

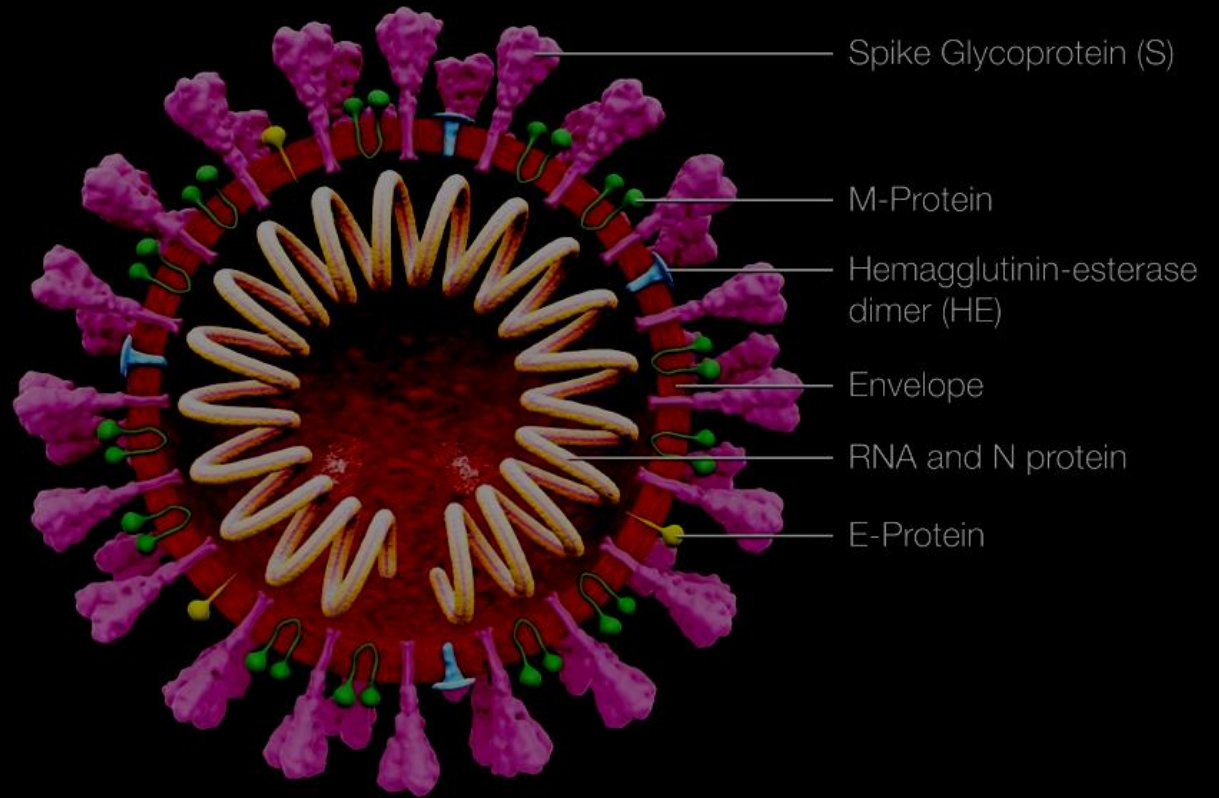
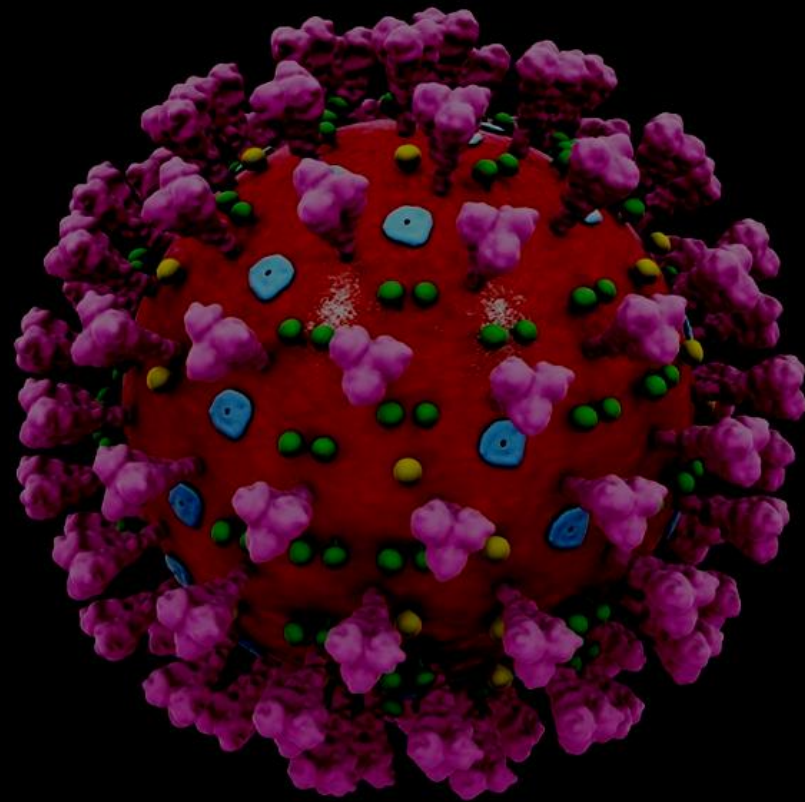


Η ανοσολογική απάντηση κατά του ιού SARS-CoV-2 και η αδόκιμη ενεργοποίηση της φυσικής και της ειδικής ανοσίας – η περιπέτεια του εμβολίου

Παναγιώτης Γ. Βλαχογιαννόπουλος

Ιατρική Σχολή

Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών



Spike Glycoprotein (S)

M-Protein

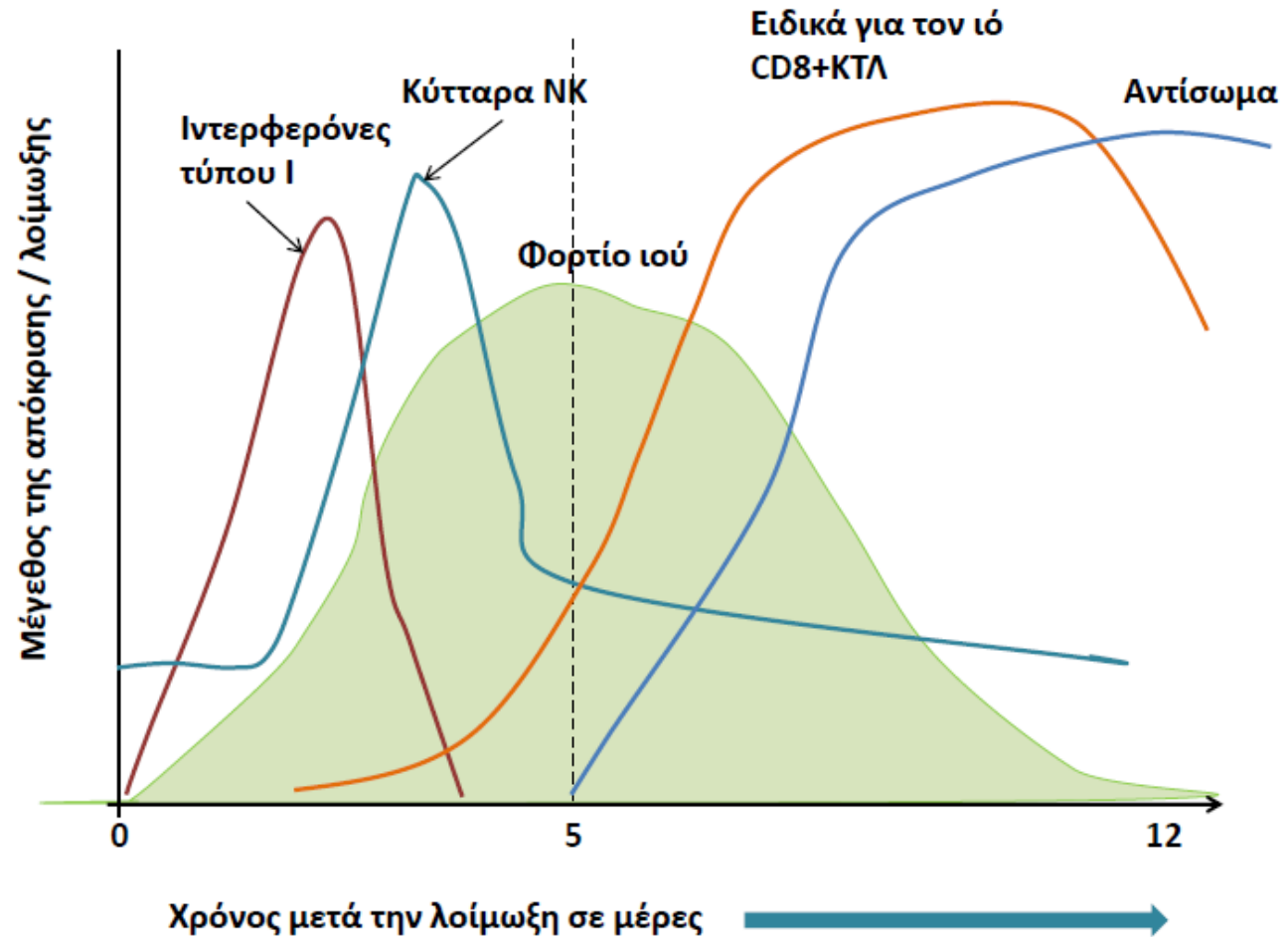
Hemagglutinin-esterase
dimer (HE)

Envelope

RNA and N protein

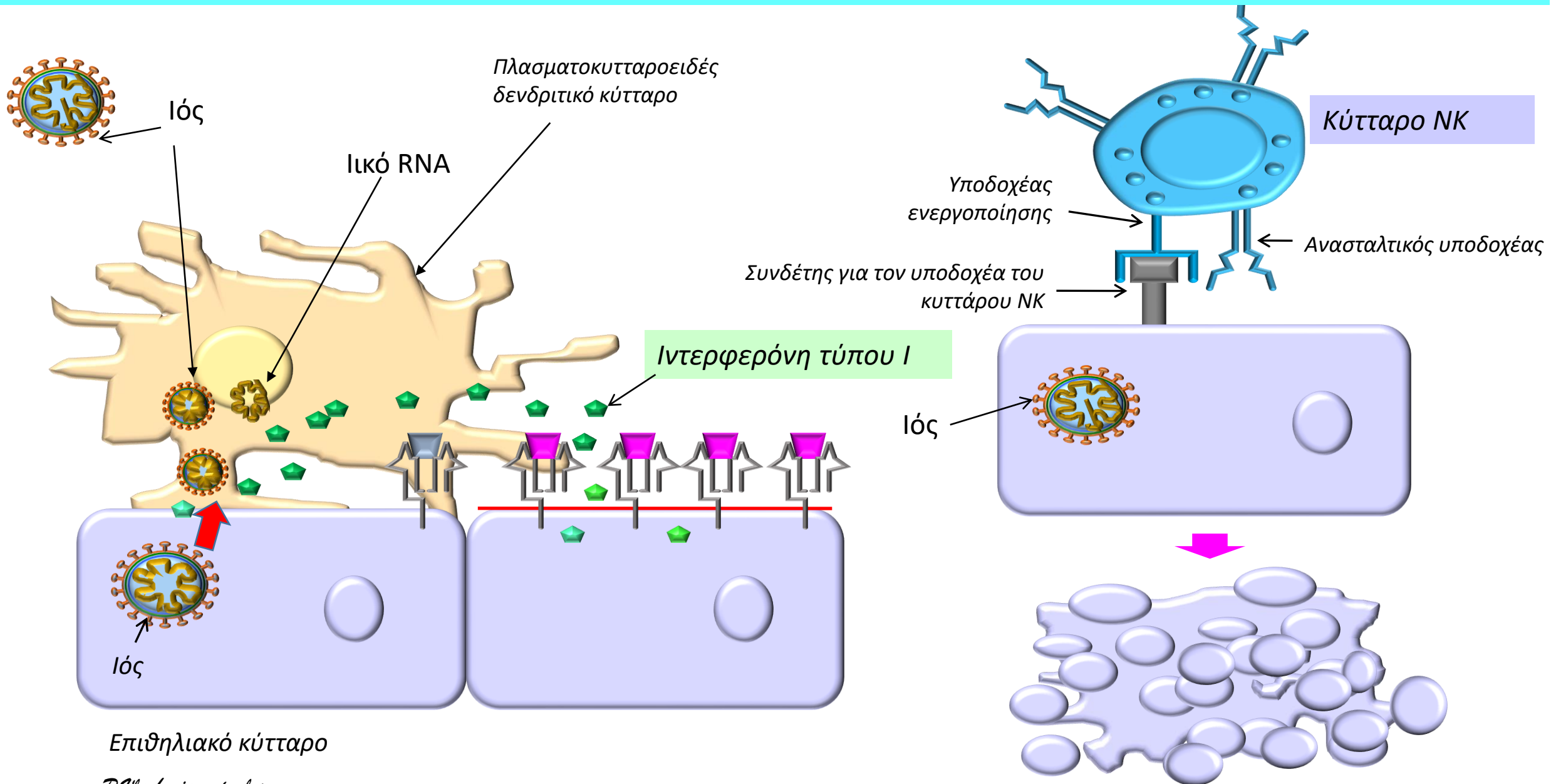
E-Protein

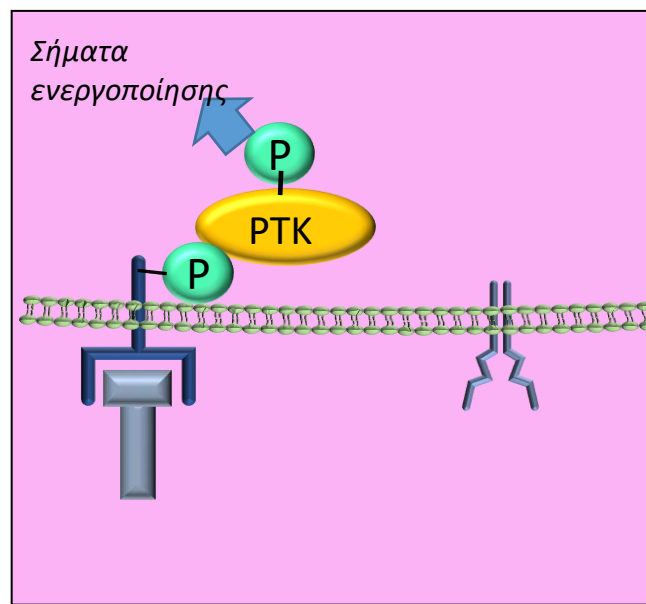
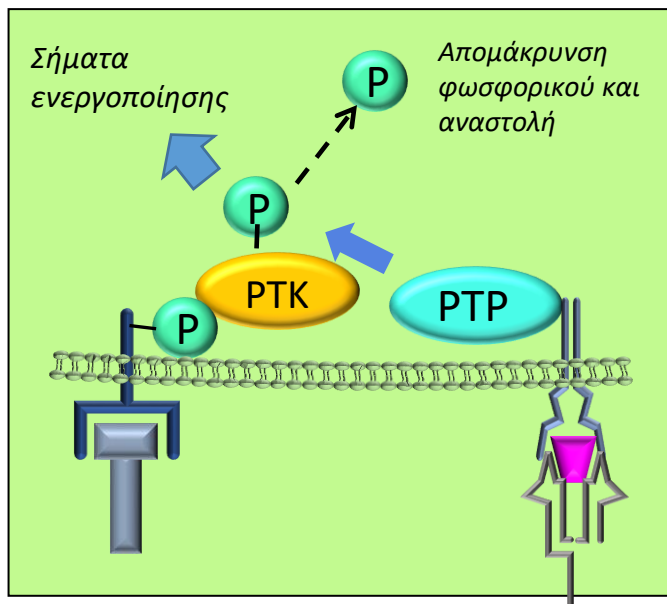
Η κινητική των στοιχείων της φυσικής και της επίκτητης (ειδικής) ανοσίας μετά ιογενή λοίμωξη



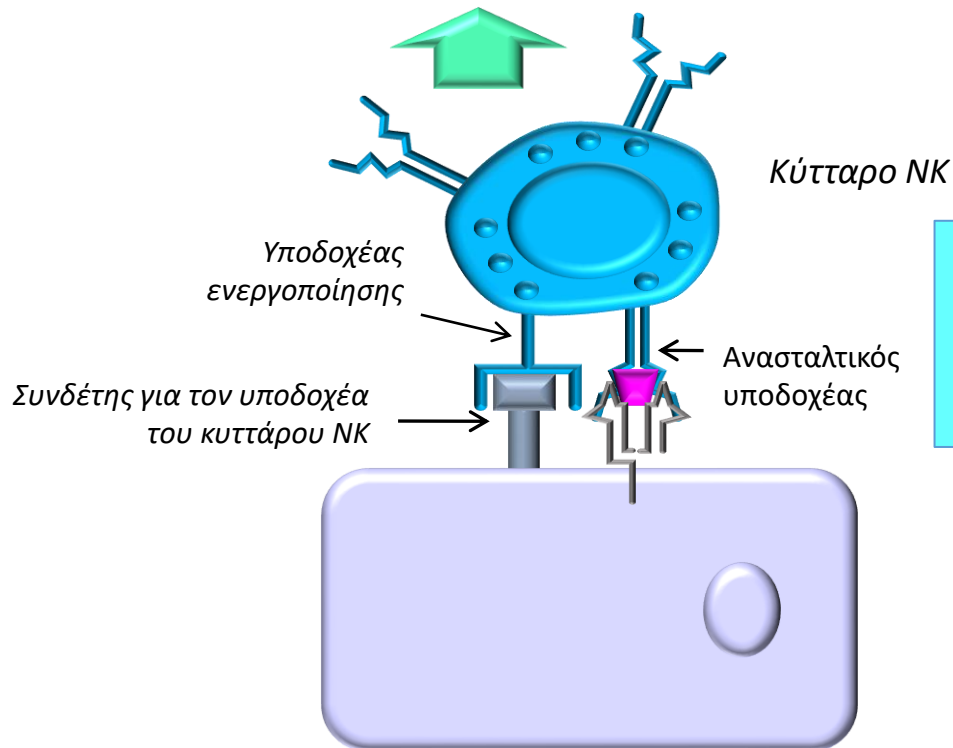
Σχήμα 1

Τα στοιχεία της φυσικής ανοσίας που προστατεύουν από τους ιούς

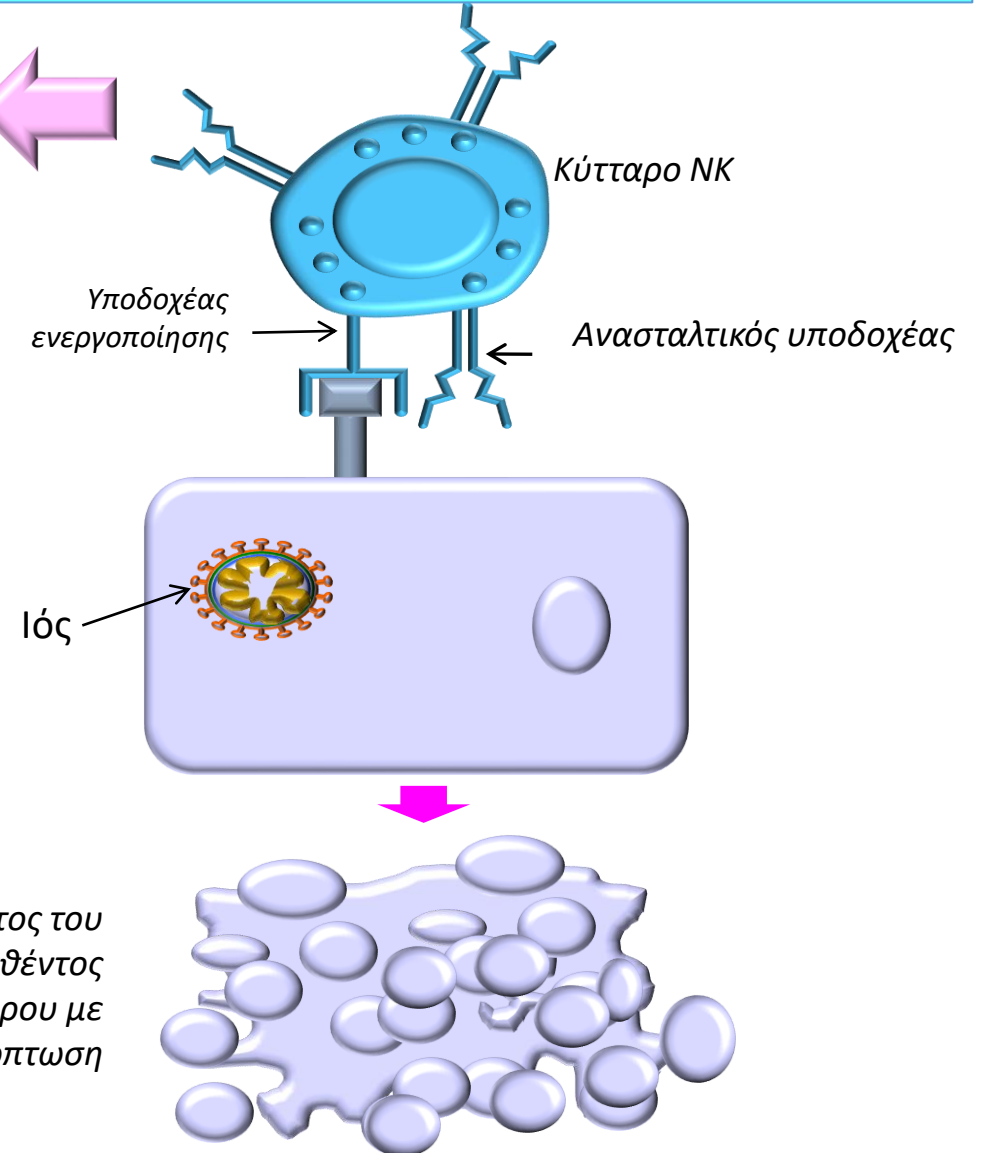




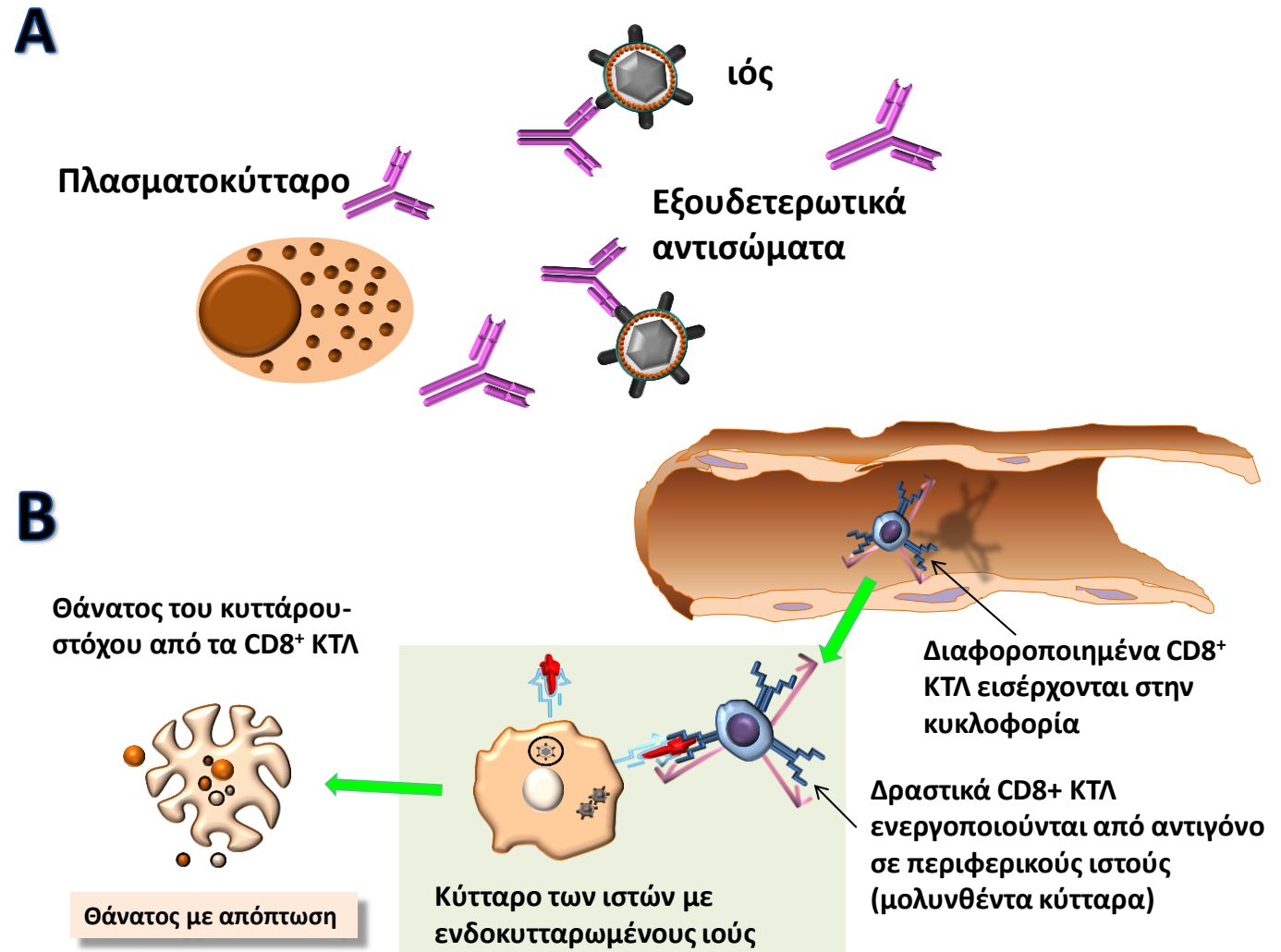
Η απουσία συνδέτη (αυτόλογο MHC-I) για τον ανασταλτικό υποδοχέα του κυττάρου NK συμβάλλει στην ενεργοποίηση του υποδοχέα θανάτου του NK και στο θάνατο του μολυνθέντος κυττάρου με απόπτωση



➤ PTK: Πρωτεϊνικές κινάσες τυροσίνης
➤ PTP: Πρωτεϊνικές φωσφατάσες τυροσίνης



Τα στοιχεία της επίκτητης (ειδικής) ανοσίας που συμμετέχουν στην άμυνα κατά των ιογενών λοιμώξεων



Σχήμα 3

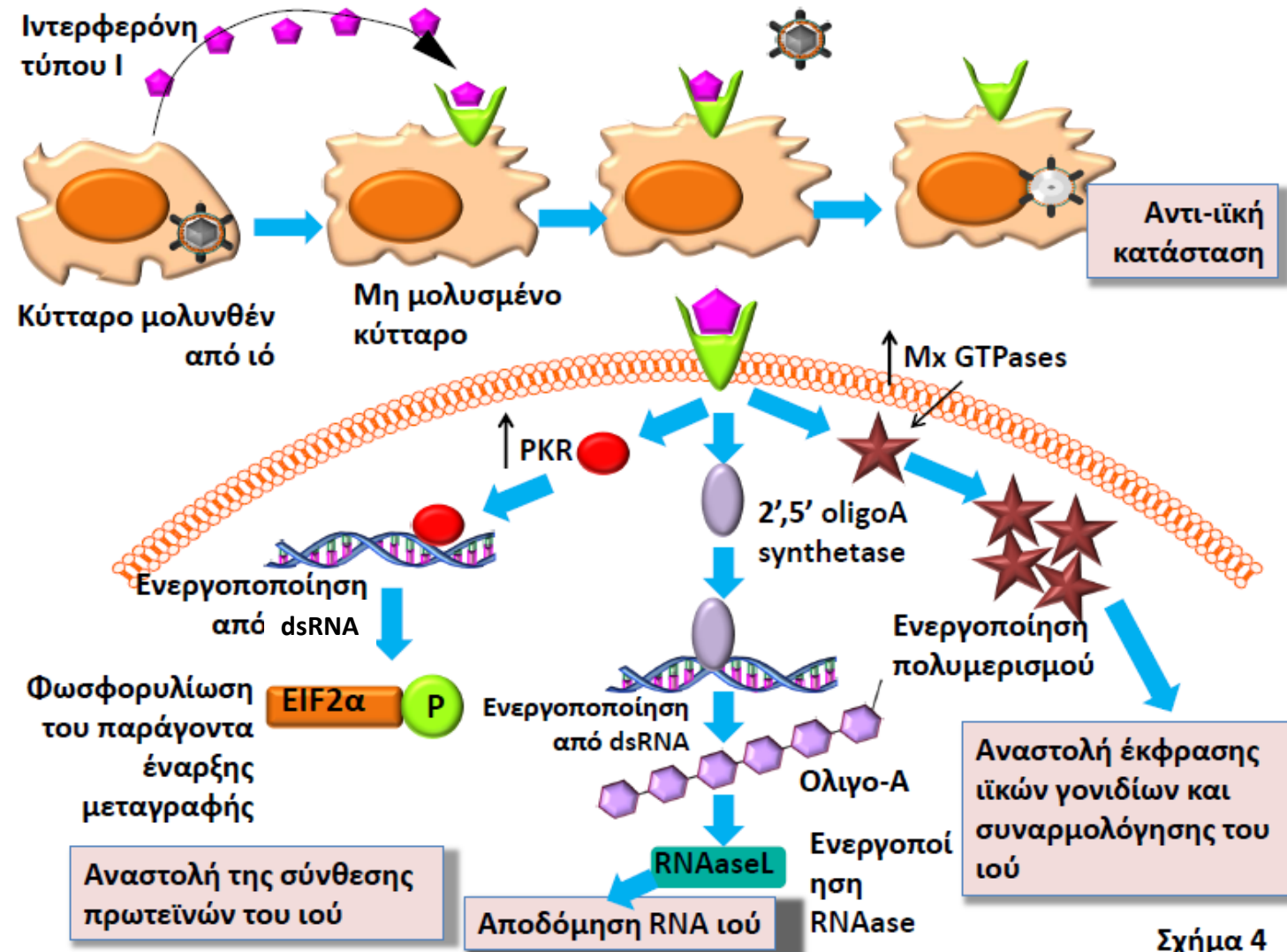
Μηχανισμοί με τους οποίους οι Ιντερφερόνες τύπου Ι ανακόπτουν την μετάδοση των ιών

PKR: protein kinase R

interferon-induced, double-stranded RNA-activated protein kinase

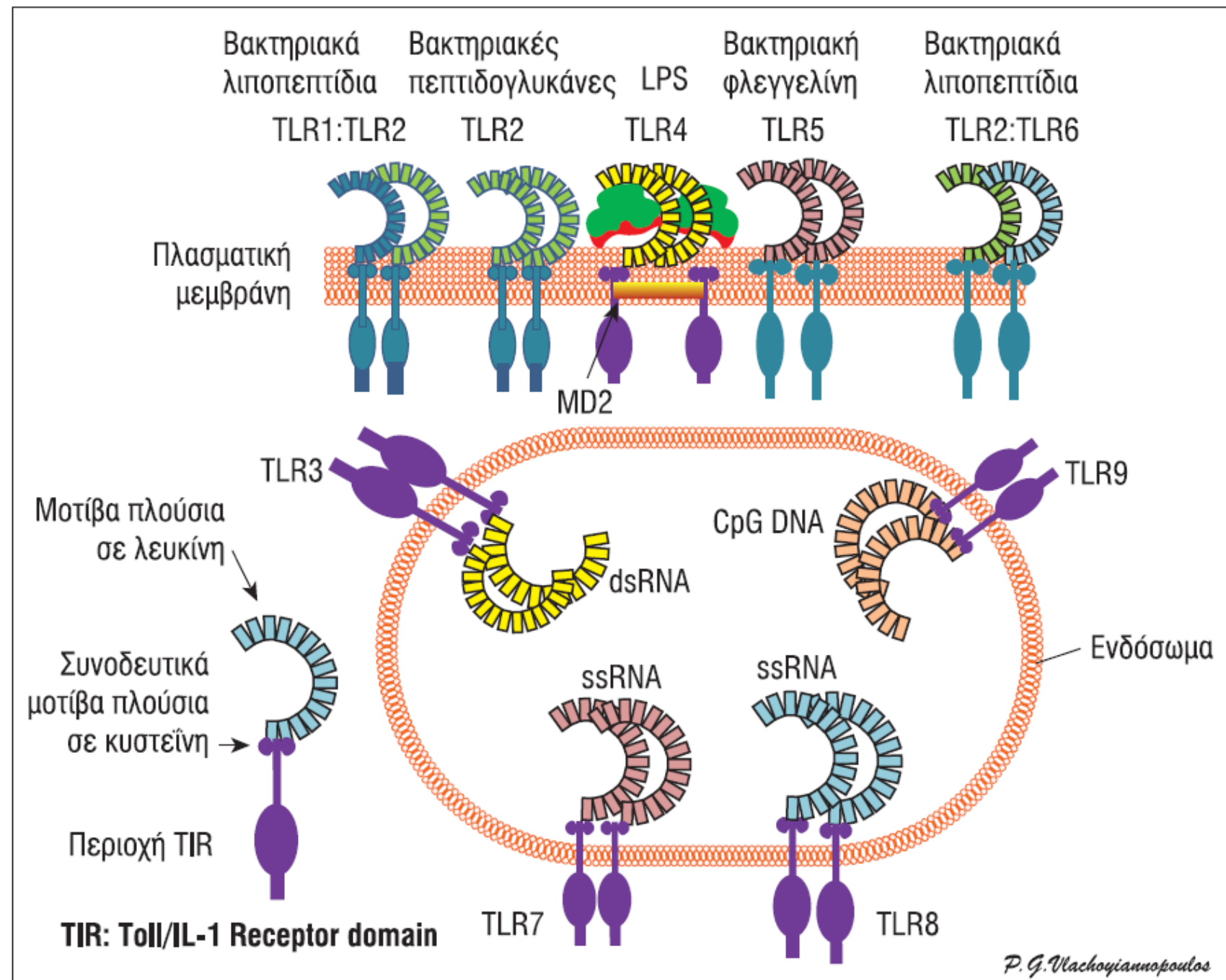
EIF-2α: Eukaryotic Initiation Factor 2α

Mx: Interferon-induced GTP-binding protein Mx1



Όλα τα κύτταρα του σώματος διαθέτουν αισθητήρες που ταχύτατα αναγνωρίζουν στοιχεία μικροβίων, μυκήτων, παρασίτων και ιών. Αυτοί οι αισθητήρες ονομάζονται Toll-like receptors (TLRs) και πυροδοτούν την αντίδραση του κυττάρου εναντίον του εισβολέα

Τα στοιχεία βακτηρίων, μυκήτων και ιών που αναγνωρίζονται από τους TLRs ονομάζονται **Μοριακά πρότυπα παθογόνων**, οι δε υποδοχείς ονομάζονται επίσης «υποδοχείς αναγνώρισεως προτύπων» (pattern recognition receptors, PRRs)

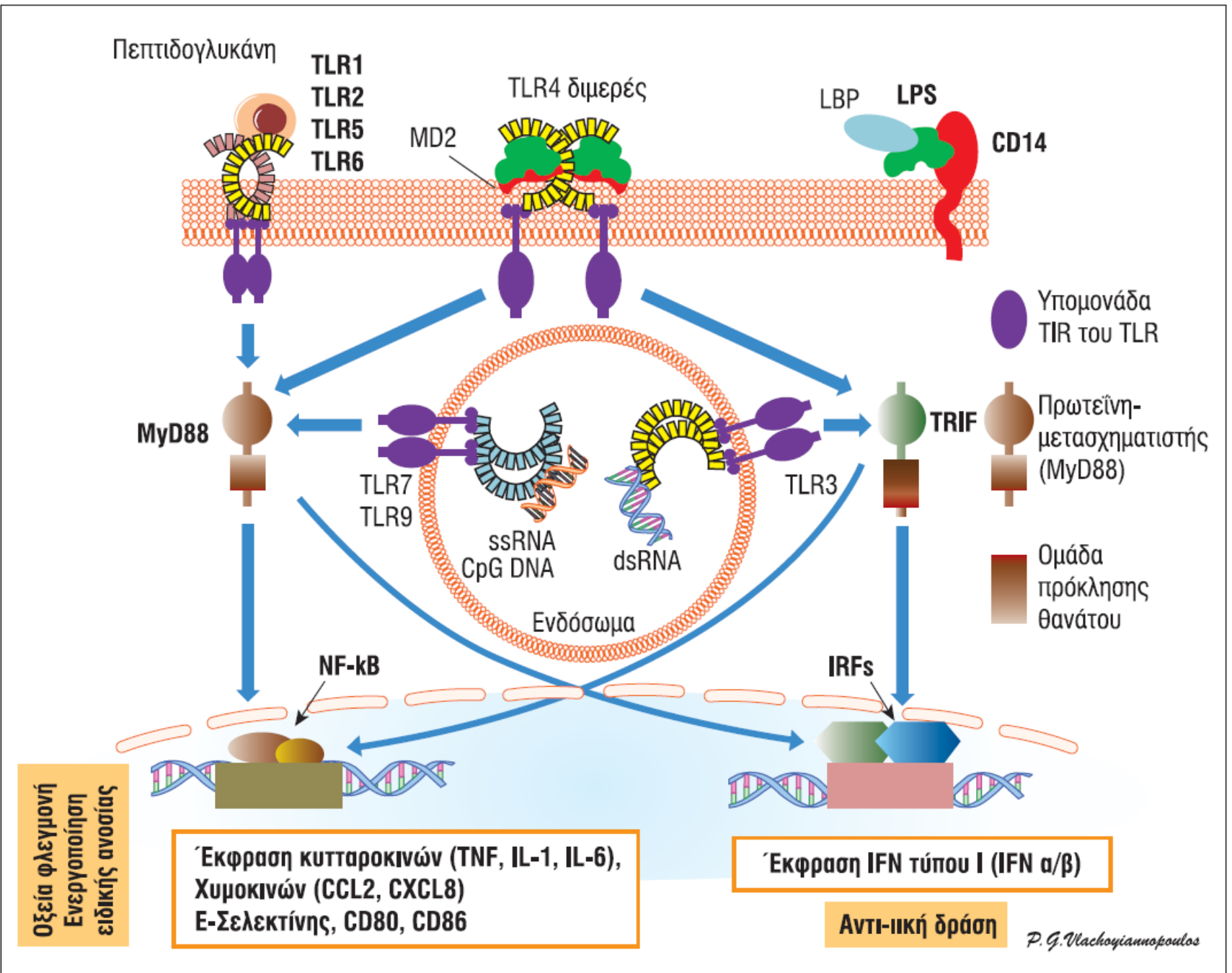


Οι TLRs της κυτταρικής μεμβράνης αναγνωρίζουν στοιχεία βακτηρίων και μυκήτων, ενώ οι TLRs του ενδοσώματος αναγνωρίζουν κυρίως στοιχεία ιών

TRIF: TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- β
TIR: Toll/IL-1R homologous region

