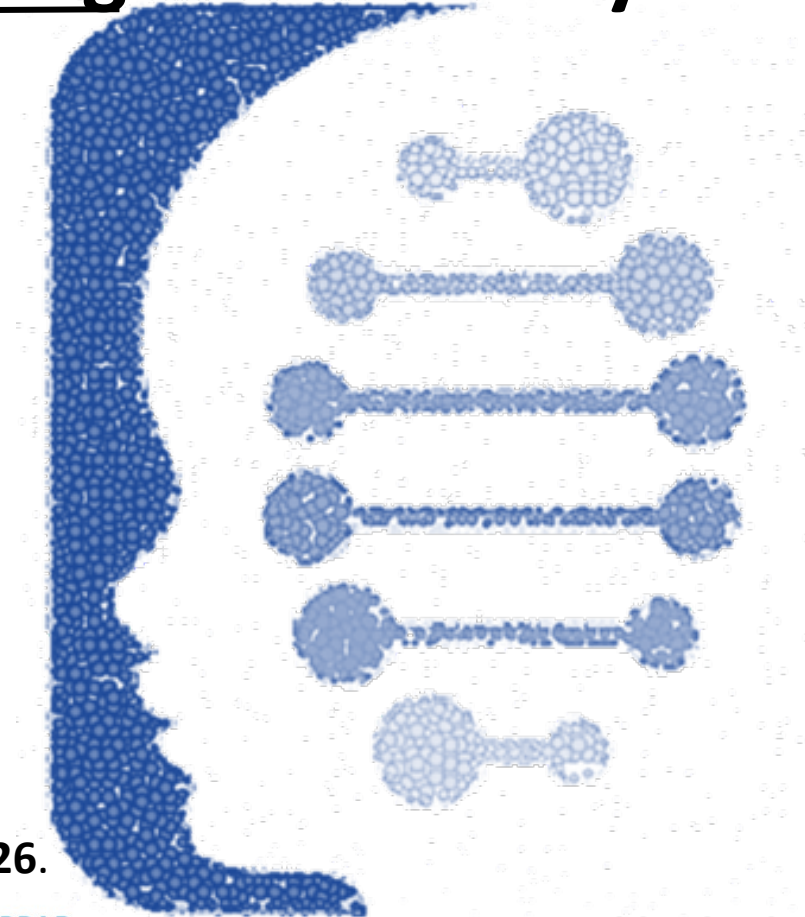
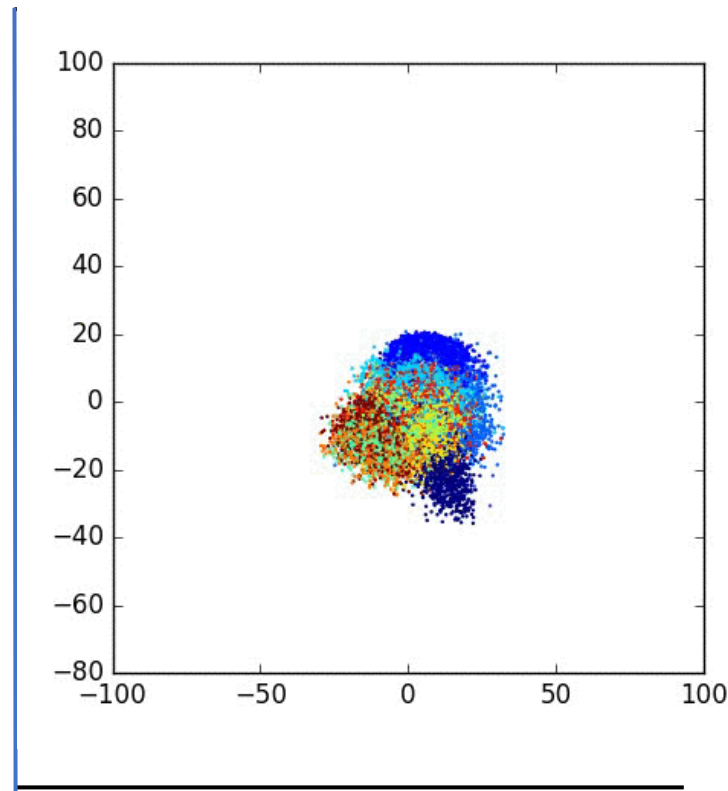
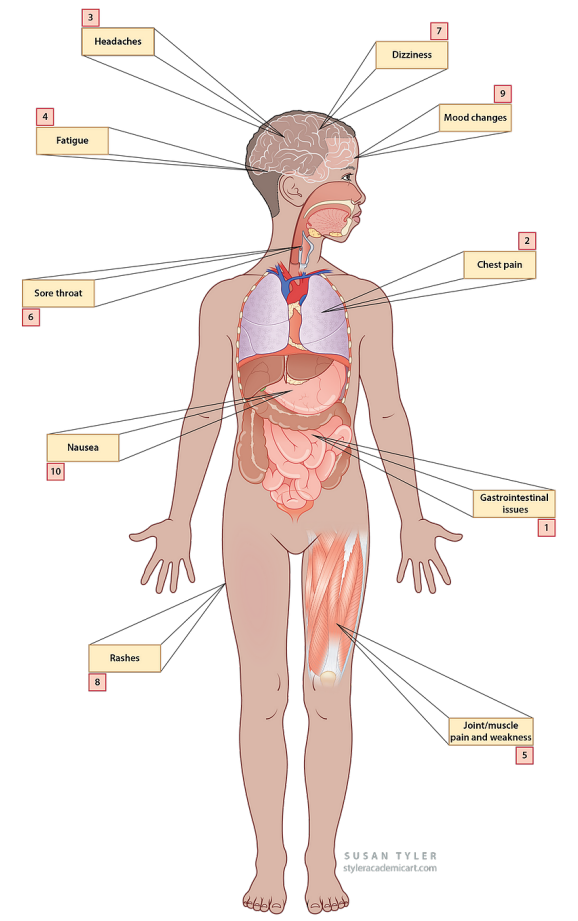
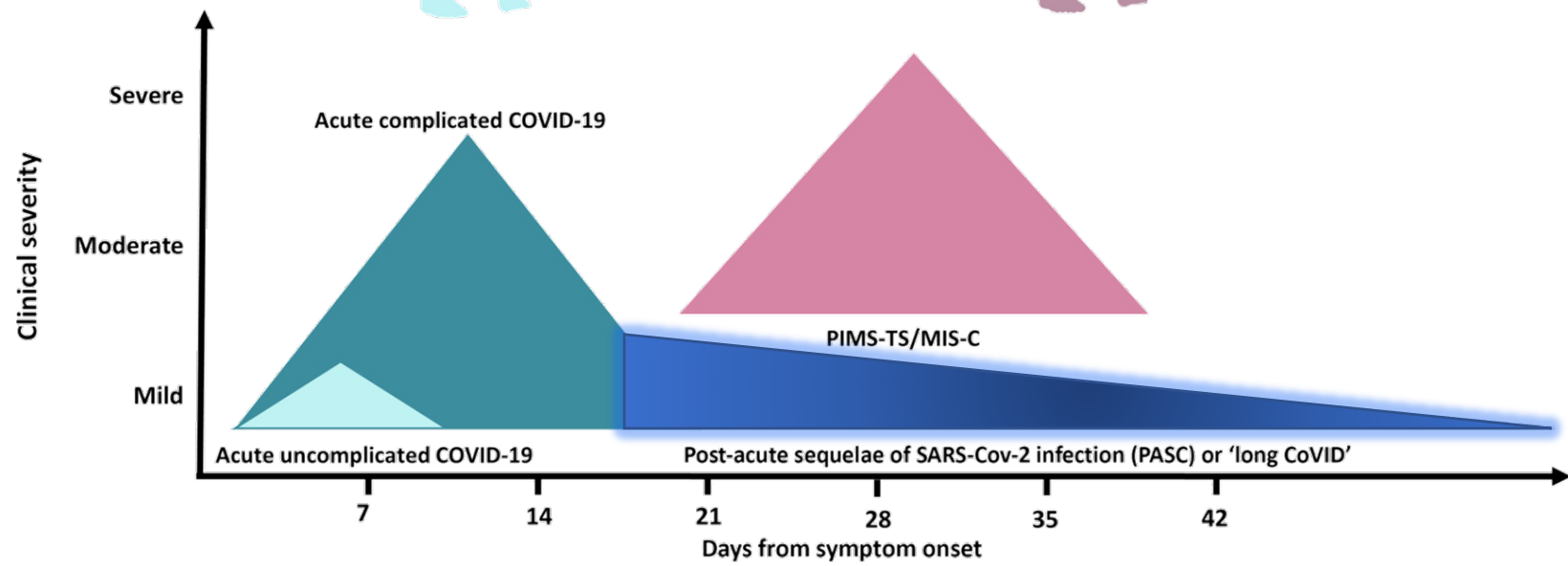
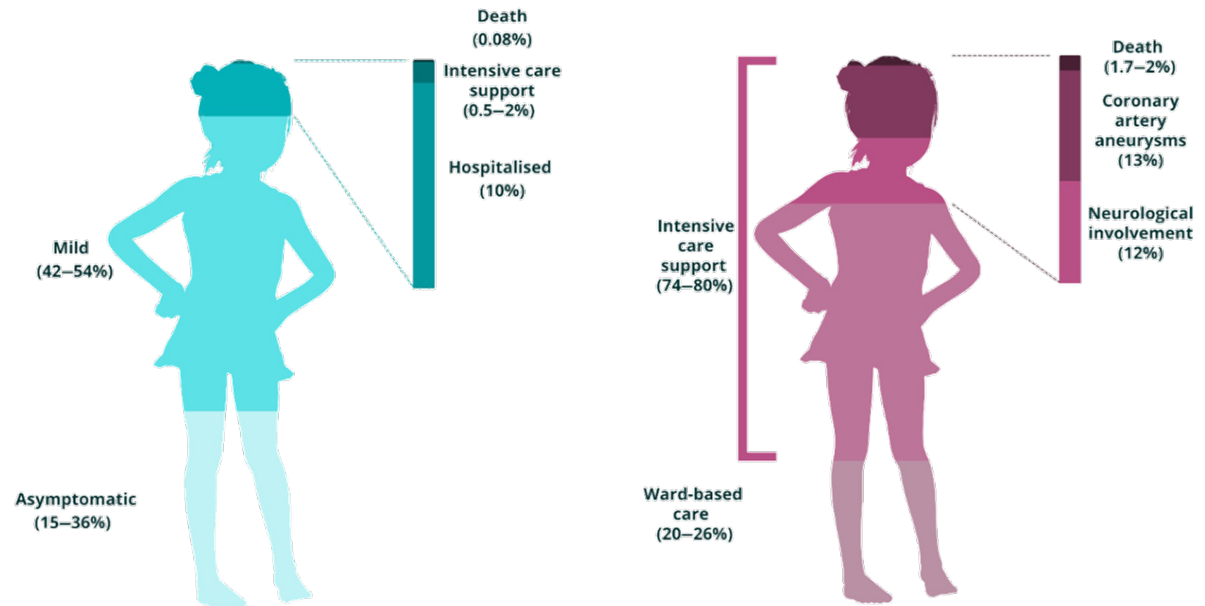


