

## Горе од болести? Преглед неких могућих нежељених последица од мРНК вакцина против КОВИД-19

*Stephanie Seneff<sup>1</sup> and Greg Nigh<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Computer Science and Artificial Intelligence Laboratory, MIT, Cambridge MA, 02139, USA, E-mail: [seneff@csail.mit.edu](mailto:seneff@csail.mit.edu)

<sup>2</sup>Naturopathic Oncology, Immersion Health, Portland, OR 97214, USA

### ABSTRACT

Операција “Warp Speed” довела је на тржиште Сједињених Држава две вакцине против мРНК, које су произвеле компаније Фаизер и Модерна. Прелиминарни подаци сугеришу високу ефикасност за обе ове вакцине, што је помогло да се ФДА одобри хитно одобрење за употребу (EUA). Међутим, изузетно брзо кретање ових вакцина кроз контролисана испитивања и масовну апликацију изазива вишеструку забринутост за сигурност. У овом прегледу прво детаљно описујемо технологију која је у основи ових вакцина. Затим прегледамо две компоненте: предвиђени биолошки одговор на ове вакцине, укључујући производњу самог протеина спаик, и њихов потенцијални однос према широком спектру акутних и дугорочно изазваних патологија, као што су поремећаји крви, неуродегенеративне болести и аутоимуне болести. Међу овим потенцијално индукованим патологијама, дискутујемо о значају аминокиселинских секвенци повезаних са прион-протеинима унутар протеина спаик. Такође представљамо кратак преглед студија које подржавају потенцијал „осипања“ протеина спајк, преноса протеина са вакцинисаног на невакцинисану особу, што резултира касније индукованим симптомима. Завршавамо разматрајући заједничку тачку расправе, да ли би ове вакцине могле да модификују ДНК оних који примају вакцину. Иако не постоје студије које дефинитивно показују да се то догађа, ми пружамо веродостојан сценарио, подржан претходно утврђеним путевима за трансформацију и транспорт генетског материјала, при чему би ињектирана мРНА на крају могла да се угради у ДНК полних ћелија за трансгенерацијски пренос. Закључујемо нашим препорукама у вези са надзором који ће помоћи да се разјасне дугорочни ефекти ових експерименталних лекова и које ће омогућити да боље проценимо стварни однос ризика и користи ових нових технологија.

**Кључне речи:** појачан титар антитела, аутоимуне болести, приказ гена, липидне наночестице, м РНА, прионске болести, обрнута транскрипција, САРС-КоВ-2 вакцине

### Увод

Без преседана. Ова реч је толико дефинисала 2020. годину и пандемију повезану са САРС-КоВ-2. Поред болести без преседана и њеног глобалног одговора, КОВИД-19 је такође покренуо и невиђени процес истраживања, производње, испитивања и јавне дистрибуције вакцина (Shaw, 2021). Осећај ургентности борбе против вируса, у марту 2020. године, довео је до креирања Операције Warp Speed (OWS), у оквиру програма тадашњег председника Доналда Трампа за што бржу производњу вакцина против КОВИД-19 (Jacobs and Armstrong, 2020).

OWS је успоставио још неколико аспеката без преседана а у вези КОВИД-19. Прво, довео је америчко Министарство одбране у директну сарадњу са америчким здравственим одељењима у вези са дистрибуцијом вакцина (Bonsell, 2021). Друго, Национални институт за здравство (NIH) сарађивао је са биотехнолошком компанијом Модерна у довођењу на тржиште невиђене врсте вакцине против

заразних болести, која користи технологију засновану на месенџер РНА (мРНА) (National Institutes of Health, 2020).

Захваљујући овим догађајима без преседана јавност је брзо упозната са обећањима и потенцијалима мРНК вакцина као новог оружја против заразних болести у будућности. Истовремено, догађаји без преседана су по дефиницији без историје и контекста на основу којих би се у потпуности могли проценити ризици, очекиване користи, сигурност и дугорочна одрживост као позитиван допринос јавном здрављу.

#### Без преседана

Многи аспекти Ковид-19 и каснијег развоја вакцине су без преседана за вакцину распоређену за употребу у општој популацији. Неки од њих укључују следеће:

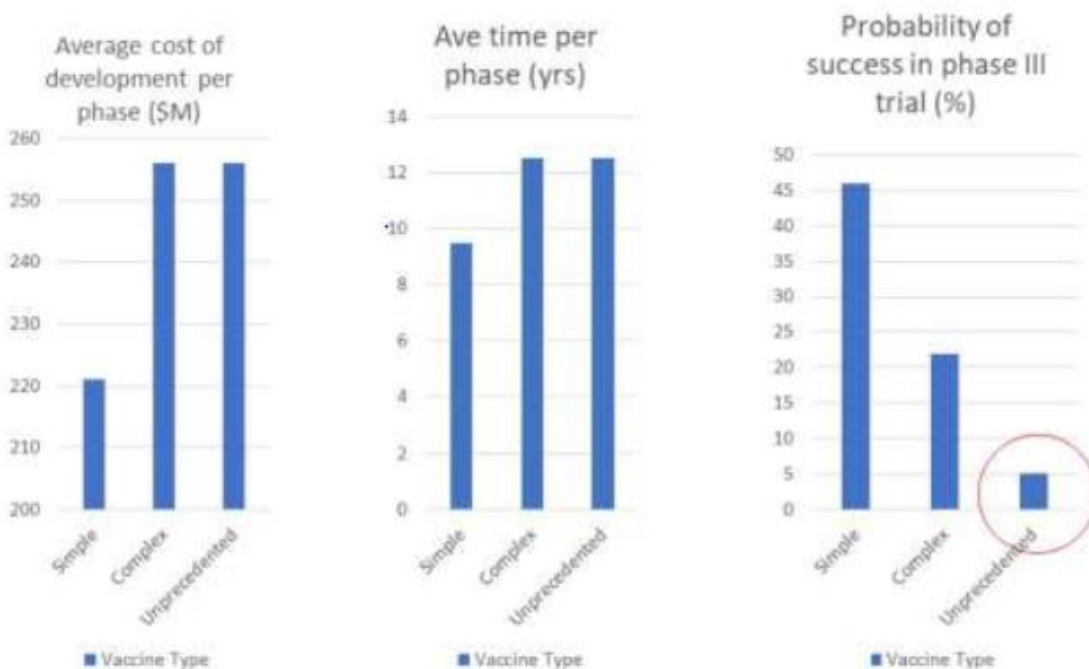
1. Прва употреба РЕГ (полиетилен гликол) у ињекцији (види текст)
2. Прво коришћење технологије мРНАвакцине против заразног агенса
3. Први пут је Модерна на тржиште избацила било који производ
4. Први пут да здравствени радници кажу онима који примају вакцине да се очекују нежељене реакције
5. Први пут се примењује у широј популацији само са прелиминарним подацима о ефикасности (види текст)
6. Прва вакцинација која није изнела јасне тврдње о смањењу инфекција, преносивости или смрти
7. Прва вакцина против коронавируса икад покушана на људима
8. Прво убризгавање генетски модификованих полинуклеотида у општу популацију

У овом раду ћемо укратко размотрити један одређени аспект ових догађаја без преседана, наиме развој и примену мРНК вакцина против циљане класе заразних болести под окриљем „САРС-КоВ-2“. Верујемо да ће се многа питања која покрећемо овде применити на било коју будућу мРНК вакцину која би се могла произвести против других заразних агенаса или у апликацијама везаним за рак и генетске болести, док се друга питања чине посебно релевантним за мРНК вакцине које се тренутно примењују против подкласе вируса короне. Иако су обећања о овој технологији широко најављивана, објективно процењеним ризицима и забринутостима у вези са сигурношћу примене ових вакцина посвећено је далеко мање пажње. Намера нам је да дамо преглед неких молекуларних аспеката технологије мРНК повезаних са заразним болестима и да их повежемо са документованим и потенцијалним патолошким ефектима.

#### Развој вакцина

Развој мРНК вакцина против заразних болести је без преседана на много начина. У публикацији из 2018. године коју спонзоришу фондација Бил анд Мелинда Гејтс, вакцине су подељене у три категорије: једноставне, сложене и без преседана (Young et al., 2018). Једноставне и сложене вакцине представљале су стандардне и модификоване примене постојећих технологија вакцина. Без преседана представља категорију вакцина против болести за коју никада пре није постојала одговарајућа вакцина. Примери су вакцине против ХИВ-а и маларије. Као што њихова анализа показује, приказано на слици 1, очекује се да ће вакцинама без преседана требати 12,5 година да се развију. Још гора предвиђања кажу да оне имају 5% процењене шансе да прођу кроз фазу II испитивања (процена ефикасности) а од тих 5%, само 40% имају шансе да прођу кроз фазу III испитивања (процена користи за становништво). Другим речима, предвиђено је да вакцина без преседана има вероватноћу успеха од 2% у фази клиничког испитивања фазе III. Као што су аутори

отворено рекли, постоји „мала вероватноћа успеха, посебно за вакцине без преседана“ (Young et al., 2018).



Слика 1. Лансирање иновативних вакцина је скупо и дуготрајно, са малом вероватноћом успеха, посебно за вакцине без преседана (adapted from Young et al, 2018).

Имајући то на уму, две године касније имамо невиђену вакцину са извештајима о ефикасности од 90-95% (Baden et al. 2020). У ствари, ови извештаји о ефикасности су примарни мотив за јавну подршку за усвајање вакцинације (америчко Министарство здравља и социјалне службе, 2020). Ово не противречи само предвиђањима, већ и очекивањима. Бритиш Медикал Журнал (BMJ) је можда једина истакнута конвенционална медицинска публикација која је дала простор гласовима који скрећу пажњу на забринутост око ефикасности КОВИД-19 вакцина. Заиста постоје разлози за веровање да процену ефикасности треба поново проценити.

Петер Доши, један од уредника BMJ, објавио је две важне анализе (Doshi 2021a, 2021b) сирових података које су објавили произвођачи вакцина (FDA), који су били основа за тврдњу о високој ефикасности. Нажалост, они су објављени на блогу BMJ -а, а не у његовом рецензираном часопису. Доши је, међутим, објавио студију која се односи на ефикасност вакцине и сумњиву корисност крајњих тачака испитивања вакцине у BMJ која је рецензирана (Досхи 2020).

Централни аспект Дошијеве критике прелиминарних података о ефикасности је изузеће преко 3400 „сумњивих случајева КОВИД-19“ који нису обухваћени привременом анализом података о вакцинама Фајзер који су достављени FDA. Даље, низак, али нетривијалан проценат појединаца и код Модерних и Фајзерових испитивања сматрана су позитивним на САРС-КоВ-1 у почетку, упркос томе што је претходна инфекција била основ за изузеће. Из ових и других разлога сумњива је привремена процена ефикасности од око 95% за обе вакцине.

Новије анализе посебно су се бавиле питањем релативног и апсолутног смањења ризика. Иако су високе процене смањења ризика засноване на релативним ризицима, апсолутно смањење ризика је

прикладнија метрика за припаднике шире јавности да утврди да ли вакцинација лично пружа значајно смањење ризика. У тој анализи, користећи податке које су произвођачи вакцина доставили FDA, вакцина Модерна у време привремене анализе показала је апсолутно смањење ризика од 1,1% ( $p = 0,004$ ), док је апсолутни ризик од вакцине Фаизер био 0,7% ( $p < 0,000$ ) (Brown 2021).

Други истраживачи су покренули важна додатна питања у вези са развојем вакцине против КОВИД-19, питања која су директно релевантна за мРНК вакцине. На пример, Haidere, et. al. (2021) идентификују четири „критична питања“ која се односе на развој ових вакцина, питања која су релевантна и за њихову безбедност и за њихову ефикасност:

- Да ли ће вакцине стимулисати имунолошки одговор?
- Да ли ће вакцине обезбедити одрживу имунолошку издржљивост?
- Како ћемо са мутацијама САРС-КоВ -2?
- Да ли смо спремни за повратне ефекте вакцине?

Недостатак стандардних и проширених претклиничких и клиничких испитивања две примењене мРНА вакцине даће временом одговоре на свако од ових питања. Сада ће та питања бити решена само посматрањем одговарајућих физиолошких и епидемиолошких података добијених широком доставом вакцина широј јавности. А ово је могуће само ако постоји слободан приступ непристрасном извештавању о резултатима - нешто што се чини мало вероватним с обзиром на широко распрострањену цензуру информација у вези са вакцином због уочене потребе да се по сваку цену вакцинација прогласи успехом.

Две мРНК вакцине које су прошле кроз фазу 3 испитивања и које се сада испоручују општој популацији су Модерна вакцина и Фаизер-БиоНТек вакцина. Ове вакцине имају много заједничког. Обе се заснивају на мРНК која кодира протеин спаик вируса САРС-КоВ-2. Обе су показале релативну ефикасност од 94-95%. Прелиминарне индикације су да су антитела и даље присутна након три месеца. Код обе вакцине се препоручују две дозе у размаку од три или четири недеље, а недавно постоје извештаји о неопходним годишњим додатним ињекцијама (Mahose, 2021). Обе вакцине се аплицирају убризгавањем у мишић руке, а потребно им је дубоко замрзавање како би се спречио распад РНК. То је зато што, за разлику од дволанчане ДНК која је врло стабилна, једноструки производи РНК могу да се оштете или постану немоћни на топлоти и морају бити на ниским температурама да би задржали потенцијалну ефикасност (Pushparajah et al., 2021). Произвођачи тврде да вакцина Фаизер захтева складиштење на -94 степени Фаренхаита (-70 степени Целзијуса), што представља велики изазов за њен транспорт и хлађење током привременог периода пре него што се коначно примени. Вакцина Модерна може се чувати 6 месеци на -4 степени Фаренхаита (-20 степени Целзијуса), а може се сигурно чувати у фрижидеру 30 дана након отапања (Zimmer et al., 2021).

