

Horší než nemoc? Recenze některých možných nezamýšlených důsledků mRNA vakcín proti COVID-19

Stephanie Seneff¹ a Greg Nigh²

¹Computer Science and Artificial Intelligence Laboratory, MIT, Cambridge MA, 02139, USA, E-mail:

seneff@csail.mit.edu

²Naturopathic Oncology, Immersion Health, Portland, OR 97214, USA

ABSTRAKTNÍ

Operace Warp Speed přinesla na trh ve Spojených státech dvě mRNA vakcíny, vyrobené společností Pfizer a moderní. Průběžné údaje naznačovaly vysokou účinnost obou těchto vakcín, což pomohlo legitimizovat Emergency Povolení k použití (EUA) od FDA. Nicméně výjimečně rychlý pohyb těchto vakcín skrz kontrolovaných zkoušek a masového nasazení vyvolává řadu bezpečnostních problémů. V této recenzi nejprve popíšeme technologii, která je základem těchto vakcín podrobně. Poté zkontrolujeme obě složky a zamýšlené biologické reakce na tyto vakcíny, včetně produkce samotného spike proteinu a jejich potenciální vztah k a široké spektrum jak akutních, tak dlouhodobě vyvolaných patologií, jako jsou poruchy krve, neurodegenerativní onemocnění a autoimunitní onemocnění. Mezi těmito potenciálně indukovanými patologiemi diskutujeme o relevanci aminokyselinové sekvence související s prionovým proteinem v spike proteinu. Přinášíme také stručný přehled studií podpora potenciálu pro „vylučování“ proteinu, přenos proteinu z očkovaného na an neočkovaná osoba, což má za následek příznaky indukované u poslední jmenované osoby. Dokončíme tím, že se budeme zabývat společným bodem debaty, konkrétně o tom, zda tyto vakcíny mohou nebo nemohou modifikovat DNA těch, kteří byli očkováni. Zatímco neexistují žádné studie, které by definitivně prokázaly, že se to děje, poskytujeme věrohodný scénář, podporovaný dříve zavedenými cestami pro transformaci a transport genetického materiálu, přičemž injikovaná mRNA by mohla být nakonec začleněna do DNA zárodečných buněk pro transgenerační přenos. My na závěr naše doporučení týkající se sledování, která pomohou objasnit dlouhodobé účinky tyto experimentální léky a umožňují nám lépe posoudit skutečný poměr rizika a přínosu těchto nových technologií.

Klíčová slova: zesílení závislé na protilátce, autoimunitní onemocnění, genová editace, lipidové nanočástice, messenger RNA, prionová onemocnění, reverzní transkripce, vakcíny proti SARS-CoV-2

Úvod

Bezprecedentní. Toto slovo tolik definovalo rok 2020 a pandemii související s SARSCoV-

2. Kromě bezprecedentní nemoci a její globální reakce vyvolal COVID-19 také bezprecedentní proces výzkumu, výroby, testování a veřejné distribuce vakcín (Shaw, 2021). Pocit naléhavosti ohledně boje s virem vedl v březnu 2020 k vytvoření

Operace Warp Speed (OWS), program tehdejšího prezidenta Donalda Trumpa s cílem přinést vakcínu proti COVID-19 co nejrychleji uvést na trh (Jacobs a Armstrong, 2020).

OWS zavedlo několik dalších bezprecedentních aspektů COVID-19. Nejprve to přineslo USA Ministerstvo obrany do přímé spolupráce s ministerstvy zdravotnictví USA s ohledem na distribuce vakcín (Bonsell, 2021). Za druhé, spolupracovaly Národní instituty zdraví (NIH) s biotechnologickou společností Moderna přinášející bezprecedentní typ vakcíny proti infekční onemocnění na trh, využívající technologii založenou na messenger RNA (mRNA) (Národní zdravotní ústav, 2020).

Soutok těchto bezprecedentních událostí rychle přinesl příslib veřejnosti do povědomí a potenciál mRNA vakcín jako nové zbraně proti infekčním chorobám do budoucna. Na zároveň události, které nemají precedens, jsou z definice bez historie a kontextu, vůči němuž by byly konfrontovány plně vyhodnotit rizika, očekávané přínosy, bezpečnost a dlouhodobou životaschopnost jako pozitivní příspěvek k veřejné zdraví.

V tomto článku si jeden stručně zopakujeme konkrétní aspekt těchto bezprecedentních událostí, konkrétně vývoj a nasazení mRNA vakcíny proti cílové třídě infekční nemoci pod záštitou „SARSCoV-2.“ Věříme mnoha problémům, které nastolíme zde bude použitelný pro jakoukoli budoucí mRNA vakcína, která by mohla být vyrobena proti jiným infekční agens nebo v souvisejících aplikacích rakovina a genetická onemocnění, zatímco jiné se zdají aktuálně konkrétně relevantní pro mRNA vakcíny implementován proti podtřídě corona viry. Zatímco sliby této technologie byly široce ohlašovány, objektivně vyhodnocená rizika a obavy o bezpečnost daleko méně detailní pozornost. Je to náš záměr přezkoumat několik velmi zajímavých molekulárních aspekty mRNA související s infekčním onemocněním technologie a uvést je do vzájemného vztahu s oběma

zdokumentované a potenciální patologické účinky.

Vývoj vakcíny

Vývoj mRNA vakcín proti

infekční onemocnění je v mnoha ohledech bezprecedentní.

V publikaci z roku 2018 sponzorované Bill and

Nadace Melindy Gatesové byly vakcíny rozděleny do tří kategorií: jednoduché, komplexní a

Bezprecedentní (Young et al., 2018). Jednoduché a komplexní vakcíny představovaly standardní a

modifikované aplikace stávajících technologií vakcín. Bezprecedentní představuje kategorii

Bezprecedentní:

Mnoho aspektů Covid-19 a následujících

vývoj vakcín je bezprecedentní pro a

vakcína nasazená pro použití v obecné

počet obyvatel. Některé z nich zahrnují

Následující.

1. Nejprve použijte PEG (polyethylenglykol) v an

vstříkovaní (viz text)

2. První použití technologie vakcíny mRNA

proti infekčnímu agens

3. Poprvé Moderna přinesla jakýkoli produkt

na trh

4. Za prvé, aby to řekli úředníci veřejného zdraví

ti, kteří jsou očkováni, mohou očekávat an

nežádoucí reakce

5. Nejprve bude veřejně implementováno s

nic víc než předběžné údaje o účinnosti

(viz text)

6. První vakcína, o které nebudou žádná jasná tvrzení

snížení infekcí, přenosnost, popř

úmrtí

7. První pokus o očkování proti koronaviru

lidé

8. První injekce geneticky modifikovaného

polynukleotidy v obecné populaci

Vývoj vakcíny

Vývoj mRNA vakcín proti infekční onemocnění je v mnoha ohledech bezprecedentní.

V publikaci z roku 2018 sponzorované Bill and Nadace Melindy Gatesové byly vakcíny rozděleny do tří kategorií: jednoduché, komplexní a

Bezprecedentní (Young et al., 2018). Jednoduché a komplexní vakcíny představovaly standardní a

modifikované aplikace stávajících technologií vakcín. Bezprecedentní představuje kategorii

vakcína proti nemoci, pro kterou nikdy předtím neexistovala vhodná vakcína. Vakcíny proti

HIV a malárie jsou příklady. Jak ukazuje jejich analýza, znázorněno na obrázku 1, bezprecedentní

Očekává se, že vývoj vakcín bude trvat 12,5 roku. Ještě hrozivější je, že mají odhadovaných 5 %.

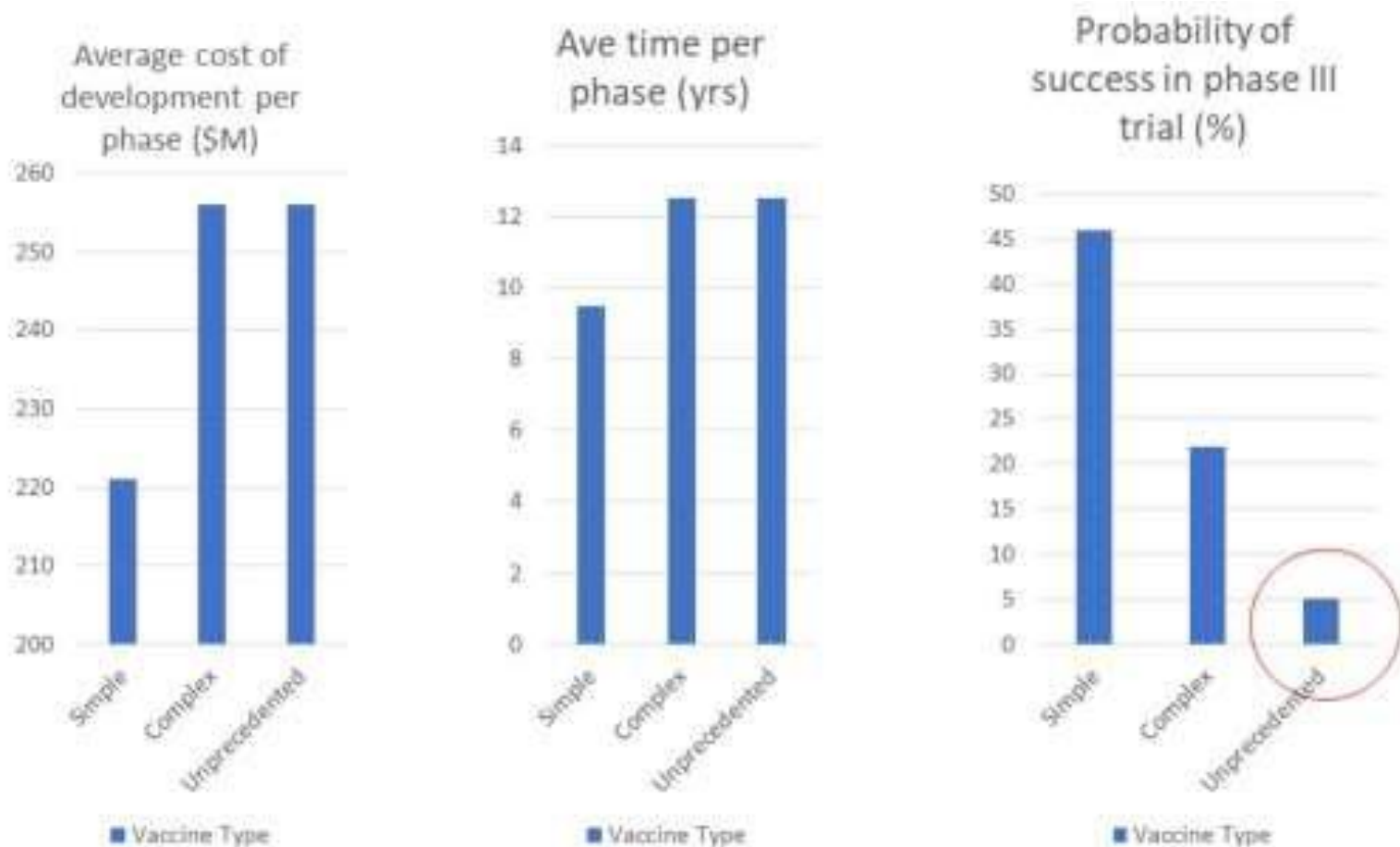
šance projít fázemi II zkoušek (posouzení účinnosti) a z toho 5%, 40% šance

projít studii fáze III (posouzení populačního přínosu). Jinými slovy, bezprecedentní

Předpokládalo se, že vakcína bude mít 2% pravděpodobnost úspěchu ve fázi klinické studie fáze III. Tak jako

autoři bez obalu říkají, že existuje „malá pravděpodobnost úspěchu, zvláště u bezprecedentního

vakcíny." (Young a kol., 2018)



Obrázek 1. Zavedení inovativních vakcín je nákladné a časově náročné, s nízkou pravděpodobností úspěchu, zejména pro bezprecedentní vakcíny (upraveno podle Young et al, 2018)

S ohledem na to máme o dva roky později bezprecedentní vakcínu se zprávami o 90–95 % účinností (Baden et al. 2020). Ve skutečnosti jsou tyto zprávy o účinnosti primární motivací veřejná podpora přijetí očkování (U.S. Department of Health and Human Services, 2020). To vzdoruje nejen předpovědím, ale i očekáváním. British Medical Journal (BMJ) může být jediná prominentní konvenční lékařská publikace, která dala platformu hlasům, které volají pozornost k obavám ohledně účinnosti vakcín COVID-19. Důvody k tomu skutečně jsou věří, že odhady účinnosti vyžadují přehodnocení.

Peter Doshi, přidružený redaktor BMJ, publikoval dvě důležité analýzy (Doshi 2021a, 2021b) nezpracovaných údajů poskytnutých FDA výrobcí vakcín, údajů, které jsou základem pro tvrzení o vysoké účinnosti. Bohužel byly zveřejněny na blogu BMJ a ne v jeho recenzovaných obsah. Doshi však publikoval studii týkající se účinnosti vakcíny sporná užitečnost koncových bodů testů vakcín v recenzovaném obsahu BMJ (Doshi 2020). Ústředním aspektem Doshiho kritiky předběžných údajů o účinnosti je vyloučení více než 3400 „podezřelých případů COVID-19“, které nebyly zahrnuty do předběžné analýzy vakcíny Pfizer údaje předložené FDA. Dále nízké, ale netriviální procento jednotlivců v obou moderně Studie a studie Pfizer byly na začátku považovány za pozitivní na SARS-CoV-1 navzdory předchozí infekci důvody pro vyloučení. Z těchto a dalších důvodů je prozatímní odhad účinnosti přibližně 95 %.

obě vakcíny jsou podezřelé.

Novější analýza se konkrétně zabývala otázkou snížení relativního vs. absolutního rizika. Zatímco vysoké odhady snížení rizika jsou založeny na relativních rizicích, absolutní snížení rizika je a vhodnější metrika pro příslušníka široké veřejnosti k určení, zda očkování poskytuje významné snížení rizik osobně. V této analýze s využitím dat poskytnutých společností výrobcí vakcín FDA, vakcína Moderna v době předběžné analýzy prokázala absolutní snížení rizika o 1,1 % ($p=0,004$), zatímco absolutní snížení rizika vakcíny Pfizer bylo 0,7 % ($p<0,000$) (Hnědá 2021).

Jiní vnesli důležité dodatečné otázky týkající se vývoje vakcíny COVID-19, otázky přímo související s mRNA vakcínami, které jsou zde recenzovány. Například Haidere, et. al. (2021) identifikují čtyři „kritické otázky“ související s vývojem těchto vakcín

záleží jak na jejich bezpečnosti, tak na jejich účinnosti:

- Budou vakcíny stimulovat imunitní odpověď?
- Poskytnou vakcíny udržitelnou imunitní odolnost?
- Jak bude SARS-CoV-2 mutovat?

• Jsme připraveni na negativní dopady vakcín?

Nedostatek standardních a rozšířených preklinických a klinických studií dvou implementovaných mRNA vakcín ponechává každou z těchto otázek na zodpovězení v průběhu času. Nyní je to pouze prostřednictvím pozorování relevantní fyziologická a epidemiologická data generovaná rozsáhlou dodávkou vakcín široké veřejnosti, že tyto otázky budou vyřešeny. A to je možné pouze v případě, že je zdarma přístup k nezaujatému podávání zpráv o výsledcích – něco, co se zdá nepravděpodobné vzhledem k rozšířenosti cenzura informací souvisejících s vakcínou kvůli vnímané potřebě vůbec deklarovat úspěch náklady.