A LONG-COVID KIALAKULÁSÁBAN szereplő immunológiai és genetikai tényezők



2021.10.26.

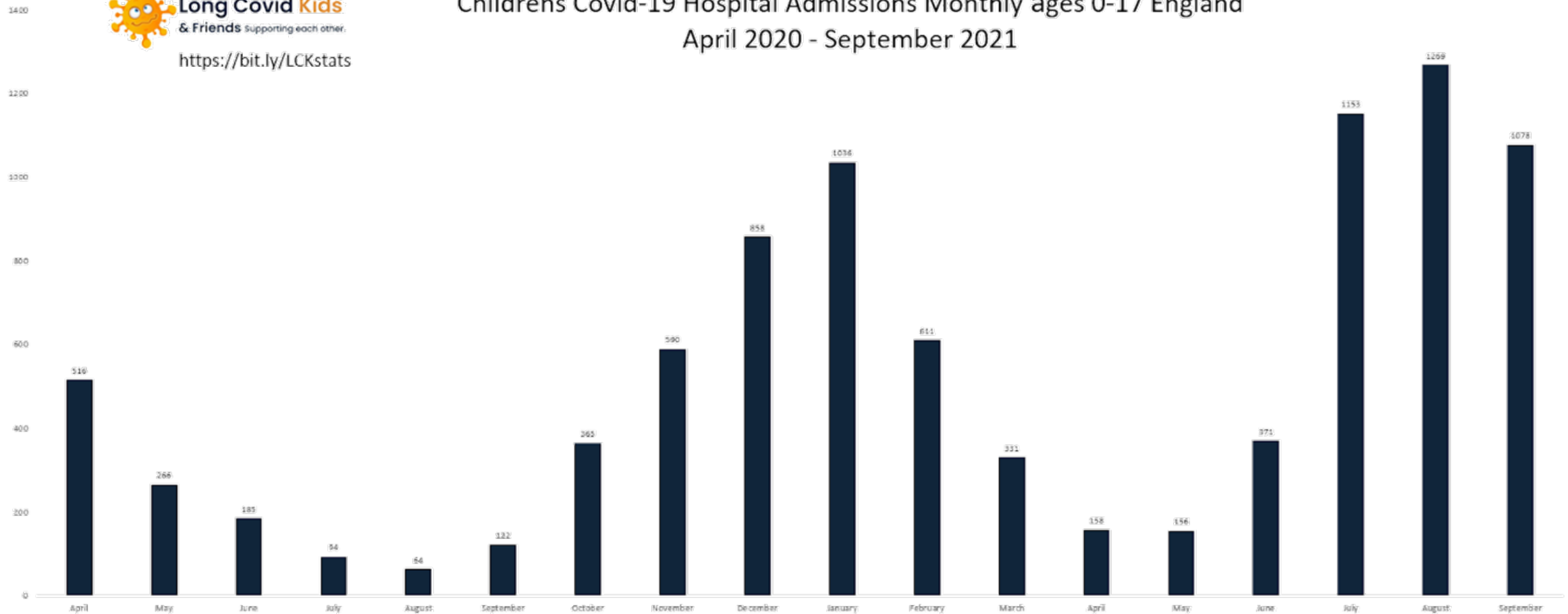
SARS-COV-2 FERTŐZÉS GYERMEKEKBEN



<https://www.longcovidkids.org/>

 **Long Covid Kids**
& Friends supporting each other.
<https://bit.ly/LCKstats>

Childrens Covid-19 Hospital Admissions Monthly ages 0-17 England April 2020 - September 2021

