgte die Einteilung der postinfektiösen Symptome gemäß ihrer Natur in vier übergeordnete Symptomkategorien. Die Spender wurden als symptomatisch für eine Kategorie gewertet bei Auftreten von mindestens eines Symptoms der jeweiligen Kategorie¹²⁸.

Die Kategorie „Allgemeine Symptome“ wurde durch Kombination der Einzelsymptome Fatigue und Leistungsminderung gebildet. Es zeigten sich signifikant höhere Anti-Spike IgG Antikörperspiegel zum Zeitpunkt Z_S bei Personen mit einer allgemeinen Symptomatik (p-Wert: 0,047; Abbildung 19E). Die weiteren Antikörperspiegel zeigten zwischen den beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede (p-Werte: 0,232, 0,418, 0,149, 0,814 und 0,085; Abbildung 19A, D, B, C und F)¹²⁸.

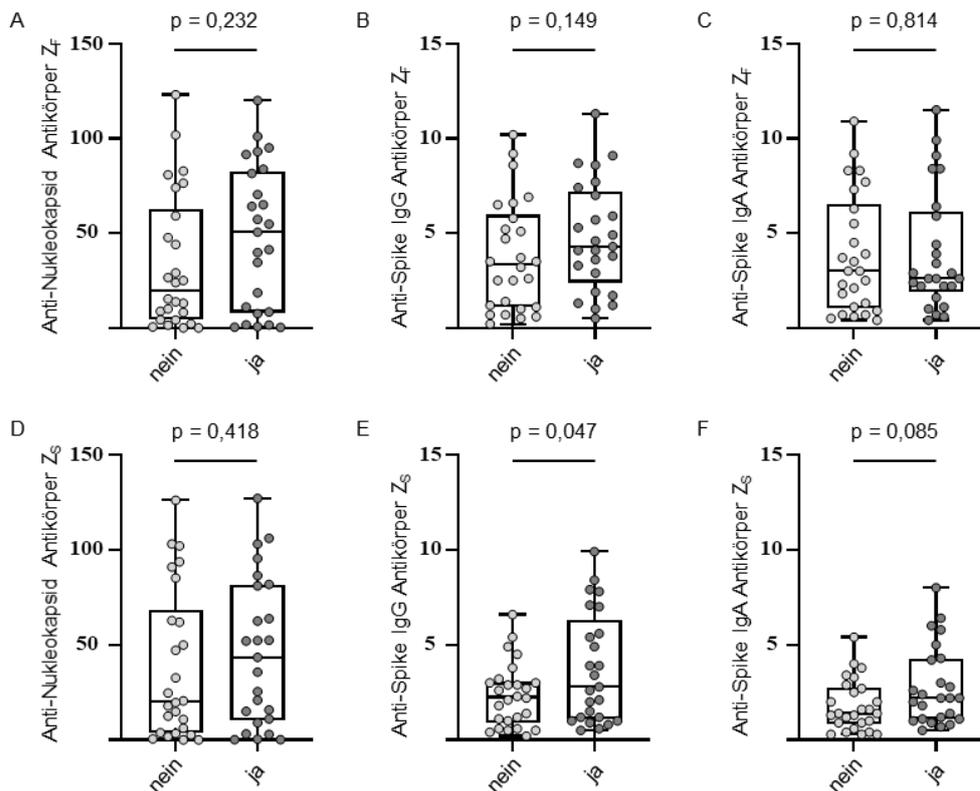


Abbildung 19: Allgemeine Symptome und Antikörperantworten.

Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel (A und D), Anti-Spike IgG Antikörperspiegel (B und E) und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel (C und F) wurden bei rekonvaleszenten Personen ($n = 51$) zum Zeitpunkt Z_F (früher Zeitpunkt 35 bis 56 Tage nach positiver PCR, A, B und C) und Z_S (später Zeitpunkt 141 bis 183 Tage nach positiver PCR, D, E und F) bestimmt. Die Einzelsymptome wurden mittels Fragebogen erhoben und dann basierend auf Ihrer Natur Kategorien zugeordnet. Die Spender wurden als symptomatisch für die Kategorie „Allgemeine Symptome“ gewertet bei Auftreten von mindestens eines Symptoms dieser Kategorie (Leistungsminderung und Fatigue) zum Zeitpunkt Z_S und wurden entsprechend in 2 Gruppen (ja/ nein) aufgeteilt. Die Werte der Anti-Spike IgG Antikörper und Anti-Spike IgA Antikörper sind als Verhältnis über dem Schwellenwert angegeben. Die Werte der Anti-Nukleokapsid Antikörper sind als Indexwert angegeben. Die Daten werden als Boxplots mit 25. und 75. Perzentile und Min/Max-Whisker dargestellt. Die p-Werte wurden mittels Mann-Whitney-U-Test berechnet. p, p-Wert (adaptiert an Hackenbruch et al.¹²⁸).

Die Kategorie „Veränderte Sinneswahrnehmung“ beinhaltet die Symptome Geruchs- und Geschmacksstörung, sowie Hörminderung. Bei Rekonvaleszenten mit veränderter Sinneswahrnehmung konnten signifikant höhere Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel zum Zeitpunkt Z_F festgestellt werden mit einer ähnlichen Tendenz zum Zeitpunkt Z_S (p-Wert: 0,008 und 0,102, Abbildung 20A und E). Die weiteren Untersuchungen ergaben keine signifikanten Unterschiede in der SARS-CoV-2 spezifischen Immunantwort bei Personen mit und ohne

veränderte Sinneswahrnehmung (p-Werte: 0,096, 0,452, 0,430 und 0,332; Abbildung 20B, E, C und F)¹²⁸.

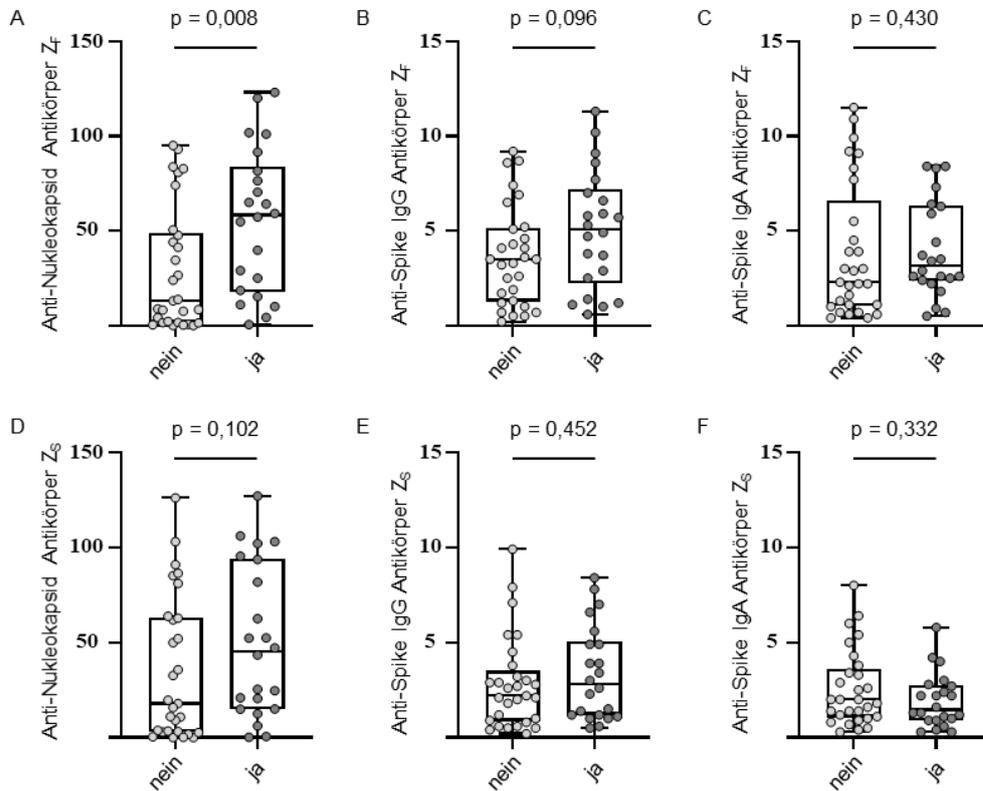


Abbildung 20: Veränderte Sinneswahrnehmung und Antikörperantworten.

Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel (A und D), Anti-Spike IgG Antikörperspiegel (B und E) und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel (C und F) wurden bei rekonvaleszenten Personen ($n = 51$) zum Zeitpunkt Z_F (früher Zeitpunkt 35 bis 56 Tage nach positiver PCR, A, B und C) und Z_S (später Zeitpunkt 141 bis 183 Tage nach positiver PCR, D, E und F) bestimmt. Die Einzelsymptome wurden mittels Fragebogen erhoben und dann basierend auf Ihrer Natur Kategorien zugeordnet. Die Spender wurden als symptomatisch für die Kategorie „Veränderte Sinneswahrnehmung“ gewertet bei Auftreten von mindestens eines Symptoms dieser Kategorie (Geruchs-/Geschmacksveränderung und Hörminderung) zum Zeitpunkt Z_S und wurden entsprechend in 2 Gruppen (ja/ nein) aufgeteilt. Die Werte der Anti-Spike IgG Antikörper und Anti-Spike IgA Antikörper sind als Verhältnis über dem Schwellenwert angegeben. Die Werte der Anti-Nukleokapsid Antikörper sind als Indexwert angegeben. Die Daten werden als Boxplots mit 25. und 75. Perzentile und Min/Max-Whisker dargestellt. Die p-Werte wurden mittels Mann-Whitney-U-Test berechnet. p, p-Wert (adaptiert an Hackenbruch et al.¹²⁸).

Ruhelosigkeit, Palpitationen, Kopfschmerzen und Reizbarkeit wurden zur Kategorie „neuropsychiatrische Symptome“ zusammengefasst. Diesbezüglich symptomatische Spender wiesen signifikant höhere Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel zum Zeitpunkt Z_F auf mit einer ähnlichen Tendenz zum Zeitpunkt Z_S (p-Werte: 0,016 und 0,150; Abbildung 21A und D). In Bezug auf Anti-Spike IgG und Anti-Spike IgA Spiegel konnten keine signifikanten Unterschiede

festgestellt werden (p-Werte: 0,118, 0,443, 0,705 und 0,179; Abbildung 21B, E, C und F)¹²⁸.

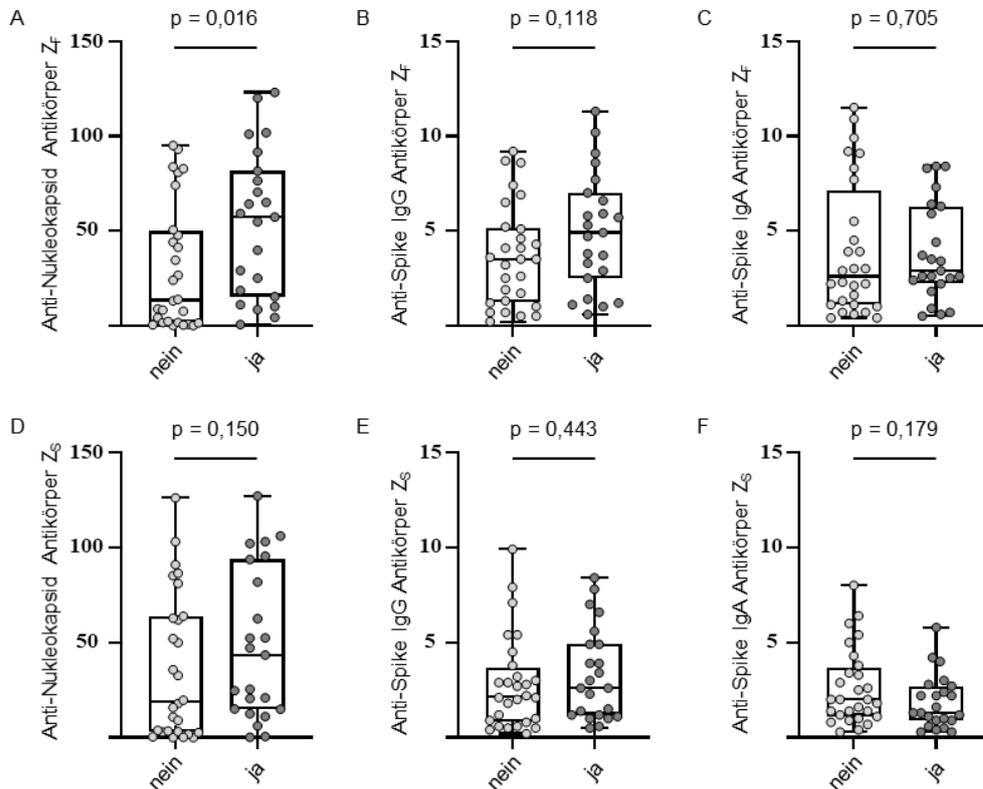


Abbildung 21: Neuropsychiatrische Symptome und Antikörperantworten.

Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel (A und D), Anti-Spike IgG Antikörperspiegel (B und E) und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel (C und F) wurden bei rekonvaleszenten Personen ($n = 51$) zum Zeitpunkt Z_F (früher Zeitpunkt 35 bis 56 Tage nach positiver PCR, A, B und C) und Z_S (später Zeitpunkt 141 bis 183 Tage nach positiver PCR, D, E und F) bestimmt. Die Einzelsymptome wurden mittels Fragebogen erhoben und dann basierend auf Ihrer Natur Kategorien zugeordnet. Die Spender wurden als symptomatisch für die Kategorie „Neuropsychiatrische Symptome“ gewertet bei Auftreten von mindestens eines Symptoms dieser Kategorie (Palpitationen, Kopfschmerzen, Reizbarkeit und Unruhe) zum Zeitpunkt Z_S und wurden entsprechend in 2 Gruppen (ja/ nein) aufgeteilt. Die Werte der Anti-Spike IgG Antikörper und Anti-Spike IgA Antikörper sind als Verhältnis über dem Schwellenwert angegeben. Die Werte der Anti-Nukleokapsid Antikörper sind als Indexwert angegeben. Die Daten werden als Boxplots mit 25. und 75. Perzentile und Min/Max-Whisker dargestellt. Die p-Werte wurden mittels Mann-Whitney-U-Test berechnet. p, p-Wert (adaptiert an Hackenbruch et al.¹²⁸).

Die Kategorie „Pulmonale Symptome“ umfasste die postinfektiösen Symptome Husten und Dyspnoe. Für diese Kategorie zeigte sich zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied der Anti-Nukleokapsid, Anti-Spike IgG und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel zwischen betroffenen und asymptomatischen Personen (p-Werte: 0,974, 0,574, 0,795, 0,574, 0,673 und 0,673; Abbildung 22A, D, B, E, C und F)¹²⁸.

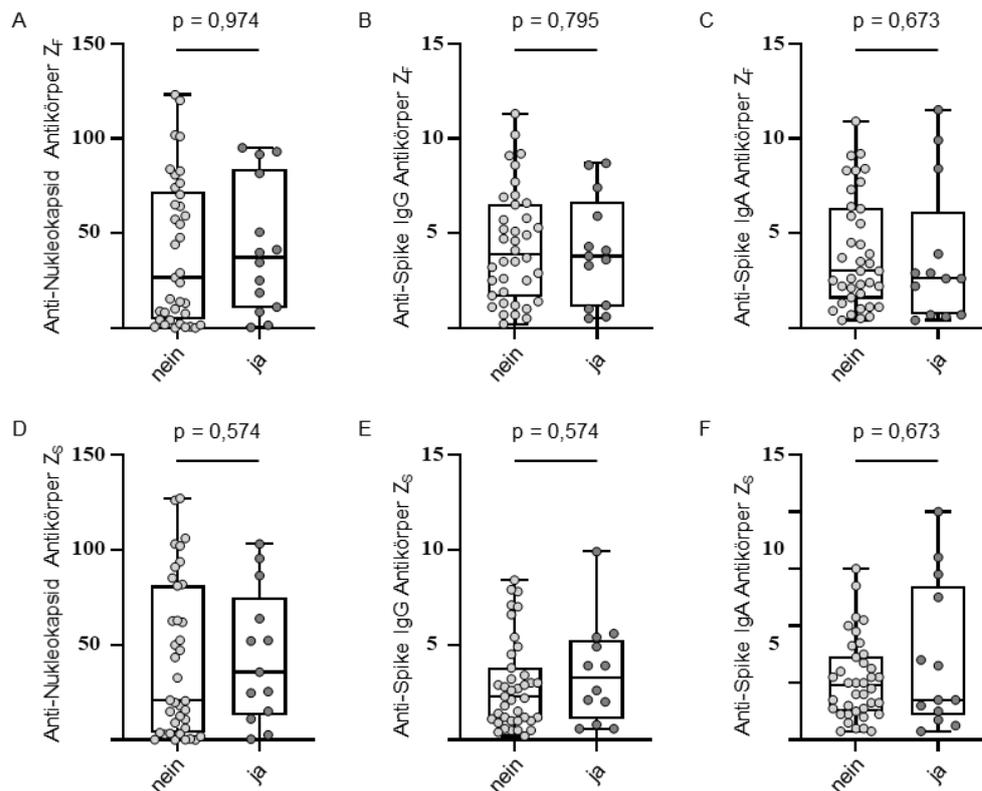


Abbildung 22: Pulmonale Symptome und Antikörperantworten.

Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel (A und D), Anti-Spike IgG Antikörperspiegel (B und E) und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel (C und F) wurden bei rekonvaleszenten Personen ($n = 51$) zum Zeitpunkt Z_F (früher Zeitpunkt 35 bis 56 Tage nach positiver PCR, A, B und C) und Z_S (später Zeitpunkt 141 bis 183 Tage nach positiver PCR, D, E und F) bestimmt. Die Einzelsymptome wurden mittels Fragebogen erhoben und dann basierend auf Ihrer Natur Kategorien zugeordnet. Die Spender wurden als symptomatisch für die Kategorie „Pulmonale Symptome“ gewertet bei Auftreten von mindestens eines Symptoms dieser Kategorie (Husten und Dyspnoe) zum Zeitpunkt Z_S und wurden entsprechend in 2 Gruppen (ja/ nein) aufgeteilt. Die Werte der Anti-Spike IgG Antikörper und Anti-Spike IgA Antikörper sind als Verhältnis über dem Schwellenwert angegeben. Die Werte der Anti-Nukleokapsid Antikörper sind als Indexwert angegeben. Die Daten werden als Boxplots mit 25. und 75. Perzentile und Min/Max-Whisker dargestellt. Die p-Werte wurden mittels Mann-Whitney-U-Test berechnet. p, p-Wert (adaptiert an Hackenbruch et al.¹²⁸).

In der Zusammenschau der Ergebnisse der Analysen von Symptomkategorien und SARS-CoV-2-spezifischer humoraler Immunantwort zeigten sich Unterschiede in den Antikörperspiegeln zwischen asymptomatischen und symptomatischen Personen für die Kategorien „Allgemeine Symptome“, „Veränderte Sinneswahrnehmung“ und „Neuropsychiatrische Symptome“¹²⁸.

Bei Spendern mit allgemeinen Symptomen zeigten sich signifikant höhere Anti-Spike IgG Antikörperspiegel. Signifikant höhere Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel konnten sowohl bei Spendern mit veränderter

Sinneswahrnehmung als auch mit neuropsychiatrischen Symptomen nachgewiesen werden. Im Unterschied dazu fand sich bei Personen mit pulmonalen Symptomen kein Unterschied in der SARS-CoV-2-spezifischen humoralen Immunantwort verglichen zu diesbezüglich asymptomatischen Spendern¹²⁸.

3.5. Allgemeine Charakteristika und humorale Immunantwort

Zur Überprüfung eines Zusammenhanges von SARS-CoV-2 spezifischer humoraler Immunantwort und allgemeinen Patientencharakteristika erfolgten korrelative Analysen im Hinblick auf Geschlecht, Alter und BMI der Spender.

Die rekonvaleszenten Personen wurden anhand ihres Geschlechts in zwei Gruppen eingeteilt (weiblich (n = 26) und männlich (n = 25)), um mögliche geschlechtsspezifische Unterschiede der SARS-CoV-2-spezifischen humoralen Immunantwort festzustellen. Hierbei fand sich im Hinblick auf Anti-Nukleokapsid, Anti-Spike IgG und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel an beiden Zeitpunkten kein statistisch signifikanter Unterschied (p-Werte: 0,611, 0,407, 0,498, 0,706, 0,085 und 0,213; Abbildung 23A, D, B, E, C und F)^{60,128}.

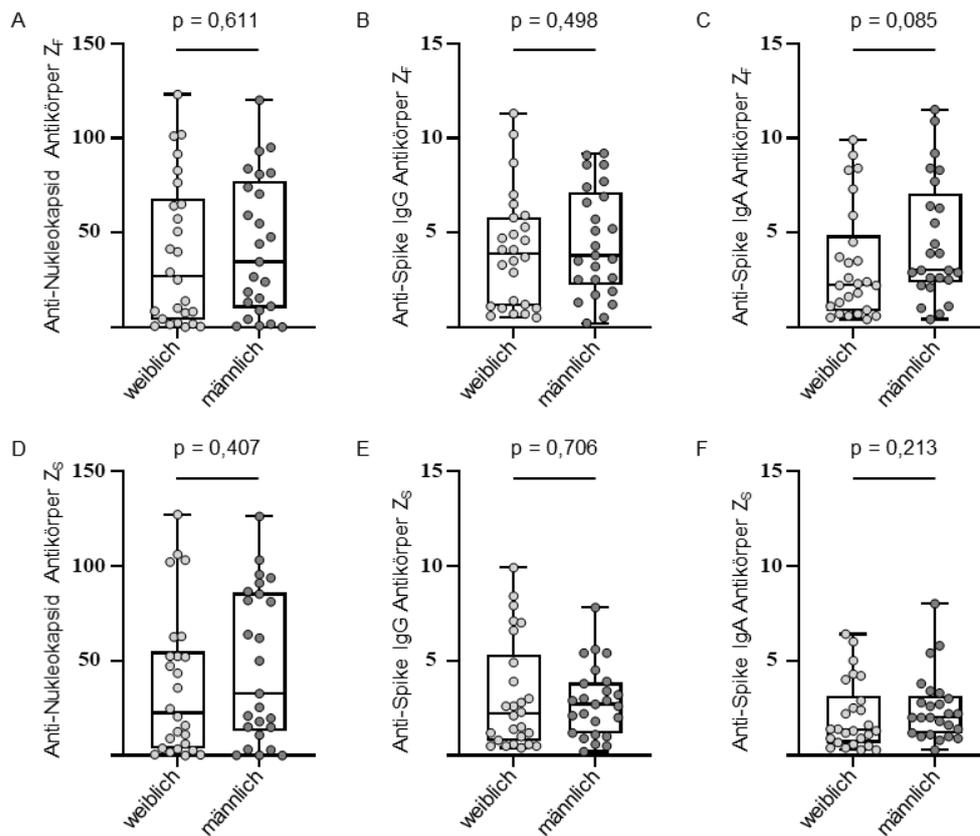


Abbildung 23: Geschlecht und Antikörperantworten.

Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel (A und D), Anti-Spike IgG Antikörperspiegel (B und E) und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel (C und F) wurden bei rekonvaleszenten Personen (n = 51) zum Zeitpunkt Z_F (früher Zeitpunkt 35 bis 56 Tage nach positiver PCR, A, B und C) und Z_S (später Zeitpunkt 141 bis 183 Tage nach positiver PCR, D, E und F) bestimmt. Die Spender wurden nach ihrem angegebenen Geschlecht (weiblich/männlich) in 2 Gruppen aufgeteilt. Die Werte der Anti-Spike IgG Antikörper und Anti-Spike IgA Antikörper sind als Verhältnis über dem Schwellenwert angegeben. Die Werte der Anti-Nukleokapsid Antikörper sind als Indexwert angegeben. Die Daten werden als Boxplots mit 25. und 75. Perzentile und Min/Max-Whisker dargestellt. Die p-Werte wurden mittels Mann-Whitney-U-Test berechnet. p, p-Wert.

Zur Analyse der Auswirkungen des Alters der Probanden auf die SARS-CoV-2-spezifische humorale Immunantwort erfolgte die Einteilung der Spender in drei Altersgruppen (> 30 Jahre (n = 13), 30 - 50 Jahre (n = 20) und < 50 (n = 18)). Hierbei zeigten sich signifikant höhere Anti-Nukleokapsid Antikörper zum Zeitpunkt Z_S bei über Fünfzigjährigen verglichen mit den unter Dreißigjährigen (p-Wert: 0,005; Abbildung 24D). Der gleiche Trend zeigte sich auch zum Zeitpunkt Z_F, jedoch ohne statistische Signifikanz (p-Wert: 0,057; Abbildung 24A). Zwischen den Dreißig- bis Fünfzigjährigen und den über Fünfzigjährigen, sowie zwischen den unter Dreißigjährigen und Dreißig- bis Fünfzigjährigen fand sich kein signifikanter Unterschied bei den Anti-Nukleokapsid Antikörpern (p-Werte:

0,236, 0,302, 0,132 und 0,204; Abbildung 24A und D). Weiterhin konnten signifikant höhere Anti-Spike IgA Spiegel bei unter Dreißigjährigen im Verhältnis zu Dreißig- bis Fünfzigjährigen festgestellt werden (p-Wert: 0,020; Abbildung 24F). Auch hier zeigte sich ein ähnlicher, aber nicht signifikanter Trend zum Zeitpunkt Z_F (p-Wert: 0,060; Abbildung 24C). Im Vergleich der unter Dreißigjährigen mit den über Fünfzigjährigen, sowie der Dreißig- bis Fünfzigjährigen mit den über Fünfzigjährigen konnte an beiden Zeitpunkten keine signifikanten Unterschiede bei Anti-Spike IgA Antikörpern gesehen werden (p-Werte: 0,603, 0,148, 0,378 und 0,077; Abbildung 24C und F). Bezüglich der Anti-Spike IgG Antikörper konnten zu beiden Zeitpunkten keine signifikanten Werte zwischen den Altersgruppen festgestellt werden (p-Werte: 0,376, 0,689, 0,609, 0,093, 0,508 und 0,299; Abbildung 24B und E).

