

# A koronavírus-betegség immunológiája

Dr. Nagy László Béla

## A KORONAVÍRUS SZERKEZETE

A koronavírus-betegséget (Covid-19) okozó SARS CoV-2 vírusnak négy strukturális proteine van: az S (spike), az N (nucleocapsid), az M (membrane) és az E (envelope). A nem strukturális proteineknek a replikációban van szerepük. Az S-protein egy csúcsot képez a vírus felszínén, ami egy külső (ectodomén) és egy belső doménből (endodomén) áll, és ezeket egy transzmembrán rész köti össze. Az S-protein egy nagy méretű fehérjemolekula, melynek csak bizonyos aminosav-szekvenciái vesznek részt a receptorhoz való kötődésben. Ez a két funkcionális alegység az S1 és az S2. Az S1 felelős a sejt felszíni receptorhoz való kötődésért, míg az S2 a membránhoz horgonyozza a vírust, ami majd lehetővé teszi a fúziót a sejtmembránnal. Az S-proteint a szervezet proteázai hasítják, és így módon a kötődés irreverzibilis lesz. A legfontosabb a TMPRSS2 szerin-proteáz<sup>1</sup>. A vírus és a sejtmembrán fúziójából endocitózissal létrejön a vírust tartalmazó endoszóma, majd ebből a vírus nukleokapszidja kiszabadul a citoplazmába. A sejtmagba jutva a vírus genom RNS-e transzlációval hozza létre a strukturális proteinek, transzkripcióval a vírusreplikációt<sup>2</sup>. Újabban kimutatták, hogy a vírus bejuthat a sejtbe a tüskefehérjének a sejt CD 147 transzmembrán glükoproteinjéhez való kötődése által is<sup>3</sup>.

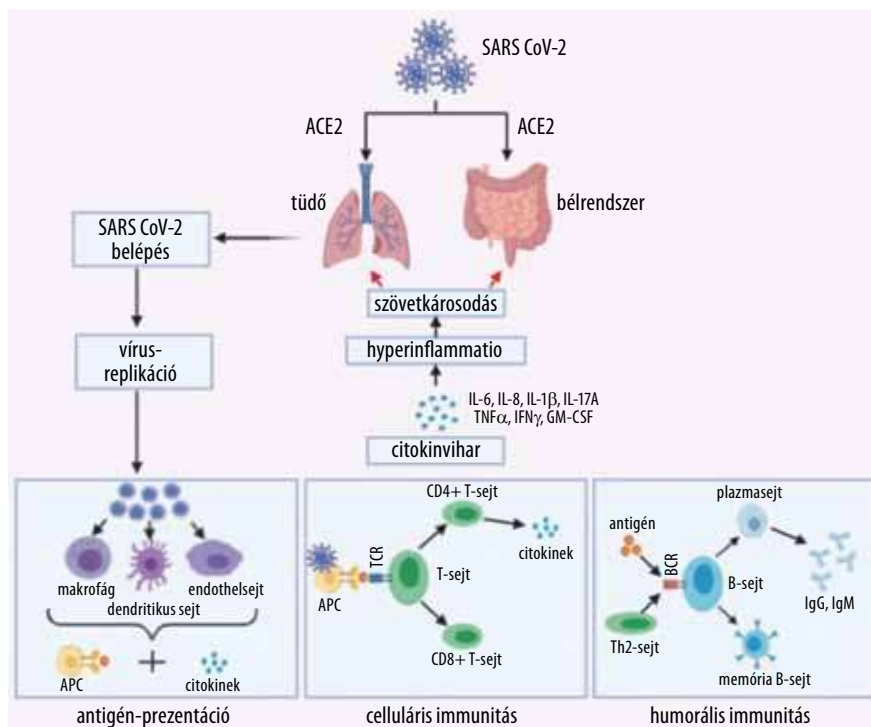
A vírus ellen természetes és adaptív immunválasz jön létre. E kettőt csak didaktikai szempontból lehet szétválasztani, mivel a va-

lóságban egy bonyolult, hálózatos kölcsönhatásban működnek (1. ábra).

## TERMÉSZETES (VELESZÜLETETT) IMMUNVÁLASZ

### A légúti hám

A vírus először a légúti hámval találkozik, hiszen ez a barrier. De ez az első védelmi vonal is. Immunológiailag is aktív, károsító behatások-



**1. ábra:** A koronavírus elleni immunreakciók sémája (Chatterjee SK, et al. *Front Mol Biosci* 2020;7:196. – Creative Commons Licence 4.0)

ra antimikrobiális mediátorok széles skáláját szekretálja (lizozim, defenzinek, kollektinek, komplementkomponensek). Számos ilyen molekula az immunrendszer számára veszélyt jelez. De a hámsejtek rendelkeznek patogén asszociált minta felismerő receptorokkal is, és ezen behatásokra a hámsejtek kemokineket és citokineket termelnek, melyek aktiválják az immunsejteket. Covid-19 esetén a hörgőmosó folyadékból származó légúti hámsejtekben – a Clara-sejtekben, a bazális sejtekben és a csillószőrös sejtekben egyaránt – jelentősen megváltozott gén transzkripciót találtak: 65 gén upregulált, 53 downregulált volt. Ezek főleg az interferon úttal és a citokin szignalizációval kapcsolatos gének. Ez azt jelenti, hogy a vírus képes befolyásolni a proteinek translációját. Ezen gének termékei aztán befolyásolják az immunsejtekben a fagoszómát, az antigén feldolgozást, az antigén-prezentációt, az interferon (IFN)- $\alpha/\beta$  jelátvitelt<sup>4</sup>. *In vitro* a nasopharingeális mintából, hörgőmosó folyadékból és hörgő kefebiopsziából származó hámsejtek fokozottan expresszálnak kemokineket kódoló géneket (CXCL6-16-17, CCL 28). A súlyos esetekben nagyobb volt különféle sejteken a kemokin és a kemokin receptor expresszió. Ennek megfelelően nagyobb mértékű a hámsejtek és az immunsejtek kölcsönhatása<sup>5</sup>.

### Patogén felismerő receptorok

Az immunrendszernek legelőször is fel kell ismernie az idegen anyagot. Ez a PAMP (pathogen associated molecular pattern, patogén asszociált molekuláris minta) receptorokkal történik. Ezek nem egy specifikus antigén epitopot ismernek fel, hanem a patogének jellegzetes molekuláris mintáit.

Ezen receptoroknak több családjuk van. Ilyen a TLR (toll-like) receptor család, mely a sejtmembránban és az endoszómákban, valamint a RIG-I-like (retinoid acid-inducible gene-I) receptor család, mely a citoszolban ismeri fel a PAMP-ot. Mindkettőnek fontos a szerepe a vírusok molekuláris mintáinak felismerésében. A NOD-like (nucleotide oligomerisation

domain) receptor család, mely elsősorban baktérium sejtfalból származó peptidoglikánokat ismer fel extra- vagy intracellulárisan, de vírus-asszociált mintákat is felismer. A minta receptorhoz való kötődése jelátviteli utat indít be, melynek következménye citokinek és kemokinek felszabadulása lesz. Ezek aktiválják a természetes immunrendszer sejtjeit (dendritikus sejtek, makrofágok, természetes ölü sejtek), melyek részben további jelátvitellel citokinekkel, kemokinekkel hatnak más immunsejtekre, részben saját maguk is fagocitózissal (makrofágok) vagy toxicitással (természetes ölü sejtek) hatnak a kórokozókra.

Jelen esetben a vírusnukleinsavat felismerve a mintafelismerő receptorok specifikus adapter proteinekkal aktiválják az IRF3 és 7-et (Interferon Regulatory Factor 3 és 7), majd utóbbiak a sejt-magba transzlokálódva beindítják az I-es típusú interferon szintézisét. Az I-es típusú interferon aktiválja a JAK-STAT jelátviteli utat, elősegítve az interferon stimulálta gének expresszióját. Az interferon a legfőbb antivirális molekula: gátolja a vírus terjedését és immunmoduláns hatást fejt ki számos más immunsejtre.

SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome) esetén a TLR-receptorokra vonatkozó adatok ellentmondásosak. Van olyan eredmény, miszerint a fertőzés ezen receptorok génjeinek expresszióját nem fokozza<sup>6</sup>, más adatok szerint viszont fokozza<sup>7</sup>. A RIG-I receptorokat a koronavírusok az ubikvitinnek a fehérjéről való lehasításával (deubikvitináció) hatástalanítják<sup>8</sup>.

A NOD-like receptorok különböző inflammaszóma-aktíválókat aktiválnak. Az NLRP3 (NLR family pyrin domain containing 3) inflammaszóma aktiválása két jelet igényel. Az egyik a patogén felismerő receptorokból ered, és nuclear factor (NF)- $\kappa$ B aktiváció útján történik. A másik jelet pedig valamely egyéb károsító stimulus adja. Ennek eredménye az lesz, hogy a pro-kaspáz-1 autohasadása után a kaspáz-1 a pro-interleukin-1 $\beta$ -ből és a pro-interleukin-18-ból proteolízissal aktívát csinál, melyek aztán számos további jelátvitelt és citokin felszabadulást indukálnak. Ezáltal az inflammaszóma

kulcsszereplő az antivirális hatásban<sup>9</sup>. SARS-ban kimutatták, hogy ez az aktiváló jel a vírus viroporin3 transzmembrán pórusképző proteinjé<sup>10</sup> vagy az NLRP-3 fontos adaptor proteinjének ubikvitinációja, mely TRAF-3 (TNF receptor associated factor 3) dependens<sup>11</sup>.

Az NLRP3 inflammaszóma aktiválódását kimutatták Covid-19 esetén is. A vérben a hospitalizált esetekben az interleukin (IL)-1 $\beta$  szint jelentősen emelkedett. Márpedig ez az inflammaszóma aktiválódásának jele. Az aktiválás triggere a koronavírus S-proteinje. Ez *in vitro* a perifériás vér monocitáiból indukált makrofágokban – az inflammaszómát aktiváló jelet adó nigericin jelenlétében – kifejezett IL-1 $\beta$  szekréciót indított meg. Megnőtt a makrofágokban az IL-1 $\beta$  mRNS expresszió is. A szelektív NLRP-3 gátló pedig mindezt megakadályozta<sup>12</sup>. Az inflammaszóma aktiválódását közvetlenül is bizonyították az NLRP-3 inflammaszóma esetében a perifériás vér mononukleáris sejtjeiben és autopszia során. Az inflammaszóma eredetű termékek (Casp1p20, IL-18) a szérumban korreláltak a megbetegedés súlyosságával<sup>13</sup>.

### Dendritikus sejtek

Hivatásos antigén-prezentáló sejtek, de citokinek is termelnek. Heterogén sejtpopuláció, fő fajtái a myeloid (konvencionális) és a plasmacytoid dendritikus sejtek. Citokinjeik között alapvető az I-es típusú interferon, mely számos más immunsejtet stimulál. A perifériás vérből vett myeloid eredetű dendritikus sejteket *in vitro* SARS vírussal megfertőzve nem következett be érés, nem jelentek meg az érési markerek (CD83, CD86, MHC I és II), és interferon vagy IL-2 gén expressziója sem történt meg. Ellenben ezen éretlen sejtekben fokozódott a proinflammációs gének – IL-6, TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ ) – kifejeződése, valamint a kemokinek expressziója<sup>14</sup>. Humán perifériás vérből vett myeloid dendritikus sejteket *in vitro* SARS vírussal fertőzve, azok sem apoptoszt, sem érést (CD40, CD86, CD83 HLA-DR expresszió) nem mutattak, de stimulációra

fokozott IL-6 termeléssel válaszoltak<sup>15</sup>. Mindez azt jelenti, hogy funkciójuk károsodott.

