

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΛΟΙΜΩΞΙΟΛΟΓΙΑ»
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Ε. Ι. ΓΙΑΜΑΡΕΛΛΟΣ-ΜΠΟΥΡΜΠΟΥΛΗΣ

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΧΡΑ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΜΝΗΜΗ ΚΑΙ COVID-19»

ΑΘΗΝΑ 2021

Τριμελής επιτροπή

- 1. Καθηγητής Ε.Ι.Γιαμαρέλλος-Μπουρμπούλης (Επιβλέπων)**
- 2. Επικ. Καθηγήτρια Γ. Πουλάκου**
- 3. Καθηγήτρια Γ. Βρυώνη**

Θερμά ευχαριστώ τον επιβλέποντα Καθηγητή Παθολογίας-Λοιμώξεων στην Ιατρική Σχολή του ΕΚΠΑ, υπεύθυνο του Τμήματος Ανοσολογίας των Λοιμώξεων της Δ΄ Παθολογικής Κλινικής στο Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο ΑΤΤΙΚΟΝ και Διευθυντή του Μεταπτυχιακού Προγράμματος «ΛΟΙΜΩΞΙΟΛΟΓΙΑ» κύριο Ευάγγελο Ι. Γιαμαρέλλο - Μπουρμπούλη, για την πολύτιμη καθοδήγηση και αμέριστη συμπαράσταση για την υλοποίηση της παρούσας διπλωματικής. Παραμένω ευγνώμων για την πολύτιμη εμπειρία που μας προσέφερε η φοίτηση στο Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών «ΛΟΙΜΩΞΙΟΛΟΓΙΑ», ένα πρόγραμμα μοναδικό σε ποιότητα, πρωτοπορία, οργάνωση και υλικό.

Θερμές ευχαριστίες στην Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογίας-Λοιμώξεων στην Ιατρική Σχολή του ΕΚΠΑ κυρία Γαρυφαλιά Πουλάκου και στην Καθηγήτρια Μικροβιολογίας και επιστημονική υπεύθυνο της Μονάδας Μυκητολογίας και του Τμήματος Εξωτερικού Ελέγχου Ποιότητας Μικροβιολογικών Αναλύσεων του Εργαστηρίου Μικροβιολογίας στην Ιατρική Σχολή του ΕΚΠΑ κυρία Γεωργία Βρυώνη, μέλη της τριμελούς επιτροπής, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξαν με την κρίση και αξιολόγησή τους.

Πολλές ευχαριστίες στον Υπεύθυνο Γραμματειακής Υποστήριξης του ΠΜΣ κύριο Σπύρο Καλλιόφα, για την υπομονετική και συνεχή υποστήριξη, καθοδήγηση και συμπαράσταση καθ' όλη τη διάρκεια της φοίτησής μας.

Επίσης πολλές ευχαριστίες στην κυρία Γεωργία Δαμοράκη, για την βοήθειά της στην εργαστηριακή επεξεργασία των δειγμάτων, για την συμπαράσταση και τις συμβουλές της.

Τα δύο χρόνια του μεταπτυχιακού ήταν μια πολύτιμη εμπειρία ζωής.

Και είμαι για πάντα ευγνώμων.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

SUMMARY

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Εισαγωγικά

- Εισαγωγικά
- Φυσιολογία του SARS-COV-2
- Μεταδοτικότητα του SARS-COV-2
- Ανοσοαπάντηση στην COVID-19 λοίμωξη
- Η παραγωγή αντισωμάτων από την έναρξη της λοίμωξης COVID-19 μέχρι την εμφάνιση της πιθανής ανοσίας
- Χαρακτηρισμός κυττάρων μυελικής σειράς σε νόσο COVID-19
- Θεραπευτική προσέγγιση της νόσου COVID-19

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

- ΣΚΟΠΟΣ
- ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ
- ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
- ΣΥΖΗΤΗΣΗ
- ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ
- ΠΙΝΑΚΕΣ ΚΑΙ ΕΙΚΟΝΕΣ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Από τον Δεκέμβριο του 2019, η ανθρωπότητα ζεί την εμφάνιση ενός ταχέως μεταδιδόμενου νέου κορωνοϊού. Ο νέος ιός ονομάστηκε SARS-CoV-2, και η λοίμωξη που προκαλεί και είναι γνωστή ως νόσος COVID-19 χαρακτηρίζεται από σημαντικές μεταβολές τόσο της έμφυτης όσο και της επίκτητης ανοσοαπόκρισης.

Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η μέτρηση του απόλυτου αριθμού των υποπληθυσμών των λεμφοκυττάρων σε ασθενείς που ανάρρωσαν από πνευμονία COVID-19. Επιπλέον, έγιναν συγκρίσεις σχετικά με την χρονική στιγμή έναρξης των συμπτωμάτων νόσου COVID-19 και της χρονικής στιγμής εμφάνισης σημειολογίας χρόνιου συνδρόμου COVID-19 (LCS). Η μελέτη διεξήχθη μεταξύ Απριλίου και Μαΐου 2021. Κατά τη διάρκεια αυτής της χρονικής περιόδου, ενεγράφησαν για συμμετοχή στη μελέτη 46 πρώην ασθενείς που ανάρρωσαν, και 25 υγιείς εθελοντές.

Από τα αποτελέσματα, βρέθηκαν σημαντικές αυξήσεις των απόλυτων μετρήσεων των κυττάρων NKT, της έκφρασης του HLA-DR σε κυκλοφορούντα CD14-μονοκύτταρα, και των τίτλων αντισωμάτων IgG αντι-νουκλεοκαψιδίου στους υποπληθυσμούς λεμφοκυττάρων μεταξύ των ασθενών που ανέρρωσαν από COVID-19 και των υγιών εθελοντών. Επίσης μικρότεροι αριθμοί φυσικών φονικών κυττάρων (CD45 + CD3-CD16 + CD56 +) μεταξύ ασθενών χωρίς συμπτώματα χρόνιου COVID-19 και εκείνων με συμπτώματα χρόνιου COVID.

Περισσότερες μελέτες απαιτούνται για την διερεύνηση των ανοσολογικών μεταβολών στους ασθενείς που αναρρώνουν από τη νόσο COVID-19.

Summary

Infection caused by the novel SARS-CoV-2 (known as disease COVID-19) is characterized by major alterations of both the innate and adaptive immune responses.

The current study aimed to the measurements of absolute lymphocyte subpopulations of patients convalescent from COVID-19 pneumonia. Inclusion criteria were: a) adults (age 18 years or more) of either gender; and b) past infection of the lower respiratory tract by COVID-19 the last six months as this was defined by the attending physicians. Exclusion criteria were: infection by the human immunodeficiency virus; neutropenia, blood collected from 46 convalescent patients (30 men and 16 women) and from 25 comparators (16 men and 9 women) and was immediately processed for flow cytometry. Comparisons between convalescent patients and healthy controls were done by the Mann Whitney U test.