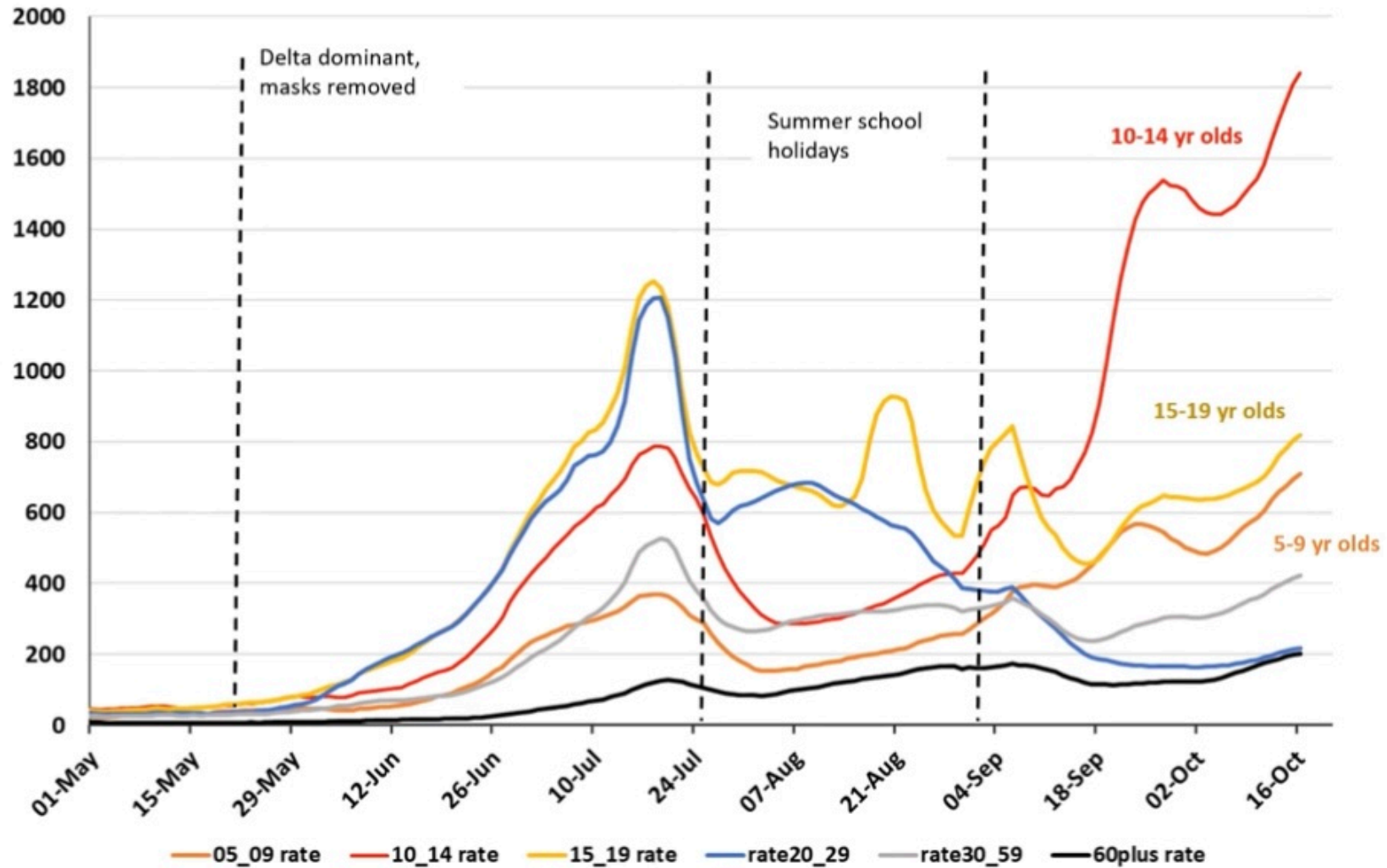


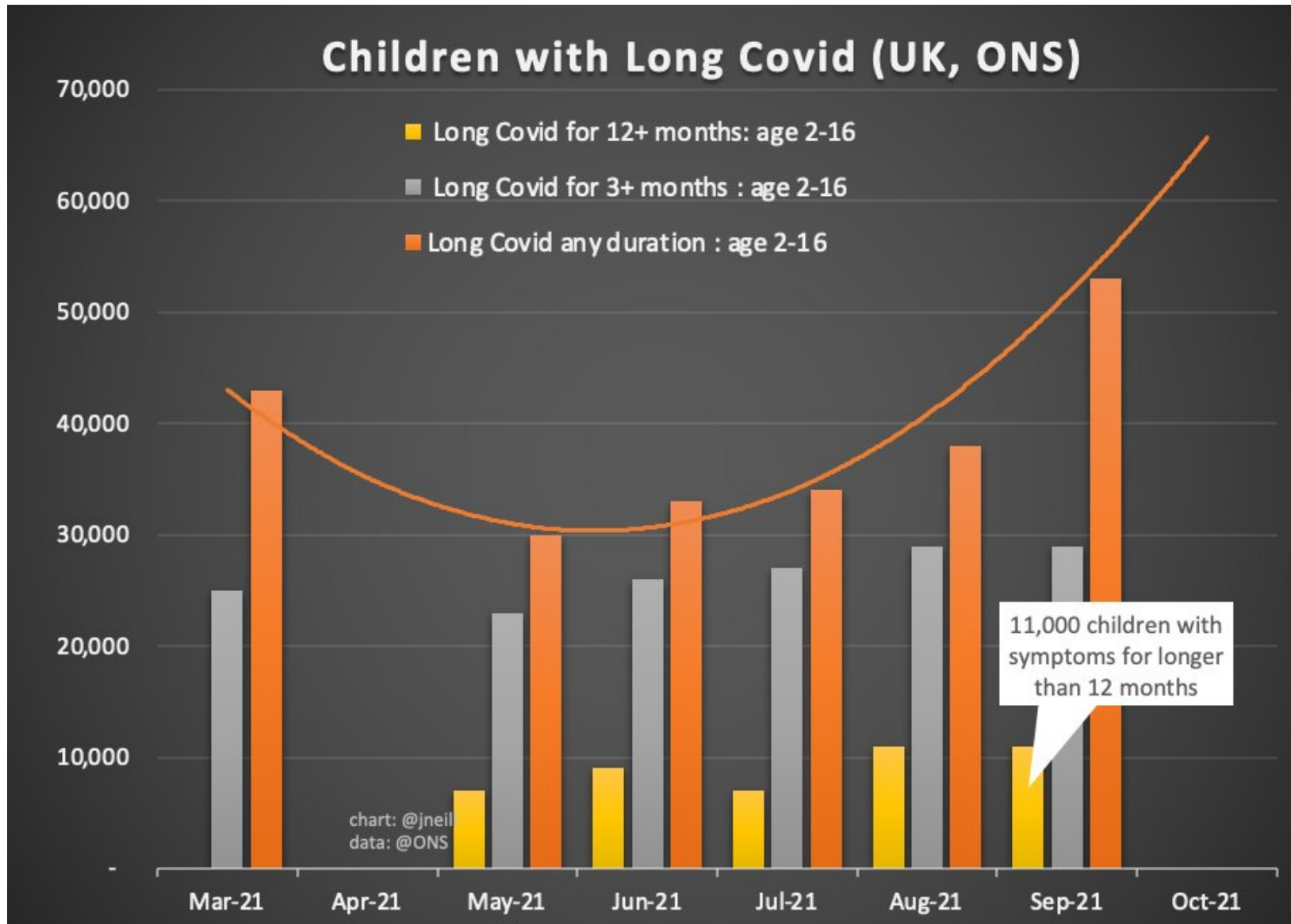
SARS-COV-2 FERTŐZÉS GYERMEKKORBAN



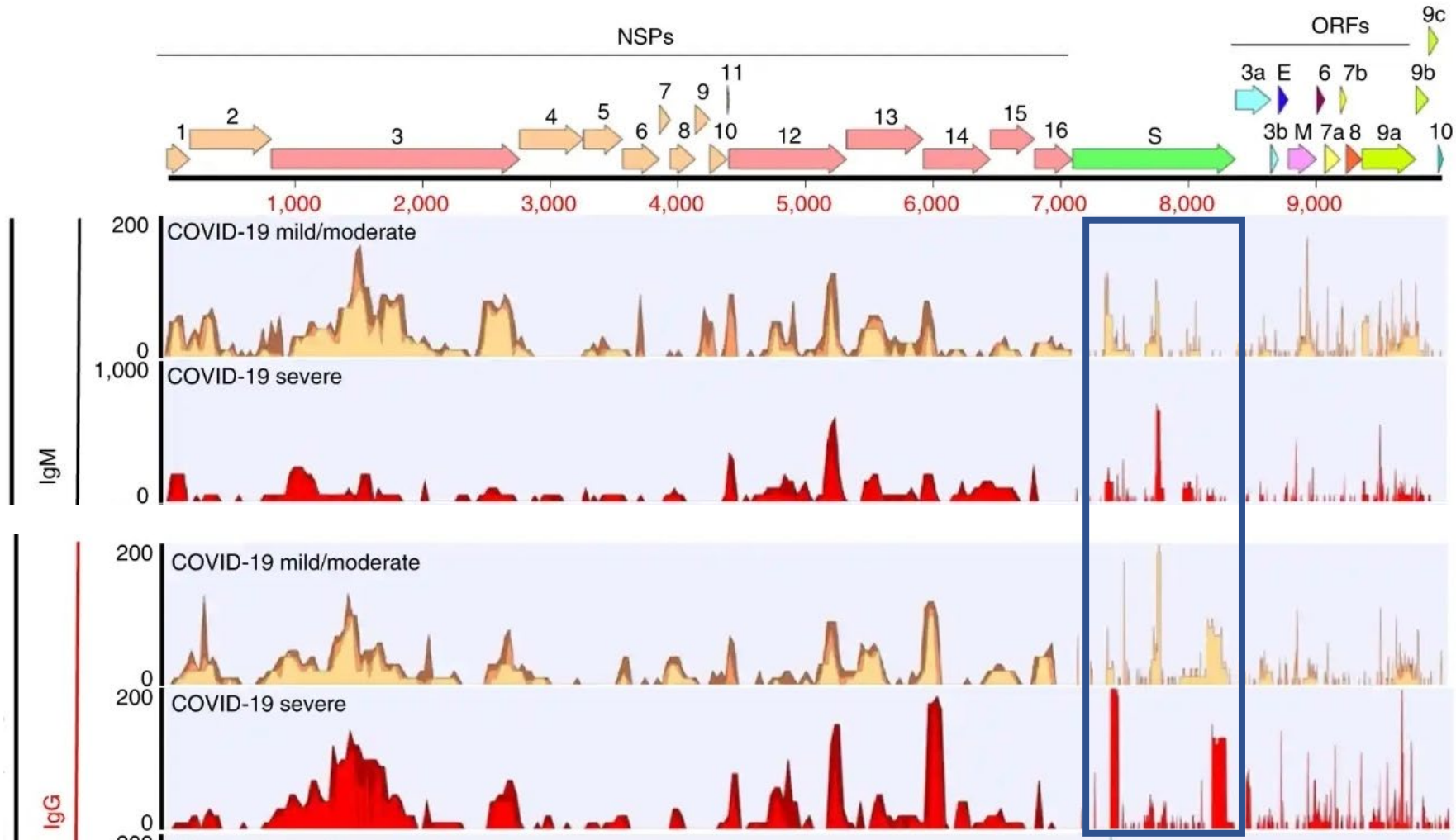
indie_SAGE
The Independent SAGE • Following the science