Hasonló vizsgálatban észlelték SARS vírus hatására a plasmacytoid dendritikus sejtekben az I-es típusú interferon termelés fokozódását, de a konvencionális dendritikus sejtekben nem<sup>16</sup>. A mostani Covid-19 esetén egy vizsgálat a vérben mind a plasmacytoid, mind a konvencionális dendritikus sejtek számát csökkentnek találta, bár az arány eltolódott az interferon-I termelő plasmacytoidtól a konvencionális javára. A funkciójuk csökkent volt (CD86, CCR 2, HLA-DR kifejeződés). Ez azt jelenti, hogy az antivirális interferon termelés csökkent, és nem prezentálnak antigént a T-sejtek felé, utóbbit *in vitro* is igazolták<sup>17,18,19,20</sup>.

### Makrofágok és monocyták

A makrofágok hivatásos falósejtek, de emellett részt vesznek az antigén-prezentációban is, továbbá számos kemokin és citokin termelésével befolyásolják a többi immunsejtet (CXCL-8, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12, TNF- $\alpha$ , stb). Polarizációjukat és funkciójukat különböző citokinek és jelátvitel szabják meg.

Covid-19 esetén a vérben a monocyta számot változó nagyságúnak mérték<sup>17,19,24</sup>, de abban egyetértés van, hogy a monocyták fenotípus rekonfiguráción estek át. A klasszikus fenotípusúak száma csökken, a nem klasszikus fenotípusúaké emelkedik, és a súlyos esetekben az eltolódás nagyobb<sup>17,21,23,24</sup>. Megjelennek intermedier fenotípusú monocyták is, melyek makrofág markereket expresszálhatnak, és pedig kevert, M1 és M2 markereket (CD80 és CD206) egyaránt<sup>24</sup>. Enyhe esetekben nőtt a klasszikus, gyulladásos fenotípus aránya, erős interferon gén stimulálta jegyekkel. Ezzel szemben súlyos esetekben az éretlen, szupresszív, klasszikus monocyták jelentek meg kicsi HLA-DR kifejeződéssel, az erőltetett myelopoiesis jeleként<sup>22</sup>. A monocyták MHC I és II, HLA-DR kifejeződése csökkent, ami azt jelenti, hogy az antigén-prezentáló képességük kisebb<sup>17,21,22,24,25</sup>.

A citokintermelésüket illetően nem észlelték, hogy nagy mennyiségű proinflammációs

citokint termelnének<sup>17,21</sup>. Válaszkészségük csökkent<sup>25</sup>, ugyanakkor nőtt a PD-1 és PD-L1 expressziójuk<sup>17, 21, 25</sup>, ami a kimerülésükre és fokozott apoptózisra utal.

A pleurális folyadékban az M2 makrofág markerek szintje (CD163 és CD206) emelkedett, a proinflammációs markereké csökkent<sup>26</sup>. A hörgőmosó folyadékban több makrofág van, mint a perifériás vérben<sup>27</sup> és az összetételük is más: nő a myeloid eredetűek aránya és csökken a többi altípusé. A súlyos lefolyású esetekben több volt a makrofág az enyhékhez képest, nőtt az M1 és csökkent az M2 makrofágok száma. A klasszikus fenotípus aránya emelkedett, a nem klasszikusaké és intermediereké csökkent<sup>14,28</sup>. Ugyanakkor a hörgőmosó folyadékban lévő makrofágok aktiváltak, fokozott a kemokinek és proinflammációs citokinek expressziója, de kicsi az interferon termelésük<sup>19,20,28</sup>. Az enyhe és a súlyos esetek makrofág összetétele eltérő: az enyhében dominálnak a monocyta eredetűek (FCN1 gént expresszálók), súlyosban az alveoláris (FABP4 gént expresszáló) és a profibrotikus (SPP1 gént expresszáló) makrofágok<sup>28</sup>.

### **Természetes ölü (natural killer) sejtek**

Nem antigénspecifikus, veleszületett effektor sejtek (CD56<sup>bright</sup> CD16<sup>-</sup>, illetve CD56<sup>dim</sup> CD16<sup>+</sup> sejtek). Perforinok és granzimek segítségével elpusztítják a káros részecskéket, kórokozókat. Interferon- $\alpha$  és  $\beta$  aktiválja őket, maguk pedig interferon- $\gamma$  termeléssel stimulálnak más immunsejteket. SARS betegek perifériás vérében mind az össz-számuk, mind a működésükben fontos szereppel bíró CD158b receptor pozitívok száma csökkent, és ez korrelált a betegség súlyosságával<sup>29</sup>. A Covid-19 járvány betegeinél számuk a vérben szintén csökkent<sup>17,21,30,31,32,33</sup>.

A perifériás vér természetes ölüsejtjeinél fenotípus rekonfiguráció történt, de heterogéneen. A CD107a aktivációs marker expressziója csökkent, nem expresszáltak jelentős mértékben proinflammációs citokineket (IFN- $\gamma$ , IL-2, TNF- $\alpha$ )<sup>25</sup>, és csökkent az ezeket termelő sejtek (CD56<sup>bright</sup>) aránya is<sup>17</sup>. Kisebbséget a citotoxicitás, csökkent a granzim B és a granzim termelés,

és csökkent az ezt termelő fenotípus (CD56<sup>dim</sup>) aránya<sup>17</sup>. A korai fázisban domináltak az érett formák (CD56<sup>dim</sup> CD16<sup>+</sup>) az éretlenekkel szemben (CD56<sup>bright</sup> CD16<sup>-</sup>). Eszerint alakult a terminális differenciálódási marker CD57 expresszió is. A CXCR 6-ot expresszáló aránya csökkent, feltehetően azért mert a tüdőbe áramlottak<sup>31,32</sup>.

Ugyanakkor az NKG2A immunellenőrzőpontok száma emelkedett, ami gátolja a citotoxicitást azáltal, hogy nem kötődik a klasszikus HLA-E molekulához<sup>33</sup>. A LAG3 és HAVCR2 expresszió fokozott, ami kimerülésre utal<sup>17</sup>. A PD1 expresszió is fokozott<sup>32</sup>.

Az nem tisztázott, csak feltételezhető, hogy a vérben csökkent számuk azt jelenti, hogy a fertőzött szövetekbe vándoroltak. Covid-19 esetén a hörgőmosó folyadékban a nyugalomban lévő ölüsejtek száma kisebb, mint egészségeseken, az aktiváltaké azonos. Ez a vizsgálat a megbetegedés csúcán történt. Későbbi stádiumban viszont a hörgőmosó folyadékban az egészségesekéhez képest nagyobbak észlelték a számukat, de a súlyos esetekben ez kevesebb volt, mint az enyhébbekben<sup>28,34,35</sup>. De akárcsak a vérben, a hörgőmosó folyadékban is fokozott volt az NKG2A és a PD-1 inhibitoros receptor expresszió és a CD39 expresszió<sup>36</sup>.

### **A természetes immunrendszer egyéb sejtjei**

Az innat-like lymphoid (ILC) sejteknek a felszíni markerek, a transzkripció faktorok, a citokin profil és az effektor funkciók alapján több típusa van. Nem antigénspecifikusak, ezért a természetes immunrendszerhez tartoznak, ugyanakkor átmenetet képeznek a szerzett immunrendszer felé, és kölcsönhatásban vannak a T-helper és a B-sejtekkel. Két fő csoportjuk van: a citotoxikus (ide tartoznak a natural killer sejtek is) és nem citotoxikus helper sejtek (ILC-2-3). Az ILC-2 és 3 sejtek száma a Covid-19 miatt intenzív terápiára szorultak vérében csökkent<sup>37</sup>. A vérben mérsékelten súlyos esetekben nő az ILC-2 sejtek aránya és csökken a prekurzoraié. Ezek aktiváltak voltak, amit CD69 és kemokin expresszió mutatott. Csökkenésük a vérben arra utalhat, hogy a szövetekbe áramlottak<sup>38</sup>.

Az innat-like, más néven nem konvencionális T-sejtek innat, azaz veleszületett típusúak, mert nem antigénspecifikusan, függetlenül reagálnak, de ugyanakkor expresszálnak  $\alpha$ ,  $\beta$  vagy  $\gamma/\delta$  T-sejt receptorokat. Ide tartoznak a mukóza asszociált invariáns T-sejtek és az invariáns természetes ölü T-sejtek is. Covid-19 esetén a vérben a  $\gamma/\delta$  sejtek aránya csökkent, az  $\alpha/\beta$  sejteké nőtt<sup>17,37</sup>. Egyetlen eset kapcsán a  $\gamma/\delta$  arányának többszörös emelkedését is leírták<sup>39</sup>.

A természetes ölü T-sejtek ugyancsak a rendszer két része közötti átmeneti alakot képviselik. A természetes ölüsejtekre jellemző markereket is hordoznak, de T-sejt receptorokkal is rendelkeznek. Közvetlenül is képesek PAMP-ot felismerni, de MHC prezentált antigént is. Számuk a vérben Covid-19 esetén kisebb<sup>31</sup>.

A mukóza asszociált invariáns T-sejtek azért invariánsak, mert a T-sejtes receptoraik invariánsak. Ugyanakkor innat-like szenzorokkal is rendelkeznek. Részben proinflammációs citokinek termelnek (interferon-I, IL-18), és ezzel adaptív T-sejteket toboroznak, de emellett termelnek granzim B-t is. Covid-19-ben a vérben a számuk csökkent. Aktiváltak és citotoxikus fenotípusúak, sok granzim B-t termeltek. Jelentős volt az IL-17 expressziójuk is. CD69 és CD38, de PD-1 pozitívak is voltak<sup>37,40</sup>. A hörgőmosó folyadékban a számuk emelkedett<sup>40</sup>.

Súlyos esetekben a keringő vérben a különböző fajta nem konvencionális T-sejteket vizsgálva az invariáns és a mukóza asszociált sejtek aránya csökkent, a  $\gamma/\delta$  sejtek aránya nem változott. Ezzel párhuzamosan a légutakban a mukóza asszociált T-sejtek aránya nőtt, de a teljes nem konvencionális T-sejt és a  $\gamma/\delta$  sejtszám nem. Fokozottan expresszálták a CD69 aktivációs markert és nőtt a PD-1 pozitívak aránya is<sup>41</sup>.

A myeloid eredetű szuppresszor sejtek a T-sejt aktivációt gátló regulációs sejtek heterogén csoportja. PAMP vagy DAMP aktiválja őket, és a monocytákra vagy granulocytákra több mechanizmussal is szupprimáló hatást fejtenek ki. Covid-19-ben számuk a perifériás vérben emelkedett<sup>34</sup>.

## Komplementrendszer

A vérplazmában és más testnedvekben lévő glükoproteidek szintén nem antigénspecifikusak. Idegen felületek, szénhidrát struktúrák, antigén-antitest komplexek aktiválnak egy proteáz kaszkádot, melynek végeredménye lízis, opszonizáció és gyulladásozó sejt toborzás.

Covid-19 súlyos eseteiben a komplement-fehérjék szintje magasabb, mint enyhébb esetekben vagy egészségeseknél. A komplementrendszer lektin aktivációs útja összefügg a szérum MBL (mannose-binding lectin) minta felismerő proteinjével, ami a MASP-2 (MBL-associated serine protease-2) enzimmel együtt aktiválja a komplementrendszert. Covid-19 esetén a koronavírus N (nucleocapsid)-proteinje lép kölcsönhatásba a MASP-2 enzimmel, azt aktiválja, ami után megtörténik a C4 (complement protein-4) hasítása<sup>42</sup>. Covid-19-ben kimutatták a komplement klasszikus úton történő aktivációjához szükséges gének működését is. Mind a vér, mind a hörgőmosó folyadék myeloid sejteiben magasabb a C5aR1 expresszió, ami receptora az ugyancsak megemelkedett C5a-nak<sup>36</sup>.