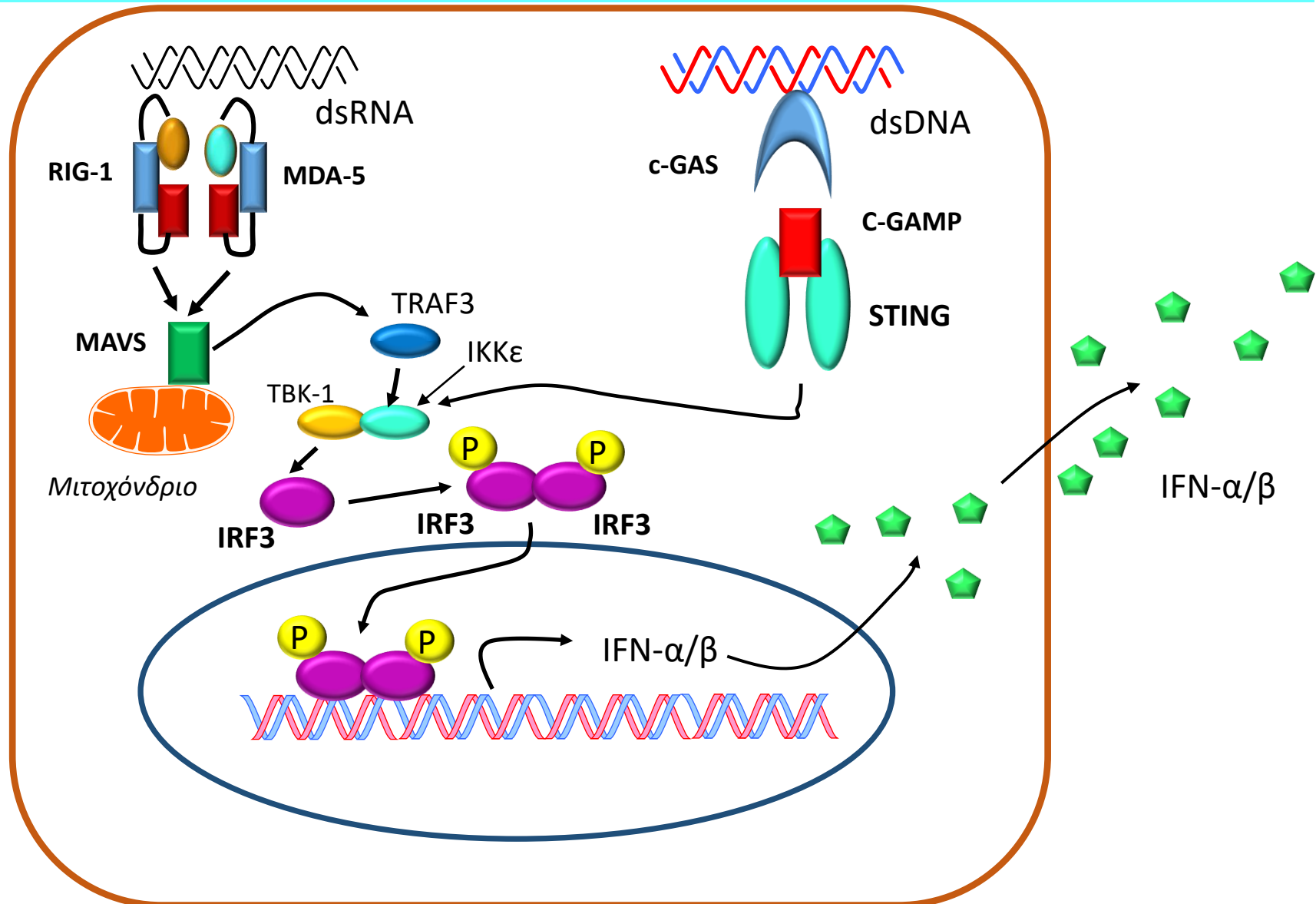
NF- κ B: nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells

MyD88: Myeloid differentiation primary response 88



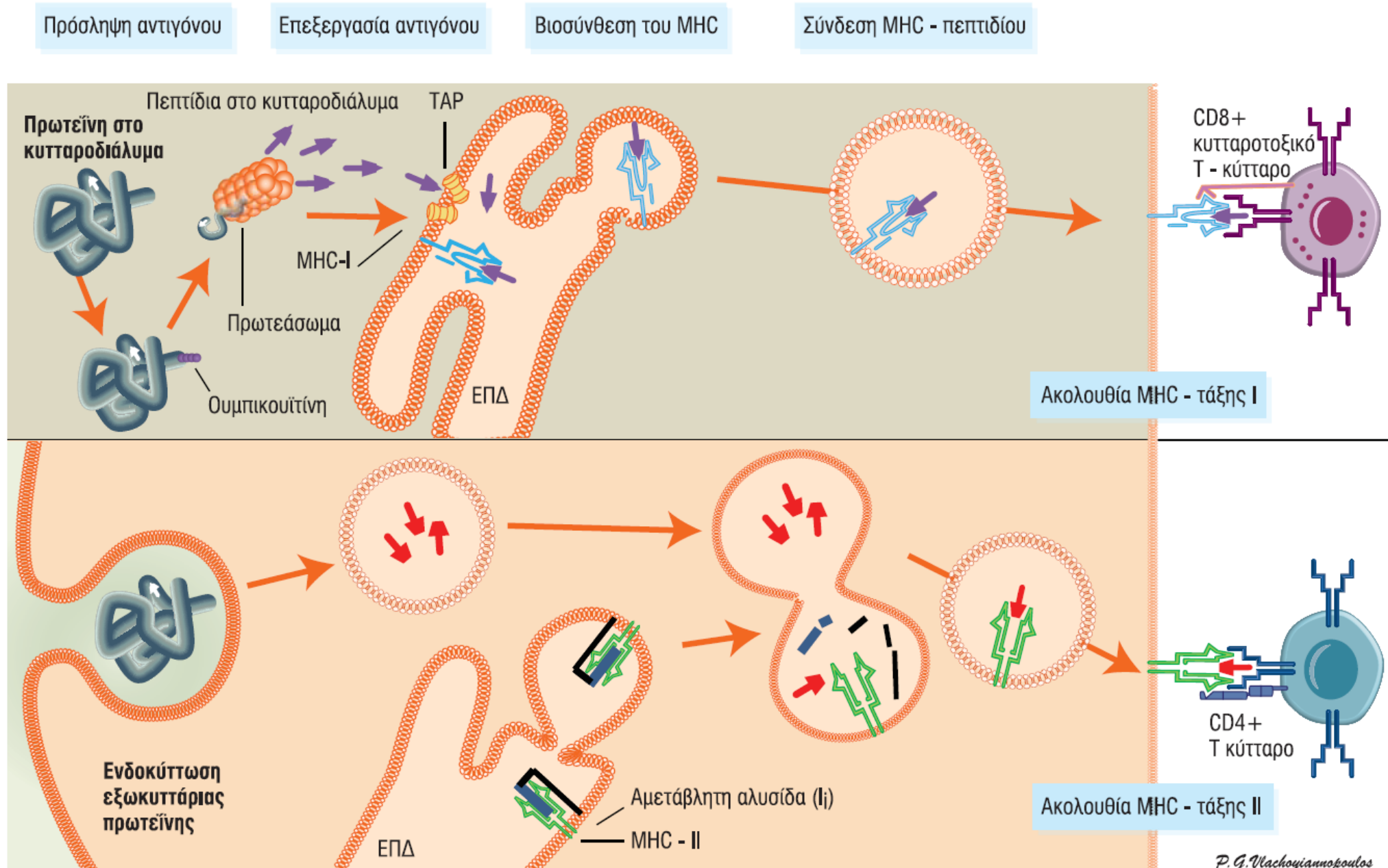
Αισθητήρες του κυτταροδιαλύματος που πυροδοτούν την παραγωγή IFN-I (IFN-α/β)

IFN, interferon;
IKKε, IκB kinase-ε;
IRF, IFN regulatory factor;
MAVS, mitochondrial antiviral signaling protein;
MDA5, melanoma differentiation -associated gene 5;
P, phosphate;
RIG-I, retinoic acid-inducible gene 1;
TBK1, TANK-binding kinase 1;
TRAF3, tumor necrosis factor receptor-associated factor 3;
TANK, TRAF family member-associated NF-kappa-B activator

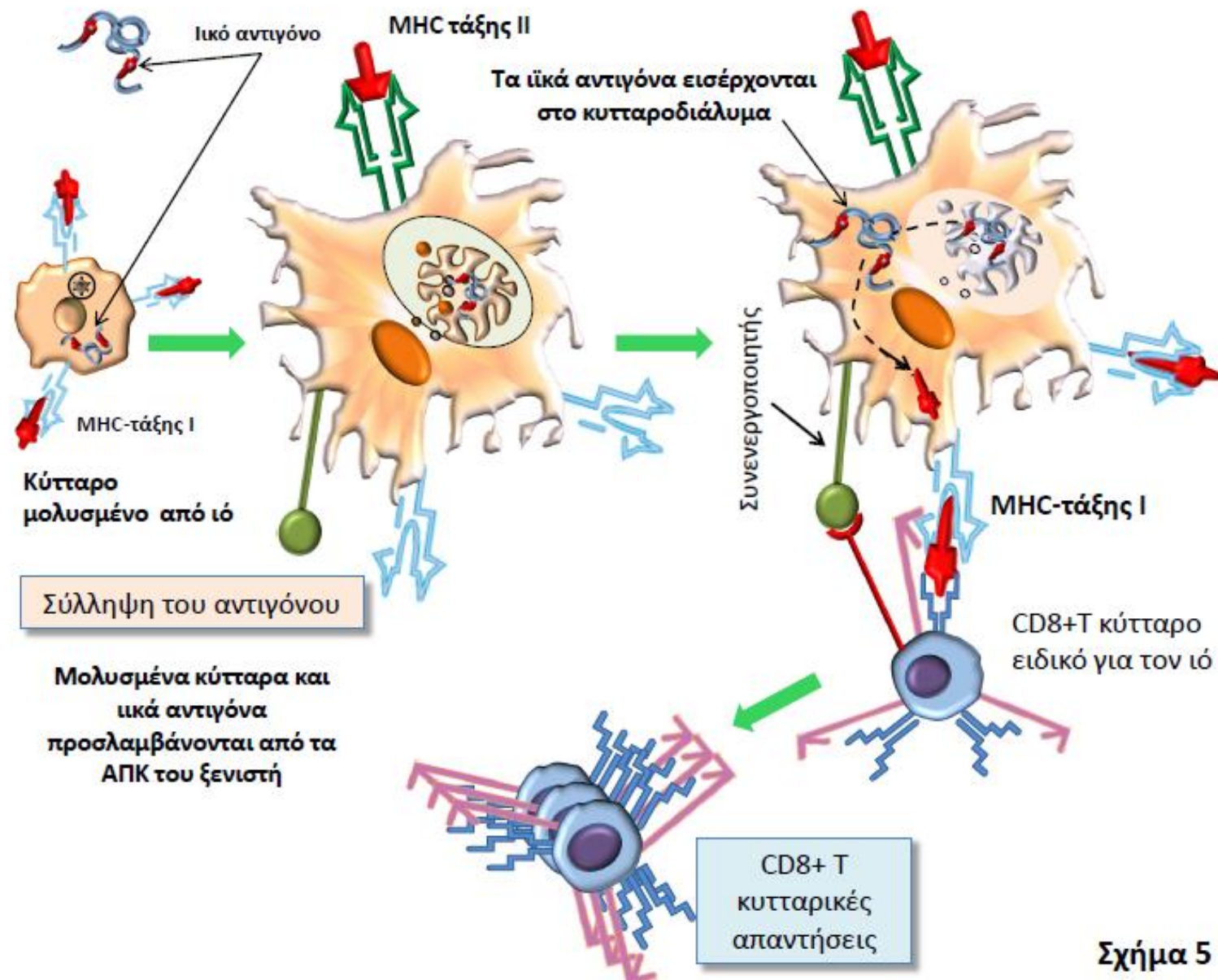


Αντιγόνα υφιστάμενα επεξεργασία στο κυτταροδιάλυμα παρουσιάζονται μέσω MHC-I και διεγείρουν CD8+ T κύτταρα

Αντιγόνα υφιστάμενα επεξεργασία στα κυστίδια-φαγοσώματα παρουσιάζονται μέσω MHC-II και διεγείρουν CD4+ T κύτταρα



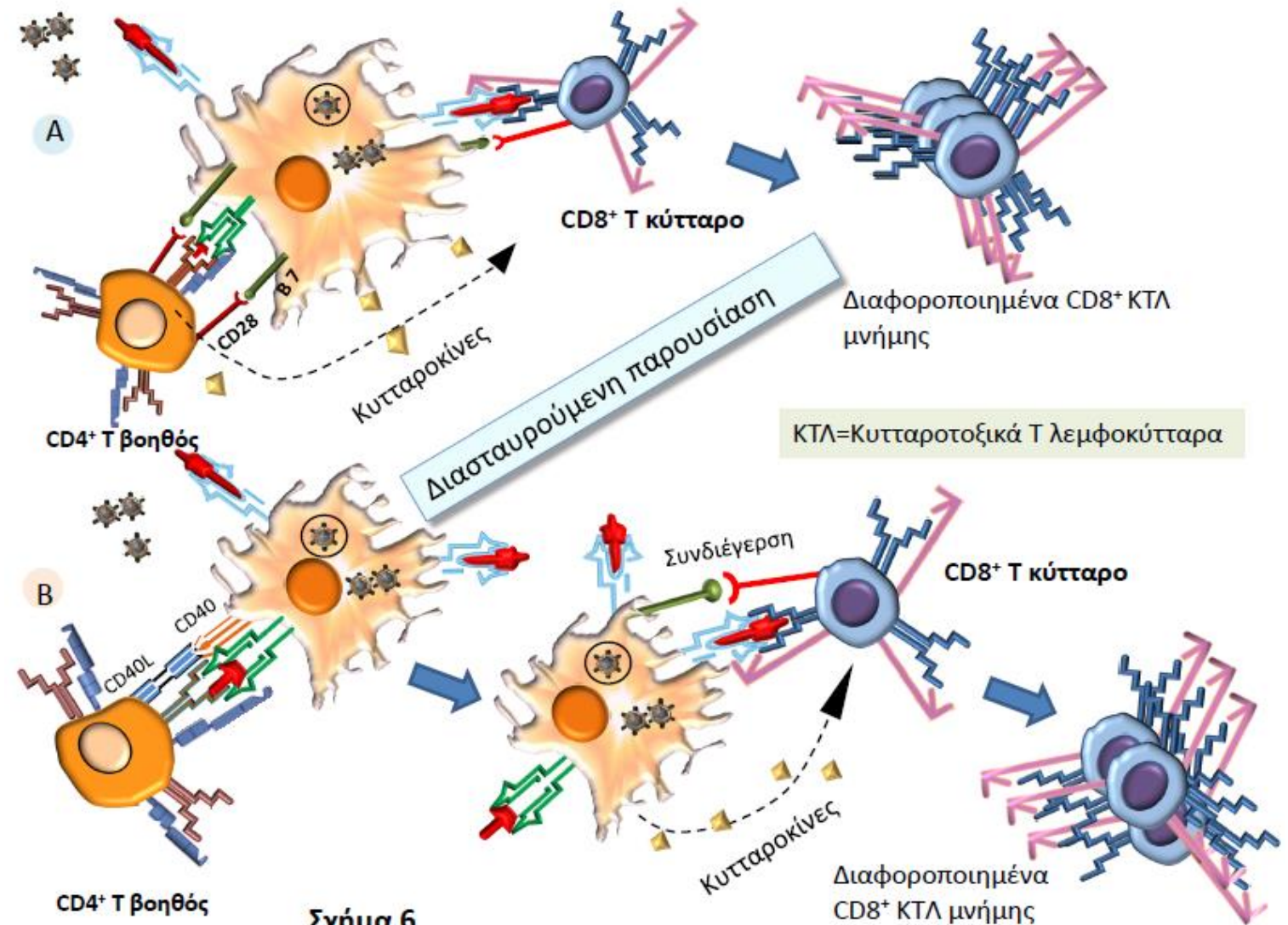
Τα δένδριτικά κύτταρα φαγοκυτταρώνουν μολυσμένα κύτταρα και πέπτουν τις πρωτεΐνες του κυττάρου και του ιού, παρουσιάζουν δε αυτές στα $CD8^+T$ και $CD4^+T$ κύτταρα



Σχήμα 5

Ο μηχανισμός της διασταυρούμενης παρουσίασης

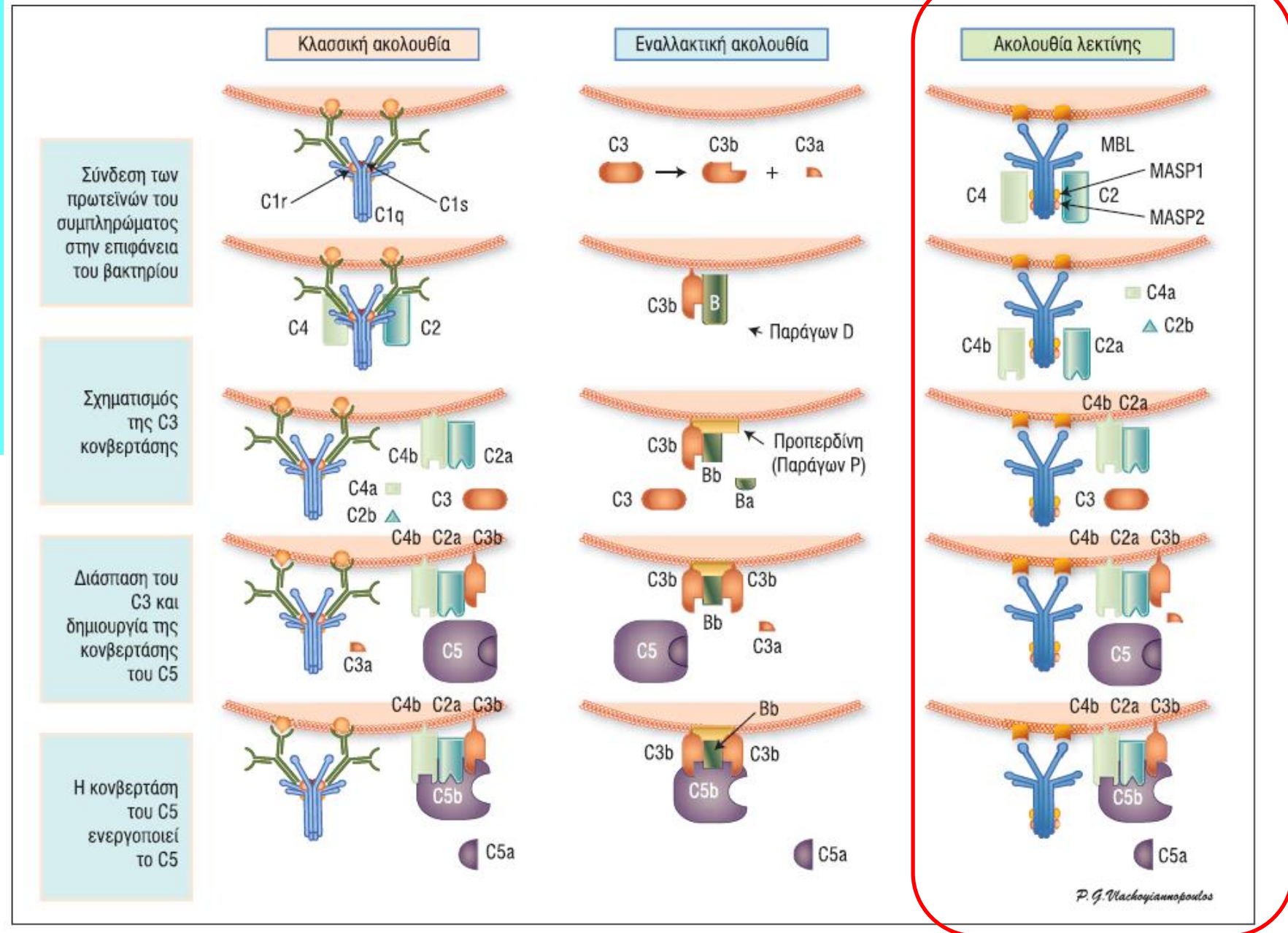
Εξωγενή αντιγόνα που παρουσιάζονται μέσω του συστήματος των κυστιδίων από τα δενδριτικά κύτταρα σε $CD4^+T$ κύτταρα οδηγούν σε έκφραση κυτταροκινών από τα $CD4^+T$ κύτταρα οι οποίες ωριμάζουν το δενδριτικό κύτταρο και το κάνουν ικανό να εκφράσει συνδιεγερτικά μόρια και να παρουσιάσει εξωγενή αντιγόνα στα $CD8^+T$ κύτταρα



Σχήμα 6

Οι πρωτεΐνες MASP-1 και MASP-2 σχηματίζουν συμπλέγματα με τις Ficolins και ενεργοποιούν την ακολουθία της λεκτίνης για την ενεργοποίηση του συμπληρώματος

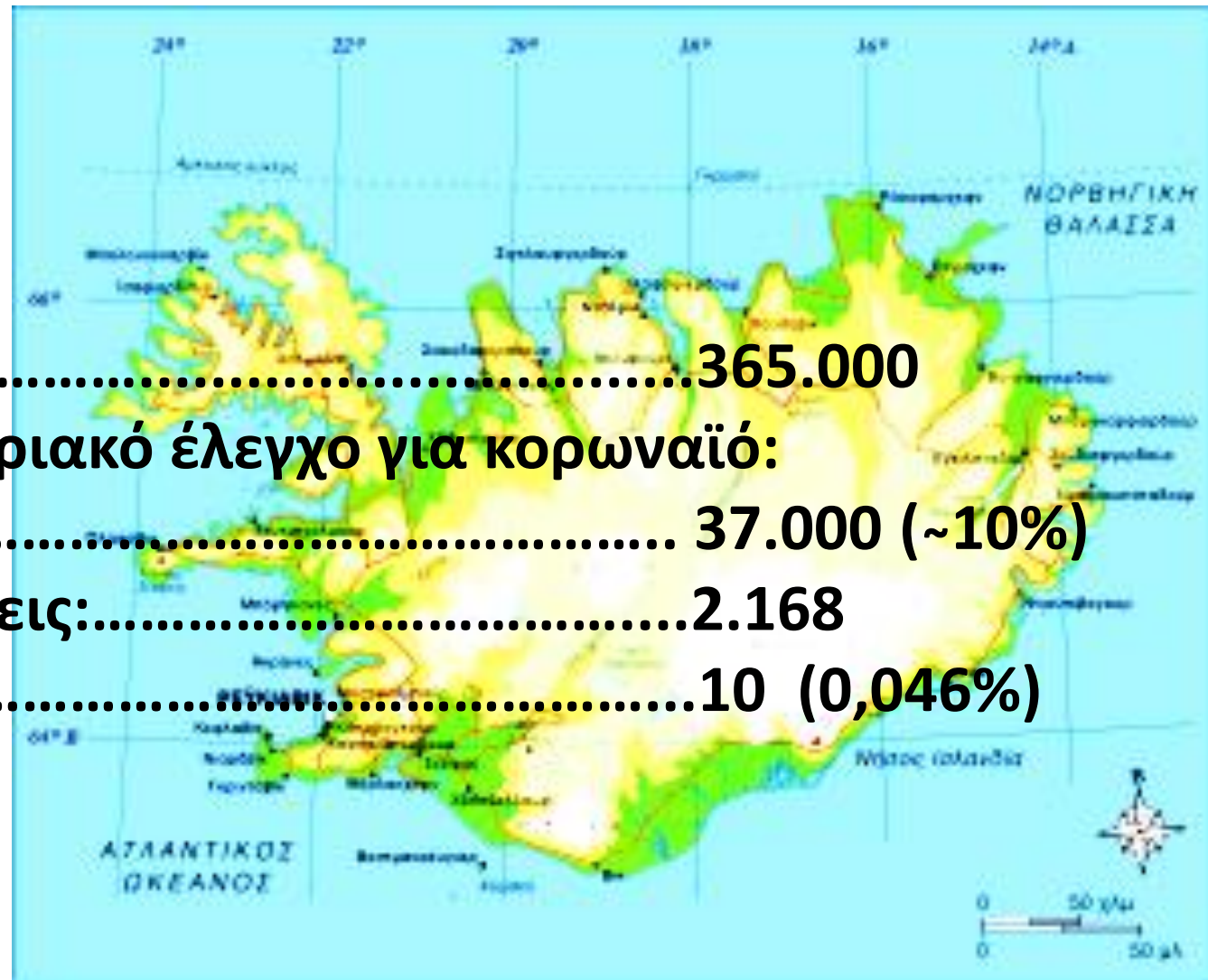
Ο όρος «**ficolins**» σημαίνει: oligomeric lectins with subunits consisting of both collagen (**Col**)-like long thin stretches and fibrinogen (**Fi**)-like globular domains with lectin (**Lin**) activity, που θα μπορούσαν να μεταφραστούν ως εξής: «Ολιγομερή ακτίνης με λεπτά ινίδια κολλαγόνου (Col) και σφαιρικές υπομονάδες ινονεκτίνης (Fi) με δραστηριότητα λεκτίνης (Lin).



Οι μηχανισμοί ανοσολογικής άμυνας κατά των ιών ισχύουν και για τον SARS-CoV-2

Το παράδειγμα της
Ισλανδίας

Πληθυσμός:365.000
Έχουν υποβληθεί σε μοριακό έλεγχο για κορωναϊό:
περίπου:..... 37.000 (~10%)
Βεβαιωμένες περιπτώσεις:.....2.168
Θάνατοι:.....10 (0,046%)



Η δημιουργία του φλεγμονοσώματος είναι ένας άλλος τρόπος για την παραγωγή της IL-1 β και της IL-18

Κασπάση (caspase= **C**ysteine-**a**spartic prote**a**ses, ή **C**ysteine **a**spart**a**ses)

NACHT=Neuronal apoptosis inhibitor protein

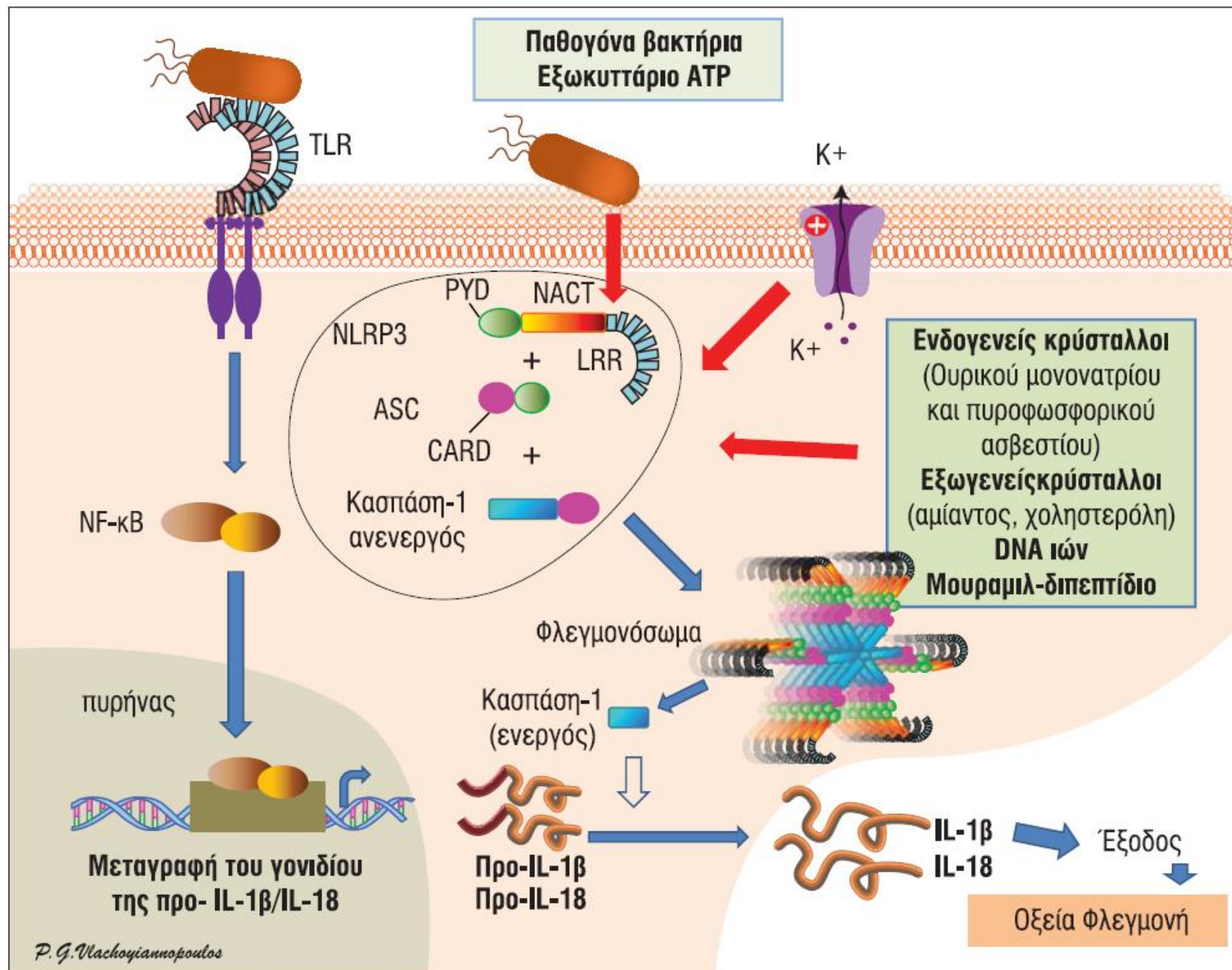
PYD=PYRIN domain

NLR= nucleotide-binding domain, leucine-rich motif

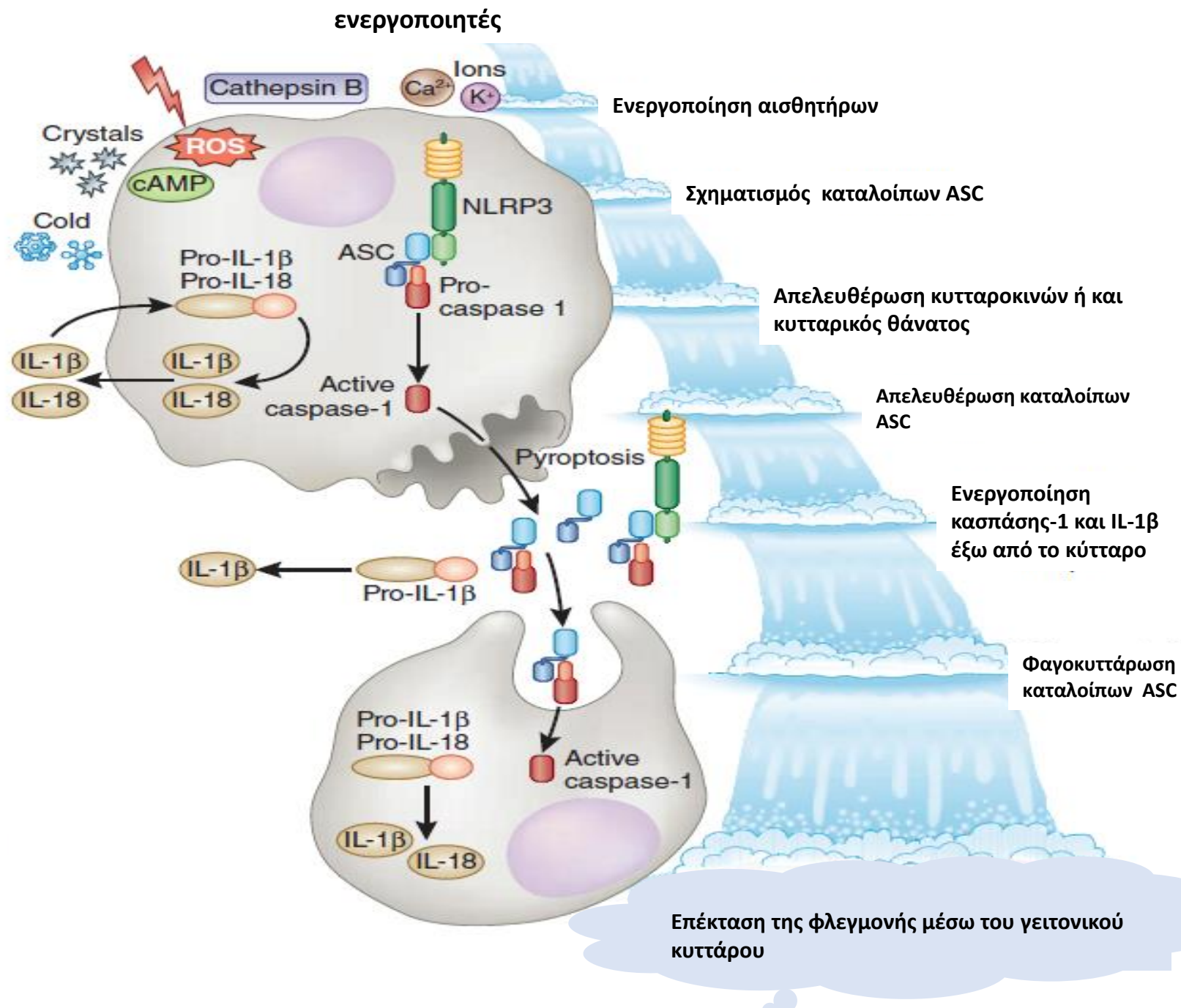
ASC= apoptosis-associated speck-like protein

CARD=Caspase recruitment domains

LRR=Leucine-rich repeat



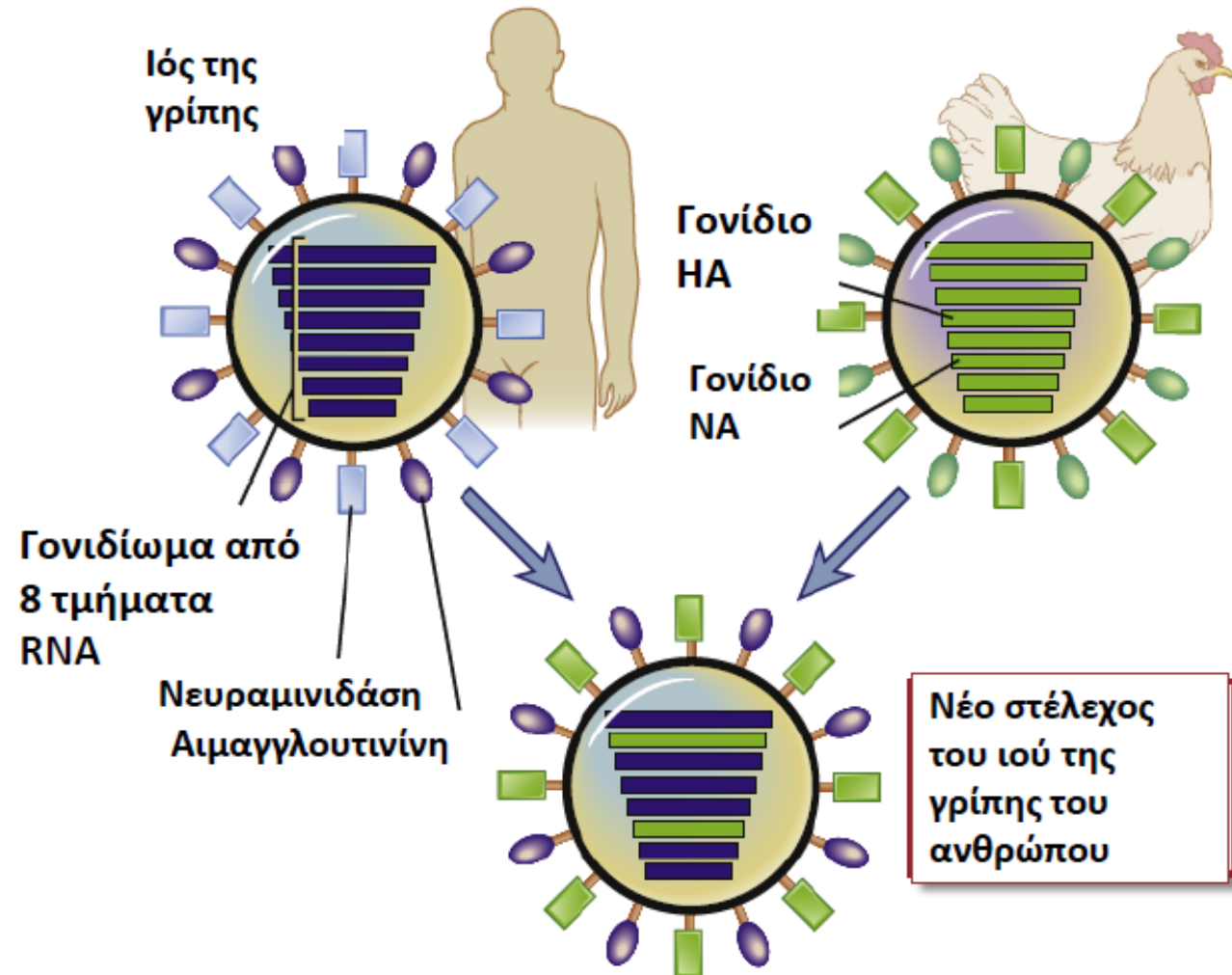
Πυρόπτωση: Μια υπερβολική διέγερση της παραγωγής IL-1β μέσω ενεργοποίησης του φλεγμονοσώματος, που οδηγεί σε καταστροφή του κυττάρου και απελευθέρωση ενεργοποιημένης πρωτεΐνης ASC που ενεργοποιεί την προ-IL1β ακόμη και στο εξωκυττάριο περιβάλλον και δρα στα διπλανά άθικτα κύτταρα.