The main difference in the lymphocyte subpopulations between patients convalescent from COVID-19 and healthy volunteers was the significant increases of the absolute counts of NKT-cells, of the expression of HLA-DR on circulating CD14-monocytes; and of the antibody IgG titers of anti-nucleocapsid antibodies.

In conclusion, the present study showed that during the first six months of convalescence from COVID-19 patients present with significant modulation of several features of both the innate and adaptive immune responses. More research is needed on the immune alterations of convalescent patients.

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Εισαγωγικά

Από τον Δεκέμβριο του 2019, η ανθρωπότητα ζεί την εμφάνιση ενός ταχέως μεταδιδόμενου νέου κορωναϊού¹. Ο νέος ιός ονομάστηκε SARS-CoV-2, προκαλεί αναπνευστική νόσο, την πνευμονία νέου κορωναϊού (new coronavirus pneumoniae ή NCP), ενώ η νόσος που εκδηλώνεται από την εγκατάσταση του SARS-CoV-2 στον ανθρώπινο οργανισμό ονομάστηκε από τον ΠΟΥ Coronavirus Disease 2019 (COVID-19).

Φυσιολογία του SARS-COV-2

Ο SARS-COV-2 ανήκει στην οικογένεια Coronaviridae οι οποίοι χαρακτηρίζονται από ένα μονόκλωνο θετικό ριβονουκλεϊνικό οξύ (RNA) και είναι ιδιαίτερα επιρρεπείς στις μεταλλάξεις που οδηγούν σε γενετική μετατόπιση (drift) και αποφυγή από την ανοσολογική αναγνώριση του ξενιστή². Συνεπώς ο νέος κορωνοϊός διαταράσσει την ανοσολογική ομοιόσταση, γεγονός που οδηγεί σε μειωμένη ανταπόκριση του ανοσοποιητικού ρυθμιστικού συστήματος και της λειτουργικότητας των μακροφάγων, καθώς και σε παραλλαγές στις υποομάδες των λεμφοκυττάρων³.

Μορφολογικά, η ακίδα (S) πρωτεΐνη που παράγεται από τον ιό SARS-CoV-2 και υπάρχει στην επιφάνεια του ιού, είναι ένα μεγάλο μόριο πυκνά γλυκοσυλιωμένο που είναι κρίσιμο για τη διάδοση και την παθογένεια του ιού. Μοιράζεται 80% ομόλογη

αλληλουχία αμινοξέων με τον ιό SARS-CoV S και περιλαμβάνει δύο λειτουργικές υποομάδες: την S1 και την S2.

Στην S1 υπομονάδα (η οποία διαιρείται σε τομείς A, B, C, και D) βρίσκεται η receptor binding domain (RBD), μια περιοχή σύνδεσης του ιού με το μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτενσίνης τύπου 2 (ACE2), το οποίο χρησιμοποιείται σαν υποδοχέας για την είσοδο του ιού σε κύτταρα στόχους. Προκειμένου να γίνει η δέσμευση της RBD περιοχής με τον αντίστοιχο υποδοχέα, γίνονται διάφορες διαμορφωτικές αλλαγές στην επιφάνεια της S1 υπομονάδας, με αποτέλεσμα περιοχές καθοριστικής σημασίας να εκτίθενται για τη σύνδεση της S1 υπομονάδας μέσω της RBD με τον υποδοχέα ACE2 στο κύτταρο ξενιστή, είτε μέσω της κυτταροπλασματικής είτε μέσω της ενδοσωματικής οδού. Τα αντισώματα που στρέφονται εναντίον της περιοχής δέσμευσης υποδοχέα (RBD) της ακίδας πρωτεΐνης μπορούν να επηρεάσουν την αλληλεπίδρασή της με τον υποδοχέα ACE2 και να αποτρέψουν την είσοδο ιού στο κύτταρο ξενιστή. Τα αντισώματα που στρέφονται εναντίον επιτόπων εκτός της RBD μπορούν επίσης να ασκήσουν αντιϊικές λειτουργίες μέσω άλλων μηχανισμών.

Η S2 υπομονάδα αποτελείται από το πεπτιδίο σύντηξης FP, και για να εισέλθει ο ιός στα κύτταρα πρέπει να πραγματοποιηθεί μια πρωτεϊνική διάσπαση της πρωτεΐνης S με πρωτεάσες των κυττάρων του ξενιστή, απορρίπτεται η πρωτεΐνη S1, απελευθερώνεται το πεπτιδίο σύντηξης, ενεργοποιείται η υπομονάδα S2, και ξεκινάει η σύντηξη του φακέλου με την μεμβράνη του κυττάρου του ξενιστή ⁴.

Η δέσμευση της πρωτεΐνης S με τον υποδοχέα ξενιστή έχει ως αποτέλεσμα σημαντικές αλλαγές στη μοριακή διαμόρφωση. Η πρωτεΐνη S έχει κρίσιμη λειτουργία στην είσοδο κυττάρου ξενιστή και, ως εκ τούτου, είναι ένας κύριος στόχος για έρευνα

εμβολίων και προσπάθειες εξουδετέρωσης ιού (VN) που προκαλούνται από αντισώματα ⁵.

Μεταδοτικότητα του SARS-COV-2

Παρά τις πρώτες αναφορές, πρόσφατες μελέτες υπολόγισαν τον αριθμό αναπαραγωγής του (R_0) σε 5,7 και ο χρόνος διπλασιασμού του ιού είναι 2,3-3,3 ημέρες, υποδεικνύοντας την υψηλή μεταδοτικότητά του, που δικαιολογεί την ταχεία εξάπλωσή του σε όλο τον κόσμο και την πρόκληση πανδημίας. Ενώ οι περισσότεροι ασθενείς με COVID-19 βιώνουν μια ήπια κλινική πορεία της νόσου, σοβαρές περιπτώσεις διατρέχουν υψηλό κίνδυνο ταχείας ανάπτυξης συνδρόμου σοβαρής οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS) ιδιαίτερα εντός 7-14 ημερών από την έναρξη των συμπτωμάτων ⁶ που συχνά οδηγεί σε οξεία αναπνευστική ανεπάρκεια με υψηλά ποσοστά θνητότητας σε σύντομο χρονικό διάστημα (20 φορές υψηλότερο από αυτό των μη σοβαρών ασθενών με COVID-19)⁷. Το ποσοστό θνητότητας από τη νόσο COVID-19 μπορεί να φτάσει συνολικά το 2,3% ⁸ ενώ σε άτομα με σοβαρή νόσο κυμαίνεται από 10% έως 40% ^{9,10}

Ανοσοαπάντηση στην COVID-19 λοίμωξη

Με βάση τα δεδομένα που υπάρχουν, η διέγερση της ανοσοαπάντησης στη νόσο από SARS-COV-2 εξελίσσεται σε δύο φάσεις: μία αρχική αμυντική φάση από ανοσιακούς μηχανισμούς, και μία δεύτερη φλεγμονώδους αιτιολογίας καταστροφική φάση¹¹.