## Neutrophil sejtek

A neutrophilek a toborzó kemokinek hatására áramlanak a célszövetbe és aktiválásuk részben a Th17 sejtek általi stimuláció. De maguknak is vannak PAMP felismerő és phagocytá receptorok. Covid-19 betegeknek a perifériás vérben a súlyossággal párhuzamosan nő a neutrophil/lymphocytá arány<sup>43</sup>, de ennek oka lehet a lymphocyták számának csökkenése is. Az abszolút neutrophil sejtszám a mortalitással U-alakú összefüggést mutat. Mind alacsony, mind magas sejtszám esetén nagyobb volt a mortalitás, mint a középső tartományban<sup>44</sup>. Súlyos esetekben a perifériás vérben diszfunkcionális (ARG1+ MPO+ BPI+) pre-neutrophileket és éretlen (ARG1+ CD101+ S100A8/A9+) neutrophileket észleltek, ami erőltetett myelopoiesisre utal<sup>45</sup>.

Boncolt esetekben a tüdőszövetben mononukleáris sejt infiltrációt láttak, de jelentős neutrophil beszűrődést nem<sup>46</sup>. Megvizsgálták a vérben a neutrophil extracelluláris csapdá-



kat (NET) is. Ezek a széteső neutrophilekből származnak, neutrophil DNS-t tartalmaznak, melyet hisztonok és antimikrobiális peptidok vesznek körül, oxidáns enzimekkel együtt. A gyulladás súlyosbodását jelzik, microvasculáris thrombosisra és ARDS-re hajlamosítanak. Ennek a sejtmentes DNS-nek a mennyisége korrelál a CRP és a D-dimer szinttel, Covid 19-ben pedig a súlyossággal korrelálva emelkedik<sup>47,48,49</sup>.

**1. táblázat:** A koronavírus védekezése a természetes immunválasz ellen

<i>Strukturális proteinek</i>	
N-protein	Ismeretlen mechanizmussal gátolja az interferont.
M-protein	Az interferon transzkripciót akadályozza a TBK1/IKK-epszilon kináz úton.
<i>Nem strukturális proteinek</i>	
NSP1	Antagonizálja az interferont. Kötődik a riboszóma 40S alegységéhez, ez a komplex elzárja az mRNS bemeneti csatornáját, és megszakítja a translációt, továbbá gátolja a STAT1 foszforilációját. A PLP protein (papain-like proteáz) kölcsönhatásba lép a STING-gel, blokkolja az IRF3 foszforilációját, megszakítva ezáltal a jelátviteli utat, emellett blokkolja az NF- $\kappa$ B jelátviteli utat is.
NSP3	Késlelteti a interferon aktivációt, ezzel megnyújtja a vírus szaporodásához rendelkezésre álló időt.
NSP5	Kölcsönhatásba lép a hiszton deacetiláz-2 enzimmal, és csökkenti annak a sejtmagba történő transzlokációját.
NSP6	Kötődik a TBK1-hez (TANK binding kináz 1), ezáltal szupprimálja az IRF3 (interferon regulatory factor 3) foszforilációját, ami fontos lépése az interferon- $\beta$ stimulációjának.
NSP 8 és 9	Kötődik a jelfelismerő részhez, és megszakítja a folyamatot.
NSP13	Hasonlóan hat, mint az NSP6.
NSP14	Gátolja az IFN- $\beta$ termelést, megakadályozva az IRF3 sejtmagba történő bejutását.
NSP15	Hasonlóan hat, mint az NSP13.
NSP16	Kötődik az mRNS felismerő doménjéhez, és blokkolja azt.
<i>Kiegészítő proteinek</i>	
ORF3b	Indukálja a MAVS/RIG-I-et, és ezzel antagonizálja az interferon jelátvitelt. Ugyancsak ez mediálja az IRF3 és az NF- $\kappa$ B transzkripció aktivációját. Covid-19-ben az ORF3a több sejtvonalon is inkomplett autofágiát okozott. Megakadályozza a kettős membránú autofagoszóma érését, emiatt az nem egyesül a lizoszómával és nem valósul meg a vírus lizoszómális degradációja <sup>58</sup> .
ORF6	Akadályozza a JAK-STAT jelátviteli utat. Emellett kötődik a karyopherin $\alpha$ -hoz, ami egy kiegészítő faktor, és ezzel megakadályozza az IRF3-nak a sejtmagba történő transzlokációját <sup>55, 56, 64</sup> .
ORF7	Akadályozza a STAT foszforilációt.
ORF8	Gátolja az interferon- $\beta$ promoter aktivációját <sup>59,60</sup> .

**Eosinophil sejtek**

A Covid-19 betegek jelentős részénél eosinopenia észlelhető és a perifériás vér eosinophil sejtszáma a lymphocyta számmal párhuzamosan alakul. Ennek sem a mechanizmusa, sem a jelentősége nem ismert. Van adat, miszerint a súlyos esetekben nagyobb mértékű, de más vizsgálatban ezt nem észlelték. Az ismert, hogy az eosinophil sejtek nemcsak allergia esetén bírnak fontos szereppel, hanem potens proinflammációs sejtek is, melyeknek a működése érinti a szerzett immunitást és az antivirális választ is<sup>50,51,52</sup>. A gyulladás során viszont az eosinophil sejtszám emelkedését észlelték. Lehetséges, hogy ezt a GM-CSF (granulocyta macrophag colonia stimuláló faktor) váltja ki.

**Hízósejtek**

A hízósejtekről ma már jól tudjuk, hogy nemcsak az allergiás reakciók szereplői, hanem pl. vírusok hatására is aktiválódnak, majd citokineket és kemokineket termelve részt vesznek a gyulladás kiváltásában. ACE2 (angio-tenzin konvertáló enzim 2) receptorokkal rendelkeznek, és számos szerin-proteázot termelnek. A szerin-proteázoknak szerepük van a koronavírus ACE2 útján megvalósuló sejtbe kerülésében. Erre vonatkozó adatot azonban nem ismerünk<sup>53</sup>. Akut és súlyos Covid-19-ben a vérben keringő basophil sejtszám csökkenését is észlelték<sup>13</sup>.

**A SARS koronavírus védekezése a természetes immunválasz ellen**

A szervezet vírus elleni védekezésének kiinduló lépése az I-es típusú interferon termelés, mely aztán aktiválja a további lépéseket, és ezzel gátolja az infekciót. Ezt kimutatták Covid-19 esetén is<sup>56</sup>. A koronavírusnak azonban több proteinjé is képes gátolni az interferon választ (1. táblázat és 2. ábra)<sup>54,59,60,61,62</sup>.

Az alapvető probléma a nem megfelelő I-es típusú interferon termelés, mert ez az antivirális védekezés első vonala. A RIG-I-hez kötődő vírus-RNS aktiválja a RIG-I CARD doménjét

(caspase activation and recruitment domen), ami kölcsönhatásba lép a MAVS (mitochondrial antiviral signaling) fehérjével, ami ezután multiplex jelátvitelt indít be. Ennek eredményeként aktiválódik az IKK-ε (inhibitor of κ-B kinase ε) és a TBK1 (TANK binding kinase 1). Ezek foszforilálják az IRF3-at, és ez transzlokálódik a sejtmagba, ahol beindítja az I-es típusú interferon transzkripciójának génjeit. Az interferon-I a receptoraihoz kötődve pedig további jelátviteli utakon át (Janus kinase 1, STAT 1 és STAT2) végtermékben antivirális funkciókat indít be, melyek leállítják a vírus replikációját<sup>62</sup>.

A SARS-CoV-2 viszont gátolja a RIG-1 vagy a TLR jelátvitelt, illetve blokkolja az IRF3 aktivációt. Csökken a makrofág infiltráció és nő a neutrophil toborzás. A fertőzött légúti hámsejtekből felszabaduló IL-6, IL-1β és IFN I/III a rezidens makrofágokban gyulladást programot indít be, valamint a vérkeringésből gyulladást monocyta, granulocytákat és lymphocytákat toboroz. Az állandósult magas IL-6 és NF-κB szint az érkező monocytaokban nagyfokú gyulladást kaszkádot tart fenn. A gyulladást monocytaiból keletkező makrofágok több úton sokszorozzák a diszfunkcionális immunválaszt. A gyulladást választ neutrophil sejthalál egy speciális formáját (NETosist) és mikrothrombus képződést indukált, súlyosbítva a Covid-19 lefolyását. Más myeloid sejtek (pl. plasmocytoid dendritikus sejtek) is szerepelnek a folyamatban. A monocyta eredetű CXCL9 és 10, 11 a vérből természetes killer sejteket toboroz. Ezek kölcsönhatásban vannak a hámsejtekkel és a makrofágokkal.

Covid-19 esetén a természetes immunválasz hatásossága limitált, annak ellenére, hogy a kórképet a természetes immunrendszer hiperaktivációja jellemzi.

**SZERZETT IMMUNVÁLASZ**

**Lymphocyták**

Valamennyi klinikai tudósítás egybehangzó eredménye szerint Covid-19 esetén a perifériás vérben lymphopenia van.

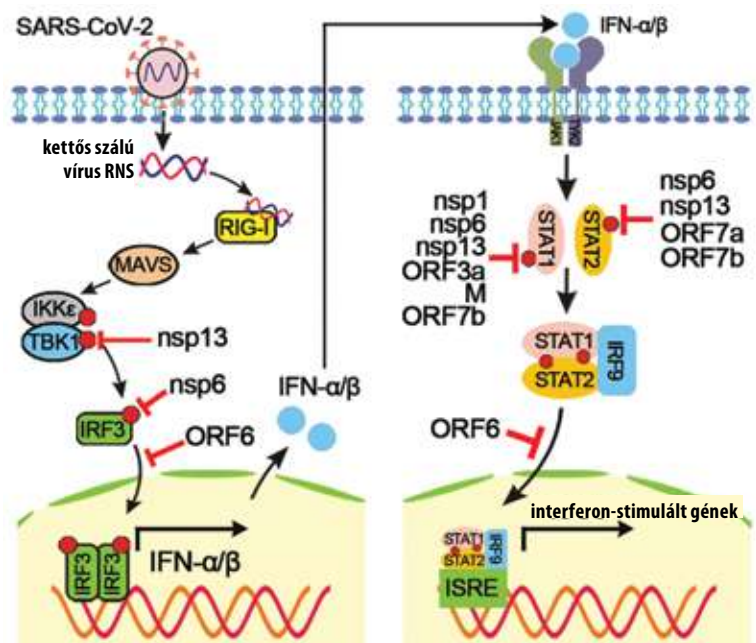
**T-sejtek**

Fő altípusai a T helper (Th) 1-, Th2- és Th17-sejtek. A perifériás vérben csökkent a teljes T-sejt szám (CD45+ CD3+), és a csökkenés korrelál a betegség súlyosságával. Elméletileg ennek oka lehet direkt vírusinvaszió a lymphocytákba, diszregulált citokin stimuláció, károsodott antigén-prezentáció, fokozott apoptózis és a citokinviarral járó haemophagocytosis, illetve a vérből a szövetekbe áramlás. A hörgőmosó folyadékban a T-sejtek száma magasabb, mint egészségeseknél<sup>8</sup>, és nagyobb, mint a perifériás vérben. A perifériás vérhez képest mind a CD4+, mind a CD8+ sejtek dominánsan effektor memória sejtek, és magasabb szinten expresszálnak PD-1 markert, mint a perifériás vérben<sup>27</sup>.

**CD4+ T-sejtek**

Az egészségesekhez képest a perifériás vérben a számuk kisebb<sup>18,30,32,34,64,65</sup>. Kimutatták, hogy a SARS-CoV-2 vírus tüskefehérje közvetlenül kötődik a CD4 molekulához, ezáltal képes megfertőzni a CD4+ T-sejteket, míg ez nem vonatkozik a CD8+ sejtekre<sup>66</sup>.