Οι μηχανισμοί των φαινομένων antigenic drift και antigenic shift

➤ **Antigenic drift (τροποποίηση αντιγόνου):** Μεταλλάξεις σε γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες επιφανείας προκαλώντας τροποποιήσεις της δομής αυτών

➤ **Antigenic Shift (αλλαγή αντιγόνου):** Το φαινόμενο κατά το οποίο αυτόνομα τμήματα RNA του ιού ανασυνδυάζονται μεταξύ τους μέσα στα κύτταρα ενός άλλου ξενιστή που φιλοξενεί ένα άλλο στέλεχος του ιού σε τρόπο ώστε να προκύπτει ένα καινούργιο είδος ιού

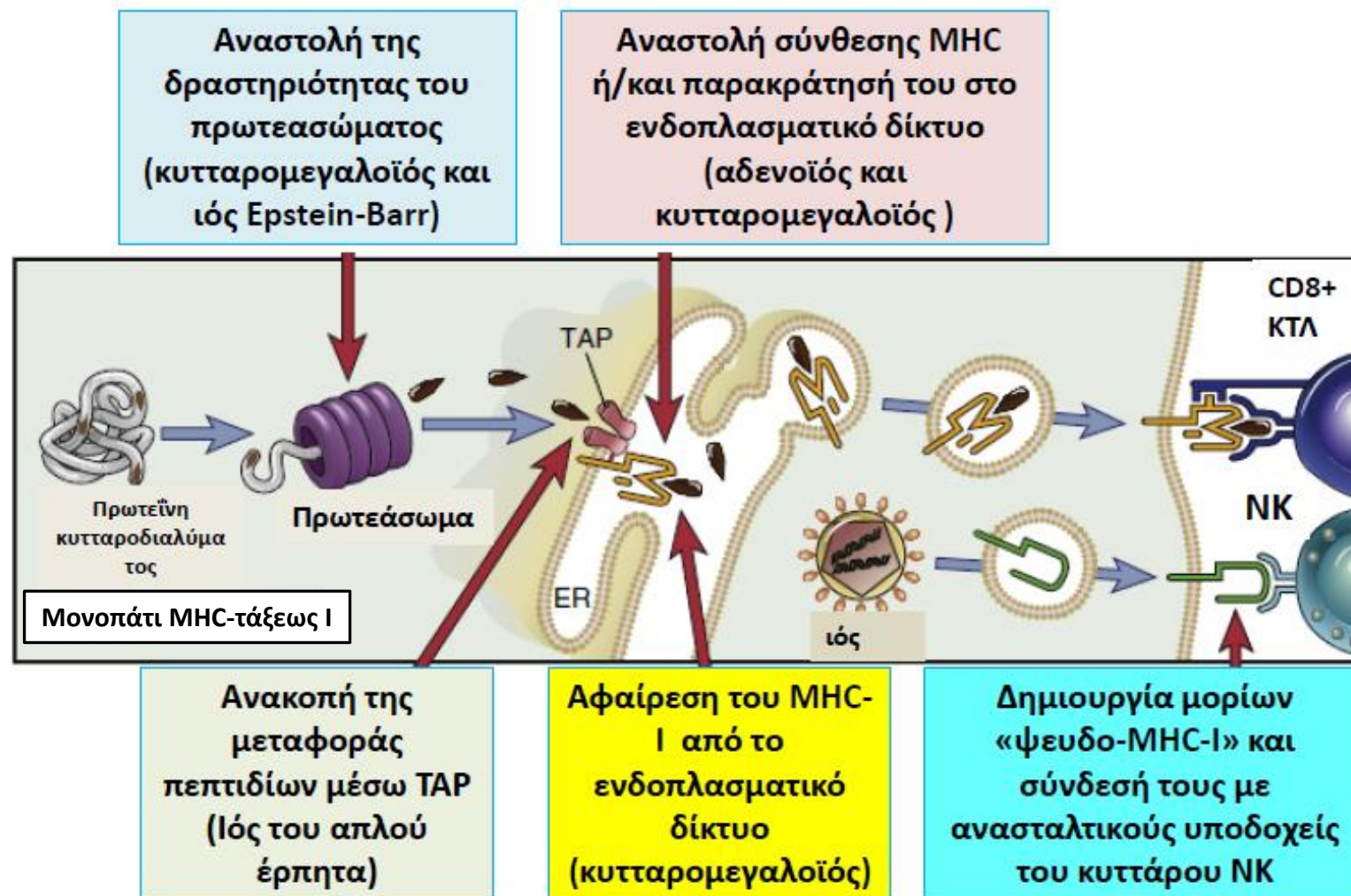


Πίνακας 1: Μηχανισμοί ανοσολογικής διαφυγής των ιών

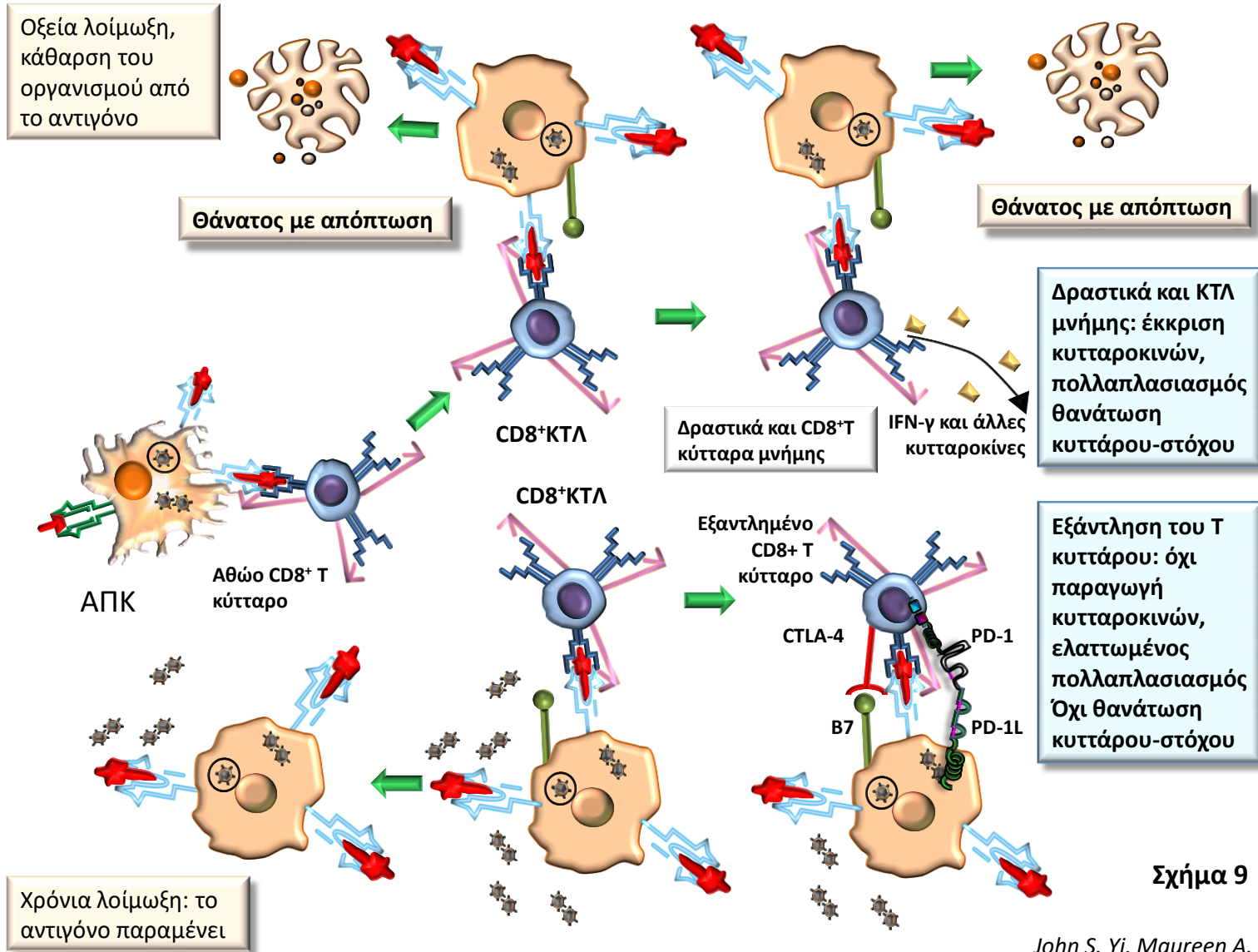
Αντιγονική ποικιλομορφία	Γρίπη, Ρινοϊός, HIV
Αναστολή της επεξεργασίας του αντιγόνου Ανακοπή μεταφοράς πεπτιδίων μέσω TAP. Αφαίρεση του MHC-I από το ενδοπλασματικό δίκτυο	Ιός απλού έρπητα Κυτταρομεγαλοϊός
Παραγωγή «ψευδο-MHC-I» για αναστολή των NK	Κυτταρομεγαλοϊός (του χοίρου)
Παραγωγή ομολόγων των υποδοχέων κυτταροκινών	Ευλογιάς (IL-1, IFN-γ) Κυτταρομεγαλοϊός (χυμοκίνες)
Παραγωγή ανοσοκατασταλτικών κυτταροκινών (IL-10)	Epstein-Barr
Μόλυνση, λειτουργική ανεπάρκεια και θανάτωση κυττάρων του ανοσολογικού συστήματος	HIV
Αναστολή ενεργοποίησης του συμπληρώματος	HIV, ευλογιά, κυτταρομεγαλοϊός
Αναστολή φυσικής ανοσίας	Ευλογιά, HIV, ιός απλού έρπητα, κυτταρομεγαλοϊός του ανθρώπου

Μηχανισμοί με τους οποίους οι ιοί αναστέλλουν την επεξεργασία και παρουσίαση των αντιγόνων

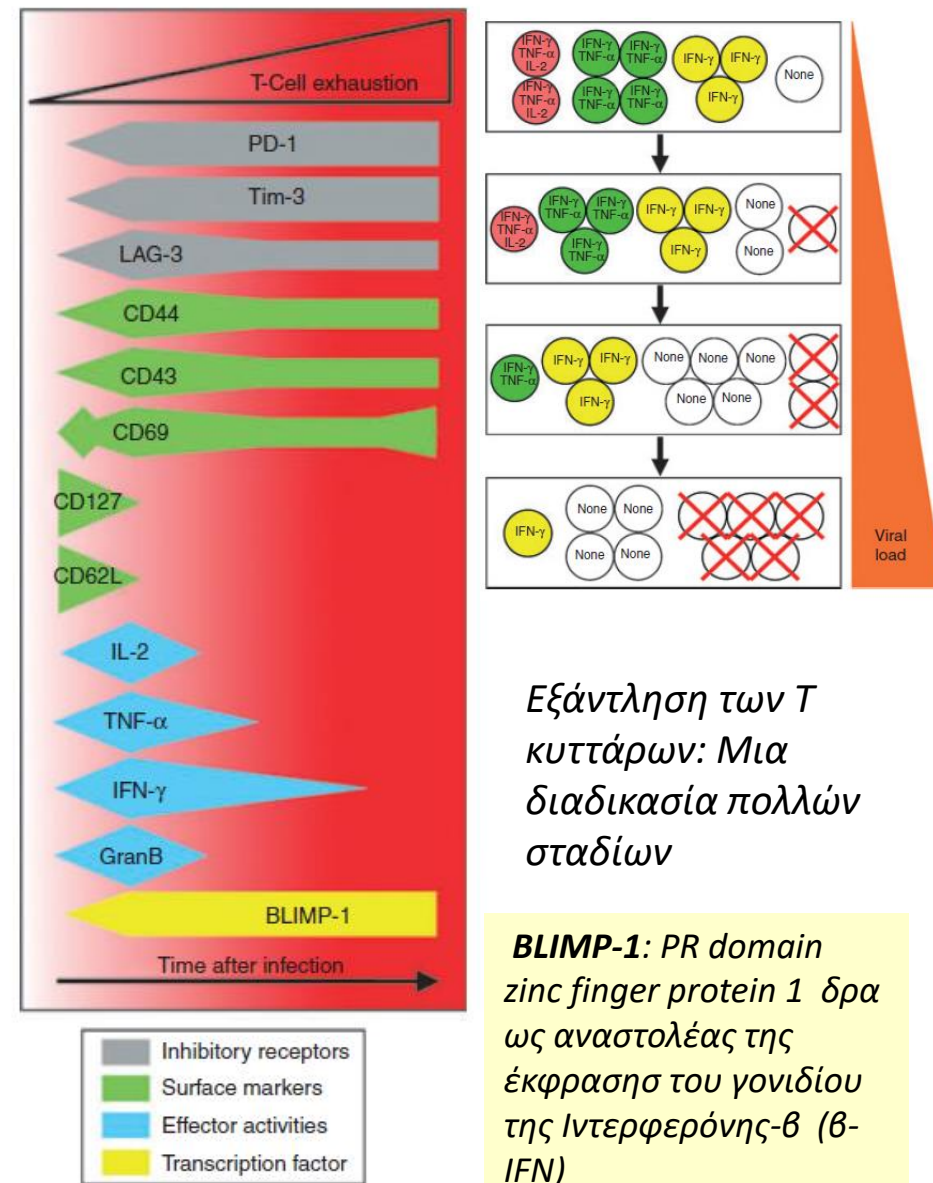
Σχήμα 8



Μηχανισμός της εξάντλησης



Σχήμα 9



Ταξινόμηση των κορωναϊών

229 E

NL 63

OC 43

HKU1

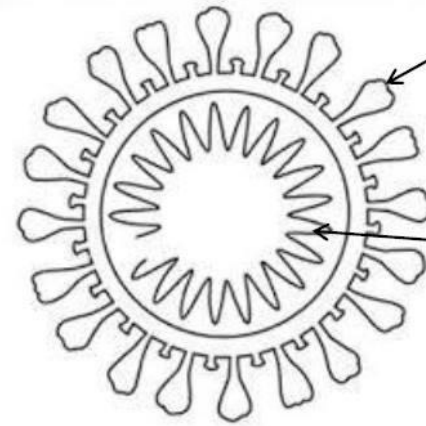
Λοιμώξεις
ανώτερου
αναπνευστικού

SARS-CoV

MERS-CoV

SARS-CoV-2

Λοιμώξεις
κατώτερου
αναπνευστικού



S protein (Spike protein, ήτοι: ψηκτροειδής πρωτεΐνη). Με αυτήν ο ιός αναγνωρίζει υποδοχείς και εισέρχεται στα κύτταρα του ξενιστή

Μονή έλικα RNA του ιού

Εικόνα 2

Κορωναϊοί τύπου α : είναι αυτοί που η ψηκτροειδής πρωτεΐνη τους δεν κόβεται σε δύο κομμάτια προκειμένου ο ιός να μπει στα κύτταρα του ξενιστή

Κορωναϊοί τύπου β: είναι αυτοί που η ψηκτροειδής πρωτεΐνη τους κόβεται σε δύο κομμάτια προκειμένου ο ιός να μπει στα κύτταρα του ξενιστή

➤Positive sense (Θετική πολικότητα) : Το RNA του ιού είναι όμοιο με το mRNA του κυττάρου του ξενιστή και μεταφράζεται άμεσα στα ριβοσώματα.

➤Negative sense (Αρνητική πολικότητα) : Το RNA του ιού πρέπει να μεταγραφεί σε Positive sense με τη βοήθεια του ενζύμου RNA-dependent RNA polymerase πριν από τη μετάφραση

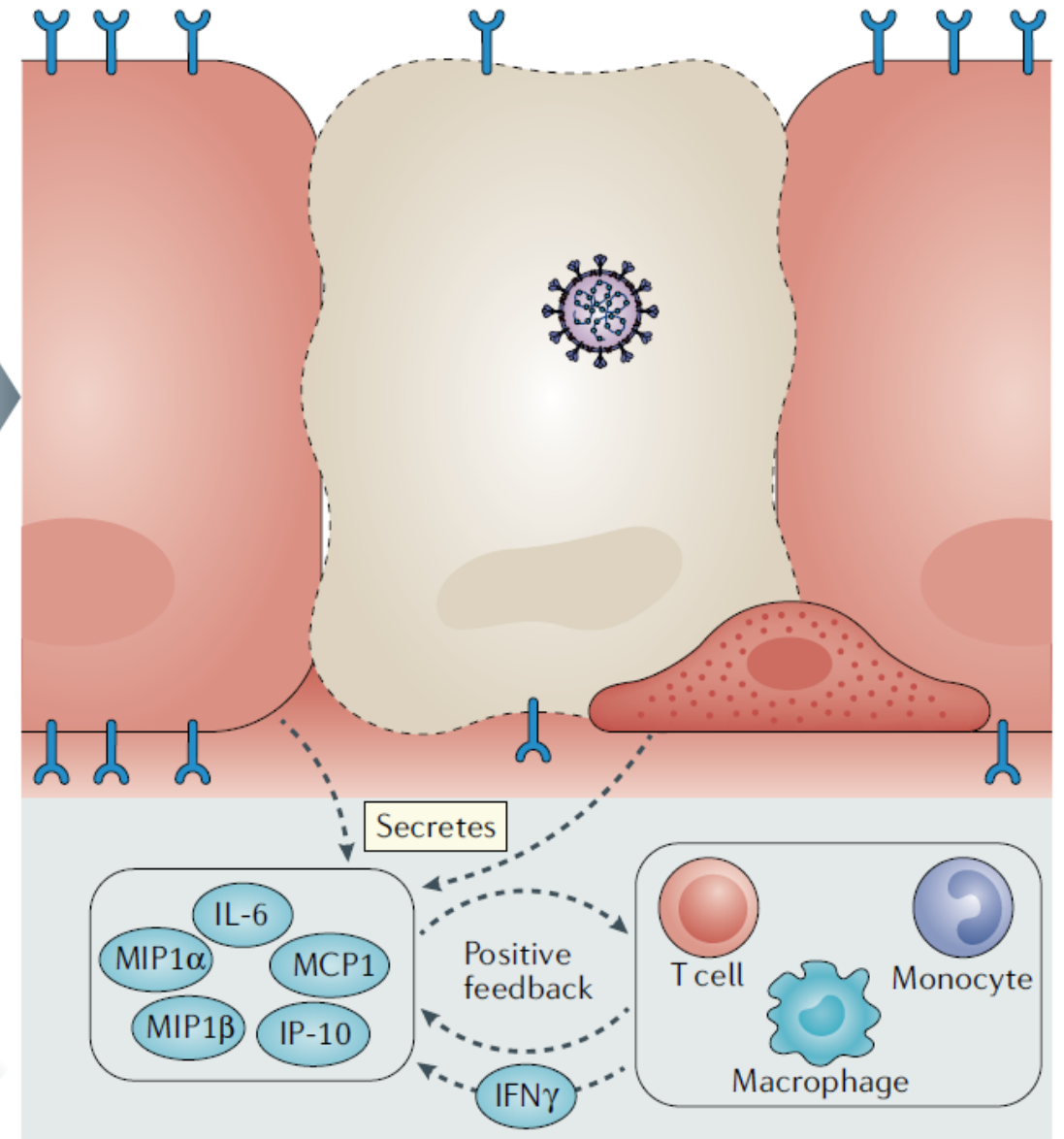
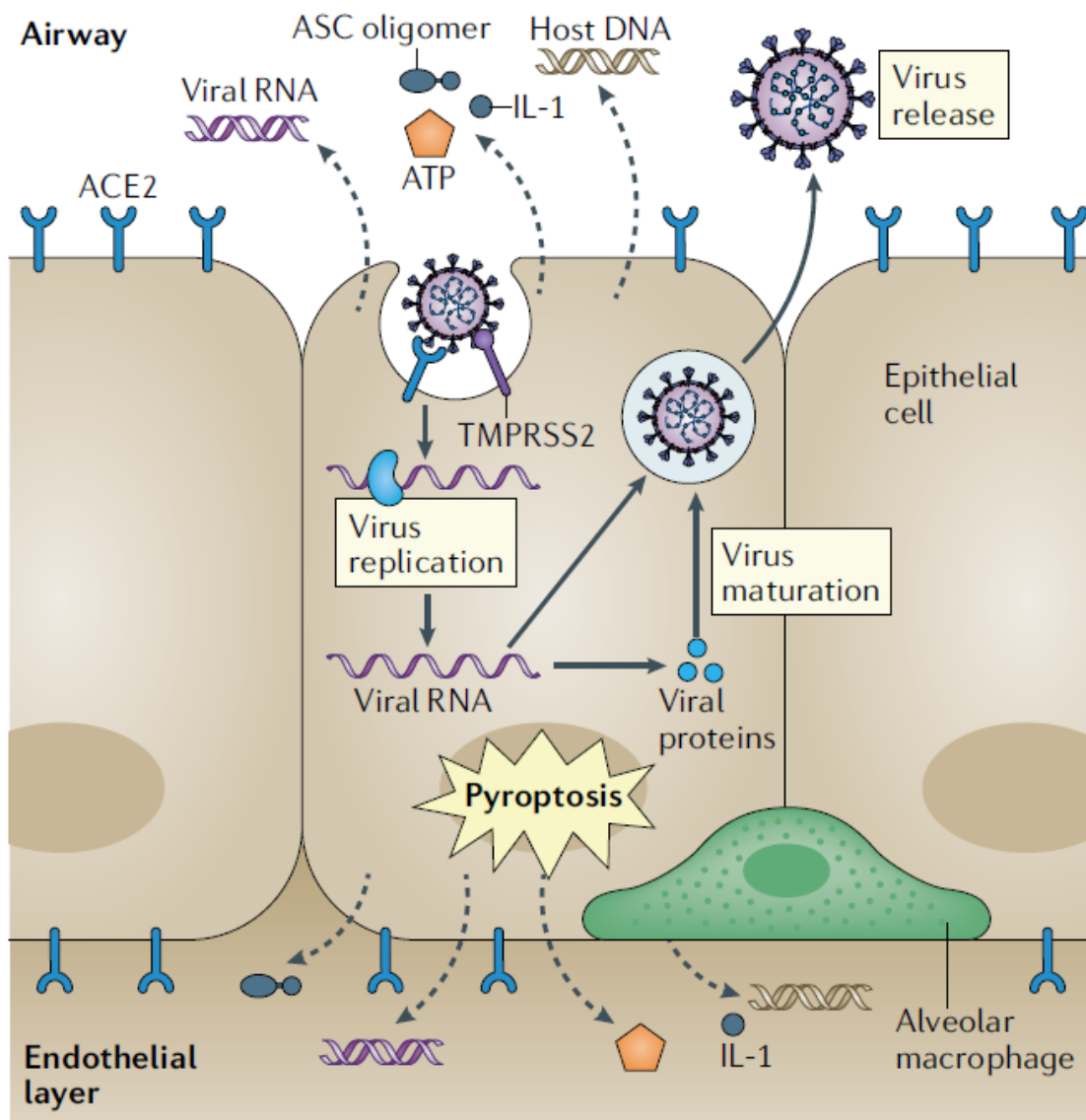
Βασικές και πρώιμες ανοσολογικές και ορολογικές διαταραχές στην νόσο COVID-19

- Εξαιρετικά υψηλά επίπεδα κυτταροκινών φλεγμονής (IL-1 α, IL-6 και TNF-α)
- Ανεπαρκείς αποκρίσεις ιντερφερονών τύπου I
- Λεμφοπενία στην περιφέρεια
- Αύξηση ορολογικών δεικτών φλεγμονής
 - Φερριτίνη
 - LDH
 - D-Dimers
 - CRP
 - Παράγοντες πήξεως

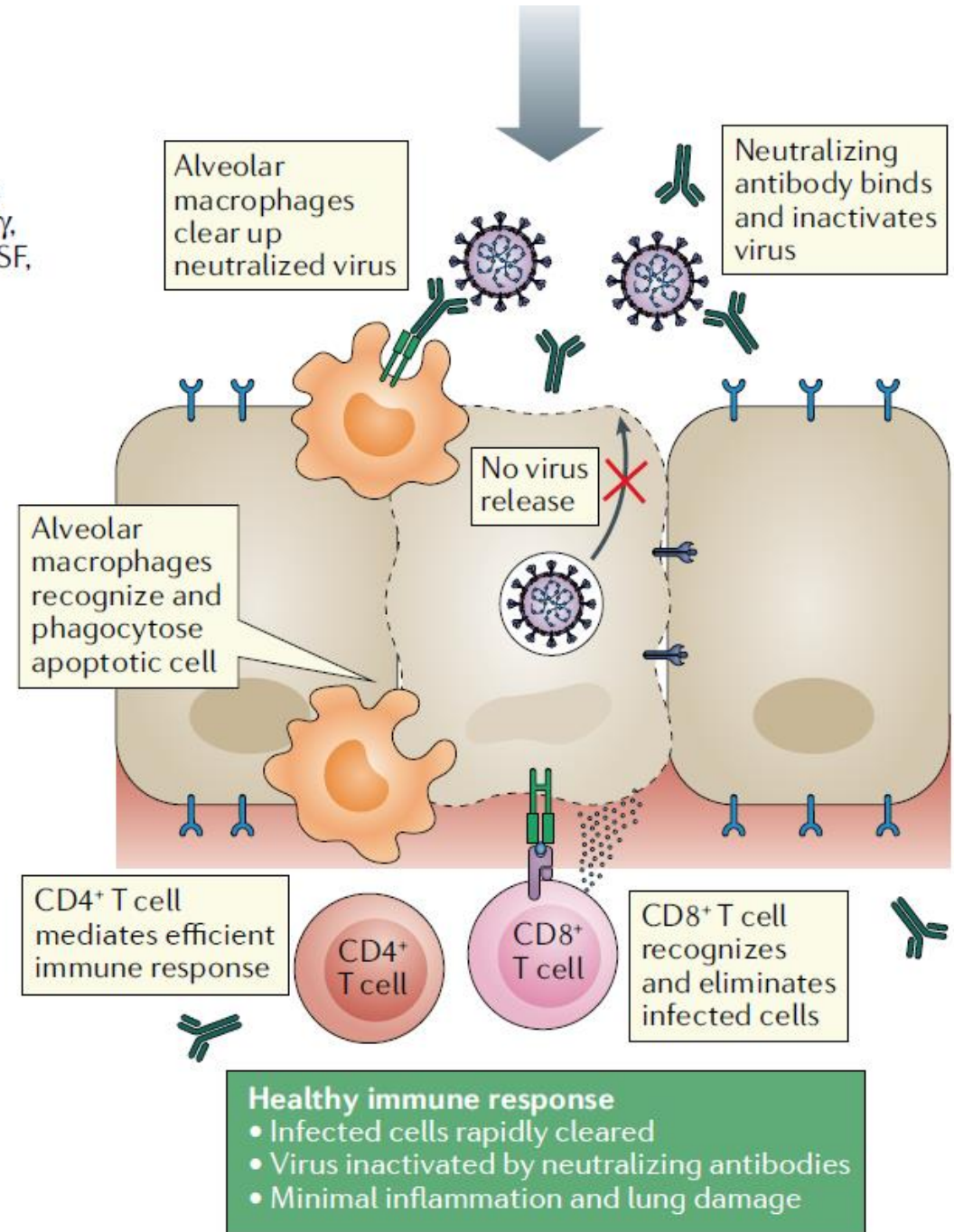
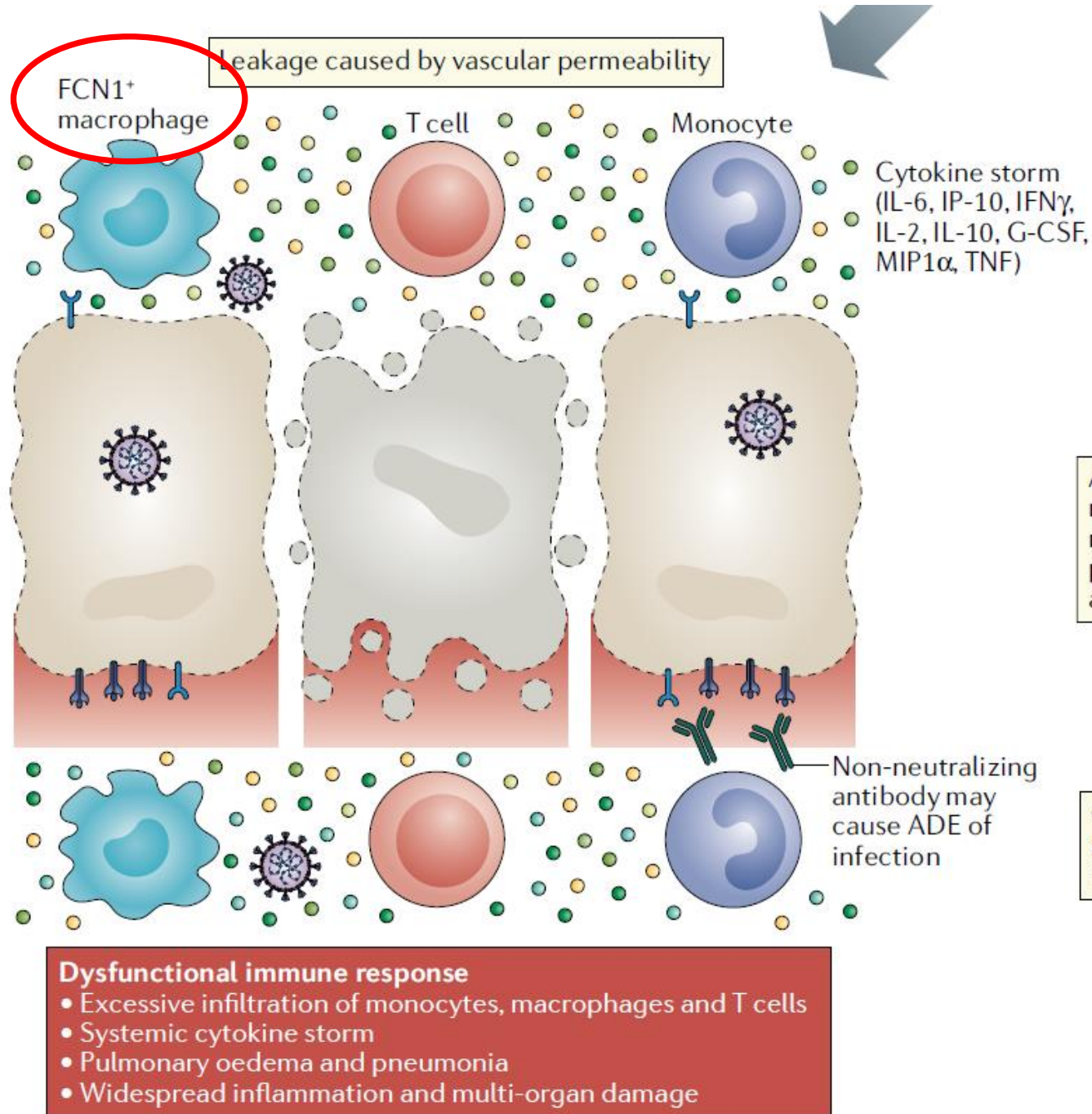
Chen G, et al, J Clin Invest 2020: 130(5): 2620-2629

Zhou F et al, The Lancet 2020: 395(10229): 1054-1062

Goshua G, et al, Lancet Haematol 2020



TMPRSS2: Transmembrane protease, serine 2
 MCP1: Monocyte Chemoattractant Protein-1
 IP-10: Interferon gamma-induced protein 10 (CXCL-10)
 MIP: Macrophage Inflammatory Proteins



Ο υποδοχέας κυττάρων για την είσοδο του ιού SARS-CoV-2 είναι ο ACE2

Ο ACE2 υπάρχει στα:

- ✓Επιθηλιακά κύτταρα αεραγωγών
- ✓Επιθηλιακά κύτταρα των κυψελίδων
- ✓Ενδοθηλιακά κύτταρα
- ✓Μακροφάγα πνεύμονα

Προσοχή

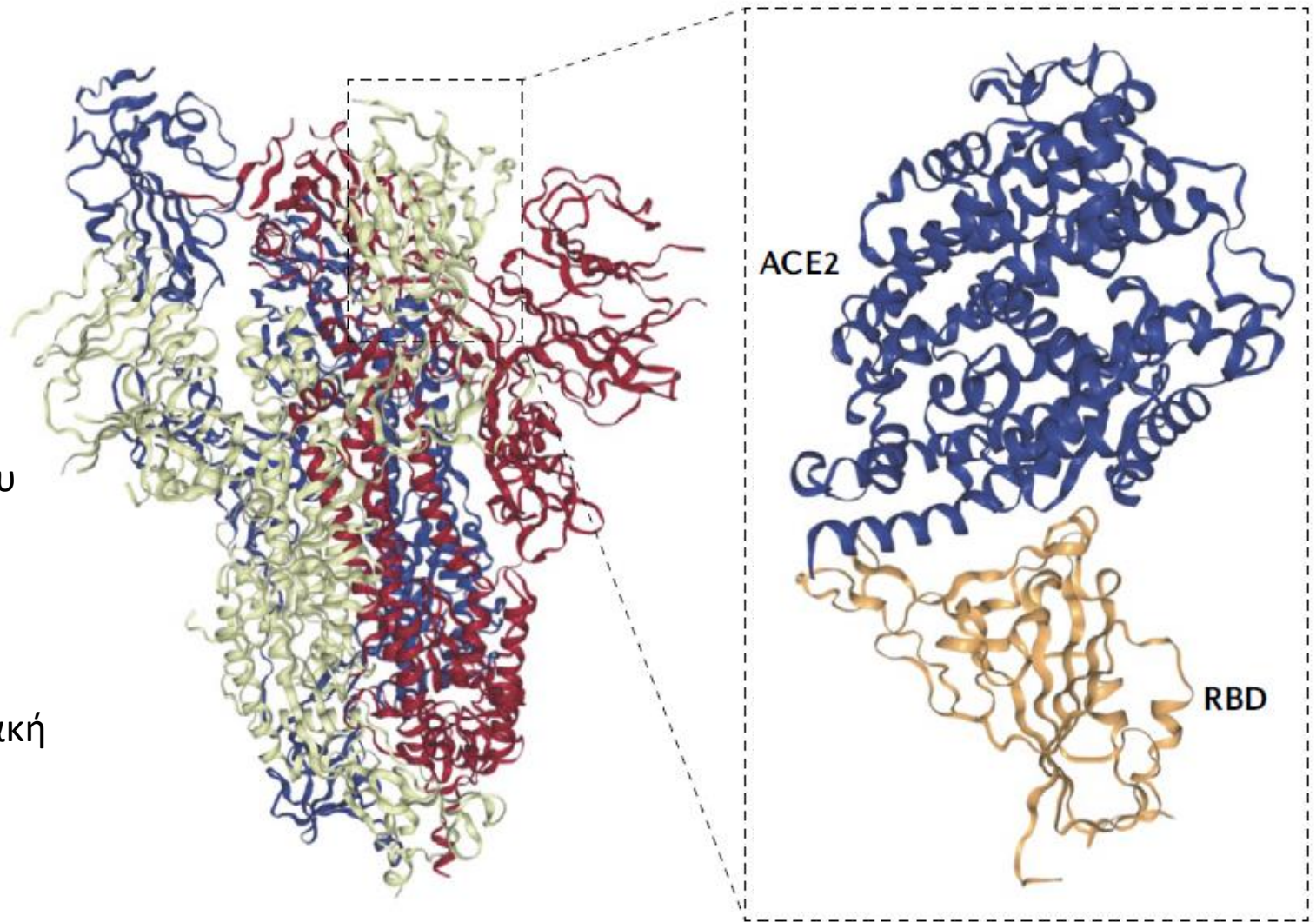
Η έκφραση του ACE2 στην επιφάνεια των κυττάρων ελαττώνεται μετά την είσοδο του ιού στα κύτταρα

Ο υποδοχέας ACE2 ρυθμίζει το σύστημα ρεννίνης-αγγειοτασίνης και απώλειά του διαταράσσει την αρτηριακή πίεση, την ρύθμιση ηλεκτρολυτών αυξάνει την αγγειακή διαπερατότητα των αεραγωγών και τη φλεγμονή