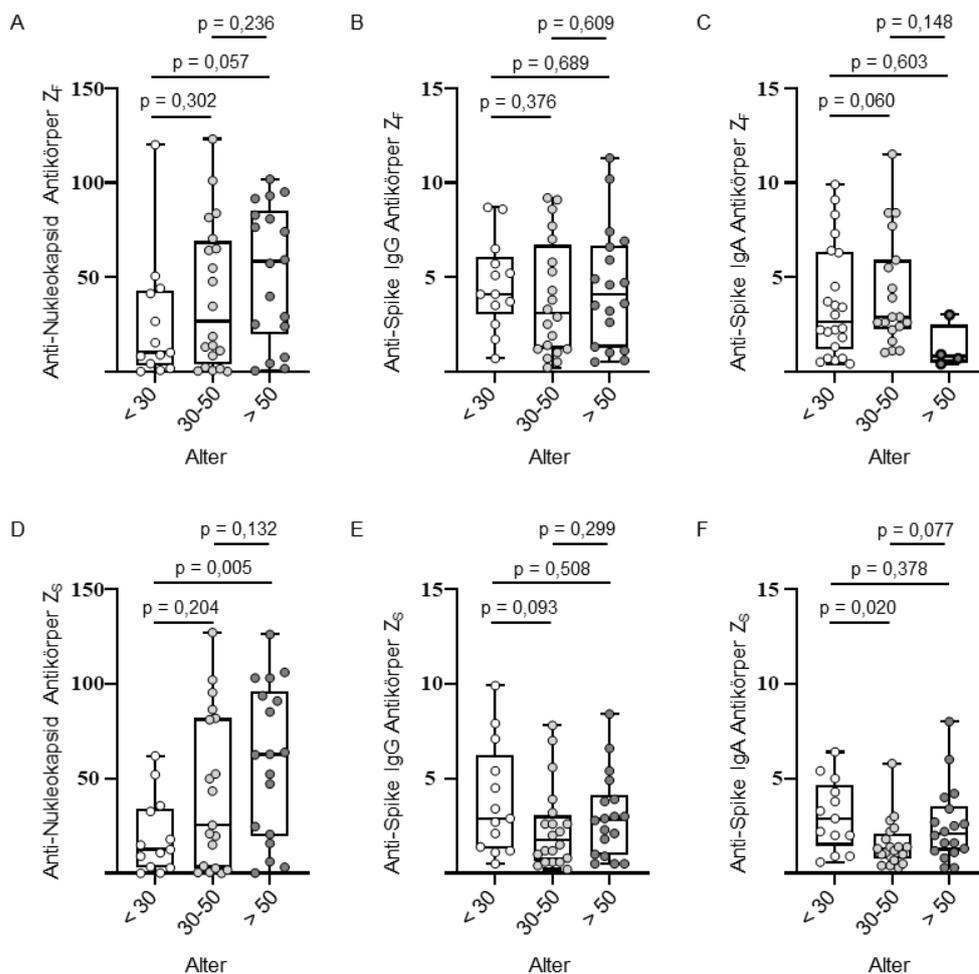


Abbildung 24: Alter und Antikörperantworten. Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel (A und D), Anti-Spike IgG Antikörperspiegel (B und E) und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel (C und F) wurden bei rekonvaleszenten Personen (n = 51) zum

Zeitpunkt Z_F (früher Zeitpunkt 35 bis 56 Tage nach positiver PCR, A, B und C) und Z_S (später Zeitpunkt 141 bis 183 Tage nach positiver PCR, D, E und F) bestimmt. Die Spender wurden anhand ihres Alters in 3 Gruppen aufgeteilt. Die Werte der Anti-Spike IgG Antikörper und Anti-Spike IgA Antikörper sind als Verhältnis über dem Schwellenwert angegeben. Die Werte der Anti-Nukleokapsid Antikörper sind als Indexwert angegeben. Die Daten werden als Boxplots mit 25. und 75. Perzentile und Min/Max-Whisker dargestellt. Die p-Werte wurden mittels Kruskal-Wallis-Test berechnet. p, p-Wert.

Es erfolgte die Analyse der humoralen Immunantwort zwischen Personen mit Normalgewicht (BMI < 25 (n = 22)), Präadipositas (BMI 25 - 30 (n = 18)) und Adipositas (BMI > 30 (n = 4)). Hierbei zeigten sich signifikant höhere Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel zwischen Rekonvaleszenten mit einem BMI unter 25 und einem BMI über 30 und bei Spendern mit einem BMI von 25 - 30 und einem BMI über 30 zum Zeitpunkt Z_F (p-Werte: 0,021 und 0,037; Abbildung 25A). Dieser Trend konnte ebenfalls zum Zeitpunkt Z_S festgestellt werden, jedoch ohne, dass ein signifikanter Unterschied erreicht wurde (p-Werte: 0,095 und 0,115; Abbildung 25D). Bei Personen mit einem BMI unter 25 im Vergleich zu Personen mit einem BMI von 25 - 30 fand sich zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied im Hinblick auf Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel (p-Werte: 0,532 und 0,302; Abbildung 25A und D).

Des Weiteren zeigten sich zu beiden Zeitpunkten signifikant niedrigere Anti-Spike IgA Antikörperspiegel bei Rekonvaleszenten mit einem BMI über 30 im Vergleich zu Personen mit einem BMI von 25 - 30 (p-Werte: 0,030 und 0,012; Abbildung 25C und F). Zwischen den anderen Gruppen ließen sich in Bezug auf die Anti-Spike IgA Antikörper keine Unterschiede feststellen (p-Werte: 0,422, 0,109, 0,196 und 0,102; Abbildung 25C und F).

Einen ähnlichen Trend wie bei den Anti-Spike IgA Antikörpern, mit Nachweis von niedrigeren Antikörperspiegeln bei adipösen Personen, zeigte der BMI-Gruppenvergleich der Anti-Spike IgG Antikörper, jedoch ohne signifikante Werte zu erreichen (p-Werte: 0,471, 0,201, 0,056, 0,301, 0,319 und 0,148; Abbildung 25B und E).

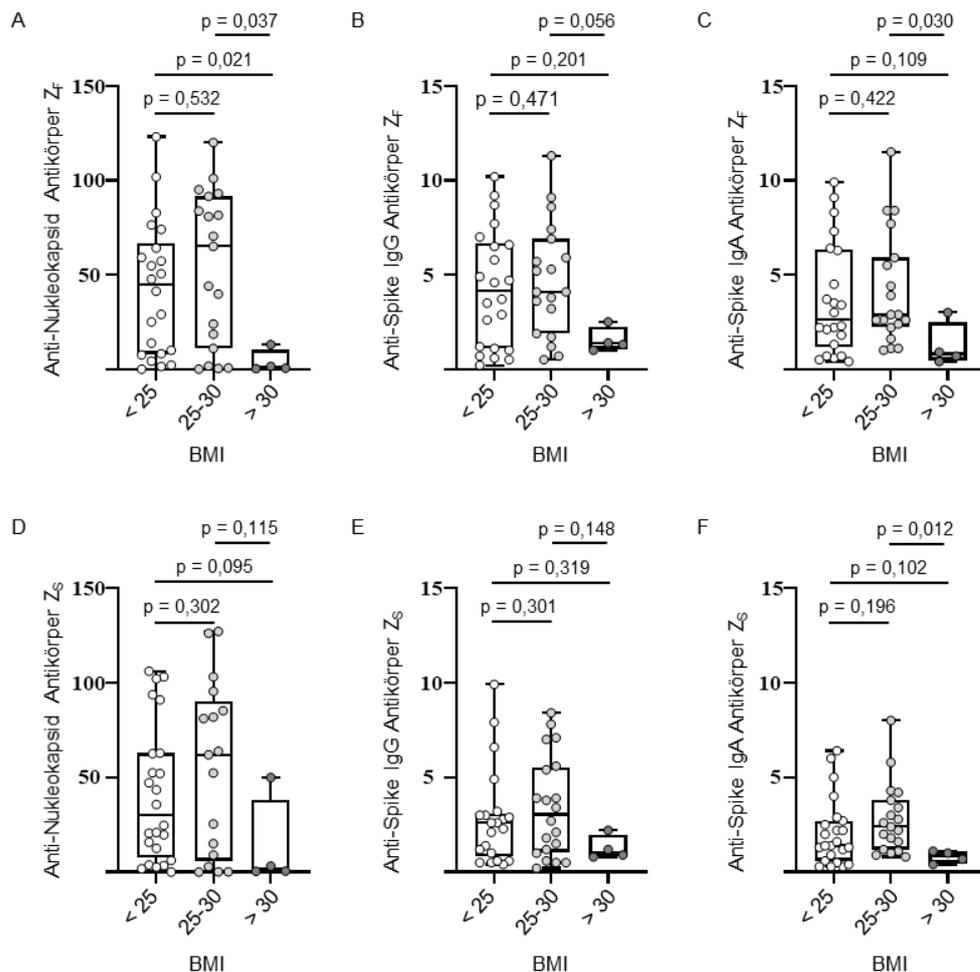


Abbildung 25: Body Mass Index und Antikörperantworten.

Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel (A und D), Anti-Spike IgG Antikörperspiegel (B und E) und Anti-Spike IgA Antikörperspiegel (C und F) wurden bei rekonvaleszenten Personen (n = 51) zum Zeitpunkt Z_F (früher Zeitpunkt 35 bis 56 Tage nach positiver PCR, A, B und C) und Z_S (später Zeitpunkt 141 bis 183 Tage nach positiver PCR, D, E und F) bestimmt. Die Spender wurden anhand ihres BMIs in 3 Gruppen aufgeteilt. Die Werte der Anti-Spike IgG Antikörper und Anti-Spike IgA Antikörper sind als Verhältnis über dem Schwellenwert angegeben. Die Werte der Anti-Nukleokapsid Antikörper sind als Indexwert angegeben. Die Daten werden als Boxplots mit 25. und 75. Perzentile und Min/Max-Whisker dargestellt. Die p-Werte wurden mittels Kruskal-Wallis-Test berechnet. BMI, Body Mass Index; p, p-Wert.

Zusammenfassend zeigten sich bei den allgemeinen Charakteristika der Spender bezüglich des Geschlechts keine Unterschiede in der SARS-CoV-2 spezifischen humoralen Immunantwort.

In den Alterskohorten zeigten sich niedrigere Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel bei unter Dreißigjährigen im Vergleich zu über Fünfzigjährigen. Außerdem wiesen die unter Dreißigjährigen höhere Anti-Spike IgA

Antikörperspiegel als die Dreißig- bis Fünfzigjährigen auf. Der Vergleich der weiteren Antikörperspiegel ergab keine signifikanten Unterschiede.

Bei der Analyse von Spendern mit unterschiedlichem BMI wurden niedrigere Antikörperspiegel bei adipösen Personen im Vergleich mit beiden anderen Gewichtsgruppen im Hinblick auf drei untersuchten SARS-CoV-2 spezifischen Antikörperspiegel festgestellt. Zwischen normalgewichtigen und präadipösen Rekonvaleszenten zeigten sich keine Unterschiede in der humoralen SARS-CoV-2 Immunantwort.