A perifériás vérben az aktiváltságukat jelzi, hogy nagyobb a CD69, CD25, CD44 expressziójuk<sup>18,67</sup>. Nagyobb a CCL2 és CCR4 pozitív CD4+



**2. ábra:** A koronavírus hatása az interferon mechanizmusra (Xia H, et al. *Cell Reports* 2020;33:108234. – Creative Commons Licence 4.0)

sejtek aránya, márpedig a CCR4 a tüdőbe toborzás fő kemokinje<sup>26</sup>. A CD4+ sejtek SARS-CoV-2 tüskefehérje specifikusak<sup>68</sup>.

#### *CD4+ sejtek és a súlyosság*

A CD4+ sejtek száma a perifériás vérben a súlyossággal csökken<sup>30,36,69,70</sup>. Az OX3 expresszió az intenzív terápiára szoruló betegeknél magasabb. Az OX3 fontos szerepet játszik, elősegíti a klonális expanziót és a T-sejtek citokintermelését<sup>18</sup>. A súlyos betegekből nyert sejtek stimulációra kisebb interferon- $\gamma$  termeléssel reagáltak<sup>71</sup>.

#### *CD4+ sejtek és a kórlefolyás*

A kórlefolyás során a neutralizáló antitest termelés gyorsan emelkedik, viszont a receptor-kötő domén és a nukleokapszid protein elleni specifikus T-sejtes válasz késleltetve van. Ez utóbbi a CD4+ sejteknél nagyobb, mint a CD8+ sejtek esetében. A gyulladási markerek (CRP, IL-6) magasabb szintje mellett kisebb a CD4+ sejtszám<sup>33,69</sup>. A perifériás vérben a kimerülésükre utal, hogy fokozott a Tim3 és a PD1 expressziójuk<sup>26,32,34,36,67</sup>. A Tim3 és a PD-1 együttes expressziója a súlyosabb esetekben nagyobb arányú<sup>34</sup>.

#### *Th1- és Th2-sejtek*

A Th1-sejtek proinflammációs citokineket termelnek. Covid-19 esetén eltolódás van a Th2 irányba, és ezek a sejtek nem reagálnak az IFN- $\gamma$  jelátvitelre. Az eltolódásban nagy szerepe van a magas IL-6 szintnek<sup>31</sup>. A perifériás vérben fokozódik a Th1/Tc1 irányú polarizáció. A súlyosabb esetekben ez a gyulladási alcsoport erősen aktivált, IFN- $\gamma$  és IL-17 citokineket szekretál, ugyanakkor magas a PD-1 és a HLA-DR expressziója is<sup>72</sup>.

A CD4+ naiv sejtek is Th1-sejtekké differenciálódnak, és citokineket (granulocita-macrophag kolónia stimuláló faktor és IFN- $\gamma$ ) termelnek. Azonban ez csak az intenzív terápiára szoruló betegeknél volt észlelhető<sup>18</sup>.

A súlyos esetekben csökkent az IFN+ TNF alfa+ és az IL-17A+ T-sejtek aránya. Tehát a vérben kisebb a T-helper válasz<sup>71</sup>.

Konvaleszens betegeknél vírus specifikus T-sejtes választ észleltek. A CD8+ sejtek nagyobb mértékben reagáltak, mint a CD4+ sejtek. A súlyos esetekben egyre több T-sejt alakul át centrális memóriasejtté, és megsza- porodnak az IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  és IL-2 termelő poli-funkcionális CD4+ sejtek, valamint az IFN- $\gamma$  és TNF- $\alpha$  termelő degranulált CD8+ sejtek is.

#### *Th17-sejtek*

Az antigén-prezentáló sejtek által termelt IL-1 $\beta$  és IL-6 hatására differenciálódnak. Fő citokinjeik az IL-17 és a GM-CSF, melyek elősegítik a neutrophil migrációt, ellene hatnak a T-regulációs sejteknek, és Th2 választ indukálnak.

Covid-19 esetén ismert az IL-6 és a Th17 szerepe az ARDS patogenezisében, azonban a vérben nem találtak magasabb IL-17 szintet a súlyos csoportban az enyhékhez képest<sup>70</sup>. Kimutatták, hogy Covid-19-ben a pneumóniás betegek aktivált T-sejtjei eltolódnak a Th17 fenotípus felé<sup>73</sup>. A gyógyult betegeken viszont már mind a Tc1 (interferon- $\gamma$  termelő), mind a Tc2 (IL-4 termelő), mind pedig a Tc17 (IL17A-t termelő) szint alacsonyabb<sup>75</sup>. Az alveoláris térben magasabb a Th17 sejtszám<sup>74</sup>.

#### **CD8+ T-sejtek**

A CD45+ CD3+ CD8+ T-sejtek citotoxikusak. Covid-19 esetén a számuk a perifériás vérben csökkent, és pedig nagyobb mértékben, mint a helper CD4+ T-sejteké. A csökkenés mértéke korrelál a klinikai súlyossággal és a gyulladási markerek emelkedésével<sup>30,33,69,70,72</sup>. A T-sejteken belül a hörgőmosó folyadékban magasabb a CD8+ arány, mint egészségeseknél. Magas szinten expresszálnak effektor molekulákat. Érdekes, hogy enyhe kórlefolyás esetén nagyobb a számuk, mint a súlyosban, ami arra utalhat, hogy sikerrel pusztítják a vírust<sup>28</sup>. Az intenzív ellátásra szoruló hörgőmosó folyadékában a naiv T-sejtek aránya kisebb, az effektor memória T-sejteké és a CD8+ sejteké pedig magasabb<sup>65</sup>.

Az aktiváltságukat jelző kostimulációs molekulák (CD25, CD69, CD38, CD44) expressziója fokozott<sup>17,18,20,32,73,75</sup>. A pleurális folyadékban is



hiperaktivációjukat észlelték, mégpedig nagyobb mértékben, mint a perifériás vérben. Azok a CCR5 asszociált jelátvitel volt, ami a CCL3, CCL4, CCL5, CXCR4 kemokinek szintjének emelkedésével függött össze. A CCL4 toborozza őket a tüdőbe<sup>80</sup>. A perifériás vérben a naiv CD8+ sejtekből centrális memória sejtek és effektor memória sejtek is keletkezhetnek<sup>62,65,67</sup>.

#### *Citokintermelés és citotoxicitás*

A perifériás vérben kimutattak IFN- $\gamma$  termelő CD8+ sejteket<sup>76</sup>. Más vizsgálatban az IFN- $\gamma$ + IL-2+ CD8+ sejtek száma alacsonyabb volt<sup>33</sup>. A perifériás vérben a granzim és a perforin expressziót kisebbnek mérték<sup>33</sup>, és a csökkenés a súlyos esetekben nagyobb mértékű volt<sup>25</sup>.

#### *Kimerülésük*

A CD8+ T-sejtek kimerülését jelzi az emelkedett PD-1, Tim3, NKG2A és TIGIT expresszió<sup>33,34,77,78</sup>. *In vitro* stimuláció során azt észlelték, hogy a PD-1 pozitív sejtek között az IFN- $\gamma$  pozitívak aránya magasabb, mint a PD-1 negatív sejtek között. Ebből arra következtetnek, hogy a PD-1 pozitivitás mégsem a kimerülést jelzi, hanem csak az aktiváltságot<sup>79</sup>. A PD-1 expresszió a pleurális folyadékban is emelkedett volt<sup>80</sup>.

A perifériás vérben a CD4+ és CD8+ sejtek száma egyaránt csökkent. Súlyos esetekben kisebb a naiv T-sejtek száma és magasabb az effektor fenotípusúaké (CD45RA+ CD27+). A súlyossággal párhuzamosan emelkedik az inhibitor PD1 expresszió. Az aktivált Treg sejtek száma enyhe esetekben magasabb, mint a súlyosakban. Feltehetően a szövetekbe migrálnak, és amiatt nincs hiperimmun-szindróma, mert sikeresen megfékezik. A hörgőmosó folyadékban a naiv és az effektor T-sejtek aránya hasonlóan viselkedik. A súlyos esetekben nemcsak a CD4+ szám csökkent, de működésük, citokintermelésük is károsodott. A súlyos esetekben kisebb az IFN- $\gamma$ , IL4 és IL-21 termelésük. Az IFN- $\gamma$  pedig fontos az antivirális mechanizmusban. Ugyanakkor az S-proteinre specifikus IgG antitest szint a súlyos esetekben magasabb, tehát elválik egymástól a T- és a B-sejtek működése<sup>65</sup>.

A súlyosság szerint változik a T- és a B-sejtek receptor repertoárja. Mind a CD4+, mind a CD8+ sejteken egyre nagyobb számban jelennek meg gátló receptorok (PD-1, BTLA, TIGIT)<sup>78</sup>.

#### *Összességében*

A perifériás vér T-sejt számának csökkenése jól kimutatottan arányos a gyulladás és a betegség súlyosságával. Az aktivált CD4+ és CD8+ sejtek aránya nagyobb, de perzisztáló Covid-19 esetén kimerült típusúakká válnak. Ennek oka feltehetően a gátló markerek (PD-1 és TIM-3) állandó és fokozott expressziója, valamint a csökkent polifunkcionalitásuk és citotoxicitásuk. Gyógyuláskor megnő a follicularis helper CD4+ T sejtek száma és csökkennek az inhibitor markerek, valamint nő az effektor molekulák (granzym A, granzym B, perforin) expressziója.

#### **B-sejtek**

A B-sejtek maguk is képesek az antigén felismerésére, feldolgozására és bemutatására az MHC I-en. Az antigén-prezentáló sejtek fő feladata az antigén bemutatása. Kölcsönhatásba lépnek a T-helper sejtek T-sejt receptorával, és létrehozzák az immunológiai szinapszist. Az aktivált B-sejt antitest termelő plazmasejté differenciálódik. Covid-19-re vonatkozóan eléggé ellentmondó adatokat közöltek.

A perifériás vérben a B-sejtek száma több felmérés szerint csökken<sup>30,70,83,92</sup>, míg mások szerint emelkedik<sup>65,67</sup>. Eltérően viselkedik a T- és B-sejt szám: a T-sejtes lymphopeniát a B-sejtek számának emelkedése kíséri<sup>65</sup>.

A klinikai súlyossági stádiumok szerint a B-sejtek számában nem észleltek különbséget<sup>25</sup>. Mások szerint viszont a súlyos esetekben magasabb a B-sejtszám, mint enyhe esetekben<sup>64,90</sup>. A B-sejt proliferáció triggerre az antigén kötődése a B-sejt receptorhoz, de ezt számos tényező befolyásolja, és a mechanizmusa tisztázatlan.

Arra vonatkozóan megegyeznek az adatok, hogy a B-sejtekből fejlődő plazmasejtek száma a súlyosabb esetekben magasabb<sup>17,64,83</sup>. Az eddigi ismereteinkből úgy tűnik, hogy

a súlyos esetekben a B-sejtek – a számuiktól függetlenül – diszreguláltak. Nagyobb az IFN mediált válaszuk, és aktiváltak az apoptotikus szignálok<sup>25</sup>.

A kórházi kezelésre szoruló perifériás vérében megnőtt a B-sejtek száma, és ezek CD38 aktivációs marker és Ki-67 proliferációs marker pozitívak voltak<sup>90</sup>. Más eredmény szerint a B-memória sejtek aránya kisebb volt<sup>83</sup>.

### **Antitestek**

#### *A teljes antitest szint*

A teljes nukleokapszid-antigén elleni antitesteket vizsgálva, a tünetek fellépte után átlagosan 5 nappal (3–6 nappal) vált kimutathatóvá az IgM és az IgA szint, míg az IgG átlagosan 14 nap (10–18 nap) múlva<sup>88</sup>. Az antitest koncentráció csúcsa az IgM esetén átlagosan 17,38 nap, az IgG esetén átlagosan 5,59 nap volt. A súlyos esetekben magasabb volt az antitest szint<sup>20,86</sup>, viszont a meghaltakat és a túlélőket összehasonlítva nem észleltek különbséget az IgG, IgM, IgA antitest szintekben<sup>87</sup>.