$S = S1 + S2 \rightarrow FP + HP1 + HP2$

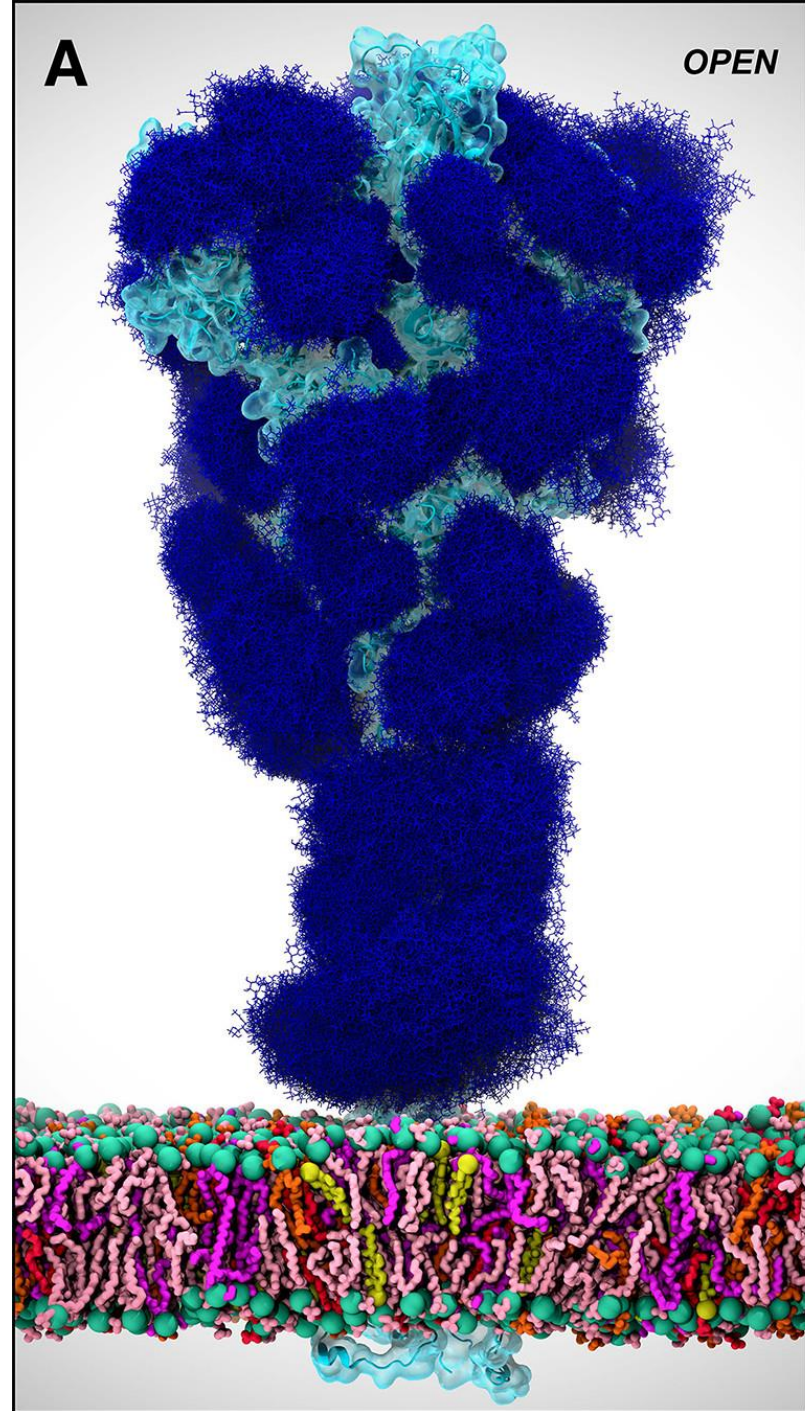


S1 = Aminoterminal domain + RBD



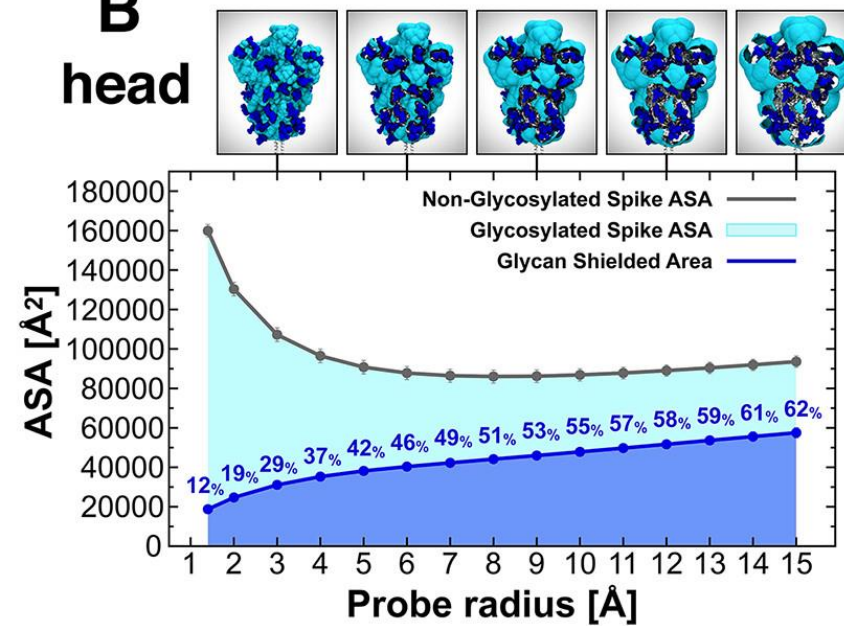
Η δομή της πρωτεΐνης S

RBD: Receptor binding domain
ACE: Angiotensin converting enzyme



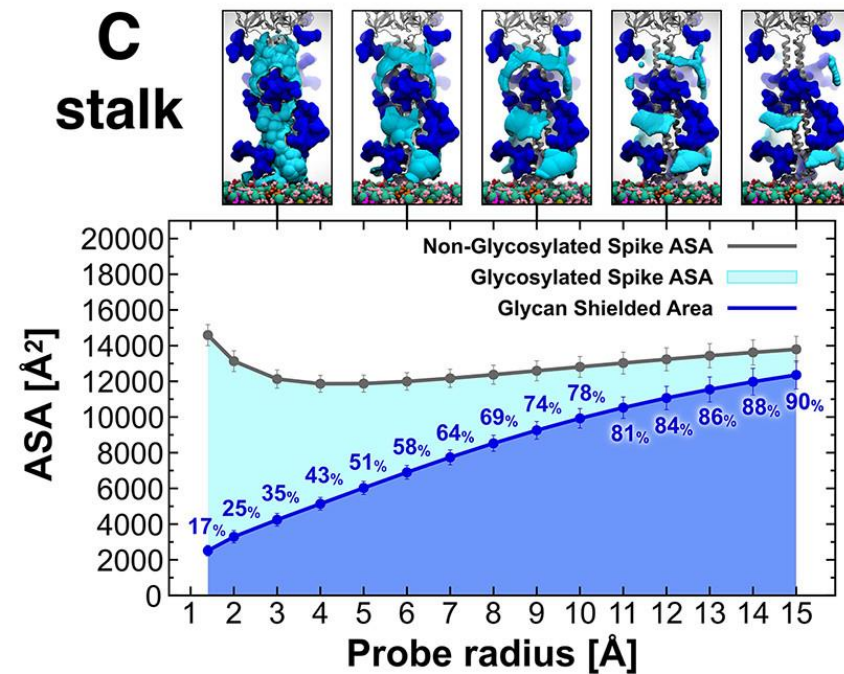
B

head



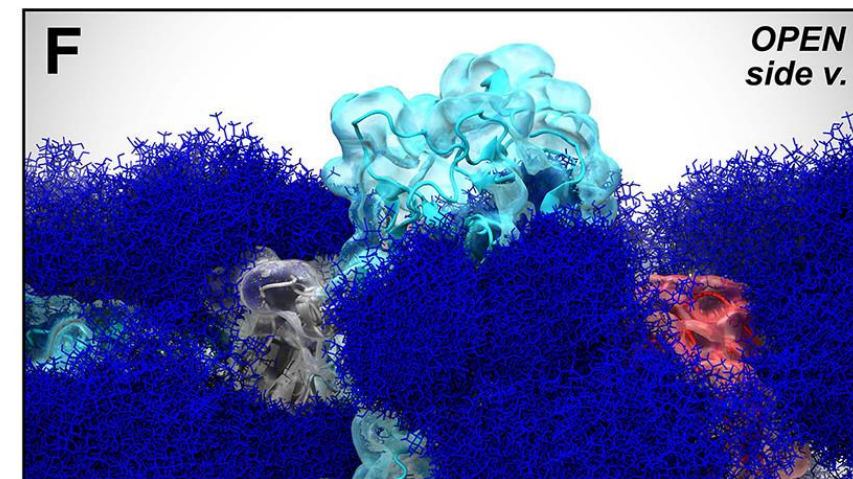
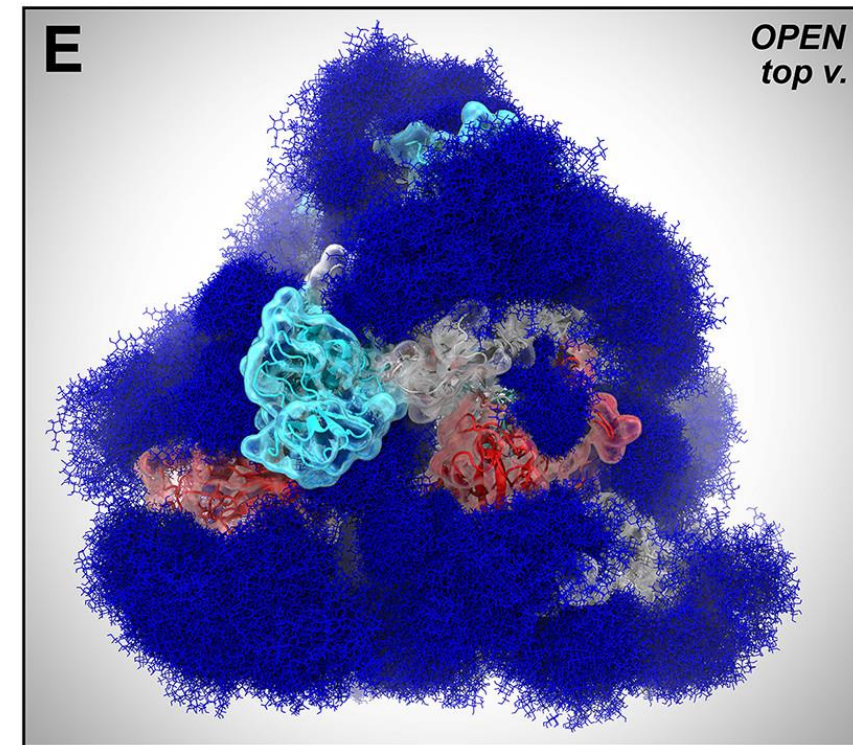
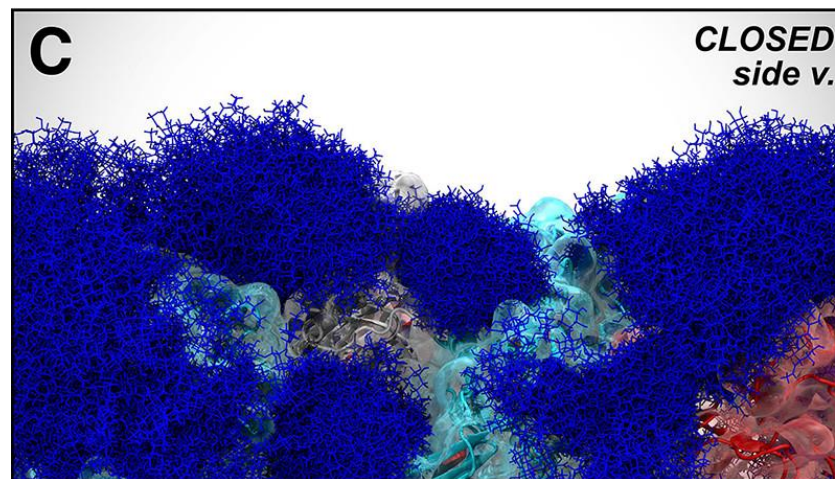
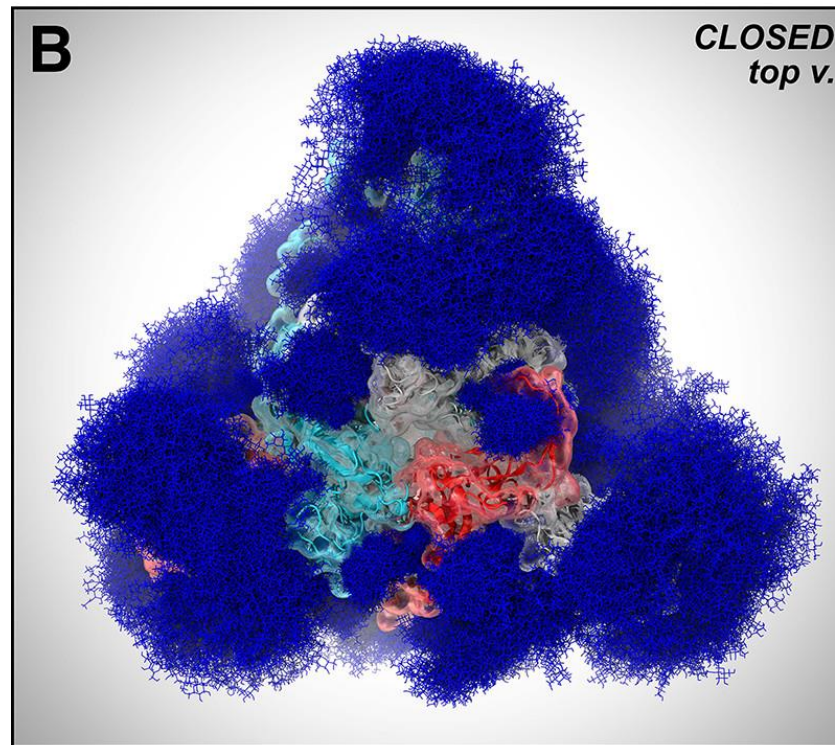
C

stalk

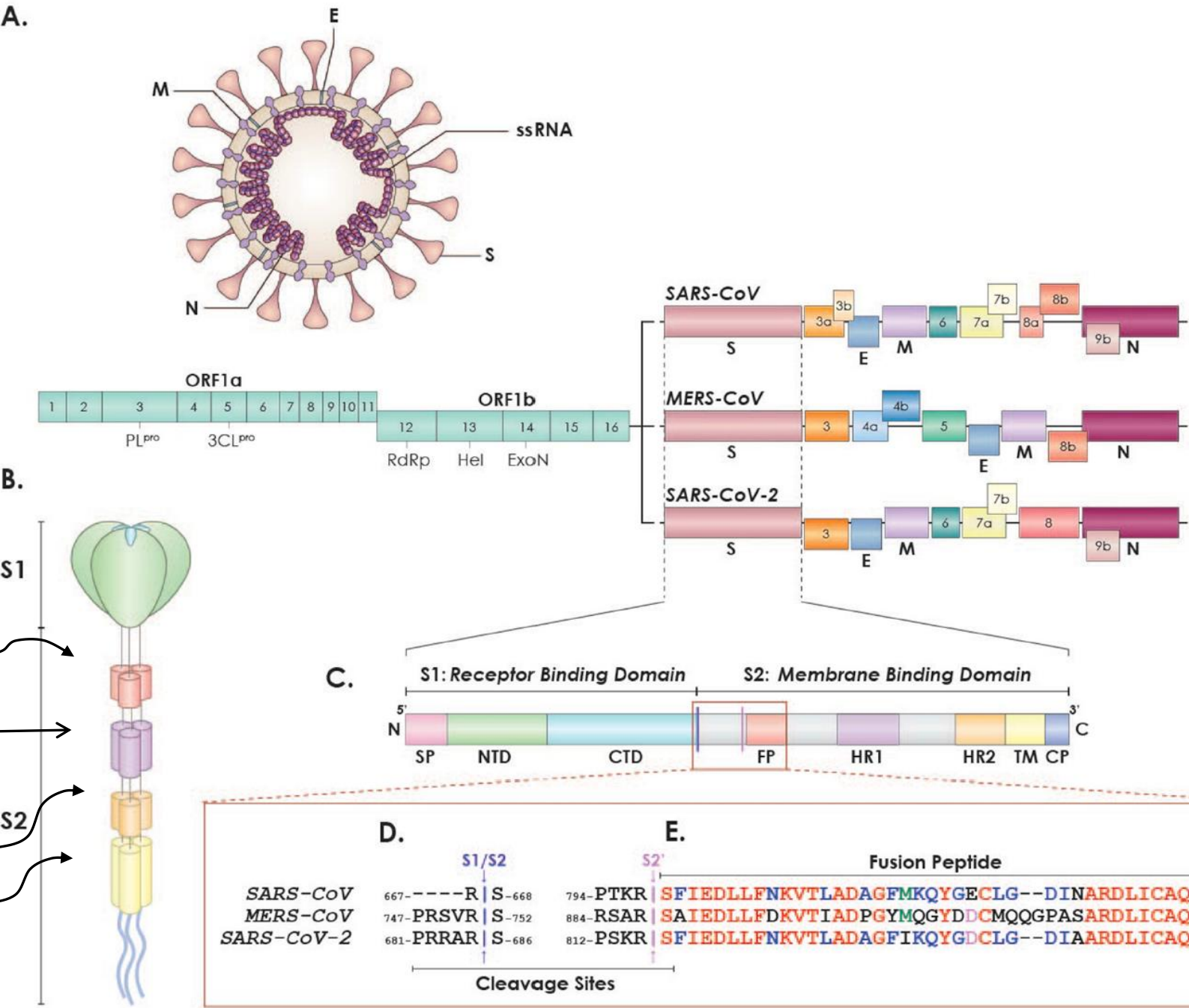


Υδατανθρακική ασπίδα της περιοχής RBD που αλληλεπιδρά με το ACE2.

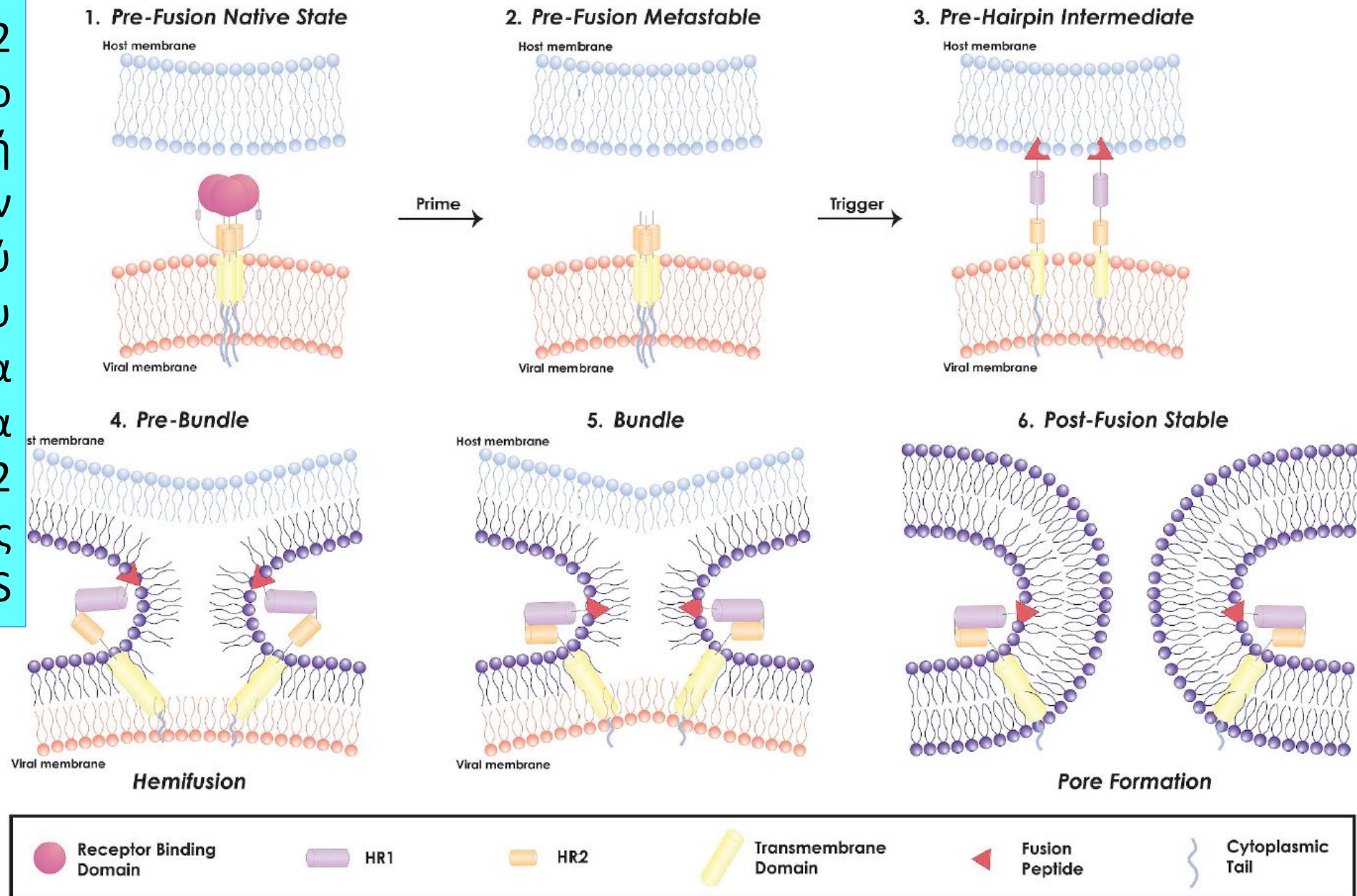
Απεικονίζεται η
προσβάσιμη επιφάνεια
του RBM-A και η
περιοχή που
προστατεύεται από
γειτονικούς
υδατάνθρακες στην
Κλειστή (B,C) και
Ανοιχτή (E,F)



Η δομή της πρωτεΐνης S είναι πολύπλοκη



Το γονιδίωμα του ιού
SARS-CoV-2
εισέρχεται στο
κύτταρο του ξενιστή
με σύντηξη των
μεμβρανών του ιού
και του κυττάρου του
ξενιστή την οποία
υποβοηθούν τα
τμήματα της S2
υπομονάδας της
πρωτεΐνης S



Στρατηγικές για την ανακοπή της μόλυνσης με τον ιό SARS-CoV-2 (παρεμπόδιση εισόδου του ιού στα κύτταρα του ξενιστή)

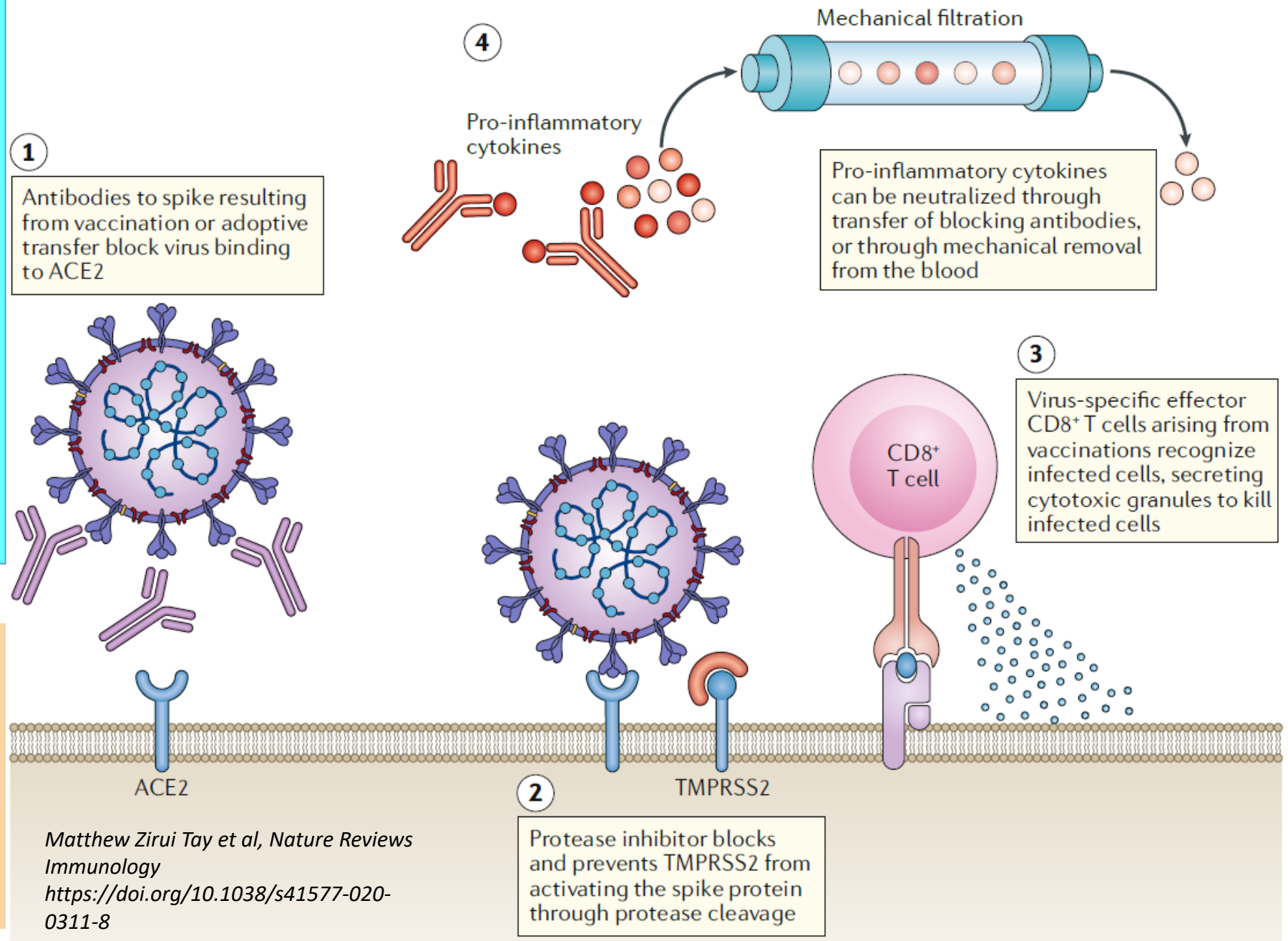
- Στόχευση του ACE2
 - ACE2 εξωγενώς χορηγούμενο
 - Baricitinib (JAK Inhibitor), αναστέλλει την ενδοκυττάρωση του ACE2.
- Στόχευση του TMPRSS2 (Transmembrane protease, serine 2)
 - Nafamostat mesylate
 - Calmostat mesylate
- Στόχευση της πρωτεΐνης S
 - Μονοκλωνικά αντισώματα
 - Εμβόλια
- Στόχευση της διαδικασίας σύντηξης μεμβρανών ιού και κυττάρου του ξενιστή
 - Εξωγενής χορήγηση πεπτιδίου HR2

Ανασταλτές της εισόδου του ιού SARS-CoV-2 στα κύτταρα του ξενιστή

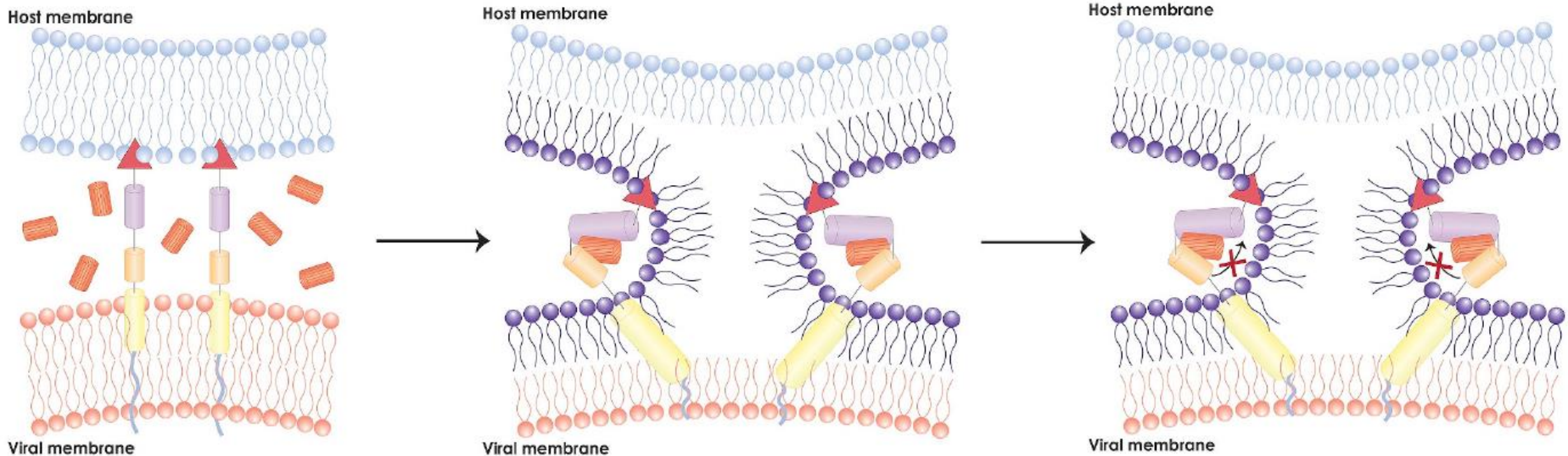
- Μονοκλωνικά αντισώματα κατά της πρωτεΐνης S
- Αντισώματα κατά της πρωτεΐνης S, όπως επάγονται από τα εμβόλια
- Αναστολείς πρωτεασών όπως η TMPRSS2
- CD8⁺T κύτταρα (επαγόμενα από εμβόλια)
- Εξωγενές πεπτίδιο HR2 του ιού.

Ανασταλτές επιπτώσεων της λοίμωξης

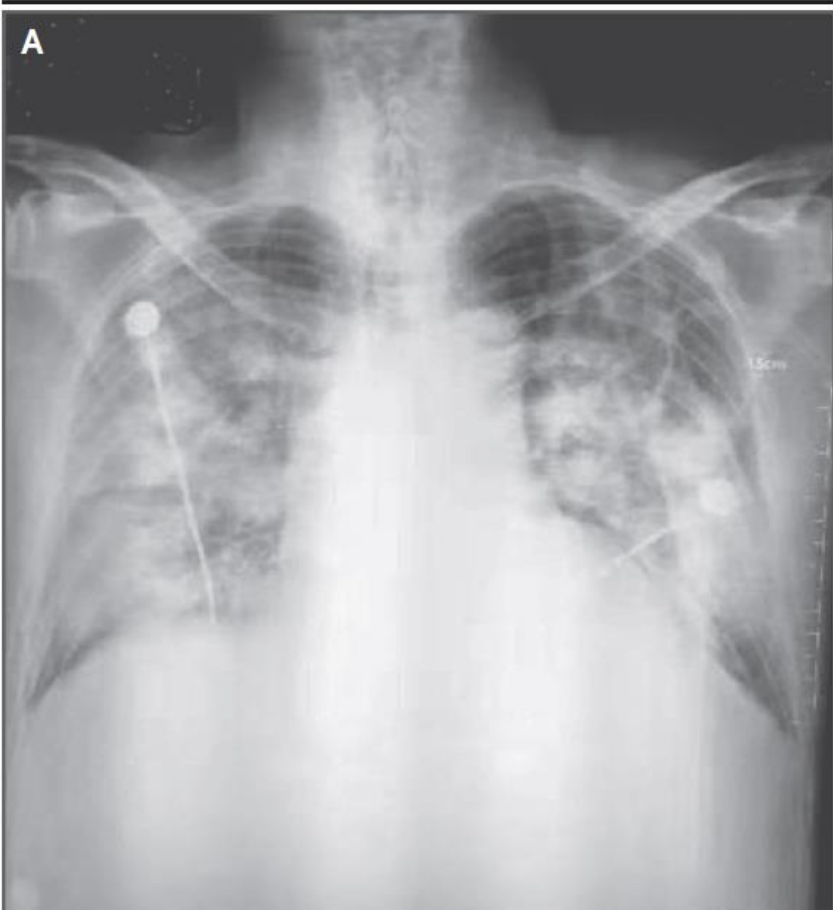
- Μονοκλωνικά αντισώματα κατά κυτταροκινών
- Μηχανική απομάκρυνση κυτταροκινών, μέσω φίλτρων



Εξωγενές πεπτίδιο HR2 συνδέεται με το HR1 του ιού και παρεμποδίζει το κλείδωμα HR1/HR2 διακόπτοντας την σύντηξη μεμβρανών ιού και κυττάρου του ξενιστή

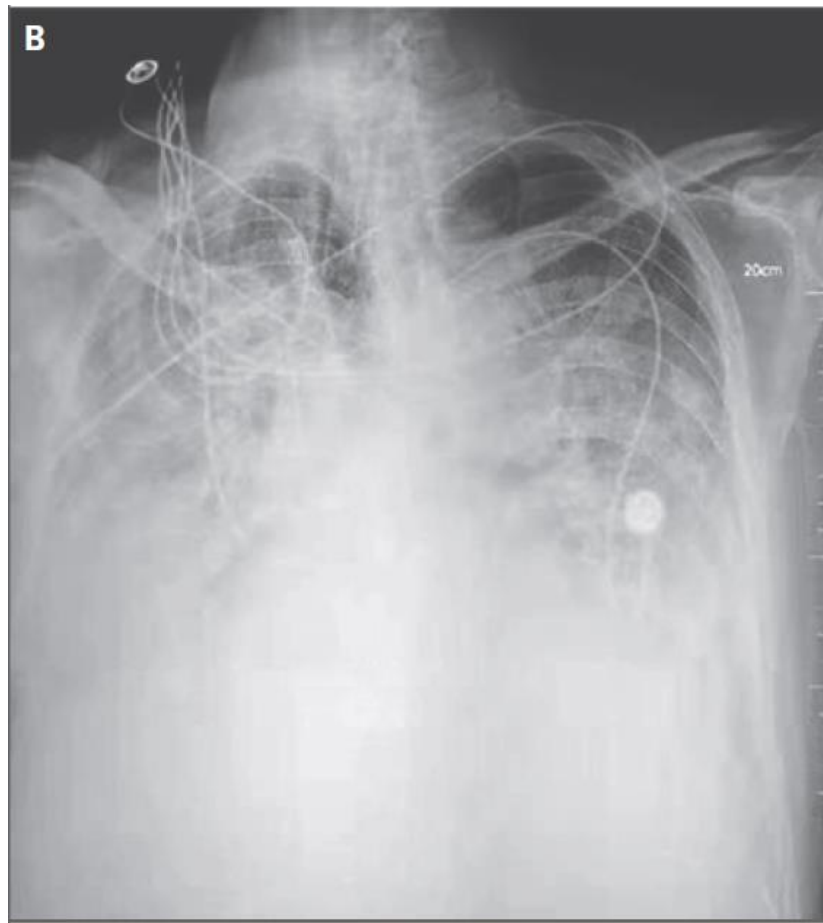


Στη νόσο COVID-19 αναπτύσσεται σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας του ενήλικα (ARDS)

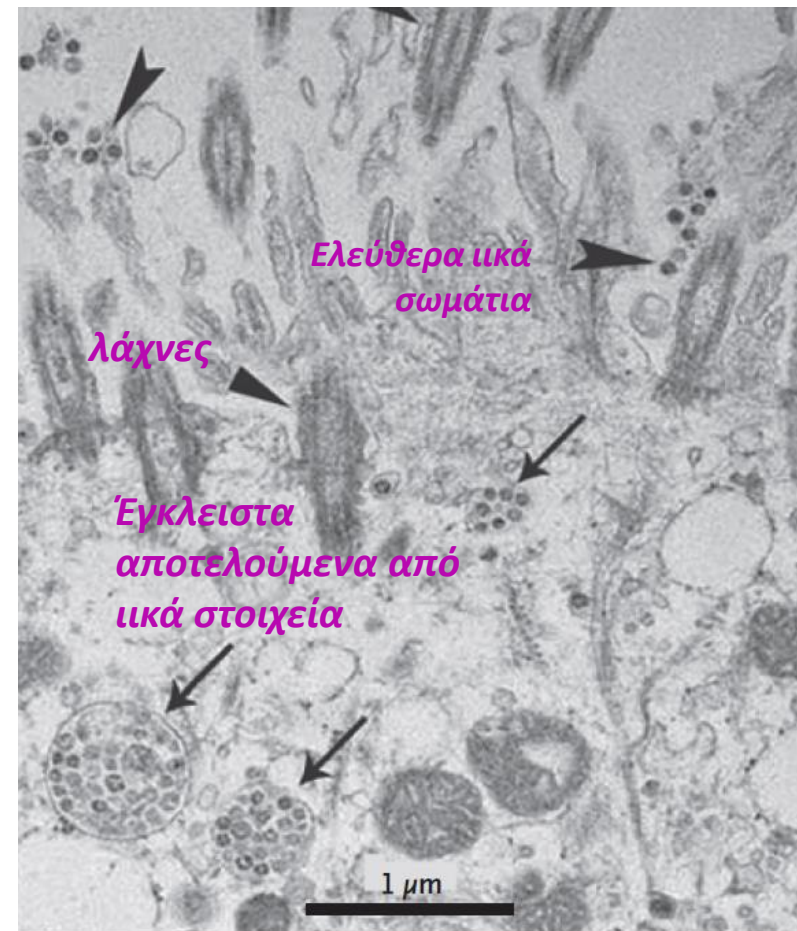


8 ημέρες από την έναρξη των συμπτωμάτων

Zhu N. et al, N Engl J Med 2020;382:727-33.



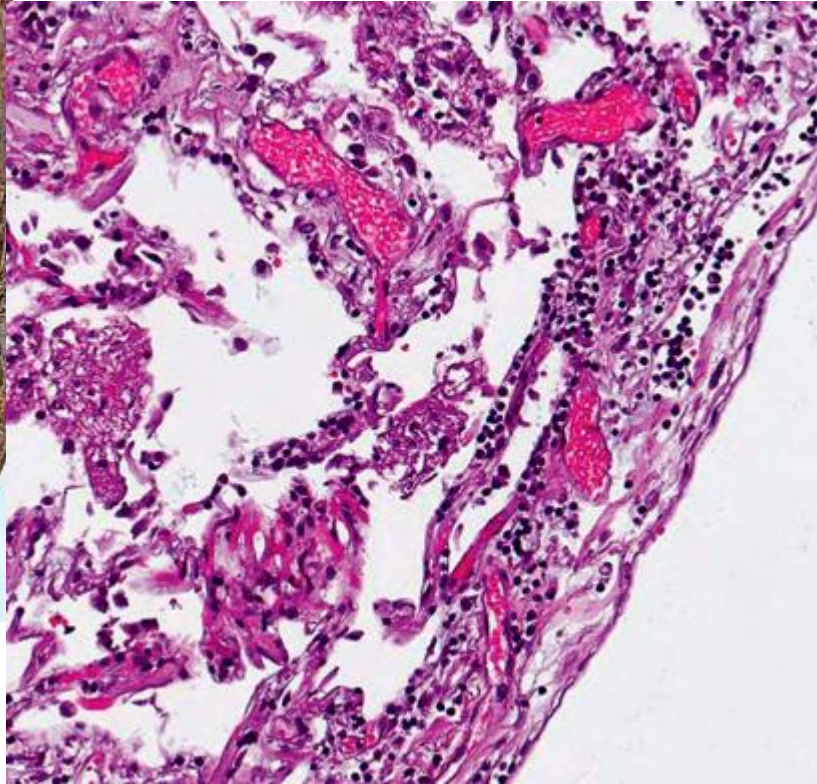
11 ημέρες από την έναρξη των συμπτωμάτων



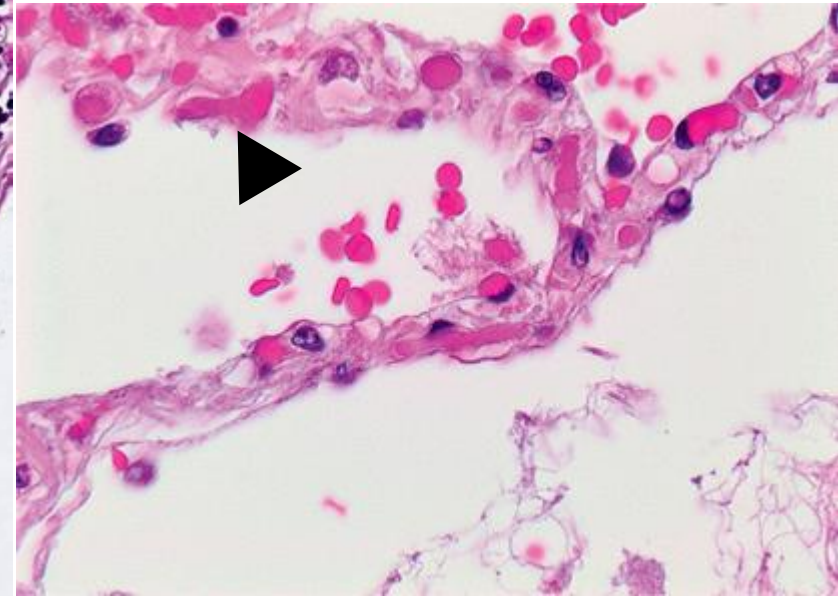
Ενδοθηλίτιδα των πνευμονικών αγγείων στη νόσο COVID-19



Μακροσκοπική εικόνα πνεύμονα ασθενούς με νόσο COVID-19 που κατέληξε

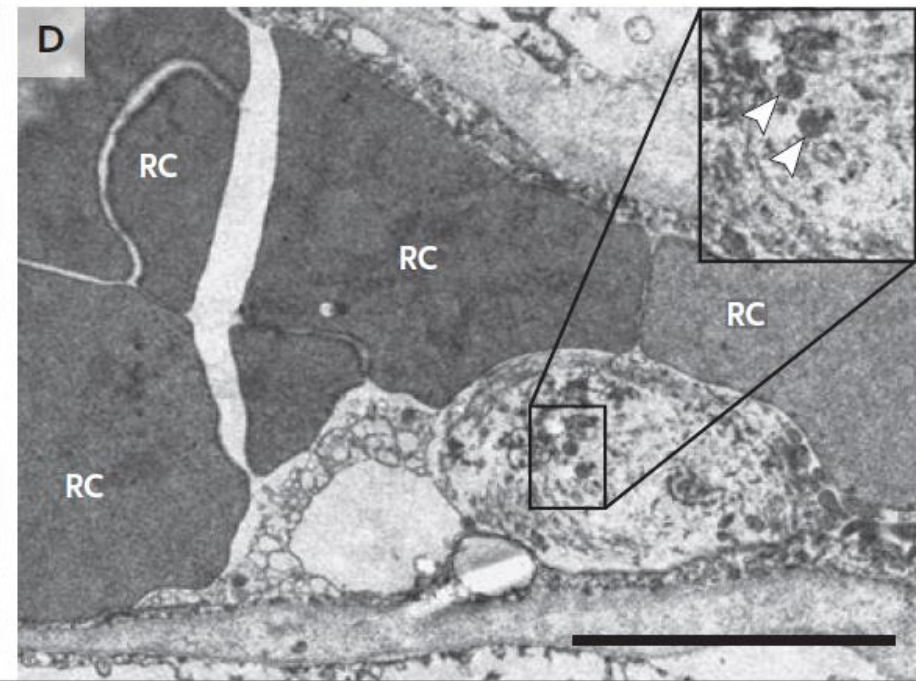
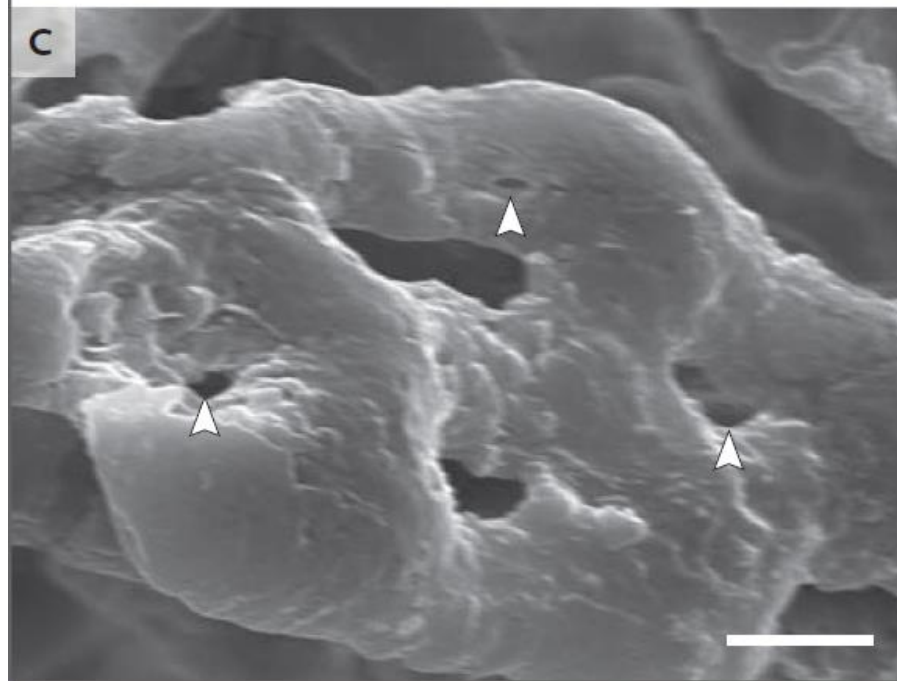
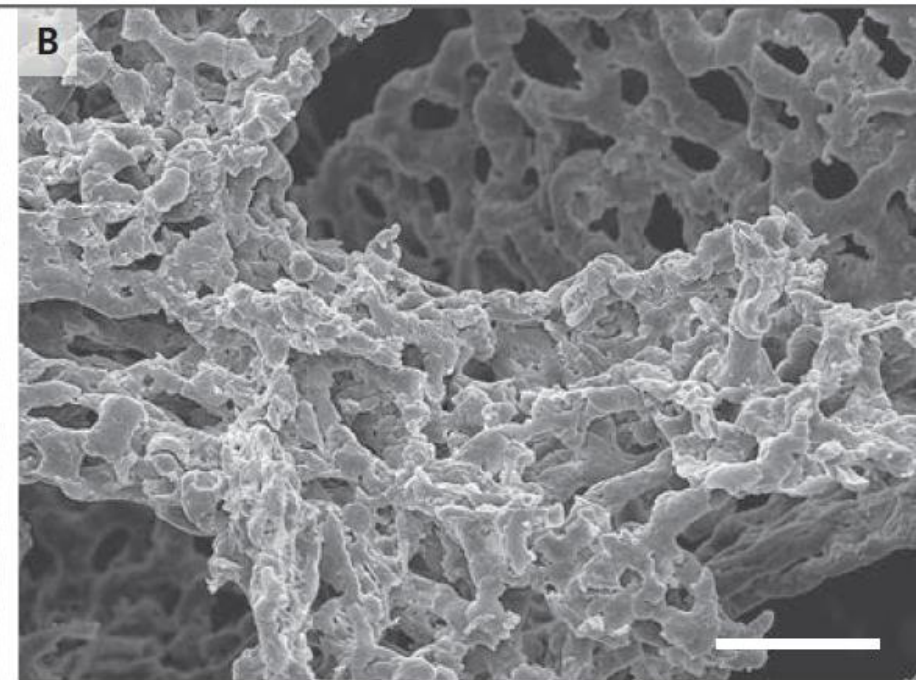
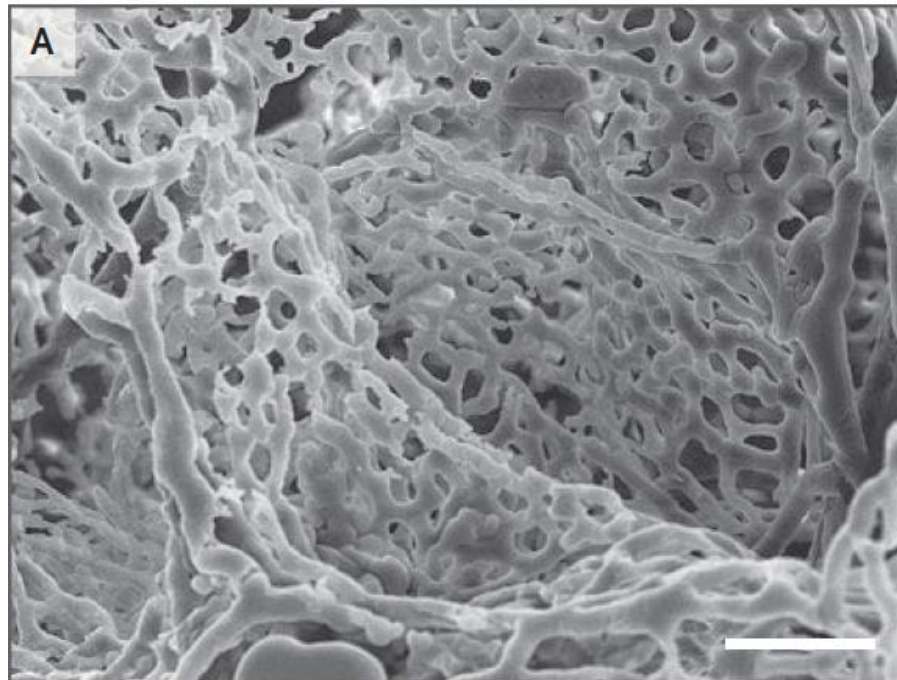


