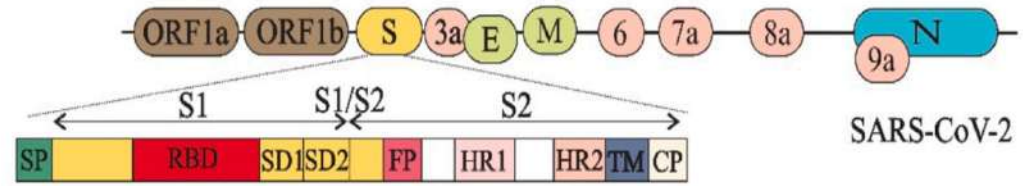
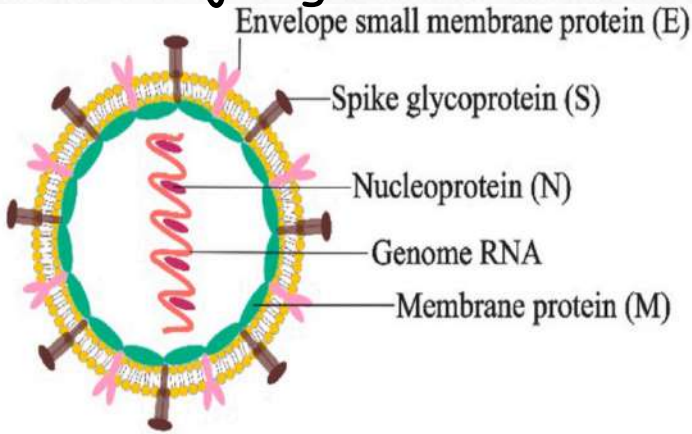


Prof. Dr. Serhan
Sakarya
Medicana
International
İzmir Hst.
Enfeksiyon Hst.
ve Kl. Mik. Kl.

COVID-19 immünopatogenez ve iyileşme



SARS-CoV2, SARS-CoV ile %80, MERS-CoV ile %50 RNA sekans homolojisi gösterir



•ORF1a/b genom, viral replikaz, transkriptaz kompleksini oluşturan poliproteinleri

•Genomdaki diğer ORF'ler dört ana yapısal proteini (S, E, N ve M) yanı sıra birkaç aksesuar proteini kodlar.

- M proteini=Matriks, virüsün şeklini verir S proteini ile ilişkide olup S proteininin zarf (E prot.) ile ilişkisini sağlar.
- E proteini= Zarf patogeneizde önemli bir yeri vardır, virüsün enfekte hücrede oluşumunu ve salınımını sağlar.
- N proteini=Nükleer protein, RNA iplikçiklerine bağlanarak nükleokapsid yapıyı oluşturur

S glikoproteini hücreye bağlanmada ACE2 reseptörlerini kullanır ve 2 subünitten oluşur;

- Transmembran serin proteaz 2(TMPRSS2) → S1/S2 alt birimler
- S1 alt biriminin konak hücre reseptörüne bağlanmada
- S2 alt biriminin viral ve konak hücresel zarların füzyonunda rol oynar

S de konfirmasyonal değişiklik → aktivasyon;