#### *Egyes epitopok elleni specifikus antitest szint*

A nukleokapszid (N-protein) és a tüskefehérje (S-protein) elleni antitest szintje 17–23 nap között érte el a csúcst<sup>84</sup>. Egy másik vizsgálatban PCR-rel igazolt betegeknél külön mérték a tüskefehérje-antigénnel szemben, ennek S1 alegységével szemben, a nukleokapsziddal szemben és a receptorkötő doménnel szemben termelt antitesteket, valamint a neutralizáló antitest választ. Külön vizsgálták az enyhe és súlyos eseteket. Általában 5–10 nap között kezdtek emelkedni az ellenanyag szintek, a súlyosabb esetekben magasabbra<sup>85</sup>.

#### *Neutralizáló antitestek*

Az előbb említett vizsgálatban a neutralizáló antitestek szintje is hasonlóképpen alakult<sup>85</sup>. A szerokonverzió a teljes antitest szintben átlagosan 11 nap, az IgM-ben 12 nap, az IgG-ben 14 nap volt. Ismételt mérésekkel ellenőrizve a kórlefolymást, a tünetek megjelenése után mintegy 1 héttel kezdtek emelkedni a titerek, majd a következő 2 hétben tovább növekedtek. Megvizsgálták, hogy a virológiailag igazolt betegeken a kórházi elbocsátás után mi történik. Az elbocsátás feltétele a klinikai tünetek megszűnése és két negatív PCR víruseszt volt. A nukleokapszid antigén és az S-protein receptorkötő doménje elleni IgG és IgM antitestek szintjét mérték. Mivel utóbbi a vírus ACE2 receptorához kötődik, az ellene termelt antitest feltehetően neutralizálja a vírusinfekciót. Az elbocsátás után két héttel mindezek az antitest szintek magasak voltak, és feltételesen védenek a vírus ellen.

Konvalescens betegeknél a tüskefehérje két immundomináns régiója elleni neutralizáló antitest egyike magasan specifikus volt, a másik pan-koronavírus célpontú<sup>89</sup>. Majmokon igazolták, hogy ezek a neutralizáló antitestek valóban védő hatásúak, és védenek a reinfekció ellen.

A kórházi kezelésre szoruló Covid-19 esetekben a tüskefehérje és a nukleokapszid elleni specifikus IgG, IgM és IgA antitesteket mutattak ki valamennyi betegnél. Többségükönél ezek neutralizáló antitestek voltak, de nem mindenkinél, és a neutralizáló titer is nagyon eltérő (10–1920 közötti) volt<sup>90</sup>.

#### *Antitest-dependens felerősítés*

Az antitestek a Fab régiójukkal kötődnek a vírus-antigénhez, károsítják a vírus kötődését a sejt receptorához, és aktiválják az antivirális effektor sejteket azáltal, hogy az antitest Fc régiója a természetes ölösejtek Fc $\gamma$  receptoraihoz kötődik. Felvetik azt a lehetőséget, hogy ha ezek az antitestek nem neutralizálnak, akkor ellenkező lesz az eredmény, és elősegítik a sejt megfertőződését. A súlyos esetekben észlelt magasabb antitest szint ez esetben nem a magasabb védelmet tükrözi, hanem éppen ellenkezőleg, hozzájárul a sejtkárosodáshoz és fokozza a súlyosságot<sup>91</sup>. Erre a körmechanizmusra vonatkozóan Covid-19 esetén nincs adat.

#### *Az autoantitestek kérdése*

A betegeknél nagy számú autoantitest mutatható ki, nemcsak a szöveti fehérjék ellen, hanem citokinek, kemokinek, komplement-komponensek és sejt felszíni fehérjék ellen is. Egérmodellen ezek fokozták a betegség súlyosságát, de embernél szerepük, jelentőségük nem ismert<sup>92</sup>. Erythrocyta lizátum elleni IgG antitesteket a betegek 41%-ánál észleltek. DNS elleni antitesteket is kimutattak, ezek a súlyos esetekben gyakoribbak voltak<sup>93</sup>. Antinukleáris (ANA) IgG antitesteket az intenzív kezelést igénylő betegek 4%-ában találtak, és az enyhébb esetekben nem voltak kimutathatóak. Az ANA antitestek célpontjai olyan fehérjék voltak, amelyek a jelátvitelben, a metabo-

lizmusban, az apoptózisban játszanak fontos szerepet<sup>94</sup>. Különösen izgalmas, hogy a súlyos esetek 25%-ában I-es típusú interferon elleni autoantitesteket mutattak ki, és 18%-ukban neutralizáló antitesteket is. Ezeknek szerepe lehet az elégtelen interferon válaszban, ami az egyik kulcsmechanizmusa a kórképnek<sup>95</sup>.

**Összességében**

A humorális immunválasznak is kritikus szerepe van a vírus leküzdésében. Covid-19 esetén robusztus B-sejt válasz észlelhető a vírus specifikus IgM, IgG és IgA, valamint a neutralizáló IgG szint gyors emelkedésével. Ennek a kinetikája említésre került. Az antitestek kötődnek a SARS-CoV-2 vírus belső N proteinjéhez és a külső S-glikoproteinjéhez is. A vírus receptorkötő doménjének S-proteinje erősen immunogén, és a hozzá kötődő antitestek feltehetően hatásosan neutralizálják a vírust, megakadályozva a kötődését a bemeneteli ACE2 receptorhoz. A receptorkötő domén elleni specifikus IgG memória B-sejtek is megjelennek már a 9–28. nap között. A gyógyulás folyamán plazmasejtek képződnek, folytatva az antitest termelést és fokozatosan kialakítva a szerológiai memóriát. A memória B sejtek képesek reinfekció esetén plazmasejteket generálni. Ennek a hosszú távú védelemnek a részletei Covid-19 esetén azonban még nem tisztáztak.

**T-regulációs sejtek**

A T-regulációs (Treg) sejtek a fokozott immunválasz visszaszorításában vesznek részt. Több csoportjuk van, a legfontosabbak a CD4+ és a CD8+ regulációs sejtek. Részben sejt-sejt kontaktussal (CTLA-4, CD25, TIGIT, CD39, CD73), részben citokinekkal (IL-10, IL-2, TGF-béta, IL-35) fékezik meg az immunválaszt. Egyes vizsgálatok szerint Covid-19 esetén a perifériás vérben mind a naiv, mind az indukált Treg sejtek száma csökken<sup>96</sup>. Más adatok szerint csak a naiv Treg sejtek száma lesz kisebb, a centrális memória Treg sejtek száma viszont emelkedik<sup>73</sup>. Megint más vizsgálatok szerint a Treg sejtek száma már enyhe esetben is emelkedik, súlyos esetben

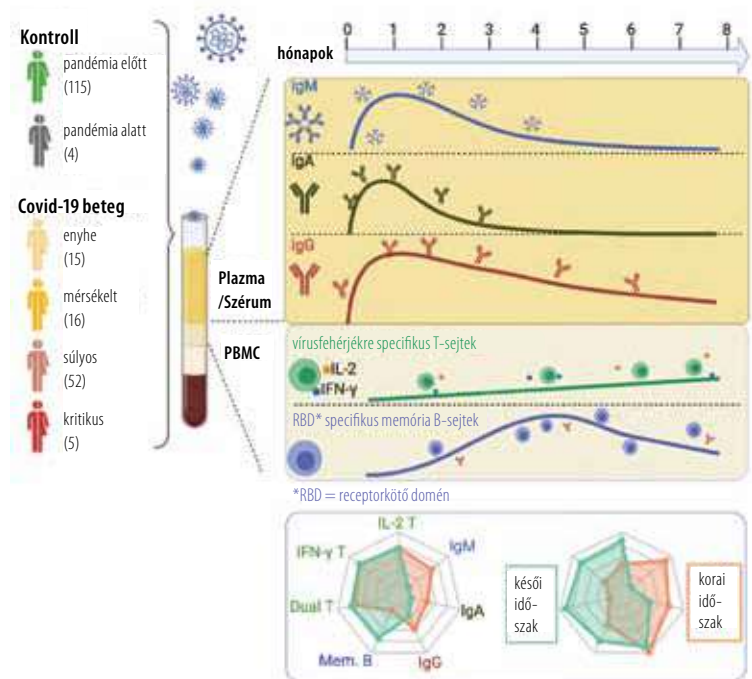
pedig tovább emelkedik<sup>30</sup>. A vérben a Treg szám magasabb, de súlyos esetekben arányaiban kevésbé magas<sup>77</sup>. Ismét más szerzők szerint a súlyos esetekben csak néhány betegnél észleltek magasabb Treg sejt számot<sup>78</sup>. Más vizsgálatban pedig a hospitalizált betegeknél volt nagyobb a Treg csökkenés<sup>97</sup>.

A súlyos betegek perifériás vérében magas az IL-10 szint. Ennek forrása nem tisztázott, de feltehetően a szöveti regulációs T-sejtekből származik<sup>72</sup>. Más vizsgálatban a szintén magas IL-10 mellett emelkedett FOXP3+ CD25+ Treg sejtszámot találtak, a pleurális folyadékban magasabbat, mint a vérben<sup>80</sup>.

A proinflammációs citokinek (IL-6 és TNF-α) – együtttharva a Treg sejtek FoxP3 expressziójával – képesek megváltoztatni a Treg/Teffektor sejtek egyensúlyát.

A kórképet a veleszületett immunrendszer hiperaktivációja és a szerzett immunrendszer diszregulációja jellemzi. Az immunreakció másképpen zajlik a perifériás vérben és a tüdőben. A vérben csökkent a dendritikus sejtek száma, a myeloid eredetű szuppresszor sejtszám, a természetes ölősejtek, az innat-like T-sejtek, a CD8+ sejtek, a lymphocyták és a γδ T-sejtek száma. Ugyanakkor emelkedett a monocytáké és a Th1, Th2 és Th17 sejtéké. A hörgőmosó folyadékban a makrofágok sok kemokint és citokint termelnek, de kevés interferont. A vér T-sejtjei kimerültek, de a hörgőmosó folyadékban nem (IFN-γ, TNF, CCL4, CCL5 emelkedett). A perifériás vérből a T-sejtek a tüdőbe áramlanak.

A Covid-19 elleni adaptív immunitás időbeli alakulását a 3. ábra mutatja.



**3. ábra:** A Covid-19 elleni adaptív immunitás időbeli alakulása (Sherina N, et al. *Cell Med* 2021;2:281-295. – Creative Commons Licence 4.0)

## CITOKINVIHAR SZINDRÓMA

A citokinvihar szindróma gyűjtőfogalom, egy ernyődiagnózis. A lényege a kontrollálatlan immunaktiváció miatti excesszív citokin felszabadulás, ami hiperinflammációt és többszervi károsodást okoz. Ide tartozik pl. a reumatológiából ismert makrofág-aktivációs szindróma, ami több vírusinfekció esetén is észlelhető, de a Covid-19-ben külön sajátosságokat mutat. Ilyen a ferritin emelkedés mérsékelt volta és az, hogy a károsodás a tüdőben dominál. Utóbbi oka az lehet, hogy a fertőzés fő kapuja a tüdő. Mindenesetre a permanensen aktivált makrofágok proinflammációs citokineket termelnek, károsodott a természetes ölüsejtek működése. Citopénia (csökkent lymphocytá és thrombocytá szám), emelkedett CRP, coagulopathia (csökkent fibrinogén, emelkedett D-dimer) hepatocytá aktiválódás jeleként emelkedett ferritin, szövetkárosodás (LDH, AST és ALT emelkedés) jellemzi.