Διάμεση και περιαγγειακή κυρίως λεμφοκυτταρική πνευμονία με πολυεστιακή ενδοθηλίτιδα



Το μεσοκυψελιδικό διάφραγμα δείχνει ελαφρά διατεταμένα τοιχώματα κυψελίδων με πολλαπλούς μικροθρόμβους ινικής (κεφαλές βελών) , εξωαγγειακά ερυθρά και χαλαρό δίκτυο ινικής μέσα στο χώρο των κυψελίδων

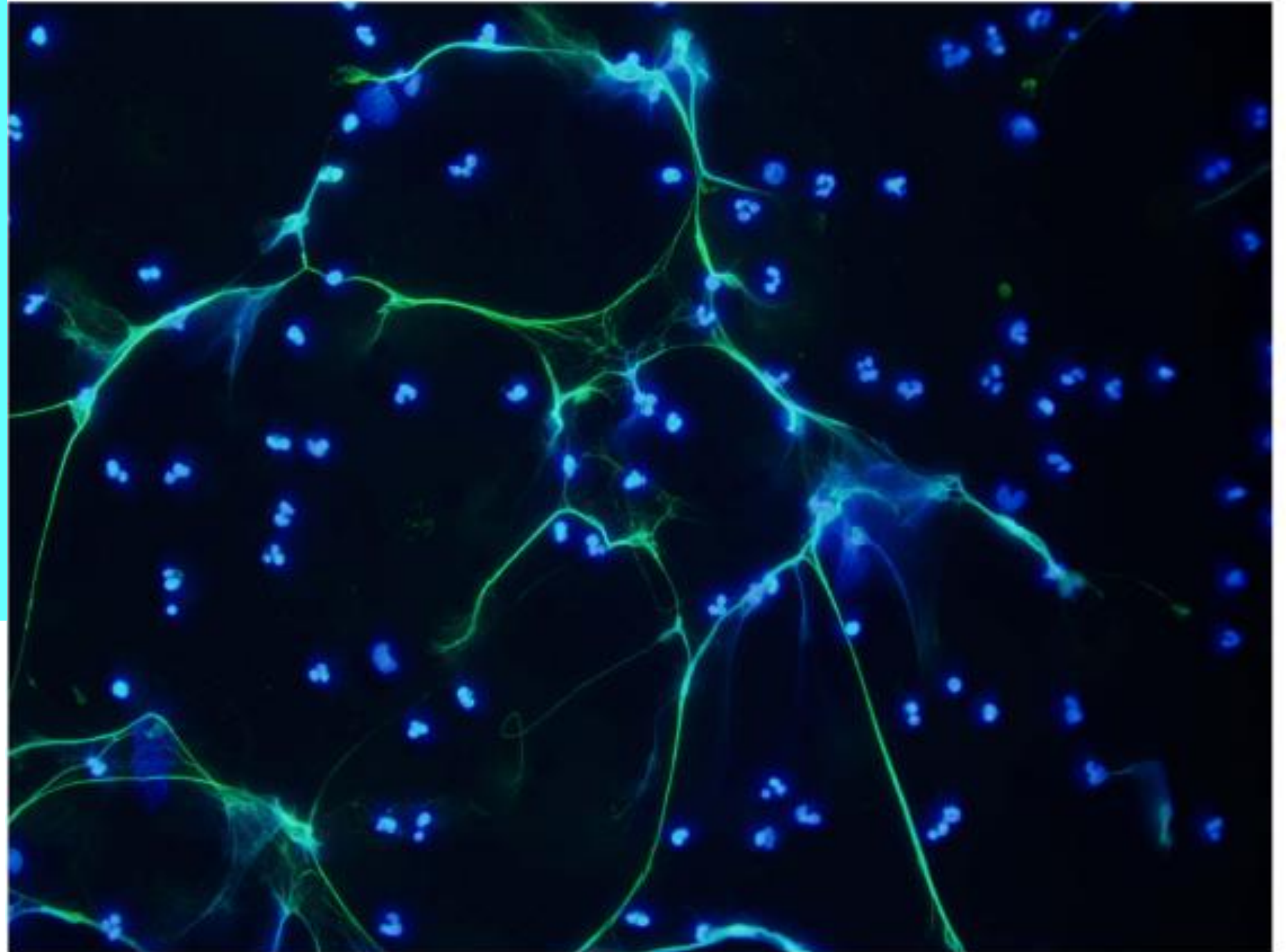
Διαταραχή της αγγειογένεσης στη νόσο COVID-19



Αντιπροσωπευτικές
εικόνες NETs που
παράγονται in vitro από
LPS σε ανθρώπινα
ουδετερόφιλα. Τα NETs
Εμφανίζονται με
συνδυασμένη χρώση
ελαστάσης (πράσινη)
και πυρηνικού υλικού
(DAPI, μπλε).
Μεγέθυνση 40X.

*NETs: Neutrophil extracellular
traps (εξωκυττάρια παγίδες
ουδετεροφίλων)*

Kaplan M, and Radic M. *J Immunol.* 2012 September
15; 189(6): 2689–2695.
doi:10.4049/jimmunol.1201719.

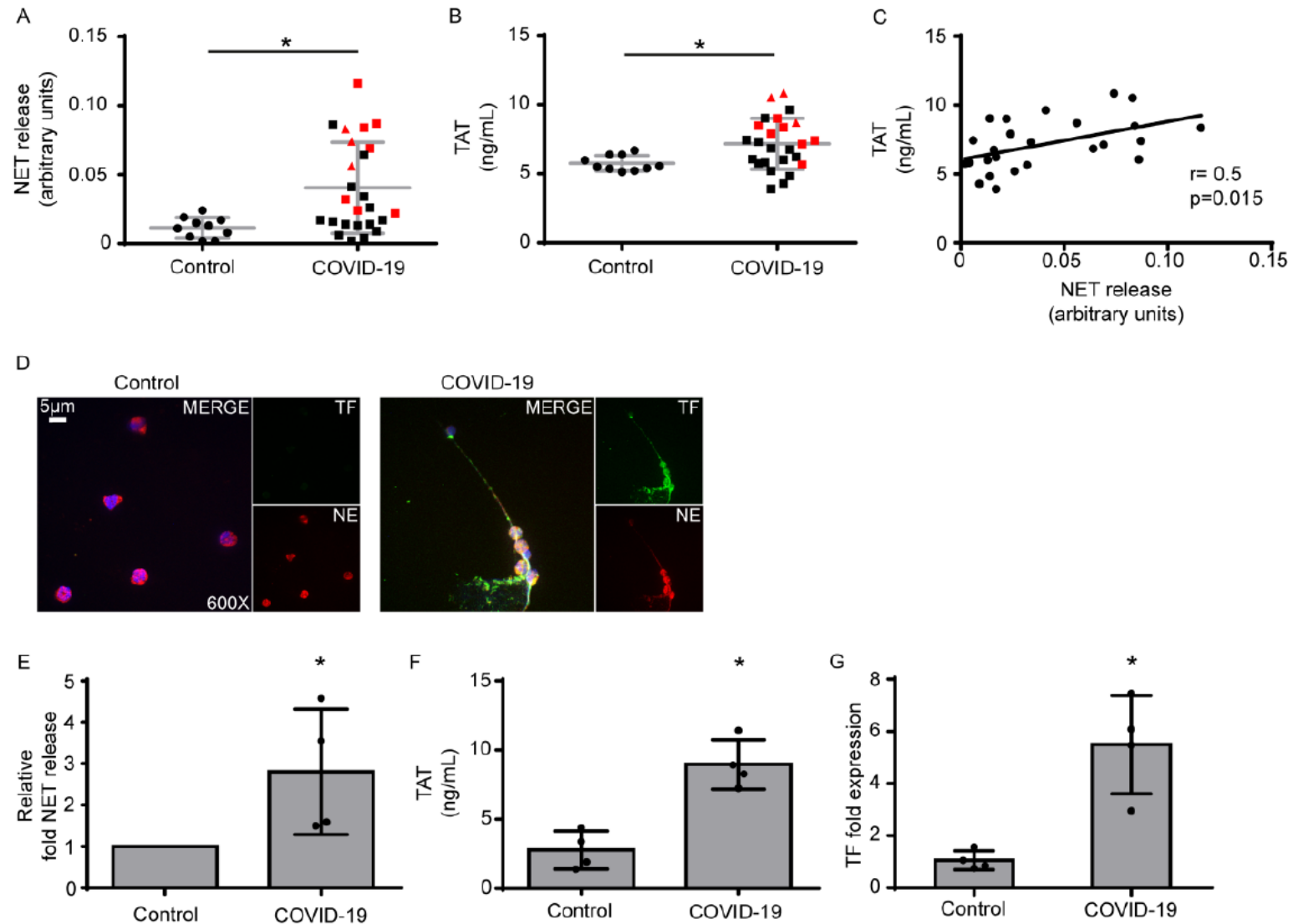


Οι εξωκυττάρια παγίδες των ουδετεροφίλων ασθενών με COVID-19 είναι πλούσιες σε συμπλήρωμα και ιστικό παράγοντα και πιθανώς επάγουν θρόμβωση

➤ Myeloperoxidase (MPO)-DNA complex levels representing NET release (detected by ELISA)

➤ TAT: Thrombin-antithrombin level

➤ (TF)/neutrophil elastase (NE) staining



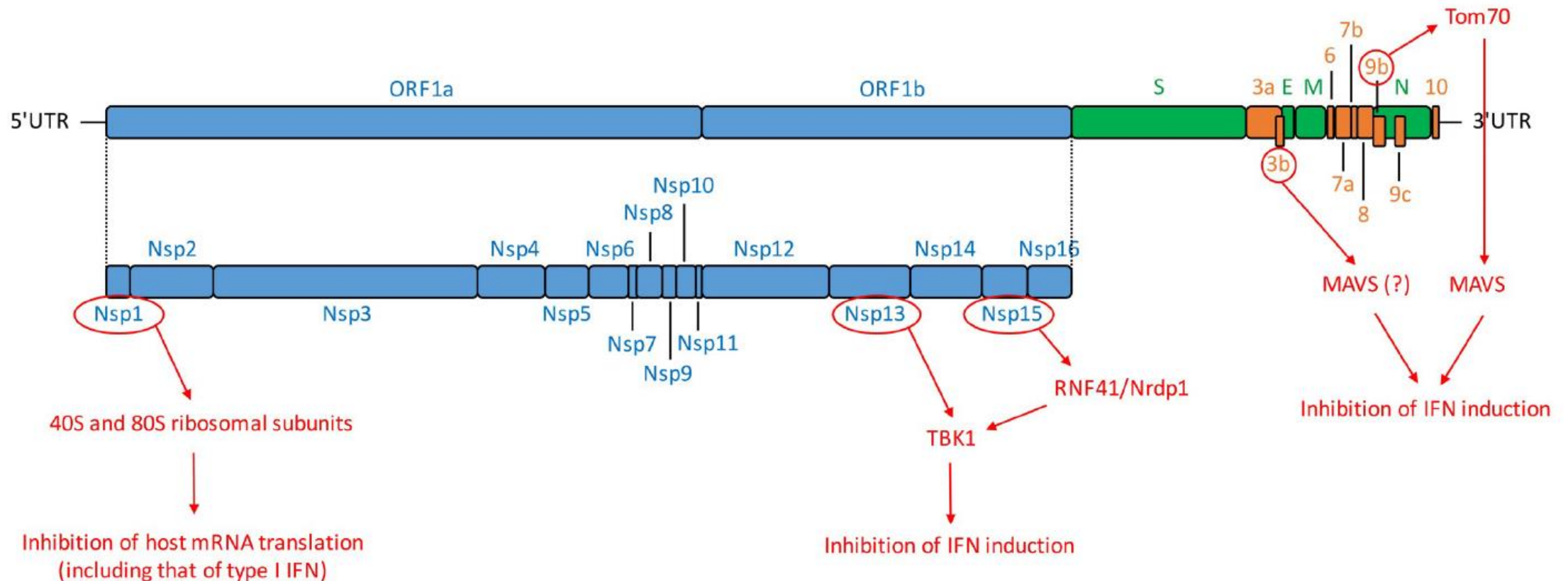
Οι βαρέως πάσχοντες ασθενείς με νόσο COVID-19 αναπτύσσουν ισχυρές αντισωματικές αποκρίσεις κατά του ιού SARS-CoV-2 αλλά αναπτύσσουν και αυτοαντισώματα

Ασθενείς (n=29)	n, (%)
Άνδρες , n, (%)	21 (72,4%)
Γυναίκες, n, (%)	8 (27,6%)
Ηλικία, (ελάχιστη, μέγιστη, διάμεση), (έτη)	43 -65- 64,2
Ασθενείς θετικοί για αυτοαντισώματα , n, (%)	20, (68,7%)
Αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA), n, (%)	10, (34,5%)
P- ANCA,n , (%)	2, (6,9%)
c-ANCA, n, (%)	2, (6,9%)
Αντισώματα κατά καρδιολιπίνης, n, (%)	7, (24%)
Αντισώματα κατά β2GPI,n, (%)	10, (34%)
Αντι-CCP, n, (%)	1, (3,5%)
Προηγούμενο Ιστορικό αυτοανόσου νοσήματος	Ουδείς

Ασθενείς που βελτιώνονται αεριομετρικά αλλά δεν αφυπνίζονται παρουσιάζουν είτε ενδορραχιαία σύνθεση αντισωμάτων, είτε διαταραχή του αιματεγκεφαλικού φραγμού

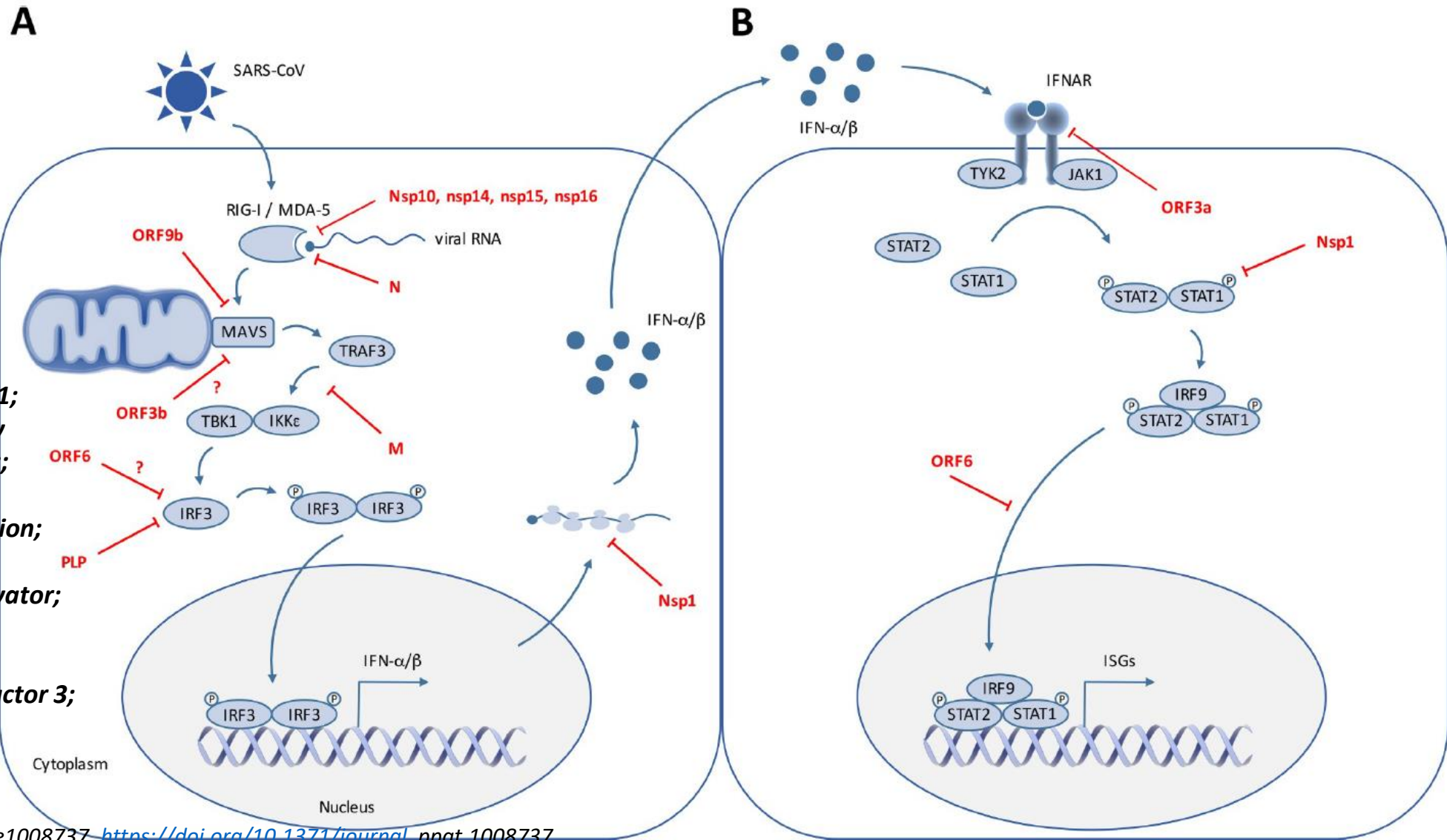
Table 1 Anti-SARS-CoV-2 antibodies in serum and CSF, intrathecal synthesis, blood brain barrier disturbance and neurologic status of patients									
Patient samples	Serum IgG (1:100 dilution) >1.1 ^a	CSF 1:100 >1.1	CSF 1:10 >1.1	IgG index normal <0.77	Albumin index >20 × 10 ⁻³	14-3-3	Autoimmune encephalitis	Main CNS clinical findings	Outcome
1	9.81	2.87	8.64	1.85	4 × 10 ⁻³	POS	NEG	Coma: GCS 4	Death
2	9.45	1.50	5.35	0.36	24 × 10 ⁻³	POS	NEG	Coma: GCS 9	ICU
3	NEG	NEG	NEG	0.41	5 × 10 ⁻³	NEG	NEG	Under sedation	ICU
3' (12 d later)	8.62	1.53	6.42	0.39	25 × 10 ⁻³	POS	NEG	—	—
4	9.68	NEG	2.39	0.46	3 × 10 ⁻³	NEG	NEG	Somnolence: GCS 15	ICU
5	8.33	NEG	2.10	0.29	4 × 10 ⁻³	NEG	NEG	Somnolence: GCS 6	Death
6	7.95	NEG	NEG	0.27	4 × 10 ⁻³	NEG	NEG	Under sedation	ICU
6' (7 d later)	8.62	NEG	1.83	0.27	4 × 10 ⁻³	NEG	NEG	—	—
7	7.17	NEG	1.56	0.44	3 × 10 ⁻³	POS	NEG	Somnolence: GCS 13	ICU
8	7.80	2.23	5.13	0.37	25 × 10 ⁻³	NEG	NEG	Coma: GCS 7	Death
Abbreviations: GCS = Glasgow Coma Scale; ICU = intensive care unit; IgG = immunoglobulin G; NEG = negative; POS = positive; SARS-CoV-2 = severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. Numbers in bold indicate above the normal range. ^a Index is calculated by dividing absorbance of samples @450 nm (1:100 or 1:10 dilution) to absorbance of calibrator @450 nm according to the manufacturer's instructions. The cutoff for antibody positivity is >1.1.									

Μη-δομικές πρωτεΐνες του ιού SARS-CoV-2 αναστέλλουν την μεταγραφή του γονιδίου των ιντερφερονών τύπου Ι (IFN-I) καθώς και μεταγραφικών παραγόντων που ευνοούν την μεταγραφή των γονιδίων τους



Όταν ο ιός SARS-CoV2 εισέλθει στο κύτταρο του ξενιστή πολλές πρωτεΐνες του αναστέλλουν την παραγωγή ιντερφερόνης ή την μεταγωγή σήματος μέσω αυτής

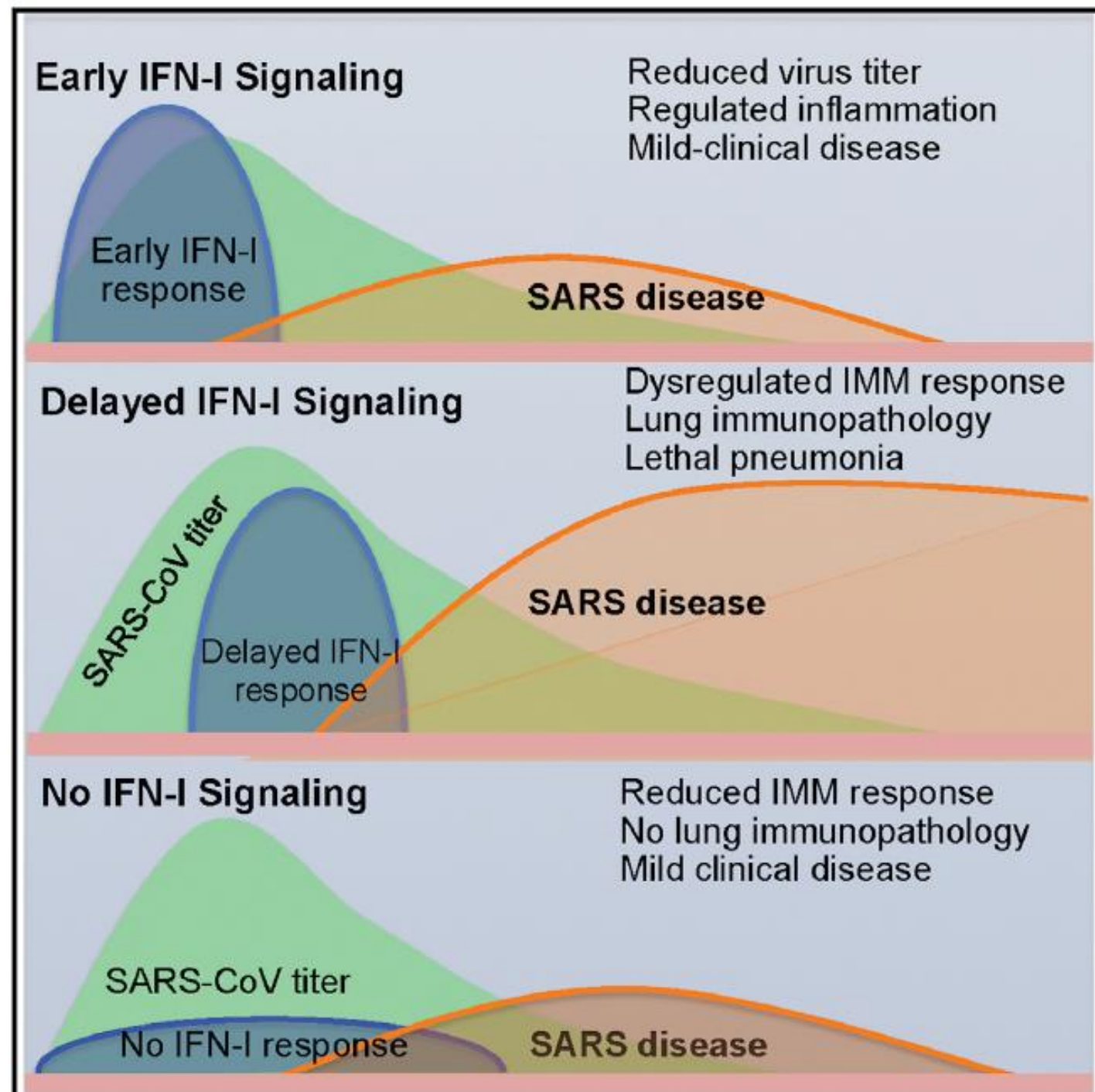
IFN, interferon;
IFNAR, interferon alpha and beta receptor;
IκB, inhibitor of nuclear factor κB;
IKKε, IκB kinase-ε;
IRF, IFN regulatory factor;
ISG, IFN-stimulated gene;
JAK, Janus kinase;
M, membrane;
MAVS, mitochondrial antiviral signaling protein;
MDA5, melanoma differentiation associated gene 5;
N, nucleocapsid;
Nsp, nonstructural protein;
ORF, open reading frame;
P, phosphate;
PLP, papain-like protease;
RIG-I, retinoic acid-inducible gene 1;
SARS-CoV, severe acute respiratory syndrome coronavirus;
STAT, signal transducer and activator of transcription;
TANK, TRAF family member associated NF-κB activator;
TBK1, TANK-binding kinase 1;
TRAF3, tumor necrosis factor receptor-associated factor 3;
TYK2, tyrosine kinase 2.



Η παραγωγή IFN-I γίνεται καθυστερημένα στη νόσο COVID-19 και αυτό έχει σαν αποτέλεσμα επιδείνωση της πνευμονικής βλάβης και θάνατο

IMM: Inflammatory monocyte macrophage

Channappanavar et al., 2016, Cell Host & Microbe 19, 181–193



Νεαρός ενήλικας ασθενής με νόσο SAVI

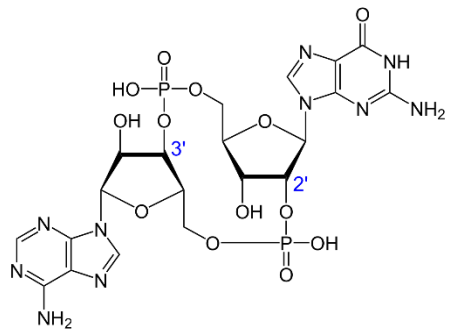
Ιντερφερονοπάθεια τύπου Ι.
Ο όρος προέρχεται από τα
αρχικά των λέξεων:

Stimulator of Interferon
Genes (STING) – associated
vasculopathy with onset in
infancy

Αιτία: Μετάλλαξη με επαύξηση
δράσης (*gain of function*) της
πρωτεΐνης STING που είναι
κυρίαρχο στοιχείο – αισθητήρας
κυτταροπλασματικού DNA, η δε
ενεργοποίησή του προκαλείται
από 2'3' cyclic guanosine
monophosphate adenosine
monophosphate (cGAMP), που
παράγεται σαν απάντηση σε
ξένο ή αυτόλογο DNA

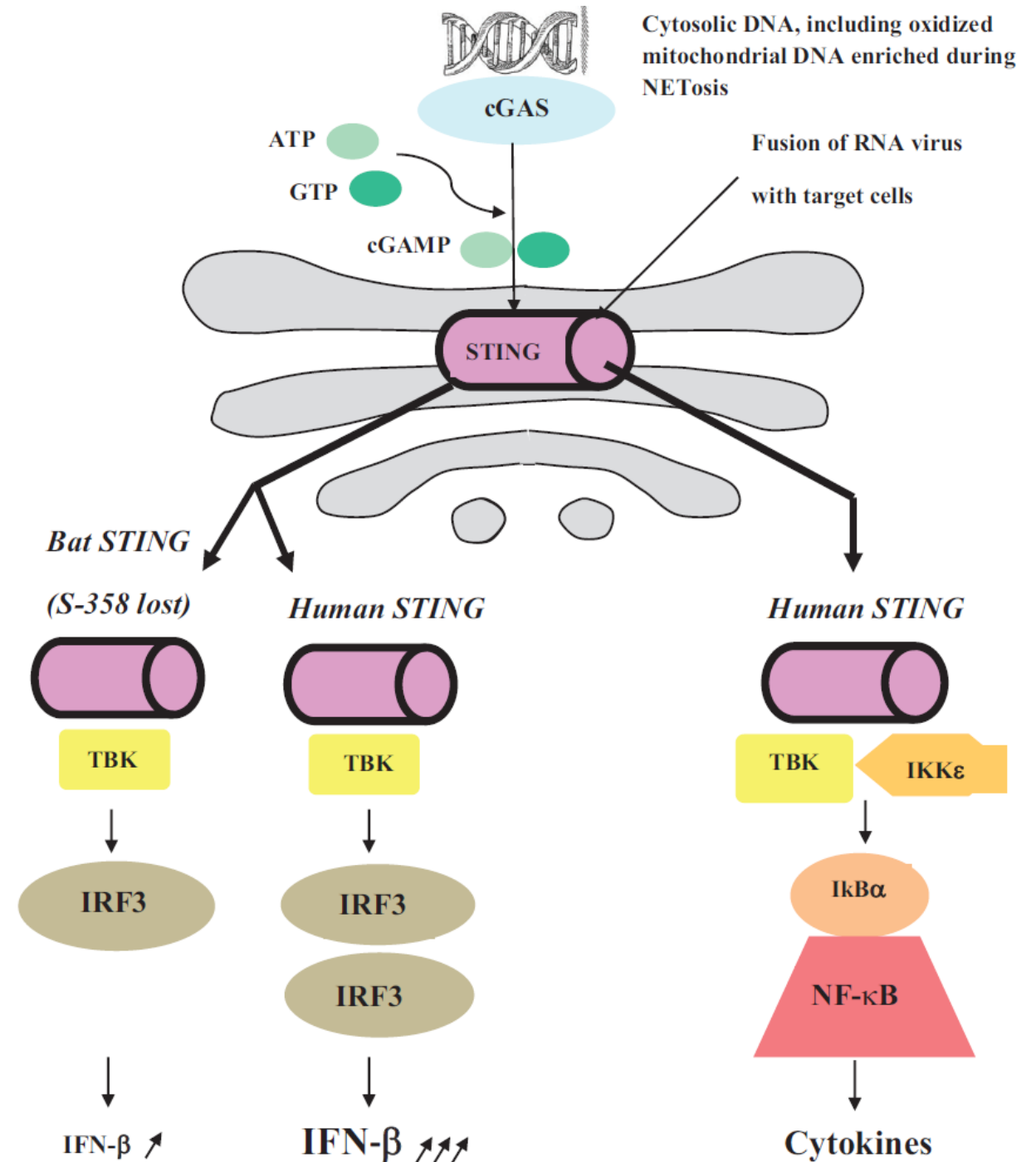


Ενεργοποίηση της πρωτεΐνης STING στη νυχτερίδα και στον άνθρωπο υποδηλώνει ότι ίσως η νόσος COVID-19 είναι μια επίκτητη SAVI

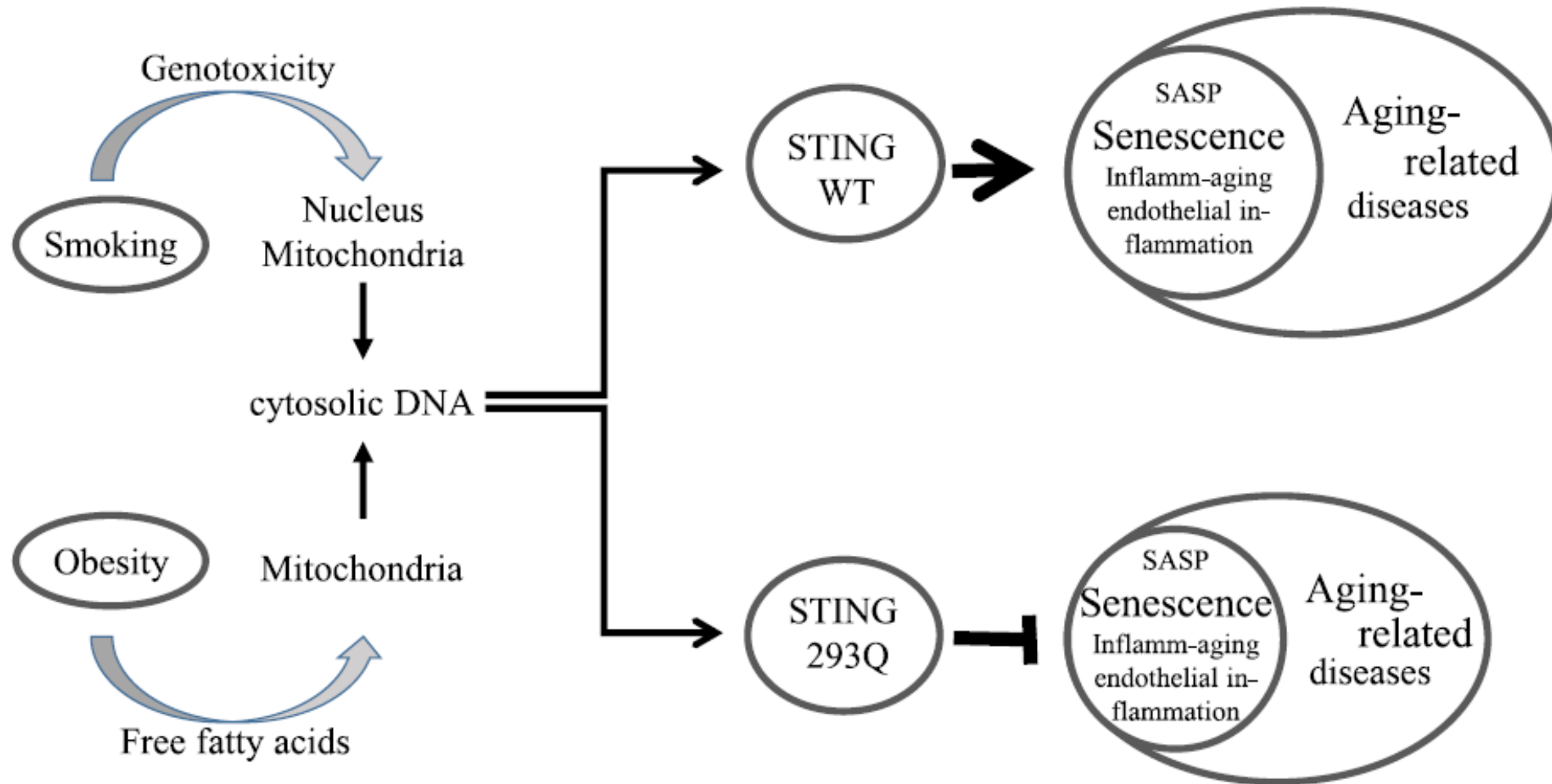


cGAMP

Το κυκλικό δινουκλεοτίδιο cGAMP συντίθεται από την κυκλική GMP-AMP συνθετάση (cGAS) με πρώτες ύλες τα ATP και GTP, μετά από ενεργοποίηση από το DNA που ευρίσκεται στο κυτταροδιάλυμα. Είναι ενδογενές δεύτερο μήνυμα που ενεργοποιεί την πρωτεΐνη STING



Τουλάχιστον ένας πολυμορφισμός της πρωτεΐνης STING προστατεύει από καταστάσεις φλεγμονής που σχετίζονται με τη γήρανση