Две друге вакцине које се сада примењују у ванредним ситуацијама су вакцина Џонсон & Џонсон и вакцина АстраЗенека. Обе су засноване на векторској ДНК технологији која се веома разликује од технологије која се користи у мРНК вакцинама. Иако су ове вакцине такође на тржиште изашле са недовољном проценом, оне нису предмет овог рада, па ћемо само укратко описати како су развијене. Ове вакцине су засноване на неисправној верзији аденовируса, дволанчаног ДНК вируса који узрокује прехладу. Аденовирус је генетски модификован на два начина, тако да се не може реплицирати због критичних гена који недостају, а његов геном је обогаћен ДНК кодом за протеин спаик САРС-КоВ-2. Производња АстраЗенеке укључује бесмртну људску ћелијску линију названу Human Embryonic Kidney (НЕК) 293, која се узгаја у култури заједно са неисправним вирусима (Dicks et al., 2012). НЕК ћелијска линија је генетски модификована још 1970-их, повећавајући своју ДНК

сегментима аденовируса који снабдевају недостајуће гене потребне за репликацију оштећеног вируса (Louis et al., 1997). Џонсон & Џонсон користи сличну технику засновану на феталној ћелијској линији мрежњаче. Будући да производња ових вакцина захтева генетски модификоване ћелијске линије хуманог тумора, постоји потенцијал за загађивање људске ДНК, као и многих других потенцијалних загађивача.

Медији су изазвали велико узбуђење због ове револуционарне технологије, али такође постоји забринутост да можда не схватамо сложеност телесног потенцијала за реакције на страну мРНК и друге састојке у овим вакцинама који превазилазе једноставни циљ варајући тело да производи антитела на спаик протеин.

У наставку овог рада прво ћемо детаљније описати технологију која стоји иза мРНА вакцина. Посветили смо неколико одељака специфичним аспектима мРНК вакцина који нас се тичу с обзиром на потенцијалне и предвидљиве и непредвидиве негативне последице. Закључујемо молбом владама и фармацеутској индустрији да размотре већу опрезност у тренутном подухвату да вакцинишу што више људи против САРС-КоВ-2.

### **Технологија мРНК вакцина**

У раној фази развоја генске терапије засноване на нуклеотидима, уложено је знатно више напора у испоруку гена кроз ДНК плазмиде, него кроз мРНА технологију. Две главне препреке за мРНК су пролазна природа због подложности разградње РНК-а, као и позната моћ покретања јаког имунолошког одговора који омета његову транскрипцију у протеин. Доказано је да плазмидна ДНК остаје у мишићима и до шест месеци, док мРНК готово сигурно нестаје много пре. За примену вакцине, првобитно се сматрало да имуногена природа РНК може имати предност, јер се мРНА може удвостручити као помоћно средство за вакцину, елиминишући аргументе у корист токсичног адитива попут алуминијума. Међутим, имуни одговор резултира не само инфламаторним одговором већ и брзим уклањањем РНК и сузбијањем транскрипције. Тако се испоставило да ова идеја није практична.

Постојао је дуг временски период током ког су истраживане разне идеје како би се покушало спречити да се мРНК распадне пре него што је могла да произведе протеине. Велики напредак било је схватање да ће замена метил-псеудоуридина за све нуклеотиде уридина стабилизovati РНК против разградње, омогућавајући јој да преживи довољно дуго да произведе одговарајуће количине протеинског антигена потребног за имуногенезу (Liu, 2019).. Овај облик мРНК који се испоручује у вакцини никада није виђен у природи, па стога има потенцијал за изазивање непознатих последица.

Вакцине Фаизер-БиоНТек и Модерна мРНА заснивају се на веома сличним технологијама, где липидна наночестица обухвата РНК секвенцу која кодира спаик протеин САРС-КоВ-2 пуне дужине. У процесу производње, први корак је састављање молекула ДНК који кодира спаик протеин. Овај процес је сада усавршен, па је релативно једноставно добити молекул ДНК из спецификације секвенце нуклеотида (Corbett et al., 2020). Након ин витро транскрипције из ДНК без ћелије, користећи ензимску реакцију катализовану РНК полимеразом, једноланчана РНК је стабилизована кроз одређене нуклеозидне модификације и високо пречишћена.

Компанија Модерна из Кембриџа, МА, један је од произвођача примењених мРНА вакцина за САРС-КоВ-2. Руководиоци Модерне имају велику визију проширења технологије за многе примене, где тело може бити усмерено на производњу терапијских протеина, не само за производњу

антитела, већ и за лечење генетских болести и рака, између осталог. Они развијају генеричку платформу где је ДНК елемент за складиштење, месинџер РНА је „софтвер“ и протеини које РНА кодира представљају различите домене примене. Визија је грандиозна, а теоријске потенцијалне примене су огромне (Moderna, 2020). Технологија је импресивна, али манипулација животним кодом може довести до потпуно неочекиваних негативних ефеката, потенцијално дугорочних или чак трајних.

САРС-КоВ-2 је члан класе РНА вируса позитивних ланаца, што значи да они директно кодирају протеине које РНК кодира, уместо да захтевају копију у антисенсе ланац пре превођења у протеин. Вирус се састоји пре свега од једноланчаног молекула РНК упакованог у протеински омотач, који се састоји од структурних протеина вируса, нарочито спаик протеина, који олакшава и вирусно везивање за рецептор (у случају САРС-КоВ-2 ово је АЦЕ2 рецептор) и фузија вируса са мембраном ћелије домаћина. САРС-КоВ-2 спаик протеин је примарни циљ за неутрализацију антитела. То је фузијски гликопротеин класе II и аналоган је хемаглутинаину који производе вируси грипа и фузионом гликопротеину који производе синцицијски вируси, као и gp160 који производи вирус хумане имунодефицијенције (ХИВ) (Corbett et al., 2020).

мРНК Вакцине су врхунац дугогодишњих истраживања у могућности употребе РНК инкапсулиране у липидним честицама као преносницима. Постојећи биолошки механизам ћелије домаћина је кооптиран да олакша природну производњу протеина из мРНК. Производња вакцина је интензивирана због лакоће којом се одређене секвенце олигонуклеотидне ДНК могу синтетизовати у лабораторији без директног учешћа живих организама. Ова технологија је постала комерцијализована и може се радити у великим размерама, уз релативно ниске трошкове. Ензимска конверзија ДНК у РНК је такође директна и могуће је изоловати суштински чисту једноланчану РНК из реакционог раствора (Kosuri and Church, 2014).

### **1. Разматрања у одабиру и модификацији мРНК**

Иако је поступак у принципу једноставан, произвођачи мРНК вакцина се суочавају са значајним техничким изазовима. Прва, као што смо напоменули, је да сама изванстанична мРНК може да индукује имуни одговор што би резултирало њеним брзим клиренсом пре него што је ћелије и преузму. Дакле, мРНА треба да буде затворена у наночестицу која ће је држати скривеном од имунолошког система. Друго питање је подстицање ћелија да наносе наночестице. Ово се може делимично решити уградњом фосфолипида у наночестицу како би се искористили природни путеви ендоцитозе липидних честица. Трећи проблем је активирање механизма који су укључени у превођење РНК у протеин. У случају САРС-КоВ-2, протеин који се производи је спаик протеин. Након синтезе спаик протеина, ћелије које презентују антиген треба да представе спаик протеин Т ћелијама, што ће на крају произвести антитела и меморијске ћелије (Moderna, 2020). Овај корак није нарочито једноставан, јер наночестице углавном заузимају мишићне ћелије, које, будући да су непокретне, нису нужно опремљене за покретање имунолошког одговора. Као што ћемо видети, вероватни сценарио је да спаик протеин синтетишу мишићне ћелије и затим га предају макрофагима који делују као ћелије које презентују антиген, а које затим покрећу стандардни каскадни одговор на основу антитела које генерише Б ћелије.

мРНА која је затворена у вакцинама пролази неколико корака модификације након своје синтезе из ДНК шаблона. Неки од ових корака укључују припрему да изгледа тачно као секвенца мРНК човека која је на одговарајући начин модификована да подржи транслацију рибозома у протеин. Друге модификације имају за циљ да га заштите од распадања, тако да се може произвести довољно протеина да изазове одговор антитела. Немодификована мРНК индукује имуни одговор који

доводи до високих нивоа серума интерферона- $\alpha$  (ИФ-  $\alpha$ ), што се сматра нежељеним одговором. Међутим, истраживачи су открили да замена свих уридина у мРНК са Н-метил-псеудоуридином побољшава стабилност молекула, истовремено смањујући његову имуногеност (Karikó et al. 2008; Corbett et al., 2020). Овај његов корак је део припреме мРНК у вакцинама, али, поред тога, на 5' крај молекула додаје се и „капа“ од 7-метилгуанозина и реп поли-аденин (поли-А), који се састоји од 100 или више нуклеотида аденина, додаје се на крај 3'. Поклопац и реп су од суштинског значаја за одржавање стабилности мРНК унутар цитосола и промоцију транслације у протеин (Schlake et al., 2012; Gallie, 1991).

Обично се спаик протеин врло лако пребацује из конфигурације пре фузије у конфигурацију после фузије. Спаик протеин који се налази у овим вакцинама подешен је да подстакне и фаворизује стабилну конфигурацију у свом префузионом стању, јер ово стање изазива јачи имунолошки одговор (Jackson et al., 2020). То је учињено путем „генетске мутације“, заменом критичног сегмента од два остатка са два остатка пролина на положајима 986 и 987, на врху централне завојнице подјединице С2 (Wrapp et al., 2020). Пролин је високо нефлексибилна аминокиселина, тако да омета прелазак у стање фузије. Ова модификација пружа антителима много бољи приступ критичном месту које подржава фузију и накнадно уношење у хелију. Али да ли ово такође може значити да се генетски модификована верзија спаик протеина произведена од хелије домаћина човека, следећи упутства из мРНК вакцине, задржава у плазминој мембрани везаној за АЦЕ2 рецепторе због оштећених способности фузије? Шта би могло бити последица овога? Не знамо.

Истраживачи из Кине објавили су извештај у часопису *Nature* у августу 2020. године у којем су представили податке о неколико експерименталних мРНК вакцина где је мРНА кодирала различите фрагменте и протеине у вирусу SARS-CoV-2. Тестирали су три различите формулације вакцина за њихову способност да индукују одговарајући имунолошки одговор мишева. Три структурна протеина, С (спаик), М и Е минимални су захтеви за састављање „честица сличних вирусу“ (ВЛП). Њихова хипотеза је била да би уношење М и Е, као и спаик протеина С у мРНА код, омогућило скуп ВЛП-а који би могли изазвати побољшани имуни одговор, јер више личе на природни вирус него на протеин С изложен на површини хелија који су узели само мРНК протеина С из наночестица вакцине. Такође су се надали да ће критични фрагменти спаик протеина бити довољни да изазову имуни одговор, уместо целог спаик протеина (Lu et al., 2020).

Експериментално су потврдили да је вакцина која садржи комплетне гене за сва три протеина изазвала снажан имунолошки одговор који је трајао најмање осам недеља након друге дозе вакцине. Његове перформансе биле су далеко супериорније од вакцине која је садржавала само спаик протеин. Разочаравајуће, вакцина која је садржала само критичне компоненте спаик протеина, увећана са преостала два протеина у овојници, практично није изазвала одговор.

Истраживачи Модерне спровели су сличне студије са сличним резултатима. Закључили су да је сам спаик протеин очигледно инфериоран у односу на формулацију која садржи РНК која кодира сва три протеинска омотача, и претпоставили су да је то због чињенице да су сва три протеина потребна да би хелија могла да ослободи нетакнуте честице сличне вирусу, радије него само постављање спаик протеина у плазмину мембрану. Само спаик протеин није успео да покрене одговор Т хелија у испитивањима на животињама, док је формулација са сва три протеина то учинила (Corbett et al., 2020).

Две вакцине одобрене за хитне случајеве садрже само мРНК за спаик протеине (без Е или М), и за ову одлуку је морао постојати добар разлог, упркос примећеним лошим перформансама. Могуће је

да је софистициранији дизајн наночестица липида (видети доле) резултирао способношћу да липиди служе као помоћно средство (слично алуминијуму који се обично додаје традиционалним вакцинама), а да истовремено штите РНК од разградње.

Још једна необична модификација РНА кода је да су произвођачи обогатили секвенцу цитозинима и гванинима (Цс и Гс) на штету аденина и урацила (Ас и Ус). Пазили су да на овај начин замене само трећу позицију у коду, и то само када то не мења мапу аминокиселина (Hubert, 2020). Експериментално је показано да се ГЦ богате мРНА секвенце експресују (преводе у протеин) до 100 пута ефикасније од ГЦ сиромашних секвенци (Kudla et al., 2006). Дакле, чини се да је ово још једна модификација која даље обезбеђује синтезу обилних копија спаик протеина. Не знамо нежељене последице ове интервенције. Унутарћелијски патогени, укључујући вирусе, имају тенденцију да имају низак садржај ГЦ у поређењу са геномом ћелије домаћина (Rocha and Danchin, 2020). Дакле, ова модификација је можда делимично мотивисана жељом да се повећа ефикасност обмане да је протеин људски протеин.

Све ове различите модификације РНК осмишљене су тако да се одупру распадању, изгледају више као секвенца кодирања протеина РНК човека и ефикасно се преводе у антигенски протеин.