A Covid-19-ben a betegek jelentős részénél észlelték a citokinvihart. Rengeteg citokint és kemokint mértek emelkedettnek, proinflammációs citokinek széles skáláját különböző sejtekből<sup>83</sup>. A természetes immunaktiválódásból a legfontosabb az IL-6 és a TNF- $\alpha$ , de emelkedettek a Th1 citokinek (IL-2, IFN- $\gamma$ ) és a Th2 citokinek (IL4, IL-5, IL13) is, mert feltehetően a gyulladás sikertelen szupprimálása miatt ezek is aktiválódtak<sup>98</sup>. Fontos a Th17 citokinek (IL-17, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) emelkedése is, és bár a GM-CSF elsősorban Th1 asszociált, de a Th17 sejtek is termelik<sup>84</sup>. Ezzel kapcsolatban kimutatták, hogy a SARS-CoV-2 ORF8 proteinje az IL-17A receptorhoz kapcsolódva aktiválja az IL-17 jelátviteli utat és az ehhez kapcsolt proinflammációs citokintermelést<sup>99</sup>.

A súlyossággal is összefügg a hiperimmun reakció. Számos munkacsoport megerősítette a különféle eredetű citokinek emelkedését: Th1 típusúakat (IL-2, IFN- $\gamma$ ), Th2 típusúakat (IL-4, IL-10) és proinflammációsokat (IL-6, TNF- $\alpha$ ) egyaránt. Egyéb laboratóriumi eltérések mellett a kritikus súlyosságú esetekben az IL-6 szint a vérben több mint tízszeres volt<sup>100</sup>. A súlyos betegeknél magasabb TNF- $\alpha$ , IL-2R és IL-6 szinteket mértek<sup>96</sup>. Mások is hasonló eredményre jutottak: a súlyos esetekben az enyhékhez képest magasabb IL-6, IL-10, IL-2 és IFN- $\gamma$  szinteket<sup>80</sup>, illetve megint mások magasabb IL-2, IL-7, IL-10, GM-CSF, IP-10, MIP1A és TNF- $\alpha$  szinteket mértek a perifériás vérben<sup>34</sup>. Az IL-4 csak az enyhe betegségben volt magas, a súlyosban nem. Az IL-6, IL-10 és TNF- $\alpha$  csak a súlyos esetekben emelkedett, az IFN- $\gamma$  pedig nem volt magasabb.

Összehasonlították a különböző hiperimmun reakciónál (Covid-19 ARDS-sel, makrofág-aktivációs szindróma, szепtikus shock, stb.) észlelt citokin szinteket. A Covid-19 citokinvihara

eltér a más eredetű ARDS-től. Itt az egyik kulcsfontosságú citokin, az IL-6 szintje 7–64 pg/ml, míg más eredetűeknél 578–1618 pg/ml<sup>101</sup>. A szепtikus shock okozta ARDS-nél az IL-8 és a TNF- $\alpha$  szintje, bár nem ekkora különbséggel, de magasabb, mint Covid-19-ben<sup>102</sup>. Azonban van a citokin összetételben egy másik lényeges eltérés: Covid-19-ben az egyéb hiperimmun szindrómákhoz képest sokkal kisebb az interferonok szintje (I, II és III-as típusú is)<sup>103,104</sup>.

A 4. ábra mutatja a citokinvihar sémás mechanizmusát. A Covid-19-nek három fázisa különíthető el, bár ezek nem mindig válnak el élesen. Az első fázis az infekció, a vírus szaporodása a korai tünetekkel. A második fázis a tüdőben zajlik pneumóniával. A harmadik a szisztémás gyulladás, gyakran hiperimmun reakcióval.

Utóbbiban fontos helyen szerepel az antivirális I-es típusú interferon termelés elégtelensége (vagy legalábbis késlekedése) és részben emiatt a fokozott proinflammációs citokin és toborzó kemokin termelés.

A citokin hálózat zavarában rengeteg tényező szerepel, közülük talán a legfontosabb az IL-6 és a TNF- $\alpha$ , ami utal az NF- $\kappa$ B fontos szerepére. Az NF- $\kappa$ B inaktivált állapotban van, és ha az inhibitor proteinje lebomlik, akkor aktiválódva a sejtmagba lép, és aktiválja az IL-6 és a TNF- $\alpha$  géneit. Az IL-6 központi szereplő, mivel az immunsejtekre való hatásán kívül hat az erek endotelsejeteire és a hízósejtekre is, ezáltal befolyásolja az erek permeabilitását és a hisztamin termelést, a megakaryocytákra hatva pedig szerepe van a thrombocyták fejlődésében és a thrombin képződésben is.

A gyulladásos környezet egy önszaporító folyamatot indukál. Hörgőmosó folyadékból nyert mintából kimutatták, hogy az alveoláris makrofágok folyamatosan termelik a T-sejt aktiváló citokineket, a T-sejtek pedig folyamatosan az IFN- $\gamma$ -t, ami a makrofágokat további T-sejt indukáló citokinek termelésére stimulálja, és ez így megy megállás nélkül körbe<sup>105</sup>. Az immunrendszer ezt ugyan igyekszik megfékezni, de eredménytelenül, ami aztán az immunsejtek kimerüléséhez vezet.

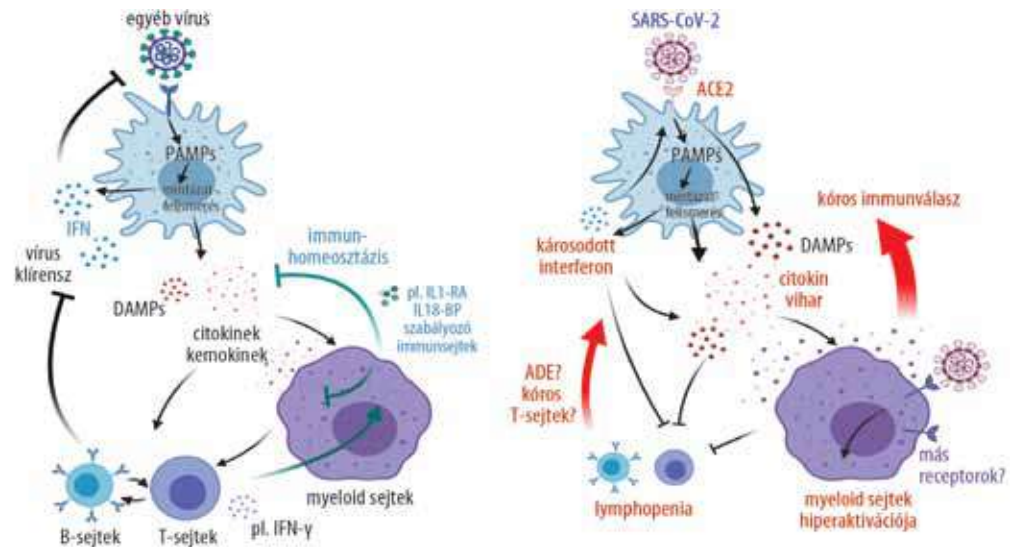


A természetes immunrendszer beindítja az antitestes és a T-sejtes szerzett immunválaszt. Ha ez nem képes a vírust leküzdeni, akkor a természetes immunrendszer aktivitása fokozódik, és folyamatosan termel citokineket és kemokineket. Covid-19 esetén további kórmechanizmus indul a vaszkuláris oldalról, ugyanis a pneumocyták mellett az endothel sejtek is rendelkeznek ACE2-vel, ami a vírus kötődési pontja. A keletkező endothelkárosodás és

kapillaris permeabilitás-fokozódás egyrészt a koagulációs rendszert aktiválja, másrészt az endotelből felszabaduló citokinek visszahatnak az immunrendszerre és viszont. Az immunthrombosis mechanizmus során fibrin lerakódás, thrombocytá toborzás és aktiválódás, valamint microthrombosisok keletkeznek. Az immunthrombosis mechanizmusban fontos a szerepe az extracelluláris neutrophil csapdának és az érfali komplementrendszernek.

Covid-19-ben a citokinvihar további sajátosságát adja az ACE1-ACE2 egyensúly felborulása. A vírus downregulálja az ACE2-t, emiatt az egyensúly eltolódik az angiotenzin-II felé, ami fokozza a citokinvihar hatását, valamint csökken az angiotenzin-1-7 Mas receptorokon át érvényesülő gyulladáscsökkentő hatása is. Az angiotenzin-II aktiválja a komplementkaskádót, továbbá aktiválja az NF- $\kappa$ B utat az NF- $\kappa$ B p65 alegységének foszforilálásával. Az angiotenzin 1-7 pedig csökkenti az NF- $\kappa$ B expressziót, illetve az IL-6, TNF- $\alpha$  és IL-8 termelést.

Összefoglalva elmondható, hogy az antivirális immunitás multifaktoriális, de szinkronizált rendszer. A szinkronizálás és ezzel az immunhomeosztázis fenntartása a résztvevő sejtek közti kommunikáció (cross-talk) útján történik citokinekkal, kemokinekkal. A természetes és a



**4. ábra:** A citokinvihar kórmechanizmusa (ADE=antibody-dependent enhancement [antitestfüggő felerősítés]; DAMPs= damage-associated molecular patterns [sérülés-asszociált molekuláris mintázatok]; PAMPs= pathogen-associated molecular patterns [kórokozó-asszociált molekuláris mintázatok]) (Zhou T, et al. *J Exp Med* 2020;217(10):e20200674 – Creative Commons Licence 4.0)

szerzett immunválasz integráltnan működik, a folyamatok időbeli, helyi, minőségi és mennyiségi összehangoltsága szükséges a sikeres antivirális válaszhoz. A késlekedő és legyengült myeloid eredetű szuppresszor sejtek a T-sejt aktivációt gátló regulációs sejtek heterogén csoportját képezik. PAMP vagy DAMP aktiválja őket, és a monocytákra vagy granulocytákra több mechanizmussal is szupprimáló hatásúak. Covid-19 esetén számuk a perifériás vérben emelkedett.

Az interferon válasz hiánya – amellett, hogy lehetővé teszi a vírus szaporodását – gátolja a sikeres adaptív immunitás beindulását. A kudarc miatt a cross-talk kontrollálatlan természetes immunaktivitáshoz és károsodott adaptív válaszhoz vezet, a működés aszinkronná válik. A lényeg tehát nem az egyes citokinek szintjének nagysága vagy a citokinek mintázata, hanem a szabályozatlanság. Ezt az összevisszaságot valóban hasonlíthatjuk szemléletesen egy gomolygó viharfelhőhöz.

### SZÖVETI IMMUNREAKCIÓK

Az immunreakciók alapvetően a szövetekben zajlanak, és ehhez a nyirokszervekben keletkező sejtek a perifériás vérkeringésen keresztül odaáramlanak. Covid-19 esetén a szövetekben – jelen esetben a tüdőben – zajló immunfolyamatokról alig vannak adataink. Boncolás során a lépben atrophia, csökkent lymphocytá szám, sejtdegeneráció, makrofág proliferáció és makrofág fagocitózis volt látható a nyirokcsomók atrophija mellett. A lépben és a nyirokcsomókban is csökkent a CD4+ és CD8+ sejtek mennyisége. A tüdőben sok makrofág volt,



de kevés lymphocytá (utóbbiak főleg CD4+ sejtek). Vírus zárványokat lehetett látni a II-es típusú alveoláris sejtekben és a makrofágokban.

Két részletes vizsgálatot közöltek, melyekben súlyos állapotú, intenzív terápiában részesülő kórházi betegekben párhuzamosan és folyamatában összehasonlították a perifériás vérben zajló szisztémás immunválaszt és a trachea aspirátumban látható légzőszervi szöveti immunválaszt<sup>106,107</sup>. A légutakban felszaporodtak az aktivált és a nem aktivált nem-klasszikus makrofágok és az aktivált klasszikus makrofágok, a vérben pedig a klasszikus és az intermediér makrofágok, de aktivációs markerek nélkül. Eltért a T-sejtek összetétele is. A légutakban domináltak a szöveti rezidens CD4+ és CD8+ T sejtek, melyek fokozottan expresszáltak HLA-DR-t és PD-1-et, de csak csökkent mértékben CD127-et. A vérben naiv T-sejtek voltak, memória T-sejtek pedig mindkét helyen voltak. A B-sejtek a vérben domináltak, a légutakban viszont csak kis mennyiségben voltak detektálhatóak.