Dvě mRNA vakcíny, které prošly fázemi 3 zkoušek a nyní jsou dodávány obecnou populaci tvoří vakcína Moderna a vakcína Pfizer-BioNTech. Vakcíny mají mnoho společného. Oba jsou založeny na mRNA kódující spike protein SARS-CoV-2 virus. Oba prokázali relativní účinnost 94-95 %. Předběžné náznaky jsou takové protilátky jsou přítomny i po třech měsících. Oba doporučují dvě dávky s odstupem tří nebo čtyř týdnů a v poslední době se objevují zprávy o nutnosti každoročních posilovacích injekcí (Mahose, 2021). Oba jsou dodávány prostřednictvím svalové injekce a oba vyžadují hluboké zmrazení, aby se zachovala RNA od rozbití. Je to proto, že na rozdíl od dvouřetězcové DNA, která je velmi stabilní, je jednořetězcová Produkty RNA jsou náchylné k poškození nebo ztrátě síly při vysokých teplotách a musí se stát být udržovány v extrémně chladu, aby byla zachována jejich potenciální účinnost (Pushparajah et al., 2021). Tvrdí to výrobci, že vakcína Pfizer vyžaduje skladování při teplotě -94 stupňů Fahrenheita (-70 stupňů Celsia), což ztěžuje jeho přepravu a udržování chladu v mezidobí před ním je nakonec spravována. Vakcínu Moderna lze skladovat po dobu 6 měsíců při teplotě -4 stupňů Fahrenheita (-20 stupňů Celsia) a může být bezpečně uložen v chladničce po dobu 30 dnů po rozmrazení (Zimmer et al., 2021).

Dvě další vakcíny, které jsou nyní podávány v nouzovém režimu, jsou Johnson & Johnsonova vakcína a vakcína AstraZeneca. Oba jsou založeny na technologii vektorové DNA, která je velmi odlišné od technologie používané v mRNA vakcínách. Zatímco tyto vakcíny byly také spěchali na trh s nedostatečným zhodnocením, nejsou předmětem tohoto příspěvku, tak budeme jen stručně popíšete, jak se vyvíjejí. Tyto vakcíny jsou založeny na vadné verzi adenovirus, dvouvláknový DNA virus, který způsobuje běžné nachlazení. Adenovirus byl geneticky modifikován dvěma způsoby, takže se nemůže replikovat kvůli kriticky chybějícím genům a jeho genom byl rozšířen o kód DNA pro spike protein SARS-CoV-2. AstraZeneca produkce zahrnuje imortalizovanou lidskou buněčnou linii nazývanou Human Embryonic Kidney (HEK) 293,

který se pěstuje v kultuře spolu s defektními viry (Dicks et al., 2012). Buněčná linie HEK byl geneticky modifikován již v 70. letech 20. století rozšířením své DNA o segmenty z an adenovirus, který dodává chybějící geny potřebné pro replikaci defektního viru (Louis et al., 1997). Johnson & Johnson používá podobnou techniku založenou na buněčné linii sítnice plodu. Protože výroba těchto vakcín vyžaduje geneticky modifikované lidské nádorové buněčné linie, existuje potenciál pro kontaminaci lidské DNA, stejně jako mnoho dalších potenciálních kontaminantů. Média vyvolala velké vzrušení ohledně této revoluční technologie, ale tam jsou také obavy, že si možná neuvědomujeme složitost potenciálu těla reagovat cizí mRNA a další ingredience v těchto vakcínách, které daleko přesahují prostý cíl oklamat tělo začne produkovat protilátky proti spike proteinu. Ve zbytku tohoto článku nejprve podrobněji popíšeme technologii mRNA vakcín. Věnujeme několik sekcí specifickým aspektům mRNA vakcín, které nás zajímají s ohledem na potenciální předvídatelné i nepředvídatelné negativní důsledky. Uzavíráme s prosba vládám a farmaceutickému průmyslu, aby zvážily větší opatrnost v této oblasti současný závazek očkovat co nejvíce lidí proti SARS-CoV-2.

Technologie mRNA vakcín

V rané fázi vývoje genové terapie založené na nukleotidech toho bylo podstatně více úsilí investované do přenosu genů prostřednictvím DNA plasmidů spíše než prostřednictvím technologie mRNA. Dvě hlavní překážky pro mRNA jsou její přechodná povaha kvůli její náchylnosti k rozpadu RNAázy, stejně jako její známá schopnost vyvolat silnou imunitní odpověď, která narušuje její transkripce na protein. Bylo prokázáno, že plasmidová DNA přetrvává ve svalu až šest měsíců, zatímco mRNA téměř jistě zmizí mnohem dříve. Pro aplikace vakcín to bylo původně domnívali se, že imunogenní povaha RNA by mohla fungovat s výhodou, stejně jako mRNA slouží jako adjuvans pro vakcínu, což eliminuje argumenty ve prospěch toxického aditiva, jako je hliník. Imunitní reakce však vede nejen k zánětlivé, ale také rychlá clearance RNA a suprese transkripce. Takže se ukázalo, že tento nápad nebyl praktický. Existovalo rozsáhlé časové období, během kterého byly zkoumány různé nápady, jak se pokusit zachovat mRNA se rozpadla dříve, než mohla produkovat protein. Velkým pokrokem byla realizace že nahrazení methyl-pseudouridinu za všechny uridinové nukleotidy by stabilizovalo RNA proti degradaci, což mu umožňuje přežít dostatečně dlouho, aby produkovalo adekvátní množství proteinového antigenu potřebné pro imunogenezi (Liu, 2019). Tato forma mRNA dodávaná ve vakcíně není nikdy vidět

přírodě, a proto má potenciál pro neznámé důsledky.

mRNA vakcíny Pfizer-BioNTech a Moderna jsou založeny na velmi podobných technologiích, kde a

lipidová nanočástice obklopuje sekvenci RNA kódující spike protein SARS-CoV-2 plné délky.

Ve výrobním procesu je prvním krokem sestavení molekuly DNA kódující hrot

protein. Tento proces byl nyní komoditizován, takže je relativně snadné získat a

Molekula DNA ze specifikace sekvence nukleotidů (Corbett et al., 2020). Následující

bezbuněčná in vitro transkripce z DNA, využívající enzymatické reakce katalyzované RNA

polymerázou je jednovláknová RNA stabilizována prostřednictvím specifických nukleosidových modifikací a
vysoce čištěný.

Společnost Moderna, Cambridge, MA, je jedním z vývojářů nasazených mRNA vakcín

pro SARS-CoV-2. Vedení společnosti Moderna mají velkou vizi rozšíření technologie pro mnohé

aplikace, kde může být tělo nasměrováno k produkci terapeutických proteinů nejen pro protilátky

produkci, ale také k léčbě genetických chorob a rakoviny, mimo jiné. Vyvíjejí a

generická platforma, kde DNA je úložný prvek, messenger RNA je „software“ a

proteiny, které RNA kóduje, představují různé aplikační domény. Vize je grandiózní a

teoretické potenciální aplikace jsou obrovské (Moderna, 2020). Technologie je působivá, ale

manipulace s kódem života by mohla potenciálně vést ke zcela neočekávaným negativním účinkům
dlouhodobé nebo dokonce trvalé.

SARS-CoV-2 je členem třídy pozitivních RNA virů, což znamená, že kódují

přímo pro proteiny, které RNA kóduje, spíše než vyžadování kopie do antisense vlákna

před translací na protein. Virus sestává primárně z jednovláknové molekuly RNA

zabalený uvnitř proteinového obalu, který se skládá ze strukturálních proteinů viru, zejména z

spike protein, který usnadňuje vazbu viru na receptor (v případě SARS-CoV-2 je to

ACE2 receptor) a virová fúze s membránou hostitelské buňky. Špičkový protein SARS-CoV-2 je

primární cíl pro neutralizační protilátky. Je to fúzní glykoprotein třídy I a je analogický

hemaglutinin produkovaný chřipkovými viry a fúzní glykoprotein produkovaný syncytialem

viru, stejně jako gp160 produkovaný virem lidské imunodeficiency (HIV) (Corbett et al., 2020).

Vakcíny mRNA jsou vyvrcholením let výzkumu ve zkoumání možností použití

RNA zapouzdřená v lipidové částici jako posel. Stávající biologický aparát hostitelské buňky je

kooptován pro usnadnění přirozené produkce proteinu z mRNA. Pole rozkvetlo

částečně kvůli snadnosti, se kterou mohou být syntetizovány specifické oligonukleotidové DNA sekvence

laboratoř bez přímého zapojení živých organismů. Tato technologie se stala

komoditizované a lze je provádět ve velkém měřítku s relativně nízkými náklady. Enzymatická přeměna

DNA na RNA je také přímočará a je možné izolovat v podstatě čistou jednovláknovou RNA

z reakční polévky (Kosuri a Church, 2014).

1. Úvahy o selekci a modifikaci mRNA

Zatímco proces je v zásadě jednoduchý, výrobci mRNA vakcín se s některými potýkají

značné technické problémy. První, jak jsme diskutovali, je, že samotná extracelulární mRNA může

vyvolat imunitní odpověď, která by vedla k jeho rychlému odstranění dříve, než je vůbec absorbován buňky. Takže mRNA musí být v nanočástici, která ji ochrání před imunitou

Systém. Druhým problémem je přimět buňky, aby přijaly nanočástice. To se dá částečně vyřešit

začleněním fosfolipidů do nanočástic, aby se využily přirozené cesty lipidů

částicová endocytóza. Třetím problémem je aktivovat mašinerii, která se na překládání podílí

RNA na protein. V případě SARS-CoV-2 je produkovaným proteinem spike protein.

Po syntéze spike proteinu musí buňky prezentující antigen prezentovat spike protein T

buňky, které budou nakonec produkovat ochranné paměťové protilátky (Moderna, 2020). Tento krok není

obzvláště přímočaré, protože nanočástice jsou většinou přijímány svalovými buňkami, které

být imobilní, nejsou nezbytně vybaveny ke spuštění imunitní reakce. Jak uvidíme,

pravděpodobný scénář je, že spike protein je syntetizován svalovými buňkami a poté předán

makrofágy fungující jako buňky prezentující antigen, které pak spustí standardní B-buňky založené

kaskádová odpověď generující protilátky.

mRNA, která je uzavřena ve vakcínách, prochází po ní několika modifikačními kroky

syntéza z templátu DNA. Některé z těchto kroků zahrnují přípravu, aby vypadala přesně jako a

sekvence lidské mRNA vhodně modifikovaná pro podporu ribozomální translace na protein.

Další modifikace mají za cíl chránit ho před rozkladem, aby mohl být dostatek bílkovin

produkované k vyvolání protilátkové odpovědi. Nemodifikovaná mRNA indukuje imunitní reakci, která vede

na vysoké sérové hladiny interferonu- α (IF- α), což je považováno za nežádoucí odpověď. Nicméně,

výzkumníci zjistili, že nahrazení všech uridinů v mRNA N-methyl-pseudouridinem

zvyšuje stabilitu molekuly a zároveň snižuje její imunogenicitu (Karikó et al. 2008; Corbett et al.

al., 2020). Tento krok je součástí přípravy mRNA ve vakcínách, ale kromě toho je zapotřebí 7-

methylguanosa „cap“ je přidán na 5' konec molekuly a poly-adenin (poly-A) konec,

sestávající ze 100 nebo více adeninových nukleotidů, je přidán na 3' konec. Čepice a ocas jsou nezbytné

při udržování stability mRNA v cytosolu a podpoře translace na protein

(Schlake a kol., 2012; Gallie, 1991).

Normálně se spike protein velmi snadno překlápá z předfúzní konfigurace do postfúzní konfigurace. Špičkový protein, který je v těchto vakcínách, byl upraven tak, aby podporoval a stabilní konfigurace ve svém prefuzním stavu, protože tento stav vyvolává silnější imunitní odpověď (Jackson a kol., 2020). To bylo provedeno prostřednictvím „genetické mutace“ nahrazením kritických dvou reziduí segment se dvěma prolinovými zbytky v pozicích 986 a 987, v horní části centrální šroubovice S2 podjednotku (Wrapp et al., 2020). Prolin je vysoce neflexibilní aminokyselina, takže interferuje s přechod do stavu fúze. Tato modifikace poskytuje protilátkám mnohem lepší přístup ke kritickým místu, které podporuje fúzi a následné vychytávání buňkami. Ale může to také znamenat, že geneticky modifikovaná verze spike proteinu produkovaného následující lidskou hostitelskou buňkou instrukce z vakcíny mRNA přetrvává v plazmatické membráně navázané na ACE2 receptory kvůli zhoršeným schopnostem fúze? Co to může mít za následek? nevíme.

Vědci z Číny zveřejnili v srpnu 2020 v Nature zprávu, ve které prezentovali údaje o několika experimentálních mRNA vakcín, kde mRNA kódovala různé fragmenty a proteiny virus SARS-CoV-2. Testovali tři různé formulace vakcín na jejich schopnost indukovat analgetikum odpovídající imunitní odpověď u myši. Tři strukturální proteiny, S (spike), M a E, jsou minimální požadavky na sestavení „viru podobné částice“ (VLP). Jejich hypotéza byla, že poskytování M a E stejně jako protein S spike v kódu mRNA by umožnil sestavení VLP, které by mohlo vyvolávají zlepšenou imunitní odpověď, proto podobají přirozenému viru než S protein exponovaný na povrchu buněk, které přijaly pouze mRNA proteinu S z nanočástice vakcíny. Také doufali, že kritické fragmenty spike proteinu budou dostatečné k navození imunity, spíše než celý spike protein, pokud by virové částice mohly být vytvořené augmentací s M a E (Lu et al., 2020).

Experimentálně potvrdili, že vakcína obsahuje kompletní geny pro všechny tři proteiny vyvolal silnou imunitní odpověď, která trvala alespoň osm týdnů po druhé dávce vakcíny. Jeho účinnost byla mnohem lepší než u vakcíny obsahující pouze spike protein. Vakcína, která obsahovala pouze kritické složky spike proteinu, byla bohužel rozšířena s dalšími dvěma obalovými proteiny nevyvolal prakticky žádnou odpověď.

Výzkumníci z Moderny provedli podobné studie s podobnými výsledky. Došli k závěru, že samotný spike protein byl jasně horší než formulace obsahující RNA kódující všechny tři obálky proteiny a předpokládali, že to bylo způsobeno tím, že všechny tři proteiny byly potřeba umožnit buňce uvolňovat neporušené částice podobné viru, spíše než do ní pouze umístit vrcholový protein plazmatická membrána. Samotný spike protein nedokázal iniciovat odpověď T buněk ve studiích na zvířatech, zatímco formulace se všemi třemi proteiny ano (Corbett et al., 2020).

Dvě nouzově schválené vakcíny obsahují pouze mRNA kód pro spike protein (bez E nebo M) a pro toto rozhodnutí musel být dobrý důvod, navzdory jeho pozorovanému nedostatku výkon. Je možné, že sofistikovanější design lipidových nanočástic (viz níže) vedl ke schopnosti nechat lipidy sloužit jako adjuvans (podobně jako hliník, který je běžně dostupný přidávané do tradičních vakcín), přičemž stále chrání RNA před degradací.