## 2. Липидна конструкција наночестица

Наночестице липида (ЛНП), познате и као липосоми, могу да инкапсулирају молекуле РНК, штитећи их од ензимске разградње рибонуклеазама, и тако чине важан састојак успешног начина испоруке (Wadhwa et al., 2020; Xu et al., 2020). Ове вештачке конструкције веома подсећају на егзозоме. Егзозоми су ванћелијске везикуле које луче ћелије и узимају их њихови суседи, а такође често уграђују ДНК или РНК. Дакле, ове наночестице могу искористити природне процесе ендцитозе који обично интернализују изванстаничне егзозоме у ендосоме. Како се ендосом закисељава да би постао лизозом, мРНА се ослобађа у цитоплазму и ту се одвија транслација у протеин. Утврђено је да су липосоми успешнији у побољшању презентације антигена и сазревању дендритичних ћелија у поређењу са фузионим протеинима који инкапсулирају вакцине засноване на вирусима (Norling et al., 2019).

Наночестице липида (ЛНП) у овим вакцинама састоје се од јонизујућих катионских липида, фосфолипида, холестерола и полиетилен гликола (ПЕГ). Заједно се ова смеша окупља у стабилни липидни двослој око молекула мРНК. Фосфолипиди у овим експерименталним вакцинама састоје се од фосфатидилхолин главе која је повезана са два засићена алкилна репа кроз глицеролни линкер. Липид који се користи у овим вакцинама, назван 1,2-дистеароил-сн-глицеро-3-фосфохолин (ДСПЦ), има 18 понављајућих јединица угљеника. Релативно дугачак ланац тежи формирању гел фазе, а не течне фазе. Молекули са краћим ланцима (као што је ланац од 12 угљеника) уместо тога остају у флуидној фази. Утврђено је да липосоми гелне фазе који користе ДСПЦ имају супериорне перформансе у заштити РНК од разградње, јер су дужи алкилни ланци много ограниченији у свом кретању унутар липидног домена. Такође се чине ефикаснијим као помоћно средство, повећавајући ослобађање фактора некрозе тумора цитокина- $\alpha$  (ТНФ- $\alpha$ ), интерлеукина (ИЛ) -6 и ИЛ-1 $\beta$  из изложених ћелија (Norling et al., 2019). Међутим, њихова способност да изазову инфламаторни одговор може бити узрок многих симптома које људи доживљавају, као што су бол, оток, грозница и поспаност. Студија објављена у биоРхив експериментално је потврдила да ови јонизујући катионски липиди у липидним наночестицама индукују снажан инфламаторни одговор код мишева (Ndeupen et al., 2021).



Тренутне мРНК вакцине се аплицирају интрамускуларном ињекцијом. Мишићи садрже велику мрежу крвних судова где се имуне ћелије могу регрутовати на место ињекције (Zeng et al., 2020). Мишићне ћелије обично могу појачати имунолошку реакцију након што се имуне ћелије инфилтрирају, као одговор на помоћно средство (Марино и сар., 2011). Пажљива анализа одговора на мРНК вакцину, примењену на мишевима, открила је да се антиген иницијално експресује у мишићним ћелијама, а затим преноси у ћелије које презентују антиген, што сугерише „унакрсну примену“ као примарни пут за покретање ЦД8 Т ћелијског одговора (Lazzaro et al., 2015). Може се претпоставити да мишићне ћелије користе имунолошки одговор који се обично користи за бављење погрешно склопљеним људским протеинима. Такви протеини индукују регулацију главних протеина класе хистокompatibilности (МХЦ) класе II, који се затим везују за погрешно склопљене протеине и транспортују их нетакнуте у плазмину мембрану (Jiang et al., 2013).

Површински протеин везан за МХЦ индукује инфламаторни одговор и накнадну инфилтрацију ћелија које представљају антиген (нпр. Дендритичне ћелије и макрофаги) у мишићно ткиво, које затим узимају приказане протеине и преносе их у лимфни систем да би их презентовали Т ћелијама. Ове ћелије тада коначно могу да покрену каскаду која на крају производи меморијска антитета специфична за протеин. Мишићне ћелије заиста експримирају протеине класе МХЦ II (Cifuentes-Diaz et al., 1992). За разлику од класе I, МХЦ протеини класе II специјализовани су за транспорт нетакнутих протеина на површину за разлику од малих пептидних секвенци изведених из делимичног распадања протеина (Jiang et al., 2013).

Студија ин витро на приматима који нису људи показала је да се радиоактивно обележена мРНК преселила са места ињекције у дренажни лимфни чвор и тамо остала најмање 28 сати. Показано је да ћелије које представљају антиген (АПЦ) и у мишићном ткиву, као и у одводним лимфним чворовима, садрже радиоактивно обележену мРНК (Lindsay et al., 2019). Класични АПЦ укључују дендритичне ћелије, макрофаге, Лангерхансове ћелије (у кожи) и Б ћелије. Многи нежељени ефекти повезани са овим вакцинама укључују бол и упале на месту убризгавања, што би се и очекивало с обзиром на брзу инфилтрацију имуних ћелија.

Лимфаденопатија је запаљенско стање лимфног система повезано са отеченим лимфним чворовима. Отечени лимфни чворови у јами на пазуху (аксиларна лимфаденопатија) одлика су метастатског карцинома дојке. У раду објављеном 2021. године описана су четири случаја жена које су развиле аксиларну лимфаденопатију након вакцине против САРС-КоВ-2 (Mehta et al., 2021). Аутори су позвали на опрез при погрешном тумачењу овог стања као показатеља који захтева праћење биопсије за могући рак дојке. Овај симптом поткрепљује студије праћења које показују да мРНК вакцину претежно преузимају APCs, који затим синтетишу антиген (спаик протеин) из мРНА и мигрирају у лимфни систем, приказујући спаик протеин на њиховим мембранама.

Списак најчешћих нежељених ефеката које је пријавила FDA и који су се појавили током Клиничка испитивања Пфизер-БиоНТек укључују „бол на месту убода ињекције, умор, главобољу, болове у мишићима, језу, болови у зглобовима, грозница, оток на месту убода, црвенило на месту убода, мучнина, малаксалост и лимфаденопатија “ (US Food and Drug Administration, 2021).

Сада се окрећемо појединачним проблемима код молекуларног и органског система који се јављају при примени ових мРНК вакцина.

## Додаци, полиетилен гликол и анафилактика

Адитиви или додаци вакцинама намењени су „постизању препознатљивих имунолошких профила с обзиром на правац, трајање и јачину имунолошких одговора“ од вакцина које су дате (Liang et al., 2020). Стипса или друга једињења алуминијума најчешће се користе и додају традиционалним вакцинама и изазивају широк спектар системских путева имунолошке активације као што је активација стромалних ћелија на месту ињектовања вакцине (Lambrecht et al., 2009; Danielsson & Eriksson, 2021).

Утврђено је да помоћно средство на бази алуминијума није оптимално за вакцину против коронавируса, па су тражена друга решења (Liang et al., 2020). Решење се представило у облику широко коришћеног фармацеутског састојка полиетилен гликола или ПЕГ. Ограничавајући фактор у употреби додатака на бази нуклеинских киселина је тенденција да се нуклеинске киселине брзо разграде нуклеинским ензимима (Ho et al., 2021). Што се тиче ензима РНАзе који циљају ињектирану мРНК, ови ензими су широко распрострањени и распоређених унутарћелијски (пре свега унутар лизозома) (Fujiwara et al., 2017) и ванћелијски (Lu et al., 2018). Да би се превазишло ово ограничење, тренутно се у обе мРНК вакцине против КОВИД-19 користе наночестице на бази липида које штите од разлагања. Садржај мРНК је смештен унутар омотача састављеног од синтетичких липида и холестерола и заједно са ПЕГ-ом за стабилизују молекула мРНК од разградње.

Вакцина коју производи Фаизер / БиоНТек ствара наночестице од 2 - [(полиетилен гликол) - 2000] - Н, Н-дитетрадецилацетамид или АЛЦ-0159, обично скраћено као ПЕГ (World Health Organization, 2021, January 14). Вакцина Модерна садржи још једну ПЕГ варијанту, СМ-102, 1,2-димиристоил-рац-глицеро-3-метхокиполиетхилене гликол2000 (World Health Organization, 2021, January 19). Ради погодности, оба ПЕГ-модификована липида ћемо скраћено назвати ПЕГ, а вакцине као ПЕГилиране према стандардној номенклатури.

Липидни омотач игра троструку улогу. Прво, штити генетски материјал од деградације пре ћелијског пријема. Друго, липидни омотач, који такође садржи холестерол, олакшава унос у ћелије фузијом са липидном мембраном ћелије и накнадном ендоцитозом липидних честица, позивајући се на природно постојеће процесе. И на крају, делује као помоћно средство (Ho et al., 2021). У овоме се огледа улога имуностимулатора због које је највише забринутости у вези са ширококом употребом ПЕГ у ињекционој терапији.

У чланку објављеном у мају 2019. године, пре великих клиничких испитивања која укључују ове ПЕГилиране вакцине, Mohamed et. al. (2019) описао је низ забрињавајућих налаза у вези са ПЕГ и имунолошком активацијом коју производи, што укључује хуморални, ћелијски посредовани одговор и активацију засновану на комплементу. Они примећују да, парадоксално, велике дозе ињекција ПЕГ-а узрокују не толико очигледну алергијску реакцију. Мале дозе, међутим, могу довести до драматичне патолошке имунолошке активације. Вакцине које користе ПЕГ користе микромоларне количине ових липида, што их чини потенцијално опасним кад се дају у малим дозама.

У студијама на животињама је показано да је активација комплемента одговорна и за анафилактички и кардиоваскуларни колапс, а ињектирани ПЕГ активира вишеструке путеве комплемента код људи такође. Аутори једне студије закључују напомињући да „Ова каскада секундарних медијатора значајно појачава ефекторски имуни одговор и може изазвати анафилактику код осетљивих физичка лица. Заиста, недавна испитивања на свињама показала су да

системско активирање комплемента (на пример, индуковано након интравенског убризгавања ПЕГилираних липосома) може бити основа за анафилактику срца где је Ц5а играо узрочну улогу “. (Hamad et al., 2008). Такође је важно напоменути да се анафилактички шок код свиња догодио не са првом ињекцијом, већ након друге ињекције (Kozma et al., 2019).

Присуство антитела на ПЕГ је широко распрострањено у популацији (Zhou et al., 2020). Yang and Lai (2015) открили су да око 42% испитаних узорака крви садржи анти-ПЕГ антитела, и упозоравају да би то могло имати важне последице за било коју терапију засновану на ПЕГ-у. Hong et al. (2020) пронашли су антитела на ПЕГ са преваленцијом до 72% у популације без претходног излагања медицинској терапији заснованој на ПЕГ-у. Lila et al. (2018) напомињу да је „Постојање таквих антитела на ПЕГ у корелацији са оштећењем терапијске ефикасности заједно са развојем озбиљних нежељених ефеката у неколико клиничких испитивања која користе терапију засновану на ПЕГилату.“

Раније се претпостављало да је анафилактички шок због вакцина редак на основу учесталости таквих догађаја пријављених ВАЕРС-у, бази података коју су успоставили Центри за контролу болести и Превенција 1990. године за пријављивање нежељених догађаја повезаних са вакцинама (Centers for Disease Control and Prevention, 1990; Su et al., 2019). Иако је ретка, анафилактика може бити опасна по живот, па је тако важно надгледати ту могућност у кратком периоду након вакцинације (McNeil et al., 2016).

Sellaturay et al., након увида у 5 случајева анафилактике који се повезују са излагањем ПЕГ-у, један готово фаталан који укључује срчани застој, су написали „ПЕГ је високо ризични, скривени алерген, обично несумњив и може изазивају честе алергијске реакције услед нехотичног поновног излагања. Истрага о алергијама носи ризик од анафилактике и треба је предузети само у специјалним центрима за алергије на лекове.“ (Sellaturay et al., 2020). У ствари, већ је показано да су теже реакције на ПЕГ повезане чешће при поновном излагању (Гансон и сар., 2016).

Да ли се анафилакса након излагања ПЕГ-у дешава са учесталошћу релевантном за јавно здравље? Бројне студије су сада документовале тај феномен (Lee et al., 2015; Povsic et al., 2016; Wylon et al., 2016). Анафилактичке реакције на мРНК вакцине су широко забележене у медијима (Kelso, 2021) и, као што је горе напоменуто, често су пријављивани у бази података VAERS (690 извештаја о анафилактици након вакцина против САРС-КоВ-2 до 29. јануара 2021). Такође их има у почетним студијама објављених у рецензираној литератури (Garvey & Nasser, 2020; CDC COVID-19 Response Team, 2021, January 15). Реакције анафилактике на вакцине пре ових КОВИД-19 вакцина су обично пријављене са учестаношћу мањом од 2 случаја на милион вакцинација (McNeil et al., 2016), док је CDC известио да при тренутној стопи вакцинација против КОВИД-19 учестаност већа од 11 случајева на милион вакцинација (CDC COVID-19 Response Team, 2021, January 29). Међутим, у једној објављеној студији која је обухватила 64.900 запослених у здравству праћене су њихове реакције на прву мРНК вакцинацију. Утврђено је да је 2,1% испитаника пријавило акутну алергијску реакцију. Екстремнија реакција која укључује анафилаксију догодила се код 247 вакцинисаних на милион датих вакцина (Blumenthal et al., 2021). То је 21 пута више него што је у почетку пријављено CDC. Друга изложеност вакцини ће вероватно изазвати још већи број анафилактичких реакција.