4. Diskussion

4.1. Auftreten von postinfektiösen Symptomen nach SARS-CoV-2 Infektion und post-COVID-Syndrom

Das post-COVID-Syndrom betrifft in vielen Fällen auch Personen mit asymptomatischen bis moderaten Verläufen von COVID-19 und zeigt sich mit einem heterogenen klinischen Bild, das von minimalen Beschwerden bis zu schwerwiegenden Einschränkungen der Alltags- und Arbeitsfähigkeit reicht^{74,95,105,109,112}. In dieser Arbeit zeigten etwa 40 % aller Personen fünf bis sechs Monate nach PCR bestätigtem Beginn ihrer mild bis moderaten COVID-19 Erkrankung ein post-COVID-Syndrom. Von diesen initial nicht hospitalisierten Rekonvaleszenten berichteten 76 % über mindestens ein postinfektiöses Symptom, was häufiger ist verglichen mit den Ergebnissen einer anderen Arbeit, die über mindestens ein postinfektiöses Symptom bei circa 40 % der Spender Ihrer Kohorte sechs Monate nach Erkrankungsbeginn berichtete¹³⁰. Allerdings wurden in einer Studie bei hospitalisierten Rekonvaleszenten ähnliche Raten (73 %) an postinfektiösen Symptomen festgestellt⁷⁴. Die Unterschiede in der festgestellten Prävalenz des post-COVID-Syndroms und der detektierten Symptome zwischen verschiedenen Studien sind vermutlich hauptsächlich durch unterschiedliche Bewertungszeitpunkte und -methoden, divergierende Definitionen des post-COVID-Syndroms und die Ausgangsmerkmale der Rekonvaleszenten zurückzuführen^{74,104,105,111,130,131}. Insbesondere die initiale Krankheitsschwere, Hospitalisierungsrate im Rahmen der akuten Erkrankung und die Zeitpunkte der Erfassung der postinfektiösen Symptome und die Art der Symptombeurteilung beeinflussen die Entdeckungsrate der Symptome^{74,108,131}. Im Allgemeinen nimmt die Zahl der nach COVID-19 berichteten Symptome mit der Zeit ab. Dies ist jedoch kein linearer Prozess, da auch bereits abgeklungene Symptome erneut auftreten können^{60,110,111}.

Ein relevanter zu beachtender Aspekt im Vergleich der Ergebnisse verschiedener Studien ist, dass weiterhin keine allgemeine Definition der „notwendigen“ Symptome für die Diagnose des post-COVID-Syndroms vorhanden ist¹⁰².

In der in dieser Arbeit untersuchten Kohorte gaben die meisten Personen postinfektiöse Symptome fünf bis sechs Monate nach PCR-bestätigter akuter COVID-19 Erkrankung an. Deren Abfrage erfolgte mittels eines Fragebogens. Deshalb muss bei der Beurteilung der Ergebnisse die nicht objektive Selbsteinschätzung der Spender mittels Fragebogen berücksichtigt werden^{132,133}. Außerdem wurde diese Studie sehr früh in der COVID-19 Pandemie durchgeführt und somit mutmaßlich von einem mangelnden Bewusstsein für die postinfektiösen Folgen von COVID-19 beeinflusst. Folglich wurden in dieser Arbeit alle berichteten Symptome ausgewertet, unabhängig davon, ob die Rekonvaleszenten diese selbst als postinfektiös einschätzen oder nicht. Als Personen mit post-COVID-Syndrom wurden Rekonvaleszente mit einem postinfektiösen Symptomscore von größer drei oder Bestehen von mehr als zwei einzelnen postinfektiösen Symptomen betrachtet. Die in dieser Studie ermittelte Häufigkeit des post-COVID-Syndroms von ca. 40 % deckt sich mit den Ergebnissen einer in Köln durchgeführten prospektiven und longitudinalen Arbeit, die bei 35 % von nicht hospitalisierten COVID-19 Patienten sieben Monate nach der akuten Infektion ein post-COVID-Syndrom feststellte¹¹². Die am häufigsten berichteten postinfektiösen Symptome in der hier untersuchten Kohorte waren Müdigkeit, Anosmie und Ageusie, Kopfschmerzen und verminderte Leistungsfähigkeit. Dies ist im Einklang mit den am häufigsten festgestellten postinfektiösen Symptomen einer großen Erhebung für die Gesamtbevölkerung im Bereich Tübingen⁷⁴.

4.2. Analyse der Korrelation von klinischen Parametern, humoraler Immunantwort, postinfektiösen Symptomen nach SARS-CoV-2 Infektion und post-COVID-Syndrom

Die Pathophysiologie des post-COVID-Syndroms ist trotz rasch zunehmendem Wissenszuwachs immer noch nicht vollständig verstanden und die Identifizierung von Risikofaktoren und Suche nach prädiktiven Markern für das Auftreten von postinfektiösen Beschwerden im weiteren Verlauf der Infektion ist weiterhin nicht abgeschlossen^{79,114-122}. Mittlerweile sind manche Risikofaktoren für das post-COVID-Syndrom bekannt, wie z. B. Alter, BMI, Geschlecht und

Schwere der Symptome während der akuten COVID-19 Erkrankung¹²³⁻¹²⁶. Passend hierzu fand sich in dieser Arbeit, dass jüngere Personen sowohl weniger einzelne postinfektiöse Symptome beklagten als auch insgesamt eine geringere Symptomlast basierend auf dem Symptomscore aufwiesen. Ebenso deckt sich mit der Literatur, dass in dieser Kohorte Patienten mit Präadipositas einen höheren Symptomscore, mit dem gleichen Trend für die Anzahl der Beschwerden ohne statistische Signifikanz, im Vergleich zu normalgewichtigen Personen zeigten¹²³⁻¹²⁶. Im Vergleich zu anderen Studien, ergab sich kein Unterschied bezüglich des Geschlechtes unter den hier untersuchten Spendern¹²³⁻¹²⁶.

In dieser Arbeit zeigten sich für Personen mit post-COVID-Syndrom erhöhte Anti-SARS-CoV-2-spezifische Antikörperspiegel (fünf bis sechs Wochen und fünf bis sechs Monate nach positiver PCR). Darüber hinaus ließen sich bei Spendern mit allgemeinen Symptomen, veränderten Sinneswahrnehmungen oder neuropsychiatrischen Symptomen fünf bis sechs Monate nach der akuten Erkrankung höhere anti-SARS-CoV-2-spezifische Antikörperspiegel nachweisen. Interessanterweise fanden sich jedoch im Hinblick auf die humorale Antwort gegen das Spike-Protein nur Unterschiede in den IgG Antikörperspiegeln, wohingegen sämtliche Analysen keine Unterschiede für die Anti-Spike IgA Antikörperspiegel ergaben. Die Rolle der SARS-CoV-2-spezifischen humoralen Immunantwort für die Pathophysiologie des post-COVID-Syndroms bzw. ihre Assoziation mit dem Auftreten postinfektiöser Symptome nach COVID-19 ist immer noch nicht geklärt und teilweise erscheinen die Ergebnisse verschiedener Studien sogar widersprüchlich, was mutmaßlich auf die deutlich unterschiedlichen methodischen Ansätze der Arbeiten zurückzuführen sein könnte^{112,130,131,134-138}.

In dieser Arbeit zeigten sich positive Anti-Nukleokapsid Antikörper an beiden Zeitpunkten für 88 % der untersuchten Personen. Im Unterschied hierzu sank die Serokonversionsrate von Anti-Spike Antikörper sowohl bei IgG von 84 % auf 75 % als auch bei IgA von 80 % auf 71 % im zeitlichen Verlauf nach durchgemachter SARS-CoV-2 Infektion. Mehrere Studien haben gezeigt, dass die SARS-CoV-2-spezifischen Antikörperspiegel mit der Zeit abnehmen^{69,134}. Die Kinetik der SARS-CoV-2-spezifischen Antikörper hängt jedoch stark vom verwendeten

Testformat ab¹³⁹⁻¹⁴³. Der kompetitive Elecsys® anti-SARS-CoV-2 anti-N Immunoassay (Roche Diagnostics), der hier zum Nachweis von Anti-Nukleokapsidantikörpern verwendet wurde, zeigte, passend zu den Ergebnissen dieser Arbeit, in mehreren anderen Studien eine längere Seropositivität und sogar ein mit der Zeit zunehmendes Signal. Im Unterschied hierzu wurden bei nicht-kompetitiven IgG-Immunoassays, die auf das Nukleokapsid-Antigen abzielen, mit der Zeit abnehmende Antikörpertiter beobachtet. Dies ist höchstwahrscheinlich auf den Einfluss der Antikörperavidität und der relativen Häufigkeit der verschiedenen Immunglobulinklassen im kompetitiven Assay zurückzuführen¹³⁹⁻¹⁴³.

Die hier durchgeführten Untersuchungen zeigten, dass erhöhte Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel fünf bis sechs Monate nach akuter COVID-19 Erkrankung mit dem Auftreten von post-COVID-Syndrom assoziiert sind, mit statistischer Signifikanz für die Anzahl und tendenziell für den Schweregrad, ermittelt durch den Symptomscore der berichteten postinfektiösen Symptome. In Einklang hiermit wurden in einer anderen Studie bei Patienten mit post-COVID-Syndrom sechs Monate nach akuter Infektion erhöhte SARS-CoV-2-spezifische Antikörperspiegel (Anti-Spike IgG und Anti-Nukleokapsid) festgestellt¹³⁰. In der hier untersuchten Kohorte fanden sich zusätzlich bei Personen mit post-COVID-Syndrom signifikant erhöhte Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel bereits zu einem früheren Zeitpunkt, nämlich fünf bis sechs Wochen nach positiver PCR. Diese Beobachtung könnte zukünftig einen Beitrag dazu liefern, Personen mit akuten oder subakutem COVID-19 zu identifizieren bei denen ein erhöhtes Risiko für ein post-COVID-Syndrom vorliegt, insbesondere da die Bildung von Anti-Nukleokapsid Antikörper durch die bisher zugelassenen Impfstoffe nicht induziert wird. Die Tatsache, dass über ein schnelleres Abklingen der Symptome bei COVID-19 bei höheren Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegeln in der ersten Woche nach der Diagnose berichtet wurde zeigte zusätzlich die Bedeutung von Anti-Nukleokapsid Antikörpern in der Immunantwort gegen SARS-CoV-2¹³¹. Die Beobachtung, dass die Anti-Spike IgG Antikörper bei allen Rekonvaleszenten in dieser Arbeit im Laufe der Zeit abnahmen und dass Spender mit post-COVID-Syndrom zu Beginn und am Ende der akuten Infektion deutlich erhöhte Anti-

Spike IgG Antikörperspiegel aufweisen passt zu anderen Berichten, die zeigen, dass die Anti-Spike Antikörperspiegel im Laufe der Zeit abnehmen und Rekonvaleszenten mit mehr und schwereren postinfektiösen Symptomen nach der Infektion höhere Anti-Spike Antikörperspiegel aufweisen^{69,127,134,144-147}. Gleichmaßen wurden kürzlich höhere Anti-Rezeptor-Bindungsdomänen Antikörperspiegel, die gegen die S1-Untereinheit des Spike-Proteins gerichtet sind, bei Rekonvaleszenten mit postinfektiösen kardio-pulmonalen Symptomen sieben Monate nach COVID-19 festgestellt¹³⁶.

Diese Arbeit untersuchte des Weiteren mögliche Zusammenhänge von einzelnen postinfektiösen Symptomen und Symptomgruppen mit der SARS-CoV-2-spezifischen humoralen Immunantwort. In der hier durchgeführten Studie imponierten bei Personen mit postinfektiösen neuropsychiatrischen Symptomen, fünf bis sechs Wochen nach SARS-CoV-2 positiver PCR signifikant höhere Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel, was interessant ist da viele Menschen mit post-COVID-Syndrom unter neuropsychiatrischen Beschwerden leiden^{111,148}. Auch für die neuropsychiatrischen Einzelsymptome Kopfschmerzen und Reizbarkeit zeigten sich signifikant höhere Anti-Nukleokapsid und Anti-Spike Antikörperspiegel. Dies ist von hoher Relevanz da neuropsychiatrische Beschwerden sehr häufig im Rahmen des post-COVID-Syndrom beobachtet werden^{111,148}.

In Hinblick auf, die oft nach COVID-19 berichteten postinfektiösen Symptome, Anosmie und Ageusie wurde in einer Studie über niedrigere Anti-Spike IgA Antikörperspiegel bei Rekonvaleszenten bis zu drei Monate nach der akuten Infektion berichtet, was die Bedeutung von IgA Antikörpern auf Schleimhautgewebe unterstreicht¹³⁸. In dieser Arbeit fanden sich im Unterschied hierzu zwar keine Differenzen in Bezug auf die Anti-Spike IgA Antikörperspiegel, aber es fanden sich bei Spendern mit veränderter Sinneswahrnehmung signifikant höhere Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel, die sowohl IgG als auch IgA beinhalten.