Από τη στιγμή που ο ιός SARS-COV-2 θα εισέλθει στον οργανισμό, η φυσική ανοσία είναι η πρώτη άμυνα του οργανισμού στην επίθεση του ιού. Τα ανοσοκύτταρα της φυσικής ανοσίας δραστηριοποιούνται για παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών προκειμένου να αναχαιτίσουν τον πολλαπλασιασμό του ιού, ενεργοποιώντας συγχρόνως την ανοσολογική απάντηση και της επίκτητης ανοσίας.¹² Οι υποδοχείς αναγνώρισης (pattern recognition receptors) PRRs περιλαμβάνουν τους TLR3, TLR7, TLR8, MDA-5 και τους RIGI υποδοχείς, οι οποίοι παράγονται από δένδριτικά και μακροφάγα κύτταρα των ιστών και ανιχνεύουν συντηρημένες μικροβιακές δομές τις λεγόμενες pathogen-associated molecular patterns (PAMPs).^{13,14} Το αποτέλεσμα είναι η ενεργοποίηση παραγόντων μεταγραφής για την παραγωγή τύπου I ιντερφερονών (IFNs) (IFN-α/β) οι οποίες σε συντονισμό με τους PRRs υποδοχείς έχουν τον κρίσιμο ρόλο να στείλουν σήμα στην φυσική και επίκτητη αντιϊκή απόκριση, ήτοι διέγερση των natural killer (NK) κυττάρων, των μακροφάγων καθώς και παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών.^{15,16}

Έτσι, αν και από τη στιγμή που ο ιός θα εισέλθει στο κύτταρο αντιγράφεται και απελευθερώνεται από τα κύτταρα του ξενιστή, ένα υποσύνολο των ιών φαγοκυτταρώνεται από αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα όπως μακροφάγα ή δένδριτικά κύτταρα, ενώ τα κατακερματισμένα ιικά αντιγόνα παρουσιάζονται σε Τ βοηθητικά (Th) κύτταρα τα οποία αλληλεπιδρούν, ενεργοποιώντας έτσι τα Β κύτταρα. Τα ενεργοποιημένα Β κύτταρα μετατρέπονται σε Β πλασματοκύτταρα και Β κύτταρα μνήμης, τα οποία έχουν την ιδιότητα να παράγουν στην επιφάνειά τους υποδοχείς με υψηλή συγγένεια σύνδεσης για το αρχικό αντιγόνο το οποίο οδήγησε στην παραγωγή τους. Σαν συνέπεια εκκρίνουν και αντισώματα IgM, IgA και IgG ειδικά έναντι των ειδικών αντιγόνων.

Κάποια από αυτά τα αντιγόνα παρουσιάζουν και μια λειτουργική ικανότητα εξουδετέρωσης του ιού, καθώς προσκολλώνται ιδιαίτερα σε επιφανειακές περιοχές και δή στην RBD περιοχή, εμποδίζοντας έτσι την αλληλεπίδραση του ιού με τα κύτταρα - ξενιστές και την είσοδό τους σε αυτά.

Η παραγωγή αντισωμάτων από την έναρξη της λοίμωξης COVID-19 μέχρι την εμφάνιση της πιθανής ανοσίας.

Η κλασσική ανοσοαπόκριση στους ιούς περιλαμβάνει την παραγωγή IgM αντισωμάτων, ακολουθεί η παραγωγή IgA και μετά η παραγωγή των IgG. Υπάρχει εν τούτοις διάσταση απόψεων μεταξύ των ερευνητών για το αν γίνεται πρώτα η παραγωγή IgM αντισωμάτων και ακολουθεί η παραγωγή των IgG, ή εάν παράγονται από την αρχή συγχρόνως IgM και IgG, ενώ οι Long et al.¹⁷ υποστηρίζουν ότι με βάση τους ασθενείς που έλεγξαν, τα IgM μπορούν να παραχθούν πριν, ταυτόχρονα, ή και μετά την παραγωγή των IgG αντισωμάτων.

Η παραγωγή των IgM και IgG ξεκινά την 1η εβδομάδα από την μόλυνση, είναι ανιχνεύσιμη σε υψηλά επίπεδα κατά τη 2η εβδομάδα, και υπάρχει ένας μέσος χρόνος ορομετατροπής περίπου 12 ημέρες. Τα IgM και IgG αντισώματα αυξάνονται απότομα 6-7 ημέρες μετά την έναρξη του πυρετού σε ασθενείς με επιβεβαιωμένη λοίμωξη από τον ιό SARS-CoV-2, εν τούτοις τα IgM αντισώματα μειώνονται πιο γρήγορα σε σχέση με τα IgG. Η εμφάνιση των IgA προσδιορίζεται την ίδια χρονική περίοδο με τα IgM, ενώ η παραγωγή των IgG κορυφώνεται την 3η εβδομάδα και είναι πιο ισχυρή και πιο παρατεταμένη σε σχέση με την IgM απόκριση.

Μελέτες έδειξαν, ότι οι ασθενείς που ανέκαμψαν από τη νόσο COVID-19, ανέπτυξαν προστατευτικά εξουδετερωτικά αντισώματα κατά του SARS-CoV-2,

αυξάνοντας την ελπίδα για την ανάπτυξη αποτελεσματικής θεραπείας με βάση τα αντισώματα.

Παρά το γεγονός ότι υπήρξαν μερικές μελέτες που εξέτασαν την ευρεία ανοσολογική άμυνα έναντι του COVID-19, η σαφής εικόνα των προσαρμοστικών ανοσοκυττάρων που συνεργικά επηρεάζουν αυτήν την ασθένεια μέσω της απόκρισης αντισωμάτων έχει ελάχιστα μελετηθεί.

Οι ανοσολογικές αποκρίσεις των βλεννογόνων σε μολυσματικούς παράγοντες ενορχηστρώνονται και ρυθμίζονται από κύτταρα με εξειδικευμένες λειτουργίες, που περιλαμβάνουν συμβατικά δενδριτικά κύτταρα (cDCs), DCs που προέρχονται από μονοκύτταρα (moDCs), πλασμακυτταροειδή DC (pDCs) και μακροφάγα, ενώ τέτοιου είδους δυσρυθμισμένες αποκρίσεις οδηγούν δυνητικά σε σύνδρομο χαρακτηριστικού COVID-19, όπως σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS), σύνδρομο απελευθέρωσης κυτταροκινών (CRS) και λεμφοπενία.