### **мРНК вакцине, спаик протеини и побољшања зависна од антитела (ADE)**

ADE је имунолошки феномен који је први пут описан 1964. године (Hawkes et al., 1964). У тој публикацији Хавкес је описао низ експеримената у којима су инкубирани културе флавируса са

птичјим серумима који садрже високе титре антитела против тих вируса. Неочекивани налаз је да је, са све већим разблажењима серума који садрже антитела, повећана инфективност ћелија. Недостатак објашњења како се то могло догодити вероватно је одговорно за то што се у великој мери ова чињеница игнорише током скоро 20 година (Morens et al., 1994).

Предложено је више путева путем којих антитела и директно и индиректно учествују у неутрализацији инфекција (Lu et al., 2018b). ADE је посебан случај онога што се дешава када су ниски, неутрализујући нивои специфичних или унакрсних реактивних антитела, а вирус је присутан у тренутку заразе. Ова антитела могу бити присутна због претходне изложености вирусу, изложености сродном вирусу или због претходне вакцинације против вируса. Након поновне инфекције, антитела у недовољном броју за неутрализацију вируса ипак се везују за вирус. Ова антитела затим долазе на Fc рецептор на ћелијским површинама, олакшавајући улазак вируса у ћелију и накнадно повећавајући инфективност вируса (Wan et al., 2020).

Верује се да ADE лежи у основи озбиљније денга грознице која се често примећује код особа са претходном изложеношћу (Beltramello et al., 2010), а такође може играти улогу у тежим болестима где су болесници били претходно вакцинисани против болести (Shukla et al., 2020). Такође се верује да ADE игра улогу код Еболе (Takada et al., 2003), инфекције вирусом зика (Бардина и сар., 2017) и код других инфекција флавирусом (Campos et al., 2020).

У проширеној преписци објављеној у Nature Biotechnology, Eroshenko et al. нуде свеобухватан преглед доказа који сугеришу да би ADE могао постати очигледан са било којом вакцинацијом против САРС-КоВ-2. Важно је напоменути да је примећен ADE припримени вакцина против коронавируса тестираним и на ин витро и ин vivo моделима (Eroshenko et al., 2020). И други су упозорили на исту могућност са вакцинама против САРС-КоВ-2. Теорија о томе како ADE може да се јави у случају вакцине против САРС-КоВ-2 сугерише да неутрализујућа антитела формирају имуне комплексе са вирусним антигенима који изазивају прекомерно лучење про-инфламаторних цитокина и у екстремним случајевима, цитокинску олују која узрокује широко распрострањено локално оштећење ткива (Lee et al., 2020). Један опсежни преглед ADE који је потенцијално повезан са вакцинама против САРС-КоВ-2 истиче: „Тренутно нису познати клинички налази, имунолошки тестови или биомаркери који могу разликовати било који тежи облик вирусна инфекција од имунолошких болести, било мерењем антитела, Т ћелија или суштинског одговора домаћина“ (Arvin et al. 2020; Liu et al., 2019). Вратићемо се на ово поново.

Постојећа антитела имуноглобулин Г (ИгГ), индукована претходном вакцинацијом, доприносе озбиљности плућних оштећења од САРС-КоВ код једне врсте мајмуна (макака) (Liu et al., 2019). Peron and Nakaya (2020) пружају доказе који сугеришу да је много разноврснији опсег претходних излагања коронавирусима које имају старије особе, заслужно за њихову предиспонираност за ADE након излагања САРС-КоВ-2. У једном још необјављеном раду је изнето је да је плазма од 76% пацијената који су се опоравили после тешког облика КОВИД-19, када је додата у културу САРС-КоВ-2 и осетљиве ћелије, изложена појачаној способности вирусне инфекције САРС-КоВ-2 од Раји ћелија (Wu et al., 2020). Аутори примећују „Титри антитела [против спике протеина] били су већи код старијих пацијената са КОВИД-19 и јачи одговор на антитела био је повезан са одложеним вирусним клиренсом и повећаном тежином болести код пацијената. Стога је логично предпоставити да антитела специфична за С протеин могу да допринесу тежина болести током инфекције САРС-КоВ-2“ (Wu et al., 2020).

Саопштено је да сва три америчка произвођача вакцина - Модерна, Фаизер и Џонсон & Џонсон - раде на развијању додатних проба (Zaman 2021). Са десетинама милиона младих одраслих, па чак и деце, који примају вакцину изазвана антитела на спирални протеин против коронавируса, могу да покрену ADE у вези са будућом инфекцијом САРС-ЦоВ-2 или додатном вакцинацијом међу овом млађом популацијом. Време ће то показати.

мРНА вакцине испоручују високо антигени протеин спике у ћелије које представљају антиген. Као таква, моноклонска антитела против спике протеина су очекивани исход тренутно примењене мРНК вакцине. Утврђено је да моноклонска антитела на спаик протеине производе високо нивои унакрсних реактивних антитела на ендogene хумане протеине (Vojdani et. al., 2021; reviewed in more detail below). Дати докази, који су овде само делимично прегледани, су довољно разлог за сумњу да ће антитела на спаик протеин допринети ADE изазваном претходном САРС-КоВ-2 инфекцијом или вакцинацијом, која се може манифестовати кроз акутна или хронична аутоимуна и упална стања. Горе смо приметили да ADE није могуће разликовати при манифестацијама болести од истинске вирусне инфекције која није ADE. У овом светлу је важно да се напомене да када се болести и смртни случајеви десе убрзо након вакцинације мРНК вакцином, не може се са сигурношћу рећи да реакција вакцине није била непосредни узрок.

### **Патогено прајмирање, мултисистемска инфламаторна болест и аутоимунитет**

Патогено прајмирање је концепт који је сличан у исходу као ADE, али у основи механизам је различит. Овде га посматрамо као јединствени механизам који могу изазвати мРНК вакцине као придружену патологију.

У априлу 2020. објављен је важан рад у вези са потенцијалом за самореактивна антитела која ће настати након излагања спаик протеину и другим антигеним местима раширеним по дужини САРС-КоВ-2. Lyons-Weiler (2020) је сковао фразу „патогено прајмирање“ јер је он веровао да чешће коришћено „побољшање имунитета“ не успева да захвати тежину стања и његове последице. У својој *in silico* анализи, Lyons-Weiler је упоредио све антигенске протеинске епитопе САРСКоВ-2 обележене у SVMTriP бази података (<http://sysbio.unl.edu/SVMTriP/>) и претраживао базу података p-BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) ради хомологије између тих епитопа и ендогених људских протеина. Од 37 анализираних протеина САРС-КоВ-2, 29 их је имало антигенске регије. Сви осим једног од ових 29 имали су хомологију са људским протеинима (наводни самоантигени) и предвиђало се да су аутореактогени. Највећи број хомологија био је повезани са спаик (С) протеином и НС3 протеином, при чему оба имају 6 хомолога међу људским протеинима.

Функционална анализа ендогених хуманих протеина хомологих са вирусним протеинима открила је да је преко 1/3 њих повезано са адаптивним имунолошким системом. Аутор претпоставља да је претходна изложеност вирусу или претходна вакцинација, а било која од њих може покренути производњу антитела која циљају ови ендогени протеини, могу играти улогу у развоју тежих болести, посебно код старијих особа. У овом случају већ постојећа антитела делују на сузбијање адаптивног имунолошког система што може довести до тежег облика болести.

Друга група (Ehrenfeld et. al., 2020), у раду о широком спектру аутоимуних болести које су у вези са претходном инфекцијом САРС-КоВ-2, такође је истраживала како спаик протеин може да покрене низ таквих болести. Они показују те референце у Табели 1, низове хептапептида у људском протеому који се преклапају са створеним спаик протеином САРС-КоВ-2. Идентификовали су 26 хептапептида пронађених код људи и у спаик протеину. Занимљиво је напоменути да је утврђено

да су 2 од 26 хептапептида који се преклапају секвенцијални, а запањујуће дугачак низ идентичних пептида који се могу наћи међу ендогеним људским протеинима и спаик протеинима. Коментаришући преклапајуће пептиде које су открили и потенцијал да ово истовремено покреће многе врсте аутоимунитета, они коментаришу, „Узнемирава клинички сценарио који се појављује“. И заиста је забрињавајуће.

У мају 2020. године Vojdani и Kharrazian (2020) објавили су још један важан чланак у вези с тим. Аутори су користили моноклонска антитела мишева и зечева против спаик протеина САРС-а из 2003. године да би се тестирала реактивност не само на спаик протеин САРС-КоВ-2, већ и на неколико ендогених људских протеина. Открили су да постоји висок ниво везивања не само са спаик протеине САРС-КоВ-2, него и са широким спектром ендогених протеина. "[Нашли смо да су најјаче реакције биле са транслутаминазом 3 (тТГ3), транслутаминазом 2 (тТГ2), ЕНА, основним протеином мијелина (МБП), митохондријама, нуклеарним антигеном (НА), α-миозином, тироидном пероксидазом (ТПО), колагеном, клаудин 5 + 6 и С100Б." (Vojdani and Kharrazian, 2020).

Треба нагласити ова важна открића. Антитела са високим афинитетом за везивање за спаик и другим протеинима САРСКоВ- 2 такође имају висок афинитет везивања за тТГ (повезан са целијачном болешћу), ТПО (Хашимотов тироидитис), основни протеин мијелина (мултипла склероза) и неколико ендогени протеини. За разлику од аутоимуног процеса повезаног са прајмирањем патогена, за ове аутоимуне болести обично требају године да би се симптоматски манифестовале.

Аутоантитела генерисана спаик протеином наведена од Lyons-Weiler (2020) и описана горе потврђена су недавно објављеном ин витро студијом. У свом наставку рада, Vojdani et. al., (2021) поново су се бавили питањем унакрсне реактивности антитела, овог пута користећи хумана моноклонска антитела (мАбс) против спаик протеина САРС-КоВ-2 (уместо мишијих и зечијих). Њихови резултати су потврдили и проширили њихова претходна открића. „На граничној вредности од 0,32 ОД [оптичка густина], САРС-КоВ-2 мембранско протеинско антитело реаговало је са 18 од 55 тестираних антигена“. Ових 18 ендогених антигена обухватала су реактивна ткива у јетри, митохондријама нервног и дигестивног система, панкреаса и другде у телу.

У извештају о мултисистемском инфламаторном синдрому код деце (MIS-C), Carter et. al. (2020) су проучавали 23 случаја. Седамнаест од 23 (68%) пацијента имало је серолошке доказе о претходној САРС-КоВ-2 инфекцији. Од три антитела процењених у популацији пацијената (нуклеокапсид, РБД и спаик), највиша оптичка густина била је код ИгГ спаик протеинских антитела (која квантификује концентрације антитела у односу на стандардизовану криву (Wikipedia, 2021), (видети слику 1д у Carter et al., 2020).

Сада се често претпоставља да је MIS-C пример имунолошког прајмирања претходним излагањем САРС-КоВ-2 или другим корона вирусима. Буонсенсо et. al. (2020) разматрали су вишеструку имунологију сличности између MIS-C и болести повезане са претходном β-хемолитичком стрептококном инфекцијом групе А. (GAS). Аутори пишу: „Можемо нагађати да ће деца која су вишеструко изложена САРС-КоВ-2 са родитељима са КОВИД-19 деловати на прајмеринг свог имуног система, као што се дешава са GAS инфекцијом и код генетски предиспониране деце до развоја MIS-C. Друга хипотеза је да су претходне инфекције другим корона вирусима, много чешће у педијатријској популацији, и то је можда припремило дечији имунолошки систем за вирус САРС-КоВ-2“.

У јуну 2019. Галеотти и Баири (2020) су пратили појаву и аутоимуних и инфламаторних болести код пацијената са КОВИД-19. Своју анализу су усредсредили на MIS-C. После прегледа неколико претходно објављених извештаја о временској вези између КОВИД-19 и почетка MIS-C и описујући бројне могуће механичке везе између две болести, аутори примећују да није утврђена узрочна веза. У донекле предвидљивој препоруци, они су написали: „Фину анализу хомологије између различитих антигена САРС-ЦоВ-2 и самоантигена, употребом *in silico* приступа и валидацију у експерименталним моделима, треба размотрити како би се потврдила ова хипотеза “. Управо је ову врсту *in silico* анализе извео Lyons-Weiler (2020) и Ehrenfeld et. al. (2020) која је описана у уводним пасусима овог одељка и који су пронашли уску хомологију између вирусних антигена и самоантигена. Иако ово можда није дефинитивно потврђена узрочно-последична веза коју претпостављају Galeotti и Вауру, то је снажан поткрепљујући доказ.

Аутоимуне болести постају све шире препознатљиве као последица КОВИД-19. Постоје више извештаја о претходно здравим особама које су развиле болести попут идиопатске тромбоцитопенија, Guillain-Barré-ов синдром и аутоимуна хемолитичка анемија (Galeotti and Вауру, 2020). Постоје три независна извештаја о случају системског еритемског лупуса (SLE) са кожним манифестацијама након симптоматског КОВИД-19. У једном случају мушкарац стар 39 година је имао SLE два месеца након амбулантног лечења КОВИД-19 (Zamani et.al., 2021). Још један упечатљив случај брзог напредовања и фаталног SLE са кожним манифестацијама су описали Slimani et.al. (2021).

Ауто-антитела се врло често налазе код пацијената са КОВИД-19, укључујући антитела пронађена у крви (Vlachoyiannopoulos et. al., 2020) и ликвору (CFS) (Franke et. al., 2021). Иако САРС-КоВ-2 није пронађен у CSF, постоји теорија да се ауто-антитела стварају као одговор на изложеност САРС-КоВ-2 и то може довести до неких неуролошких компликације документованих код пацијената са КОВИД-19. У једном важном писму упућеном уреднику часопис *Arthritis & Rheumatology*, Bertin et. al. (2020) су приметили високу преваленцију и снажну повезаност ( $p = 0,009$ ) ауто-антитела против кардиолипина код пацијената са тешким обликом КОВИД-19.