## LONG COVID

Egyre több adat támasztja alá, hogy a fertőzés és az akut tünetek megszűnése után az esetek jelentős részében tünetek maradnak vissza (poszt-Covid szindróma). Az akut szakkal együtt ezt nevezik long Covidnak. A háttérben csak egyes esetekben észleltek tartós vírus ürítést, és vannak adatok arról is, hogy ezek a tartós ürítők nem fertőznek.

Kétségtelen, hogy van reinfekció, legalábbis akkor, ha azt filogenetikailag eltérő verzió okozza. Az infekció az elhúzódó tünetek mellett legtöbbször már megszűnt. A megfigyelési idő még rövid ahhoz, hogy kiderüljön, lesz-e maradandó károsodásokkal – pl. a myocardiumban vagy a tüdőben fibrózissal – járó krónikus Covid. Feltételezhető, hogy a poszt-Covid szindrómát a bekövetkezett szövetkárosodások és azok elhúzódó gyógyulása okozza. Még nem tisztázott, hogy mind ebben milyen szerepe van az immunfolyamatoknak.

Ismert, hogy a humorális válasz csökkenése után továbbra is észlelhetőek interferont szekretáló CD4+ T-sejtek<sup>108</sup>, és az is tudott, hogy a szabályozási zavar a konvalescenciában is fennmarad. A súlyosabb esetek gyógyulása után kimutathatóak a T-sejt aktivációs markerek, a PD-L1 fehérje pedig még az enyhébb ese-

tekben is detektálható<sup>109</sup>. A proinflammációs és a proangiogenetikus citokinek emelkedett szintjét még 180 nap elteltével is észlelték<sup>110</sup>. Nem ismert ezeknek az immuneltéréseknek a patogenetikai szerepe, és az sem, hogy milyen kórmechanizmussal járulnak hozzá a tünetek fenntartásához.

## ÖSSZEFOGLALÁS

A SARS-CoV-2 vírus által okozott Covid-19 megbetegedés immunológiája még csak részben ismert. Jelen közlemény a pillanatnyi tudásunkat foglalja össze. Ismerteti a természetes immunitásban részt vevő sejtek reakcióját, és az ezt követő adaptív immunmechanizmusokat. Covid-19-re jellemző a természetes immunrendszer hiperaktivitása és az adaptív mechanizmusok diszregulációja. Az esetek egy részében mindez az ún. citokinvihart okozza, ami a prognózist nagymértékben rontja. A jelenlegi adatok túlnyomó része a keringő vére vonatkozik, azonban lényegesen kevesebbet tudunk a szövetekben zajló immunfolyamatokról. ■

## IRODALOM

1. Wan Y, Shang J, Graham R, et al. Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: An analysis based on decade-long structural studies of SARS. *J Virol* doi:10.1128/JVI.00127-20
2. Fung TS, Liu DX. Human coronavirus: Host-pathogen interaction. *Ann Rev Microbiol* 2019;73:529-557.
3. Wang K, Chen W, Zhou YS, et al. SARS-CoV-2 invades host cells via a novel route: CD147-spike protein. *bioRxiv* preprint doi:10.1101/2020.03.14.988345
4. Chen H, Liu W, Liu D, et al. SARS-CoV-2 activates lung epithelia cell proinflammatory signaling and leads to immune dysregulation in Covid-19 patients by single-cell sequencing. *medRxiv* preprint doi:10.1101/2020.05.08.20096024
5. Chua RL, Lukassen S, Trump S, et al. COVID-19 severity correlates with airway epithelium-immune cell interactions identified by single-cell analysis. *Nature Biotechnology* 2020;38(8):970-979.
6. Law HKW, Cheung CY, Sia SF, et al. Toll-like receptors, chemokine receptors and death receptor ligands responses in SARS coronavirus infected human monocyte derived dendritic cells. *BMC Immunol* 2009;10(35):1-12.
7. Frieman M, Heise M, Baric R. SARS coronavirus and innate immunity. *Virus Res* 2008; 133:101-112.
8. Kell AM, Gale M. RIG-I in RNA virus recognition. *Virology* 2015;479-480:110-121.
9. Zhao C, Zhao W. NLRP3 inflammasome - a key player in antiviral responses. *Front Immunol* 2020;11:211. doi:10.3389/fimmu.2020.00211
10. Chen IY, Moriyama M, Chang MF, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus viroporin 3a activates the NLRP3 inflammasome. *Front Microbiol* 2019;10:50. doi:10.3389/fmicb.2019.00050
11. Siu KL, Yuen KS, Castañero-Rodríguez C, et al. Severe acute respiratory syndrome Coronavirus ORF3a protein activates the NLRP3 inflammasome by promoting TRAF3 dependent ubiquitination of ASC. *FASEB J* 2019;33:8865-8877.

12. Theobald SJ, Simonis A, Kreer C, et al. The SARS-CoV-2 spike protein primes inflammasome-mediated interleukin-1-beta secretion in Covid-19 patients-derived macrophages. *Res Square* doi:10.20203/rs.3.rs-30407/v1
13. Rodrigues TS, de Sá KSG, Ishimoto AY, et al. Inflammasomes are activated in response to SARS-CoV-2 infection and associated with Covid-19 severity in patients. *J Exper Med* 2020;2128:e20201707:1-11
14. Law HKW, Cheung CY, Ng HY, et al. Chemokine up-regulation in SARS-coronavirus-infected, monocyte-derived human dendritic cells. *Blood* 2005;106:236-237.
15. Tseng CT, Perrone LA, Zhu H, et al. Severe acute respiratory syndrome and the innate immune responses: Modulation of effector cell function without productive infection. *J Immunol* 2005;174:7977-7985.
16. Cervantes-Barragan L, Züst R, Weber F, et al. Control of coronavirus infection through plasmacytoid dendritic-cell-derived type I interferon. *Blood* 2007;109:1131-1137.
17. Wilk AJ, Rustagi A, Zhao NQ, et al. A single-cell atlas of peripheral immune response to severe Covid-19. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.04.17.20069930
18. Zhou R, To KKW, Wong YC, et al. Acute SARS-CoV-2 infection impairs dendritic cell and T cell responses. *Immunity* doi:10.1016/j.immuni.2020.07.026
19. Xu G, Qi F, Li H, et al. The differential immune responses to Covid-19 in peripheral and lung revealed by single-cell RNA sequencing. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.08.15.175638
20. Zhou R, To KK, Wong YC, et al. Acute SARS-CoV-2 infection impairs dendritic cell and T cell responses. *Immunity* 2020;53:1-14.
21. Giamarellos-Bourboulis EJ, Netea MG, Rovina N, et al. Complex immune dysregulation in Covid-19 patients with severe respiratory failure. *Cell Host Microbe* 2020;27:1-9.
22. Schulte-Schrepping J, Reusch N, Paclik D, et al. Suppressive myeloid cells are a hallmark of severe Covid-19. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.06.03.20119818
23. Payen D, Cravat M, Maadadi H, et al. A longitudinal study of immune cells in severe Covid-19 patients. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.06.16.20130914
24. Zhang D, Guo R, Lei L, et al. Covid-19 infection induces readily detectable morphologic and inflammation related phenotypic changes in peripheral blood monocytes. *J Leukocyte Biol* 2020;1:1-10.
25. Yao C, Bora SA, Parimon T, et al. Cell type-specific immune dysregulation in severely ill Covid-19 patients. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.07.23.20161182
26. Liu X, Zhu A, He J, et al. Single-cell analysis reveals macrophage-driven T cell dysfunction in severe Covid-19 patients. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.05.23.20100024
27. Saris A, Reijnders TDY, Nossent EJ, et al. Distinct cellular immune profiles in the airways and blood of critically ill patients with Covid-19. *BRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.10.29.360586
28. Liao M, Liu Y, Yuan J, et al. The landscape of lung bronchoalveolar immune cells in Covid-19 revealed by single-cell RNA sequencing. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/02.23.20026690
29. National Research Project for SARS, Beijing Group: The involvement of natural killer cells in the pathogenesis of Severe Acute Respiratory Syndrome. *Am J Clin Pathol* 2004; 121:507-511.
30. Immunopathological characteristics of coronavirus disease 2019 cases in Guangzhou, China. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.03.12.20034736
31. Lombardi A, Trombetta E, Cattaneo A, et al. Early phases of Covid-19 are characterized by a reduction of lymphocyte populations and the presence of atypical monocytes. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.05.01.20087080
32. Varchetta S, Mele D, Oliviero B, et al. Unique immunological profile in patients with Covid-19. *Res Square* doi:10.21203/rs.3.rs-23953/v1
33. Zheng M, Gao Y, Wang G, et al. Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients. *Cell Mol Immunol* 2020;17:533-535.
34. Zhou Y, Fu B, Zheng X, et al. Pathogenic T cells and inflammatory monocytes incite inflammatory storm in severe Covid-19 patients. *National Science Review* 2020; 7(6):998-1002.
35. Zhou Z, Ren L, Zhang L, et al. Heightened innate immune responses in the respiratory tract of Covid-19 patients. *Cell Host Microbe* 2020;27:1-8.
36. Carvelli J, Demaria F, Batista Let al. Identification of immune checkpoints in Covid-19. *Res Square* doi:10.21203/rs.3.rs-27340/v1
37. Flament H, Rouland M, Beaudoin L, et al. Outcome of SARS-CoV-2 infection linked MAIT cell activation and cytotoxicity: evidence for an IL-18 dependent mechanism. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.08.31.20185082
38. Garcia M, Kokkinou E, Garcia AC, et al. Innate lymphoid cell composition ascites with Covid-19 disease severity. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.10.13.202113678
39. Boudma L, Wiedemann A, Patrier J, et al. Immune alterations during SARS-CoV-2-related acute respiratory distress syndrome. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.05.01.20087239
40. Parrot T, Gorin JB, Ponzetta A, et al. MAIT cell activation and dynamics associated with Covid-19 disease severity and outcome. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.08.27.20182550
41. Jouan Y, Guillon A, Gonzalez L, et al. Phenotypical and functional alteration of unconventional T cells in severe Covid-19 patients. *J Exp Med* 2020;217:e20200872:1-9
42. Gao T, Hu M, Zhang X, et al. Highly pathogenic coronavirus N protein aggravates lung injury by MASP-2-mediated complement over-activation. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.03.29.20041962
43. Lagunas-Rangel FA: Neutrophil-to-lymphocyte ratio and lymphocyte-to-C-reactive protein ratio in patients with severe coronavirus disease 2019 (Covid-19): A meta-analysis. *J Med Virol* doi:10.1002/jmv.25819
44. Chen C: U-shaped association between baseline neutrophil count (bNC) and Covid-19-related mortality: A retrospective cohort study in chinese patient diagnosed with Covid-19 infection. *Lancet preprint*; doi:10.2139/SSRN.3566254
45. Schulte-Schrepping J, Reusch N, Paclik D, et al. Severe Covid-19 is marked by dysregulated myeloid cell compartment. *Cell* doi:10.1016/j.cell.2020.08.001
46. Tian S, Hu W, Niu L, et al. Pulmonary pathology of early phase 2019 novel coronavirus (Covid-19) pneumonia in two patients with lung cancer. doi:10.20944/preprints202002.0220.v2
47. Zuo Y, Yalavarthi S, Shi H, et al. Neutrophil extracellular traps (NETs) as markers of disease severity in Covid-19. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.04.09.20059626
48. Kassina DV, Vasilenko IA, Gurlev AS, et al. Neutrophil extracellular traps: diagnostic and prognostic value in Covid-19 ( oroszul): *Almanach of Clinical Medicine* 2020;48 (Suppl 1):1-8
49. Veras FP, Pontelli MC, Silva CM, et al. SARS-CoV-2 triggered neutrophil extracellular traps mediate Covid-19 pathology. *J Exp Med* 2020;217: e20201129:1-12
50. Lindsley AW, Schwartz JT, Rothenberg ME: Eosinophil responses during Covid-19 infections and coronavirus vaccination. *J Allergy Clin Immunol* doi:10.1016/j.jaci.2020.04.021
51. Lippi G, Henry BM: Eosinophil count in severe coronavirus disease 2019 (Covid-19) . doi:10.1093/qjmed6hcaa 137/5823309
52. Cheng Y, Zhou Y, Zhu M, et al. Eosinopenia phenotype in patients with coronavirus disease 2019: A multi-center retrospective study from Anhui, China. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.04.22.20071050
53. Theoharides TC. Covid-19, pulmonary mast cells, cytokine storms, and beneficial actions of luteolin. *Biofactors* doi:10.1002/biof.1633
54. Suryawanshi RK, Koganti R, Agelidis A, et al. Dysregulation of cell signaling by SARS-CoV-2. doi:10.1016/tim.2020.12.007
55. Fang X, Gao J, Zheng H, et al. The membrane protein of SARS-CoV suppresses NF- $\kappa$ B activation. *J Med Virol* 2007;79:1431-1439.
56. Totura AL, Baric RS: SARS coronavirus pathogenesis: host innate immune responses and viral antagonism of interferon. *Curr Opin Virol* 2012;2:264-275
57. Poppe M, Wittig S, Jurida L, et al. The NF- $\kappa$ B-dependent and -independent transcriptome and chromatin landscapes of human coronavirus 229E-infected cells. *PLOS Path* 2017;13:e1006286
58. Qu Y, Wang X, Zhu Y, et al. ORF3a mediated-incomplete autophagy facilitates SARS-CoV-2 replication. doi:10.1101/2020.11.12.380709
59. Yuen CK, Lam JY, Wong WM, et al. SARS-CoV-2 nsp13, nsp14, nsp15 and orf6 function as potent interferon antagonists. *Emerg Microbe Infect* 2020;9:1418-1428
60. Yang D, Chu H, Hou Y, et al. Attenuated interferon and pro-inflammatory response in SARS-CoV-2-infected human dendritic cells is associated with viral antagonism of STAT1 phosphorylation. *J Infect Dis* 2020;doi:10.1093/infdis/jiaa356
61. Xia H, Cao Z, Xie X, et al. Evasion of type I interferon by SARS-CoV-2. *Cell Rep* 2020;33:108234