Σε μελέτη¹⁸ αναφέρονται τέσσερις πιθανοί μηχανισμοί δράσης κατά του σοβαρού οξέος αναπνευστικού συνδρόμου στη νόσο COVID-19. Σύμφωνα με το άρθρο, κατά την είσοδο του SARS-CoV-2 σε ένα κύτταρο ξενιστή γίνεται συγχώνευση μεμβράνης, προκαλούμενη από την αλληλεπίδραση μεταξύ της SARS-CoV-2 ακίδας γλυκοπρωτεΐνης και του υποδοχέα ενζύμου μετατροπής της αγγειοτενσίνης 2 (ACE2) του κυττάρου ξενιστή, είτε μέσω της κυτταροπλασματικής είτε μέσω της ενδοσωματικής οδού. Τα αντισώματα που στρέφονται εναντίον της περιοχής δέσμευσης υποδοχέα (RBD) της ακίδας πρωτεΐνης μπορούν να επηρεάσουν την αλληλεπίδρασή της με τον υποδοχέα ACE2 και να αποτρέψουν την είσοδο ιού στο κύτταρο ξενιστή. Τα αντισώματα που στρέφονται ενάντια επιτόπων εκτός της RBD μπορούν επίσης να ασκήσουν αντιϊικές λειτουργίες μέσω άλλων μηχανισμών. Η

σχετική σημασία των διαφόρων αυτών λειτουργιών στη διάσωση ασθενών από μια ενεργή λοίμωξη SARS-CoV-2 είναι άγνωστη. Είναι σημαντικό ότι οι προσδιορισμοί εξουδετέρωσης που χρησιμοποιούνται γενικά για τον χαρακτηρισμό των υπερανοσοποιητικών προϊόντων μετρούν μόνο έναν από τέσσερις μηχανισμούς και δεν σχετίζονται απαραίτητα με τους άλλους.¹⁸

Χαρακτηρισμός κυττάρων μυελικής σειράς σε COVID-19

Αναλύσεις με κυτταρομετρία ροής μονοπύρηνων κυττάρων περιφερικού αίματος (PBMCs) από συμπτωματικούς ασθενείς με COVID-19 έχουν δείξει σημαντική εισροή παραγόντων διέγερσης κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων (GM-CSF), ενεργοποιημένων CD4 + T κυττάρων και CD14 + HLA-DR10 φλεγμονώδη μονοκύτταρα (IM).¹⁹ Είναι σημαντικό ότι αυτές οι ανοσολογικές υπογραφές παρακολουθούν την εξέλιξη της κλινικής νόσου.

Ένα ποσοστό των CD8 + T κυττάρων τόσο σε υγιή άτομα όσο και σε ασθενείς με COVID-19 μπορεί να αναγνωρίσει αντιγόνο από το SARS-CoV-2 ^{20,21}. Εν τούτοις, τα CD8 + T κύτταρα συχνά εμφανίζουν εξασθενημένους φαινοτύπους σε αυτήν τη νόσο ²², μαζί με σημαντικά μειωμένους αριθμούς κυττάρων σε ορισμένους βαριά νοσούντες ασθενείς. Τα γεγονότα αυτά εγείρουν ανησυχίες σχετικά με την αποτυχία των κυττάρων CD8 + T να μεσολαβούν στην κυτταρική προστασία κατά τη διάρκεια της κορύφωσης της λοίμωξης.^{23,24} Αντίθετα, υπάρχουν σαφείς ενδείξεις ότι η θεραπεία με αντισώματα χρησιμοποιώντας πλάσμα αναρρωσάντων COVID-19 ασθενών - convalescent plasma (CP)- ήταν αποτελεσματική για ορισμένους ασθενείς με σοβαρή νόσο COVID-19, γεγονός που υποδηλώνει την ύπαρξη προστατευτικών εξουδετερωτικών αντισωμάτων σε άτομα που ανάρρωσαν από αυτή τη νόσο.²⁵

Πράγματι, παρόμοια με τους ασθενείς που έχουν μολυνθεί από SARS και αναπνευστικό σύνδρομο της Μέσης Ανατολής (MERS) ^{26,27}, οι περισσότεροι ασθενείς με COVID-19 αναπτύσσουν μια ειδική για τον ιό αντισωματική απόκριση στον SARS-CoV-2. ²⁸ Ωστόσο, υπάρχουν μεγάλα κενά στην κατανόηση του τρόπου με τον οποίο τα T κύτταρα ρυθμίζουν την αποτελεσματική παραγωγή αντισωμάτων καθώς και τη μακροχρόνια χυμική ανοσολογική προστασία στο COVID-19.

Τα ανθρώπινα περιφερειακά CD4 + T κύτταρα μπορούν να χαρακτηριστούν ως πρόδρομα (CCR7 + CD45RA +), κεντρικής μνήμης (CCR7 + CD45RA-) και κύτταρα εκτελεστικής μνήμης (effector - memory cells) που αποκρίνονται διαφορετικά κατά τη διάρκεια της επανέκθεσης του αντιγόνου.²⁹ Ασθενείς αναρρώσαντες από SARS εμφάνισαν σε ακολουθία CD4 + T κύτταρα μνήμης που θα μπορούσαν να ενισχυθούν από την ακίδα πρωτεΐνη του ιού ³⁰. Πειράματα σε ποντίκια έδειξαν επίσης ότι η ενίσχυση των CD4 + T κυττάρων μνήμης μπορεί να προστατεύσει τα ποντίκια από τη μόλυνση από SARS και MERS.³¹ Η καλύτερη κατανόηση αυτών των κυττάρων μνήμης CD4 + T σε αναρρώσαντες από COVID-19 ασθενείς θα μπορούσε να βοηθήσει στην ανάπτυξη μακροχρόνιας προστασίας ξενιστή σε αυτήν τη νόσο.