Zuo et. al. (2020) пронашли су анти-фосфолипидна ауто-антитела у 52% хоспитализована КОВИД-19 пацијената и претпостављали су да ова антитела доприносе високој учесталости коагулопатија код ови пацијената. Schiaffino et. al. (2020) известили су да је серум великог процента хоспитализованих пацијената са КОВИД-19 садржао ауто-антитела реактивна на плазмину мембрану хепатоцита и желудачних ћелија. Утврђено је да један пацијент са Guillain-Barré -овим синдромом има реактивност на антитела цереброспиналне течности (CFS), наводећи ауторе да сугеришу да унакрсна реактивност са протеинима у CFS може довести до неуролошких компликација примећених код неких пацијената са КОВИД-19. У новијем преглед, Gao et. al. (2021) приметили су висок ниво ауто-антитела код пацијената са КОВИД-19 у више случајева и закључују: „[Један] од потенцијалних нежељених ефеката спровођења масовне вакцине може бити спајање аутоимуних болести посебно код појединаца који су генетски предиспонирани за аутоимунитет “.

Недавна публикација сакупила је мноштво доказа да се ауто-антитела против широког спектра рецептора и ткива могу наћи код особа које су раније имале САРС-КоВ-2 инфекцију. "Свих 31. бивших КОВИД-19 пацијената имали су између 2 и 7 различитих GPCR-fAABs [G -протеин у спреси са рецепторским функционалним ауто-антителима] која су деловала као агонисти рецептора. " (Wallukat et. al. 2021). Идентификована разноликост GPCR-fAABs, обухвата и агонистичку и антагонистичку активност на мети рецептора, у снажној корелацији са низом пост-КОВИД-19

симптома, укључујући тахикардију, брадикардија, алопеција, дефицит пажње, ПоТС, неуропатије и друго.

Иста студија која се односи на ауто-антитела од Lyons-Weiler (2020), бележи са очигледном озбиљном забринутошћу: „Спаик протеин Сапс-КоВ-2 потенцијална је епитопска мета за аутоимунолошке процесе индуковане биомимикријом [25]. Стога, је изузетно важно истражити да ли ће GPCR-fAAB такође постати детектабилан након имунизације вакцинама против вируса “.

Овде смо прегледали доказе да спаик протеин Сапс-КоВ-2 има широку секвенцу хомологије са више ендогених људских протеина и могао би усмерити имуни систем ка развоју и аутоинфламаторних и аутоимуних болести. Ово је посебно забрињавајуће с обзиром на то да је протеин редизајниран са два додатна остатка пролина како би потенцијално могао да омете клиренс из циркулације путем фузије мембране. Ове болести могу се јавити акутно и током релативно кратког временског распона, као што је случај са MIS-C, или се потенцијално не могу манифестовати месецима или годинама након излагања спаикнпротеину, било природном инфекцијом или вакцинацијом.

Многи који имају позитиван тест на КОВИД-19 не показују симптоме. Број асимптоматских, PCR позитивних случајева се веома разликују између студија, од најнижих 1,6% до високих 56,5% (Gao et. al., 2020). Они који нису осетљиви на КОВИД-19 вероватно имају врло јак урођени имуни систем. Неутрофили и макрофаги здраве слузокожне баријере брзо уклањају вирусе, често и без потреба да било која антитела настану у адаптивном систему. Међутим, вакцина намерно у потпуности заобилази имунолошки систем слузокоже, како ињекцијом тако и њиховом вештачком конфигурацијом у виду наночестица које садрже РНК. Ипак, могли би се суочити са хроничном аутоимуном болести, као што је претходно описано, као последицу прекомерне количине произведених антитела као одговор на вакцину, која у првом реду није била потребна.

### **Слезина, тромбоцити и тромбоцитопенија**

Dr. Gregory Michael, акушер у Мајами Бичу, умро је од церебралног крварења 16 дана након примање прве дозе вакцине Фаизер / БиоНТек КОВИД-19. У року од три дана вакцином, развио је идиопатску тромбоцитопеничну пурпуру (ИПР), аутоимуни поремећај где имуне ћелије нападају и уништавају тромбоците. Број тромбоцита му је нагло опао, а то је проузроковало немогућност заустављања унутрашњег крварења, што је довело до можданог удара, како је описано у чланку у New York Times (Grady and Mazzei, 2021). The New York Times је одмах објавио и други чланак који је разматрао неколико других случајева ИПР -а након вакцинације против Сапс-КоВ-2 (Grady, 2021), и неколико других случајева наглог пада тромбоцита и тромбоцитопеније након СапсКоВ- 2 вакцинације су пријављене у систему извештавања о нежељеним догађајима против вакцине (Vaccine Adverse Event Reporting System (VAERS)).

#### **1. Биодистрибуција мРНК вакцина**

Неколико студија на вакцинама заснованим на мРНК независно је потврдило да је слезина главни центар активности за имунолошки одговор. Студија о вакцини против вируса грипа заснованој на мРНК је изузетно релевантно дала одговор на питање биораздељености мРНК у вакцини. Ова вакцина је, попут Сапс-КоВ-2 вакцина, дизајнирана у виду липидних наночестица са модификованим РНК кодирањем хемаглутинаина (еквивалентног површинском фузионом протеину спаик протеину код корона вируса), а примењена је путем мишићне ињекције. Праћена је концентрација мРНК током времена у различитим узорцима ткива, а максимална концентрација



забележена на сваком месту била је снимљена. Није изненађујуће што је концентрација била највећа у мишићу на месту убода ињекције (5.680 ng/mL). Овај ниво се с временом полако смањивао, достижући половину првобитне вредности за 18,8 сати након ињекције. Следећи највиши ниво примећен је у проксималном лимфном чвору, са максимумом у 2.120 ng/mL где је пад на половину ове вредности био за 25.4 сата касније. Међу органима, највиши нивои су откривени у слезини (86,69 ng/mL) и јетри (47,2 ng/mL). Другде у телу концентрација је била на 100 до 1000 пута нижим нивоима. Конкретно, дистални лимфни чворови су имали само вршну концентрацију од 8 ng/mL. Закључили су да се мРНК дистрибуира са места убризгавања до јетре и слезине путем лимфног система, на крају достижући општу циркулацију. Ово се вероватно транспортом мРНК унутар макрофага и других имуних ћелија које је преузимају на месту убода ињекције. Узнемирујуће је да допире и до мозга, иако на много нижим нивоима (Bahl et al., 2017). Извештај о процени Европске агенције за лекове за вакцину Модерна говори да се мРНК може открити у мозгу након интрамускуларне примене отприлике на нивоу 2% од нивоа пронађеног у плазми (European Medicines Agency, 2021).

У другом експерименту о праћењу пута биораздељења РНК вакцина, узета је РНК вакцина беснила. Она је примењена интрамускуларно на пацовима у једној дози. Вакцина је садржала шифру за имуногени протеин беснила као и код за РНК полимеразу и формулисана је као наноемулзија уља у води. Дакле, није у потпуности репрезентативна за мРНК САРС-КоВ-2 вакцине. Ипак, његова интрамускуларна примена и зависност имуних ћелија од уноса РНК вероватно значе да ће мигрирати кроз ткива на сличан начин као и Вакцина против САРС-КоВ-2. Аутори су приметили повећање одводних лимфних чворова и ткива. Студије су откриле да се РНК беснила појавила на почетку на месту ињекције и у одводним лимфним чворовима у року од једног дана, а такође је пронађена у крви, плућима, слезини и јетри (Stokes et al., 2020). Ови резултати су у складу са горњом студијом о мРНК вакцинама против грипа.

На крају, студија која упоређује наночестице мРНК које експримирају луциферазу са луциферазом мРНА дендритичних ћелија као алтернативни приступ вакцинацији открила је да је сигнал луциферазе достигао шири спектар лимфоидних места са механизмом за наношење наночестица. Веома је важно да је сигнал луциферазе концентрисан у слезини у поређењу са доминација у плућима код дендритичних ћелија (Firdessa-Fite and Creuso, 2020).

## 2. Имунолошка тромбоцитопенија

Имунолошка тромбоцитопенија (ИТП) појавила се као важна компликација код КОВИД-19 (Bhattacharjee and Banerjee, 2020). У многим случајевима се појављује након потпуног опоравка од болести, тј. након што се вирус очисти, што сугерише да је то аутоимуни феномен. Вероватни пут којим би се ИТП могао јавити након вакцинације је путем миграције имуних ћелија које носе терет наночестица мРНК преко лимфног система у слезину. Ове имуне ћелије производе спаик протеин према коду у наночестицама, а спаик протеин индукује Б ћелије и производњу ИгГ антитела.

ИТП се у почетку појављује као петехије или пурпура на кожи и / или као крварење са површина слузокоже. Постоји висок ризик од смртног исхода због крварења и можданог удара. ИТП карактерише повећано уништавање тромбоцита и смањена производња тромбоцита, а ауто-антитела играју кључну улогу (Sun and Shan, 2019). Тромбоцити су обложени антитромбоцитним антителима и имуним комплексима, а то индукује њихов клиренс фагоцитима.

Нарочито у условима оштећене аутофагије, сигнална каскада такође може изазвати сузбијање производње мегакариоцита у коштаном сржи, ћелија које су претече производња тромбоцита (Sun

and Shan, 2019). Студија случаја пацијента са дијагнозом КОВИД-19 открива да се код пацијента развила нагла тромбоцитопенија у неколико дана након што је био пуштен из болнице на основу негативног теста нуклеинске киселине код КОВИД-19. Праћењем развоја, верификовано је да је пацијент имао смањен број стварања тромбоцита из мегакариоцита, док су аутоимуна антитета била негативна, што указује на проблем са производњом тромбоцита, а не на уништавање тромбоцита (Chen et al., 2020).

Аутофагија је неопходна за уклањање оштећених протеина, органела и бактеријских и вирусних патогена. Промене на путевима аутофагије појављују се као обележје патогенезе многих респираторних вируса, укључујући вирус грипа, МЕРС-КоВ, САРС-КоВ и, што је најважније, САРС-КоВ- 2 (Limanaqi et al., 2020). Аутофагија је сигурно пресудна за чишћење спаик протеина које производе имуне ћелије програмиране од стране мРНК вакцина.

Може се претпоставити да оштећена аутофагија спречава уклањање спаик протеина који производе макрофаги из мРНК вакцине. Као што ћемо касније показати, тромбоцити поседују аутофагичне протеине и користите аутофагију за чишћење вируса. Оштећена аутофагија је карактеристична за ГПР, а можда и јесте била кључни за аутоимунолошки напад на тромбоците (Wang et al., 2019).

### 3. Критична улога слезине

Слезина је највећи секундарни лимфоидни орган код људи и садржи чак 1/3 залихе тромбоцита у телу. Слезина је примарно место за уништавање тромбоцита током ГПР -а контролише одговор антитета на тромбоците. Два главна ауто-антитета повезана са ГПР су имуноглобулин Г (IgG) и гликопротеин (GP) IIb/IIIa комплекс на тромбоцитима (Aslam et al., 2016).

Слезина игра централну улогу у чишћењу страних антигена и у синтези ИгГ помоћу Б. ћелија. Након излагања антигену, попут спаик протеина, неутрофили у маргиналној зони слезине стичу способност интеракције са Б ћелијама, индукујући производњу антитета (Puga et al., 2011). Ово је вероватно пресудно за успешан исход вакцинације. Псеудоуринска модификација мРНК је важна за обезбеђивање опстанка РНК довољно дуго да достигне до слезине. У експерименту са убризгавањем наночестица мРНК у мишеве, како испоручена мРНК, тако и кодирани протеин могу се открити у слезини 1, 4 и 24 сата након ињекције, на знатно вишим нивоима него када је коришћена немодификована РНК (Karikó et al., 2008).

Софистицирани механизам унакрсне комуникације тромбоцита и неутрофила у слезини може довести до тромбоцитопеније, посредоване патолошким одговором названим НЕТосис. Тромбоцит-ТLR7 (рецептор 7) препознаје честице грипа у циркулацији и доводи до њиховог захватања и ендоцитозе тромбоцита. Након уништења вируса, тромбоцити стимулишу ослобађање неутрофила њихова ДНК у Неутрофилним екстрацелуларним замкама (НЕТ) (Коупенова ет ал., 2019), и ДНК, у прекомерним количинама, покрећу протромботичну каскаду.

### 4. Лекције из грипа

Вирус грипа, попут вируса короне, је једноланчани РНК вирус. Тромбоцитопенија је честа компликација која настаје у току инфекције грипом, а њена тежина критички предвиђа клиничке исходе болесних пацијентата (Jansen et al., 2020). Тромбоцити садрже у својој мембрани обиље гликопротеина који делују као рецептори и подржавају адхезију на зиду ендотела. Ауто-антитета се налазе код већине пацијената са аутоимуном тромбоцитопенијом (Lipp et al., 1998). Вирус грипа се везује за ћелије путем гликопротеина и ослобађа ензим тзв. неураминидаза који може разбити гликозаминогликане везане за гликопротеине и ослободити се њих. Ова акција вероватно излаже

гликопротеине тромбоцита Б ћелијама, индукујући производњу ауто-антитела. Неураминидаза изазвана патогеном *Стрептоцоццус пнеумоније* доводи до десијализованих тромбоцита, што изазива хиперактивност тромбоцита (Kullaya et al., 2018).