62. Banerjee AK, Blanco MR, Bruce EA, et al. SARS-CoV-2 disrupt splicing, translation, and protein trafficking to suppress host defenses. *Cell* doi:10.1016/j.cell.2020.10.004
63. Yuan S, Peng L, Park JJ, et al. Nonstructural protein 1 of SARS-CoV-2 is a potent pathogenicity factor redirecting host protein synthesis machinery toward viral RNA. *Mol Cell* doi:10.1016/j.molcel.2020.10.034
64. Fan X, Chi X, Ma W, et al. Single cell RNA-seq and V(D)J profiling immune cells in Covid-19 patients. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.05.24.20101238
65. Oja AE, Saris A, Ghandour CA, et al. Divergent SARS-CoV-2-specific T and B cell responses in severe but not mild Covid-19. *Rxiv preprint*; doi:10.1101/2020.06.18.159202
66. Davanzo GG, Codo AC, Brunetti NS, et al. SARS-CoV-2 uses CD4 to infect T helper lymphocytes. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.09.25.20200329
67. Yang J, Zhong M, Zhang E, et al. Broad phenotypic alteration and potential dysfunctions of lymphocytes in Covid-19 recovered individuals. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.07.01.20144030
68. Braun J, Loyal L, Frensch M, et al. Presence of SARS-CoV-2-reactive T cells in Covid-19 patients and healthy donors. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.04.17.20061440
69. Wang J, Dong X, Zhang B, et al. Characteristics of lymphocyte subsets and their predicting values for the severity of Covid-19 patients. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.05.01.20086421
70. Wan S, Yi Q, Fan S, et al. Relationship among lymphocyte subsets, cytokines, and the pulmonary inflammation index in coronavirus (Covid-19) infected patients. *Brit J Haematol* 2020;189:428-437.
71. Ni L, Cheng ML, Zhao H, et al. Impaired cellular immunity to SARS-CoV-2 in severe Covid-19 patients. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.08.10.20171371
72. Neumann J, Prezzemolo T, Vanderbeke L, et al. An open resource for T cell phenotype changes in Covid-19 identifies IL-10-producing regulatory T cells as characteristic of severe cases. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.05.31.20112979
73. De Biasi S, Meschieri M, Gibellini L, et al. Marked T cell activation, senescence, exhaustion and skewing towards Th17 in patients with Covid-19 pneumonia. *Res Square* doi:10.21203/rs.3.rs-23957/v1
74. Cacciapuoti S, De Rosa A, Gelzo M, et al. Immunocytometric analysis of Covid-19 patients: A contribution to personalized therapy. *Life Sci* doi:10.1016/j.lfs.2020.118355
75. Yang X, Dai T, Zhou X, et al. Analysis of adaptive immune cell populations and phenotypes in the patients infected by SARS-CoV-2. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.03.23.20040675
76. Giménez E, Albert E, Torres I, et al. SARS-CoV-2 interferon- $\gamma$ -producing CD8+ T cells in patients hospitalized with coronavirus viral disease-2019. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.05.18.20106245
77. Kang CK, Han GC, Kim M, et al. Aberrant hyperactivation of cytotoxic T-cell as a potential determinant of Covid-19 severity. *Internat J Infect Dis* doi:10.1016/j.ijid.2020.05.106
78. Schultheiß C, Paschold L, Simnica D, et al. Next generation sequencing of T and B cell receptor repertoires from Covid-19 patients showed signatures associated with severity of disease. *Immunity* doi:10.1016/j.immuni.2020.06.024
79. Rha MS, Jeong HW, Ko JH, et al. PD-1-expressing SARS-CoV-2 specific CD8+ T cells are not exhausted, but functional in patients with Covid-19. *Immunity* doi:10.1016/j.immuni.2020.12.002
80. Liu J, Li S, Liu J, et al. Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.02.16.20023671
81. Xie L, Wu Q, Lin Q, et al. Dysfunction of adaptive immunity is related to severity of Covid-19: a retrospective study. *Ther Adv Respir Dis* 2020;14:1-15.
82. Hao S, Lian J, Jin X, et al. Decreased B cells on admission was associated with prolonged virus shedding from respiratory tract in coronavirus disease 2019: a case control study. *J Infect Dis* 2020;222:367-371
83. De Biasi S, Lo Tartaro D, Meschieri M, et al. Expansion of plasmablast and loss of memory B cells in peripheral blood from Covid-19 patients with pneumonia. *Eur J Immunol* 2020;50:1283-1294.
84. Qu J, Wu C, Li X, et al. Profile of IgG and IgM antibodies against severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). doi:10.1093/cid/ciaa489/5825506
85. Okba NMA, Müller MA, Li W, et al. SARS-CoV-2 specific antibody responses in Covid-19 patients. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.03.18.20038059
86. Zhao J, Yuan Q, Wang H, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. doi:10.1093/cid/ciaa344/5812996
87. Fu Y, Sun Y, Lu S, et al. Impact of blood analysis and immune function on the prognosis of patients with Covid-19. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.04.16.200675587
88. Guo L, Ren L, Yang S, et al. Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (Covid-19). *Clin Infect Dis* doi:10.1093/cid/ciaa310/5810754
89. Poh CM, Carissimo G, Wang B, et al. Potent neutralizing antibodies in the sera of convalescent Covid-19 patients are directed against conserved epitopes on the SARS-CoV-2 spike protein. *bioRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.03.30.015461
90. Varnaitė R, García M, Glans H, et al. Expansion of SARS-CoV-2-specific antibody-secreting cells and generation of neutralizing antibodies in hospitalized Covid-19 patients. *J Immunol* 2020;205:2437-2446.
91. Danchin A, Pagani-Azizi O, Turinici G, et al. Covid-19 adaptive humoral immunity models: non-neutralizing versus antibody-disease enhancement scenarios. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.10.21.20216713
92. Wang EY, Mao T, Klein J, et al. Diverse functional autoantibodies in patients with Covid-19. doi.org.10.1101/2020.12.10.20247205
93. Gomes C, Zuniga M, Crotty KA, et al. Autoimmune anti-DNA antibodies predict disease severity in Covid-19 patients. doi.org.10.1101/2021.01.04.20249054
94. Fakhro AD, Nasrallah GK, Khan Tb, et al. Detection of autoimmune antibodies in severe but not in moderate or asymptomatic Covid-19 patients. doi:10.1101/62021.03.02.21252438
95. Goncalves D, Mezidi M, Bastard P, et al. Antibodies against type-I interferon: detection and association with severe clinical outcome in Covid-19 patients. doi:10.1101/62021.04.02.21253262
96. Qin C, Zhou L, Hu Z, et al. Dysregulation of immune response in patients with Covid-19 in Wuhan, China. doi:10.1093/cid/ciaa248/5803306
97. Meckiff BJ, Ramirez-Sustegui C, Fajardo V, et al. Imbalance of regulatory and cytotoxic SARS-CoV-2-reactive CD4+ T cells in Covid-19. *Cell* doi:10.1016/j.cell.2020.10.001
98. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020;395:497-506.
99. Lin X, Fu B, Yin S, et al. ORF8 contributes to cytokine storm during SARS-CoV-2 infection by activating IL-17 pathway. *Science* doi:10.1016/j.isci.2021.102293
100. Chen X, Zhao B, Qu Y, et al. Detectable serum SARS-CoV-2 viral load (RNAemia) is closely associated with drastically elevated interleukin 6 (IL-6) level in critically ill Covid-19 patients. *medRxiv preprint*; doi:10.1101/2020.02.29.20029520
101. Sinha P, Matthay MA, Calfee CS: Is a „cytokine storm” relevant to Covid-19? *JAMA Intern Med* 2020;180:1152-1154.
102. Kox M, Waalders NJB, Kooistra EJ, et al. Cytokine levels in critically ill patients with Covid-19 and other conditions. *JAMA Publ.* online September 3, 2020:1E1-E3
103. Vanderbeke L, Van Mol P, Van Herck Y, et al. Monocyte-driven atypical cytokine storm and aberrant neutrophil activation as key mediators of Covid-19 disease severity. doi:10.2139/ssrn.3646561
104. Leisman DE, Ronner L, Pinotti R, et al. Cytokine elevation in severe and critical Covid-19: a rapid systematic review, meta-analysis, and comparison other inflammatory syndromes. *Lancet Resp Med* 2020; 8(12):1233-1244.
105. Grant RA, Morales-Nebreda L, Markov NS, et al. Circuits between infected macrophages and T cells in SARS-CoV-2 pneumonia. *Nature* doi.org.10.1038/s41586-020-03148-w (2020)
106. Szabo PA, Dogra P, Gray JJ, et al. Analysis of respiratory and systemic immune responses in Covid-19 reveals mechanisms of disease pathogenesis. doi.org.10.1101/2020.10.15.20208041
107. Szabo PA, Dogra P, Gray JJ, et al. Longitudinal profiling of respiratory and systemic immune responses reveals myeloid cell-driven lung inflammation in severe Covid-19. doi.org.10.1016/j.immuni.2021.03.005
108. 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;54:340-354.
109. Files JK, Bopana S, Perez MD, et al. Sustained cellular immune dysregulation in individuals recovering from SARS-CoV-2 infection. *J Clin Invest* 2021;131:E140491:1-11
110. Ong SWX, Fong SW, Young BE, et al. Persistent symptoms and association with inflammatory cytokine signatures in recovered Covid-19 patients. *Open Forum Infect Dis* doi:10.1093/ofid/ofab156