Další kuriózní úpravou v kódu RNA je to, že vývojáři obohatili sekvenci cytosiny a guaniny (Cs a Gs) na úkor adeninů a uracilů (As a Us). Oni mají dávejte pozor, abyste tímto způsobem nahradili pouze třetí pozici v kodonu, a to pouze tehdy, když tomu tak není změnit mapu aminokyselin (Hubert, 2020). Experimentálně bylo prokázáno, že GC-bohaté Sekvence mRNA jsou exprimovány (přeloženy na protein) až 100krát efektivněji než GCpoor sekvencí (Kudla et al., 2006). Zdá se tedy, že se jedná o další úpravu, která má ještě více zajistit syntéza hojných kopií spike proteinu. Neznáme nezamýšlené důsledky tento manévr. Intracelulární patogeny, včetně virů, mívají nízký obsah GC ve srovnání s genomu hostitelské buňky (Rocha a Danchin, 2020). Takže tato modifikace mohla být motivována částečně touhou zvýšit účinnost klamu, že protein je člověk protein.

Všechny tyto různé modifikace RNA jsou navrženy tak, aby odolala rozpadu spíše jako sekvence kódující protein lidské messenger RNA a účinně se převádějí na antigenní protein.

2. Konstrukce lipidových nanočástic

Lipidové nanočástice (LNP), také známé jako lipozomy, mohou zapouzdřit molekuly RNA a chránit jsou před enzymatickou degradací ribonukleázami, a tak tvoří základní složku a úspěšný způsob doručení (Wadhwa et al., 2020; Xu et al., 2020). Tyto umělé konstrukce úzce připomínají exosomy. Exosomy jsou extracelulární vezikuly vylučované buňkami a vychytávané buňkami sousedy a také často obsahují DNA nebo RNA. Tyto nanočástice tedy mohou využít procesů přirozené endocytózy, které normálně internalizují extracelulární exosomy do endozomů. Když se endozom okyselí na lysozom, mRNA se uvolní do cytoplazmy, a to kde dochází k translaci na protein. Ve skutečnosti bylo zjištěno, že lipozomů je více úspěšné při zlepšování prezentace antigenu a zrání dendritických buněk ve srovnání s fúzní proteiny, které zapouzdřují vakcíny na bázi virů (Norling et al., 2019).

Lipidové nanočástice (LNP) v těchto vakcínách jsou složeny z ionizovatelných kationtových lipidů, fosfolipidy, cholesterol a polyethylenglykol (PEG). Společně se tato směs skládá do a

stabilní lipidová dvojvrstva kolem molekuly mRNA. Fosfolipidy v těchto experimentálních vakcínách sestávají z fosfatidylcholinové hlavní skupiny spojené se dvěma nasycenými alkylovými konci přes glycerol linker. Lipid používaný v těchto vakcínách, pojmenovaný 1,2-distearoyl-sn-glycero-3-fosfocholin (DSPC), má 18 opakujících se uhlíkových jednotek. Relativně dlouhý řetězec má tendenci tvořit gelovou fázi spíše než tekutinu fáze. Molekuly s kratšími řetězci (jako je 12-uhlíkový řetězec) mají tendenci zůstat v kapalně fázi namísto. Bylo zjištěno, že lipozomy v gelové fázi využívající DSPC mají vynikající účinnost chrání RNA před degradací, protože delší alkylové řetězce jsou mnohem více omezeny jejich pohyby v lipidové doméně. Zdá se také, že jsou účinnější jako adjuvans, zvýšení uvolňování cytokinů tumor nekrotizujícího faktoru- α (TNF- α), interleukinu (IL)-6 a IL-1p z exponovaných buněk (Norling et al., 2019). Nicméně jejich schopnost vyvolat zánětlivou reakci může být příčinou mnoha symptomů, které lidé pociťují, jako je bolest, otok, horečka a ospalost. Studie publikovaná v bioRxiv experimentálně ověřila, že jsou ionizovatelné kationtové lipidy v lipidových nanočásticích indukují silnou zánětlivou reakci u myší (Ndeupen et al., 2021).

Současné mRNA vakcíny jsou dodávány intramuskulární injekcí. Svaly obsahují velký síť krevních cév, kde mohou být imunitní buňky rekrutovány do místa vpichu (Zeng et al., 2020). Svalové buňky obecně mohou posílit imunitní reakci, jakmile imunitní buňky infiltrují, dovnitř reakce na adjuvans (Marino et al., 2011). Pečlivá analýza odpovědi na mRNA vakcínu, podaný myším ukázal, že antigen je exprimován zpočátku ve svalových buňkách a poté přeneseny do buněk prezentujících antigen, což naznačuje „cross-priming“ jako primární cestu pro iniciaci a CD8 T buněčná odpověď (Lazzaro et al., 2015). Dá se spekulovat, že svalové buňky využívají an imunitní odpověď, která se normálně používá k řešení chybně poskládaných lidských proteinů. Takové proteiny vyvolávají upregulace proteinů hlavního histokompatibilního komplexu (MHC) třídy II, které se pak vážou na špatně složené proteiny a transportují je neporušené do plazmatické membrány (Jiang et al., 2013).

Povrchový protein navázaný na MHC pak vyvolává zánětlivou odpověď a následnou infiltraci antigen prezentujících buněk (např. dendritických buněk a makrofágů) do svalové tkáně, která pak vychytávají zobrazené proteiny a přenášejí je do lymfatického systému, aby je prezentovaly T buňkám. Tyto T buňky pak mohou konečně spustit kaskádu, která nakonec produkuje paměťové protilátky specifické pro protein. Svalové buňky exprimují proteiny MHC třídy II (Cifuentes-Diaz et al., 1992).

Na rozdíl od třídy I se proteiny MHC třídy II specializují na transport intaktních proteinů do povrchu na rozdíl od malých peptidových sekvencí odvozených z částečného rozkladu proteinů (Jiang et al., 2013).

Studie in vitro na nehumánních primátech prokázala, že radioaktivně značená mRNA se přesunula z

místo vpichu do drenážní lymfatické uzliny a zůstal tam po dobu nejméně 28 hodin. **Antigen bylo prokázáno, že prezentující buňky (APC) jak ve svalové tkáni, tak v drenážních lymfatických uzlinách**

obsahují radioaktivně značenou mRNA (Lindsay et al., 2019). Klasické APC zahrnují dendritické buňky,

makrofágy, Langerhansovy buňky (v kůži) a B buňky. Mnoho vedlejších účinků spojených s

tyto vakcíny zahrnují bolest a zánět v místě vpichu, jak by se dalo očekávat vzhledem k

rychlá infiltrace imunitních buněk.

Lymfadenopatie je zánětlivý stav v lymfatickém systému spojený s otokem lymfy

uzly. Zduření lymfatických uzlin v podpaží (axilární lymfadenopatie) je znakem metastáz

rakovina prsu. Práce publikovaná v roce 2021 popsala čtyři případy žen, u kterých se vyvinula axilární

lymfadenopatie po vakcíně SARS-CoV-2 (Mehta et al., 2021). Autoři vyzvali k opatrnosti

při nesprávné interpretaci tohoto stavu jako indikátoru vyžadujícího sledování možného prsu biopsií

rakovina. Tento symptom potvrzuje stopovací studie, které ukazují, že mRNA vakcína je převážně

absorbovány APC, které pak pravděpodobně syntetizují antigen (spike protein) z mRNA a

migrují do lymfatického systému a na jejich membránách se zobrazí spike protein.

Seznam nejčastějších nežádoucích účinků hlášených FDA, které se vyskytly během

Klinické studie společnosti Pfizer-BioNTech zahrnují „bolest v místě vpichu, únavu, bolest hlavy, bolest svalů, zimnici,

bolest kloubů, horečka, otok v místě vpichu, zarudnutí v místě vpichu, nevolnost, malátnost a

lymfadenopatie." (US Food and Drug Administration, 2021).

Nyní se zaměříme na jednotlivé molekulární a orgánové systémy, které vystávají s těmito mRNA

vakcíny.

Adjuvans, polyethylenglykol a anafylaxe

Adjuvans jsou přísady do vakcín, které mají „vyvolat výrazné imunologické profily s ohledem na

směr, trvání a síla imunitních odpovědí“ z vakcín, proti kterým jsou

přidáno (Liang et al., 2020). Nejčastěji se používá kamenec nebo jiné sloučeniny hliníku

tradiční vakcíny a také vyvolávají širokou škálu cest systémové imunitní aktivity

aktivace stromálních buněk v místě injekce (Lambrecht et al., 2009; Danielsson & Eriksson,

2021).

Bylo zjištěno, že adjuvans na bázi hliníku není optimální pro vakcínu proti koronaviru, takže jiné

hledala se řešení (Liang et. al., 2020). Řešení se představilo v podobě široce používaného

farmaceutická složka polyethylenglykol nebo PEG. Limitující faktor v použití nukleových kyselin

vakcíny je tendence k rychlé degradaci nukleových kyselin nukleázovými enzymy (Ho

a kol., 2021). Pokud jde o enzymy RNázy zacílené na injikovanou mRNA, tyto enzymy jsou široce rozšířeny distribuovány jak intracelulárně (primárně v lysozomech) (Fujiwara et al., 2017), tak extracelulárně (Lu et al., 2018). K překonání tohoto omezení jsou v současné době obě mRNA vakcíny nasazené proti COVID-19 využívají nanočástice na bázi lipidů jako nosiče. Náklad mRNA je umístěn uvnitř obalu složeného ze syntetických lipidů a cholesterolu spolu s PEG pro stabilizaci molekula mRNA proti degradaci.

Vakcína vyrobená společností Pfizer/BioNTech vytváří nanočástice z 2-[(polyethylenglykolu)-2000]-N,N-ditetradecylacetamid nebo ALC-0159, běžně zkráceně jednoduše jako PEG (World Zdravotní organizace, 2021, 14. ledna). Vakcína Moderna obsahuje další variantu PEG, SM-

102, 1,2-dimyristoyl-rac-glycero-3-methoxypolyethylenglykol 2000 (Světová zdravotnická organizace, 2021, 19. ledna). Pro usnadnění budeme oba PEG-modifikované lipidy zkracovat jako PEG a odkazovat

k vakcínám jako PEGylované podle standardní nomenklatury.

Lipidový obal hraje trojí roli. Za prvé, chrání genetický materiál před degradací

buněčný příjem. Za druhé, lipidový obal, který také obsahuje cholesterol, usnadňuje buněčný příjem

fúzi s lipidovou membránou buňky a následnou endocytózou lipidové částice,

vyvolání přirozeně existujících procesů. A konečně působí jako adjuvans (Ho et al., 2021). Je to v tomto

posledně jmenovaná role jako imunitního stimulantu, o které se nejvíce obává, pokud jde o její rozšířené používání PEG v injekční terapii.

V článku publikovaném v květnu 2019, před velkými klinickými studiemi zahrnujícími tyto PEGylované vakcíny,

Mohamed et. al. (2019) popsali řadu souvisejících zjištění týkajících se PEG a

imunologická aktivace, kterou produkuje, která zahrnuje humorální, buněčně zprostředkovanou a

aktivace založená na komplementu. Poznamenávají, že paradoxně velké injekční dávky PEG nezpůsobují ne zjevná alergická reakce. Malé dávky však mohou vést k dramatické patologické aktivaci imunitního systému.

Vakcíny využívající PEGylaci využívají mikromolární množství těchto lipidů, které toto tvoří potenciálně imunogenní expozice nízkým dávkám.

Ve studiích na zvířatech se ukázalo, že aktivace komplementu je zodpovědná za obě anafylaxe

a kardiovaskulární kolaps a injikovaný PEG aktivuje mnohočetné dráhy komplementu u lidí

také. Autoři jedné studie na závěr poznamenávají, že „Tato kaskáda sekundárních mediátorů

podstatně zesiluje efektorové imunitní reakce a u citlivých může vyvolat anafylaxi

Jednotlivci. Nedávné studie u prasat skutečně prokázaly, že systémová aktivace komplementu

(např. indukované po intravenózní injekci PEGylovaných lipozomů) může být základem srdečního

anafylaxe, kde C5a hrál kauzální roli. (Hamad et al., 2008) Je také důležité poznamenat, že

anafylaktoidní šok u prasat nenastal po první injekci, ale po druhé injekci

expozice (Kozma et al., 2019).

Přítomnost protilátek proti PEG je v populaci rozšířená (Zhou et al., 2020). Yang

a Lai (2015) zjistili, že přibližně 42 % zkoumaných vzorků krve obsahovalo protilátky proti PEG,

a varují, že by to mohlo mít důležité důsledky pro jakákoli terapeutika založená na PEG

představil. Hong et. al. (2020) zjistili anti-PEG protilátky s prevalencí až 72 % in

populace bez předchozí expozice lékařské terapii na bázi PEG. Lila et. al. (2018) poznamenat, že

„Existence takových anti-PEG protilátek úzce souvisí s poškozením

terapeutická účinnost v tandemu s rozvojem závažných nežádoucích účinků v několika klinických studiích

prostředí využívající terapeutika na bázi PEGylovaných.

Na základě četnosti výskytu anafylaxe na vakcíny se dříve předpokládalo, že je vzácná

události hlášené VAERS, databázi zřízené Centrem pro kontrolu nemocí a

Prevence v roce 1990 pro hlášení nežádoucích příhod souvisejících s vakcínami (Centers for Disease Control

a prevence, 1990; Su a kol., 2019). I když je anafylaxe vzácná, může být život ohrožující, takže je

důležité sledovat možnost v krátkém období po očkování (McNeil et al.,

2016).

Sellaturay et. al., po přezkoumání 5 případů anafylaxe souvisí s expozicí PEG, jeden téměř smrtelný a

zahrnující srdeční zástavu, napište: „PEG je vysoce rizikový ‚skrytý‘ alergen, obvykle nepodezřelý a může

způsobit časté alergické reakce v důsledku neúmyslného opětovného vystavení. Alergické vyšetření s sebou nese riziko anafylaxe a měla by být prováděna pouze ve specializovaných centrech pro alergii na léky. (Sellaturay a kol.,

2020). Ve skutečnosti již bylo prokázáno, že jsou spojeny již existující protilátky proti PEG

častější a závažnější reakce po opětovné expozici (Ganson et al., 2016).

Probíhá anafylaxe po expozici PEG s frekvencí relevantní pro veřejné zdraví?