Чини се да тромбоцити играју важну улогу у уклањању вируса. У року од једног минута након што су тромбоцити инкубирани заједно са вирусима грипа, вируси су се већ прикачили за тромбоците. Накнадна интернализација, вероватно фагоцитозом, достигла је врхунац за 30 минута (Jansen et al., 2020).

САРС-КоВ-2 спаик протеин везује сијалну киселину, што значи да би могао да се веже за гликопротеине у мембране тромбоцита (Baker et al., 2020). Постоји структурна сличност између спаик протеина С1 у САРС КоВ и неураминидазе изражене вирусом грипа, што би могло значити да спаик протеин поседује активност неураминидазе (Zhang et al., 2004). Неколико вируса експримира неураминидазу и генерално ензимски делује на катализу гликана у гликопротеинима кроз десијалилацију.

Стога се чини вероватним да би опасна каскада која води до ГТР могла настати након мРНК вакцинација, чак и без присутности живог вируса, посебно у контексту оштећења аутофагије. Имунске ћелије у мишићу руке узимају честице РНК и циркулишу унутар лимфног система, накупљајући се у слезини. Тамо имуне ћелије производе обилне спаик протеине, за које се вежу гликопротеини тромбоцита који их десијалилирају. Интеракција тромбоцита са неутрофилима узрокује НЕТозу и покретање запаљенске каскаде. Изложени гликопротеини постају циљеви за аутоимуна антитела која затим нападају и уклањају тромбоците, што доводи до брзог пада броја тромбоцита опасности по живот пацијента.

### **Активација латентног Херпес зостера**

Истраживање спроведено у Медицинском центру у Тел Авиву и Медицинском центру Кармел у Хаифи, Израел, открило је значајно повећану стопу појаве херпес зостера након вакцинације Фаизер вакцинама (Furer 2021). Ова опсервациона студија пратила је пацијенте са већ постојећом аутоимуном инфламаторном реуматском болести (AИRD). Међу 491 пацијентом са АИRD током периода студије, код 6 (1,2%) је дијагностикован херпес зостер као прва дијагноза у животу између 2 дана и 2 недеља након прве или друге вакцинације. У контролној групи од 99 пацијената није било идентификованих случајева херпес зостера.

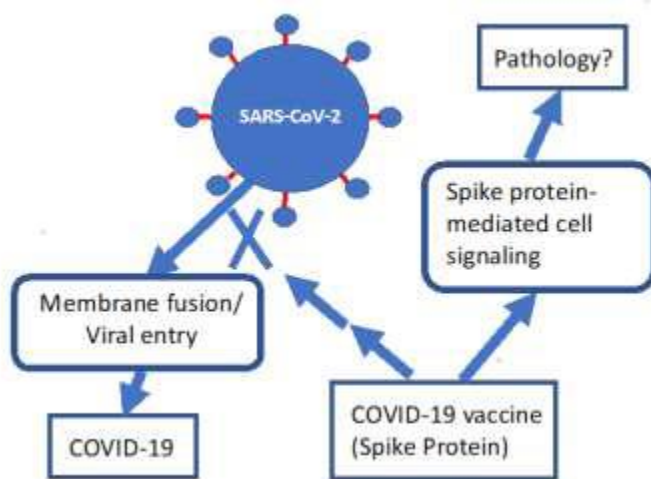
База података CDC's VAERS, испитивана 19. априла 2021. године, садржи 278 извештаја о херпес зостеру након вакцинације Модерном или Фаизер вакцинама. Због не пријављивања документације и саме природе VAERS извештаја (Lazarus et al. 2010), није могуће доказати било какву узрочно-последичну веза између вакцинација и зостер извештаја. Међутим, ми верујемо да је појава зостер-а је још један важан „сигнал“ код ВАЕРС-а.

Овај повећани ризик на херпес зостер, ако је валидан, може имати важне шире импликације. Вишеструке студије су показале да су пацијенти са примарним или стеченим имунолошким недостатком подложнији тешкој инфекцији херпес зостера (Ansari et al., 2020). То сугерише да мРНК вакцине могу бити узрок сузбијања урођеног имунолошког одговора. Постоји унакрсна комуникација између TNF-  $\alpha$  и интерферона типа I код аутоимуне болести, при чему свака потискује другу (Palucka et al., 2005). Интерферон типа I инхибира репликацију вируса варичела-зостер (Ku et al., 2016). TNF-  $\alpha$  је нагло укључен у инфламаторни одговор који изазивају липидне

наночестице у вакцини. Његова регулација је такође повезана са хроничним инфламаторним стањем реуматоидног артритиса (Matsuno et al., 2002). Нагла експресија TNF-  $\alpha$  након вакцинације може ометати INF- $\alpha$  одговор дендритичних ћелија које задржава латентни херпес зостер.

### Токсичност спаик протеина

Сада се појављују чињенице да САРС-КоВ-2 има вишеструке озбиљне ефекте на васкуларизацију органа, укључујући васкуларизацију мозга. Као што је раније поменуто, спаик протеин олакшава улазак вируса у ћелију домаћина везивањем за АСЕ2 у плазминој мембрани. АСЕ2 је мембрански протеин интегралног типа I који цепа ангиотензин II у ангиотензин (1-7), чиме се ангиотензин II чисти и снижава крвног притиска. У низу радова, Yuichiro Suzuki у сарадњи са другим ауторима је представио снажан аргумент да спаик протеин сам по себи може изазвати сигнални одговор васкуларног система са потенцијално широким последицама (Suzuki, 2020; Suzuki et al., 2020; Suzuki et al., 2021; Suzuki and Gychka, 2021). Ови аутори су приметили да је у тешким случајевима КОВИД-19, САРСКоВ- 2 изазива значајне морфолошке промене на плућној васкуларизацији. Пост-мортем анализа плућа пацијената који су умрли од КОВИД-19 открили су хистолошке карактеристике које показују васкуларно задебљање зидова, углавном због хипертрофије туника медије. Увећане ћелије глатких мишића су постале заобљене, са отеченим језгрима и цитоплазматским вакуолама (Suzuki et al., 2020). У наставку се показало да излагање култивираних ћелија глатких мишића људске плућне артерије код оболелих од САРСКоВ- спаик протеину С1 било довољно да промовише ћелијску сигнализацију без осталих компоненти вируса.



Слика 2: Једноставан модел за поступак којим спаик протеин произведен кроз мРНК вакцине индукује патолошки одговор различит од пожељне индукције антитела за сузбијање уласка вируса. Прецртано уз дозволу Suzuki and Gychka, 2021.

Даљи радови (Suzuki et al., 2021, Suzuki and Gychka, 2021) су показали да спаик протеин С1 сузбија АСЕ2, узрокујући стање налик на хипертензију плућне артерије (РАН), озбиљне плућне болести са врло високим морталитетом. Њихова модел је приказан на слици 2. Забрињавајуће Suzuki and Gychka (2020) су написали: „Дакле, ове студије ин виво су показале да спаик протеин САРС-КоВ-1 (без остатка вирус) смањује експресију АСЕ2, повећава ниво ангиотензина II, и погоршава оштећење плућа “. „Ин виво студије“ које су овде поменуте (Куба и сар., 2005) су показале оштећење плућа изазвана САРС-ом од коронавируса првенствено због инхибиције АСЕ2 од спаик протеина САРС-

КоВ, узрокујући велики пораст ангиотензина- II. Suzuki et al., (2021) су наставили да експериментално демонстрирају да спаик протеин С1 вируса САРС-ЦоВ-2, при ниској концентрацији од 130 pM, активирао MEK/ERK/MAPK сигнални пут за подстицање раста ћелија. Претпоставља се да ови ефекти не би били ограничени само на васкуларизацију плућа. Сигнална каскада би активирањем узроковала болест коронарних артерија, а активација у мозгу могла би да доведе до можданог удара. Такође се предвиђа и системска хипертензија. Претпоставка је и да ова способност спаик протеина да изазове хипертензију плућне артерије би могла предиспонирати пацијенте који се опораве од САРС-КоВ-2 да касније развију срчану инсуфицијенцију десне коморе. Сугерисали су такође да сличан ефекат би могао да се догодити као одговор на мРНК вакцине и упозорили су на потенцијалне дугорочне ефекте и последице и на децу и на одрасле који су примили КОВИД-19 вакцине засноване на спаик протеинима (Suzuki and Gychka, 2021).

Занимљива студија Леи ет. ал. (2021) открила је да псеудовирус са додатком спаик С1 протеина САРС-КоВ-2, али без вирусна ДНК у свом језгру - изазива упалу и оштећења у артеријама и плућима мишева изложених интратрахеално. Затим су изложене здраве ендотелне ћелије човека истим честицама псеудовируса. Везивање ових честица за ендотелијалне АСЕ2 рецепторе довели су до оштећења и фрагментације митохондрија у тим ендотелним ћелијама, што је довело до карактеристичне патолошке промене у придруженом ткиву. Ова студија јасно показује да је сам спаик протеин довољан (који није повезан са остатком вирусног генома), да изазове штету на ендотелу везано за КОВИД-19. Импликације везане за вакцине чија је намена да изазову производњу ћелије спаик протеина су јасне и очигледан су разлог за забринутост.

Неуролошки симптоми повезани са КОВИД-19, као што су главобоља, мучнина и вртоглавица, енцефалитис и фатални крвни угрушци у мозгу су показатељи штетних вирусних ефеката на мозак. Buzhdygan et al. (2020) предложили су да примарне микроваскуларне ендотелне ћелије људског мозга могу да узрокују ове симптоме. АСЕ2 се посвуда експримира у ендотелним ћелијама у мозгу капилара. Експресија АСЕ2 је појачано регулисана у васкулатури мозга и у вези је са деменцијом и хипертензијом, који су фактори ризика за лоше исходе од КОВИД-19. У ин витро студији крвно-мождане баријере, С1 компонента спаик протеина доприноси губитку интегритета баријере, што сугерише да спаик протеин који делује сам покреће про-инфламаторни одговор у ендотелне ћелије мозга, што би могло објаснити неуролошке последице болести (Buzhdygan et al, 2020). Импликације овог запажања су узнемирујуће јер мРНК вакцине индукују синтезу спаик протеина, који би теоретски могао на сличан начин да делује на оштећење мозга.

Спаик протеин који генерише ендогено вакцина такође може негативно утицати на тестисе код мушкараца, јер је АСЕ2 рецептор високо изражен у Леидиговим ћелијама у тестисима (Verma et al., 2020). Неколико студија је сада показало да спаик протеин коронавируса може да приступи ћелијама у тестисе преко АСЕ2 рецептора и да ремети репродукцију мушкараца (Navarra et al., 2020; Wang and Xu, 2020). Пронађен је рад који укључује постмортем преглед тестиса шест мушких пацијената са КОВИД-19 микроскопски докази спаик протеина у интерстицијским ћелијама у тестисима пацијената са оштећеним тестисима (Achua et al., 2021).

### **Могућа веза са прионским болестима и неуродегенерацијом**

Прионске болести су скуп неуродегенеративних болести које су настале у грешкама важних телесних протеина, који формирају токсичне олигомере који се на крају преципитирају као влакна носећи широко оштећење неуронима. Stanley Prusiner је прво створио име `прион` да би га описао као погрешно склопљени протеини (Prusiner, 1982). Најпознатија прионска болест је MADCOW

болест или болест лудих крава (говећа спонгиформна енцефалопатија), која је постала епидемија европских говеда 80-их година прошлог века. Веб локација CDC о прионским болестима наводи да су „прионске болести обично брзе, прогресивне и увек фаталне (Centers for Disease Control and Prevention, 2018). Веровало се да су многе неуродегенеративне болести, укључујући Алцхајмерову, Паркинсонову болест и амиотрофичну латералну склерозу (ALS), можда прионске болести, и истраживачи су идентификовали специфичне протеинске заразне честице повезане са овим болестима (Weickenmeier et al., 2019).

Поред тога, истраживачи су идентификовали комбинацију потписа повезан са подложношћу ка погрешном преклапању токсичних олигомера, названих комбинација глицин затварача. Карактеристике га образац од два глицинска остатка размакнута од три интервенисане аминокиселине представљене као GxxxG. Говећи прион повезан са MADCOW болешћу има спектакуларну секвенцу од десет GxxxGs у низу (види [uniprot.org/uniprot/P10279](http://uniprot.org/uniprot/P10279)).

Уопштеније, комбинација GxxxG је заједничка карактеристика трансмембранских протеина и глицина који играју битну улогу у умрежавању  $\alpha$ -спирала у протеину (Mueller et al., 2014). Прион протеини постану токсични када се  $\alpha$ -завојнице погрешно схвате као  $\beta$ -листови, а протеин тада ослаби у својој способности да уђе у мембрану (Prusiner, 1982). Глицини у трансмембранским комбинацијама глицинског затварача у протеин претеча амилоид- $\beta$  (APP) играју централну улогу у погрешном савијању амилоид- $\beta$  повезаног са Алцхајмеровом болешћу (Decock et al., 2016). APP садржи укупно четири комбинације GxxxG.

Када се узме у обзир да је спаик протеин SARS-CoV-2 трансмембрански протеин и да садржи пет GxxxG комбинација у свом низу (види [uniprot.org/uniprot/P0DTC2](http://uniprot.org/uniprot/P0DTC2)), постаје врло вероватно да би се могао понашати као прион. Једна од GxxxG секвенци је присутна изнутра у мембрани. Подсетимо да су мРНК вакцине дизајниране са измењеном секвенцом која замењује две суседне аминокиселине у фузионом домену са паром пролина. Ово је готово намерно како би приморао протеин да остане у отвореном стању и отежао му фузију са опном. Ово нам се чини као опасан корак ка погрешном склапању до којег потенцијално може довести прионска болест.