S1 ve S2 arasındaki bölünme bölgeleri açığa çıkar



hücresel proteazlar füzyon peptidleri ile S1 ve S2 alt ünüllerine bölünür

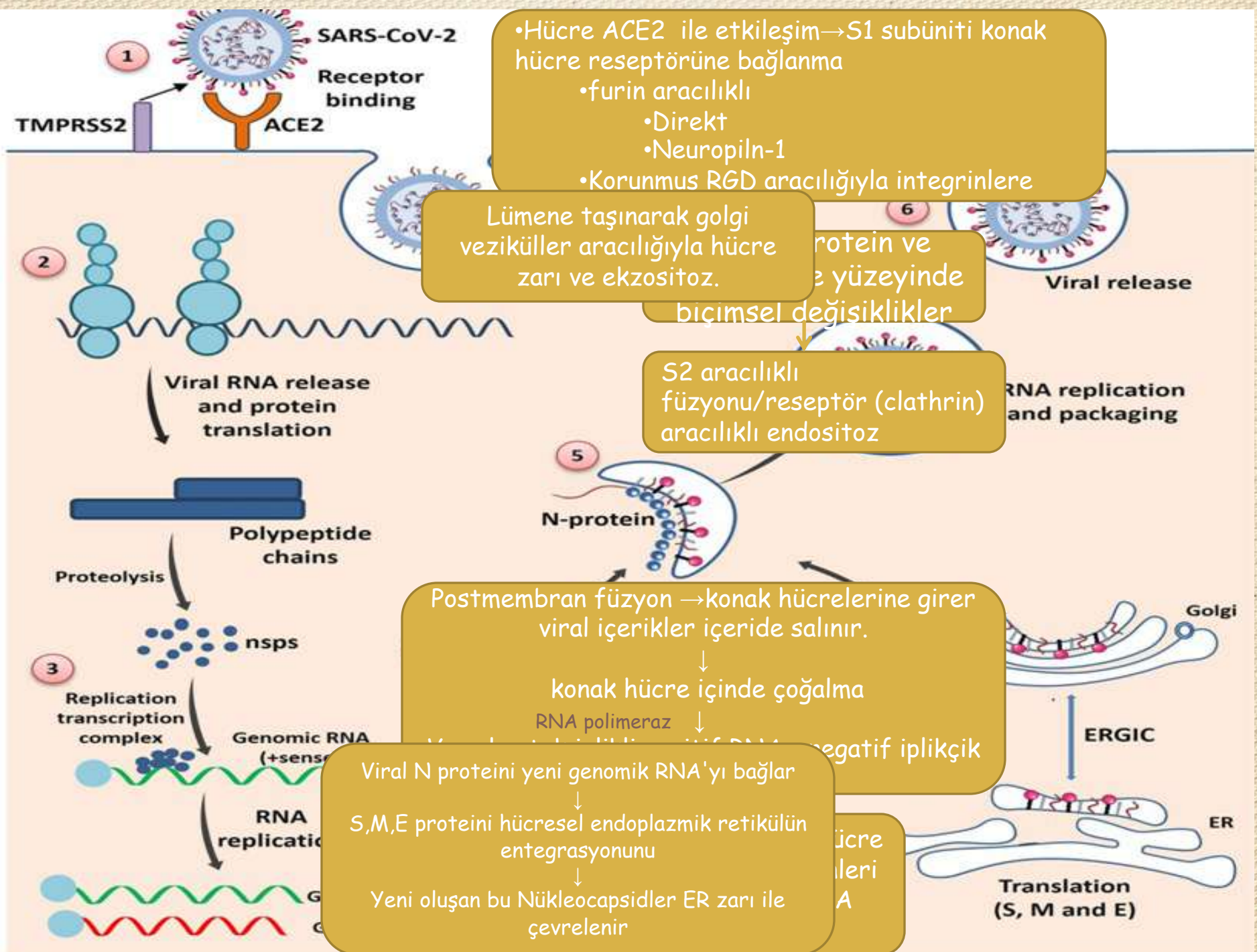


S2 alt birimindeki füzyon peptidinin aktivasyon



Viral ve konak hücre zarı füzyonuna yol açan konformasyonel değişiklik

- Konakta bulunan *FURIN* geni tarafından kodlanan ve bir proteaz enzimi olan furin ("RPPA" dizisi) SARSCoV-2 ye spesifik olup, virüsün konak hücreye füzyonunda önemli rol oynar.
 - Furin, beyin, akciğer, gastrointestinal sistem, karaciğer, pankreas, üreme dokularında eksprese olur=enfeksiyona spesifik.
- Furin ilişkili diğer bir hücre yüzey reseptörü Neuropilin-1 (NRP1)
- S proteininin alternatif bir reseptörü olan korunmuş RGD (Arg-Gly-Asp) aracılığı ile integrinlere bağlanarak;
 - fosfatidylinositol-3 kinase (PI-3 K)
 - mitojen aktive edici protein kinase (MAPK) içeren transduser yolak aracılığı ile hücre içine giriş



SARSCov-2 ye karşı gelişen
konak yanıtı

Doğal immün yanıt

RNA virüsler-PAMP



PRR sensörleri tarafından algılanır.

- hücre yüzeyinde (TLR1,2,4,5 ve 6),
- Endozomda (TLR 3, 7, 8, 9 ve 10)
- Sitozolda (NLR, RLR, CLR ve MDA5)

TLR 3, 7, RLR, NLR, MDA5 ↓

NF κ B, IRF3 ve 7 nükleer transkripsiyon faktörlerin aktivasyon

→ IRF3+STAT 1 ve 2 → INF-1 aktivasyonu → IFNAR

→ NF κ B → Proinflamatuvar sitokinler (IL-1, IL-6, TNF α , G-CSF, IP 10 (CCLX-10), MIP 1 α (CCL-3), MCP (CCL-2))

INF-1 cevabında ↑



edinsel immün yanıt ve ISG ↑



Viral replikasyon ve hücre
içine giriş ↓

PMN,
Makrofaj,
Monosit,
DH



Proinflamatuvar sitokin ↑



- Doğal imünite 3 ana amacı vardır
 - Enfekte olmuş hücrede viral replikasyonu engellemek
 - Lokal doku çevresinde antiviral yapının oluşturulması
 - Edinsel yanıtı başlatılması

Edinsel İmmün yanıt



**Diğer patojenlerde
olduğu gibi cevap;**

Humoral → CD4

T_H → Nötralizan
antikor = Hücre dışı

Hücresel → CD8 T_C → Hücre
içi



**Antijen sunumu DH ile
MHC eşliğinde**

MHC1 → CD8

MHC2 → CD4

• MHC sunumu/enfeksiyon
duyarlılığı → HLA alleri!!