Aufgrund der Vielzahl an Berichten über postinfektiöse Müdigkeit und Abgeschlagenheit bei SARS-CoV-2-Rekonvaleszenten wird COVID-19

zunehmend als eine auslösende Viruserkrankung, wie z. B. auch das Epstein-Barr-Virus, das humane Herpesvirus-6 oder das humane Parvovirus B19, für die Myalgische Enzephalomyelitis/ das chronisches Erschöpfungssyndrom (ME/ CFS) diskutiert^{149,150}. Bei den Personen dieser Kohorte, die über Müdigkeit und/ oder eine verminderte Leistungsfähigkeit fünf bis sechs Monate nach COVID 19 berichteten, fanden sich bereits fünf bis sechs Wochen nach der akuten SARS-CoV-2 Infektion höhere Anti-Spike Antikörperspiegel. Dies erscheint relevant, da eine dysregulierte Immunantwort nach viralen Infektionen und Autoimmunität, einschließlich der Entwicklung von Autoantikörpern, als ein Hauptmerkmale der Pathophysiologie von ME/ CFS erwogen werden^{149,151,152}.

4.3. Schlussfolgerung aus der Arbeit

Diese Arbeit liefert weitere Erkenntnisse zum Zusammenhang zwischen klinischen Parametern, SARS-CoV-2-spezifischer humoraler Immunantwort und dem Auftreten von postinfektiösen Symptomen nach COVID-19 bzw. dem post-COVID-Syndrom. Die in dieser Studie festgestellten klinischen Risikofaktoren für das post-COVID-Syndrom bestätigen bereits in der Literatur bekannte Risikofaktoren. Durch die Korrelation von SARS-CoV-2-spezifischen humoralen Immunantwort mit einzelnen und kategorisierten postinfektiösen Symptomen sowie der Gesamtanzahl an postinfektiösen Beschwerden und der Symptomlast geben die hier durchgeführten Untersuchungen zusätzliche Informationen über den Zusammenhang von post-COVID-Syndrom und humoraler Immunantwort. Es wurden erhöhte SARS-CoV-2-spezifische Antikörperspiegel bereits früh (fünf bis sechs Wochen) nach der akuten COVID-19 Erkrankung bei Rekonvaleszenten mit, im späteren zeitlichen Verlauf nach SARS-COV-2 Infektion auftretenden, schwereren postinfektiösen Symptomen (fünf bis sechs Monate), insbesondere bei Personen mit neuropsychiatrischen Symptomen, beobachtet. Basierend hierauf könnte die Analyse der humoralen Immunantwort kurz nach „akutem“ COVID-19 bzw. im subakuten Verlaufsstadium einer SARS-CoV-2 Infektion, insbesondere der Anti-Nukleokapsid Antikörperspiegel, dazu beitragen Personen mit einem erhöhten Risiko für ein post-COVID-Syndrom im späteren postinfektiösen Verlauf zu identifizieren.

Sowohl die weiterhin nicht abschließend geklärte Rolle der humoralen Immunantwort in der Pathophysiologie postinfektöser Folgeerkrankungen nach COVID-19 als auch der Stellenwert der SARS-CoV-2 spezifischen Immunantwort als Biomarker bzw. messbarer Risikofaktor für das post-COVID-Syndrom verlangt nach weiteren Studien, um diese immunologisch, ärztlich und versorgungswissenschaftlich relevanten Fragen zu klären.

5. Zusammenfassung

Das post-COVID-Syndrom betrifft in vielen Fällen auch Personen mit asymptomatischen bis moderaten Verläufen von COVID-19 und zeigt sich mit einem heterogenen klinischen Bild, das von minimalen Beschwerden bis hin zu schwerwiegenden Einschränkungen der Alltags- und Arbeitsfähigkeit reicht.

In dieser Arbeit wurde untersucht, ob es eine Korrelation zwischen allgemeinen Charakteristika der infizierten Personen, postinfektiösen COVID-19 Symptomen und SARS-CoV-2-spezifischer humoraler Immunantwort bei Rekonvaleszenten mit mildem bis moderaten Krankheitsverlauf gibt. Dafür wurden die Antikörperspiegel zu einem frühen Zeitpunkt (35 bis 56 Tage nach positiver PCR) und einem späten Zeitpunkt (141 bis 183 Tage nach positiver PCR) bestimmt.

Hierbei zeigten Personen mit post-COVID-Syndrom erhöhte Antikörperwerte im Hinblick auf Anti-Nukleokapsid und Anti-Spike IgG Antikörperspiegel im Vergleich zu asymptomatischen Personen und Rekonvaleszenten mit wenigen Beschwerden bzw. niedrigem Symptomscore. Ebenso wiesen rekonvaleszente Spender mit neuropsychiatrischen Symptomen, wie Unruhe, Herzklopfen, Reizbarkeit und Kopfschmerzen, sowie mit allgemeinen Symptomen, wie Müdigkeit und verringerter Leistungsfähigkeit, höhere SARS-CoV-2-spezifische Antikörperspiegel auf als diesbezüglich beschwerdefreie Personen. Im Hinblick auf postinfektiöse Einzelsymptome fanden sich in der Analyse von SARS-CoV-2-spezifischer humoraler Immunantwort erhöhte Anti-Nukleokapsid Antikörper für Kopfschmerzen und Reizbarkeit. Außerdem konnte beim Einzelsymptom Reizbarkeit ein höherer Anti-Spike IgG Antikörperspiegel festgestellt werden. Für Anti-Spike IgA Antikörperspiegel konnten keine Unterschiede in sämtlichen Analysen zwischen den Gruppen festgestellt werden.

Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass jüngere Spender weniger Symptome aufwiesen und eine geringere Symptomlast hatten als ältere Spender. Passend hierzu wurden bei unter Dreißigjährigen niedrigere SARS-CoV-2-spezifische Antikörperspiegel nachgewiesen im Vergleich zu den beiden älteren Kohorten. Die Untersuchung bezüglich des BMIs und der SARS-CoV-2-spezifischen

Immunantwort zeigte niedrigere Antikörperspiegel bei adipösen Spendern im Vergleich zu Rekonvaleszenten mit Normalgewicht und Präadipositas. Bezüglich der Symptomlast wurde lediglich bei präadipösen Personen ein höherer Symptomscore als bei normalgewichtigen Spendern festgestellt. Geschlechtsspezifische Unterschiede bezüglich der Symptomanzahl und des Symptomscores konnten nicht nachgewiesen werden.

Insgesamt liefert die Arbeit weitere Erkenntnisse zum Zusammenhang zwischen klinischen Parametern, SARS-CoV-2-spezifischer humoraler Immunantwort und dem Auftreten von postinfektiösen Symptomen nach COVID-19 bzw. dem post-COVID-Syndrom, die in Zukunft dazu beitragen können Personen mit einem erhöhten Risiko für ein post-COVID-Syndrom im späteren postinfektiösen Verlauf einer akuten oder subakuten SARS-CoV-2 Infektion zu identifizieren.

6. Literaturverzeichnis

1. Ziebuhr J. Coronaviren. In: Suerbaum S, Burchard G-D, Kaufmann SHE, Schulz TF, eds. *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Springer Berlin Heidelberg; 2016:479-482.
2. Cui J, Li F, Shi Z-L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology*. 2019/03/01 2019;17(3):181-192. doi:10.1038/s41579-018-0118-9
3. Huang AT, Garcia-Carreras B, Hitchings MDT, et al. A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: kinetics, correlates of protection, and association with severity. *Nature Communications*. 2020/09/17 2020;11(1):4704. doi:10.1038/s41467-020-18450-4
4. Severance EG, Bossis I, Dickerson FB, et al. Development of a Nucleocapsid-Based Human Coronavirus Immunoassay and Estimates of Individuals Exposed to Coronavirus in a U.S. Metropolitan Population. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2008;15(12):1805-1810. doi:doi:10.1128/CVI.00124-08
5. Corman VM, Muth D, Niemeyer D, Drosten C. Chapter Eight - Hosts and Sources of Endemic Human Coronaviruses. In: Kielian M, Mettenleiter TC, Roossinck MJ, eds. *Advances in Virus Research*. Academic Press; 2018:163-188.
6. Peiris JSM, Lai ST, Poon LLM, et al. Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. *The Lancet*. 2003/04/19/ 2003;361(9366):1319-1325. doi:[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)13077-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)13077-2)
7. Rota PA, Oberste MS, Monroe SS, et al. Characterization of a Novel Coronavirus Associated with Severe Acute Respiratory Syndrome. *Science*. 2003;300(5624):1394-1399. doi:doi:10.1126/science.1085952
8. Drosten C, Günther S, Preiser W, et al. Identification of a Novel Coronavirus in Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome. *New England Journal of Medicine*. 2003;348(20):1967-1976. doi:10.1056/NEJMoa030747
9. Kuiken T, Fouchier RAM, Schutten M, et al. Newly discovered coronavirus as the primary cause of severe acute respiratory syndrome. *The Lancet*. 2003/07/26/ 2003;362(9380):263-270. doi:[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)13967-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)13967-0)
10. World Health O. Consensus document on the epidemiology of severe acute respiratory syndrome (SARS). Geneva: World Health Organization; 2003.
11. Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus ADME, Fouchier RAM. Isolation of a Novel Coronavirus from a Man with Pneumonia in Saudi Arabia. *New England Journal of Medicine*. 2012;367(19):1814-1820. doi:10.1056/NEJMoa1211721

12. Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine*. 2020;382(8):727-733. doi:10.1056/NEJMoa2001017
13. Wu F, Zhao S, Yu B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020/03/01 2020;579(7798):265-269. doi:10.1038/s41586-020-2008-3
14. Zhou P, Yang X-L, Wang X-G, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020/03/01 2020;579(7798):270-273. doi:10.1038/s41586-020-2012-7
15. World Health O. *Coronavirus disease 2019 (COVID-19): situation report, 51*. 2020. 2020-03-11. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331475>
16. WHO. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. World Health Organization. Accessed 13.05.2023, <https://covid19.who.int/>
17. Scovino AM, Dahab EC, Vieira GF, Freire-de-Lima L, Freire-de-Lima CG, Morrot A. SARS-CoV-2's Variants of Concern: A Brief Characterization. Mini Review. *Frontiers in Immunology*. 2022-July-26 2022;13doi:10.3389/fimmu.2022.834098
18. WHO. 05-05-2023-statement-on-the-fifteenth-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-emergency-committee-regarding-the-coronavirus-disease-(covid-19)-pandemic. [https://www.who.int/news/item/05-05-2023-statement-on-the-fifteenth-meeting-of-the-international-health-regulations-\(2005\)-emergency-committee-regarding-the-coronavirus-disease-\(covid-19\)-pandemic](https://www.who.int/news/item/05-05-2023-statement-on-the-fifteenth-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-emergency-committee-regarding-the-coronavirus-disease-(covid-19)-pandemic)
19. Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS, et al. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology*. 2020/04/01 2020;5(4):536-544. doi:10.1038/s41564-020-0695-z
20. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi Z-L. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews Microbiology*. 2021/03/01 2021;19(3):141-154. doi:10.1038/s41579-020-00459-7
21. Lu R, Zhao X, Li J, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet*. 2020/02/22/ 2020;395(10224):565-574. doi:[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8)
22. Arndt AL, Larson BJ, Hogue BG. A Conserved Domain in the Coronavirus Membrane Protein Tail Is Important for Virus Assembly. *Journal of Virology*. 2010;84(21):11418-11428. doi:doi:10.1128/JVI.01131-10
23. Kuo L, Hurst KR, Masters PS. Exceptional Flexibility in the Sequence Requirements for Coronavirus Small Envelope Protein Function. *Journal of Virology*. 2007;81(5):2249-2262. doi:doi:10.1128/JVI.01577-06