Cases per 100,000 people per week for different age groups in England

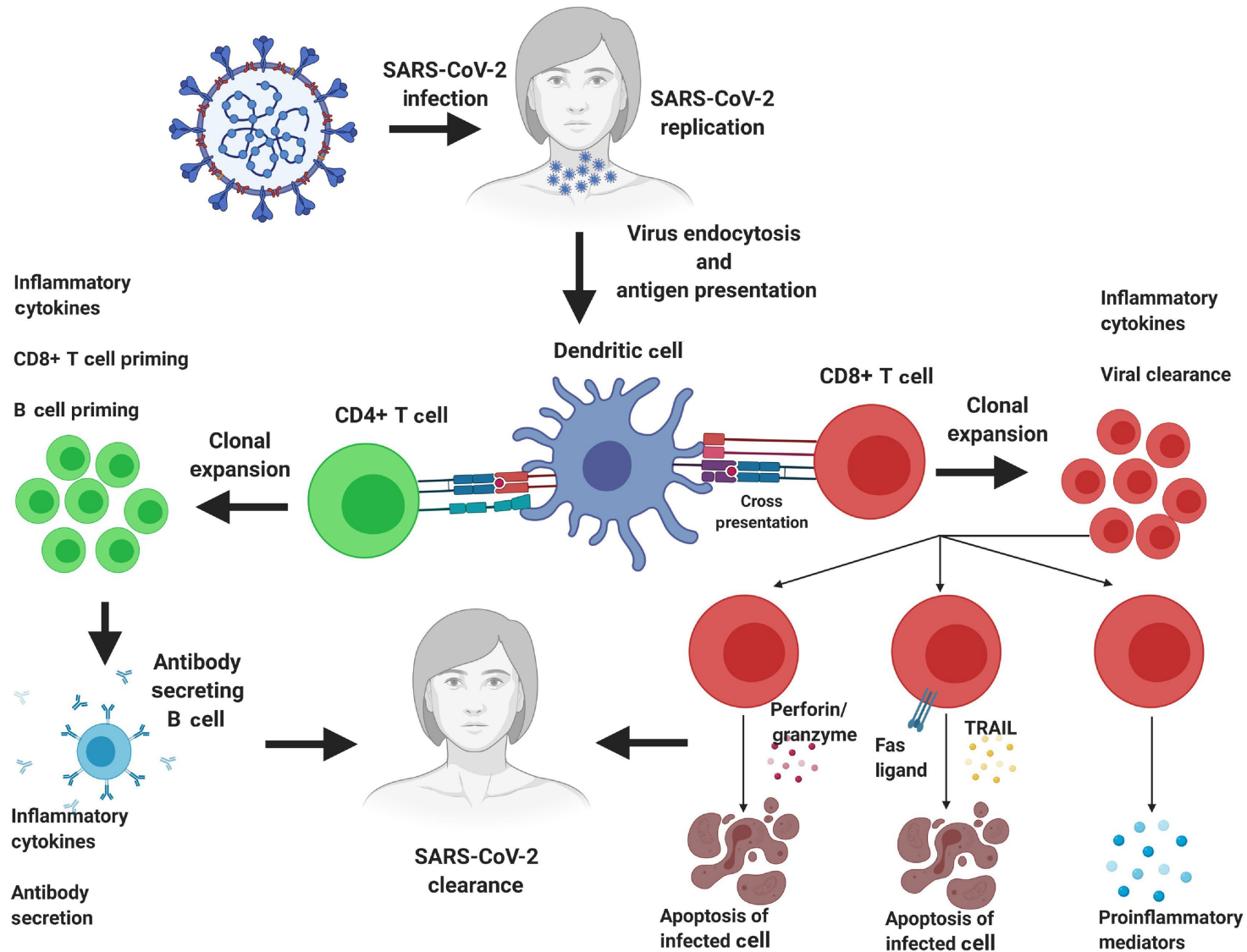




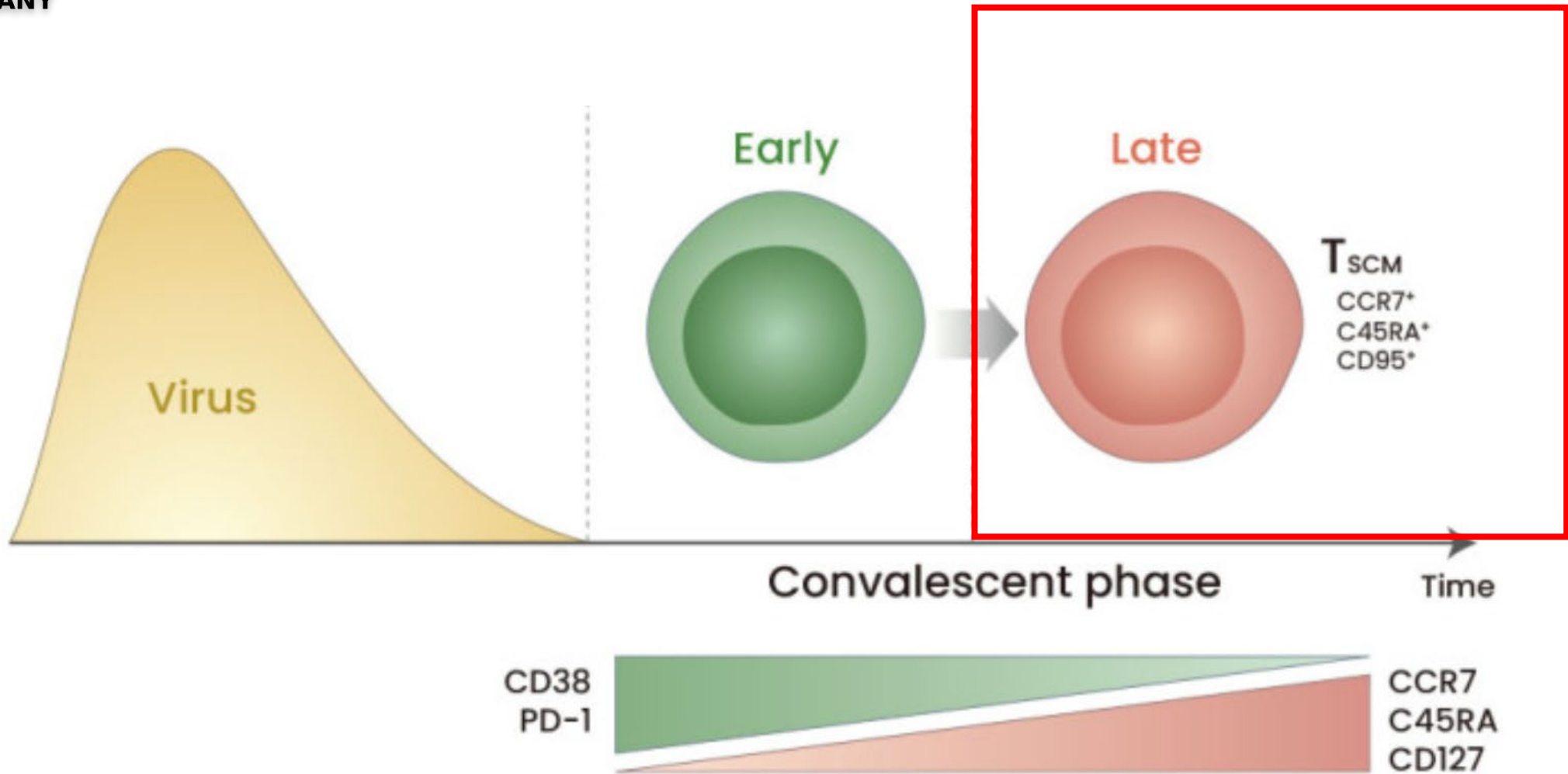
SARS-COV-2 FERTŐZÉS GYERMEKEKBEN

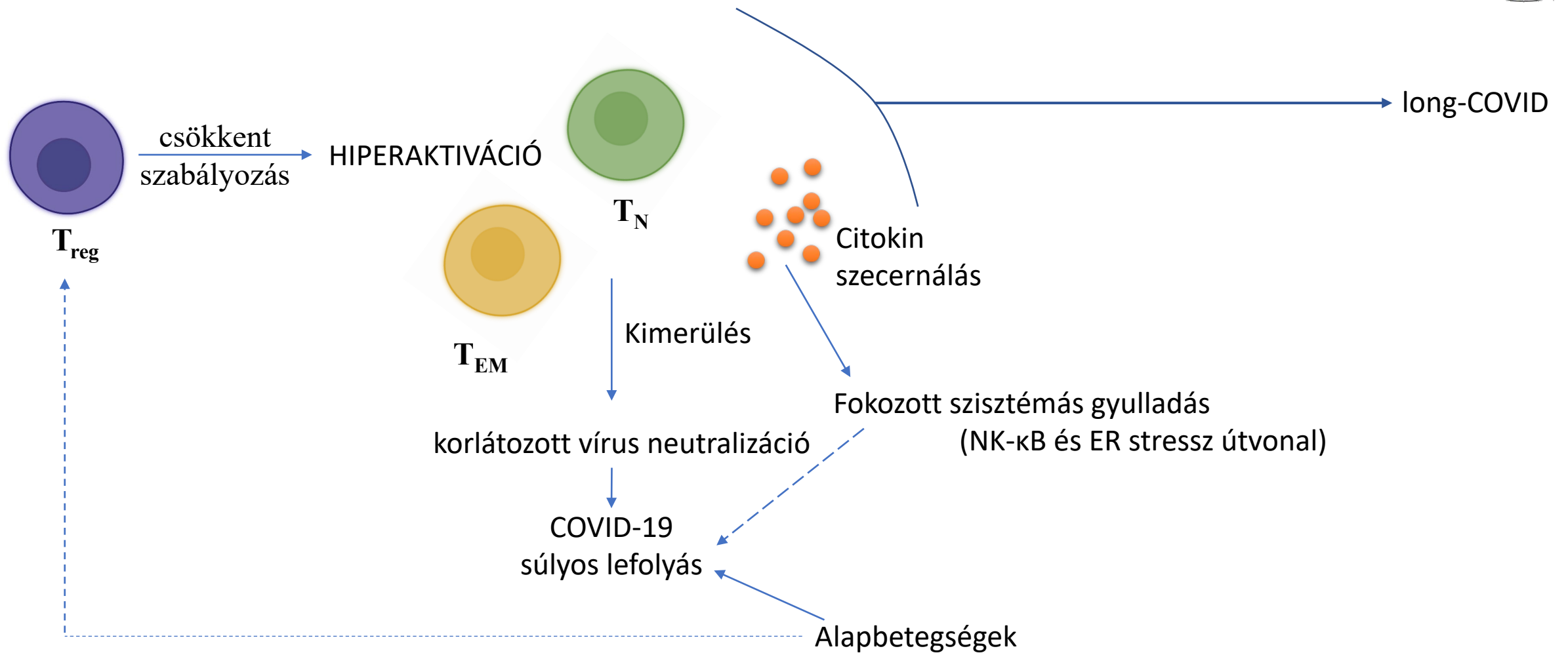


IMMUNVÁLASZ SARS-COV-2 FERTŐZÉSSEN



IMMUNVÁLASZ SARS-COV-2 FERTŐZÉST KÖVETŐEN





SARS-CoV-2 vírus belépési receptorainak
(ACE2, NRP1, CD209, MGL) sűrűsége a
humán sejteken