У раду који је објавио J. Bart Classen (2021) предочено је да би спаик протеин у мРНК вакцинама могао да изазове болести сличне приону, делом и захваљујући својој способности да се веже за многе познате протеине и индукује њихово погрешно склапање у потенцијалне прионе. Idrees and Kumar (2021) известили су да је тај спаик протеин С1 склон да делује као функционални амилоид и формира токсичне агрегате. Ови аутори су написали да С1 има способност „да формира амилоидне и токсичне агрегате који могу деловати као семе агрегирајући многе погрешно формиране протеине мозга и на крају могу довести до неуродегенерације“.

Према Tetz and Tetz (2020), облик спаик протеина у SARS-CoV-2 има прионске регионе који нису присутни у спаик протеинима за друге коронавирусе. Иако је ово пријављено као прегледани чланак, аутори су објавили претходни рад у 2018. години идентификујући прионске регије у вишеструким еукариотским вирусима, тако да они имају знатну стручност у овој области (Tetz and Tetz, 2018).

Последња ствар овде се односи на информације о вакцини Фаизер, посебно. Европски Извештај о јавној процени Агенције за лекове (ЕМА) у документу који се подноси ради добијања одобрења пласирања вакцина у Европу детаљно описује преглед производног процеса, као и широк спектар повезаних података о испитивању. Откривено је присуство „фрагментиране врсте“ РНК у раствору

за ињекције. То су фрагменти РНК који су настали у раном прекиду процеса транскрипције са ДНК шаблона. Ови фрагменти, ако су убризгани након ињекције генеришу непотпуне спаик протеине, што опет доводи до промене и непредвидивих тродимензионалних структура и физиолошких утицаја који се у најбољем случају неутрални и у најгорем случају штетни за ћелијско функционисање. Било је знатно више ових фрагментираних облика РНК у комерцијално произведеним производима него у производима који се користе у Клиничка испитивања. Ови последњи су произведени кроз много строже контролисан производни процес.

Фаизер тврди да фрагменти РНК "вероватно ... неће резултирати експримираним протеинима" због њихове претпостављене брзе деградације унутар ћелија. Нису представљени подаци који би искључили експресију протеина, иако, остављају рецензентима да коментаришу: „Ови [фрагментирани РНК] облици су лоши и ограничени подаци за експресију протеина не односе се у потпуности на неизвесности у вези са ризиком од превођења протеина / пептида осим предвиђеног спаик протеина“ (ЕМА 2020). Према нашим сазнањима, од тада није било података.

Иако не тврдимо да би остали неспаик протеини генерисани из фрагментираних РНК били погрешно склопљени или на било који други начин патолошки, верујемо да би бар допринели ћелијском стресу који изазива конформационе промене повезане са прионима у спаик протеину који је присутан.

#### 1. Лекције из Паркинсонове болести

Паркинсонова болест је неуродегенеративна болест повезана са наслагама Левијевих тела у мозгу, а главни протеин који се налази у овим Левијевим телима је  $\alpha$ -синуклеин. Тај протеин,  $\alpha$ -синуклеин, јесте свакако прионски утолико што се под одређеним условима агрегира и повезује у токсичне растворљиве олигомере и фибриле (Lema Tomé et al., 2013). Истраживања су показала да се погрешно склопљени  $\alpha$ -синуклеин може прво створити у цревима, а затим одатле путује у мозак дуж вагусног нерва, вероватно у облику егзозома пуштен из умирућих ћелија одакле потиче погрешно склопљен протеин (Kakarla et al., 2020; Steiner et al., 2011). Ћелијски услови који промовишу погрешно формирање протеина укључују кисели рН и висок експресија инфламаторних цитокина. Јасно је да је вагусни живац пресудан за пренос погрешно склопљених протеина у мозак, јер прекид вагусног нерва штити од Паркинсонове болести. Атрофија вагусног нерва у вези са Паркинсоновом болешћу пружа додатне доказе о учешћу вагусног нерва у транспорту погрешно склопљених олигомера  $\alpha$ -синуклеина из црева у мозак (Walter et al., 2018). Други пут је кроз мирисни нерв и губитак осећаја за мирис који је рани знак Паркинсонове болести. Проблем је што је смањење или губитак осећаја мириса такође чест симптом код инфекције САРС-КоВ-2. Постоје многе паралеле између  $\alpha$ -синуклеина и спаик протеина.

Постоје многе паралеле између  $\alpha$ -синуклеина и спаик протеина, што указује на могућност развоја прионских болести након вакцинације. Већ смо показали да се мРНК у вакцини депонује у високој концентрацији у јетри и слезини, у два органа која су добро повезана са вагусним нервом. Катионски липиди у вакцини стварају кисели рН који погодује погрешној синтези протеина, а такође изазивају снажан инфламаторни одговор, што је такође још једно предиспонирајуће стање.

Герминални центри су структуре у слезини и другим секундарним лимфоидним органима где фоликуларне дендритичне ћелије представљају антигене Б ћелијама, што заузврат усавршава њихов имуни одговор. Истраживачи су показали да мРНК вакцине, за разлику од рекомбинантних протеинских вакцина, изазивају робустан развој неутрализујућих антитела у овим герминалним центрима у слезини (Lederer et al., 2020). Међутим, то такође значи да мРНК вакцине стварају

идеалну ситуацију за стварање приона из спаик протеина и њихов транспорт преко егзозома дуж вагусног нерва до мозга.

Студије су показале да се прион пренет са једне животиње на другу прво појављује у лимфоидним ткивима, посебно у слезини. Диференциране фоликуларне дендритичне ћелије су централне за овај процес и у њима се акумулирају погрешно формиран прионски протеини (Al-Dybiat et al., 2019). У овим дендритичним ћелијама инфламаторни одговор појачава синтезу  $\alpha$ -синуклеина, повећавајући ризик од стварања приона. Приони који се акумулирају у цитоплазми пакују се у липидна тела која се ослобађају као егзозоми (Liu et al., 2017). Ови егзозоми на крају путују у мозак, узрокујући болест.

## 2. Преношење болести преко вакцинисаних особа

На интернету се доста говорило о могућности да вакцинисани људи изазивају болест код невакцинисаних људи који су им у непосредној близини. Иако је ово можда тешко поверовати, постоји вероватан процес који би се могао догодити ослобађањем егзозома из дендритичне ћелије у слезини које садрже погрешно формиране спаик протеине, заједно са осталим реконформисаним прион протеинима. Ови егзозоми могу путовати у удаљена места. Није немогуће замислити да могу да се ослободе из плућа и да може да их удахне особа у близини. Ванћелијске везикуле, укључујући егзозоме, откривени су у спутуму (испљувак), слузи, епителној течности и бронхоалвеоларној течности које се јављају код респираторних болести (Lucchetti et al., 2021).

Студија БиоНТек-а за фазе 1/2/3 за вакцину Фаизер мРНА имплицира протокол у коме се предвиђа могућност секундарне изложености вакцини (BioNTech, 2020). Протокол је садржао захтев да се мора извести „излагање током трудноће“ од стране учесника студије. Затим су дали примере „изложености околини током трудноће“ што је подразумевало „интервенцију удисањем или контактом са кожом“. Предложена су чак два нивоа индиректне изложености: „Мушки члан породице или пружалац здравствене заштите је био изложен удисањем или контактом преко коже, а затим је изложио своју женску партнерку пре или око времена зачећа“.

## Појава нових варијанти САРС-КоВ-2

Занимљива хипотеза предложена је у раду објављеном у часопису Nature, који описује случај озбиљног облика болести КОВИД-19 код пацијента са канцером који је узимао хемотерапију за сузбијање рака (Kemp et al., 2021). Пацијент је преживео 101. дан након пријема у болницу, коначно подлежавши у борби против вируса. Током читавих 101. дана пацијент је стално ширио вирус, па је због тога премештен у изоловану собу са учестаним променама ваздуха, како би се спречило заразно ширење болести.

Током боравка у болници, пацијент је лечен Ремдесивиром и касније са две дозе плазме која садржи антитела узета од особа које су се опоравиле КОВИД-19 (реконвалесцентна плазма). Вирус је почео тек након третмана са плазмом да брзо мутира, и на крају се појавио доминантан нови сој, верификован из узорака узетих из носа и грла пацијента. Имунокомпромитовани пацијент је имао малу подршку цитотоксичних Т ћелија у борби против вируса.

Ин витро експеримент је показао да је овај мутирани сој смањио осетљивост на више јединица реконвалесцентне плазме узете од неколико опорављених пацијената. Аутори су истакли да су коришћена антитела заправо убрзала стопу мутације вируса, јер пацијент није успео да у потпуности очисти вирус због слабог имунолошког одговора. Ово је омогућило „опстанак



најприкладнијег “облика мутираног вируса, који је напунио тело пацијента и био отпоран на добијена и синтетисана антитела. Продужена репликација вируса код овог пацијента довела је до „вирусног имунолошког бекства“, а слични резистентни сојеви могли би се потенцијално врло брзо проширити у изложеној популацији (Kemp et al., 2021). Заиста, сличан процес би могао бити на делу за стварање високо заразних нових сојева који се сада појављују у Великој Британији, Јужној Африци и Бразилу.

Постоје најмање две забрињавајуће чињенице које имамо у вези са овим експериментом и у вези са мРНК вакцинама. Прва је да, кроз континуирану инфекцију имунолошки угрожених пацијената, можемо очекивати континуирану појаву нових сојева који су отпорни на антитела индукованих вакцинама, тако да вакцина може брзо застарети и можда постоји потреба да се становништво подвргне још једној масовној кампањи вакцинације. Већ објављена студија истраживача из компаније Фаизер показали су да је ефикасност вакцине смањена за многе од ових варијанти сојеви. Вакцина је била само 2/3 ефикасна против јужноафричког соја у односу на оригинални сој (Liu et al., 2021).

Друга забрињавајућа ствар је размишљање о томе шта ће се догодити са ослабљеним имунитетом пацијент након вакцинације. Могуће је да ће одговорити на вакцину производећи антитела, али та антитела неће бити у стању да обуздају болест након излагања вирусом КОВИД-19 због оштећене функције цитотоксичних Т ћелија. Овај сценарио се не разликује много од примене реконвалесцентне плазме до имунолошки угрожених пацијената, па тако и може да се предпостави да је вакцинама могуће генерисати еволуцију сојева отпорних на антитела на исти начин, само у много већој мери. Ова могућност ће се сигурно користити при залагању за поновљеним циклусима вакцинације на сваких неколико месеци, са све већи број вирусних варијанти кодираних у вакцинама. Ово је трка у наоружању коју ћемо вероватно изгубити.

### **Потенцијал за трајно укључивање спаик протеина гена у људску ДНК**

Тврди се да су вакцине засноване на мРНК сигурније од вакцина са векторском ДНК које делују уграђујући генетски код циљног антигеног протеина у ДНК вирус, јер РНК не може да се угради у људски геном. Међутим, то уопште није потпуна истина. За класични модел ДНК → РНК → протеин сада се зна да је нетачан. Сада је неспорно да постоји велика класа вируса званих ретровируси који носе гене који се преобраћају транскрипцијом РНК назад у комплементарну ДНК (сDNA). 1975. Howard Temin, Renato Dulbecco, и David Baltimore поделили су Нобелову награду за физиологију или медицину за њихово откриће реверзне транскриптазе синтетисане од стране ретровируса (као што је хумана вирус имунодефицијенције (ХИВ)), за извођење ДНК из РНК (Temin and Mizutani, 1970, Baltimore, 1970).

Много касније откривено је да реверзна транскриптаза није јединствена само за ретровирусе. Више од трећина људског генома посвећена је мистериозним покретним елементима ДНК званим SINEs и LINEs (кратки и дуги расути нуклеарни елементи). LINEs пружају могућности реверзној транскриптази за претварање РНК у ДНК, а SINEs пружају подршку за интеграцију ДНК у геном. Дакле, ови елементи пружају алате потребне за претварање РНК у ДНК и инкорпорирају га у геном како би се нови ген задржао кроз будуће генерације (Weiner, 2002).

SINEs и LINEs су чланови веће класе генетских елемената који се зову ретротранспозони. Ретротранспозони могу копирати и залепити своју ДНК на ново место у геному путем интермедијарне РНК, истовремено уводећи генетске промене у процес (Прајс, 2008).

Ретротранспозоне, такође познате као „гени који скачу“, прво је идентификовала генетичарка Barbara McClintock из лабораторије Cold Spring Harbor Laboratory у Њујорку, пре више од 50 година (Barbara McClintock, 1965). Много касније, 1983. године, за ово дело јој је додељена Нобелова награда.

Изузетно је то што изгледа да ретротранспозони могу да прошире свој домен из генерације у генерацију. SINEs и LINEs сарађују како би напали нова геномска места превођењем њихових ДНК у РНК и назад до свеже копије ДНК, која се затим убацује у АТ богате регије генома. Ове SINEs и LINEs дуго су се сматрале ДНК смећем, али ова апсурдна идеја се распала, како је расла свест о њиховим критичним функцијама. Сада је постало јасно да они могу такође да увезу РНК из егзогеног извора у ДНК домаћина сисара. Ретровирусни елементи који се налазе у геному миша звани интрацистерналне А честице (IAPs) показују да могу да уграде вирусни РНК у геном миша. Рекомбинација између егзогеног неретровирусног РНК вируса и IAP ретротанспозона резултира са реверзном транскриптазом вирусне РНК и интеграцији у геном домаћина (Геукинг ет ал., 2009).

Као што ћемо видети касније, мРНК у новим вакцинама против SARS-CoV-2 такође може да се преноси са генерације на генерацију, уз помоћ LINEs изражених у сперми, путем неинтегрисане cDNA инкапсулиране у плазмидима. Импликације овог предвидљивог феномена су нејасне, али потенцијално далекосежне.