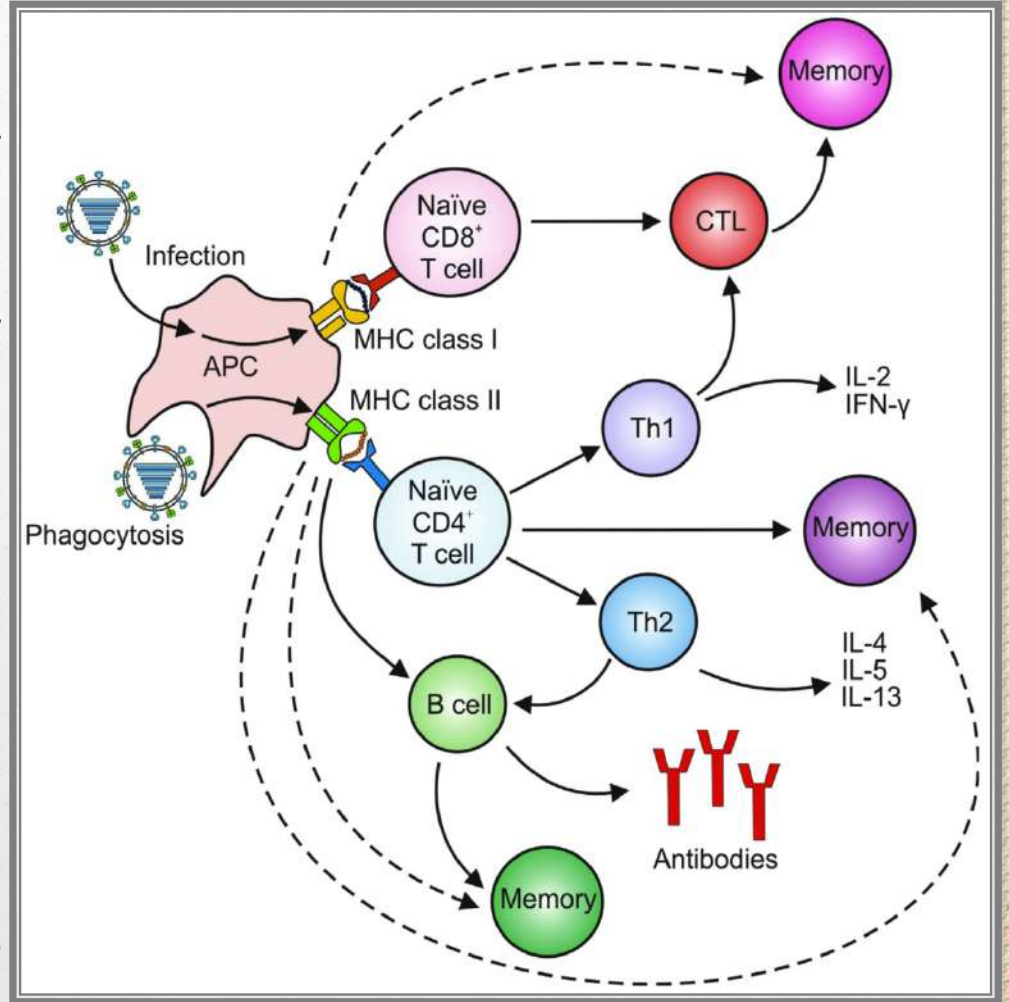


**Etken alındıktan 6 ile
10 gün arasında gelişir.**

- Virüse spesifik CD8+ sitotoksik yanıt virüse karşı en etkin yanıt

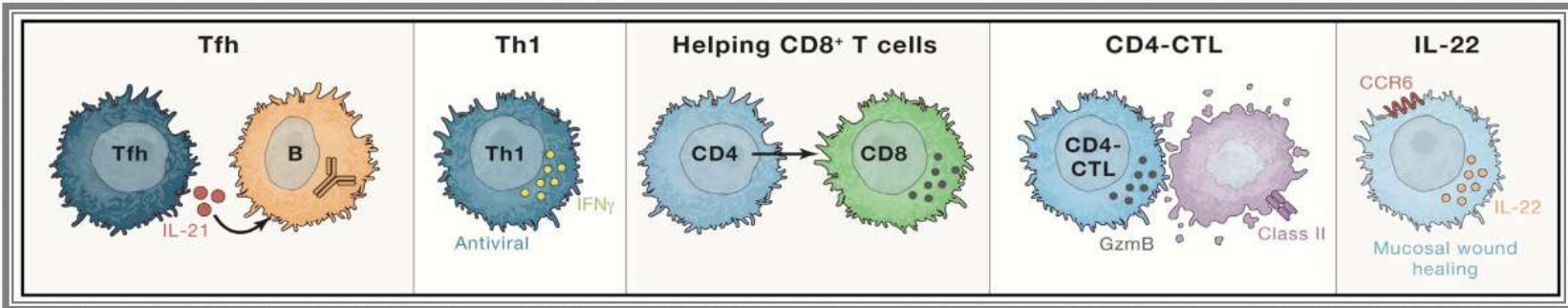
- CD4+ T helperler ve bunun fonksiyonel fenotipleri olan

- Th1,
- Th2,
- Th9,
- Th17
- Treg tarafından düzenlenmektedir.



CD4+ T hücre yanıt

- CD4+ T hücrelerin SARS-CoV-2-spesifik yanıt
 - S-protein - receptor binding domain (RBD).
 - Nucleokapsid (NP) proteinlerine
 - M
 - ORF3a
 - Nsp3 e karşı ayrı ayrı oluşmaktadır
- SARS-CoV-2 primer enfeksiyonda; CD4+ T hücre yanıtı CD8+ T hücre yanıtından daha önemli



CD8+ T hücre yanıt

- CD8+ T hücreleri, enfekte hücreleri öldürme yetenekleri nedeniyle birçok viral enfeksiyonun temizlenmesi için kritik öneme sahiptir.
- Dolaşımdaki özgü CD8+ T hücreleri CD4 + T hücrelerine göre daha az tutarlılık göstermektedir
- CD8+ T hücre yanıtları akut COVID-19 sırasında hızla gelişebilir (1 gün)
- SARS-CoV-2 CD8+ T hücreleri virüsün;
 - Spike,
 - Nükleokapsid,
 - M ve
 - ORF3 antijenlerine karşı gelişmektedir
- Akut COVID-19'da SARS-CoV-2'ye özgü CD8+T hücreleri;
 - IFN γ ,
 - granzim β ,
 - Perforin
 - CD107a gibi güçlü sitotoksik efektör fonksiyonlarla sahip moleküller salgılayarak etkili olurlar.