Tento jev nyní dokumentuje řada studií (Lee et al., 2015; Povsic et al., 2016;

Wylon a kol., 2016). Anafylaktické reakce na mRNA vakcíny jsou široce uváděny v médiích

(Kelso, 2021) a jak je uvedeno výše, byly často hlášeny v databázi VAERS (690

hlášení anafylaxe po vakcínách proti SARS-CoV-2 do 29. ledna 2021). Jsou tam také nějaké

počáteční případové studie publikované v recenzované literatuře (Garvey & Nasser, 2020; CDC COVID-

19 Response Team, 2021, 15. ledna). Anafylaktické reakce na vakcíny před tímto COVID-19

vakcíny byly obecně hlášeny v míře nižší než 2 případy na milion očkovaní (McNeil et al.,

2016), zatímco současná míra očkovaní proti COVID-19 byla podle CDC vyšší

než 11 případů na milion (CDC COVID-19 Response Team, 2021, 29. ledna). Nicméně, a

publikoval prospektivní studii na 64 900 zdravotnických zaměstnancích, kde zjišťoval jejich reakce na jejich první mRNA

očkovaní bylo pečlivě sledováno, zjistilo se, že 2,1 % subjektů hlásilo akutní alergii

reakce. Extrémnější reakce zahrnující anafylaxi se objevila s rychlostí 247 na milion očkovaní (Blumenthal et al., 2021). To je více než 21krát více, než bylo původně hlášeno ze strany CDC. Druhá injekční expozice pravděpodobně způsobí ještě větší počet anafylaktických reakcí reakce.

mRNA vakcíny, spike proteiny a zesílení závislé na protilátkách (ADE)

ADE je imunologický fenomén poprvé popsán v roce 1964 (Hawkes et al., 1964). V tomto publikace Hawkes popsal soubor experimentů, ve kterých byly inkubovány kultury flaviviru s ptačím sérem obsahujícím vysoké titry protilátek proti těmto virům. Nečekané zjištění spočívalo v tom, že se stále vyšším ředěním séra obsahujícího protilátku byla buněčná infekčnost zvýšena. Nedostatek vysvětlení, jak by se to mohlo stát, je pravděpodobně odpovědné za to, že je z velké části ignorován téměř 20 let (Morens et al., 1994).

Bylo navrženo mnoho cest, kterými protilátky přímo i nepřímo podílet se na neutralizaci infekcí (Lu et al., 2018b). ADE je speciální případ toho, co může docházet, když jsou nízké, neneutralizující hladiny buď specifických nebo zkříženě reaktivních protilátek proti a virus je přítomen v době infekce. Tyto protilátky mohou být přítomny v důsledku předchozí expozice viru, vystavení příbuznému viru nebo v důsledku předchozího očkování proti viru. Při reinfekci, protilátky v nedostatečném množství k neutralizaci viru se přesto vážou na virus. Tyto protilátky se pak ukotví na Fc receptoru na buněčných površích, což usnadňuje vstup viru do buňky a následně zvýšení infekčnosti viru (Wan et al., 2020).

Předpokládá se, že ADE je základem závažnější horečky dengue často pozorované u pacientů s předchozí expozice (Beltramello et al., 2010), a může také hrát roli u závažnějších onemocnění mezi těmi, dříve očkování proti této nemoci (Shukla et al., 2020). ADE je také věřil hrát roli v Ebola (Takada et al., 2003), infekce virem zika (Bardina et al., 2017) a další flavivirové infekce (Campos et al., 2020).

V rozšířené korespondenci publikované v Nature Biotechnology, Eroshenko et al. nabídka a komplexní přehled důkazů naznačujících, že ADE se může projevit u jakéhokoli očkování proti SARS-CoV-2. Důležité je, že zaznamenali, že byl pozorován ADE s vakcínami proti koronaviru testovanými v modelech in vitro i in vivo (Eroshenko et al., 2020). Jiní varovali před stejnou možností u vakcín proti SARS-CoV-2. Teorie, jak by mohla ADE vyskytující se v případě vakcíny proti SARS-CoV-2 naznačuje, že neneutralizující protilátky tvoří imunitní komplex s virovými antigeny k vyvolání nadměrné sekrece prozánětlivých cytokinů a, v extrémní případ, cytokinová bouře způsobující rozsáhlé lokální poškození tkáně (Lee et al., 2020). Jeden

rozsáhlý přehled ADE potenciálně spojený s vakcínami proti SARS-CoV-2 poznamenal: „V současné době tam nejsou známy žádné klinické nálezy, imunologické testy nebo biomarkery, které by mohly odlišit jakékoli závažné virová infekce z onemocnění se zesílenou imunitou, ať už měřením protilátek, T buněk nebo vnitřních reakce hostitele“ (Arvin et al. 2020; Liu et al., 2019). K tomuto bodu se ještě vrátíme níže.

Preexistující protilátky proti imunoglobulinu G (IgG), vyvolané předchozí vakcinací, přispívají k závažným poškození plic SARS-CoV u makaků (Liu et al., 2019). Peron a Nakaya (2020) poskytují

důkazy naznačující, že mnohem rozmanitější rozsah předchozích expozičních koronavirových zkušeností starších osob by je mohly predisponovat k ADE po expozici SARS-CoV-2. A

týkající se předtiskového článku uvedl, že plazma od 76 % pacientů, kteří se uzdravili závažné onemocnění COVID-19, když se přidalo do kultur SARS-CoV-2 a citlivých buněk

zvýšená schopnost pro virovou infekci buněk Raji SARS-CoV-2 (Wu et al., 2020). Autoři toho poznamenávají

„titry protilátek [proti spike proteinu] byly vyšší u starších pacientů s COVID-19 a

silnější protilátková odpověď byla spojena se zpožděním virové clearance a zvýšenou závažností onemocnění

u pacientů. Proto je rozumné spekulovat, že k tomu mohou přispívat protilátky specifické pro S protein

závažnost onemocnění během infekce SARS-CoV-2.“ (Wu a kol., 2020) **Bylo hlášeno, že všichni tři američtí výrobci vakcín – Moderna, Pfizer a Johnson &**

Johnson – pracují na vývoji boosterů (Zaman 2021). S desítkami milionů mladých dospělých

a dokonce i děti nyní s vakcínami vyvolanými protilátkami proti koronavirovému proteinu, existují

možnost spuštění ADE související buď s budoucí infekcí SARS-CoV-2, nebo booster injekcí

mezi touto mladší populací. Čas ukáže.

mRNA vakcíny nakonec dodávají vysoce antigenní spike protein do buněk prezentujících antigen.

Jako takové jsou monoklonální protilátky proti spike proteinu očekávaným výsledkem současnosti

nasazené mRNA vakcíny. Bylo zjištěno, že monoklonální protilátky proti lidskému spike proteinu produkují vysoké

hladiny zkříženě reaktivních protilátek proti endogenním lidským proteinům (Vojdani et. al., 2021;

podrobněji přezkoumáno níže). Vzhledem k tomu, že důkazy zde byly přezkoumány pouze částečně, jsou dostatečné

důvod k podezření, že protilátky proti spike proteinu budou přispívat k ADE vyprovokované předchozí

infekce SARS-CoV-2 nebo očkování, které se může projevit jako akutní nebo chronické autoimunitní

a zánětlivé stavy. Výše jsme poznamenali, že není možné rozlišit ADE

manifestace onemocnění ze skutečné virové infekce jiné než ADE. V tomto světle je důležité

uznat, že když dojde k onemocnění a úmrtí krátce po očkování vakcínou mRNA, je to

nikdy nelze s konečnou platností určit, ani po úplném vyšetření, že reakce na vakcínu nebyla

proximální příčina.

Patogenní priming, multisystémové zánětlivé onemocnění a autoimunita

Patogenní priming je koncept, který je podobný ve výsledku jako ADE, ale liší se v základu mechanismus. Diskutujeme o tom zde jako o jedinečném mechanismu, jehož prostřednictvím by mohly mRNA vakcíny vyvolat související patologie.

V dubnu 2020 byl publikován důležitý dokument týkající se potenciálu samovolně reagujících protilátek které mají být vytvořeny po expozici spike proteinu a dalším antigenním epitopům rozprostřeným po celé ploše délka SARS-CoV-2. Lyons-Weiler (2020) vytvořil frázi „patogen priming“, protože on věřil, že častěji používané „posílení imunity“ nedokáže zachytit závažnost onemocnění stav a jeho důsledky. Lyons-Weiler ve své analýze in silico porovnal všechny antigenní SARSCoV-2 proteinové epitopy označené v databázi SVMTrIP (<http://sysbio.unl.edu/SVMTrIP/>) a hledali v databázi p-BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) homologii mezi tyto epitopy a endogenní lidské proteiny. Z 37 analyzovaných proteinů SARS-CoV-2 mělo 29 antigenní oblasti. Až na jeden z těchto 29 mělo homologii s lidskými proteiny (předpokládané autoantigeny) a bylo předpokládáno, že jsou autoreaktivní. Největší počet homologií byl spojené s spike (S) proteinem a NS3 proteinem, oba mají 6 homologních lidských proteiny.

Funkční analýza endogenních lidských proteinů homologních s virovými proteiny to zjistila více než 1/3 z nich je spojeno s adaptivním imunitním systémem. Autor spekuluje, že dříve vystavení viru nebo předchozí vakcinaci, které by mohly iniciovat produkci protilátek, které cílí tyto endogenní proteiny mohou hrát roli ve vývoji závažnějších onemocnění v starší zvláště. V tomto případě již existující protilátky potlačují adaptivní imunitu systému a vést k závažnějším onemocněním.

Další skupina (Ehrenfeld et. al., 2020), v článku převážně o širokém autoimunitní onemocnění zjištěná v souvislosti s předchozí infekcí SARS-CoV-2, také zkoumala, jak spike protein by mohl vyvolat takový rozsah nemocí. Uvádějí v tabulce 1 tohoto odkazu, řetězce heptapeptidů v lidském proteomu, které se překrývají s vytvořeným spike proteinem od SARS-CoV-2. Identifikovali 26 heptapeptidů nalezených u lidí a v spike proteinu. to je zajímavé je, že 2 z 26 překrývajících se heptapeptidů bylo zjištěno jako sekvenční, nápadně dlouhý řetězec identických peptidů, které lze nalézt společně mezi endogenními lidskými proteiny a spike protein. V komentáři k překrývajícím se peptidům, které objevili, a potenciál k tomu, aby řídil mnoho typů autoimunity současně, komentují: „The klinický scénář, který se objeví, je znepokojivý.“ Opravdu, je.

V květnu 2020 uveřejnili Vojdani a Kharrazian další důležitý článek v tomto ohledu (2020). Autoři použili myší i králičí monoklonální protilátky proti SARS z roku 2003 spike protein k testování reaktivity nejen proti spike proteinu SARS-CoV-2, ale také proti několika endogenních lidských proteinů. Zjistili, že existuje nejen vysoká míra vazby s spike proteinem SARS-CoV-2, ale proti široké škále endogenních proteinů. "[Naši jsme že nejsilnější reakce byly s transglutaminázou 3 (tTG3), transglutaminázou 2 (tTG2), ENA, myelinový bazický protein (MBP), mitochondrie, jaderný antigen (NA), α -myozin, tyreoidální peroxidáza (TPO), kolagen, claudin 5+6 a S100B. (Vojdani a Kharrazian, 2020).

Tato důležitá zjištění je třeba zdůraznit. Protilátky s vysokou vazebnou afinitou k SARSCoV-2 spike a další proteiny mají také vysokou vazebnou afinitu k tTG (spojené s celiakií nemoc), TPO (Hashimotova tyreoiditida), myelinový bazický protein (roztroušená skleróza) a několik endogenní proteiny. Na rozdíl od autoimunitního procesu spojeného s aktivací patogenu, tyto u autoimunitních onemocnění obvykle trvá roky, než se symptomaticky projeví.

Autoprotiátky generované spike proteinem, které předpověděl Lyons-Weiler (2020) a popsané výše byly potvrzeny nedávno publikovanou in vitro studií. V tomto navazujícím dokumentu Vojdani et. al., (2021) se opět podívali na problematiku zkřížené reaktivity protilátek, tentokrát s využitím lidské monoklonální protilátky (mAb) proti spike proteinu SARS-CoV-2 spíše než proti myším a králičí mAb. Jejich výsledky potvrdily a rozšířily jejich předchozí zjištění. "Na hranici 0,32 OD [optická hustota], protilátka proti membránovému proteinu SARS-CoV-2 reagovala s 18 z 55 testovaných antigeny." Těchto 18 endogenních antigenů zahrnuje reaktivitu na tkáň v játrech, mitochondriích atd nervový a trávicí systém, slinivka břišní a jinde v těle.

Ve zprávě o multisystémovém zánětlivém syndromu u dětí (MIS-C) Carter et. al. (2020) studoval 23 případů. Sedmáct z 23 (68 %) pacientů mělo sérologické známky předchozí infekce SARS-CoV-2. Ze tří protilátek hodnocených v populaci pacientů (nukleokapsid, RBD a spike), IgG spike optická hustota proteinových protilátek (která kvantifikuje koncentrace protilátek proti standardizovanému křivka (Wikipedia, 2021)), byla nejvyšší (viz obrázek 1d v Carter et al., 2020).

O MIS-C se nyní běžně spekuluje jako o příkladu imunitní primární aktivace předchozí expozicí SARS-CoV-2 nebo jiným koronavirům. Buonsenso et. al. (2020) přezkoumali více imunologických podobnosti mezi MIS-C a onemocněním souvisejícím s předchozí β -hemolytickou streptokokovou infekcí skupiny A (PLYN). Autoři píší: „Můžeme spekulovat, že děti jsou vícenásobně vystaveny SARS-CoV-2 s rodiči s COVID-19 může fungovat jako aktivace imunitního systému, jako je tomu u GAS infekce a u geneticky predisponovaných dětí vedou k rozvoji [MIS-C]. Další hypotéza

je, že předchozí infekce jinými koronaviry, mnohem častější u dětské populace,

mohl připravit dětský imunitní systém na virus SARS-CoV-2."

V červnu 2019 Galeotti a Bayry (2020) přezkoumali výskyt jak autoimunitních, tak

zánětlivých onemocnění u pacientů s COVID-19. Svou analýzu zaměřují na MIS-C. Po

přezkoumání několika dříve publikovaných zpráv o časové souvislosti mezi COVID-19 a nástupem

MIS-C a popisující řadu možných mechanistických spojení mezi těmito dvěma, autoři

konstatoval, že nebyla prokázána žádná příčinná souvislost. V poněkud prozíravém doporučení, oni

napsal: „Jemná analýza homologie mezi různými antigeny SARS-CoV-2 a vlastními antigeny,

je třeba zvážit použití přístupů in silico a ověření v experimentálních modelech

potvrdit tuto hypotézu." Přesně tento typ analýzy in silico provádí Lyons-Weiler

(2020) a Ehrenfeld et. al. (2020) popsané v úvodních odstavcích této části, které

zjistili těsnou homologii mezi virovými antigeny a vlastními antigeny. I když to nemusí být definitivní

potvrdit kauzální souvislost předpokládanou Galeottim a Bayrym, je to silný podpůrný důkaz.

Autoimunita je stále více uznávána jako následek COVID-19. Existují

četné zprávy o dříve zdravých osobách, u kterých se vyvinula onemocnění, jako jsou idiopatické

trombocytopenická purpura, Guillain-Barrého syndrom a autoimunitní hemolytická anémie (Galeottiho

a Bayry, 2020). Existují tři nezávislé kazuistiky systémového lupus erythematosus (SLE) s kožními projevy po symptomatickém COVID-19. V jednom případě jde o 39letého muže

měla SLE nástup dva měsíce po ambulantní léčbě COVID-19 (Zamani et.al., 2021).

Dalším nápadným případem rychle progredujícího a fatálního SLE s kožními projevy je

popsaný Slimani et.al. (2021).

Autoprotilátky se velmi běžně vyskytují u pacientů s COVID-19, včetně protilátek nalezených v

krev (Vlachoyiannopoulos et. al., 2020) a mozkomíšní mok (CFS) (Franke et. al., 2021).