24. Parthasarathy K, Ng L, Lin X, et al. Structural Flexibility of the Pentameric SARS Coronavirus Envelope Protein Ion Channel. *Biophysical Journal*. 2008/09/15/ 2008;95(6):L39-L41. doi:<https://doi.org/10.1529/biophysj.108.133041>
25. Walls AC, Park Y-J, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veesler D. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*. 2020/04/16/ 2020;181(2):281-292.e6. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>
26. Shang J, Ye G, Shi K, et al. Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. *Nature*. 2020/05/01 2020;581(7807):221-224. doi:10.1038/s41586-020-2179-y
27. Planas D, Saunders N, Maes P, et al. Considerable escape of SARS-CoV-2 Omicron to antibody neutralization. *Nature*. 2022/02/01 2022;602(7898):671-675. doi:10.1038/s41586-021-04389-z
28. Bosch BJ, Martina BEE, van der Zee R, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) infection inhibition using spike protein heptad repeat-derived peptides. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2004;101(22):8455-8460. doi:doi:10.1073/pnas.0400576101
29. Kang S, Yang M, Hong Z, et al. Crystal structure of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein RNA binding domain reveals potential unique drug targeting sites. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2020/07/01/ 2020;10(7):1228-1238. doi:<https://doi.org/10.1016/j.apsb.2020.04.009>
30. Ahmed SF, Quadeer AA, McKay MR. Preliminary Identification of Potential Vaccine Targets for the COVID-19 Coronavirus (SARS-CoV-2) Based on SARS-CoV Immunological Studies. *Viruses*. 2020;12(3):254.
31. Liang Y, Wang M-L, Chien C-S, et al. Highlight of Immune Pathogenic Response and Hematopathologic Effect in SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-Cov-2 Infection. Review. *Frontiers in Immunology*. 2020-May-12 2020;11doi:10.3389/fimmu.2020.01022
32. Bartlam M, Xu Y, Rao Z. Structural proteomics of the SARS coronavirus: a model response to emerging infectious diseases. *Journal of Structural and Functional Genomics*. 2007/09/01 2007;8(2):85-97. doi:10.1007/s10969-007-9024-5
33. Ziebuhr J. Molecular biology of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Current Opinion in Microbiology*. 2004/08/01/ 2004;7(4):412-419. doi:<https://doi.org/10.1016/j.mib.2004.06.007>
34. Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nature Medicine*. 2020/04/01 2020;26(4):450-452. doi:10.1038/s41591-020-0820-9
35. Acter T, Uddin N, Das J, Akhter A, Choudhury TR, Kim S. Evolution of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) as coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic: A global health emergency. *Science of The*

Total Environment. 2020/08/15/ 2020;730:138996.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138996>

36. Knoops K, Kikkert M, Worm SHEvd, et al. SARS-Coronavirus Replication Is Supported by a Reticulovesicular Network of Modified Endoplasmic Reticulum. *PLOS Biology*. 2008;6(9):e226. doi:10.1371/journal.pbio.0060226

37. Ogando NS, Dalebout TJ, Zevenhoven-Dobbe JC, et al. SARS-coronavirus-2 replication in Vero E6 cells: replication kinetics, rapid adaptation and cytopathology. *Journal of General Virology*. 2020;101(9):925-940. doi:<https://doi.org/10.1099/jgv.0.001453>

38. Katsura H, Sontake V, Tata A, et al. Human Lung Stem Cell-Based Alveolospheres Provide Insights into SARS-CoV-2-Mediated Interferon Responses and Pneumocyte Dysfunction. *Cell Stem Cell*. 2020/12/03/ 2020;27(6):890-904.e8. doi:<https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.10.005>

39. Youk J, Kim T, Evans KV, et al. Three-Dimensional Human Alveolar Stem Cell Culture Models Reveal Infection Response to SARS-CoV-2. *Cell Stem Cell*. 2020/12/03/ 2020;27(6):905-919.e10. doi:<https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.10.004>

40. Salahudeen AA, Choi SS, Rustagi A, et al. Progenitor identification and SARS-CoV-2 infection in human distal lung organoids. *Nature*. 2020/12/01 2020;588(7839):670-675. doi:10.1038/s41586-020-3014-1

41. Huang J, Hume AJ, Abo KM, et al. SARS-CoV-2 Infection of Pluripotent Stem Cell-Derived Human Lung Alveolar Type 2 Cells Elicits a Rapid Epithelial-Intrinsic Inflammatory Response. *Cell Stem Cell*. 2020/12/03/ 2020;27(6):962-973.e7. doi:<https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.09.013>

42. Lamers MM, van der Vaart J, Knoops K, et al. An organoid-derived bronchioalveolar model for SARS-CoV-2 infection of human alveolar type II-like cells. *The EMBO Journal*. 2021;40(5):e105912. doi:<https://doi.org/10.15252/embj.2020105912>

43. Bedford J, Enria D, Giesecke J, et al. COVID-19: towards controlling of a pandemic. *The Lancet*. 2020/03/28/ 2020;395(10229):1015-1018. doi:[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30673-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30673-5)

44. Okamoto M, Tsukamoto H, Kouwaki T, Seya T, Oshiumi H. Recognition of Viral RNA by Pattern Recognition Receptors in the Induction of Innate Immunity and Excessive Inflammation During Respiratory Viral Infections. *Viral Immunol*. Jul/Aug 2017;30(6):408-420. doi:10.1089/vim.2016.0178

45. Sposito B, Broggi A, Pandolfi L, et al. The interferon landscape along the respiratory tract impacts the severity of COVID-19. *Cell*. 2021/09/16/ 2021;184(19):4953-4968.e16. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.08.016>

46. Shi J, Zhao Y, Wang K, et al. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death. *Nature*. 2015/10/01 2015;526(7575):660-665. doi:10.1038/nature15514

47. He W-t, Wan H, Hu L, et al. Gasdermin D is an executor of pyroptosis and required for interleukin-1 β secretion. *Cell Research*. 2015/12/01 2015;25(12):1285-1298. doi:10.1038/cr.2015.139
48. Man SM, Karki R, Kanneganti T-D. Molecular mechanisms and functions of pyroptosis, inflammatory caspases and inflammasomes in infectious diseases. *Immunological Reviews*. 2017;277(1):61-75. doi:<https://doi.org/10.1111/imr.12534>
49. Seow J, Graham C, Merrick B, et al. Longitudinal observation and decline of neutralizing antibody responses in the three months following SARS-CoV-2 infection in humans. *Nature Microbiology*. 2020/12/01 2020;5(12):1598-1607. doi:10.1038/s41564-020-00813-8
50. Dan JM, Mateus J, Kato Y, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science*. 2021;371(6529):eabf4063. doi:doi:10.1126/science.abf4063
51. Osuchowski MF, Winkler MS, Skirecki T, et al. The COVID-19 puzzle: deciphering pathophysiology and phenotypes of a new disease entity. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2021/06/01/ 2021;9(6):622-642. doi:[https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(21\)00218-6](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(21)00218-6)
52. Le Bert N, Tan AT, Kunasegaran K, et al. SARS-CoV-2-specific T cell immunity in cases of COVID-19 and SARS, and uninfected controls. *Nature*. 2020/08/01 2020;584(7821):457-462. doi:10.1038/s41586-020-2550-z
53. Peng Y, Mentzer AJ, Liu G, et al. Broad and strong memory CD4+ and CD8+ T cells induced by SARS-CoV-2 in UK convalescent individuals following COVID-19. *Nature Immunology*. 2020/11/01 2020;21(11):1336-1345. doi:10.1038/s41590-020-0782-6
54. Kared H, Redd AD, Bloch EM, et al. SARS-CoV-2–specific CD8+ T cell responses in convalescent COVID-19 individuals. *The Journal of Clinical Investigation*. 03/01/ 2021;131(5)doi:10.1172/JCI145476
55. Law JC, Koh WH, Budykowski P, et al. Systematic Examination of Antigen-Specific Recall T Cell Responses to SARS-CoV-2 versus Influenza Virus Reveals a Distinct Inflammatory Profile. *The Journal of Immunology*. 2021;206(1):37-50. doi:10.4049/jimmunol.2001067
56. Braun J, Loyal L, Frensch M, et al. SARS-CoV-2-reactive T cells in healthy donors and patients with COVID-19. *Nature*. 2020/11/01 2020;587(7833):270-274. doi:10.1038/s41586-020-2598-9
57. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, et al. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. *Cell*. 2020/06/25/ 2020;181(7):1489-1501.e15. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.05.015>
58. Thevarajan I, Nguyen THO, Koutsakos M, et al. Breadth of concomitant immune responses prior to patient recovery: a case report of non-severe COVID-

19. *Nature Medicine*. 2020/04/01 2020;26(4):453-455. doi:10.1038/s41591-020-0819-2
59. Kared H, Redd AD, Bloch EM, et al. SARS-CoV-2-specific CD8+ T cell responses in convalescent COVID-19 individuals. *J Clin Invest*. Mar 1 2021;131(5)doi:10.1172/jci145476
60. Bilich T, Nelde A, Heitmann JS, et al. T cell and antibody kinetics delineate SARS-CoV-2 peptides mediating long-term immune responses in COVID-19 convalescent individuals. *Sci Transl Med*. Apr 21 2021;13(590)doi:10.1126/scitranslmed.abf7517
61. Almendro-Vázquez P, Laguna-Goya R, Ruiz-Ruigomez M, et al. Longitudinal dynamics of SARS-CoV-2-specific cellular and humoral immunity after natural infection or BNT162b2 vaccination. *PLOS Pathogens*. 2022;17(12):e1010211. doi:10.1371/journal.ppat.1010211
62. Sherina N, Piralla A, Du L, et al. Persistence of SARS-CoV-2-specific B and T cell responses in convalescent COVID-19 patients 6–8 months after the infection. *Med*. 2021/03/12/ 2021;2(3):281-295.e4. doi:<https://doi.org/10.1016/j.medj.2021.02.001>
63. Polat C, Ergunay K. Insights into the virologic and immunologic features of SARS-COV-2. *World J Clin Cases*. Jul 6 2021;9(19):5007-5018. doi:10.12998/wjcc.v9.i19.5007
64. Premkumar L, Segovia-Chumbez B, Jadi R, et al. The receptor-binding domain of the viral spike protein is an immunodominant and highly specific target of antibodies in SARS-CoV-2 patients. *Science Immunology*. 2020;5(48):eabc8413. doi:doi:10.1126/sciimmunol.abc8413
65. Long Q-X, Liu B-Z, Deng H-J, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nature Medicine*. 2020/06/01 2020;26(6):845-848. doi:10.1038/s41591-020-0897-1
66. Glöckner S, Hornung F, Baier M, et al. Robust Neutralizing Antibody Levels Detected after Either SARS-CoV-2 Vaccination or One Year after Infection. *Viruses*. 2021;13(10):2003.
67. Wajnberg A, Amanat F, Firpo A, et al. Robust neutralizing antibodies to SARS-CoV-2 infection persist for months. *Science*. 2020;370(6521):1227-1230. doi:doi:10.1126/science.abd7728
68. Robbiani DF, Gaebler C, Muecksch F, et al. Convergent antibody responses to SARS-CoV-2 in convalescent individuals. *Nature*. 2020/08/01 2020;584(7821):437-442. doi:10.1038/s41586-020-2456-9
69. Van Elslande J, Oyaert M, Ailliet S, et al. Longitudinal follow-up of IgG anti-nucleocapsid antibodies in SARS-CoV-2 infected patients up to eight months after infection. *J Clin Virol*. Mar 2021;136:104765. doi:10.1016/j.jcv.2021.104765
70. Moss P. The T cell immune response against SARS-CoV-2. *Nature Immunology*. 2022/02/01 2022;23(2):186-193. doi:10.1038/s41590-021-01122-w

71. Bonifacius A, Tischer-Zimmermann S, Dragon AC, et al. COVID-19 immune signatures reveal stable antiviral T cell function despite declining humoral responses. *Immunity*. 2021/02/09/ 2021;54(2):340-354.e6. doi:<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.01.008>
72. Breton G, Mendoza P, Hägglöf T, et al. Persistent cellular immunity to SARS-CoV-2 infection Persistent SARS-CoV-2 cellular immunity. *Journal of Experimental Medicine*. 2021;218(4)doi:10.1084/jem.20202515
73. Quast I, Tarlinton D. B cell memory: understanding COVID-19. *Immunity*. 2021/02/09/ 2021;54(2):205-210. doi:<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.01.014>
74. Förster C, Colombo MG, Wetzel AJ, Martus P, Joos S. Persisting Symptoms After COVID-19. *Dtsch Arztebl Int*. Mar 11 2022;119(10):167-174. doi:10.3238/arztebl.m2022.0147
75. Briggs A, Vassall A. Count the cost of disability caused by COVID-19. *Nature*. May 2021;593(7860):502-505. doi:10.1038/d41586-021-01392-2
76. NICE. National Institute for Health and Care Excellence: Clinical Guidelines. *COVID-19 rapid guideline: managing the long-term effects of COVID-19*. National Institute for Health and Care Excellence (NICE)
- Copyright © NICE 2020.; 2020.
77. Koczulla AR, Ankermann T, Behrends U, et al. [S1 Guideline Post-COVID/Long-COVID]. *Pneumologie*. Nov 2021;75(11):869-900. S1-Leitlinie Post-COVID/Long-COVID. doi:10.1055/a-1551-9734
78. World Health O. *A clinical case definition of post COVID-19 condition by a Delphi consensus, 6 October 2021*. 2021. 2021. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/345824>
79. Nalbandian A, Sehgal K, Gupta A, et al. Post-acute COVID-19 syndrome. *Nat Med*. Apr 2021;27(4):601-615. doi:10.1038/s41591-021-01283-z
80. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*. 2020/02/15/ 2020;395(10223):497-506. doi:[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
81. Chandra A, Chakraborty U, Pal J, Karmakar P. Silent hypoxia: a frequently overlooked clinical entity in patients with COVID-19. *BMJ Case Reports*. 2020;13(9):e237207. doi:10.1136/bcr-2020-237207
82. Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus–Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020;323(11):1061-1069. doi:10.1001/jama.2020.1585
83. Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, Peacock SJ, Prescott HC. Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA*. 2020;324(8):782-793. doi:10.1001/jama.2020.12839