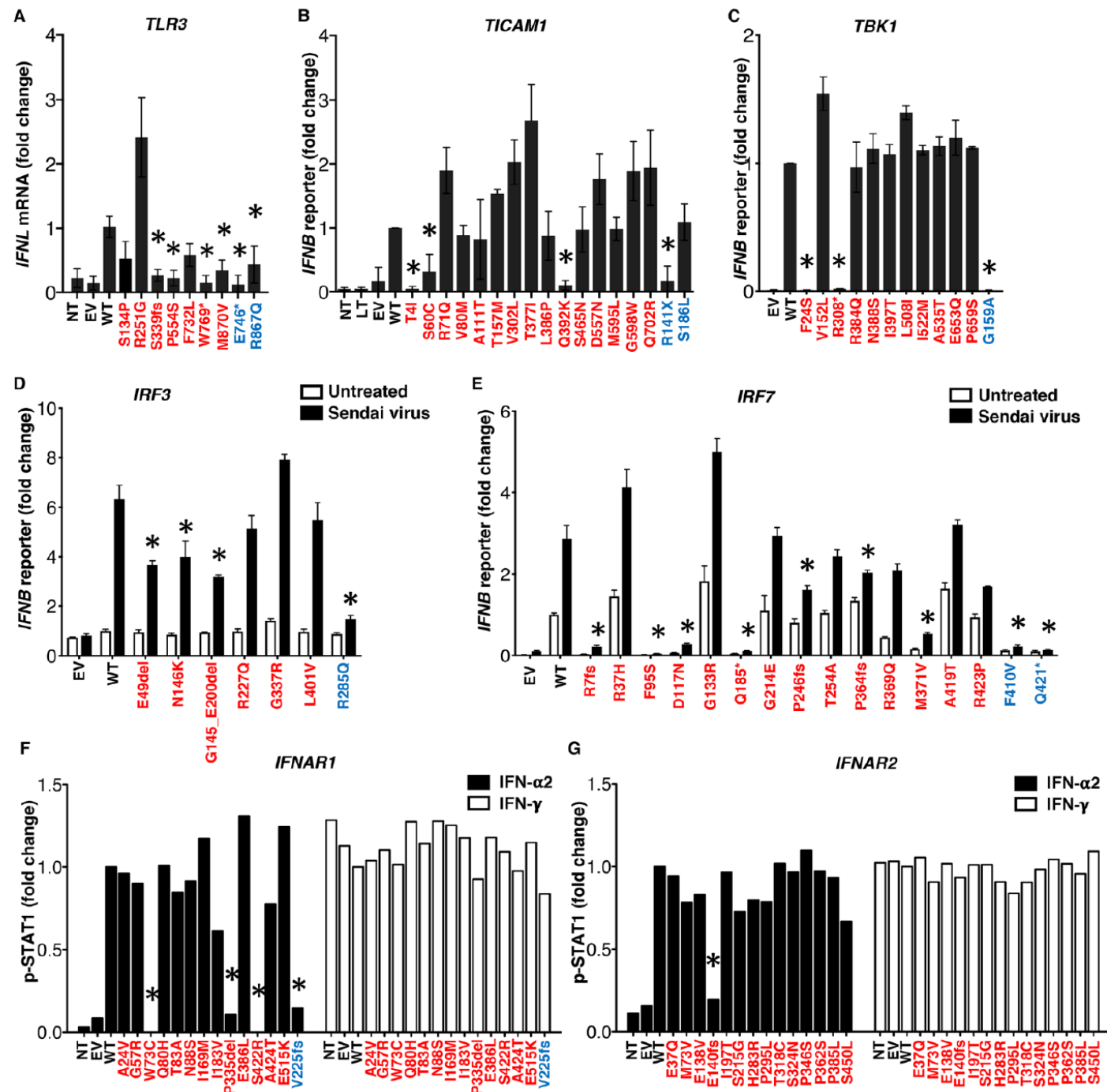


Εγγενή σφάλματα της παραγωγής ιντερφερόνης –I και -III σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς με COVID-19

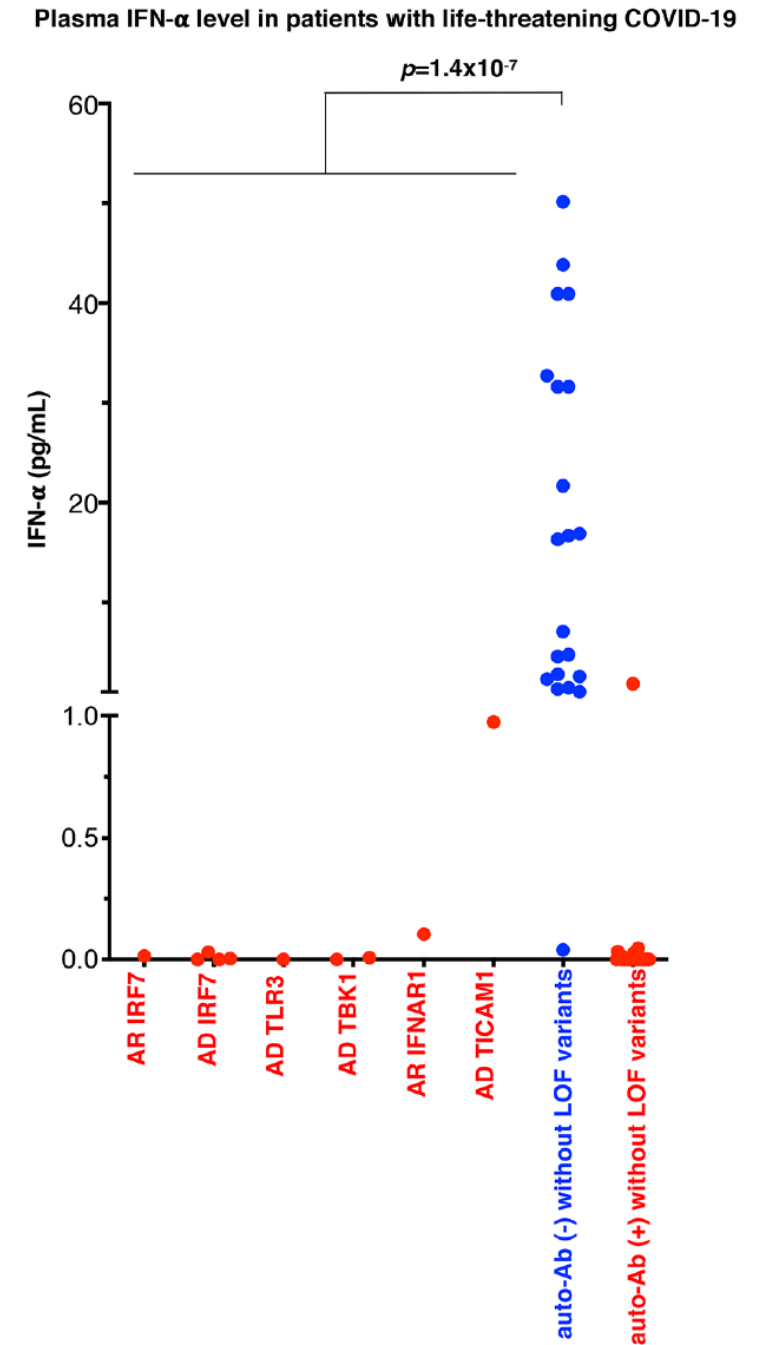
Πειραματικό Πρωτόκολλο

- Επιλογή γονιδίων που περιέχουν μεταλλάξεις οι οποίες ήταν υπεύθυνες για βαριά γρίπη και αφορούσαν την παραγωγή ιντερφερόνης
- Διαμόλυνση κυττάρων τα οποία δεν περιείχαν τα αντίστοιχα γονίδια (απαλοιφή) με τα πλασμίδια που περιείχαν τα αγρίου τύπου και τα μεταλλαγμένα γονίδια που επηρέαζαν την έκφραση ιντερφερόνης α, β, λ.
- Μελέτη έκφρασης ιντερφερόνης τύπου I και III αυτόματα και μετά από διέγερση με ποικίλους ιούς
- Αναζήτηση παρόμοιων μεταλλάξεων σε ασθενείς με ήπιο και βαρύ COVID

Q. Zhang et al., Science 10.1126/science.abd4570 (2020).

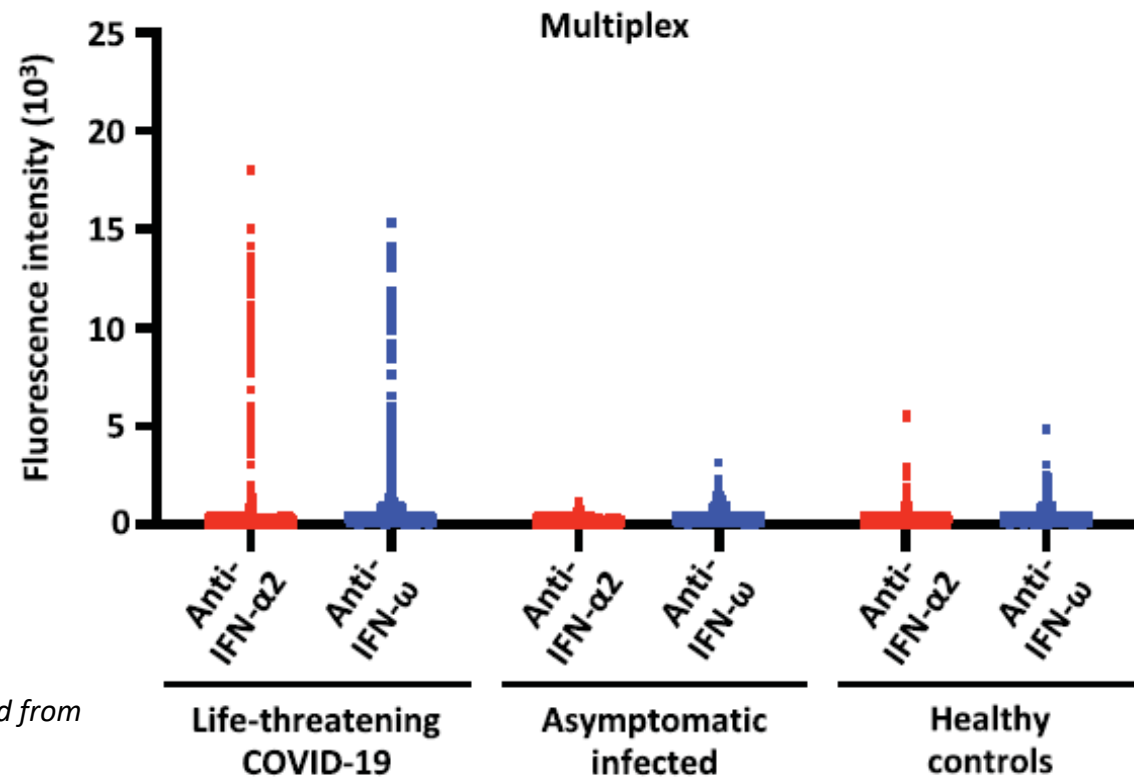


Ασθενείς με βαριά νόσο COVID-19 που δεν έχουν μεταλλαγμένα γονίδια τα οποία να δυσχεραίνουν την παραγωγή ιντερφερόνης-α πιθανώς παρουσιάζουν αυτοαντισώματα που εξουδετερώνουν τη δράση της



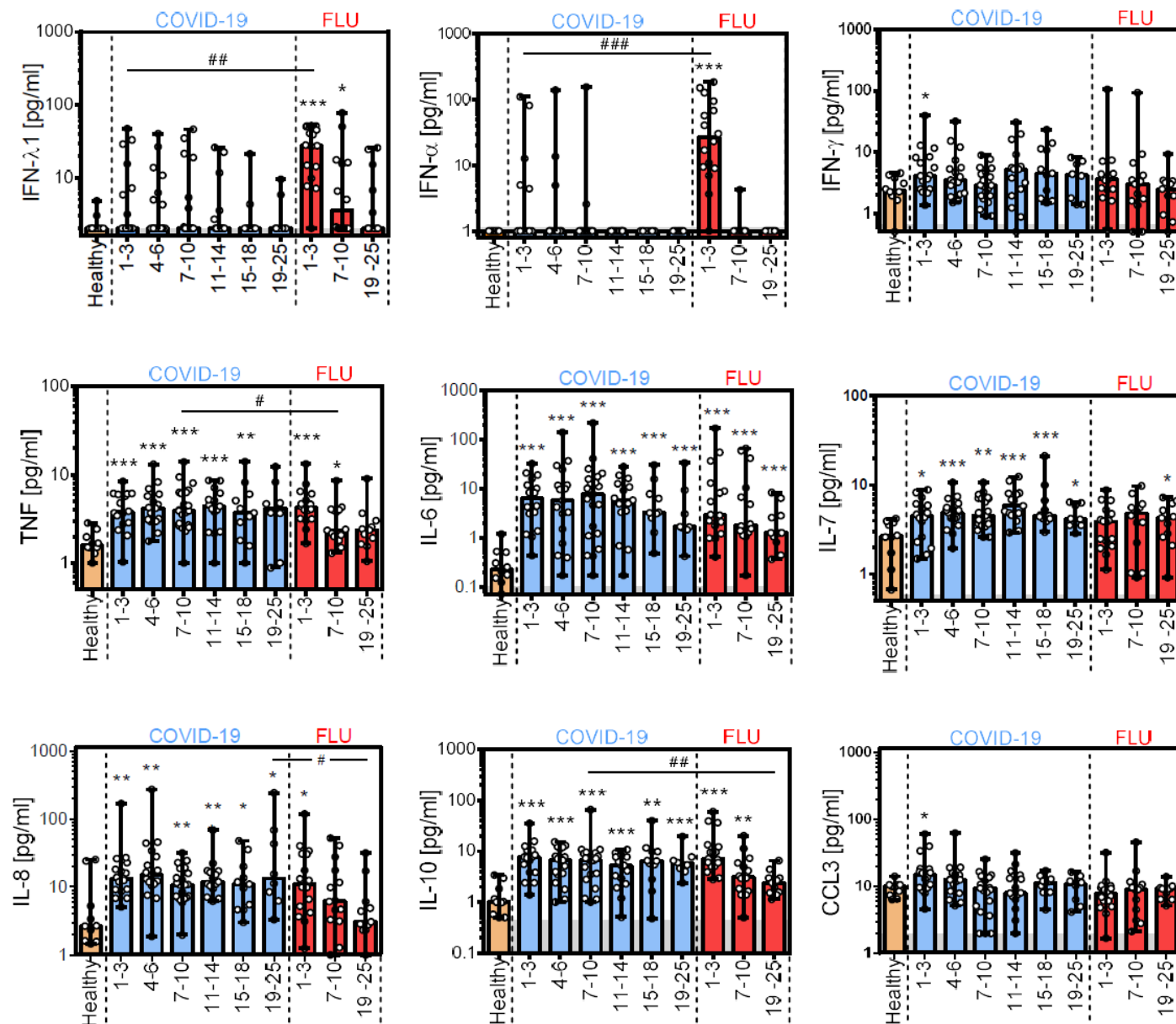
Βαρέως πάσχοντες ασθενείς με COVID-19 παρουσιάζουν αυτοαντισώματα κατά IFN-α και IFN-ω

A



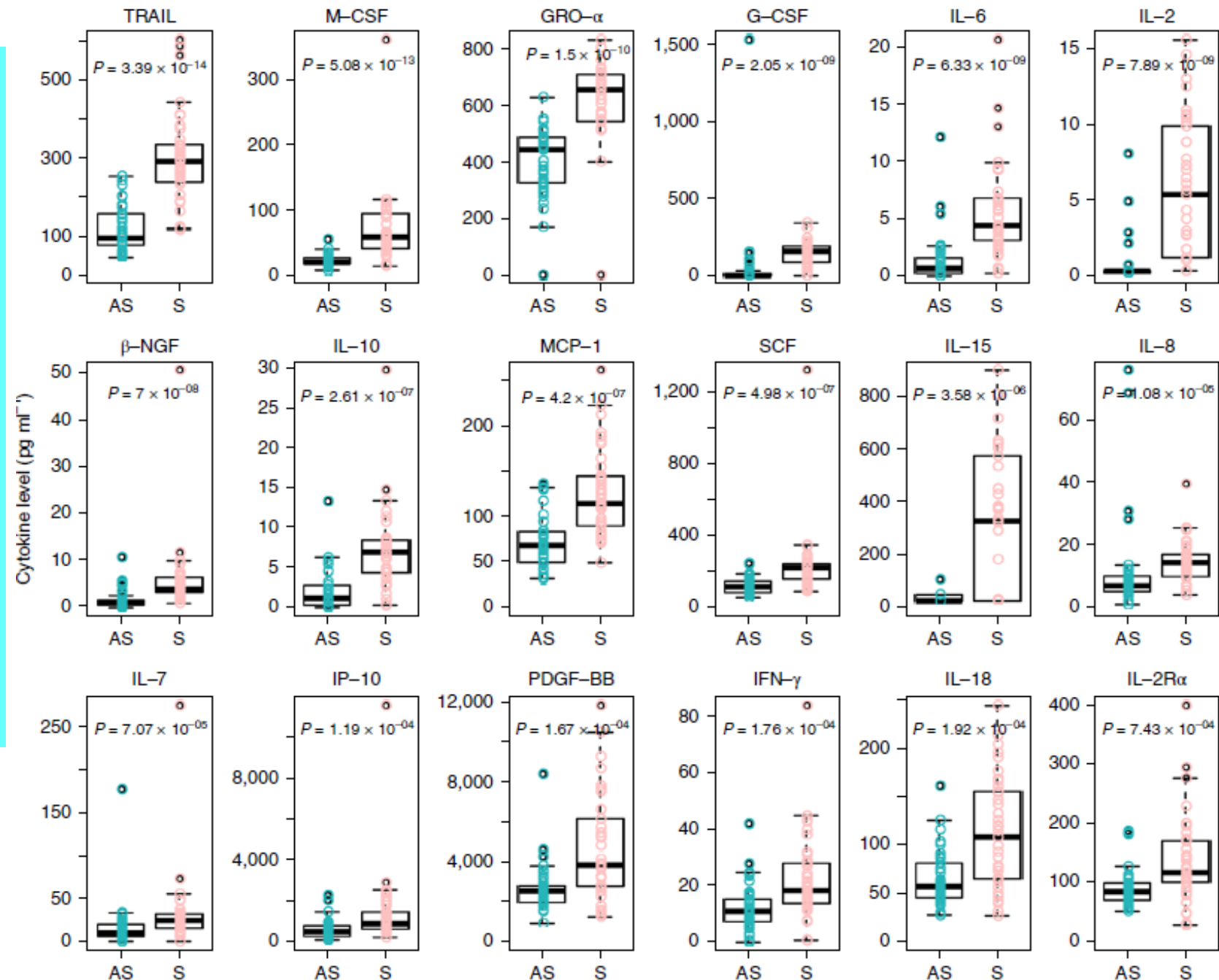
Ασυντόνιστη αντι-ιική
ανοσία στη νόσο COVID-
19 αποδεικνύει η
σύγχρονη μέτρηση
ιντερφερονών –I και -III σε
ασθενείς με COVID-19 και
γρίπη

Οι ιντερφερόνες -α και -λ είναι
ελαττωμένες στη νόσο COVID-19, ενώ οι
κυτταροκίνες φλεγμονής είναι
παρατεταμένα αυξημένες σε σχέση με την
γρίπη

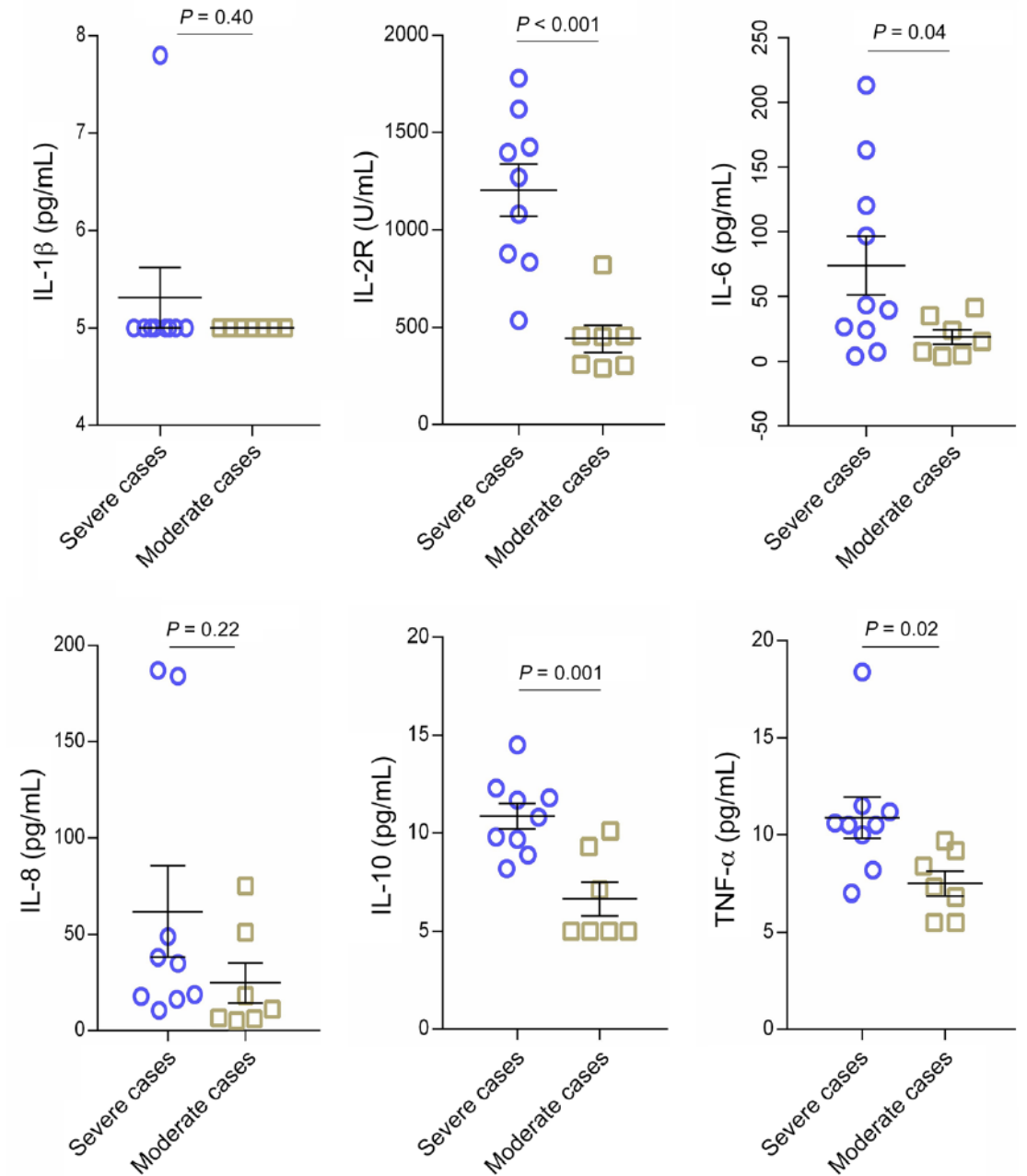


HEALTHY COVID-19 FLU

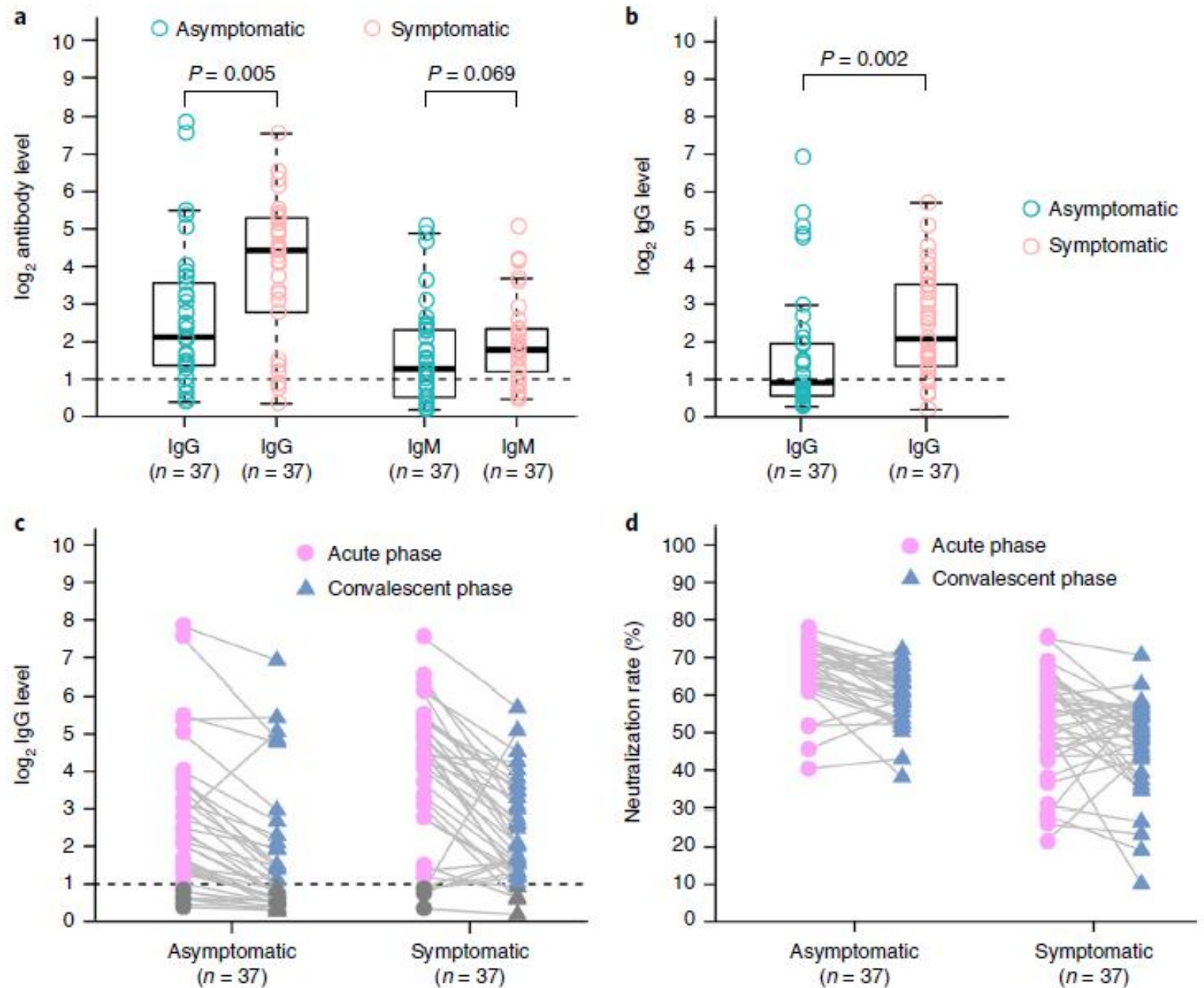
Οι κυτταροκίνες
φλεγμονής και οι
χυμοκίνες
βρίσκονται σε
αυξημένες
συγκεντρώσεις στο
πλάσμα
συμπτωματικών σε
σχέση με
ασυμπτωματικούς
φορείς του SARS-
CoV-2



Απούσα IFN- β σε βαριές
και ήπιες περιπτώσεις
COVID-19, ενώ στις βαριές
περιπτώσεις οι
κυτταροκίνες της
φλεγμονής είναι αυξημένες



Οι ασυμπτωματικοί
φορείς SARS-CoV-2
έχουν χαμηλότερους
τίτλους αντισωμάτων
από τους
συμπτωματικούς
(πάσχοντες)



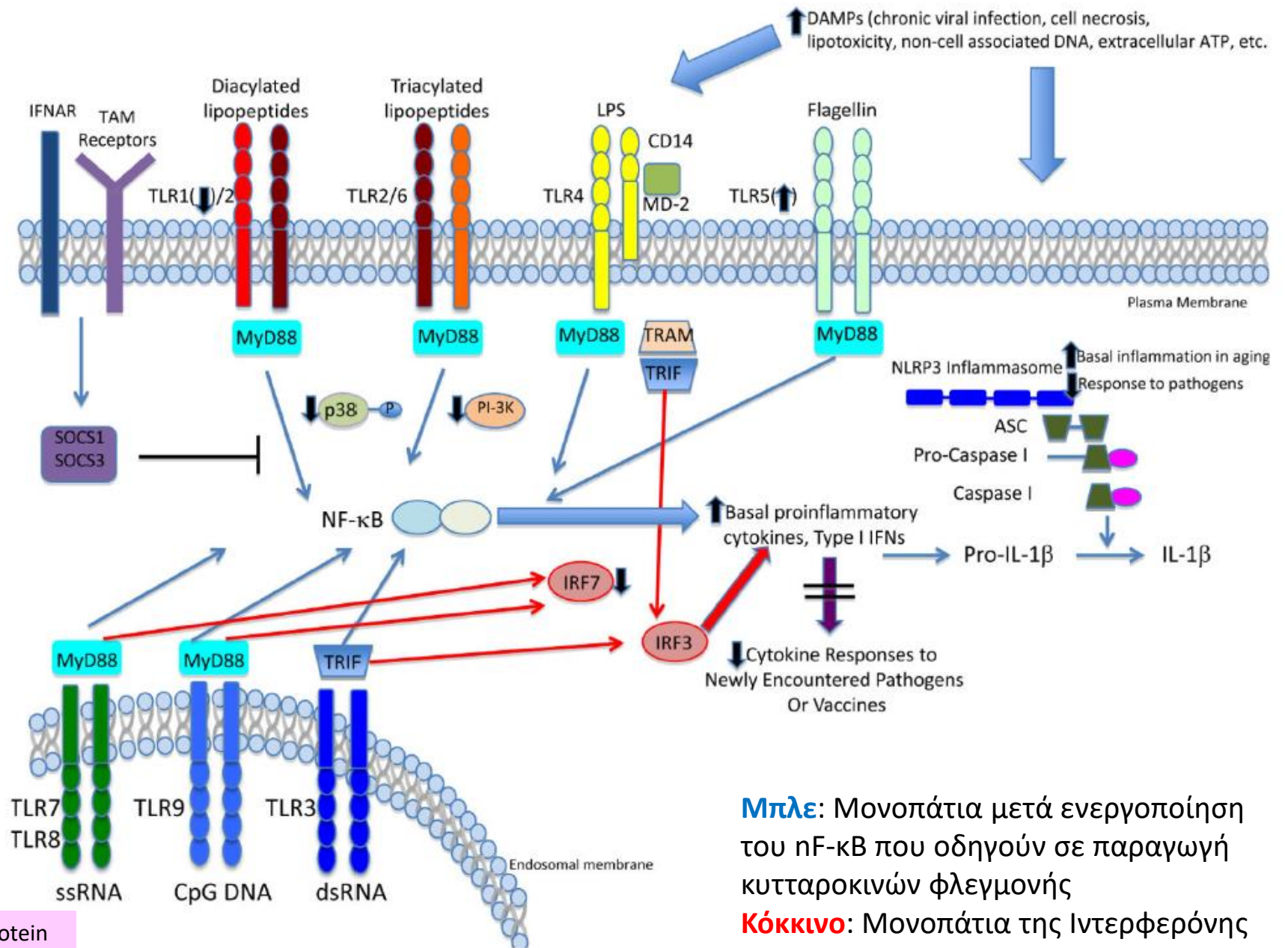
Γιατί οι ηλικιωμένοι και οι έχοντες υποκείμενα νοσήματα φθοράς κινδυνεύουν περισσότερο;

Στους ηλικιωμένους η βασική έκκριση κυτταροκινών φλεγμονής είναι αυξημένη

Όλα τα συστήματα της φυσικής ανοσίας στους ηλικιωμένους κινητοποιούνται από στοιχεία της γήρανσης των ιστών που ονομάζονται «*danger associated molecular patterns*» (μοριακά πρότυπα κινδύνου), όπως θραύσματα DNA, οξειδωμένες πρωτεΐνες, ιοί κλπ

TRAM: Translocating Chain-Associated Membrane Protein

Shaw A.C, et al, Nat Rev Immunol. 2013 December ; 13(12): 875–887. doi:10.1038/nri3547.



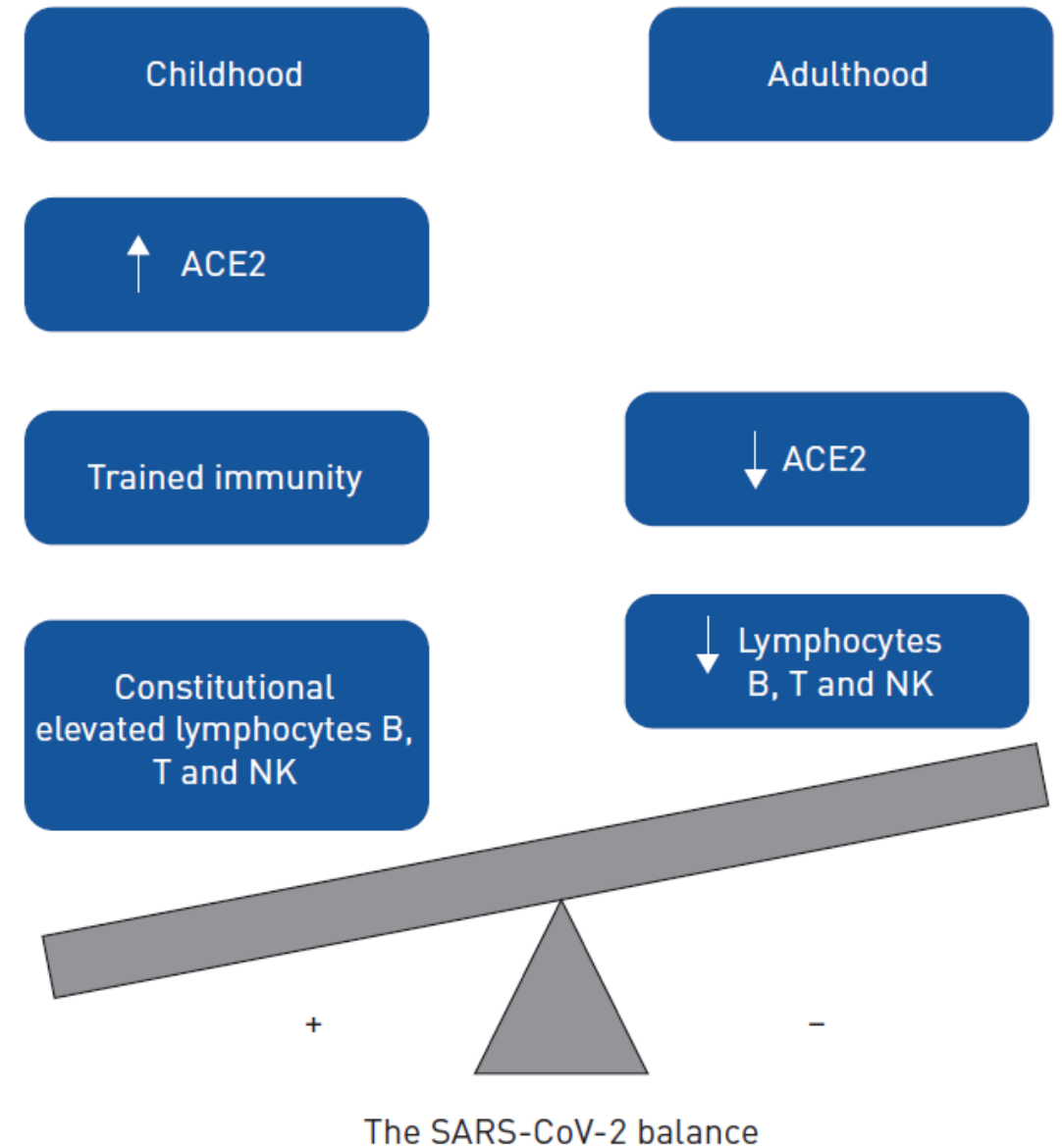
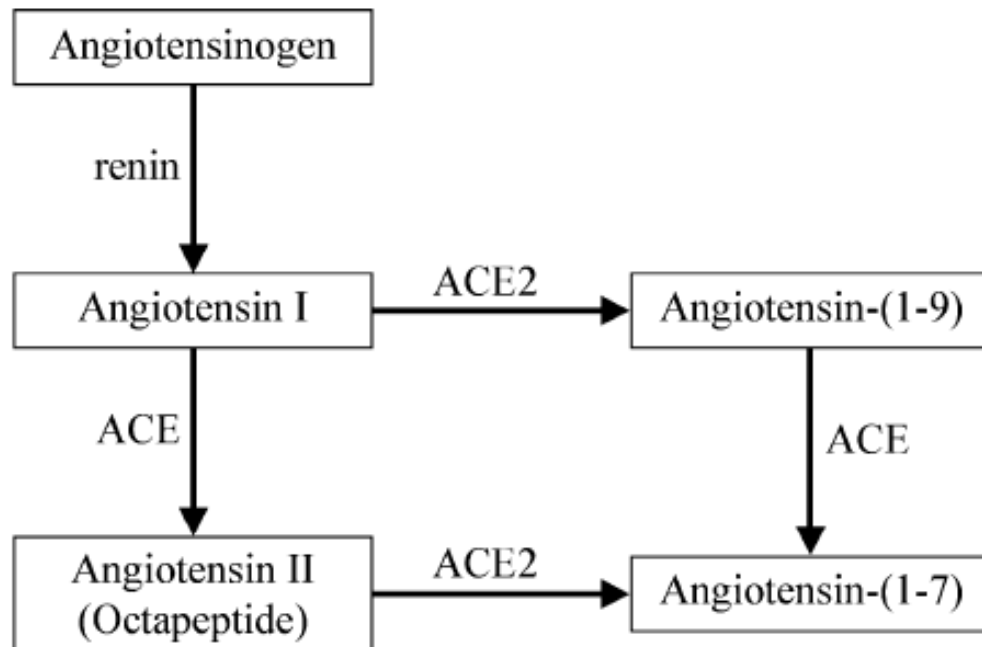
Μπλε: Μονοπάτια μετά ενεργοποίηση του NF-κB που οδηγούν σε παραγωγή κυτταροκινών φλεγμονής

Κόκκινο: Μονοπάτια της Ιντερφερόνης

Διαταραχές του ανοσοποιητικού συστήματος στην μεγάλη ηλικία στον άνθρωπο

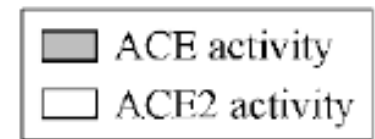
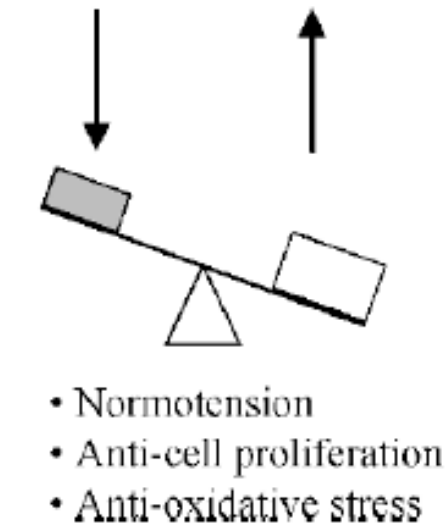
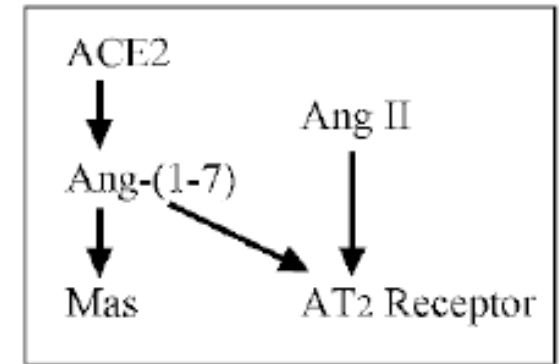
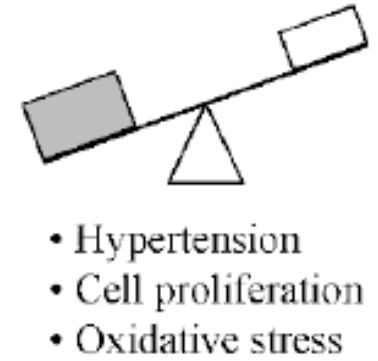
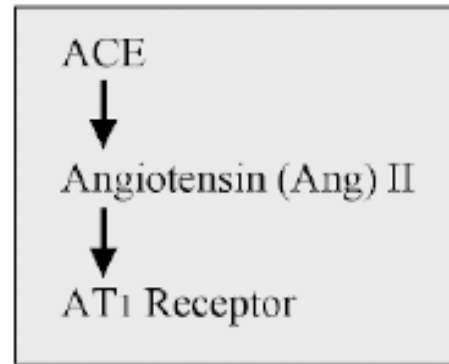
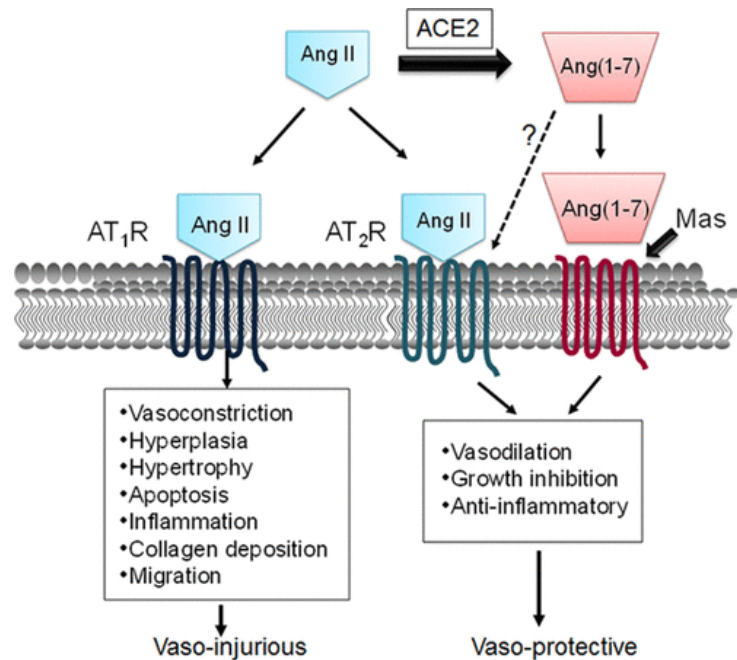
Διαμέρισμα της Ανοσίας	Ελάττωση με την ηλικία	Αύξηση με την ηλικία
Στελεχιαία κύτταρα του μυελού των οστών	Λεμφική διαφοροποίηση	Βλάβες DNA Μυελική διαφοροποίηση
Ουδετερόφιλα	Χημειοταξία Ενδοκυτταρική θανάτωση βακτηρίων Φαγοκυττάρωση Σηματοδότηση μέσω GM-CSF και TREM1	
Μονοκύτταρα	Παραγωγή κυτταροκινών από διέγερση των TLR1/2 Παραγωγή συνδιεγερτικών μορίων μέσω TLRs Έκφραση TLR1 και TLR4	Έκφραση TLR5 Παραγωγή κυτταροκινών επαγόμενη από την διέγερση του TLR4 (CD14+/CD16+ μονοκύτταρα)
Μακροφάγα	Η σηματοδότηση DC-SIGN (Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin), που επάγεται από τον ιό του Δυτικού Νείλου Παραγωγή TNF στο δέρμα	Φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών STAT1 επαγόμενη από τον ιό του Δυτικού Νείλου Έκφραση TLR3 επαγόμενη από τον ιό του Δυτικού Νείλου
Δενδριτικά κύτταρα και μυελοειδή Δενδριτικά κύτταρα	Παραγωγή κυτταροκινών μέσω TLR Παραγωγή IFN-I μετά διέγερση από τον ιό του Δυτικού Νείλου Φαγοκυττάρωση και μετανάστευση	Παραγωγή κυτταροκινών μετά διέγερση από LPS και ssRNA Βασική παραγωγή κυτταροκινών
Πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα	Παραγωγή κυτταροκινών μέσω διεγέρσεως των TLR	Βασική παραγωγή κυτταροκινών