Antikor yanıtı

- Virüs;
 - Spike
 - Nükleokapsidine karşı gelişir.
 - Her antikor nötralizan değildir ve viral klirensi sağlamaz
- Spike, SARS-CoV-2 nötralize edici antikorların hedefidir. Spike'in;
 - Reseptör bağlama alanı (RBD), nötralize edici antikorların % >90'ının
 - N-terminal etki alanını (NTD) %10'unu hedef alır.
- SARS-CoV-2 Spike'a serokonversiyon % 91-% 99 arasında gerçekleşir
- Antikor yanıtı;
 - Genellikle hücre dışındaki virüse
 - Nadiren hücre içindeki virüse karşıda olabilmekte
- IgM akut dönemde 2-4. günden itibaren pozitifleşir 20-22. günde %94
- IgG 20-22 . Günde %100= IgM serokonversiyon olmadan

Kompleman aktivasyonu

- Nötralizan antikorlar kadar virüs spesifik antikorların Kompleman aktivasyonu hümoral immün yanıtta önemli
 - Klasik (antikor aracılıklı)
 - Alternatif
 - MBL yolu

} kemotaktik/inflamatuar medyatörlerin salınımı
- Kompleman aktivasyonu → mikrovasküler hasarı ve trombozis
 - C3a ve C5a blokajı SARS-Cov-2 nin AC injürisini engellemekte
 - N proteininin MASP-2 ye bağlanarak C5 aktivasyonunu ↑ → AC hasarı ↑

İmmünopatogenezi etkileyen faktörler

Edinsel immüntein heterojenitesi

SARS-CoV-2 HLA alleleri;

- HLA-B*46:01 alleli yanıtsızlığı
- HLA-B*15:03 alleli iyi immün yanıt

Yaş

İleri yaş-T hücre sayı ve cevapta azalma

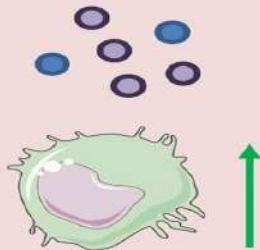
Cins ırk

Erkekler kadınlardan daha ciddi enfeksiyon

- Erkeklerde Tip 1 IFN yanıtı ↓ (INFNAR ' ile ilişkili olabilir)

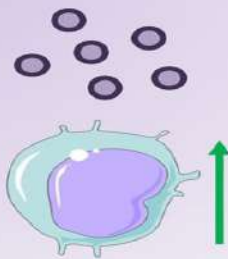
Macrophages

↑ IL-1 β and IL-6



CD14⁺IL-1 β ⁺ Monocytes

↑ IL-1 β



Dendritic cells

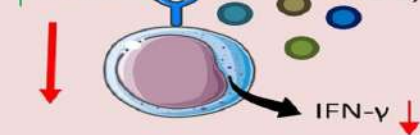
IL-6, RANTES, IP-10, MCP-1, MIP-1 α , CCR1, CCR3 and CCR5



NK cells

↑ NKG2A

Granzyme, Perforin, IL-2, TNF- α ↓



Granulocytes



Basophils



Eosinophils



Neutrophils



NET release

Mast cells

↑ IL-1, IL-6 and IL-33, histamine and protease



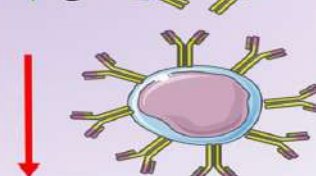
Cytokine storm



↑ IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-17, TNF- α , GM-CSF, G-CSF, IP-10, MCP-1, MIP-1 α

B cells

↑ IgG



T cells

GM-CSF, IL-6, TNF- α ↑



CD4⁺ cells

GM-CSF, Granzyme, Perforin ↑



CD8⁺ cells



IFN- γ ↑



Th1 and Th17 cells



Tregs



$\gamma\delta$ T cells

↑ Tim-3, PD-1



T cells

Lenfopeni

- SARS-Cov-2 hastalarında

- CD8+ ve CD4+ T hücrelerinde, B hücrelerde ve NK hücrelerde özellikle ciddi seyirli vakalarda azalma
- CD8+ T hücrelerde tedaviye yanıt verenlerde artış, vermeyenlerde azalma
- Sayısal azalmaya karşın hiper aktif hücre

?