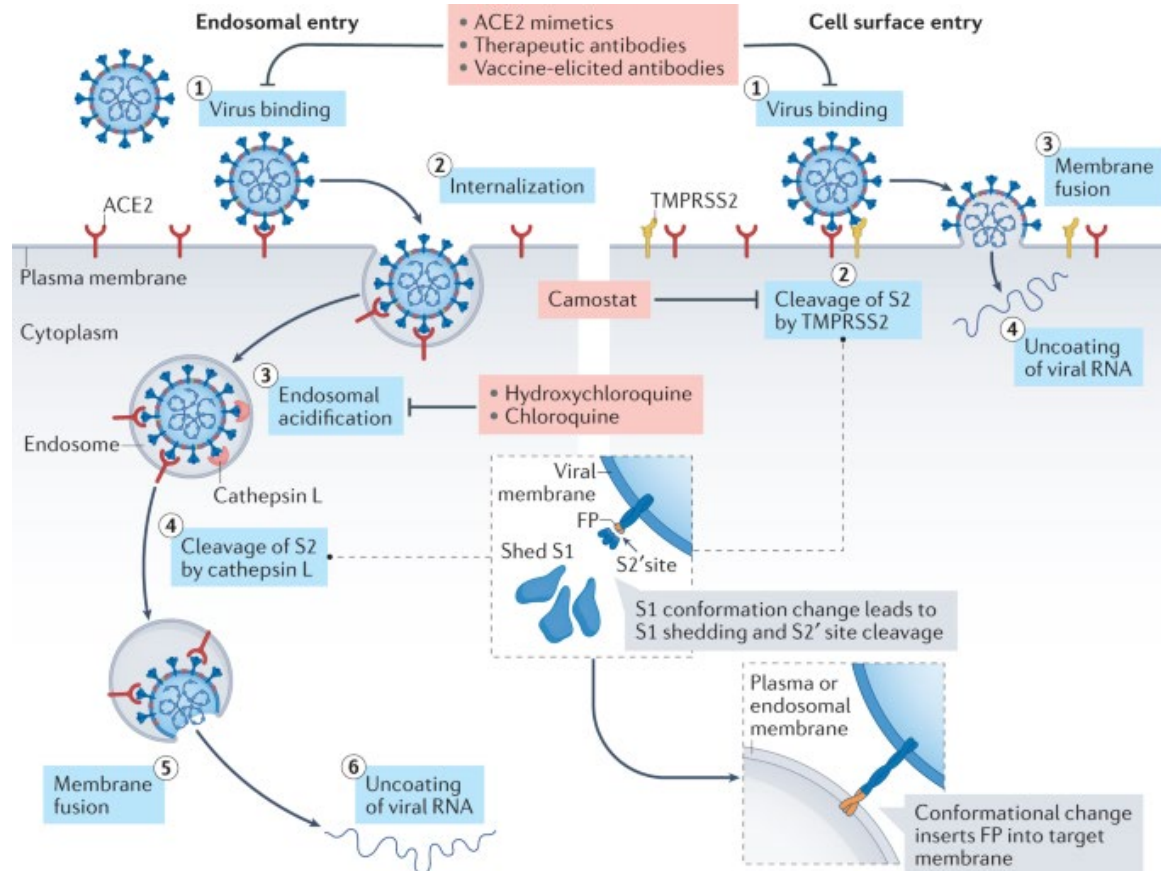
Kóros T-sejtes
immunválasz

Augmentált
szisztémás
gyulladás

SARS-CoV-2 VÍRUS BELÉPÉSI RECEPTORAINAK
(ACE2, NRP1, BOAT1, CD209, MGL) SŰRŰSÉGE
A HUMÁN SEJTEKEN

Konstitutív expresszió: az egyes receptorokat kódoló génvariánsok hatása

Hormonális háztartás: ösztrogén és tesztoszteron növeli az ACE2 expressziót



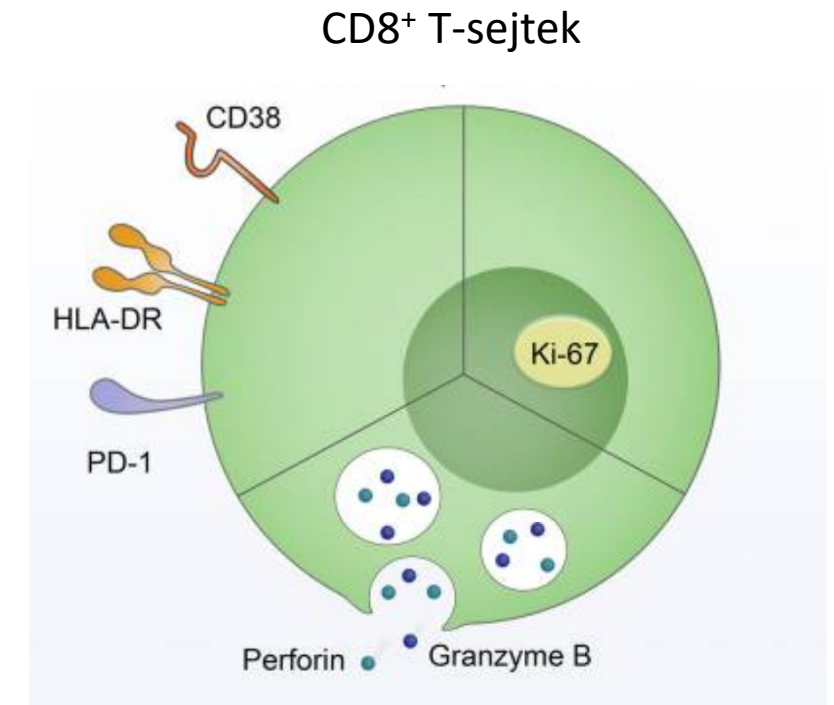
KÓROS T-SEJTES IMMUNVÁLASZ

A keringő SARS-CoV-2-reaktív Treg sejtek száma csökken

Kritikus fertőzés szabályozás: effektor citokin szecernálás révén, citotoxikus aktivitás és B-sejt kostimuláció révén

T-sejtekben fokozott aktivációs marker expresszió: HLA-DR, CD38, CD45RO

T-sejtekben fokozódott IL-2R, IL-6, JUN, FOS, perforin, granzim expresszió



X-kromoszóma inaktivációs státusza és az X-kromoszómán elhelyezkedő gének variánsai

pl. *ACE2*, *TLR7* gének

ACE2 génvariációk → csökkent vírus-receptor intermolekuláris interakció

csökkent kötődési affinitás pl. p.S19P, p.E329G

csökkent *ACE2* stabilitás pl. p.V506A, p.N720D, p.K26R, p.G211R

ACE2 promoter hipermetilációs állapota

Intracelluláris virális receptorokat kódoló gének variációi és génexpressziós mintázata