Τα CD4 + T βοηθητικά κύτταρα (Tfh) είναι σημαντικά για την υψηλή αντισωματική απόκριση και τον επιτυχή εμβολιασμό κατά τη διάρκεια της λοίμωξης.³² Διαφορετικά από άλλα υποσύνολα γενεαλογίας κυττάρων T4, αυτά τα κύτταρα εξειδικεύονται στην παροχή βοήθειας σε B κύτταρα για ποιοτική αντίδραση βλαστικού κέντρου - germinal center (GC) reaction.³³ Τα ανθρώπινα περιφερειακά CXCR5 + κυκλοφορούντα Tfh (cTfh) κύτταρα έχουν παρόμοιο προφίλ και λειτουργικότητα με τα ομόλογα τους σε δευτερογενή λεμφοειδή όργανα.³⁴ Πρόσφατη ανάλυση μονοκυττάρων αποκάλυψε επίσης την ύπαρξη κυττάρων Tfh στο υγρό βρογχοκυψελιδικής πλύσης (BALF) ασθενών με σοβαρή νόσο COVID-19. ³⁵ Τα

κύτταρα cTfh μπορούν περαιτέρω να οριστούν ως κύτταρα κεντρικής μνήμης ή effector memory κύτταρα, με βάση την έκφραση των CCR7 και PD-1.³⁶ Ειδικότερα για τα CCR7^{lo}PD-1 + effector memory-like cTfh κύτταρα στην περιφερική κυκλοφορία, μπορούν να προάγουν απόκριση αντισωμάτων έναντι νέας έκθεσης του αντιγόνου.³⁷ Αντίστοιχα, τα υποσύνολα CXCR3 + των cTfh κυττάρων ταξινομήθηκαν ως κύτταρα cTfh1, συσχετίζονται θετικά με αποκρίσεις εξουδετερωτικών αντισωμάτων κατά τη διάρκεια μόλυνσης από HIV και προκαλούν ειδική για τον ιό απόκριση κυττάρων B κατά τον εμβολιασμό της γρίπης.^{38,39} Σε αντίθεση, τα ρυθμιστικά T κύτταρα (Tfr) μπορούν να καταστέλλουν την απόκριση GC που απαιτείται για το σχηματισμό high-affinity αντισωμάτων.^{40,41} Το ανοσολογικό προφίλ αυτών των σχετιζόμενων με Tfh κυττάρων στο COVID-19 είναι σε μεγάλο βαθμό άγνωστο. Επομένως, υπάρχει επείγουσα ανάγκη να κατανοήσουμε το ρόλο αυτών των κυττάρων στην COVID-19 λοίμωξη.

Σε μελέτη των Fang Gong et al.⁴² εδείχθη ότι σε ασθενείς που έχουν αναρρώσει από COVID-19, τα περιφερικά CD4 + βοηθητικά T κύτταρα ενεργοποιήθηκαν περισσότερο ως τελεστικά κύτταρα μνήμης (effector memory cells). Οι ασθενείς που ανάρρωσαν είχαν σε μεγαλύτερη συχνότητα effector memory cTfh κύτταρα. Ένα υποσύνολο κυττάρων cTfh, CXCR3 + cTfh1 κυττάρων, συσχετίζεται θετικά με ειδικούς τίτλους IgG και IgM του ιού στο πλάσμα σε αναρρώσαντες ασθενείς. Οι ασθενείς που νόσησαν βαριά εμφάνισαν υψηλότερες συχνότητες κυττάρων Tem και Tfh-em και χαμηλότερες συχνότητες κυττάρων Tcm, Tfh-cm και Thaiive από αναρρώσαντες ασθενείς που διαγνώστηκαν με μέτρια και ήπια νόσο. Αξίζει να σημειωθεί ότι η συχνότητα των κυττάρων Tfh-em συσχετίζεται αρνητικά με το επίπεδο οξυγόνου στο αίμα (PaO₂ / FiO₂, mmHg), και αυτά τα κύτταρα μπορεί να συμβάλλουν στην παραγωγή αντισωμάτων IgG.

Τα κύτταρα CD4 + T μνήμης παρέχουν ανώτερη προστασία κατά την επαναμόλυνση από ιούς. Η αύξηση των effector memory–like CD4+ T cells 2 έως 4 εβδομάδες μετά την κάθαρσή τους από ιούς δείχνει ότι τα CD4 + T κύτταρα ενδέχεται να ανταποκρίνονται ενεργά στο αναμορφωμένο μικροπεριβάλλον ξενιστή μετά το COVID-19, για παρατεταμένη χρονική περίοδο. Οι αποκρίσεις μπορεί να περιλαμβάνουν την κάθαρση λανθάνοντος SARS-CoV-2 στα κύτταρα της δεξαμενής ή τον σχηματισμό απόκρισης μνήμης που ζει στους ιστούς (T_{rm}) στους πνεύμονες ή σε άλλους κατεστραμμένους ιστούς.

Αυξημένη συχνότητα των cT_{fh}-em και cT_{fh}1 κυττάρων σε αναρρώσαντες από COVID-19 ασθενείς συνδέεται με την παραγωγή αντισωμάτων ή κλινικά χαρακτηριστικά ⁴²,

Τα κύτταρα CXCR3 + cT_{fh}1 συσχετίζονται θετικά με το μέγεθος των ειδικών τίτλων αντισωμάτων SARS-CoV-2. Τα περισσότερα IgG ειδικά για το ανθρώπινο SARS-CoV-2 εμφανίζουν έντονη δραστηριότητα στην εξουδετέρωση του ιού. ^{43,44}

Το CXCL11, ο σύνδεσμος/προσδέτης με την υψηλότερη συγγένεια δέσμευσης με το CXCR3, συσσωρεύεται σε ασθενείς με ανάρρωση COVID-19. Αναφορές δείχνουν ότι οι άλλοι 2 CXCR3 προσδέτες, CXCL9 και CXCL10, παράγονται σε μεγάλο βαθμό και στους ενεργούς ασθενείς ή στους ασθενείς που έχουν αναρρώσει με COVID-19.⁴⁵

Τα δεδομένα έδειξαν ότι η συχνότητα των κυττάρων cT_{fh}-em είναι κατά προτίμηση υψηλότερη και η συχνότητα των κυττάρων cT_{fh}-cm είναι χαμηλότερη σε ασθενείς που αναρρώνουν σε σύγκριση με υγιή άτομα, συνοδευόμενα από παρόμοια αποτελέσματα σε κύτταρα T_{em} και T_{cm}. Παρατηρήθηκε επίσης ότι η αναλογία των ασθενών που παρήγαγαν SARS-CoV-2 IgG ή IgA αντισώματα ήταν υψηλότερη σε ασθενείς που είχαν προηγουμένως διαγνωστεί με σοβαρή νόσο.⁴² Αυτό το αποτέλεσμα υποδηλώνει

ότι η αλλαγή τάξης Ig σε IgG ή / και IgA και συνεχής απόκριση GC που απαιτεί συμμετοχή ενεργοποιημένων κυττάρων Tfh σε δευτερογενή λεμφοειδή όργανα μπορεί να είναι απαραίτητη για ανάρρωση από σοβαρή νόσο COVID-19.