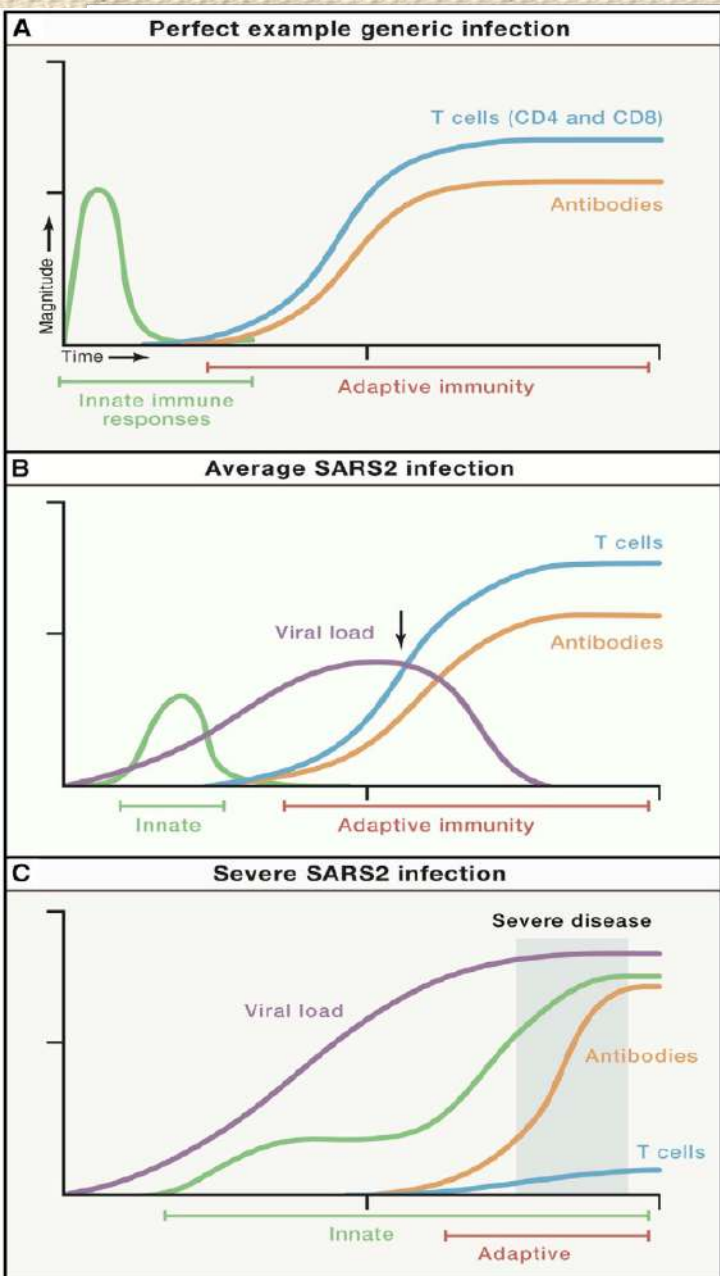
- Hiperaktivite

- HLA-DR/CD38 pozitif CD4+ T hücrelerin artması
- Proinflamatuvar CCR6+ Th17 ↑
- Yüksek oranda granulyisin ve perforin pozitif CD8+T hücre artışı

- Sayısal azalma

- Diferansiye olmuş CD8+ T
- Programlanmış hücre ölüm protein 1 (PD-1),
- Hücre Immunoglobulin Mucin 3 (TIM-3),
- Lenfosit-aktivasyon gen 3 (LAG-3),
- Sitotoksik T-lenfosit-asosiyasyon protein 4 (CTLA-4),

İnhibitör reseptörlerin ekspresyonu ↑



- SARS-COV-2 enfeksiyonlarında başarılı bir immiün yanıt
 - Edinsel yanıtın virüsü hızla tanıması
 - IFN 1 ve 3 ün ekspresyonunun başlanması ile olur.
- Gelişen imün yanıtı göre;
 - T hücre ve antikor varlığı → enfeksiyonun başarıyla iyileşmesi
 - Hafif klinik
 - Doğal immünitinin çok kısa süre gecikmesi → asemptomatik enfeksiyon (%40)
 - T hücre ve antikor yanıtının hızlı gelişmesi → Hafif klinik seyir
 - Ciddi Klinik
 - Yetersiz IFN doğal yanıt → primer enfeksiyonunun kontrolünde yetersizlik → CXCL10, IL-6 ve IL-8 gibi sitokinlerin artışı → fatal seyir
 - Doğal immünitinin zayıf olması → INF 1 yanıtında defekt → ciddi klinik yüksek mortalite
 - Gecikmiş edinsel yanıtın doğal immün yanıt ile desteklenmesi → ciddi klinik

İmmün yanıt ve Klinik ilişkisi

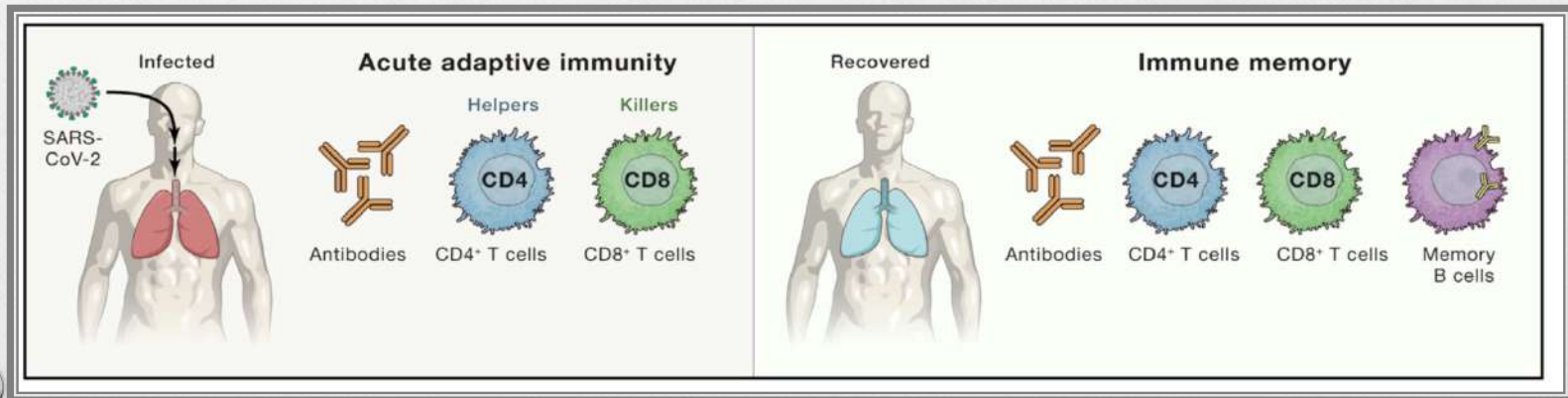
- SARS-CoV-2'ye özgü CD4+T hücreleri ve CD8+ T hücrelerinin hastalık şiddetinin azalmasıyla ilişkili iken aynı bireylerde nötralize edici antikorlar ilişkili bulunamamıştır.
- Klinik çalışmalarda SARS-CoV-2 nötralizan monoklonal antikor uygulamasının sınırlı etkinliği olmakta
 - Monoklonal antikor uygulaması ile kişinin hastalık sonrası geliştirdiği serokonversiyon arasındaki viral yük farkı = T hücre yanıtının virüs klirensi ve hastalığın kontrolünde önemli
- Hastalığı geçirmiş insanlarda çok az veya hiç nötralizan antikor bulunmayabilirken, yüksek miktarda spesifik T hafıza hücresinin varlığı= CD4+ ve CD8+T hücre kombinasyonu hastalığı kontrol altına almak için yeterli olacaktır.
 - Antikor yanıtı CD-4+T hücreler tarafından düzenlenmesine karşın serumdaki antikor miktarı T hücre yanıtı için prediktif değer değildir
- Nötralizan antikoru hasta insanda hastalığın iyileşmesine herhangi bir etkisi yokken sağlıklı insanın korunmasında etkilidir.
- Ciddi vakalarda
 - T regulator hücrelerin (Tregs) sayılarının düşük
 - Th2 cevabı yüksek IL-2, IL-6 and IL-10 ile birlikte,