Ačkoli se SARS-CoV-2 v mozkomíšním moku nenachází, existuje teorie, že autoprotilátky vytvořené v

reakce na expozici SARS-CoV-2 může vést alespoň k určité části neurologických

komplikace dokumentované u pacientů s COVID-19. Odeslal jsem jeden důležitý dopis redakci

časopis Arthritis & Rheumatology od Bertina et. al. (2020) zaznamenali vysokou prevalenci a silné

asociace ($p=0,009$) autoprotilátek proti kardiolipinu u pacientů s COVID-19 s těžkým

choroba.

Zuo et. al. (2020) našli antifosfolipidové autoprotilátky u 52 % hospitalizovaných pacientů s COVID-19

pacientů a spekulovalo se, že tyto protilátky přispívají k vysokému výskytu koagulopatií v

tito pacienti. Schiaffino et. al. (2020) uvedli, že sérum od vysokého procenta hospitalizovaných

Pacienti s COVID-19 obsahovali autoprotilátky reaktivní s plazmatickou membránou hepatocytů a

žaludeční buňky. U jednoho pacienta s Guillain-Barre syndromem byla zjištěna reaktivita protilátek v cerebrospinální mok (CFS), což vede autory k domněnce, že zkřížená reaktivita s proteiny v CFS by mohl vést k neurologickým komplikacím pozorovaným u některých pacientů s COVID-19. V novějším recenze, Gao et. al. (2021) zaznamenali vysoké hladiny autoprottilátek u pacientů s COVID-19 napříč vícečetnými studie. Docházejí k závěru: „[Jedním z potenciálních vedlejších účinků hromadného očkování může být sloučení [sic] autoimunitních onemocnění zejména u jedinců, kteří jsou geneticky náchylní k autoimunita.“

Nedávná publikace shromažďuje velké množství důkazů, že **autoprottilátky** proti široké škále receptory a tkáň lze nalézt u jedinců, kteří měli předchozí infekci SARS-CoV-2. "Všechno 31 bývalých pacientů s COVID-19 mělo 2 až 7 různých GPCR-fAAB [spojený s G-proteinem receptor funkční autoprottilátky], které působily jako agonisté receptoru." (Wallukat et. al. 2021) The rozmanitost identifikovaných GPCR-fAAB, zahrnujících jak agonistickou, tak antagonistickou aktivitu na cíl receptory, silně korelující s řadou příznaků po COVID-19, včetně tachykardie, bradykardie, alopecie, deficit pozornosti, PoTS, neuropatie a další.

Stejná studie, odkazující na autoprottilátky předpovídané Lyonsem-Weilerem (2020) zmíněným výše, se zjevným vážným znepokojením poznamenává: „Spickový protein Sars-CoV-2 je potenciálním epitopovým cílem biomimikry indukované autoimunologické procesy [25]. Proto cítíme, že to bude extrémně důležité prozkoumat, zda se GPCR-fAAB stanou také detekovatelné po imunizaci očkování proti viru.“

Přezkoumali jsme zde důkazy, že spike protein SARS-CoV-2 má rozsáhlou sekvenci homologní s více endogenními lidskými proteiny a mohl by nasměrovat imunitní systém rozvoj jak autozánětlivých, tak autoimunitních onemocnění. To je zvláště znepokojivé vzhledem k tomu, že protein byl přepracován se dvěma extra prolinovými zbytky, aby mu to potenciálně bránilo clearance z oběhu prostřednictvím membránové fúze. Tato onemocnění se mohou projevit akutně a v relativně krátkých časových intervalech, jako je tomu u MIS-C, nebo se potenciálně nemusí projevit po několik měsíců nebo let po expozici vrcholovému proteinu, ať už prostřednictvím přirozené infekce nebo prostřednictvím očkování.

Mnoho lidí s pozitivním testem na COVID-19 nevykazuje žádné příznaky. Počet asymptomatických, PCRpozitivních případy se mezi studii značně liší, od nejnižších 1,6 % po nejvyšší 56,5 % (Gao et. al., 2020). Ti, kteří jsou necitliví vůči COVID-19, mají pravděpodobně velmi silný vrozený imunitní systém.

Neutrofilů a makrofágů zdravé slizniční bariéry rychle odstraňují viry, často bez nich potřeba jakýchkoli protilátek, které mají být produkovány adaptivním systémem. Nicméně vakcína záměrně zcela obchází slizniční imunitní systém, a to jak prostřednictvím jeho injekční aplikace

přirozené slizniční bariéry a její umělá konfigurace jako nanočástice obsahující RNA. Jak bylo uvedeno v Carsetti (2020), ti se silnou vrozenou imunitní odpovědí téměř všeobecně zažívají také asymptomatická infekce nebo pouze mírná prezentace onemocnění COVID-19. Přesto mohou čelit chronické autoimunitní onemocnění, jak bylo popsáno dříve, jako důsledek nadměrného množství protilátek výroba v reakci na vakcínu, která v první řadě nebyla nutná.

Slezina, krevní destičky a trombocytopenie

Dr. Gregory Michael, porodník v Miami Beach, zemřel na krvácení do mozku 16 dní po obdržení první dávky vakcíny Pfizer/BioNtech COVID-19. Do tří dnů od vakcínou, vyvinula se u něj idiopatická trombocytopenická purpura (ITP), autoimunitní porucha v které imunitní buňky napadají a ničí krevní destičky. Počet jeho krevních destiček prudce klesl, a to způsobilo neschopnost zastavit vnitřní krvácení, což vedlo k mrtvici, jak je popsáno v článku v New York Times (Grady a Mazzei, 2021). New York Times navázaly druhým článkem, který pojednával o několika dalších případech ITP po očkování proti SARS-CoV-2 (Grady, 2021), a několik dalších případů prudkého poklesu krevních destiček a trombocytopenie po SARSCoV-2 očkování bylo hlášeno v systému hlášení nežádoucích příhod vakcín (VAERS).

1. Biodistribuce mRNA vakcín

Několik studií o vakcínách založených na mRNA nezávisle potvrdilo, že hlavní je slezina centrum aktivity pro imunitní odpověď. Studie o vakcíně proti chřipkovému viru na bázi mRNA je extrémně relevantní pro zodpovězení otázky biodistribuce mRNA ve vakcíně.

Tato vakcína, stejně jako vakcíny SARS-CoV-2, byla navržena jako lipidové nanočástice s modifikovanou RNA kódující hemagglutinin (ekvivalentní povrchový fúzní protein ke spike proteinu v koruně viry) a byl podáván prostřednictvím svalové injekce. Byla sledována koncentrace mRNA v průběhu času v různých vzorcích tkání a maximální koncentrace pozorovaná na každém místě byla zaznamenána. Není překvapením, že koncentrace byla nejvyšší ve svalu v místě vpichu (5 680 ng/ml). Tato hladina v průběhu času pomalu klesala a dosáhla poloviny původní hodnoty po 18,8 hodinách po injekci. Další nejvyšší hladina byla pozorována v proximální lymfatické uzlině s vrcholem v 2 120 ng/ml a neklesne na polovinu této hodnoty dříve než po 25,4 hodinách. Mezi orgány nejvyšší hladiny byly zdaleka nalezeny ve slezině (86,69 ng/ml) a játrech (47,2 ng/ml). Jinde v těle koncentrace byla na 100- až 1000-krát nižších úrovních. Zejména distální lymfatické uzliny měly pouze a maximální koncentrace 8 ng/ml. Došli k závěru, že mRNA se distribuuje z místa vpichu do jater a sleziny přes lymfatický systém a nakonec se dostane do celkového oběhu. Tento se pravděpodobně děje prostřednictvím jeho transportu uvnitř makrofágů a dalších imunitních buněk, které jej přijímají

svalové místo vpichu. Znepokojivě zasahuje i do mozku, i když na mnohem nižších úrovních (Bahl et al., 2017). Hodnotící zpráva Evropské lékové agentury pro vakcínu Moderna rovněž poznamenali, že mRNA by mohla být detekována v mozku po intramuskulárním podání přibližně 2 % hladiny nalezené v plazmě (Evropská léková agentura, 2021).

V dalším experimentu prováděném ke sledování biodistribuční dráhy RNA vakcín, vztekliny RNA vakcína byla podávána intramuskulárně potkanům v jedné dávce. Vakcína obsahovala kód pro imunogenní protein vztekliny, stejně jako kód pro RNA polymerázu a byl formulován jako nanoemulze typu olej ve vodě. Není tedy zcela reprezentativní pro mRNA SARS-CoV-2 vakcíny. Nicméně jeho intramuskulární podání a jeho závislost na příjmu RNA by imunitní buňky pravděpodobně znamená, že by migrovaly přes tkáň podobnou cestou jako vakcína proti SARS-CoV-2. Autoři pozorovali zvětšení drenážních lymfatických uzlin a tkáň studie odhalily, že RNA vztekliny se zpočátku objevila v místě vpichu a v odtokové lymfě uzlin během jednoho dne a byl také nalezen v krvi, plicích, slezině a játrech (Stokes et al., 2020). Tyto výsledky jsou v souladu s výše uvedenou studií o chřipkových mRNA vakcínách.

Nakonec studie porovnávající nanočástice mRNA exprimující luciferázu s nanočásticemi exprimujícími luciferázu mRNA dendritické buňky jako alternativní přístup k vakcinaci odhalily, že signál luciferázy pomocí mechanismu dodávání nanočástic dosáhly širšího rozsahu lymfoidních míst. Více důležité je, že signál luciferázy byl koncentrován ve slezině pro nanočástice ve srovnání s dominance v plicích pro dendritické buňky (Firdessa-Fite a Creuso, 2020).

2. Imunitní trombocytopenie

Imunitní trombocytopenie (ITP) se ukázala jako důležitá komplikace COVID-19 (Bhattacharjee a Banerjee, 2020). V mnoha případech se objeví po úplném uzdravení z nemoci, tj. poté, co byl virus odstraněn, což naznačuje, že jde o autoimunitní jev. Pravděpodobná cesta při kterém by se ITP mohla objevit po vakcinaci, je migrací imunitních buněk nesoucích a náklad nanočástic mRNA přes lymfatický systém do sleziny. Tyto imunitní buňky by produkovat spike protein podle kódu v nanočásticích a spike protein by to udělal indukovat tvorbu protilátek IgG v B lymfocytech.

ITP se zpočátku projevuje jako petechie nebo purpura na kůži a/nebo krvácení z povrchů sliznic. To má vysoké riziko úmrtí v důsledku krvácení a mrtvice. ITP je charakterizována oběma zvýšenými destrukce krevních destiček a snížená produkce krevních destiček a autoprotilátky hrají klíčovou roli (Sun a Shan, 2019). Krevní destičky jsou potaženy antiagregačními protilátkami a imunitními komplexy, což indukuje jejich odstraňování fagocyty.

Zejména za podmínek narušené autofagie může výsledná signální kaskáda také vyústit v potlačení produkce megakaryocytů v kostní dřeni, které jsou prekurzorovými buňkami produkce krevních destiček (Sun and Shan, 2019). Případová studie pacienta s diagnózou COVID-19 je odhalující, protože se u něj objevila náhlá trombocytopenie několik dní poté, co byl propuštěn z nemocnice na základě negativního testu nukleové kyseliny COVID-19. Po tomto vývoji bylo ověřeno, že pacient měl snížený počet trombocytů produkujících megakaryocyty, zatímco autoimunitní protilátky byly negativní, což naznačuje problém s krevními destičkami produkce spíše než destrukce krevních destiček (Chen et al., 2020).

Autofagie je nezbytná pro čištění poškozených proteinů, organel a bakteriálních a virových patogenů.

Změny v autofagických drahách se objevují jako charakteristický znak patogeneze mnoha respiračních virů, včetně viru chřipky, MERS-CoV, SARS-CoV a, co je důležité, SARS-CoV-

2 (Limanaqi et al., 2020). Autofagie je jistě kritická při odstraňování spike proteinu produkovaného imunitní buňky naprogramované tak, aby ji produkovaly prostřednictvím vakcín mRNA.

Dá se spekulovat o tom, že narušená autofagie brání clearance spike proteinu produkovaného makrofágy z vakcinační mRNA. Jak si ukážeme později, krevní destičky mají autofagické proteiny a použít autofagii k odstranění virů. Zhoršená autofagie je charakteristickým rysem ITP a může být klíčem k autoimunitnímu útoku na krevní destičky (Wang et al., 2019).

3. Kritická role pro slezinu

Slezina je největší sekundární lymfoidní orgán u lidí a obsahuje až 1/3

zásoby krevních destiček v těle. Slezina je primárním místem pro destrukci krevních destiček během ITP

kontroluje protilátkovou odpověď proti krevním destičkám. Dvě hlavní autoprotiilátky spojené s ITP

jsou proti imunoglobulinu G (IgG) a komplexu glykoproteinu (GP) IIb/IIIa na krevních destičkách

(Aslam et al., 2016).

Slezina hraje ústřední roli při odstraňování cizích antigenů a syntéze IgG pomocí B

buňky. Po expozici antigenu, jako je spike protein, neutrofilů v okrajové zóně

slezina získá schopnost interagovat s B buňkami, což indukuje produkci protilátek (Puga et al., 2011).

To je pravděpodobně rozhodující pro úspěšný výsledek očkování. Pseudouridinová modifikace mRNA

je důležitý pro zajištění přežití RNA dostatečně dlouho, aby se dostala do sleziny. V experimentu na

injekci nanočástic mRNA do myši, jak dodávané mRNA, tak kódovaného proteinu

mohl být detekován ve slezině 1, 4 a 24 hodin po injekci, a to ve výrazně vyšších hladinách než

kdy byla použita nemodifikovaná RNA (Karikó et al., 2008).

Sofistikovaný mechanismus zkřížené komunikace mezi destičkami a neutrofily ve slezině může vést k trombocytopenie, zprostředkovaná patologickou odpovědí zvanou NETóza. Platelet-TLR7 (podobné mýtnému receptor 7) rozpozná částice chřipky v oběhu a vede k jejich pohlcení a endocytózou krevními destičkami. Po pohlcení virů krevní destičky stimulují neutrofily k uvolňování jejich DNA v neutrofilních extracelulárních pastech (NET) (Koupenová et al., 2019) a DNA, v nadměrném množství spouští protrombotickou kaskádu.