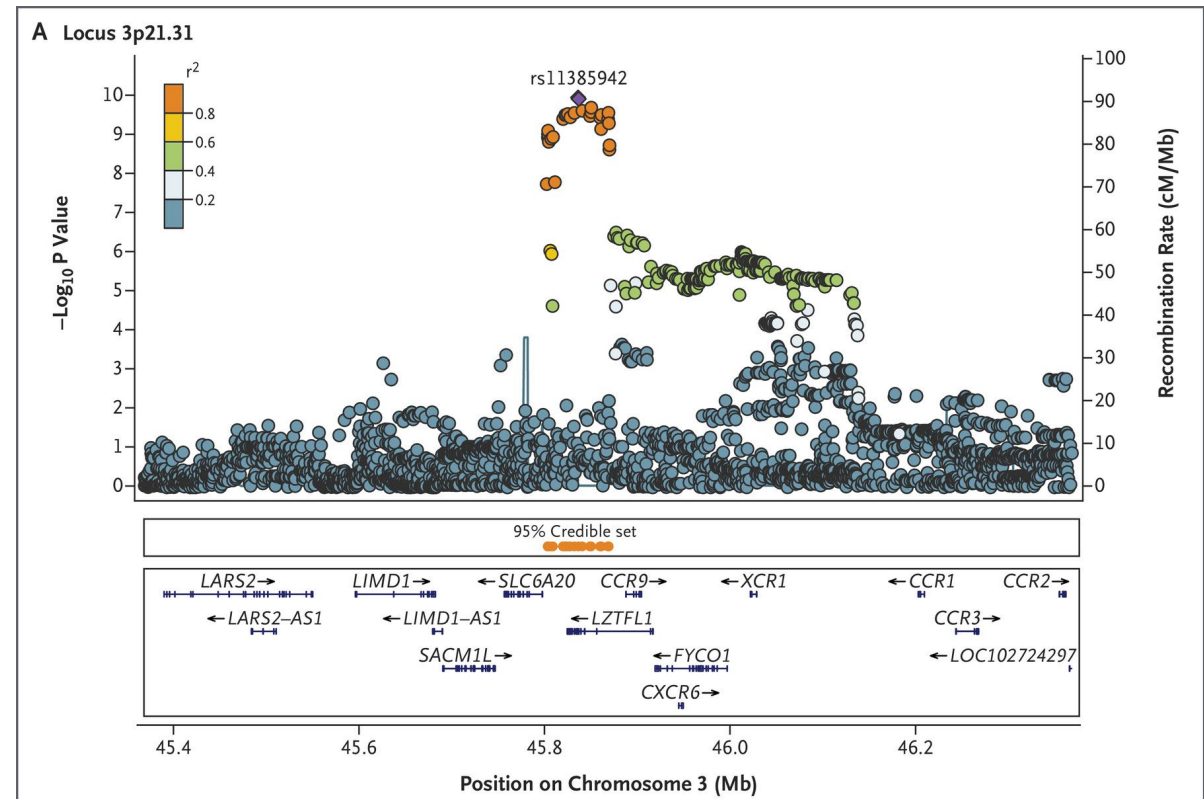
pl. *TLR2* gén

HLA gének által meghatározott TCR repertoár

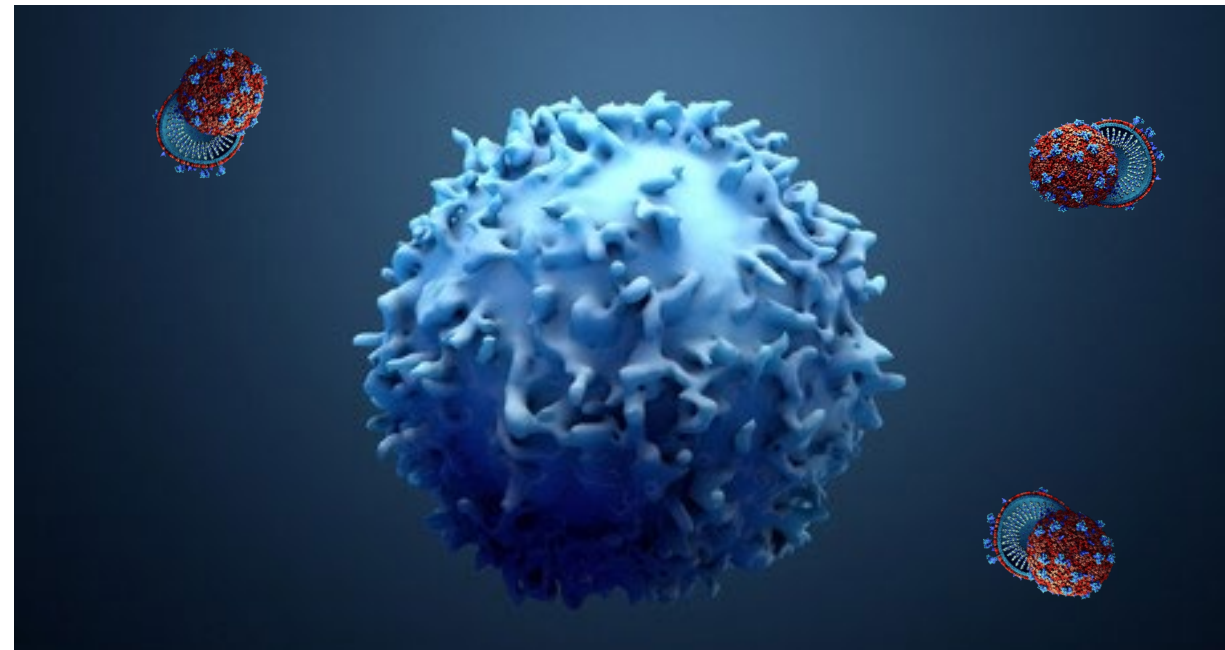
pl. HLA-B*15:03

Antivirális immunválaszt meghatározó genomikai háttér

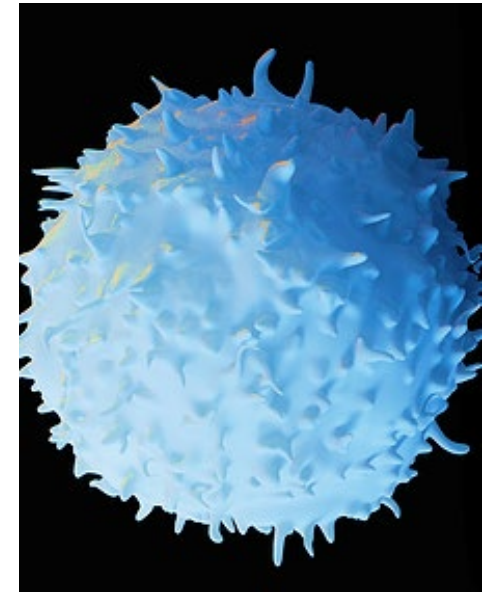
1. **TLR**-útvonal: *TLR3*, *TRIF*, *TRAF3*, *TBK1*, *STAT1*, *TYK1*
2. **NLRP1** inflammaszóma aktiváció – fokozott gyull citokin
3. **DPP4** gén (T-sejt aktiváció)



Módosult T-sejtes válasz áll a gyermekekben megfigyelhető long-COVID szindróma kialakulásának hátterében.



Célkitűzésünk a long-COVID szindrómában szenvedő gyermekek T-sejt közvetített immunválaszának részletes feltérképezése.



1. A long-COVID szindrómával diagnosztizált gyermekek perifériás vérmintáiból biobank létrehozása.
2. A betegek krónikus gyulladásos paramétereinek részletes feltérképezése.
3. Generálható-e gyermekkori long-COVID szindrómára jellemző biomarker mintázat?
4. Felfedhetők részletes és mély immunfenotipizálással a T-sejt-közvetített immuneltérések?
5. Van-e összefüggés a keringő T-sejtek aktivációs státusza és a long-COVID szindróma tünetei között?
6. Felhasználható a T-sejtek gyulladással-asszociált DNS szintű nukleotid szekvencia és metilációs mintázata a gyermekkori long-COVID rizikó becslésre?
7. Gyermekek perifériás véréből izolált SARS-CoV-2 ellenes T-sejtek képesek-e végrehajtó citokineket szecernálni *in vitro* stimulusra?
8. Azonosítható egy-sejt transzkriptomikai megközelítéssel a long-COVID kialakulásáért felelős kulcsszerepet játszó T-sejt alcsoport?

Biológiai minták biobankolása -193 C fokon folyékony nitrogénben/ -80 C fokon.

PERIFÉRIÁS VÉRMINTA



Áramlási citométer-alapú

Nanopórus szekvenálás

Részletes, T-sejt
fókuszált
immunfenotipizálás

Ox. Stressz és
metabolizmus –
Bead array

Sejtszortolás

Génpanel
Szekvencia és
Metilációs mintázat

SARS-CoV-2
memória CD4⁺ T-sejt

in vitro
vizsgálatok

Egy-sejt
Transzkriptomika (10x)

Gyulladásos
jelátviteli útvonal
génexpresszió

ÁRAMLÁSI CITOMÉTER-ALAPÚ RÉSZLETES, T-SEJT FÓKUSZÁLT IMMUNFENOTIPIZÁLÁS

Őssejt-szerű memória T sejtek, T_{SCM}
CD4⁺CD45RA⁺CD95⁺CD197⁺GZMK⁻



Központi memória T-sejtek T_{CM}
CD4⁺CD28^{hi}CD45RA⁻CD197^{hi}



Szabályozó T-sejtek, T_{reg}
CD4⁺CD25^{hi}CD127^{low}



Végrehajtó memória T-sejtek T_{EM}
CD4⁺CD28^{hi} CD45RA⁻CD197^{lo}



Naiv T-sejtek
CD25⁻CD45RA⁺CD127⁺



Kimerült memória T-sejtek
CD28^{hi} CD95⁺CD127^{hi}CD197⁺GZMK⁺



Végrehajtó T-sejtek
CD25⁺CD95⁺CD127⁻



Korai végrehajtó memória T-sejtek
CD4⁺CD28^{hi}CD45RA⁻CD197^{lo}CCR5^{hi}

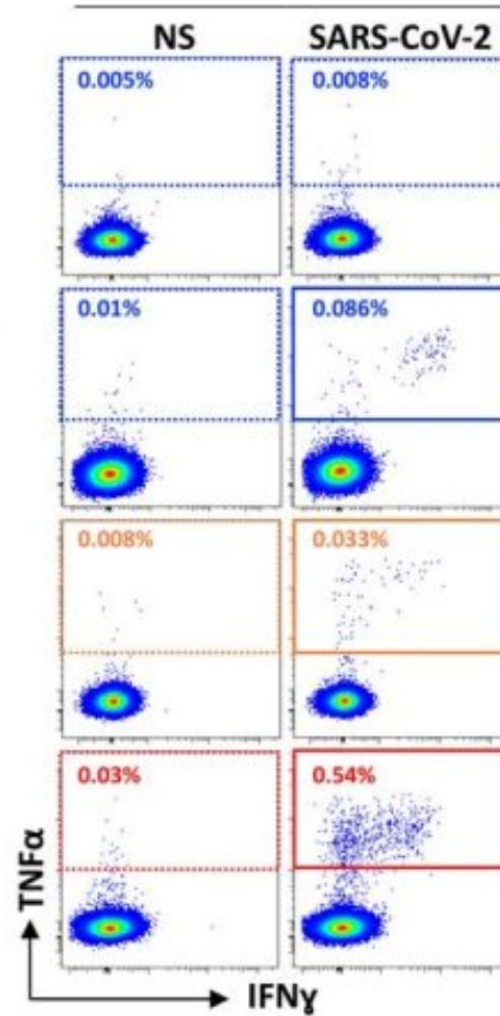
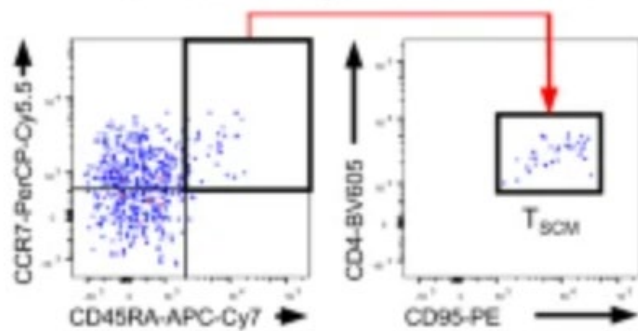
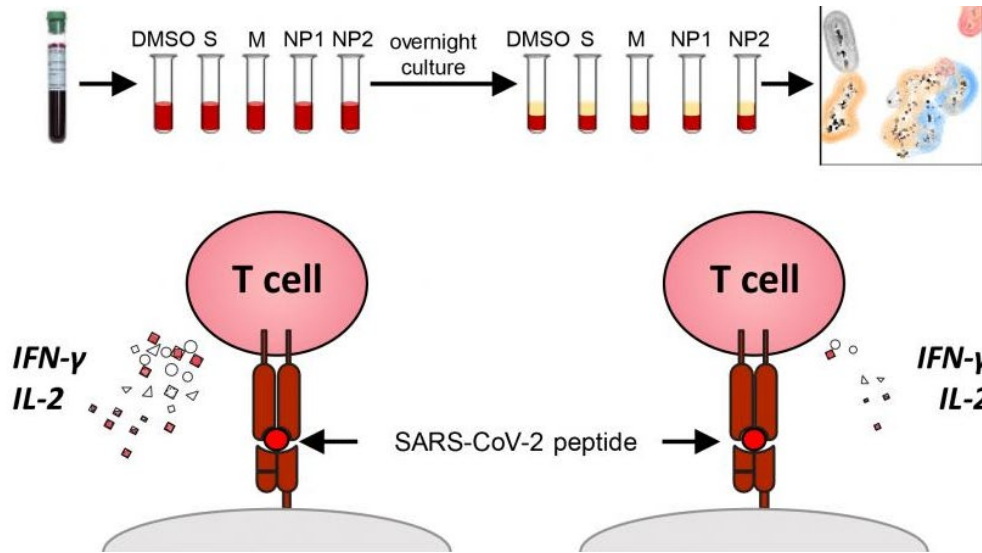