Virüs yaşam mekanizmalarının Laboratuvar yansımaları

- LDH
 - CK
 - ALP
 - AST
 - ALP
 - GGT
 - Troponin
 - D-dimer
 - Fibrinojen
 - CRP
 - Lökosit
 - Ferritin
 - O₂
 - Lökopeni
- ACE 2 hücre dağılımı
- Sitokin fırtınası
- NS prot. Porfirin bağlanması+ ORF10, ORF3a'nın Hb-β1 halkasına bağlanarak parçalanması
- Thücre

Immun hafıza reenfeksiyon/hastalık ilişkisi

- 4 Major ve 2 subtip immünolojik hafıza tanımlanmıştır
 - Antikorlar
 - Bellek B hücresi,
 - Bellek CD4+ T hücresi,
 - Bellek CD8+ T hücresi
- Tüm bellek hücrelerinin subtipleri,
 - Lokal doku immünolojik bellek,



SARS-CoV-2 enfeksiyonunun immün hafızayı ve koruyucu bağışıklığı indüklemiyor !!!!???

SARS-CoV-2 immün hafızayı tetikliyormu?



Ne tür bir immün hafıza oluşturulur veya üretilmez?



Hafıza re-enfeksiyondan korur mu?



Hafıza Hastalıktan korur mu?



İmmün hafıza ne kadar kalıcıdır?

Diğer Coronavirüslerde kalıcı yanıt?

- HCoV-229E ve HcoVs gibi soğuk algınlığı benzeri hastalık etkeni coronaviruslarda re-enfeksiyonun engellenemiyor fakat hastalık tekrar oluşmuyor.

Callow, K.A., et al.1990. Epidemiol. Infect. 105, 435-446.
Edridge, A.W.D. et al. 2020. Nat. Med. 26, 1691-1693

- SARS-CoV-2 ile en yakın yapıya sahip olan SARS-CoV'a immün hafızası çalışmaları sonucunda
 - Bellek T hücreleri 17 yıl sonrasında halen var
 - Bellek B hücrelerinin 6 yıl içinde kayboluyor,
 - Nötralize edici antikorlar 17 yıl boyunca tespit edilmiş.

Le Bert et al., 2020 Nature 584, 457-462.
Tang et al., 2011 J. Immunol. 186, 7264-7268
Tan et al., 2020b Nat. Biotechnol. 38, 1073-1078.

- MERS hafif veya subklinik enfeksiyonu sonrasında
 - Spike IgG vakalarda 2 yıldan daha az,
 - Bellek T hücre 2 yıldan fazla

Sariol and Perlman, 2020 Immunity 53, 248-263.

SARS-CoV-2 enfeksiyon sonrası kalıcı yanıt?

- SARS-Cov-2 IgG titresi;
 - 3-4 ay devam etmekte.
 - 6 aylık izlemde %25 seronegatiflik ;
 - Dolaşım ve tükürükteki spike IgA titresinin IgG den daha hızlı kayboluyor

Gudbjartsson et al., 2020; N. Engl. J. Med. 383, 1724–1734

Wajnberg et al., 2020; Science 370, 1227–1230

Ward et al., 2020 medRxiv. <https://doi.org/10.1101/2020.10.26.20219725>

Isho et al., 2020 Sci. Immunol. 5, eabe5511

- Spike a karşı gelişen bellek B hücreleri enfeksiyondan sonra 30-90 gün izlenmekte
- Orta şiddette enfeksiyonlardan 90 gün sonrasında virus-spesifik bellek B ve T hücreleri ile antikor tespit edilmekte

Juno et al. 2020 Nat. Med. 26, 1428-1434
Nguyen Contant et al., 2020; MBio 11, e01991-20
Rodda et al., 2021 Cell 184, 169-183.e17..

- SARS-CoV-2 enfeksiyon sonrası 6. ayda
 - CD4+ T hücreleri için %90,
 - bellek CD8+ T hücreleri için %70 pozitiflik
- Bellek CD4+ T hücreleri, bellek CD8 + T hücrelerinden daha fazla.
- Bellek CD4+T hücre ağırlıklı olarak Th1 ve Tfh hücrelerinden oluşur
- RBD IgG, Spike IgA, RBD spesifik bellek B hücreleri, SARS-CoV-2'ye özgü CD4+ ve CD8+ T hücreleri
 - Hepsi 1. Ayda pozitif (+),
 - T hücre ve B hücre bellek ve antikorların
 - 5. Aydan sonra %95 pozitif (+),
 - 1. Yıldan sonra pozitiflik devam etmekte

Zuo et al., 2020 bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2020.11.01.362319>
Dan et al., 2021 Science, eabf4063. <https://doi.org/10.1126/science.abf4063>
(Gaebler et al., 2020; bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2020.11.03.367391>
Wajnberg et al., 2020 Science 370, 1227-1230)

Hatalığın seyri ve
iyileşme

Virüse ait faktörler

Lymphopenia

Decrease of:
T helper, T cytotoxic, memory T cell, T regulatory



CRS

High concentrations OF:
Pro-inflammatory cytokines:
IFN- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, IL-33, TNF- α
chemokines:
CCL2, CCL3, CCL5, CXCL8, CXCL9, CXCL10