Οι ηλικιωμένοι έχουν
χαμηλότερη έκφραση ACE2
στα κύτταρα του πνεύμονα
και στερούνται του
ρυθμιστικού του ρόλου

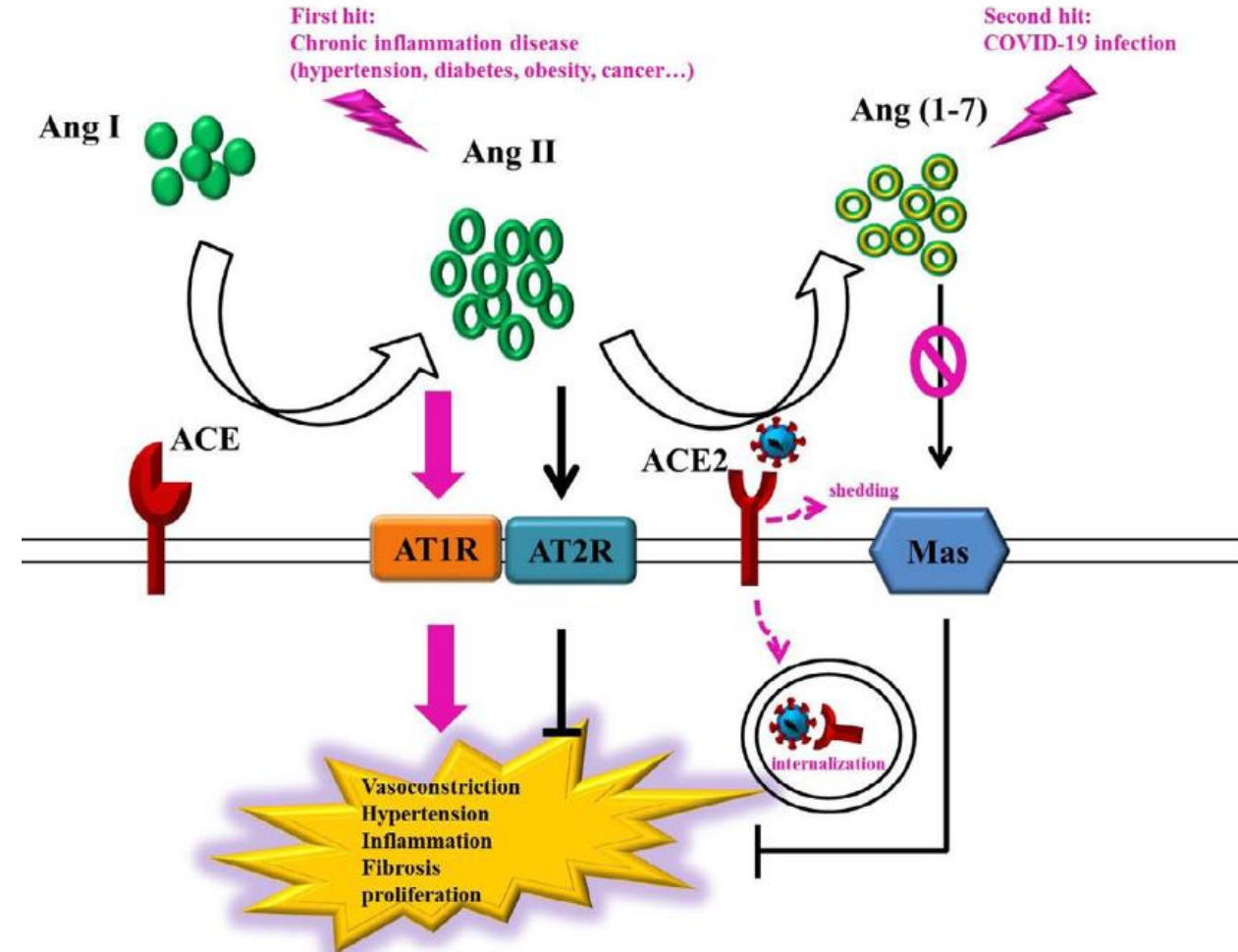
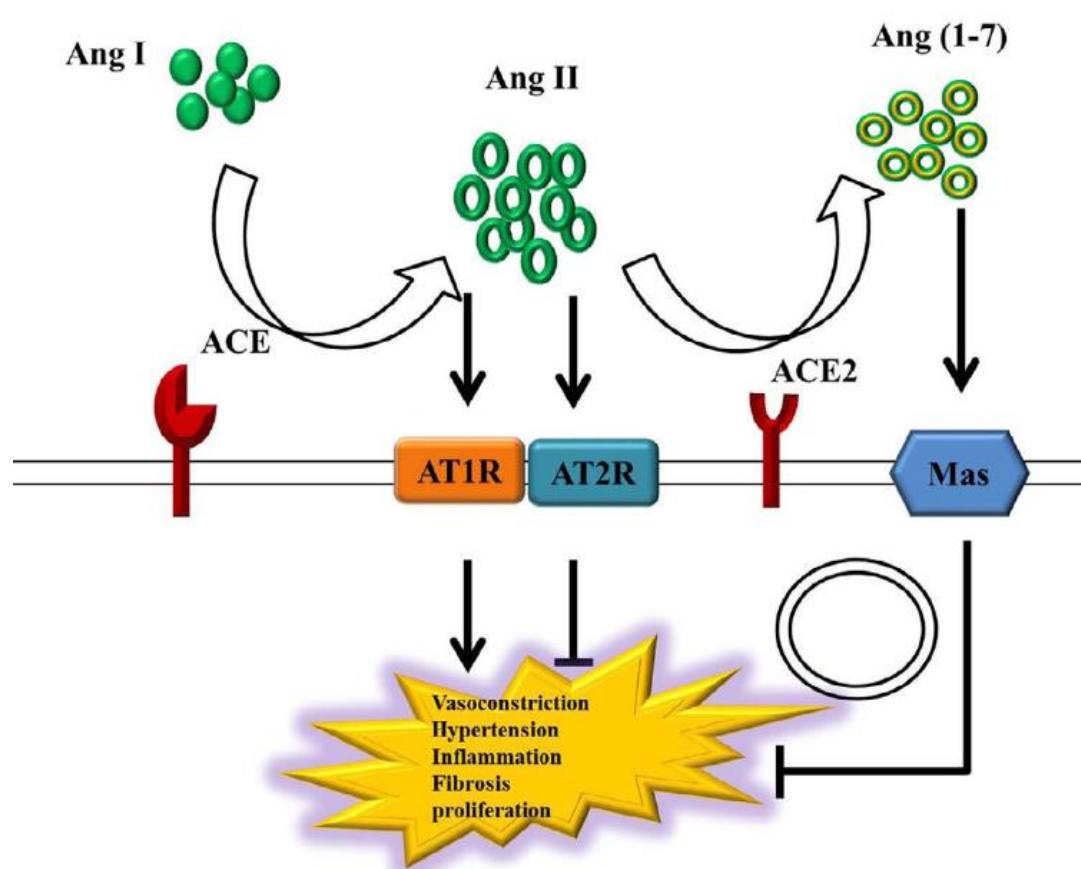


Το σύστημα ACE2 οδηγεί σε ρύθμιση φυσιολογικής αρτηριακής πίεσης, καταστολή κυτταρικού πολλαπλασιασμού και ελάττωση του οξειδωτικού stress

Mas: Ένας τύπος G-πρωτεΐνης - υποδοχέα. Οι κινάσες Rac-1, c-Jun, JNK, p38MAP και η ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης C σχετίζονται με σηματοδότηση μέσω Mas.

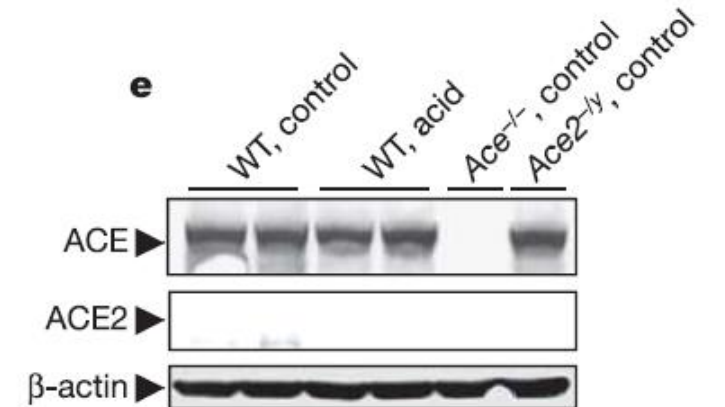
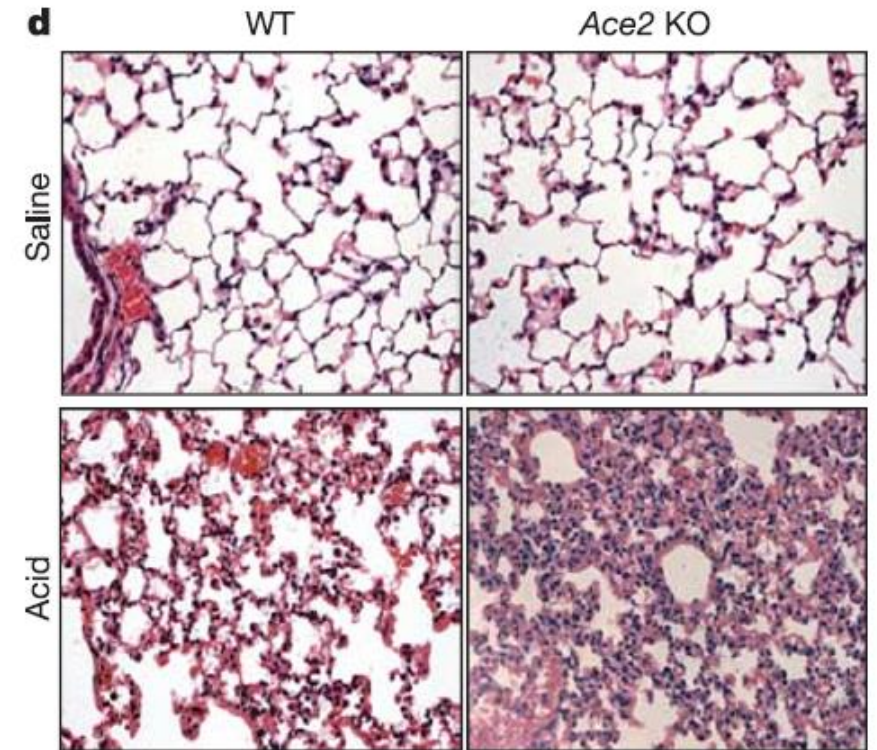
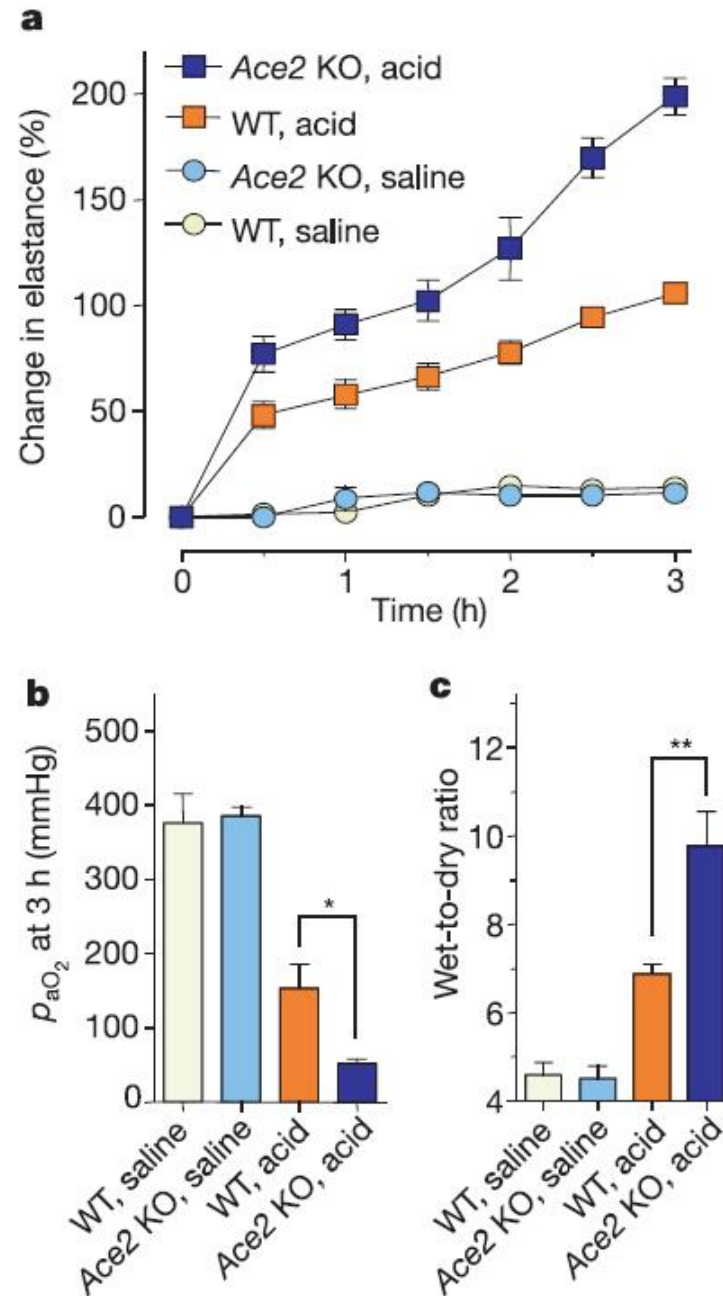


Η χρόνια φλεγμονή του γήρατος ενεργοποιεί τον άξονα ACE/AngII/AT1R και η λοίμωξη με SARS-CoV-2 αδρανοποιεί τον άξονα ACE2/Ang (1-7)/Mas

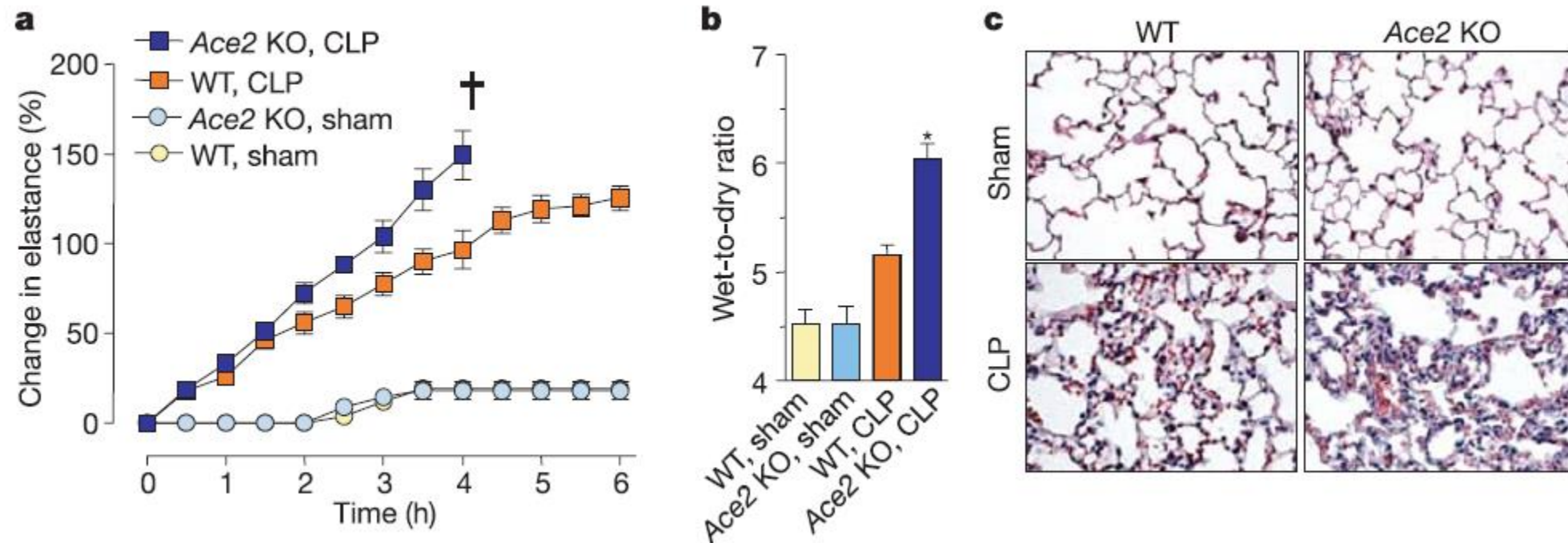


Η απουσία του ACE2 επιδεινώνει την οξεία πνευμονική βλάβη που προκαλείται από εισπνοή οξέος

Ace2 KO = Ποντίκια στα οποία το γονίδιο για παραγωγή του ACE2 έχει αδρανοποιηθεί
WT = Ποντίκια στα οποία το γονίδιο του ενζύμου ACE2 δουλεύει κανονικά



Περίδεση και διάτρηση του τυφλού προκαλεί σηψαιμία και ARDS. Πάλι η παρουσία του ACE2 προστατεύει από τη βλάβη του πνεύμονα

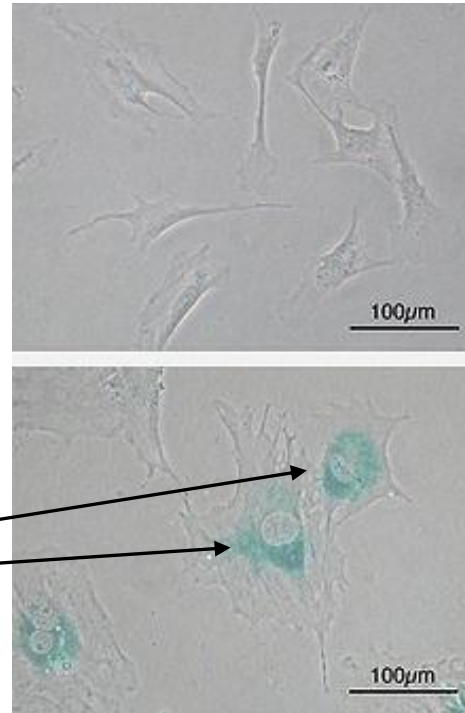


Ace2 KO = Ποντίκια στα οποία το γονίδιο για παραγωγή του ACE2 έχει αδρανοποιηθεί
WT = Ποντίκια στα οποία το γονίδιο του ενζύμου ACE2 δουλεύει κανονικά
CLP = *Caecal ligation perforation* = περίδεση και διάτρηση του τυφλού
ARDS = Σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας του ενήλικα

Τα γεροντικά κύτταρα ευοδώνουν την φλεγμονή

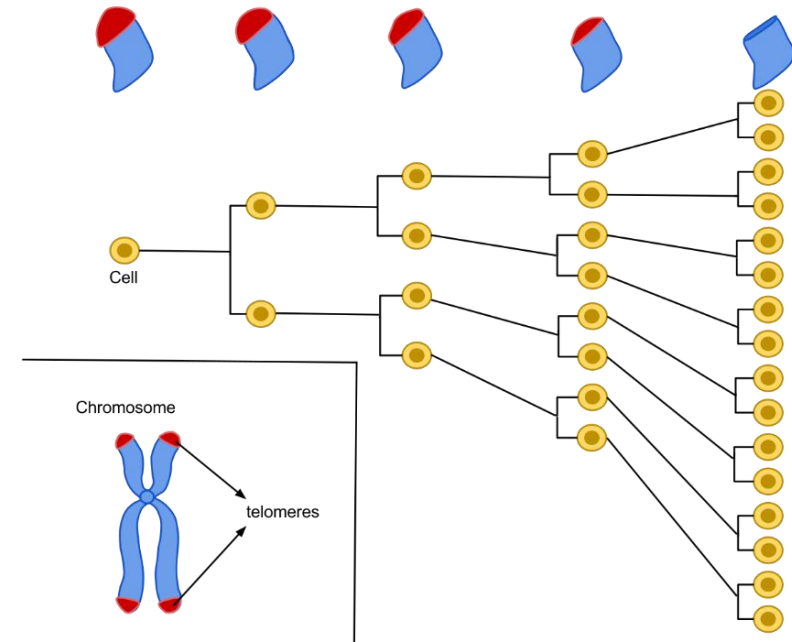
Εμβρυϊκοί ινοβλάστες
ανθρώπου μετά 50
διαιρέσεις παύουν να
διαιρούνται

*Senescence- associated
β-galactosidase, (SABG)*
(μπλε χρώμα)



Βλάβη τελομερών

- Δραστικές μορφές οξυγόνου
- Ενεργοποίηση ογκογονιδίων
- Σύντηξη κυτταρικών μεμβρανών



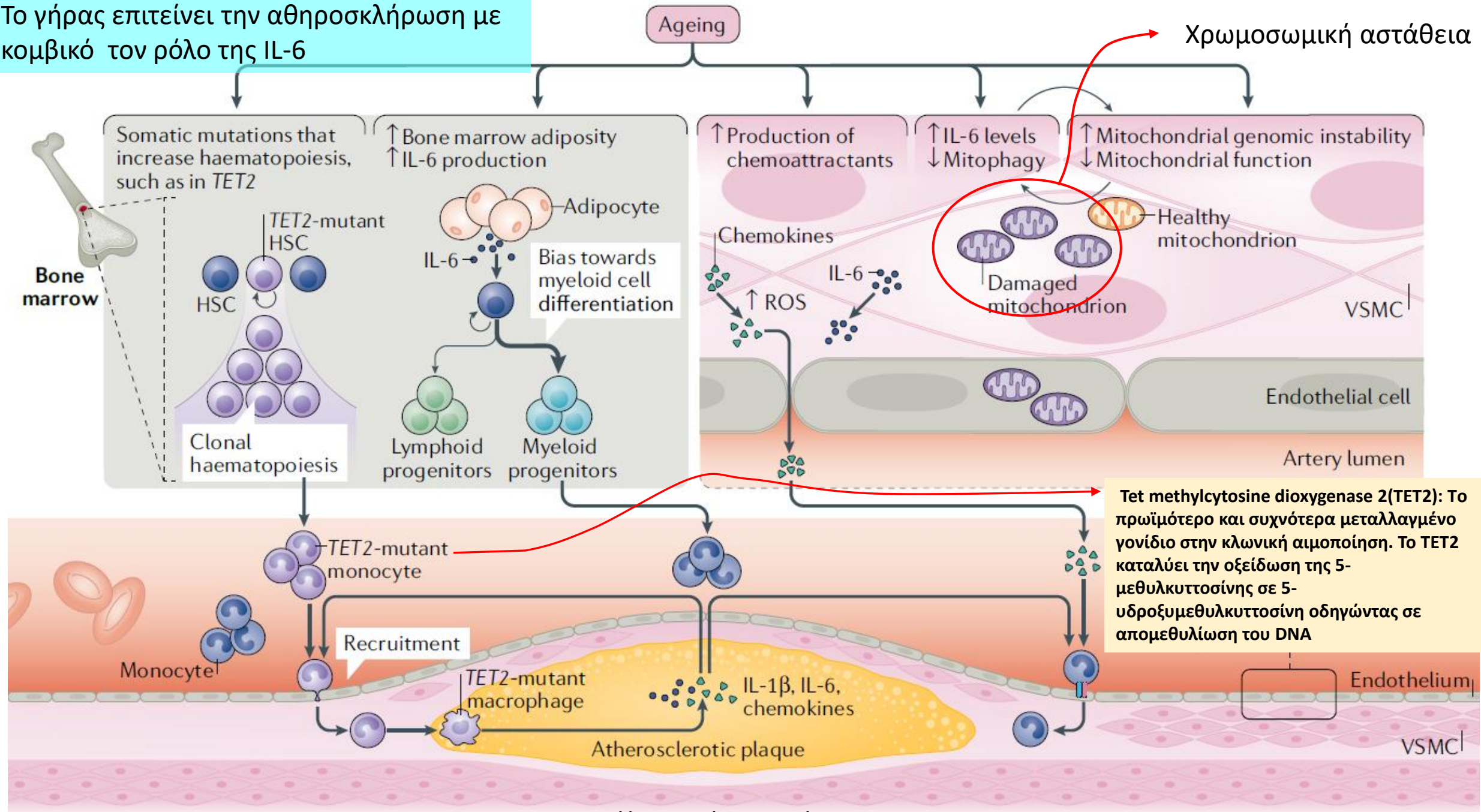
Συσσωρευμένες θραύσεις διπλής έλικας DNA

- ✓ Μη αποκατάσταση από τους επιδιορθωτικούς μηχανισμούς
- ✓ Ενεργοποίηση ATM και ATR DNA damage κινασών
→ εκτεταμένη φωσφορυλίωση και διακοπή του κυτταρικού κύκλου

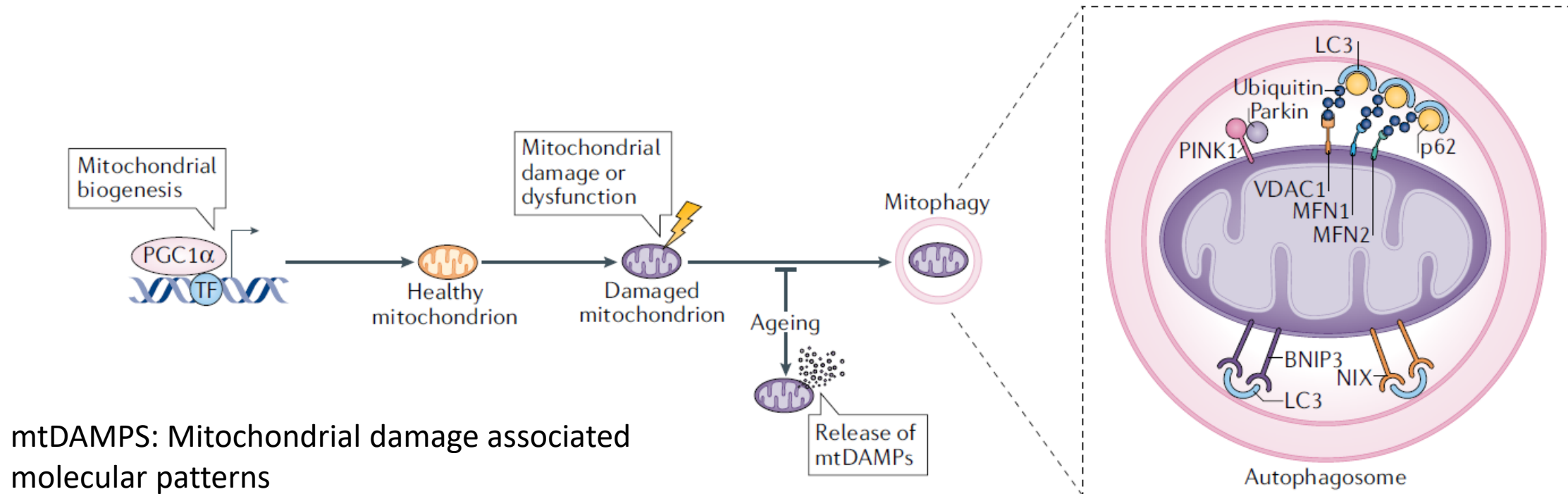
Γεροντοφλεγμονή (Inflammaging)

- Άτομα > 60 ετών εκδηλώνουν «στείρα» (δηλαδή χωρίς παρόν παθογόνο) φλεγμονή.
 - Αύξηση CRP
 - Αύξηση IL-6
 - Αύξηση IL-8
- Αυτή η συνεχής φλεγμονή προδικάζει μειωμένη επιβίωση
- Γήρας
 - Ελάττωση μιτοχονδριακής λειτουργίας
 - Αύξηση IL-6
 - Αύξηση μυελικής διαφοροποίησης
 - Αυξημένη αθηροσκλήρωση

Το γήρας επιτείνει την αθηροσκλήρωση με κομβικό τον ρόλο της IL-6



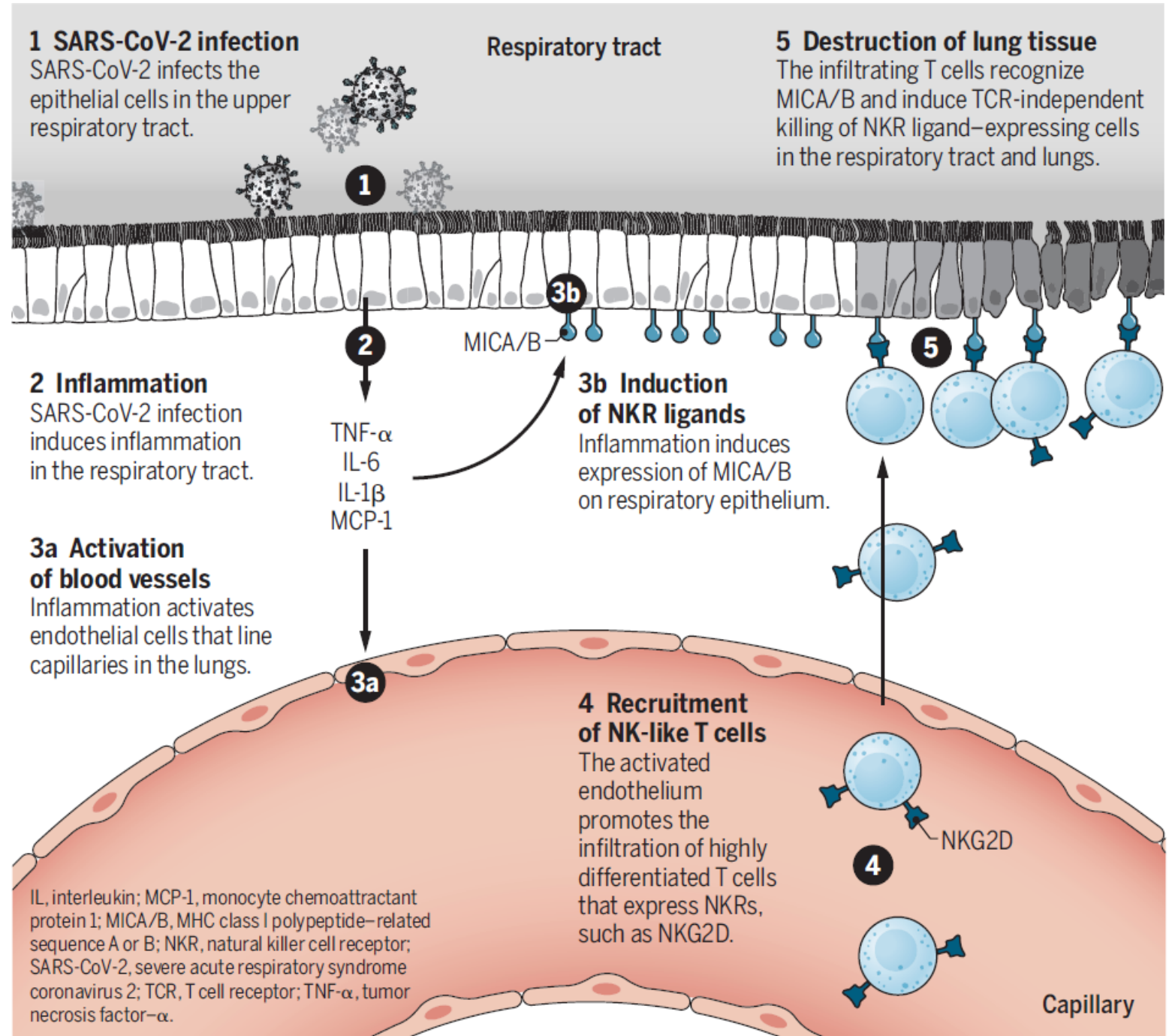
Στο γήρας υπάρχει αυξημένη συσσώρευση βλαβών μιτοχονδριακού DNA, μείωση της επιδιορθωτικής ελικάσης *mtDNA helicase Twinkle* και μειωμένη αυτοφαγία των βεβλαμμένων μιτοχονδρίων



Γεροντικές ανοσολογικές απαντήσεις κατά της λοίμωξης με τον ιό SARS-CoV-2

➤Major histocompatibility complex (MHC) class I chain-related protein A (**MICA**) and MHC class I chain-related protein B (**MICB**)

➤NK-like T cells: CD8(+) T που εκφράζουν δείκτες υποδοχέων των NK κυττάρων, όπως CD56, KIR, NKG2A και NKG2C (CD159a and c), και CD94

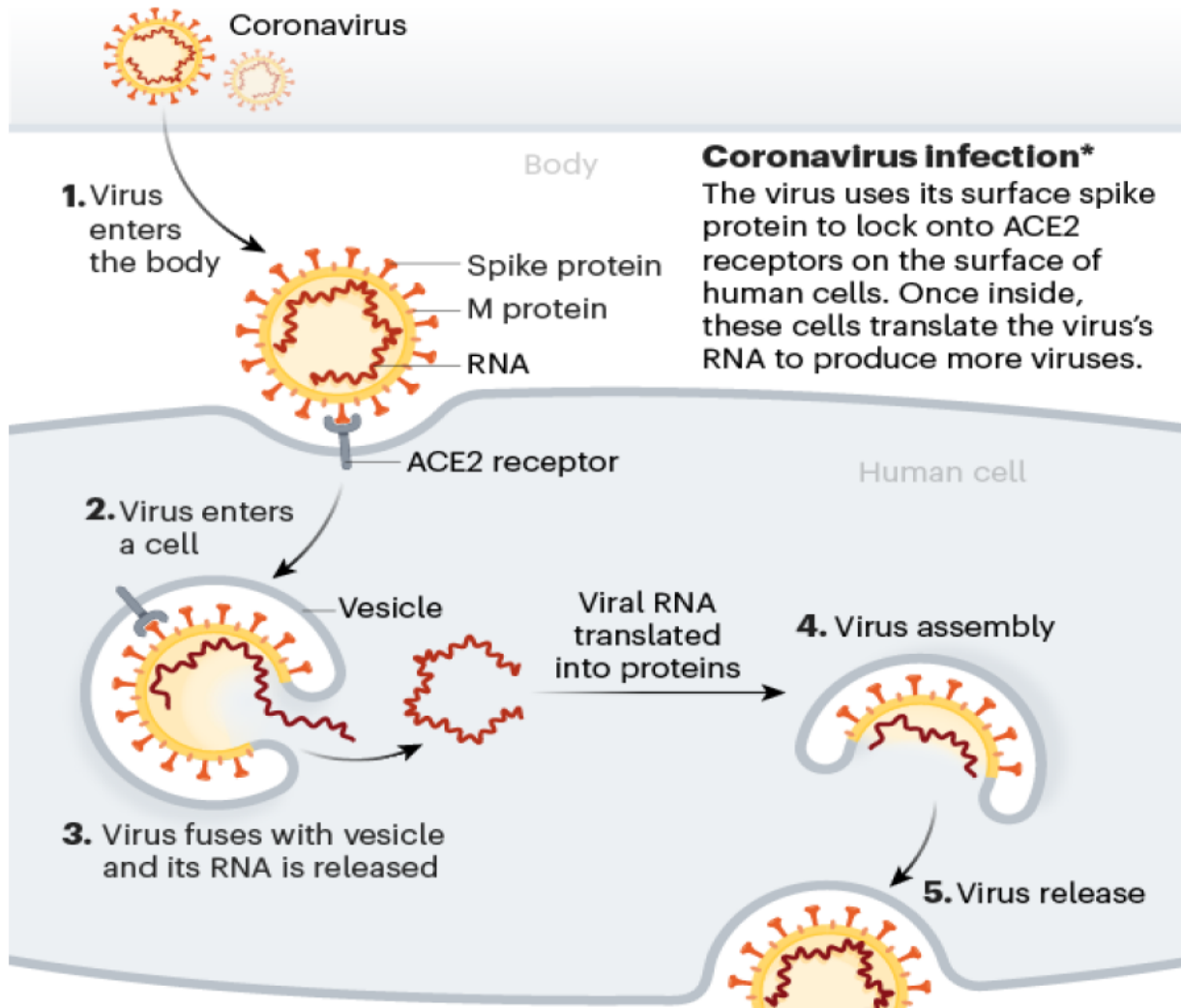


Η περιπέτεια του εμβολίου κατά SARS-CoV-2

Βασικά στάδια της ανάπτυξης ανοσίας από εμβόλια

VACCINE BASICS: HOW WE DEVELOP IMMUNITY

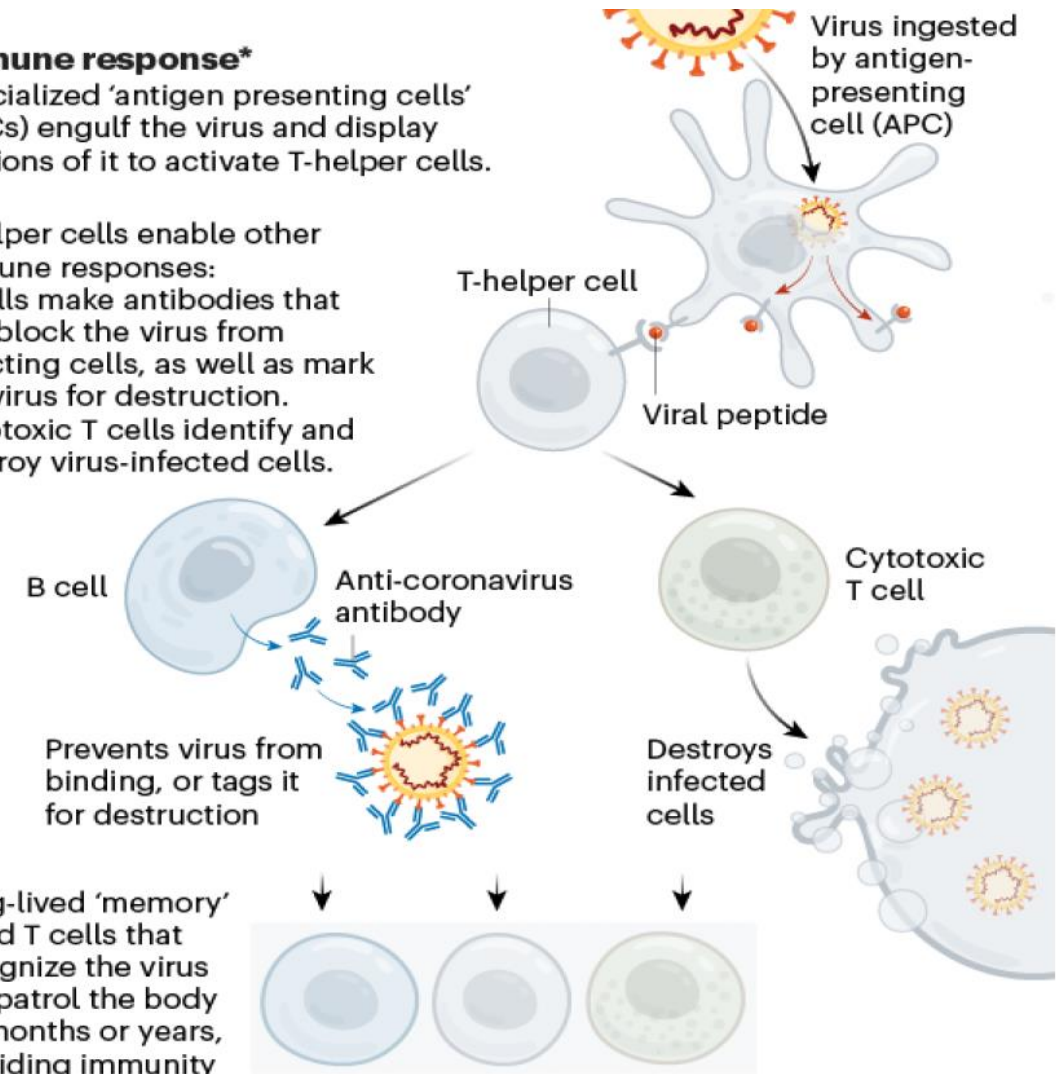
The body's adaptive immune system can learn to recognize new, invading pathogens, such as the coronavirus SARS-CoV-2.