Τα κύτταρα cTfh-em συσχετίζονται αρνητικά με τα καταγεγραμμένα PaO₂ / FiO₂. Αυτά τα δεδομένα όχι μόνο υποστηρίζουν την έννοια της αυξημένης συχνότητας των cTfh-em κυττάρων σε αναρρώσαντες από σοβαρή μορφή της νόσου ασθενείς, αλλά επίσης υποδεικνύουν ότι το χαμηλό οξυγόνο στο αίμα, το οποίο μπορεί να προκαλέσει υποξία, μπορεί να έχει μεγάλο αντίκτυπο στην ομοιόσταση των κυττάρων cTfh-em σε ασθενείς μετά το COVID-19.

Θεραπευτική προσέγγιση της νόσου COVID-19

Η διαχείριση του COVID-19 υπήρξε ως επί το πλείστον υποστηρικτική μέχρι σήμερα, όπως η παροχή συμπληρωματικού οξυγόνου σε περιπτώσεις με ήπια ασθένεια και η χρήση extracorporeal membrane oxygenation για ασθενείς με κρίσιμη εκδήλωση της νόσου.⁴⁶ Η αποτελεσματικότητα ορισμένων ειδικών φαρμάκων συμπεριλαμβανομένων των αντι-ϊικών και αντι-HIV παραγόντων (remdesivir, favipiravir)²⁵ και Lopinavir/Ritonavir και άλλων φαρμάκων και θεραπευτικών στρατηγικών για το COVID-19 όπως τα αντιμυλοειδή φάρμακα (χλωροκίνη και υδροξυχλωροκίνη), ένας συνδυασμός υδροξυχλωροκίνης και αζιθρομυκίνης⁴⁷ και λοπιναβίρης + ριτοναβίρης + ιντερφερόνης-βήτα βρίσκονται ακόμη υπό διερεύνηση.^{48,49} Ενώ ορισμένα από αυτά τα φάρμακα έχουν αποδειχθεί αποδειχθεί ευεργετικά, δεν υπάρχουν ακόμη αρκετά κλινικά στοιχεία που να αποδεικνύουν την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητά τους. Επομένως, η θεραπεία παραμένει προκλητική.

Λαμβάνοντας υπόψη την απουσία συγκεκριμένων αποδεδειγμένων ως προς την αποτελεσματικότητα προληπτικών και θεραπευτικών επιλογών, δόθηκε επίσης προσοχή στις κλασικές και εμπειρικές παρεμβάσεις ως επιλογή για τη θεραπεία ασθενών με COVID-19.⁵⁰ Ερευνητές και ιατροί έχουν καταφύγει στη χρήση πλάσματος που περιέχει ειδικά αντισώματα SARS-CoV-2 από αναρρώσαντες δότες για τη θεραπεία σοβαρών περιπτώσεων COVID-19.

Στα τέλη του 19ου αιώνα, η μεταφορά αντισωμάτων χρησιμοποιήθηκε για την καταπολέμηση βακτηριακών τοξινών πριν από την ανακάλυψη αντιμικροβιακών φαρμάκων, ωστόσο, έχει εφαρμοστεί για να παρέχει παθητική ανοσία έναντι πολλών άλλων μολυσματικών ασθενειών που σχετίζονται με διαφορετικούς μικροοργανισμούς από την εποχή που δεν υπήρχε διαθέσιμος θεραπευτικός παράγοντας, υψηλός κίνδυνος μόλυνσης ή όχι αρκετός χρόνος για να αποκτήσει ο οργανισμός ενεργή ανοσία λόγω της ταχείας εξέλιξης της νόσου.^{51,52}

Στις 25 Μαρτίου 2020, η Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων ενέκρινε τη χρήση CP για την COVID-19 λοίμωξη στο πλαίσιο της νέας κατηγορίας φαρμάκων για έρευνα έκτακτης ανάγκης και όχι για κλινική χρήση ρουτίνας.^{53,54,55}

Η χορήγηση πλάσματος από αναρρώσαντες ασθενείς- convalescent plasma- (CP) συνιστάται επίσης ως επείγουσα επέμβαση κατά τη διάρκεια της ισπανικής γρίπης, της γρίπης των πτηνών H5N1, του ιού του Δυτικού Νείλου, του SARS, του MERS και της επιδημίας του Έμπολα, η οποία αποδείχθηκε επωφελής σε πολλές περιπτώσεις μειώνοντας το χρόνο νοσηλείας στο νοσοκομείο και τον ρυθμό θνητότητας.

Αν και τα αποτελέσματα των περιορισμένων τυχαιοποιημένων μελετών ελέγχου (RCTs) έδειξαν ότι η CP δεν μπορεί να μειώσει σημαντικά τη θνητότητα, ορισμένες μη-RCTs και μελέτες κατά περίπτωση διαπίστωσαν ότι η CP μπορεί να βοηθήσει τους ασθενείς να βελτιώσουν τα κλινικά συμπτώματα, να καθαρίσουν τον ιό και να μειώσουν τη θνητότητα ειδικά για ασθενείς με COVID-19 εντός δέκα ημερών από την ασθένεια.⁵⁴ Μελέτη έδειξε ότι η μετάγγιση πλάσματος από αναρρώσαντες από τη νόσο COVID-19 συνέβαλε στη βελτίωση των κλινικών αποτελεσμάτων των ασθενών, συμπεριλαμβανομένης της μείωσης της διάρκειας της παραμονής στο νοσοκομείο, της ανάγκης για μη επεμβατικό μηχανικό αερισμό και διασωλήνωση, μιας στατιστικά σημαντικής μείωσης των βαθμολογιών APACHE II καθώς και τη μείωση της σοβαρότητας της νόσου όσον αφορά τη βαθμολογία SOFA και την αύξηση του PaO₂ / FiO₂ και τέλος, της μείωσης του ποσοστού θνητότητας που ήταν σημαντικά χαμηλότερο στις περιπτώσεις με λιγότερα σοβαρή ARDS (PaO₂ / FiO₂ πάνω από 200).⁵⁵ Ο αριθμός των θανάτων και των απαλλαγμένων από COVID-19 ασθενών με σοβαρό ARDS (PaO₂ / FiO₂ κάτω των 100) οι οποίοι είχαν νοσήσει σοβαρά ήταν ίσος, τόσο στις ομάδες παρέμβασης όσο και στις ομάδες ελέγχου της μελέτης, ενισχύοντας την υπόθεση της αποτελεσματικότητας της CP στα πρώιμα στάδια της νόσου. Ο λόγος μπορεί να έγκειται στην ενεργοποίηση των μακροφάγων. Μελέτες δείχνουν ότι οι ασθενείς με COVID-19 ενδέχεται να υποστούν ενεργοποίηση μακροφάγων που σχετίζεται με τη μετανάστευση των έμφυτων ανοσοκυττάρων σε πνευμονικούς ιστούς προκαλώντας φλεγμονή και πνευμονική βλάβη.⁵⁶ Η αναστολή αυτής της ανοσολογικής οδού μπορεί να είναι χρήσιμη για την αποτροπή των κυτταροκινών και της πνευμονικής βλάβης, όπως υποστηρίχθηκε επίσης σε μια πρόσφατη μελέτη, η οποία ανέφερε μια αυξανόμενη ρύθμιση των χημειοκινών, κυρίως εντός των πρώτων 7 ημερών από την έναρξη των συμπτωμάτων σε ασθενείς με COVID-19.⁵⁷ Ομοίως, σε