korai tímusból emigrált T-sejtek
CD4⁺CD8⁺CD31⁺

Szeneszcens T-sejtek
CD4⁺CD28⁻CD57⁺ vagy CD8⁺CD28⁻CD57⁺



ÁRAMLÁSI CITOMÉTER-ALAPÚ SARS-CoV-2 ELLENES MEMÓRIA T-SEJTEK VIZSGÁLATA



Bead-array gyulladáscitokinek koncentráció meghatározás

IL-1 β , IFN- α 2, IFN- γ , TNF- α , MCP-1 (CCL2), IL-6, IL-8 (CXCL8), IL-10, IL-12p70, IL-17A, IL-18, IL-23, és IL-33

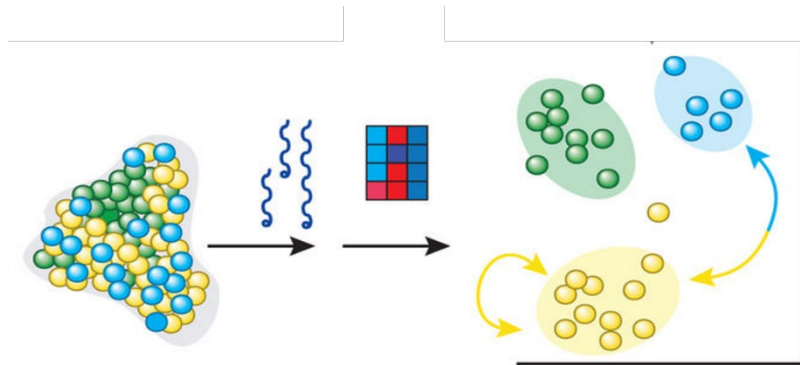
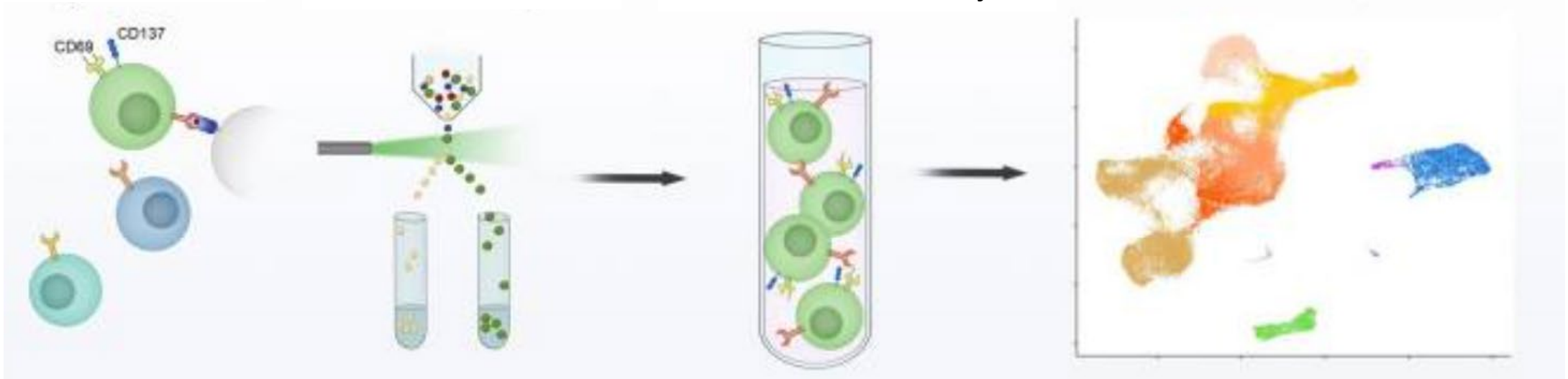
EGY-SEJT TRANSZKRIPTOMIKAI VIZSGÁLAT

Ag stimulus

Negatív sejtszortolás

CD3+ vírus-reaktív sejtek

scRNA-seq

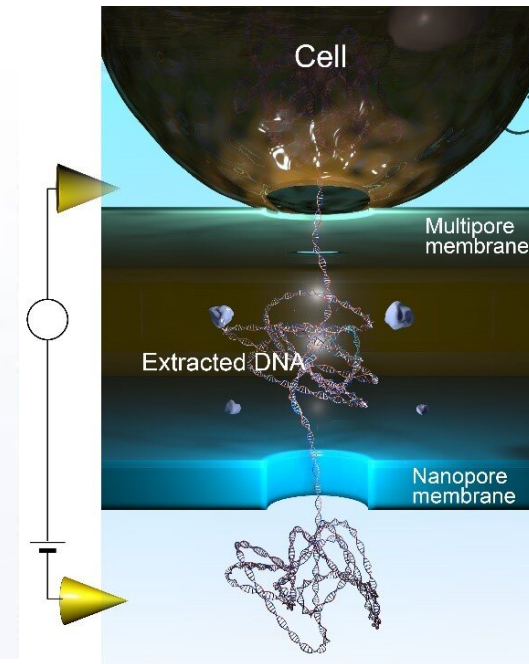
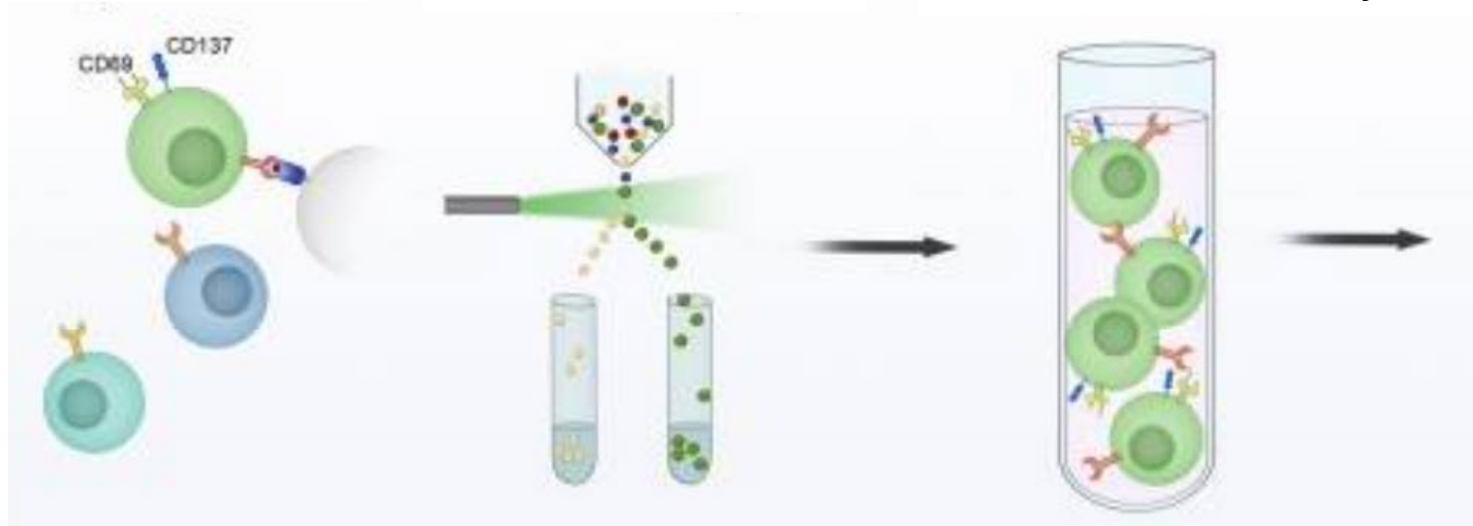