4. Poučení z chřipky

Virus chřipky, stejně jako koronavirus, je jednovláknový RNA virus. Trombocytopenie je a častou komplikací chřipkové infekce a její závažnost kriticky předpovídá klinické výsledky nemocných pacientů (Jansen et al., 2020). Krevní destičky obsahují ve svých membránách hojné glykoproteiny, které působí jako receptory a podporují adhezi ke stěně endotelu. Autoprotilátky proti krevním destičkám glykoproteiny se nacházejí u většiny pacientů s autoimunitní trombocytopenií (Lipp et al., 1998). Virus chřipky se váže na buňky prostřednictvím glykoproteinů a uvolňuje enzym tzv neuraminidáza, která dokáže rozložit glykosaminoglykany navázané na glykoproteiny a uvolnit je jim. Tato akce pravděpodobně vystaví glykoproteiny krevních destiček B lymfocytům, čímž se indukují autoprotilátky. Výroba. Byla prokázána neuraminidáza exprimovaná patogenem *Streptococcus pneumoniae* k desialylaci krevních destiček, což vede k hyperaktivitě krevních destiček (Kullaya et al., 2018). Zdá se, že krevní destičky hrají důležitou roli při odstraňování virů. Během jedné minuty poté, co byly krevní destičky inkubovány společně s chřipkovými viry, viry se již navázaly na krevní destičky. Následná internalizace, pravděpodobně fagocytózou, dosáhla vrcholu za 30 minut (Jansen et al., 2020). Spike protein SARS-CoV-2 váže kyselinu sialovou, což znamená, že by se mohl vázat na glykoproteiny v destičkové membrány (Baker et al., 2020). Mezi spike proteinem S1 existuje strukturální podobnost u SARS CoV a neuraminidázy exprimované virem chřipky, což může znamenat, že protein má neuraminidázovou aktivitu (Zhang et al., 2004). Několik virů exprimuje neuraminidázu, a obecně působí enzymaticky, aby katabolizoval glykany v glykoproteinech desialylací. Zdá se tedy pravděpodobné, že po mRNA by mohla následovat nebezpečná kaskáda vedoucí k ITP očkovaní, a to i bez přítomnosti živého viru, zejména v souvislosti s narušenou autofagií. Imunitní buňky ve svaly paže přijímají částice RNA a cirkulují v lymfatickém systému, hromadí se ve slezině. Imunitní buňky tam produkují hojný spike protein, který se na něj váže destičkové glykoproteiny a desialyluje je. Interakce destiček s neutrofily způsobuje NETózu a spuštění zánětlivé kaskády. Exponované glykoproteiny se stávají cíli autoimunitní protilátky, které pak napadají a odstraňují krevní destičky, což vede k rychlému poklesu krevních destiček

počet a život ohrožující událost.

Aktivace latentního herpes zoster

Observační studie provedená v Tel Aviv Medical Center a Carmel Medical Center v Haifa v Izraeli zjistila významně zvýšený výskyt herpes zoster po očkování Pfizerem (Furer 2021). Tato observační studie sledovala pacienty s již existující autoimunitou zánětlivá revmatická onemocnění (AIIRD). Mezi 491 pacienty s AIIRD během studie období bylo 6 (1,2 %) diagnostikováno herpes zoster jako vůbec první diagnóza mezi 2. a 2. týdnů po první nebo druhé vakcinaci. V kontrolní skupině 99 pacientů nebyly žádné identifikované případy herpes zoster.

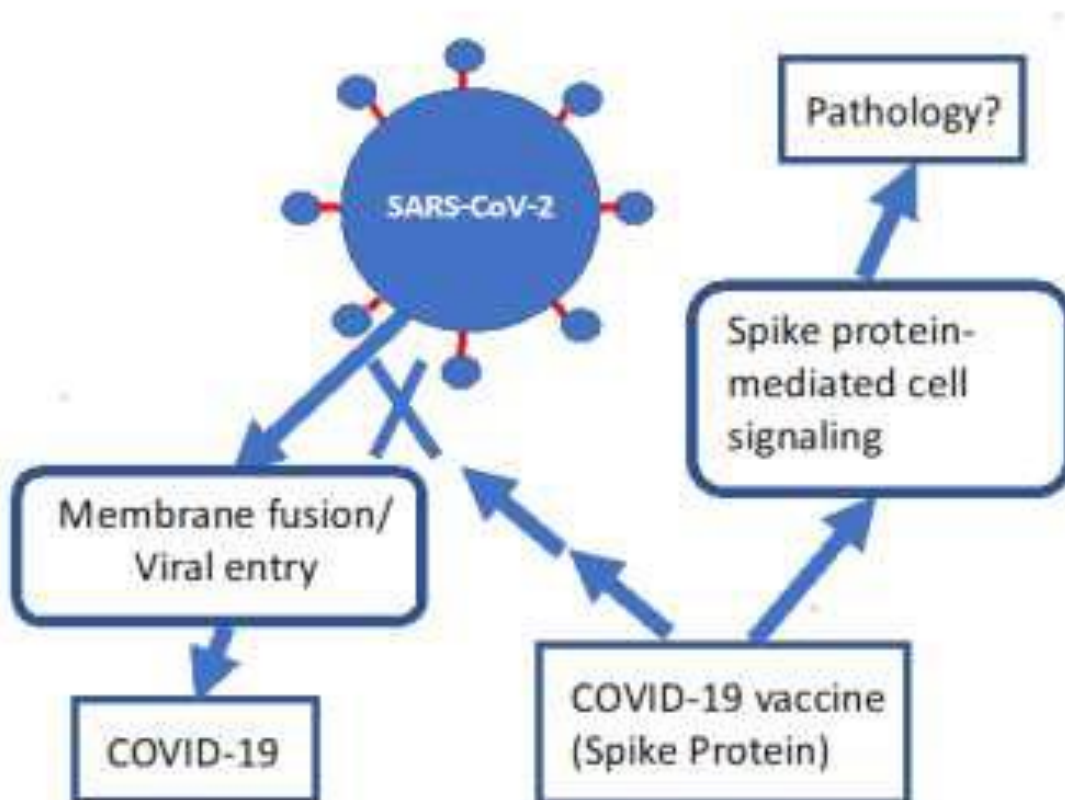
Databáze VAERS CDC, dotazovaná 19. dubna 2021, obsahuje 278 zpráv o herpes zoster. po očkování Moderna nebo Pfizer. Vzhledem k doloženému podhodnocení k VAERS (Lazarus et al. 2010) a vzhledem k asociační povaze zpráv VAERS není možné prokázat jakoukoli příčinnou souvislost mezi očkováním a hlášením zoster. Nicméně věříme, že výskyt pásového oparu je dalším důležitým „signálem“ u VAERS.

Toto zvýšené riziko pro pásový opar, pokud je platné, může mít důležité širší důsledky. Více studií prokázali, že pacienti s primární nebo získanou imunitní nedostatečností jsou náchylnější k těžká infekce herpes zoster (Ansari et al., 2020). To naznačuje, že mRNA vakcíny mohou být potlačení přirozené imunitní reakce. Mezi TNF- α a interferonem I. typu existuje křížová komunikace u autoimunitního onemocnění, kde každý potlačuje druhý (Palucka et al., 2005). Interferon typu I inhibuje replikaci viru varicella-zoster (Ku et al., 2016). TNF- α je prudce upregulován v an zánětlivou reakci, která je indukována lipidovými nanočásticemi ve vakcíně. Jeho upregulace je také souvisí s chronickým zánětlivým stavem revmatoidní artritidy (Matsuno et al., 2002). Exuberantní exprese TNF-a po vakcinaci může interferovat s INF-a dendritických buněk reakce, která udržuje latentní pásový opar pod kontrolou.

Spike proteinová toxicita

Nyní se objevuje obrázek, že SARS-CoV-2 má vážné účinky na vaskulaturu v mnoha případech orgánů, včetně mozkové vaskulatury. Jak již bylo zmíněno dříve, spike protein usnadňuje vstup virus do hostitelské buňky navázáním na ACE2 v plazmatické membráně. ACE2 je integrál typu I membránový protein, který štěpí angiotenzin II na angiotenzin(1-7), a tím odstraňuje angiotenzin II a snížení krevního tlaku. V sérii článků Yuichiro Suzuki ve spolupráci s dalšími autory předložil silný argument, že spike protein sám o sobě může způsobit signalizační odpověď v vaskulatura s potenciálně rozšířenými důsledky (Suzuki, 2020; Suzuki a kol., 2020; Suzuki a kol.,

2021; Suzuki a Gychka, 2021). Tito autoři pozorovali, že v závažných případech COVID-19 se SARSCoV-2 způsobuje významné morfologické změny plicní vaskulatury. Posmrtná analýza plic pacientů, kteří zemřeli na COVID-19, odhalily histologické rysy s vaskulárními příznaky ztluštění stěny, hlavně v důsledku hypertrofie tunica media. Zvětšené buňky hladkého svalstva měly se zakulatit, s oteklými jádry a cytoplazmatickými vakuolami (Suzuki et al., 2020). dále ukázali, že vystavení kultivovaných buněk hladkého svalstva lidské plicní tepny SARSCoV-2 spike protein S1 podjednotka byla dostatečná k podpoře buněčné signalizace bez zbytku viru komponenty.



Obrázek 2: Jednoduchý model procesu, při kterém dochází ke špičce protein produkovaným prostřednictvím mRNA vakcín by mohl vyvolat a patologická reakce odlišná od žádoucího vyvolání protilátky k potlačení vstupu viru. Překresleno se svolením od Suzuki a Gychka, 2021.

Navazující dokumenty (Suzuki et al., 2021, Suzuki a Gychka, 2021) to ukázaly podjednotku spike proteinu S1 potlačuje ACE2, což způsobuje stav připomínající plicní tepnu hypertenze (PAH), závažná plicní onemocnění s velmi vysokou úmrtností. Jejich model je zde znázorněn na obrázku 2.

Zlověstně, Suzuki a Gychka (2021)

napsal: „Takže tyto studie in vivo

prokázali, že protein spike of

SARS-CoV-1 (bez zbytku

virus) snižuje expresi ACE2,

zvyšuje hladinu angiotenzinu II,

a zhoršuje poškození plic." The

„studie in vivo“, o kterých se zde hovořilo

(Kuba et al., 2005) to prokázali

Poškození plic vyvolané koronavirem SARS

bylo způsobeno především inhibicí

ACE2 podle špičky SARS-CoV

protein, což způsobuje velké zvýšení angiotenzinu-II. Suzuki a kol. (2021) pokračoval v demonstraci

experimentálně, že složka S1 viru SARS-CoV-2 v nízké koncentraci 130 pM,

aktivoval signální dráhu MEK/ERK/MAPK k podpoře buněčného růstu. To spekulovali

tyto účinky by nebyly omezeny na plicní vaskulaturu. Signalizační kaskáda spuštěná v

srdeční vaskulatura by způsobila onemocnění koronárních tepen a aktivace v mozku by mohla vést k

mrtvice. Lze také předpokládat systémovou hypertenzi. Předpokládali, že tato schopnost

spike protein k podpoře plicní arteriální hypertenze by mohl predisponovat pacienty, kteří se uzdraví od SARS-CoV-2 k pozdějšímu **rozvoji srdečního selhání pravé komory**. Dále navrhli, aby a

podobný účinek by mohl nastat v reakci na mRNA vakcíny a varovali před potenciálním dlouhodobým účinkem

důsledky pro děti i dospělé, kteří dostali vakcíny COVID-19 na základě

spike protein (Suzuki a Gychka, 2021).

Zajímavá studie Lei et. al. (2021) zjistili, že pseudovirus — koule zdobené

Protein SARS-CoV-2 S1, ale postrádající virovou DNA ve svém jádru – způsobil zánět a

poškození jak v tepnách, tak v plicích myši exponovaných intratracheálně. Ty pak vystavily zdravé

lidské endoteliální buňky na stejné částice pseudoviru. Vazba těchto částic na endotel

ACE2 receptory vedly k mitochondriálnímu poškození a fragmentaci v těchto endoteliálních buňkách, což vedlo k

charakteristické patologické změny v přidružené tkáni. Tato studie tento skok jasně ukazuje

samotný protein, neasociovaný se zbytkem virového genomu, je dostatečný k vyvolání endotelu

škody spojené s COVID-19. Důsledky pro vakcíny, které mají způsobit buňky

spike protein jsou jasné a jsou zřejmým důvodem k obavám.

Neurologické příznaky spojené s COVID-19, jako je bolest hlavy, nevolnost a závratě, encefalitida a smrtelné mozkové krevní sraženiny jsou indikátory škodlivých virových účinků na mozek. Buzhdygan a kol. (2020) navrhli, že primární lidské mozkové mikrovaskulární endoteliální buňky by mohly způsobit tyto příznaky. ACE2 je všudypřítomně exprimován v endoteliálních buňkách v mozku kapiláry. Exprese ACE2 je upregulována v mozkové vaskulatuře ve spojení s demencí a hypertenze, což jsou oba rizikové faktory pro špatné výsledky COVID-19. Ve studii in vitro hematoencefalické bariéry, S1 složka spike proteinu podporovala ztrátu integrity bariéry, což naznačuje, že spike protein působící samostatně spouští prozánětlivou reakci v mozku endoteliálních buněk, což by mohlo vysvětlit neurologické důsledky onemocnění (Buzhdygan et al., 2020). Důsledky tohoto pozorování jsou znepokojivé, protože mRNA vakcíny indukuje syntézu spike proteinu, který by teoreticky mohl působit podobným způsobem a poškodit mozek. Špičkový protein generovaný endogenně vakcínou by také mohl negativně ovlivnit muže varlat, protože receptor ACE2 je vysoce exprimován v Leydigových buňkách ve varlatech (Verma et al., 2020). Několik studií nyní ukázalo, že spike protein koronaviru je schopen získat přístup k buňkám v varlatech prostřednictvím receptoru ACE2 a narušují samčí reprodukci (Navarra et al., 2020; Wang a Xu, 2020). Nalezen dokument zahrnující posmrtné vyšetření varlat šesti mužských pacientů s COVID-19 mikroskopický důkaz spike proteinu v intersticiálních buňkách ve varlatech pacientů s poškozenými varlaty (Achua et al., 2021).

Možná souvislost s prionovými chorobami a neurodegenerací

Prionová onemocnění jsou souborem neurodegenerativních onemocnění, která jsou vyvolána nesprávným složením důležitých tělesných proteinů, které tvoří toxické oligomery, které se nakonec vysrážejí jako fibrily způsobuje rozsáhlé poškození neuronů. Stanley Prusiner jako první vymyslel název „prion“, aby jej popsal tyto špatně složené proteiny (Prusiner, 1982). Nejznámější prionovou chorobou je MADCOWova choroba (bovinní spongiformní encefalopatie), která se stala epidemií u evropského skotu počínaje r 80. léta 20. století. Web CDC o prionových chorobách uvádí, že „prionové choroby jsou obvykle rychlé progresivní a vždy fatální.“ (Center for Disease Control and Prevention, 2018). To je teď věřil, že mnoho **neurodegenerativních onemocnění, včetně Alzheimerovy choroby, Parkinsonovy choroby a amyotrofická laterální skleróza (ALS)** může být prionová onemocnění a výzkumníci identifikovali specifické proteinové infekční částice spojené s těmito nemocemi (Weickenmeier et al., 2019).

Kromě toho vědci identifikovali charakteristický motiv spojený s náchylností k chybnému složení toxické oligomery, nazývané motiv glycinového zipu. Je charakterizována vzorem dvou glycinů zbytky oddělené třemi intervenujícími aminokyselinami, reprezentovanými jako GxxxG. Hovězí prion spojený s

MADCOW má velkolepou sekvenci deseti GxxxG v řadě (viz uniprot.org/uniprot/P10279).

Obecněji je motiv GxxxG společným znakem transmembránových proteinů a glycinů

hrají zásadní roli při zesíťování α -helixů v proteinu (Mueller et al., 2014). Prionové proteiny

se stanou toxickými, když se α -helixy špatně skládají na β -listy a protein je pak narušený ve své schopnosti

vstoupit do membrány (Prusiner, 1982). Glyciny v transmembránových motivech glycinového zipu v

amyloid- β prekurzorový protein (APP) hraje ústřední roli při chybném skládání amyloidu- β spojeného s

Alzheimerova choroba (Decock et al., 2016). APP obsahuje celkem čtyři motivy GxxxG.