Immune response*

Specialized 'antigen presenting cells' (APCs) engulf the virus and display portions of it to activate T-helper cells.

T-helper cells enable other immune responses:
B cells make antibodies that can block the virus from infecting cells, as well as mark the virus for destruction.
Cytotoxic T cells identify and destroy virus-infected cells.



*Simplified

Εμβόλια με εξασθενημένους ιούς παράγονται από πολλαπλά περάσματα του ιού σε κύτταρα ανθρώπων ή ζώων, μέχρις ότου μια τυχαία μετάλλαξη καταστήσει τον ιό μη-τοξικό (μη- μολυσματικό) για τον άνθρωπο

Εμβόλια με αδρανοποιημένους ιούς παράγονται αφού συσσωρεύσουμε μεγάλες ποσότητες του ιού και τον αδρανοποιήσουμε με θέρμανση ή με φορμαλδεΐδη

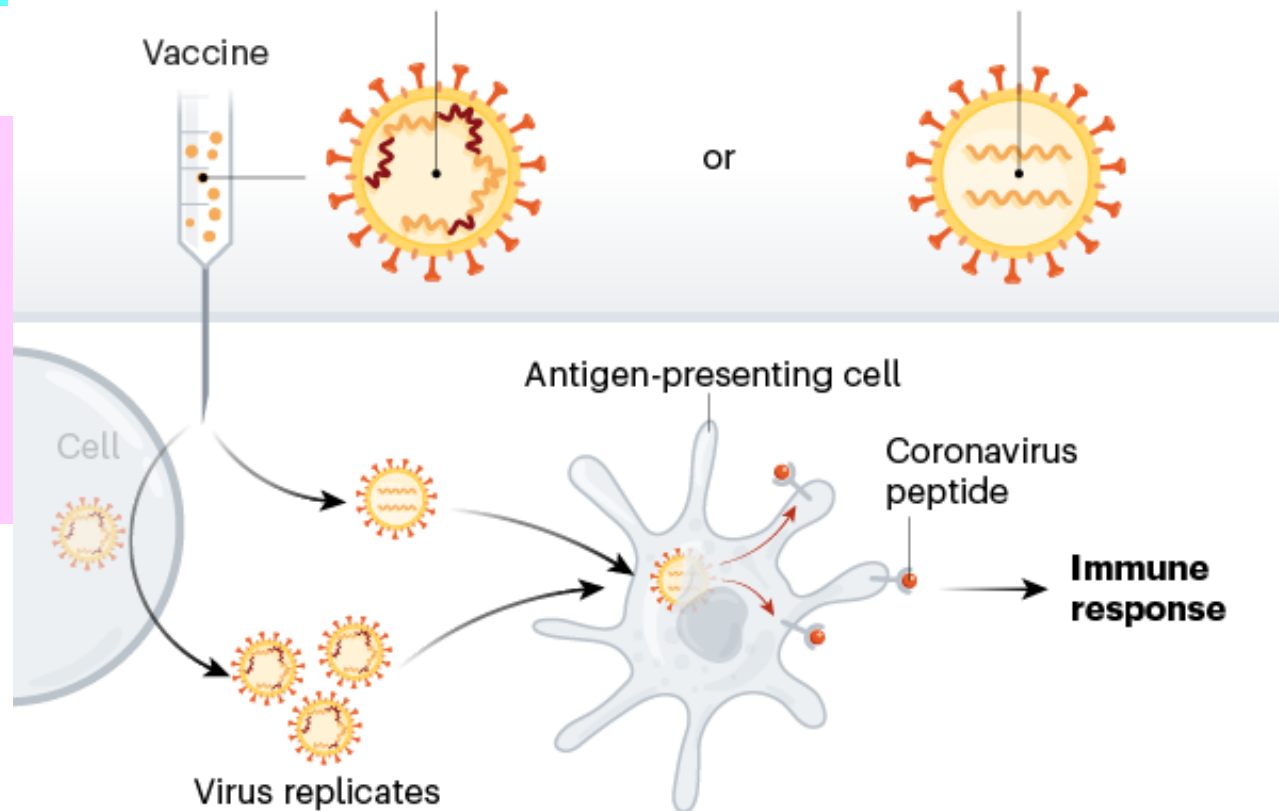
VIRUS VACCINES

Weakened virus

A virus is conventionally weakened for a vaccine by being passed through animal or human cells until it picks up mutations that make it less able to cause disease. Codagenix in Farmingdale, New York, is working with the Serum Institute of India, a vaccine manufacturer in Pune, to weaken SARS-CoV-2 by altering its genetic code so that viral proteins are produced less efficiently.

Inactivated virus

In these vaccines, the virus is rendered uninfected using chemicals, such as formaldehyde, or heat. Making them, however, requires starting with large quantities of infectious virus.



Γονίδιο της ιϊκής πρωτεΐνης
κατά της οποίας σχεδιάζεται
η παραγωγή αντισώματος
μέσω του εμβολίου εισάγεται
σε ιό-φορέα (μη-παθογόνος)

Ο ιός μπορεί να αναπαράγεται στα
κύτταρα του ξενιστή (Replicating) ή να μην
αναπαράγεται (non-replicating)

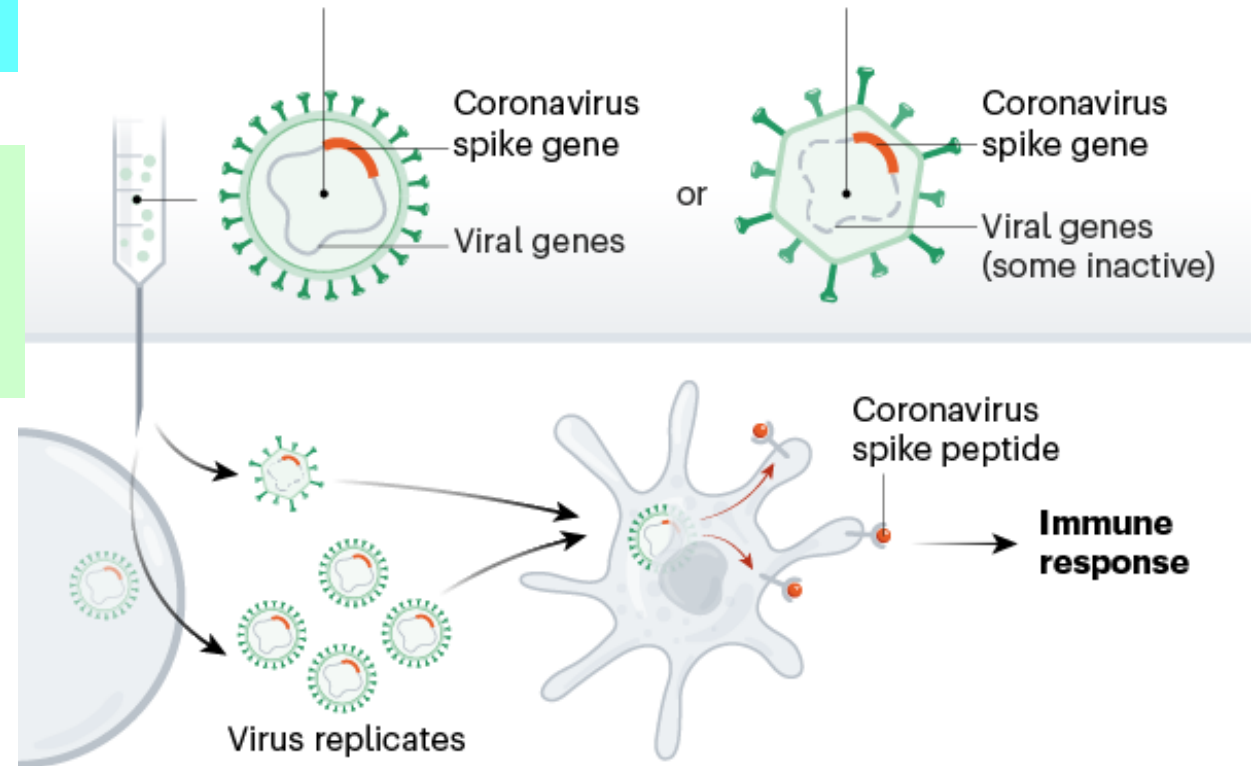
VIRAL-VECTOR VACCINES

Replicating viral vector (such as weakened measles)

The newly approved Ebola vaccine is an example of a viral-vector vaccine that replicates within cells. Such vaccines tend to be safe and provoke a strong immune response. Existing immunity to the vector could blunt the vaccine's effectiveness, however.

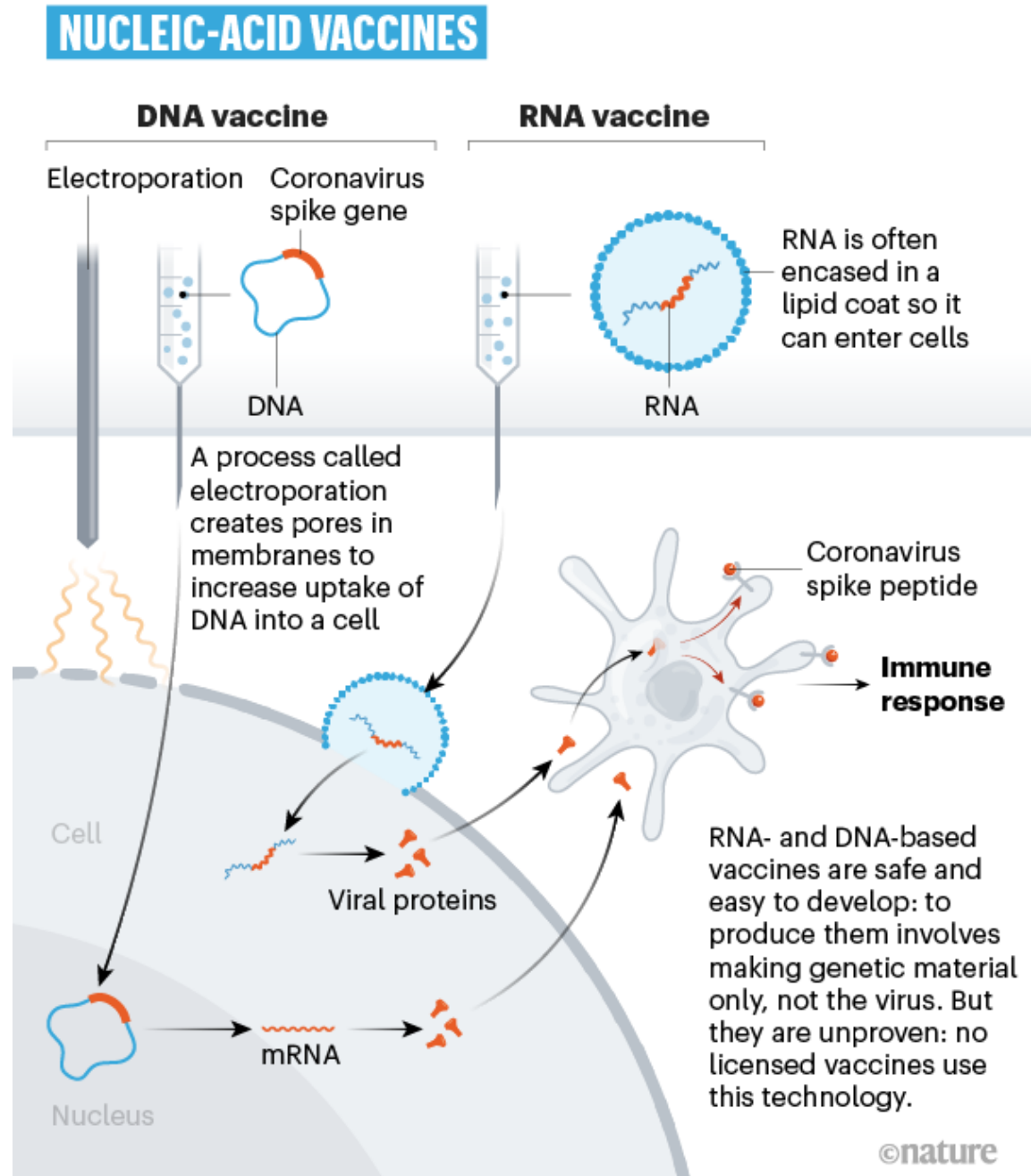
Non-replicating viral vector (such as adenovirus)

No licensed vaccines use this method, but they have a long history in gene therapy. Booster shots can be needed to induce long-lasting immunity. US-based drug giant Johnson & Johnson is working on this approach.



Το εμβόλιο μπορεί να περιέχει μόνο το RNA για την πρωτεΐνη κατά της οποίας επιθυμούμε να αναπτύξει ανοσία ο λήπτης. Το RNA εισέρχεται εύκολα στα κύτταρα αλλά η διαχείρησή του είναι δύσκολη (θερμοευαίσθητο)

Μπορούμε να εισάγουμε το γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη εναντίον της οποίας στοχεύουμε να δημιουργήσουμε αντισώματα σε ελεύθερο DNA διπλής έλικας, αλλά χρειάζεται ειδικός χειρισμός για να εισέλθει στα κύτταρα

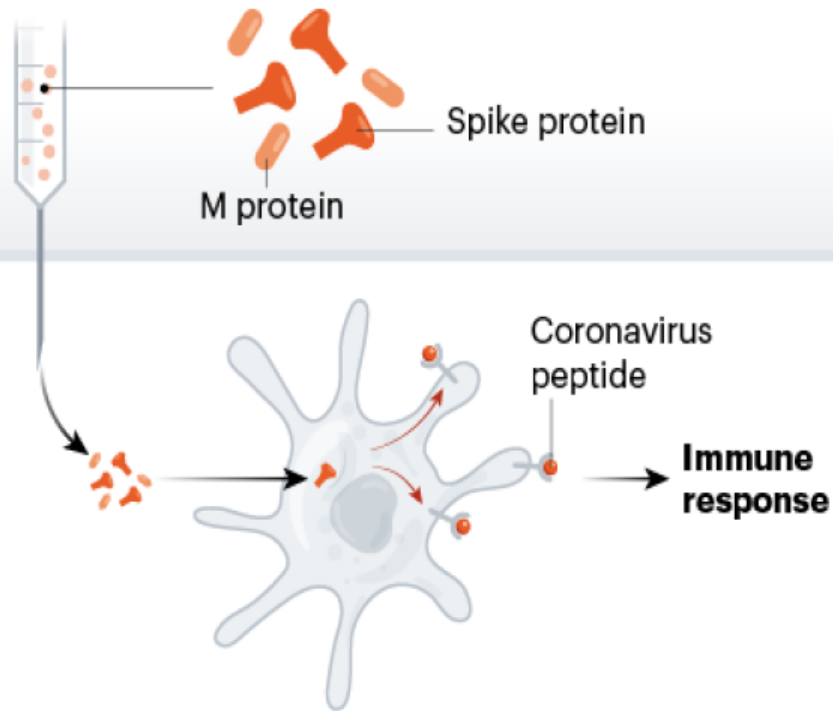


Το εμβόλιο μπορεί να αποτελείται μόνο από πρωτεΐνες ή ιϊκά σωμάτια αλλά χωρίς γενετικό υλικό

PROTEIN-BASED VACCINES

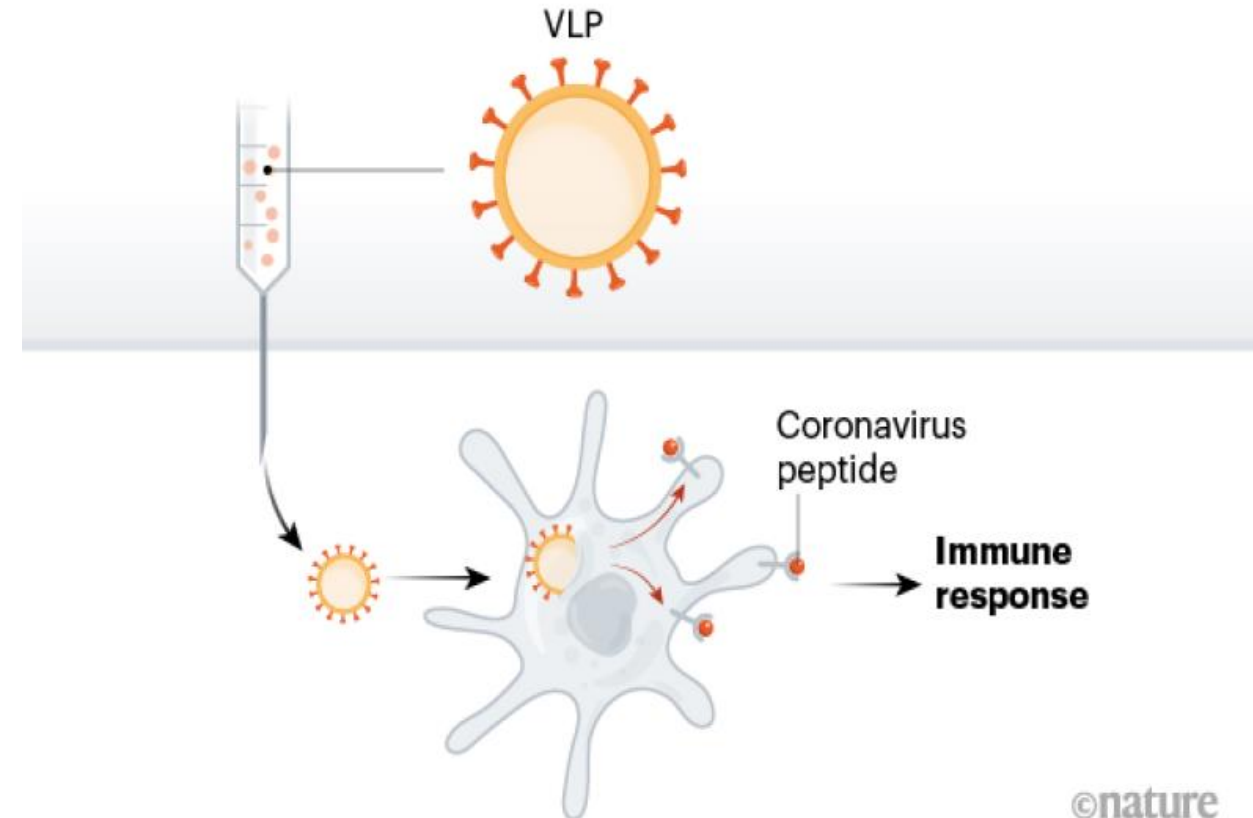
Protein subunits

Twenty-eight teams are working on vaccines with viral protein subunits — most are focusing on the virus's spike protein or a key part of it called the receptor binding domain. Similar vaccines against the SARS virus protected monkeys against infection but haven't been tested in people. To work, these vaccines might require adjuvants — immune-stimulating molecules delivered alongside the vaccine — as well as multiple doses.



Virus-like particles

Empty virus shells mimic the coronavirus structure, but aren't infectious because they lack genetic material. Five teams are working on 'virus-like particle' (VLP) vaccines, which can trigger a strong immune response, but can be difficult to manufacture.



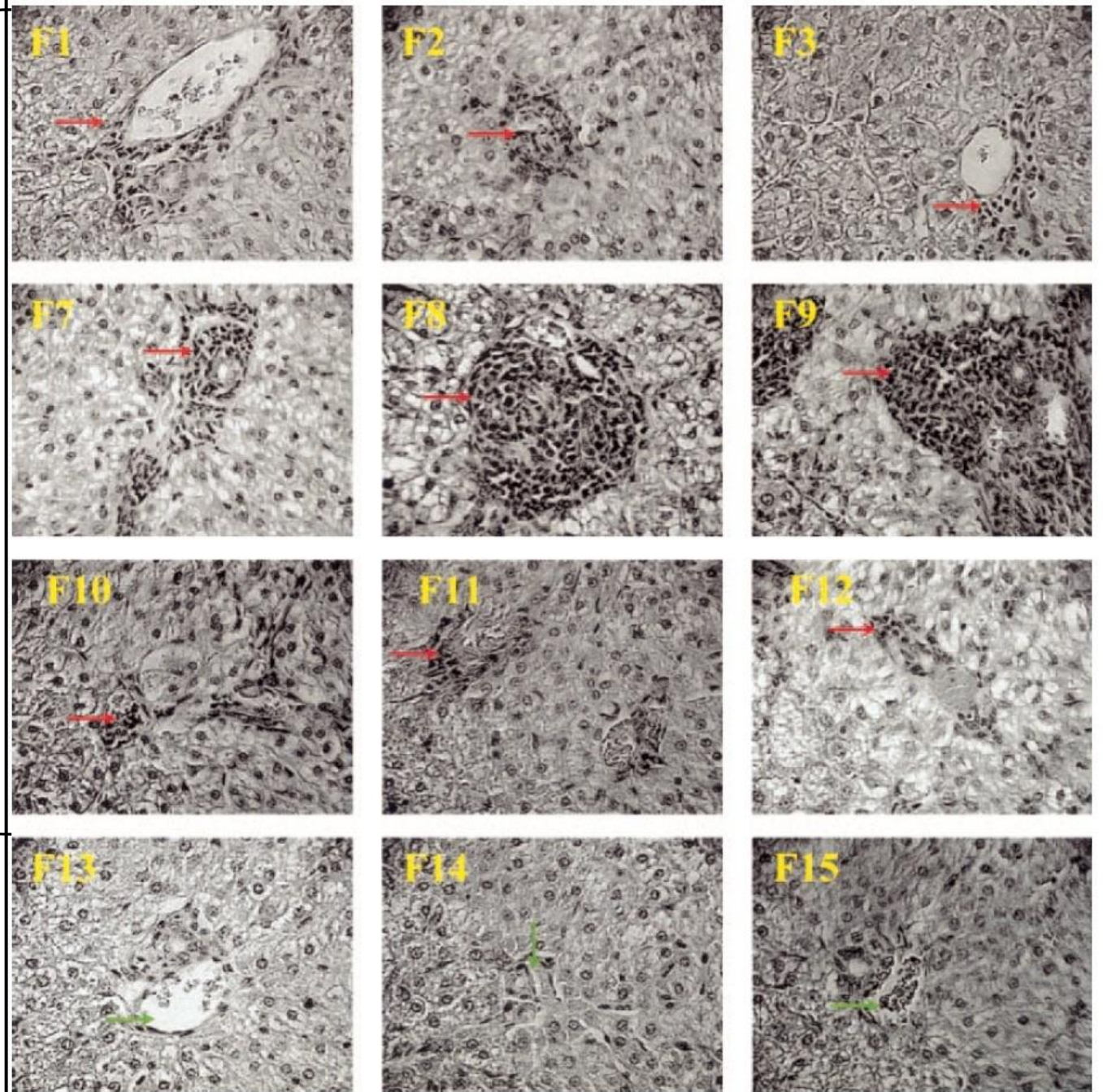
Απαιτήσεις από ένα αποτελεσματικό και ασφαλές εμβόλιο

- Να μην είναι τοξικό
- Να αναπτύσσονται γρήγορα ισχυρές αντισωματικές αποκρίσεις κατά του παθογόνου στον λήπτη του εμβολίου
- Να αναπτύσσονται κυτταρικές απαντήσεις κατά του παθογόνου στον λήπτη του εμβολίου
- Να προσφέρει ανοσολογική μνήμη και συνεπώς μακροχρόνια ανοσία
- Οι αντισωματικές απαντήσεις να είναι εξουδετερωτικές για το παθογόνο
- Να μην προκαλεί περαιτέρω ευόδωση της λοίμωξης (antibody-dependent enhancement of viral infectivity, ADE)

Νυφίτσες που έλαβαν
ανασυνδυασμένο εμβόλιο κατά
του ιού SARS-CoV και ακολούθως
εξετέθησαν στον ιό ανέπτυξαν
οξεία ηπατική νέκρωση

Ήπαρ από νυφίτσες που έλαβαν το
εμβόλιο και ακολούθως εξετέθησαν
στον ιό

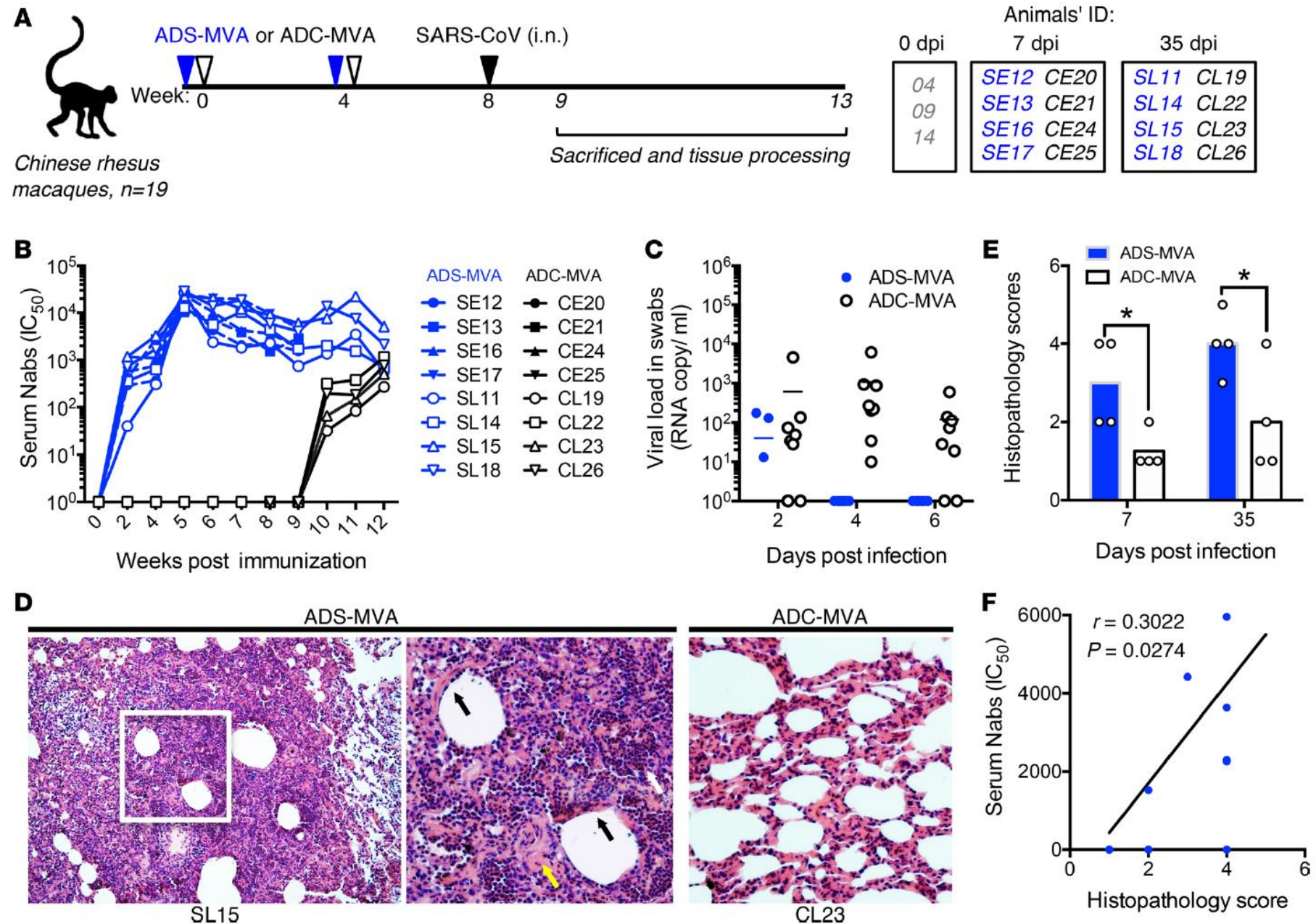
Ήπαρ από νυφίτσες που δεν έλαβαν
εμβόλιο ούτε εξετέθησαν στον ιό SARS-CoV



Anti-spike IgG causes severe acute lung injury by skewing macrophage responses during acute SARS-CoV infection

ADS-MVA [modified vaccinia Ankara (MVA) virus encoding full-length SARS-CoV S glycoprotein]

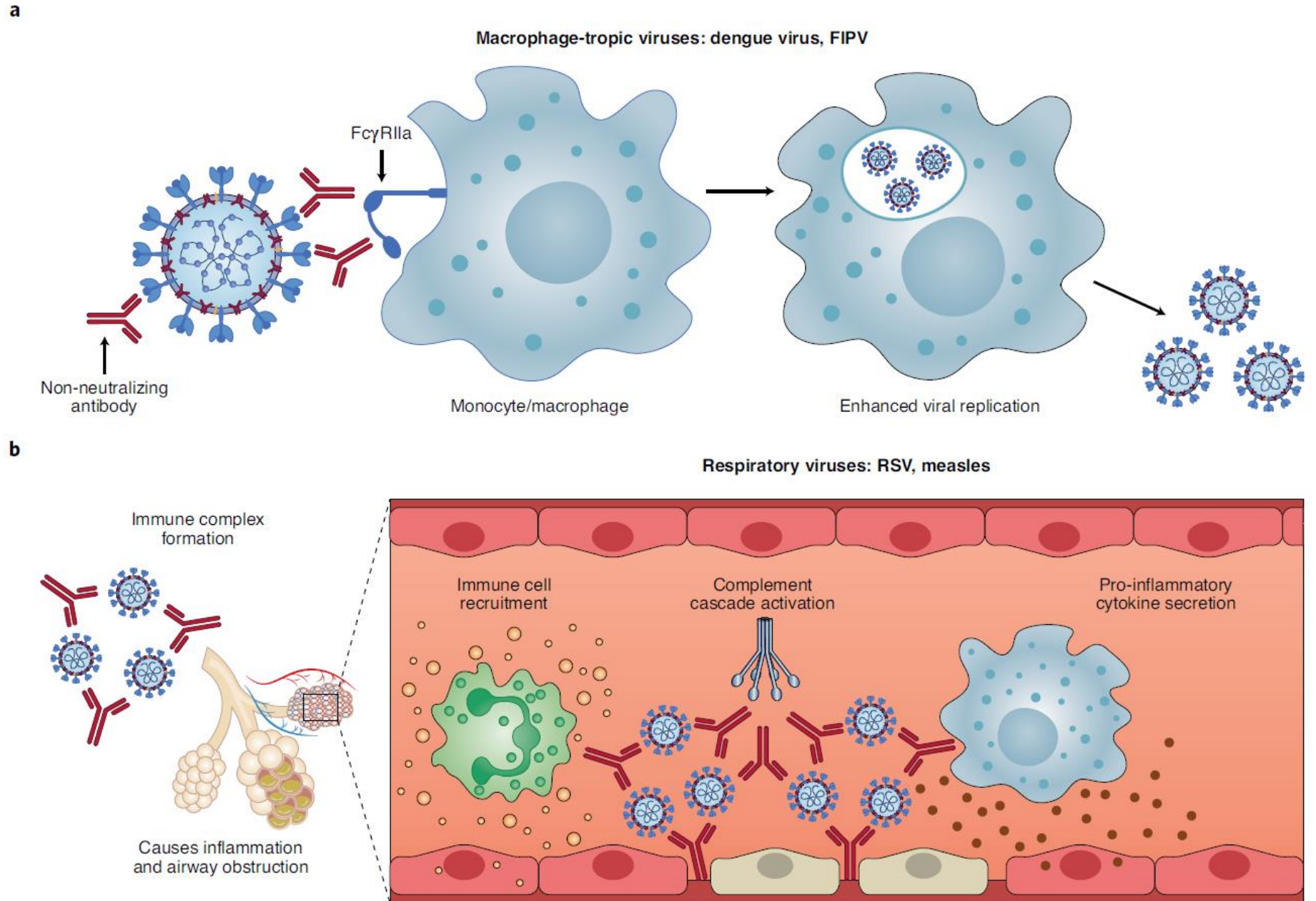
ADC-MVA: control MVA



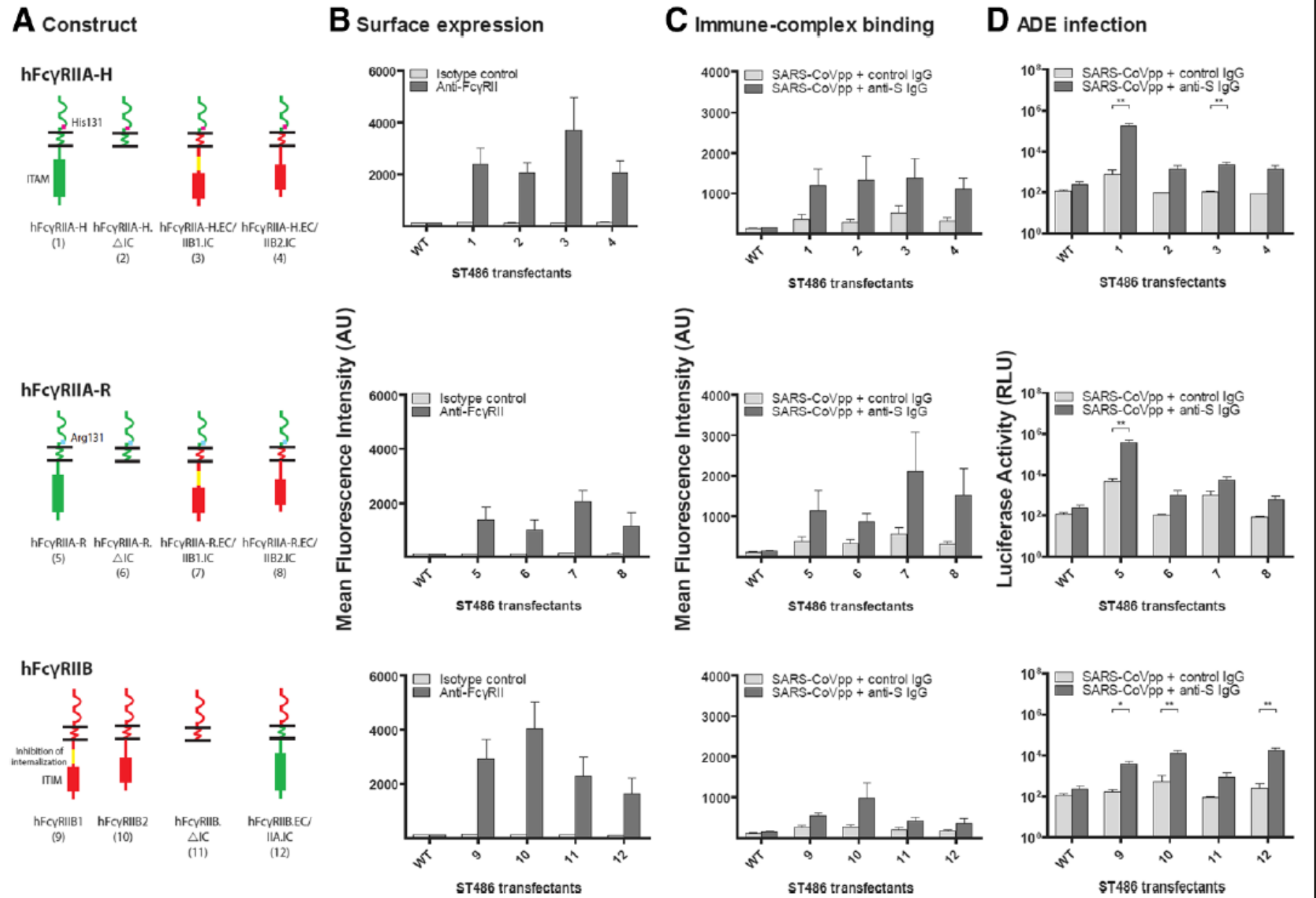
Δύο τύποι ADE

A) Για ιούς όπως ο Δάγγειος που μπορούν να ζήσουν μέσα στα μακροφάγα το αντίσωμα συμβάλλει στην είσοδο του ιού σε μονοκύτταρα-μακροφάγα μέσω του υποδοχέα *FcγRII* οδηγώντας σε σοβαρότερη νόσο

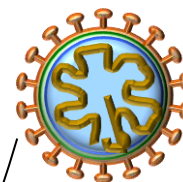
B) Για μη-έχοντες τροπισμό προς τα μακροφάγα ιούς (του αναπνευστικού συγκυτίου ή της ιλαράς) τα μη-εξουδετερωτικά αντισώματα σχηματίζουν ανοσοσυμπλέγματα και προκαλούν ισχυρή φλεγμονή



Το φαινόμενο ADE
εξαρτάται από μια
άθικτη
κυτταροπλασματική
υπομονάδα του
FcγRIIA



ΑΔΕ δίνει ΤΟΥ.....



Σοφοκλής: Αντιγόνη- Ένας ύμνος στην επινοητικότητα του ανθρώπου

- Πολλά τα δεινά μα απ' τον άνθρωπο, δεινότερο κανένα

Περνά τον αφρισμένο πόντο με τις φουρτούνες του νοτιά

Στη μέση σκάβει το βαθύ και φουσκωμένο κύμα

και την υπέρτατη θεά, τη Γη την άφθαρτη παιδεύει την ακάματη

Οργώνοντας με τα καματερά χρόνο το χρόνο φιδοσέρνοντας αλέτρι.