NANOPÓRUS-ALAPÚ SZEKVENÁLÁS

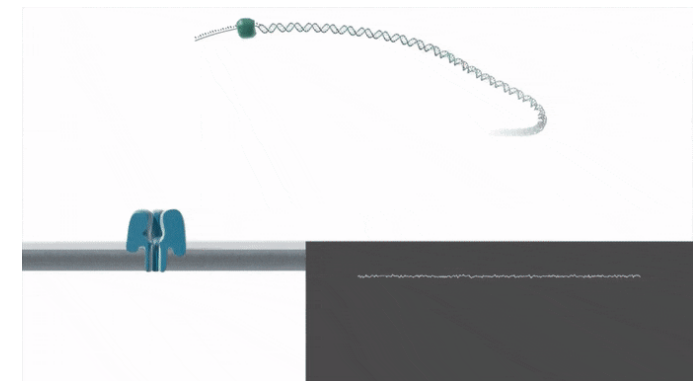
Ag stimulus

Negatív sejtszortolás

CD3+ vírus-reaktív sejtek



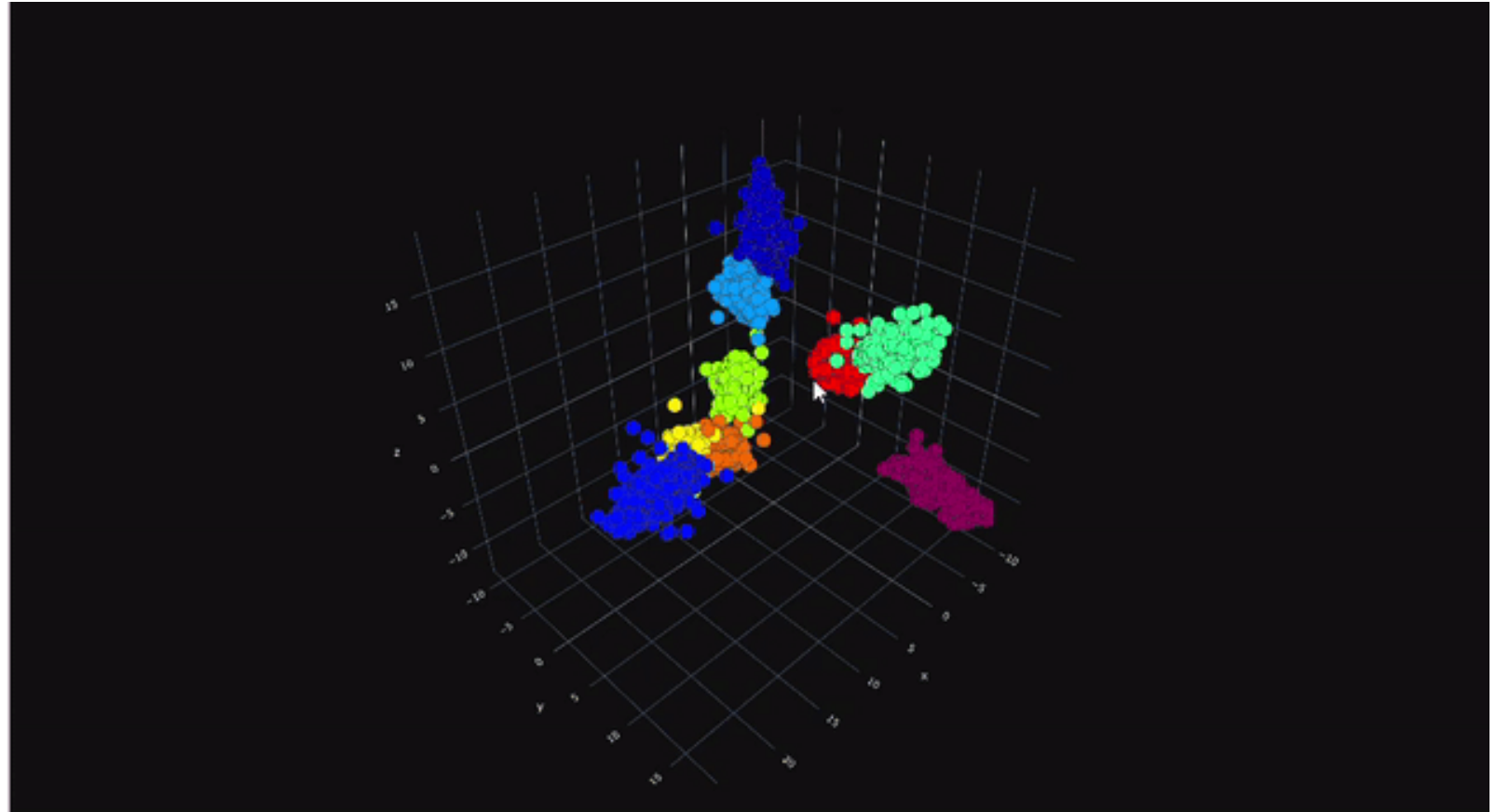
ACE2, NRP1, CD209, MGL, TLR2, TLR3, TRIF, TRAF3, TBK1, TYK1, NLRP1, DPP4



A keringő T-sejtek multiomikai vizsgálata:

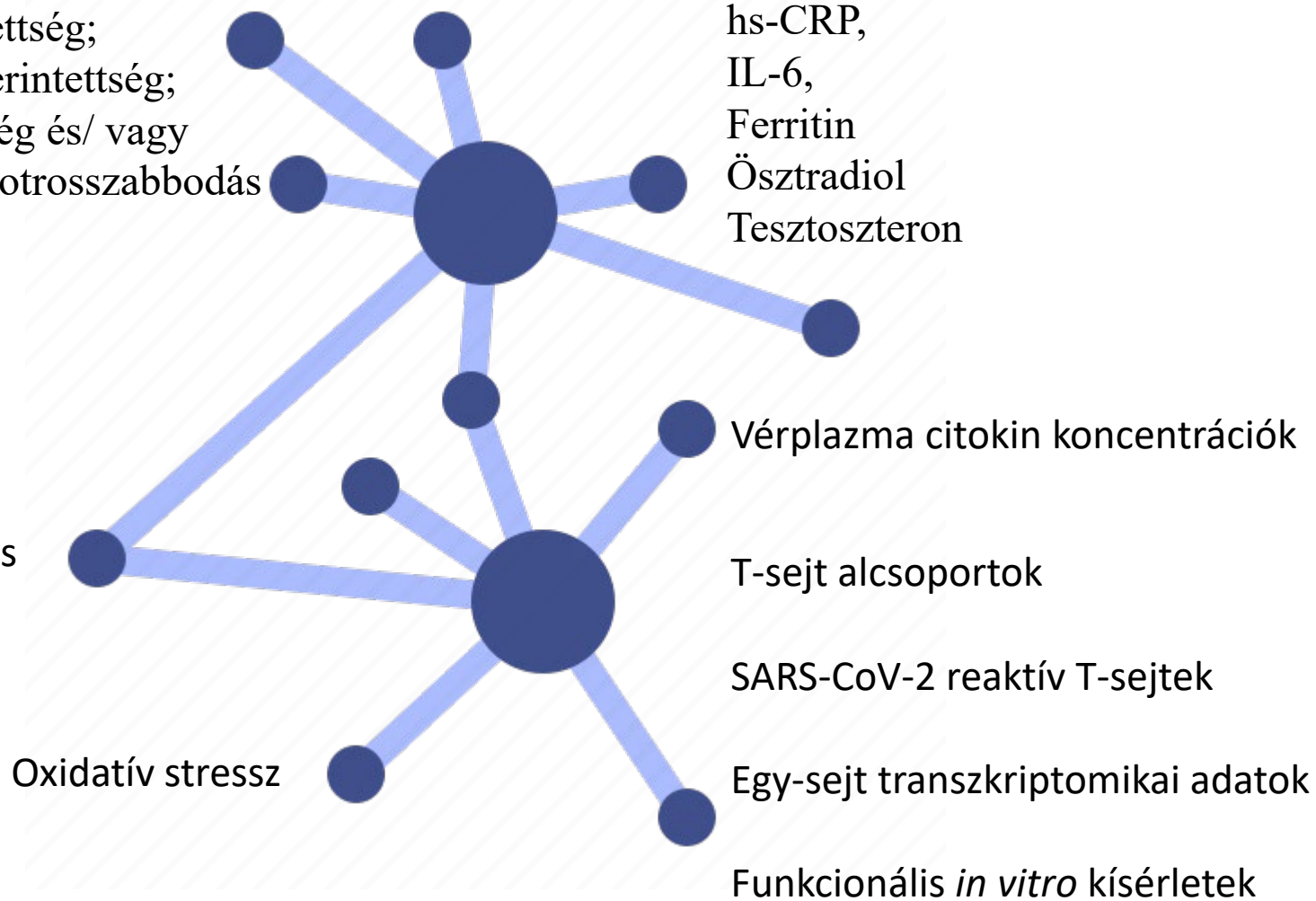
1. Fehérje szinten áramlási citométer
2. RNS szinten egy-sejt transzkriptomikával és qPCR
3. DNS szinten nanopórus-alapú szekvencia és metilációs analízissel

Multiparaméteres, korrelációsvizsgálat és biomarker mintázat azonosítása.



- (1) kardiális és tüdő érintettség;
- (2) muszkulo-szkeletális érintettség;
- (3) idegrendszeri érintettség és/ vagy
- (4) jelentős mentális állapotrosszabbodás

anti-SARS-CoV-2 Spike protein IgG
NT-Pro-BNP,
Hs Troponin
hs-CRP,
IL-6,
Ferritin
Ösztadiol
Tesztoszteron



Részletes adatbázissal összekapcsolt biobank építés, másrészt a long-COVID molekuláris hátterének T-sejt közvetített mechanizmusa, krónikus gyulladás jelenléte is górcső alá kerül.

1. Beszűkült T-sejt spektrum/ módosult T-sejt alcsoport azonosítás
2. T-sejtek funkcionális jellemzése
3. T-sejtek és krónikus gyulladásos paraméterek közötti összefüggések felfedése



Köszönöm szépen a figyelmet!