Když vezmeme v úvahu, že spike protein SARS-CoV-2 je transmembránový protein, a že

obsahuje ve své sekvenci pět motivů GxxxG (viz uniprot.org/uniprot/P0DTC2), stává se

extrémně pravděpodobné, že by se mohl chovat jako prion. Jedna ze sekvencí GxxxG je přítomna uvnitř

jeho membránová fúzní doména. Připomeňme, že mRNA vakcíny jsou navrženy se změněnou sekvencí

kteřý nahrazuje dvě sousední aminokyseliny ve fúzní doméně párem prolinů. Toto je hotovo

úmyslně, aby přinutil protein zůstat ve svém otevřeném stavu a ztížil jeho fúzi

s membránou. Zdá se nám to jako nebezpečný krok směrem k chybnému složení, které může vést k

prionové onemocnění.

Práce publikovaná J. Bart Classenem (2021) navrhla, že spike protein ve vakcínách mRNA

může způsobit prionová onemocnění, částečně díky své schopnosti vázat se na mnoho známých proteinů a

vyvolat jejich chybné složení na potenciální priony. Idrees a Kumar (2021) navrhli, že bodec

složka proteinu S1 je náchylná působit jako funkční amyloid a vytvářet toxické agregáty. Tyto

autoři napsali, že S1 má schopnost „tvořit amyloid a toxické agregáty, které mohou působit jako semena

agreguje mnoho chybně poskládaných mozkových proteinů a může nakonec vést k neurodegeneraci.

Podle Tetze a Tetze (2020) má forma spike proteinu v SARS-CoV-2 prionové oblasti

kteřé nejsou přítomny v spike proteinech pro jiné koronaviry. Zatímco to bylo hlášeno v jiném

recenzovaný článek, autoři publikovali předchozí článek v roce 2018 identifikující prionový typ

oblasti v mnoha eukaryotických virech, takže mají v této oblasti značné odborné znalosti (Tetz a

Tetz, 2018).

Poslední bod se týká zejména informací **o vakcíně Pfizer**. Evropan

Veřejná zpráva o hodnocení lékové agentury (EMA) je dokument předložený ke schválení

prodávat vakcínu v Evropě. Podrobně popisuje i přehled výrobního procesu

širokou škálu souvisejících testovacích dat. Jedním ze zjevení je přítomnost „roztříštěného

species“ RNA v injekčním roztoku. Jedná se o fragmenty RNA vzniklé z raných

ukončení procesu transkripce z templátu DNA. Tyto fragmenty, pokud jsou přeloženy

buňkou po injekci by generovaly neúplné spike proteiny, což by opět mělo za následek alteraci

a nepředvídatelná trojrozměrná struktura a fyziologický dopad, který je v nejlepším případě neutrální a

v nejhorším případě škodlivé pro fungování buněk. Těch roztříštěných bylo podstatně více formy RNA nacházející se v komerčně vyráběných produktech než v produktech používaných v

klinické testy. Ty byly vyrobeny mnohem přísněji kontrolovaným výrobním procesem.

Pfizer tvrdí, že fragmenty RNA „pravděpodobně... nepovedou k expresi proteinů“ kvůli jejich

předpokládá rychlou degradaci v buňce. Nebyla předložena žádná data, která by vyloučila expresi proteinů,

i když ponecháváme recenzentům komentář: „Tyto formy [fragmentované RNA] jsou špatné

a omezené údaje poskytnuté pro expresi proteinu se plně nezabývají

nejistoty týkající se rizika translace proteinů/peptidů jiných než zamýšlených špiček

protein“ (EMA 2020). Pokud je nám známo, od té doby nebyly k dispozici žádné údaje.

I když netvrdíme, že nespikové proteiny generované z fragmentované RNA by byly

špatně složené nebo jinak patologické, věříme, že by alespoň přispěly k buněčnému stresu

který podporuje konformační změny spojené s priony v přítomném spike proteinu.

1. Poučení z Parkinsonovy choroby

Parkinsonova choroba je neurodegenerativní onemocnění spojené s ukládáním Lewyho tělísek v mozku,

a hlavní protein nalezený v těchto Lewyho tělískách je α -synuklein. Ten protein, α -synuklein, je

určitě prionový, pokud se za určitých podmínek agreguje do toxických rozpustných oligomerů a

fibrily (Lema Tomé et al., 2013). Výzkum ukázal, že špatně složený α -synuklein se může tvořit nejprve v

střeva a odtud putují do mozku podél bloudivého nervu, pravděpodobně ve formě exozomů

uvolněné z odumírajících buněk, kde vznikl chybně složený protein (Kakarla et al., 2020; Steiner et al.,

2011). Buněčné podmínky, které podporují chybné skládání, zahrnují jak kyselé pH, tak vysoké

exprese zánětlivých cytokinů. Je jasné, že bloudivý nerv je rozhodující pro přenos

špatně složené proteiny do mozku, protože přerušení bloudivého nervu chrání před Parkinsonovou chorobou.

Atrofie vagusového nervu ve spojení s Parkinsonovou chorobou poskytuje další důkazy

zapojení bloudivého nervu do transportu chybně poskládaných oligomerů α -synukleinu ze střeva do

mozku (Walter et al., 2018). Další cesta je přes čichový nerv a ztráta čichu

vůně je časným příznakem Parkinsonovy choroby. Zlověstně dochází ke zmenšení nebo ztrátě čichu

je také častým příznakem infekce SARS-CoV-2.

Existuje mnoho paralel mezi α -synukleinem a spike proteinem, což naznačuje možnost

prionové onemocnění po očkování. Již jsme ukázali, že mRNA ve vakcíně končí

ve vysokých koncentracích v játrech a slezině, dvou orgánech, které jsou dobře propojeny s vagusem

nerv. Kationtové lipidy ve vakcíně vytvářejí kyselé pH vedoucí k chybnému skládání a také vyvolat silnou zánětlivou reakci, další predisponující stav.

Germinální centra jsou struktury ve slezině a dalších sekundárních lymfatických orgánech, kde folikulární dendritické buňky prezentují antigeny B buňkám, které zase zdokonalují svou protilátkovou odpověď.

Výzkumníci prokázali, že mRNA vakcíny, na rozdíl od rekombinantních proteinových vakcín, vyvolávají a robustní vývoj neutralizačních protilátek v těchto zárodečných centrech ve slezině (Lederer et al., 2020). To však také znamená, že mRNA vakcíny navozují ideální situaci pro tvorbu prionů z spike proteinu a jeho transport přes exozomy podél bloudivého nervu do mozku.

Studie ukázaly, že šíření prionu z jednoho zvířete na druhé se nejprve objevuje v lymfoidu tkáni, zejména sleziny. Diferencované folikulární dendritické buňky jsou ústředním bodem procesu, as akumulují špatně složené prionové proteiny (Al-Dybiat et al., 2019). Zánětlivá reakce upreguluje syntézu α -synukleinu v těchto dendritických buňkách, čímž zvyšuje riziko tvorby prionů.

Priony, které se hromadí v cytoplazmě, jsou zabaleny do lipidových tělísek, která se uvolňují jako exozomy (Liu et al., 2017). Tyto exozomy nakonec cestují do mozku a způsobují onemocnění.

2. Vylučování vakcíny

O možnosti očkovaných lidí se na internetu hodně mluvilo způsobující onemocnění u neočkovaných lidí v těsné blízkosti. I když se to může zdát těžké uvěřit, existuje pravděpodobný proces, kterým by k tomu mohlo dojít uvolněním exosomů z dendritických buněk buňky ve slezině obsahující chybně složené spike proteiny v komplexu s jinými rekonformovanými priony proteiny. Tyto exozomy mohou cestovat do vzdálených míst. Není nemožné si představit, že jsou uvolněny z plic a vdechnutí osobou poblíž. Extracelulární vezikuly, včetně exozomy, byly detekovány ve sputu, hlenu, tekutině epitelální výstelky a bronchoalveolární laváži tekutiny v souvislosti s respiračními chorobami (Lucchetti et al., 2021).

Studie fáze 1/2/3 provedená společností BioNTech o mRNA vakcíně Pfizer zahrnutá do jejich studie protokolu, že předpokládali možnost sekundární expozice vakcíně (BioNTech, 2020). Protokol obsahoval požadavek, aby byla hlášena „expozice během těhotenství“ ze strany účastníků studie. Poté uvedli příklady „expozice životního prostředí během těhotenství“ která zahrnovala expozici „studovanému zásahu inhalací nebo kontaktem s kůží“. Dokonce navrhl dvě úrovně nepřímé expozice: „Mužský rodinný příslušník nebo poskytovatel zdravotní péče, který má být vystaven studijnímu zásahu inhalací nebo kontaktem s kůží, pak vystavuje svou partnerku před nebo kolem doby početí.“

Vznik nových variant SARS-CoV-2

Zajímavá hypotéza byla navržena v článku publikovaném v Nature, který popisoval případ závažného onemocnění COVID-19 u pacienta s rakovinou, který bral rakovinu potlačující imunitu chemoterapeutické léky (Kemp et al., 2021). Pacient po přijetí do nemocnice přežíval 101 dní nemocnice, nakonec podlehl v boji proti viru. Pacient neustále vylučuje viry celých 101 dní, a proto byl přemístěn na podtlakovou vysokotlakou infekční výměnu vzduchu místnost pro izolaci nemocí, aby se zabránilo šíření nákazy.

V průběhu hospitalizace byl pacient léčen Remdesivirem a následně se dvěma koly plazmy obsahující protilátky odebrané jedincům, kteří se uzdravili COVID-19 (rekonvalescentní plazma). Teprve po ošetření plazmou se virus začal šířit rychle mutoval a nakonec se objevil dominantní nový kmen, ověřený ze vzorků odebraných z nosu a krku pacienta. Pacient s oslabenou imunitou nabízí malou podporu cytotoxických látek T buňky k odstranění viru.

Experiment in vitro ukázal, že tento mutantní kmen měl sníženou citlivost na více jednotek rekonvalescentní plazmy odebrané několika uzdraveným pacientům. Autoři navrhli, aby podávané protilátky ve skutečnosti zrychlily rychlost mutace ve viru, protože pacient nebyli schopni zcela odstranit virus kvůli jejich slabé imunitní odpovědi. To umožnilo „přežití“ program „nejvhodnější“, který se má zavést a nakonec zaplní tělo pacienta novou protilátkou rezistentní kmen. Prodloužená virová replikace u tohoto pacienta vedla k „virovému imunitnímu úniku“ a podobné odolnosti kmeny by se mohly potenciálně velmi rychle šířit v exponované populaci (Kemp et al., 2021).

Ve skutečnosti by podobný proces mohl pravděpodobně fungovat při produkci vysoce nakažlivých nových kmenů které se nyní objevují ve Spojeném království, Jižní Africe a Brazílii.

Pokud jde o tento experiment, ve vztahu k mRNA máme alespoň dvě obavy vakcíny. První je, že můžeme očekávat pokračující infekci imunokompromitovaných pacientů pokračující vznik dalších nových kmenů, které jsou rezistentní vůči protilátkám indukovaným vakcína, takže vakcína může rychle zastarat a může po ní vzniknout poptávka populace podstoupit další hromadnou očkovací kampaň. Již publikovaná studie od výzkumníci ze společnosti Pfizer prokázali, že účinnost vakcíny je u mnoha z těchto variant snížena kmeny. Vakcína byla proti jihoafrickému kmeni pouze ze 2/3 účinná než proti původní kmen (Liu et al., 2021).

Druhou hrozivější úvahou je přemýšlet o tom, co se stane s oslabenou imunitou pacient po očkování. Je možné, že budou reagovat na vakcínu do

produkují protilátky, ale tyto protilátky nebudou po expozici schopny zadržet onemocnění na COVID-19 kvůli zhoršené funkci cytotoxických T buněk. Tento scénář se příliš neliší od podávání rekonvalescentní plazmy pacientům s oslabenou imunitou, a tak by to mohlo být vyvolat evoluci kmenů rezistentních na protilátky stejným způsobem, pouze v mnohem větším měřítku. Tato možnost bude jistě použita k argumentaci pro opakovaná kola vakcín každých několik měsíců zvyšující se počet virových variant kódovaných do vakcín. Toto jsou závody ve zbrojení, které budeme pravděpodobně prohrát.

Potenciál pro trvalou inkorporaci genu Spike Protein do lidské DNA

Tvrdilo se, že vakcíny založené na mRNA jsou bezpečnější než vakcíny s vektorem DNA, které fungují začlenění genetického kódu pro cílový antigenní protein do DNA viru, protože RNA nemůže se neúmyslně začlenit do lidského genomu. Není to však vůbec jasné že je to pravda. Nyní je známo, že klasický model DNA → RNA → protein je falešný. To je teď je nesporné, že existuje velká třída virů zvaných retroviry, které nesou geny, které reverzují přepisují RNA zpět do komplementární DNA (cDNA). V roce 1975 Howard Temin, Renato Dulbecco a David Baltimore se podělili o Nobelovu cenu za fyziologii a medicínu v roce 1975 za své objev reverzní transkriptázy a její syntéza retroviry (jako je lidský virus imunodeficiency (HIV)) k odvození DNA z RNA (Temin a Mizutani, 1970, Baltimore, 1970).

Mnohem později bylo zjištěno, že reverzní transkriptáza není jedinečná pro retroviry. Více než a třetina lidského genomu je věnována záhadným mobilním prvkům DNA nazývaným SINE a ČÁRY (v tomto pořadí krátké a dlouhé rozptýlené jaderné prvky). LINE zajišťují zpětný chod schopnosti transkriptázy převádět RNA na DNA a SINE poskytují podporu pro integraci DNA do genomu. Tyto prvky tedy poskytují nástroje potřebné k přeměně RNA na DNA a začlenit jej do genomu, aby byl nový gen zachován i pro budoucí generace (Weiner, 2002).

SINE a LINE jsou členy větší třídy genetických prvků nazývaných retrotranspozony.

Retrotranspozony mohou zkopírovat a vložit svou DNA na nové místo v genomu prostřednictvím RNA střední, přičemž může do procesu zavádět genetické změny (Pray, 2008).

Retrotranspozony, známé také jako „skákáci geny“, byly poprvé identifikovány genetičkou Barbarou McClintock z Cold Spring Harbor Laboratory v New Yorku před více než 50 lety (McClintock, 1965).

Mnohem později, v roce 1983, byla za tuto práci oceněna Nobelovou cenou.

Je pozoruhodné, že retrotranspozony se zdají být schopny rozšiřovat svou doménu z generace na generaci

generace. LINE a SINE spolupracují na invazi do nových genomových míst prostřednictvím translace jejich DNA na RNA a zpět na čerstvou kopii DNA, která je pak vložena do oblasti bohaté na AT genom. Tyto čáry a SINE byly dlouho považovány za „nevyžádanou“ DNA, což je absurdní myšlenka byla nyní rozptýlena, protože povědomí o jejich kritických funkcích rostlo. Zejména nyní je jasné, že mohou také importovat RNA z exogenního zdroje do savčího hostitele DNA. Retrovirové opakující se prvky nalezené v myším genomu nazývané intracisternální částice A Ukázalo se, že jsou schopny inkorporovat virovou RNA do myšího genomu.

Výsledkem byla rekombinace mezi exogenním neretrovirovým RNA virem a IAP retrotransposonem v reverzní transkripci virové RNA a integraci do genomu hostitele (Geuking et al., 2009).