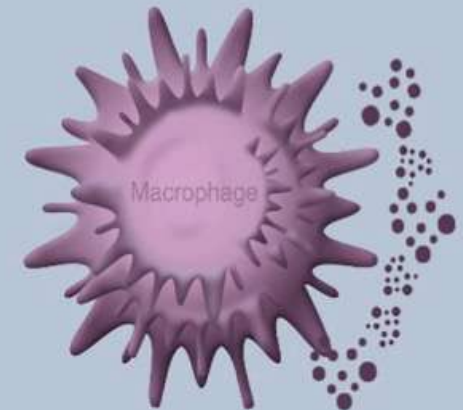
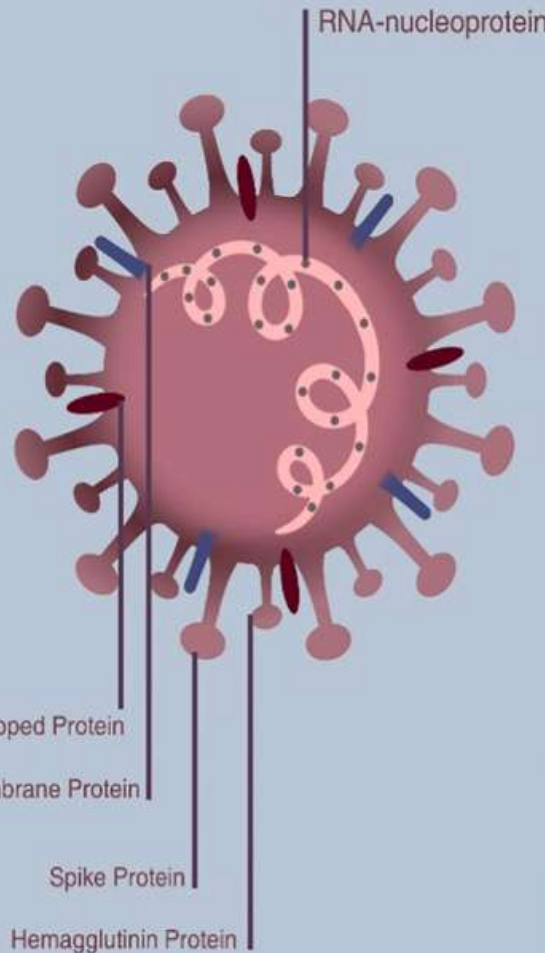


Neutrophilia

Increased neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR)

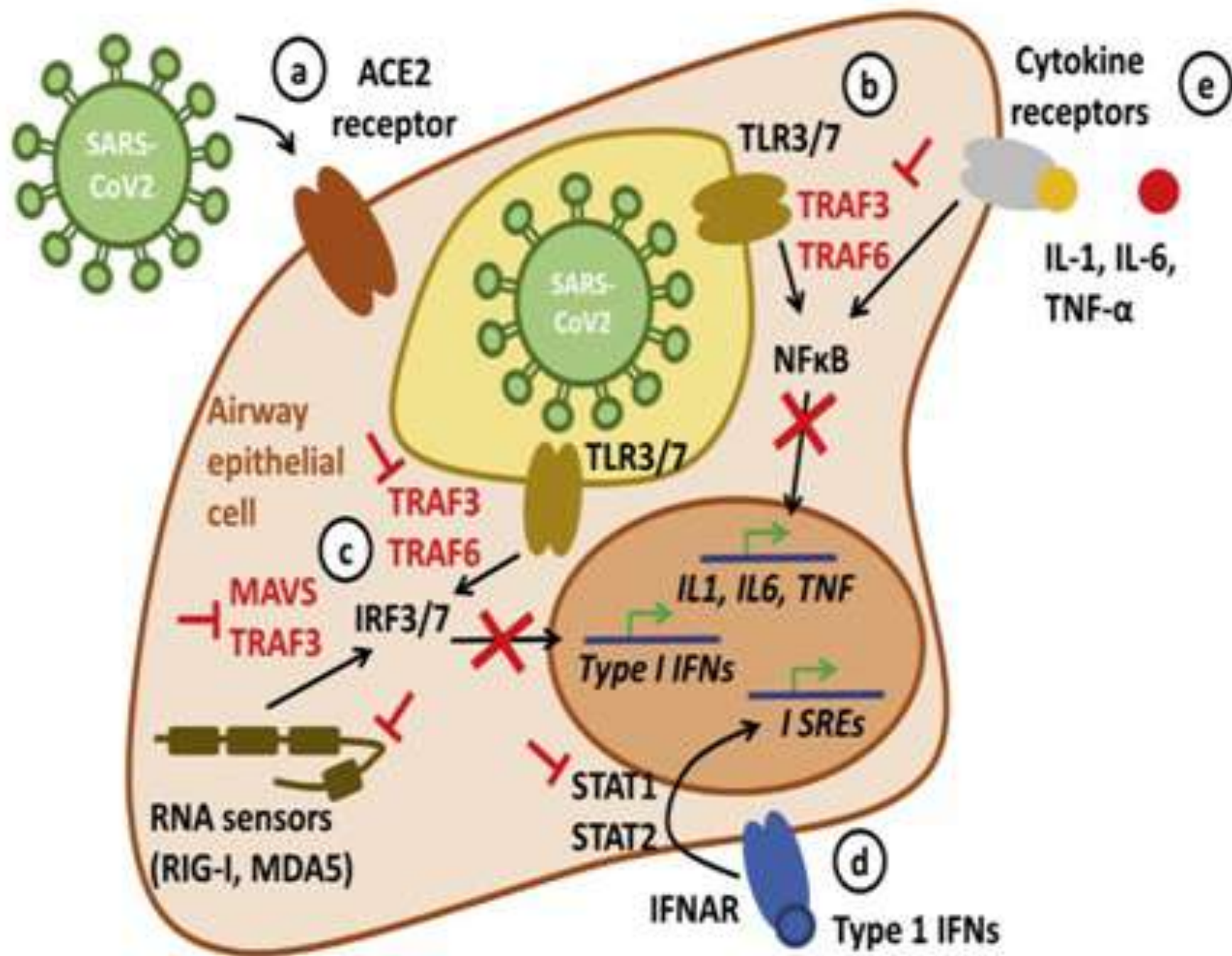
Delay or evade the innate immune response