σοβαρές οξείες αναπνευστικές λοιμώξεις από άλλους ιούς, όπως H1N1 και SARS-CoV στους οποίους CP χορηγήθηκε νωρίς μετά την έναρξη των συμπτωμάτων, οδήγησε σε μείωση της θνητότητας σε σύγκριση με εκείνους που έλαβαν εικονικό φάρμακο ή δεν τους χορηγήθηκε θεραπεία.⁵⁸ Επιπλέον, παρατηρήθηκε μια διαφορά στο ποσοστό θνητότητας σε ασθενείς με λοίμωξη H1N1 που έλαβαν CP νωρίτερα σε σύγκριση με εκείνους που το έλαβαν αργότερα κατά την πορεία της νόσου τους.⁵⁹ Επομένως, η μετάγγιση CP σε πρώιμα στάδια της νόσου COVID-19 μπορεί να αναστέλλει τη μετανάστευση των ενδογενών ανοσοκυττάρων και τη βλάβη των πνευμόνων.

Το FDA συνέστησε⁶⁰ να χρησιμοποιείται CP με τίτλο αντισώματος εξουδετέρωσης ιού (VN) $\geq 1:160$ για θεραπευτική μετάγγιση. Αν και μέθοδοι VN με ζωντανό ιό θεωρούνται το πρότυπο, δεν είναι ευρέως διαθέσιμες, διότι είναι δύσκολες και δύσχρηστες μέθοδοι και απαιτούν εργαστήριο βιοασφάλειας επιπέδου 3. Δοκιμασίες με ψευδοτύπο ιού είναι ασφαλή για χρήση σε περιβάλλον βιοασφάλειας επιπέδου 2 και έχουν τη δυνατότητα να προσδιορίσουν αποκρίσεις σε συγκεκριμένες ιϊκές πρωτεΐνες στόχους. Εν τούτοις, απαιτείται κυτταρική καλλιέργεια και συντήρηση κατάλληλων κυτταρικών σειρών. Έτσι, αυτές οι δοκιμασίες δεν ενσωματώνονται εύκολα στη διαθέσιμη υποδομή δοκιμών δωρητών. Στο βαθμό που οι τίτλοι VN στο μεγαλύτερο μέρος του πλάσματος του δότη δεν είναι γνωστοί πριν από τη μετάγγιση, απαιτείται μια πιο ευέλικτη μέθοδος για τον εντοπισμό κατάλληλων δοτών CP. Τα δεδομένα δείχνουν σαφώς ότι οι τίτλοι IgG anti-RBD και anti-ECD χρησιμεύουν ως σημαντικό υποκατάστατο για in vitro δραστηριότητα VN. Ένα σημαντικό κλάσμα των αναρρωσάντων δοτών πλάσματος μπορεί να έχουν τίτλους VN κάτω από το συνιστώμενο από το FDA όριο των $\geq 1:160$. Η δύσπνοια, η νοσηλεία και η υψηλότερη σοβαρότητα της νόσου συσχετίστηκαν με υψηλότερο τίτλο VN. Είναι σημαντικό ότι ένα

μικρό ποσοστό ασυμπτωματικών ατόμων έχουν αντισώματα εξουδετέρωσης ιών, συμπεριλαμβανομένων ορισμένων με τίτλο $\geq 1:160$.⁵

Σε μελέτη των Eric Salazar et al.⁵, η κλινική βελτίωση ήταν λιγότερο συχνή μεταξύ των ασθενών που έλαβαν μηχανική ενίσχυση με οξυγόνο ανά πάσα στιγμή ή ήταν ηλικίας ≥ 70 ετών. Η θεραπεία με CP και remdesivir είχε σαν αποτέλεσμα παρόμοια αποτελέσματα μεταξύ των ασθενών με βάση τις απαιτήσεις οξυγόνωσης και την ηλικία. Αναλύθηκαν τα γονιδιώματα του μολυσματικού στελέχους SARS-CoV-2 τόσο από τους δότες όσο και από τους δέκτες. Στη μελέτη παρατηρήθηκαν λίγες διαφορές στις συμπερασματικές αλληλουχίες αμινοξέων των στελεχών δότη και δέκτη πλάσματος, ενώ δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της σοβαρότητας της νόσου και του γονότυπου στελέχους μόλυνσης.

Οι περισσότεροι από τους δότες και τους αποδέκτες πλάσματος στην μελέτη είχαν αίμα τύπου O (25/34, 74%). Οι αρχικοί δότες, οι οποίοι έγιναν επανειλημμένα δότες, ήταν ομάδας αίματος O. Επειδή η συμβατότητα ABO ήταν απαίτηση για επιλογή παραλήπτη στις αρχές της μελέτης, πολλοί από τους πρώτους παραλήπτες ήταν επίσης τύπου O. Τα δεδομένα δεν αντικατοπτρίζουν υψηλότερο ποσοστό αίματος τύπου A σε ασθενείς με COVID-19.

Σε άλλη μελέτη των Ventura A. Simonovich et al.,⁶¹ η χορήγηση CP δεν είχε ως αποτέλεσμα σημαντικό κλινικό όφελος - δεν μείωσε τη θνητότητα, ούτε βελτίωσε άλλα κλινικά αποτελέσματα την ημέρα 30 - σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο σε ασθενείς με σοβαρή πνευμονία από Covid-19. Ειδικές αντιδράσεις μετά την έγχυση, όπως καρδιακή υπερφόρτωση που σχετίζεται με μετάγγιση και οξεία πνευμονική βλάβη που σχετίζεται με μετάγγιση ήταν δύσκολο να εκτιμηθούν και να διαφοροποιηθούν από την εξέλιξη του Covid-19 σε αυτό το φάσμα ασθενών με σοβαρή πνευμονία.