#### 1. Егзогени и ендогени ретровируси

Такође постоји забринутост да би РНК у мРНК вакцинама могла да се пренесе у човеков геном уз помоћ ретровируса. Ретровируси су класа вируса који одржавају своје геномске информације у облику РНК, али који поседују ензиме потребне за транскрипције њихове РНК у ДНК и убацују је у геном домаћина. Тада се ослањају на постојеће природне механизме домаћина за стварање копија вируса превођењем ДНК назад у РНК и производњу протеина које вирусна РНК кодира и саставља у свежу вирусну честицу (Lesbats et al., 2016).

Хумани ендогени ретровируси (HERVs) су бенигни делови ДНК људи који подсећају на ретровирусе и за које се верује да су настали као трајне секвенце у човековом геному кроз процес интеграције из онога што је првобитно био егзогени ретровирус. Ендогени ретровируси су присутни код свих кичмењака и процењује се да заузимају 5-8% генома човека. Протеин синцитин, који је постао неопходан за фузију плаценте са зидом материце и за фузију између сперме и јајне ћелије при оплодњи, добар је пример ендогеног ретровирусног протеина. Синцитин је део гена недавно идентификованог човековог ендогеног дефектног ретровируса, HERV-W (Mi et al., 2000). Током гестације, фетус садржи висок ниво другог ендогеног ретровируса, HERV-R, и чини се да штити фетус од имунолошког напада мајке (Luganini and Gribaudo, 2020). Ендогени ретровирусни елементи блиско подсећају на ретротранспозоне. Њихова реверзна транскриптаза, када се активира, теоретски има способност претварања спаик протеинске РНК из мРНА вакцина у ДНК.

#### 2. Трајна интеграција ДНК егзогених гена ретровируса

Људи имају велику колекцију егзогених ретровируса који у многим случајевима узрокују бројне штете домаћину, а може бити и у симбиотском односу са домаћином (Luganini and Gribaudo, 2020). Егзогени вируси могу бити претворени у ендогене вирусе (трајно уграђени у ДНК домаћина) у лабораторији, што је демонстрирао Rudolf Jaenisch (Jaenisch, 1976), који је заразио ембрионе мишева пре имплантације са Молонеи вирусом мишје леукемије (М-МуЛВ). Мишеви генерисани од ових заражених ембриона су развили леукемију, а вирусна ДНК је интегрисана у њихову клицину линију и пренета њиховом потомству. Поред уградње вирусне ДНК у геном домаћина, такође је 1980. приказано да се ДНК плазмиди могли микроињектирати у језгра мишјих ембриона при

производњи трансгених мишева који се правилно рађају (Gordon et al., 1980). Укључена је плазмидна ДНК у нуклеарни геном мишева кроз постојеће природне процесе, чиме се чува ново стечене генетске информације у геному потомства. Ово откриће је основа за многе експерименте генетског инжењеринга на трансгеним мишевима у хуманој медицини (Bouabe and Okkenhaug, 2013).

### 3. LINE-1 је широко изражен

LINEs чине преко 20% људског генома. Најчешћи LINE је LINE-1, који кодира реверзну транскриптазу која регулише основне биолошке процесе. LINE-1 је изражена код многих типова ћелија, али на посебно високом нивоу је у сперми. Ћелије сперме се могу користити као вектори оба егзогена ДНК и егзогена РНК молекула при тестирању преноса гена посредованог спермом. Сперма може реверзно транскрибовати егзогену РНК директно у цДНК и може испоручити плазмиде пакујући ову цДНК у оплоћену јајну ћелију. Ови плазмиди се могу сами размножавати унутар ембриона у развоју и населити многа ткива у фетусу. У ствари, они опстају код одраслих јединки као екстрахромозомске структуре и способне су за преношење на потомство. Ови плазмиди су транскрипционо компетентни, што значи да се могу користити за синтезу кодираних протеина од стране ДНК коју садрже (Pittoggi et al., 2006).

Поред сперме, ембриони такође експримирају реверзну транскриптазу пре њихове имплантације и њена инхибиција изазива заустављање развоја ембриона. LINE -1 такође садрже ћелије карцинома и инхибиција хуманог LINE -1 индукује диференцијацију у многим ћелијским линијама карцинома. Механизми реверзне транскриптазе умешане су у генезу нових генетских информација, како у ћелијама карцинома тако и у соматским ћелијама. Утврђено је да многа туморска ткива изражавају висок ниво LINE - 1, и да у свом језгру садрже много екстрахромозомских плазида. Малигни глиоми су примарни тумори централног нервнег система. Експериментално је показано да ови тумори ослобађају егзозоми који садрже ДНК, РНК и протеине, који завршавају у општој циркулацији (Vaidya and Sugaya, 2020). LINE -1 је такође високо изражен у имунолошким ћелијама код неколико аутоимуних болести као што су системски еритемски лупус, Сјогренова болест и псоријаза (Zhang et al., 2020).

### 4. Интегрисање протеинског спаик гена у геном човека

Изузетно је доказано да неурони из мозга пацијената са Алзхеимеровом болешћу имају више варијанти гена за протеин амилоидни прекурсор APP, уграђеном у геном, које се стварају кроз процес који се назива соматска рекомбинација гена (SGR) (Kaeser et al., 2020). SGR обухвата транскрипцију гена, прекидање ланца ДНК и активност реверзне транскриптазе, а све то могу да промовишу добро познати фактори ризика од Алзхеимерове болести. ДНК која кодира APP је реверзно транскрибован у РНК, а затим поново транскрибован у ДНК и уграђен у геном на месту прекида. Пошто је РНК подложнија мутацијама, ДНК садрже многе мутиране варијанте гена, тако да ћелија постаје мозаик, способан за производњу више варијанти APP -а. Неурони оболелих од Алцхајмерове болести садржало је чак 500 милиона базних парова вишка ДНК у својим хромозомима (Bushman et al., 2015).

Истраживачи са МИТ-а и Харварда објавили су узнемирујући рад 2021. године, где су пружили снажне доказе да се САРС-КоВ-2 РНА може реверзно транскрибовати у ДНК и интегрисати у људску ДНК (Zhang et al., 2021). Чињенице које су их навеле да истарже ову идеју биле су те што су приметили да многи пацијенти настављају да имају позитиван тест на КОВИД-19 након што је вирус већ очишћен из њиховог тела. Аутори су пронашли да су се химерни транскрипти секвенци вирусне ДНА фузионисали секвенцама ћелијске ДНК код пацијената који су се опоравили од КОВИД-19. КОВИД-19 је често у тешким случајевима изазивао цитокинску олују, и могућност

појачане активности реверзне транскриптазе кроз ин витро студије при коришћењу контролисаних медија који су садржали цитокине у култури ћелија. Пронашли су 2-3 пута већу регулацију ендogene експресије LINE-1 као одговор на цитокине. Егзогена РНК из вируса уграђеног у људску ДНК могла би да произведе фрагменте вирусних протеина у неограниченом времену након уклањања инфекције, што даје лажно позитиван резултат на PCR тесту.

#### 5. Вирусна дијареја говеда: узнемирујући модел

Вирусна дијареја говеда (БВД) је заразна вирусна болест која погађа говеда широм света. Изазивач је вирус из класе пестивируса, који су мали, сферични, једноланчани, РНК вируси. Болест је повезана са гастроинтестиналним, респираторним и репродуктивним болестима. Јединствена карактеристика БВД је да вирус може прећи у плаценту заражене стеоне краве. То може резултирати рођењем телад које носи унутарћелијске вирусне честице, а његов имуни систем одбија да препозна вирус као страну инфекцију и, као резултат, теле избацује вирус у великим количинама током свог живота и потенцијално заражава цело стадо. Широко је распрострањена пракса да се таква телад идентификују и избацују из стада у покушају сузбијања инфекције (Khodakaram-Tafti & Farjanikish, 2017).

Чини се вероватним да се у будућности може догодити следећа ситуација. Када жена добије мРНК вакцину за САРС-КоВ-2 и убрзо након тога затрудни, сперматозоид би из вакцине преузео липосоме уграђене у РНК и претворио их у ДНК користећи LINE-1. Затим би произвели плазмиде који садрже шифру спаик протеина коју оплођено јаје преузима горе описаним поступком. Новорођенче је тада потенцијално неспособно да формирају антитета на спаик протеин, јер његов имуни систем не иде против себе самог. Ако се то дете у било ком тренутку свог живота инфицира САРС-КоВ-2 имуни систем не би створио одбрану од вируса, а вирус би вероватно могао слободно да се умножава у телу дојенчета без икаквог ограничења. Дојенче би логично постало ширилац заразе у таквој ситуацији. Додуше, ово су шпекулације у овом тренутку, али постоје докази из онога што знамо о ретротранспозонима, сперми, оплодњи, имунолошком систему и вирусима, те такав сценарио се не може искључити. Већ је у експериментима са мишевима доказано да се генетски елементи у векторским ДНК вакцинама, који су у основи плазмиди, могу интегрисати у геном домаћина (Wang et al., 2004). У ствари, такав процес је предложен као основа за Ламаркианову еволуцију дефинисану као наслеђивање стечених особина (Steele, 1980).

Спознаја да оно што се раније називало „смећем ДНК“ није смеће, само је један од резултата који излази из нове филозофске парадигме у људском језику, биологији и генетици која се заснива на фракталној геномици (Pellionisz, 2012) - парадигма коју је Pellionisz повезао са умешаношћу „истините наративне представе“ (ТNRs; Oller, 2010), реализоване као „понављање фракталног модела“ у високо понављајући процеси нормалног развоја многих разгранатих структура на људско тело. Ови процеси су бројни у плућима, бубрезима, венама и артеријама, и веома важно у мозгу. Вакцине против мРНК су експериментална генска терапија са потенцијалом да се угради код спаик протеина САРС-КоВ-2 у људску ДНК. Овај ДНК код могао би произвести синтезу великог броја копија протеинских заразних честица и то има потенцијал да у процес који се одвија убаца више лажних сигнала, што резултира непредвидивим исходом.

## Закључак

Експерименталне мРНК вакцине су најављене да имају потенцијал за велике бенефите, али оне такође крију могућности за потенцијално трагичне, па чак и катастрофалне непредвиђене последице. мРНК вакцине против САРС-КоВ-2 примењене су са великом помпом, али има много аспеката њихове широке употребе који заслужују забринутост. Прегледали смо неке, али не све забринутости и проблеме и желимо да нагласимо да су те забринутости потенцијално озбиљне за дуги низ година или чак трансгенерацијски. Да би се на адекватан начин искључили неповољни потенцијали који су описани у овом раду, препоручујемо да следећа истраживања усвоје праксу надзора:

- Национални напор за прикупљање детаљних података о нежељеним догађајима повезаним са мРНК вакцинама са обилним издвајањем средстава, праћењем и након првих пар недеља након вакцинације.
- Поновљено испитивање ауто-антитела популације примаоца вакцине. Тестирана ауто-антитела могу бити стандардизована и требало би да се то заснива на претходно документованим антителима и ауто-антитела која потенцијално изазива спаик протеин. Ту спадају ауто-антитела против фосфолипида, колагена, актина, тиропероксидазе (ТПО), омотач протеин мијелина, ткива трансглутаминазе, а можда и други.
- Имунолошко профилисање везано за равнотежу цитокина и сродне биолошке ефекте. Тестови треба да садржи најмање IL-6, INF- $\alpha$ , Д-димер, фибриноген и Ц-реактивни протеин.
- Студије у којима се упоређују популације које су вакцинисане са мРНК вакцинама и оне које нису требале би да потврде очекивану смањену стопу инфекције и блаже симптоме вакцинисана група, истовремено упоређујући стопе различитих аутоимуних болести и прионских болести у исте две популације.
- Студије за процену да ли је могуће да невакцинисана особа стекне специфичну форму спаик протеина које иначе има код вакцинисаних мРНК вакцинама у непосредној близини.
- Ин витро студије за процену да ли наночестице мРНК могу да се нађу у сперми у облику цДНА плаزمида.
- Студије на животињама како би се утврдило може ли се вакцинацијом непосредно пре зачећа добити потомство које у својим ткивима носи плазмиде који кодирају спаик протеине, могуће интегрисане у њихов геном.
- Ин витро студије имале су за циљ да боље разумемо токсичност спаик протеина на мозак, срце, тестисе итд.

Јавна политика око масовне вакцинације углавном се одвијала под претпоставком да је однос ризика и користи за нове мРНК вакцине „зауцан“. Упоредо са кампањом масовне вакцинације која је у току као одговор на проглашену међународну ванредну ситуацију ЦОВИД-19, ми смо пожурили са експериментима са вакцинама на светском нивоу. У најмању руку, требали бисмо узети предност оних података који су доступни из ових експеримената да би смо сазнали више о овој новој и претходно непровереној технологији. И, у будућности, апелујемо на владе да наставе са више опрез пред новим биотехнологијама. Коначно, као очигледан, али трагично занемарен предлог је да би и владе требало да охрабрују становништво да предузме сигурне и приступачне кораке за природно јачање свог имунолошког система, као нпр излазак на сунчеву светлост да би се повећао ниво витамина Д (Ali, 2020), и исхрана углавном органском храном, а не хемијски оптерећеном прерађеном храном (Rico-Campà et al., 2019). Такође, конзумирање намирница које су добри извори витамина А, витамина Ц и витамина К2 треба подстицати, јер недостаци у ових витамина су повезани са лошим исходима КОВИД-19 (Goddek, 2020; Sarohan, 2020).

Превео и приредио др Слаћан Рашић