84. Mao L, Jin H, Wang M, et al. Neurologic Manifestations of Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurology*. 2020;77(6):683-690. doi:10.1001/jamaneurol.2020.1127
85. Chen Y-T, Shao S-C, Hsu C-K, Wu IW, Hung M-J, Chen Y-C. Incidence of acute kidney injury in COVID-19 infection: a systematic review and meta-analysis. *Critical Care*. 2020/06/16 2020;24(1):346. doi:10.1186/s13054-020-03009-y
86. Mao R, Qiu Y, He J-S, et al. Manifestations and prognosis of gastrointestinal and liver involvement in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. 2020/07/01/ 2020;5(7):667-678. doi:[https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(20\)30126-6](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(20)30126-6)
87. Long B, Brady WJ, Koyfman A, Gottlieb M. Cardiovascular complications in COVID-19. *The American Journal of Emergency Medicine*. 2020/07/01/ 2020;38(7):1504-1507. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ajem.2020.04.048>
88. Qi K, Zeng W, Ye M, et al. Clinical, laboratory, and imaging features of pediatric COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Medicine*. 2021;100(15):e25230. doi:10.1097/md.00000000000025230
89. Berlin DA, Gulick RM, Martinez FJ. Severe Covid-19. *New England Journal of Medicine*. 2020;383(25):2451-2460. doi:10.1056/NEJMcp2009575
90. Health P. SARS-CoV-2 variants of concern and variants under investigation in England; Technical briefing 10; 7 May 2021. Public Health England. Accessed 14.05.2023, [https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/984274/Variants of Concern VOC Technical Briefing 10 England.pdf](https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/984274/Variants_of_Concern_VOC_Technical_Briefing_10_England.pdf)
91. Hadj Hassine I. Covid-19 vaccines and variants of concern: A review. *Reviews in Medical Virology*. 2022;32(4):e2313. doi:<https://doi.org/10.1002/rmv.2313>
92. Tregoning JS, Flight KE, Higham SL, Wang Z, Pierce BF. Progress of the COVID-19 vaccine effort: viruses, vaccines and variants versus efficacy, effectiveness and escape. *Nature Reviews Immunology*. 2021/10/01 2021;21(10):626-636. doi:10.1038/s41577-021-00592-1
93. Fernandes Q, Inchakalody VP, Merhi M, et al. Emerging COVID-19 variants and their impact on SARS-CoV-2 diagnosis, therapeutics and vaccines. *Annals of Medicine*. 2022/12/31 2022;54(1):524-540. doi:10.1080/07853890.2022.2031274
94. Lauring AS, Tenforde MW, Chappell JD, et al. Clinical severity of, and effectiveness of mRNA vaccines against, covid-19 from omicron, delta, and alpha SARS-CoV-2 variants in the United States: prospective observational study. *BMJ*. 2022;376:e069761. doi:10.1136/bmj-2021-069761

95. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*. 2020;323(13):1239-1242. doi:10.1001/jama.2020.2648
96. Frampton D, Rampling T, Cross A, et al. Genomic characteristics and clinical effect of the emergent SARS-CoV-2 B.1.1.7 lineage in London, UK: a whole-genome sequencing and hospital-based cohort study. *The Lancet Infectious Diseases*. 2021/09/01/ 2021;21(9):1246-1256. doi:[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(21\)00170-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00170-5)
97. Stirrup O, Boshier F, Venturini C, et al. SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 is associated with greater disease severity among hospitalised women but not men: multicentre cohort study. *BMJ Open Respiratory Research*. 2021;8(1):e001029. doi:10.1136/bmjresp-2021-001029
98. Funk T, Pharris A, Spiteri G, et al. Characteristics of SARS-CoV-2 variants of concern B.1.1.7, B.1.351 or P.1: data from seven EU/EEA countries, weeks 38/2020 to 10/2021. *Eurosurveillance*. 2021;26(16):2100348. doi:<https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2021.26.16.2100348>
99. Martínez-García L, Espinel MA, Abreu M, et al. Emergence and Spread of B.1.1.7 Lineage in Primary Care and Clinical Impact in the Morbi-Mortality among Hospitalized Patients in Madrid, Spain. *Microorganisms*. 2021;9(7):1517.
100. Lin L, Liu Y, Tang X, He D. The Disease Severity and Clinical Outcomes of the SARS-CoV-2 Variants of Concern. Systematic Review. *Frontiers in Public Health*. 2021-November-30 2021;9doi:10.3389/fpubh.2021.775224
101. Fisman DN, Tuite AR. Evaluation of the relative virulence of novel SARS-CoV-2 variants: a retrospective cohort study in Ontario, Canada. *Canadian Medical Association Journal*. 2021;193(42):E1619-E1625. doi:10.1503/cmaj.211248
102. Baig AM. Chronic COVID syndrome: Need for an appropriate medical terminology for long-COVID and COVID long-haulers. *J Med Virol*. May 2021;93(5):2555-2556. doi:10.1002/jmv.26624
103. Seeßle J, Waterboer T, Hippchen T, et al. Persistent Symptoms in Adult Patients 1 Year After Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Prospective Cohort Study. *Clin Infect Dis*. Apr 9 2022;74(7):1191-1198. doi:10.1093/cid/ciab611
104. Lund LC, Hallas J, Nielsen H, et al. Post-acute effects of SARS-CoV-2 infection in individuals not requiring hospital admission: a Danish population-based cohort study. *Lancet Infect Dis*. Oct 2021;21(10):1373-1382. doi:10.1016/s1473-3099(21)00211-5
105. Davis HE, Assaf GS, McCorkell L, et al. Characterizing long COVID in an international cohort: 7 months of symptoms and their impact. *EClinicalMedicine*. Aug 2021;38:101019. doi:10.1016/j.eclinm.2021.101019

106. Stavem K, Ghanima W, Olsen MK, Gilboe HM, Einvik G. Persistent symptoms 1.5-6 months after COVID-19 in non-hospitalised subjects: a population-based cohort study. *Thorax*. Apr 2021;76(4):405-407. doi:10.1136/thoraxjnl-2020-216377
107. Dennis A, Wamil M, Alberts J, et al. Multiorgan impairment in low-risk individuals with post-COVID-19 syndrome: a prospective, community-based study. *BMJ Open*. Mar 30 2021;11(3):e048391. doi:10.1136/bmjopen-2020-048391
108. Arnold DT, Hamilton FW, Milne A, et al. Patient outcomes after hospitalisation with COVID-19 and implications for follow-up: results from a prospective UK cohort. *Thorax*. Apr 2021;76(4):399-401. doi:10.1136/thoraxjnl-2020-216086
109. Nakamichi K, Shen JZ, Lee CS, et al. Hospitalization and mortality associated with SARS-CoV-2 viral clades in COVID-19. *Sci Rep*. Feb 26 2021;11(1):4802. doi:10.1038/s41598-021-82850-9
110. Son KB, Lee TJ, Hwang SS. Disease severity classification and COVID-19 outcomes, Republic of Korea. *Bull World Health Organ*. Jan 1 2021;99(1):62-66. doi:10.2471/blt.20.257758
111. Huang C, Huang L, Wang Y, et al. 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study. *Lancet*. Jan 16 2021;397(10270):220-232. doi:10.1016/s0140-6736(20)32656-8
112. Augustin M, Schommers P, Stecher M, et al. Post-COVID syndrome in non-hospitalised patients with COVID-19: a longitudinal prospective cohort study. *Lancet Reg Health Eur*. Jul 2021;6:100122. doi:10.1016/j.lanepe.2021.100122
113. Pink I, Welte T. [Frequency, spectrum and risk factors of long COVID]. *Inn Med (Heidelb)*. Aug 2022;63(8):813-818. Häufigkeit, Spektrum und Risikofaktoren von Long-COVID. doi:10.1007/s00108-022-01370-4
114. Gupta A, Madhavan MV, Sehgal K, et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nat Med*. Jul 2020;26(7):1017-1032. doi:10.1038/s41591-020-0968-3
115. Su Y, Yuan D, Chen DG, et al. Multiple early factors anticipate post-acute COVID-19 sequelae. *Cell*. Mar 3 2022;185(5):881-895.e20. doi:10.1016/j.cell.2022.01.014
116. Gaebler C, Wang Z, Lorenzi JCC, et al. Evolution of antibody immunity to SARS-CoV-2. *Nature*. Mar 2021;591(7851):639-644. doi:10.1038/s41586-021-03207-w
117. Hopkinson NS, Jenkins G, Hart N. COVID-19 and what comes after? *Thorax*. Apr 2021;76(4):324-325. doi:10.1136/thoraxjnl-2020-216226
118. Douaud G, Lee S, Alfaro-Almagro F, et al. SARS-CoV-2 is associated with changes in brain structure in UK Biobank. *Nature*. Apr 2022;604(7907):697-707. doi:10.1038/s41586-022-04569-5

119. Verger A, Kas A, Dudouet P, Goehringer F, Salmon-Ceron D, Guedj E. Visual interpretation of brain hypometabolism related to neurological long COVID: a French multicentric experience. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. Jul 2022;49(9):3197-3202. doi:10.1007/s00259-022-05753-5
120. Zuo Y, Estes SK, Ali RA, et al. Prothrombotic autoantibodies in serum from patients hospitalized with COVID-19. *Sci Transl Med*. Nov 18 2020;12(570)doi:10.1126/scitranslmed.abd3876
121. Hu F, Chen F, Ou Z, et al. A compromised specific humoral immune response against the SARS-CoV-2 receptor-binding domain is related to viral persistence and periodic shedding in the gastrointestinal tract. *Cell Mol Immunol*. Nov 2020;17(11):1119-1125. doi:10.1038/s41423-020-00550-2
122. Liu B, Han J, Cheng X, et al. Reduced numbers of T cells and B cells correlates with persistent SARS-CoV-2 presence in non-severe COVID-19 patients. *Sci Rep*. Oct 19 2020;10(1):17718. doi:10.1038/s41598-020-73955-8
123. Sudre CH, Murray B, Varsavsky T, et al. Attributes and predictors of long COVID. *Nat Med*. Apr 2021;27(4):626-631. doi:10.1038/s41591-021-01292-y
124. Bliddal S, Banasik K, Pedersen OB, et al. Acute and persistent symptoms in non-hospitalized PCR-confirmed COVID-19 patients. *Sci Rep*. Jun 23 2021;11(1):13153. doi:10.1038/s41598-021-92045-x
125. Sigfrid L, Drake TM, Pauley E, et al. Long Covid in adults discharged from UK hospitals after Covid-19: A prospective, multicentre cohort study using the ISARIC WHO Clinical Characterisation Protocol. *Lancet Reg Health Eur*. Sep 2021;8:100186. doi:10.1016/j.lanepe.2021.100186
126. Boscolo-Rizzo P, Guida F, Polesel J, et al. Sequelae in adults at 12 months after mild-to-moderate coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Int Forum Allergy Rhinol*. Dec 2021;11(12):1685-1688. doi:10.1002/alr.22832
127. Nelde A, Bilich T, Heitmann JS, et al. SARS-CoV-2-derived peptides define heterologous and COVID-19-induced T cell recognition. *Nat Immunol*. Jan 2021;22(1):74-85. doi:10.1038/s41590-020-00808-x
128. Hackenbruch C, Maringer Y, Tegeler CM, Walz JS, Nelde A, Heitmann JS. Elevated SARS-CoV-2-Specific Antibody Levels in Patients with Post-COVID Syndrome. *Viruses*. 2023;15(3):701.
129. Tegeler CM, Bilich T, Maringer Y, et al. Prevalence of COVID-19-associated symptoms during acute infection in relation to SARS-CoV-2-directed humoral and cellular immune responses in a mild-diseased convalescent cohort. *International Journal of Infectious Diseases*. 2022/07/01/ 2022;120:187-195. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijid.2022.04.019>
130. Peghin M, Palese A, Venturini M, et al. Post-COVID-19 symptoms 6 months after acute infection among hospitalized and non-hospitalized patients. *Clin Microbiol Infect*. Oct 2021;27(10):1507-1513. doi:10.1016/j.cmi.2021.05.033