Kromě toho, jak uvidíme později, mohla by se dostat i mRNA v nových vakcínách proti SARS-CoV-2 předávané z generace na generaci pomocí LINE exprimovaných ve spermatu prostřednictvím neintegrováných cDNA zapouzdřená v plazmidech. Důsledky tohoto předvídatelného jevu jsou nejasné, ale potenciálně dalekosáhlé.

1. Exogenní a endogenní retroviry

Existuje také obava, že by RNA v mRNA vakcínách mohla být přenesena na člověka genom s pomocí retrovirů. Retroviry jsou třídou virů, které si udržují své genomové informace ve formě RNA, které však mají enzymy potřebné k obrácení přepsat jejich RNA do DNA a vložit ji do hostitelského genomu. Spoléhají pak na existující přírodní nástroje z hostitele k produkci kopií viru prostřednictvím translace DNA zpět do RNA a produkovat proteiny, které virová RNA kóduje, a sestavit je do čerstvé virové částice (Lesbats et al., 2016).

Lidské endogenní retroviry (HERV) jsou benigní úseky v lidské DNA, které jsou velmi blízko připomínají retroviry a předpokládá se, že se staly trvalými sekvencemi u člověka genom prostřednictvím procesu integrace z původně exogenního retroviru.

Endogenní retroviry se hojně vyskytují u všech čelistnatých obratlovců a odhaduje se, že zaujímají 5–8 % lidský genom. Protein syncytin, který se stal nezbytným pro fúzi placenty s děložní stěny a pro krok fúze mezi spermíí a vajíčkem při oplodnění, je dobrým příkladem endogenního retrovirového proteinu. Syncytin je obalový gen nedávno identifikovaného člověka endogenní defektní retrovirus, HERV-W (Mi et al., 2000). Během březosti se plod vyjadřuje vysoké hladiny jiného endogenního retroviru, HERV-R, a zdá se, že chrání plod před imunitní útok od matky (Luganini a Gribaudo, 2020). Endogenní retrovirové prvky

velmi připomínají retrotranspozony. Jejich reverzní transkriptáza, když je vyjádřena, má teoretickou schopnost převést spike protein RNA z mRNA vakcín na DNA.

2. Permanentní DNA integrace exogenních retrovirových genů

Lidé jsou kolonizováni velkou sbírkou exogenních retrovirů, které v mnoha případech způsobují ne poškodit hostitele a může být dokonce symbiotický (Luganini a Gribaudo, 2020). Exogenní viry mohou být v laboratoři převedeny na endogenní viry (trvale začleněné do hostitelské DNA), as demonstroval Rudolf Jaenisch (Jaenisch, 1976), který infikoval preimplantační myší embrya s Moloney virem myší leukémie (M-MuLV). Myši vytvořené z těchto infikovaných u embryí se vyvinula leukémie a virová DNA byla integrována do jejich zárodečné linie a přenesena jejich potomkům. Kromě inkorporace virové DNA do hostitelského genomu byla také ukázána již v roce 1980 bylo možné mikroinjektovat plazmidy DNA do jader myších embryí. produkují transgenní myši, které se chovají jako pravé (Gordon et al., 1980). Plazmidová DNA byla inkorporována do jaderného genomu myší prostřednictvím stávajících přírodních procesů, čímž se zachovají nově získal genetickou informaci v genomu potomka. Tento objev byl základem pro mnohé experimenty genetického inženýrství na transgenních myších upravených k expresi nově získaného člověka geny od té doby (Bouabe a Okkenhaug, 2013).

3. LINE-1 je široce vyjádřen

Samotné LINE tvoří přes 20 % lidského genomu. Nejběžnější LINE je LINE-1, která kóduje reverzní transkriptázu, která reguluje základní biologické procesy. ŘÁDEK-1 je vyjádřen v mnoha typech buněk, ale ve zvláště vysokých hladinách ve spermatu. Spermie mohou být použity jako vektory obou exogenní DNA a exogenní molekuly RNA prostřednictvím testů přenosu genů zprostředkovaných spermii. Spermie mohou reverzní transkripci exogenní RNA přímo do cDNA a mohou dodávat plazmidy balení této cDNA do oplodněného vajíčka. Tyto plazmidy jsou schopny se samy množit ve vyvíjejícím se embryu a k osídlení mnoha tkání plodu. Ve skutečnosti přežívají do dospělosti jako extrachromozomální struktury a mohou být přeneseny na potomstvo. Tyto plasmidy jsou transkripčně kompetentní, což znamená, že mohou být použity k syntéze proteinů kódovaných DNA, kterou obsahují (Pittoggi et al., 2006).

Embrya kromě spermií exprimují před implantací také reverzní transkriptázu a její inhibice způsobuje zástavu vývoje. LINE-1 je také exprimován rakovinnými buňkami a RNA interferencí zprostředkované umlčení lidské LINE-1 indukuje diferenciaci v mnoha rakovinných buněčných liniích. Mašinerie reverzní transkriptázy se podílí na genezi nové genetické informace, a to jak v

rakovinných buňkách a v zárodečných buňkách. Bylo zjištěno, že mnoho nádorových tkání exprimuje vysoké hladiny LINE-1, a aby ve svém jádře obsahovaly mnoho extrachromozomálních plazmidů. Maligní gliomy jsou primárních nádorů centrálního nervového systému. Experimentálně bylo prokázáno, že tyto nádory uvolňují exosomy obsahující DNA, RNA a proteiny, které končí v obecném oběhu (Vaidya a Sugaya, 2020). LINE-1 je také vysoce exprimován v imunitních buňkách u několika autoimunitních onemocnění jako je systémový lupus erythematosus, Sjögrens a psoriáza (Zhang et al., 2020).

4. Integrace genu Spike Protein do lidského genomu

Je pozoruhodné, že bylo prokázáno, že se ukrývají neurony z mozku pacientů s Alzheimerovou chorobou více variant genu pro amyloidní prekurzorový protein APP, inkorporovaných do genomu, které jsou vytvářeny prostřednictvím procesu zvaného somatická genová rekombinace (SGR) (Kaeser et al., 2020). SGR vyžaduje genovou transkripci, zlomy řetězců DNA a aktivitu reverzní transkriptázy, to vše mohou být podporovány dobře známými rizikovými faktory Alzheimerovy choroby. DNA kódující APP je reverzně přepsán do RNA a poté přepsán zpět do DNA a začleněn do genomu v místě zlomu vlákna. Protože RNA je náchylnější k mutacím, DNA v nich mozaikové kopie obsahuje mnoho mutantních variant genu, takže se buňka stává mozaikou, schopnou vyrábět více variant APP. Neurony pacientů s Alzheimerovou chorobou jich obsahovaly až 500 milionů párů bází přebytečné DNA v jejich chromozomech (Bushman et al., 2015). Výzkumníci z MIT a Harvardu zveřejnili v roce 2021 znepokojivý dokument, kde poskytli silný důkaz, že RNA SARS-CoV-2 může být reverzně transkribována do DNA a integrována do lidské DNA (Zhang et al., 2021). Po pozorování byli vedeni k prozkoumání této myšlenky že mnoho pacientů má nadále pozitivní test na COVID-19 i poté, co byl virus již odstraněn z jejich těla. Autoři našli chimérické transkripty, které obsahovaly fúzané sekvence virové DNA na buněčné sekvence DNA u pacientů, kteří se zotavili z COVID-19. Od COVID-19 často indukuje cytokinovou bouři v těžkých případech, potvrdili možnost zesíleného reverze aktivita transkriptázy prostřednictvím studie in vitro s použitím kondicionovaného média obsahujícího cytokiny v buňce kultur. Zjistili 2-3násobnou upregulaci endogenní exprese LINE-1 v reakci na cytokiny. Exogenní RNA z viru začleněná do lidské DNA by mohla produkovat fragmenty virových proteinů neomezeně po odstranění infekce, což **vede k falešně pozitivní na PCR testu.**

5. Bovinní virový průjem: rušivý model

Bovinní virový průjem (BVD) je infekční virové onemocnění, které postihuje skot po celém světě. To je členem třídy pestivirů, což jsou malé, sférické, jednovláknové, obalené RNA viry. Onemocnění je spojeno s gastrointestinálními, respiračními a reprodukčními chorobami. A

Jedinečnou vlastností BVD je, že virus může procházet placentou infikované březí matky.

To může mít za následek narození telete, které nese intracelulární virové částice, za které se mylně považuje

Jeho imunitní systém odmítá rozpoznat virus jako cizí invazi a v důsledku toho tele

během svého života vylučuje virus ve velkém množství a potenciálně infikuje celé stádo. Má to

se staly rozšířenou praxí k identifikaci takových přenašečů telat a jejich vyřazování ze stáda ve stádě

pokus o omezení infekce (Khodakaram-Tafti & Farjanikish, 2017).

Zdá se pravděpodobné, že v budoucnu může nastat nebezpečná situace, kdy žena dostane an

mRNA vakcína proti SARS-CoV-2 a krátce poté počít dítě. Spermie by byly

volné přijímat lipozomy začleněné do RNA z vakcíny a převádět je na DNA pomocí

ŘÁDEK-1. Pak by produkovaly plazmidy obsahující kód pro spike protein, který by

být absorbován oplodněným vajíčkem výše popsaným procesem. Dítě, které se narodí, je pak

potenciálně neschopné vytvořit protilátky proti spike proteinu, protože jejich imunitní systém uvažuje

být „já“. Pokud by se dítě nakazilo SARS-CoV-2 kdykoli během svého života,

imunitní systém by se proti viru nebránil a virus by pravděpodobně ano

volně se množit v těle dítěte bez omezení. Z kojence by se logicky stal superspreader

v takové situaci. Je pravda, že v tuto chvíli jde o spekulace, ale existují důkazy

co víme o retrotranspozonech, spermiích, oplodnění, imunitním systému a virech, že

takový scénář nelze vyloučit. Již bylo prokázáno v experimentech na myších, že

genetické prvky v DNA vektorových vakcínách, které jsou v podstatě plazmidy, se mohou integrovat do hostitele

genomu (Wang et al., 2004). Ve skutečnosti byl takový proces navržen jako základ pro Lamarckian

evoluce definovaná jako dědičnost získaných vlastností (Steele, 1980).

Uvědomění si, že to, co se dříve nazývalo „nevyžádaná DNA“, není odpad, je jen jedním z výsledků

vychází z nového filozofického paradigmatu v lidském jazyce, biologii a genetice, které je založeno

o fraktální genomice (Pellionisz, 2012) – paradigma, které Pellionisz spojuje se zapojením

„pravé narativní reprezentace“ (TNRs; Oller, 2010), realizované jako „iterace fraktální šablony“ v

vysoce opakující se procesy normálního vývoje mnoha větvících struktur

Lidské tělo. Tyto procesy jsou četné v plicích, ledvinách, žilách a tepnách a ve většině případů

hlavně v mozku. mRNA vakcíny jsou experimentální genovou terapií s potenciálem

začlenit kód pro spike protein SARS-CoV-2 do lidské DNA. Tento kód DNA

mohl instruovat syntézu velkého počtu kopií proteinových infekčních částic, a to

má potenciál vložit do rozvíjejícího se vyprávění více falešných signálů, což má za následek

nepředvídatelné výsledky.

Závěr

Experimentální mRNA vakcíny byly ohlašovány jako mající potenciál pro velké výhody, ale mají také možnost potenciálně tragických a dokonce katastrofických nepředvídaných důsledků. The mRNA vakcíny proti SARS-CoV-2 byly implementovány s velkou pompou, ale je jich mnoho aspektů jejich širokého využití, které si zaslouží pozornost. Zkontrolovali jsme některé, ale ne všechny tyto obavy zde a chceme zdůraznit, že tyto obavy jsou potenciálně vážné a mohou nebýt patrný po celá léta nebo dokonce transgeneračně. Aby bylo možné adekvátně vyloučit nepříznivé potenciály popsané v tomto článku, doporučujeme minimálně provést následující výzkum a

být přijaty postupy dozoru:

- Národní úsilí o sběr podrobných údajů o nežádoucích účincích spojených s mRNA vakcíny s hojným přidělením finančních prostředků, sledované daleko za prvních pár týdnů po očkování.
- Opakované testování autoprotilátek u populace příjemců vakcíny. Testované autoprotilátky by mohly být standardizovány a měly by být založeny na dříve zdokumentovaných protilátkách a autoprotilátky potenciálně vyvolané spike proteinem. Patří mezi ně autoprotilátky proti fosfolipidy, kolagen, aktin, tyreoperoxidáza (TPO), myelinový bazický protein, tkáň transglutamináza a možná i další.
- Imunologické profilování související s rovnováhou cytokinů a souvisejícími biologickými účinky. Testy by měly zahrnovat minimálně IL-6, INF-a, D-dimer, fibrinogen a C-reaktivní protein.
- Studie porovnávající populace, které byly očkovány mRNA vakcínami, a ty kteří nepotvrdili očekávanou sníženou míru infekce a mírnější příznaky onemocnění očkována skupina, přičemž se současně srovnávají četnosti různých autoimunitních nemocí a prionových nemocí ve stejných dvou populacích.
- Studie k posouzení, zda je možné, aby neočkována osoba získala specifickou vakcínu formy spike proteinů od očkováne osoby v těsné blízkosti.
- In vitro studie k posouzení, zda mohou být nanočástice mRNA absorbovány spermii a přeměněny na cDNA plazmidy.
- Studie na zvířatech s cílem určit, zda může vakcinace krátce před početím vést k potomstvo nesoucí ve svých tkáních plazmidy kódující spike-protein, případně integrované do jejich genom.
- In vitro studie zaměřené na lepší pochopení toxicity spike proteinu na mozek, srdce, varlata atd.

Veřejná politika kolem masového očkování obecně vycházela z předpokladu, že

poměr rizika a přínosu pro nové mRNA vakcíny je „slam dunk“. S masivním očkováním

kampaň v reakci na vyhlášený mezinárodní stav nouze COVID-19 již probíhá

se vrhli do experimentů s vakcínami v celosvětovém měřítku. Přinejmenším bychom měli brát

využít data, která jsou k dispozici z těchto experimentů, a dozvědět se více o tomto novém a

dříve nevyzkoušená technologie. A v budoucnu vyzýváme vlády, aby pokračovaly ve více

opatrnosti tváří v tvář novým biotechnologiím.

Konečně, jako zjevný, ale tragicky ignorovaný návrh, by vláda měla být také povzbuzivá

obyvatelstvo, aby přijalo bezpečné a dostupné kroky k přirozenému posílení imunitního systému, jako je např

vyjít ven na sluneční světlo, aby se zvýšila hladina vitamínu D (Ali, 2020), a jíst převážně organické potraviny

potraviny spíše než chemicky zpracované potraviny (Rico-Campà et al., 2019). Také jíst potraviny, které

jsou dobrým zdrojem vitamínu A, vitamínu C a vitamínu K2 by měly být podporovány, protože nedostatky v

tyto vitamíny jsou spojeny se špatnými výsledky COVID-19 (Goddek, 2020; Sarohan, 2020).

Poděkování

Tento výzkum byl částečně financován Quanta Computers, Inc., Tchaj-wan, pod záštitou

Projekt Qmulus.

Konkurenční zájmy

Autoři nemají žádné konkurenční zájmy nebo konflikty, které by mohli deklarovat.