Delayed or dampening type I Interferon (IFN) signaling and responses



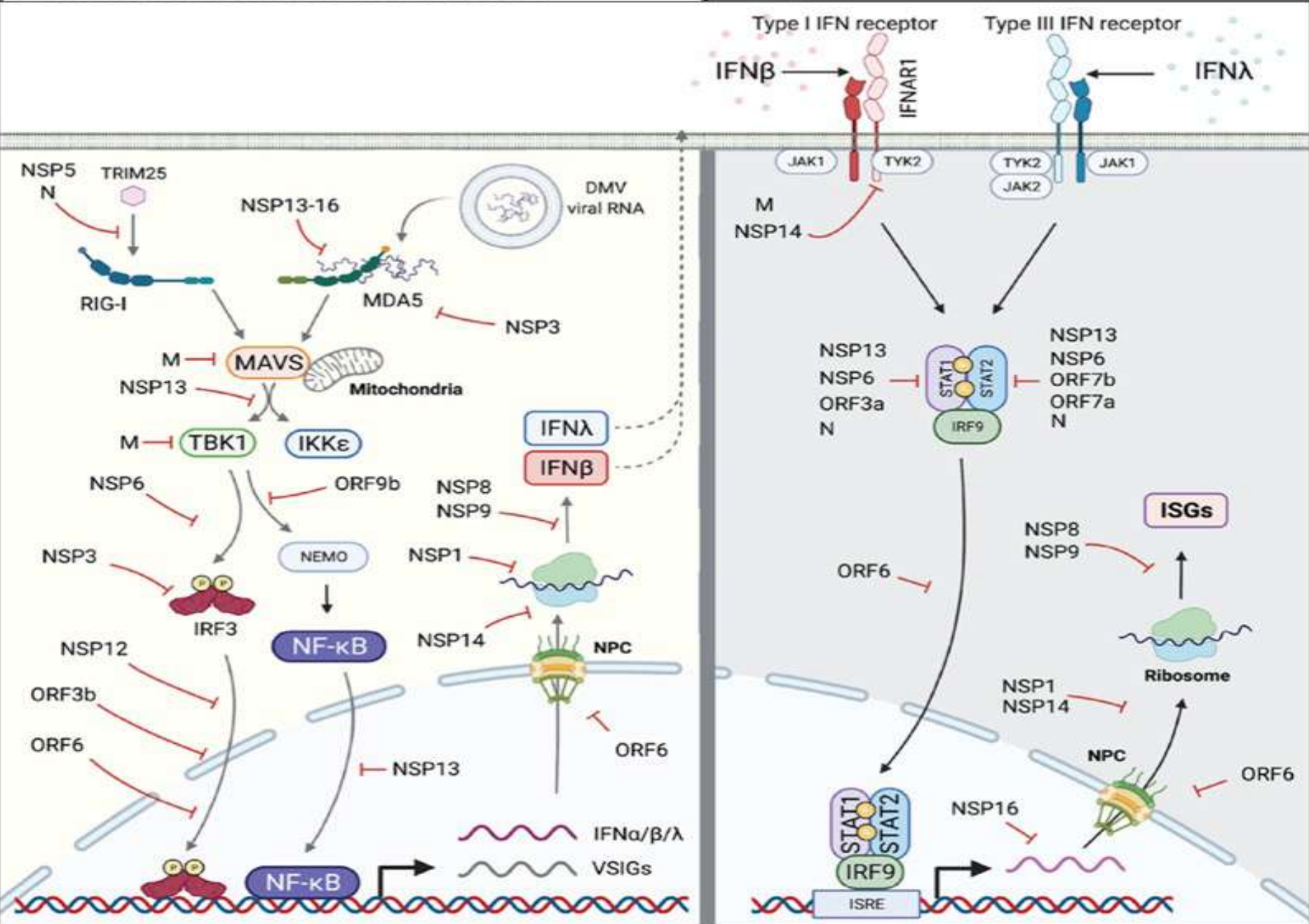
Monocyte/ Macrophage phenotypic changes

CD14+CD16+ , CD68+CD80+CD163+CD206+
Monocytes may be directly infected by COVID 19



Erken Antiviral Yanıt

Geç Antiviral Yanıt



Virüs dışı nedenler

- Yapılan genetik çalışmalar yaşamı tehdit eden SARS-Cov2 vakalarında hastalığın ciddiyetinde;
 - INF sentezinde rol oynayan moleküler regülatörlerin (TLR3, UNC93B, TICAM1, TBK1, IRF3 ve IRF7) genetik bozukluğu,
 - Tip I IFN sinyal iletimi (IFNAR1 ve 2) bozukluğu,
 - Tip I IFN ve IFN- α 2 ye karşı gelişen nötralizan antikorların varlığı önemli belirleyicidir.

Sonuç

- Virüsün yok edilmesinde etkili doğal ve edinsel yanıtta
 - Virüsün yapısal ve yapısal olmayan elemanların blokan etkisi
 - Yanıtın gelişmesinde genetik faktörler
 - HLA alleri
 - INF yanıtısızlığı
 - Yanıtta karşı antikor gelişimi
 - Koruyucu ve bellek gelişiminde yetersizlik

COVID-19 ÖNEMLİ BİR GLOBAL SORUN