131. Jia X, Cao S, Lee AS, et al. Anti-nucleocapsid antibody levels and pulmonary comorbid conditions are linked to post-COVID-19 syndrome. *JCI Insight*. Jul 8 2022;7(13)doi:10.1172/jci.insight.156713
132. Maddox GL, Douglass EB. Self-assessment of health: a longitudinal study of elderly subjects. *J Health Soc Behav*. Mar 1973;14(1):87-93.
133. Ward M, Gruppen L, Regehr G. Measuring self-assessment: current state of the art. *Adv Health Sci Educ Theory Pract*. 2002;7(1):63-80. doi:10.1023/a:1014585522084
134. García-Abellán J, Padilla S, Fernández-González M, et al. Antibody Response to SARS-CoV-2 is Associated with Long-term Clinical Outcome in Patients with COVID-19: a Longitudinal Study. *J Clin Immunol*. Oct 2021;41(7):1490-1501. doi:10.1007/s10875-021-01083-7
135. Pereira C, Harris BHL, Di Giovannantonio M, et al. The Association Between Antibody Response to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection and Post-COVID-19 Syndrome in Healthcare Workers. *J Infect Dis*. May 28 2021;223(10):1671-1676. doi:10.1093/infdis/jiab120
136. Durstenfeld MS, Peluso MJ, Kelly JD, et al. Role of antibodies, inflammatory markers, and echocardiographic findings in postacute cardiopulmonary symptoms after SARS-CoV-2 infection. *JCI Insight*. May 23 2022;7(10)doi:10.1172/jci.insight.157053
137. Meisinger C, Goßlau Y, Warm TD, et al. Post-COVID-19 Fatigue and SARS-CoV-2 Specific Humoral and T-Cell Responses in Male and Female Outpatients. *Front Immunol*. 2022;13:902140. doi:10.3389/fimmu.2022.902140
138. Rank A, Tzortzini A, Kling E, et al. One Year after Mild COVID-19: The Majority of Patients Maintain Specific Immunity, But One in Four Still Suffer from Long-Term Symptoms. *J Clin Med*. Jul 27 2021;10(15)doi:10.3390/jcm10153305
139. Muecksch F, Wise H, Batchelor B, et al. Longitudinal Serological Analysis and Neutralizing Antibody Levels in Coronavirus Disease 2019 Convalescent Patients. *J Infect Dis*. Feb 13 2021;223(3):389-398. doi:10.1093/infdis/jiaa659
140. Favresse J, Eucher C, Elsen M, et al. Persistence of Anti-SARS-CoV-2 Antibodies Depends on the Analytical Kit: A Report for Up to 10 Months after Infection. *Microorganisms*. Mar 8 2021;9(3)doi:10.3390/microorganisms9030556
141. Di Germanio C, Simmons G, Kelly K, et al. SARS-CoV-2 antibody persistence in COVID-19 convalescent plasma donors: Dependency on assay format and applicability to serosurveillance. *Transfusion*. Sep 2021;61(9):2677-2687. doi:10.1111/trf.16555
142. Kral S, Banfi C, Niedrist T, et al. Long-lasting immune response to a mild course of PCR-confirmed SARS-CoV-2 infection: A cohort study. *J Infect*. Nov 2021;83(5):607-635. doi:10.1016/j.jinf.2021.08.030
143. Perez-Saez J, Zaballa ME, Yerly S, et al. Persistence of anti-SARS-CoV-2 antibodies: immunoassay heterogeneity and implications for serosurveillance.

Clin Microbiol Infect. Nov 2021;27(11):1695.e7-1695.e12.
doi:10.1016/j.cmi.2021.06.040

144. Woodruff MC, Ramonell RP, Nguyen DC, et al. Extrafollicular B cell responses correlate with neutralizing antibodies and morbidity in COVID-19. *Nat Immunol.* Dec 2020;21(12):1506-1516. doi:10.1038/s41590-020-00814-z

145. Horton DB, Barrett ES, Roy J, et al. Determinants and dynamics of SARS-CoV-2 infection in a diverse population: 6-month evaluation of a prospective cohort study. *J Infect Dis.* Aug 13 2021;doi:10.1093/infdis/jiab411

146. Eberhardt KA, Meyer-Schwickerath C, Heger E, et al. RNAemia Corresponds to Disease Severity and Antibody Response in Hospitalized COVID-19 Patients. *Viruses.* Sep 18 2020;12(9)doi:10.3390/v12091045

147. Marklund E, Leach S, Axelsson H, et al. Serum-IgG responses to SARS-CoV-2 after mild and severe COVID-19 infection and analysis of IgG non-responders. *PLoS One.* 2020;15(10):e0241104. doi:10.1371/journal.pone.0241104

148. Taquet M, Geddes JR, Husain M, Luciano S, Harrison PJ. 6-month neurological and psychiatric outcomes in 236 379 survivors of COVID-19: a retrospective cohort study using electronic health records. *Lancet Psychiatry.* May 2021;8(5):416-427. doi:10.1016/s2215-0366(21)00084-5

149. Kedor C, Freitag H, Meyer-Arndt L, et al. A prospective observational study of post-COVID-19 chronic fatigue syndrome following the first pandemic wave in Germany and biomarkers associated with symptom severity. *Nature Communications.* 2022/08/30 2022;13(1):5104. doi:10.1038/s41467-022-32507-6

150. Tokumasu K, Honda H, Sunada N, et al. Clinical Characteristics of Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome (ME/CFS) Diagnosed in Patients with Long COVID. *Medicina.* 2022;58(7):850.

151. Sotzny F, Blanco J, Capelli E, et al. Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome - Evidence for an autoimmune disease. *Autoimmun Rev.* Jun 2018;17(6):601-609. doi:10.1016/j.autrev.2018.01.009

152. Jason LA, Katz BZ, Shiraishi Y, Mears CJ, Im Y, Taylor R. Predictors of Post-Infectious Chronic Fatigue Syndrome in Adolescents. *Health Psychol Behav Med.* Jan 1 2014;2(1):41-51. doi:10.1080/21642850.2013.869176

7. Erklärung zum Eigenanteil

Diese Dissertation wurde in der Abteilung für Peptid-basierte Immuntherapie unter der Leitung von Prof. Dr. Juliane S. Walz und mit Herrn Dr. Jonas S. Heitmann als Mentor durchgeführt. Im Rahmen dieser Arbeit wurden retrospektiv postinfektiöse Symptome und deren Korrelation mit Antikörperantworten sowie klinischen Parametern in einer Kohorte von 51 Rekonvaleszenten mit einer milden bis moderaten SARS-CoV-2 Infektion untersucht. Die hierzu ausgewerteten Daten wurden in einer monozentrischen, experimentellen Studie, die durch klinische Kooperationseinheit Translationale Immunologie von 04/2020 bis 08/2020 durchgeführt wurde, erhoben. Das primäre Ziel der Studie war die Charakterisierung von SARS-CoV-2 spezifischen T-Zell-Antworten nach durchgemachter COVID-Erkrankung.

Ein Teil der in dieser Studie erhobenen Daten wurden bereits publiziert:

- Nelde A, Bilich T, Heitmann JS, Maringer Y, Salih HR, Roerden M, Lübke M, Bauer J, Rieth J, Wacker M, Peter A, Hörber S, Traenkle B, Kaiser PD, Rothbauer U, Becker M, Junker D, Krause G, Strengert M, Schneiderhan-Marra N, Templin MF, Joos TO, Kowalewski DJ, Stos-Zweifel V, Fehr M, Rabsteyn A, Mirakaj V, Karbach J, Jäger E, Graf M, Gruber LC, Rachfalski D, Preuß B, Hagelstein I, Märklin M, Bakchoul T, Gouttefangeas C, Kohlbacher O, Klein R, Stevanović S, Rammensee HG, Walz JS. *SARS-CoV-2-derived peptides define heterologous and COVID-19-induced T cell recognition.* **Nat Immunol.** 2021 Jan;22(1):74-85.
- Bilich T, Nelde A, Heitmann JS, Maringer Y, Roerden M, Bauer J, Rieth J, Wacker M, Peter A, Hörber S, Rachfalski D, Märklin M, Stevanović S, Rammensee HG, Salih HR, Walz JS. *T cell and antibody kinetics delineate SARS-CoV-2 peptides mediating long-term immune responses in COVID-19 convalescent individuals.* **Sci Transl Med.** 2021 Apr 21;13(590):eabf7517.
- Tegeler CM, Bilich T, Maringer Y, Salih HR, Walz JS, Nelde A, Heitmann JS. *Prevalence of COVID-19-associated symptoms during acute infection in relation to SARS-CoV-2-directed humoral and cellular immune responses in a mild-diseased convalescent cohort.* **Int J Infect Dis.** 2022 Jul;120:187-195.

Die experimentelle Datenerhebung der Studie war vor Beginn der Dissertation bereits abgeschlossen. Der Promovierende konzipierte gemeinsam mit Frau Prof. Walz und Herrn Dr. Heitmann das Dissertationsprojekt und analysierte

selbstständig nach abgeschlossener Einarbeitung die vorhandenen Daten und wertete diese im Hinblick auf statistische Zusammenhänge zwischen postinfektiösen Symptomen, klinischen Parametern der Kohorte und humoralen Immunantworten aus.

Aus diesem Dissertationsprojekt entstand die Veröffentlichung:

- Hackenbruch C, Maringer Y, Tegeler CM, Walz JS, Nelde A, Heitmann JS. Elevated SARS-CoV-2-Specific Antibody Levels in Patients with Post-COVID Syndrome. **Viruses**. **2023** Mar 8;15(3):701

Der Beitrag von weiteren Co-Autoren an der Publikation ist im Folgenden im Sinne der CRediT contribution taxonomy guidelines 237 dargestellt:

- Konzeptualisierung: Walz JS, Heitmann JS, Nelde A
- Projektleitung: Heitmann JS
- Supervision: Walz JS
- Methodologie: Hackenbruch C, Heitmann JS, Nelde A, Tegeler CM
- Software: Hackenbruch C, Heitmann JS, Tegeler CM
- Durchführung der Forschungs- und Untersuchungsprozesse: Hackenbruch C, Heitmann JS, Nelde A, Maringer Y, Tegeler CM
- Formelle Analyse: Hackenbruch C, Heitmann JS, Nelde A
- Validierung: Hackenbruch C, Heitmann JS
- Datenkuratierung: Hackenbruch C, Heitmann JS, Nelde A, Tegeler CM
- Visualisierung: Hackenbruch C
- Schreiben – Erstellung des Originalentwurfs: Hackenbruch C, Heitmann JS
- Schreiben – Revision und Editieren: Hackenbruch C, Heitmann JS, Walz JS, Nelde A, Maringer Y, Tegeler CM
- Ressourcen: Walz JS, Nelde A
- Akquisition von Fördermitteln: Walz JS, Nelde A

Ich versichere, das Manuskript selbstständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Tübingen, den 23.06.2023

8. Veröffentlichungen

Teile der vorliegenden Dissertationsschrift wurden bereits in der folgenden Publikation veröffentlicht:

- Hackenbruch C, Maringer Y, Tegeler CM, Walz JS, Nelde A, Heitmann JS. *Elevated SARS-CoV-2-Specific Antibody Levels in Patients with Post-COVID Syndrome*. **Viruses**. **2023** Mar 8;15(3):701

9. Danksagung

Zu allererst gehört mein Dank Frau Prof. Dr. med. Juliane Walz für das Ermöglichen dieser Arbeit. Vielen Dank für die hervorragende Betreuung. Ohne Ihre vielen hilfreichen Ratschläge und Ihre Unterstützung, insbesondere auch immer an den richtigen Stellen, wäre diese Arbeit so nicht möglich gewesen.

Ebenso möchte ich mich bei Prof. Dr. med. Helmut Salih bedanken. Er ermöglichte mir diese Dissertation während der Tätigkeit in seiner Abteilung durchzuführen. Danke dafür, dass Sie stets ein offenes Ohr hatten. Ihre direkte und konstruktive Kritik sowie Ihre Ratschläge haben mich stets weitergebracht, sowohl in diesem Dissertationsprojekt, aber auch in meiner persönlichen Entwicklung.

Ein besonderer Dank geht an Dr. med. Jonas Heitmann. Jonas, Du standest mir immer mit Rat und Tat zur Seite, von der Einarbeitung über die Auswertung bis hin zur Veröffentlichung warst Du für mich ein Mentor und Betreuer, wie man ihn sich nur wünschen kann. Vielen Dank für Deine grandiose Unterstützung.

Darüber hinaus möchte ich mich bei allen Mitgliedern der AG Walz, der AG Salih und der KKE Translationale Immunologie bedanken, die mir bei dieser Arbeit eine große Unterstützung waren und mit denen es eine Freude ist täglich zusammen zu arbeiten.

Ich danke von Herzen meiner Familie und insbesondere meiner Frau Luise für Ihre bedingungslose Unterstützung bei der Erstellung dieser Arbeit und darüber hinaus.