Στη μελέτη, περισσότερο από το 95% των μεταμοσχευμένων μονάδων πλάσματος CP είχαν συνολικό τίτλο αντισωμάτων αντι-SARS-CoV-2 τουλάχιστον 1: 800, και ότι ο όγκος του πλάσματος που χορηγήθηκε είχε συντελεστή διόρθωσης ανάλογα με το βάρος του συμμετέχοντος. Όλοι οι συμμετέχοντες στη μελέτη ασθενείς είχαν σοβαρή πνευμονία Covid-19. Ως εκ τούτου, κανένα συμπέρασμα δεν πρέπει να επεκταθεί σε άλλες κλινικές ομάδες, συμπεριλαμβανομένων ασθενών με ήπιες έως μέτριες περιπτώσεις Covid-19 ή ασθενών με απειλητική για τη ζωή ασθένεια. Ο μέσος χρόνος από την έναρξη των συμπτωμάτων έως την εξέλιξη σε αναπνευστική ανεπάρκεια είναι περίπου 7 ημέρες.

Η χορήγηση πλάσματος από αναρρώσαντες ασθενείς -convalescent plasma (CP)- με υψηλούς τίτλους αντισωμάτων κατά του SARS-CoV-2 σε ηλικιωμένους ενήλικες ασθενείς με SARS-CoV-2 εντός 72 ωρών από την έναρξη των συμπτωμάτων, μείωσε τον κίνδυνο εξέλιξης της νόσου.⁶² Η μελέτη έδειξε μια δόσοεξαρτώμενη επίδραση των IgG σε χορήγηση CP . Το πλάσμα με τίτλους IgG 1: 3200 ή υψηλότερο μείωσε τον κίνδυνο σοβαρής αναπνευστικής νόσου κατά 73%. Οι «σούπερ δωρητές» με τίτλους IgG 1: 12.800 ή υψηλότερους και ίσως ανοσοποιημένα άτομα στο μέλλον θα μπορούσαν να συμβάλουν στην οικοδόμηση ενός θεραπευτικού οπλοστασίου. Μεταξύ των δοτών πλάσματος στη μελέτη, το 71% αυτών με τίτλους 1:3200 ή υψηλότερους, είχαν νοσηλευτεί. Δεδομένου ότι οι υψηλοί τίτλοι IgG μπορεί να διατηρηθούν για μήνες, οι νοσοκομειακοί ασθενείς με υψηλούς τίτλους πρέπει να αναγνωριστούν για μελλοντικές δωρεές πλάσματος.

Σε τυχαίοποιημένη μελέτη των María Elvira Balcells, et al.,⁶³ τα συμμετέχοντα άτομα ήταν συμπτωματικοί με COVID-19 λοίμωξη ασθενείς, οι οποίοι εισήχθησαν για νοσηλεία εντός μιας εβδομάδος από την αρχή των συμπτωμάτων τους, μη διασωληνωμένοι, αλλά με παράγοντες κινδύνου για εξέλιξη της νόσου. Στη μία ομάδα

ασθενών χορηγήθηκε στο αρχικό στάδιο της εισαγωγής τους πλάσμα από αναρρώσαντες ασθενείς και επιπρόσθετα από την υπόλοιπη υποστηρικτική αγωγή, ενώ στους υπόλοιπους ασθενείς της μελέτης δεν έγινε χορήγηση πλάσματος, εκτός εάν η εξέλιξη της νόσου ήταν κλινική επιδείνωση, οπότε εκτός της υπόλοιπης υποστηρικτικής αγωγής χορηγήθηκε και πλάσμα. Η μελέτη δεν έδειξε σημαντική διαφορά αναφορικά με την θνητότητα, την ανάγκη διασωλήνωσης ή την παρατεταμένη νοσηλεία μεταξύ της άμεσης χορήγησης πλάσματος από αναρρώσαντες ασθενείς - convalescent plasma (CP)- και της χορήγησης πλάσματος μόνο σε περίπτωση κλινικής επιδείνωσης.

Ένα άλλο στοιχείο που παρατηρήθηκε κατά την μελέτη αυτή ήταν ότι η χορήγηση CP δεν παρείχε αρκετή αντιϊική προστασία, καθώς οι ασθενείς που μεταγγίσθηκαν δεν παρουσίασαν σημαντική αύξηση των επιπέδων SARS-CoV-2 IgG τις ημέρες 3 και 7 σε σύγκριση με τη φυσική αύξηση των τίτλων IgG σε ασθενείς που δεν μεταγγίσθηκαν, ενώ σχεδόν το 30% των ασθενών δεν ήταν ακόμη οροθετικοί στις 72 ώρες μετά την μετάγγιση, γεγονός που υποδηλώνει ότι ο όγκος του μεταγγισμένου πλάσματος ή η συγκέντρωση αντισωμάτων σε αυτό μπορεί να ήταν ανεπαρκής.

Η πιθανότητα η χυμική ανοσία να μην παίζει σημαντικό ρόλο στο υποσύνολο των ασθενών που έχουν ήδη ξεκινήσει μια εξαιρετικά προ-φλεγμονώδη διεργασία της νόσου και στους οποίους η φλεγμονή και η διεργασία πήξης της νόσου μπορεί να είναι πιο σημαντική από την αντιγραφή του ιού στην εξέλιξη της νόσου,⁶⁴ είναι μια πιθανή εξήγηση σύμφωνα με τους μελετητές για την αποτυχία εύρεσης κλινικού οφέλους από την χορήγηση CP σε αυτούς τους ασθενείς.

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Η λοίμωξη που προκαλείται από το νέο SARS-CoV-2 (γνωστό ως νόσος COVID-19) χαρακτηρίζεται από σημαντικές μεταβολές τόσο της έμφυτης όσο και της επίκτητης ανοσοαπόκρισης. Κατά τη διάρκεια του οξέος σταδίου της νόσου, κυριαρχεί η λεμφοπενία. Παράλληλα, οι ασθενείς δεν έχουν αυξημένους τίτλους ανοσοσφαιρινών IgM και IgG αντι-SARS-CoV-2 κατά την οξεία φάση, αλλά απαιτείται ένα διάστημα δύο έως τριών εβδομάδων για την κορύφωση του τίτλου των αντισωμάτων^{65,66} διαφοροποιώντας έτσι τα έως τώρα γνωστά δεδομένα για άλλες ιογενείς λοιμώξεις¹⁹. Επιπλέον, οι ασθενείς με πνευμονία Covid-19 παρουσιάζουν υπερβολική παραγωγή προ-φλεγμονωδών κυταροκινών από τα κυκλοφορούντα στον οργανισμό τους μονοκύτταρα. Το φαινόμενο αυτό είναι ακόμη πιο έντονο σε περιπτώσεις πνευμονίας που εξελίσσεται σε σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια. Σε αυτούς τους ασθενείς, η έκφραση του ανθρώπινου λευκοκυτταρικού αντιγόνου DR (HLA-DR) στην κυτταρική μεμβράνη των μονοκυττάρων υπολειτουργεί και αυτό θεωρείται ως ελαττωματική παρουσίαση αντιγόνου που συνδέεται άμεσα με τη λεμφοπενία. Αυτές οι ανοσολογικές μεταβολές ανησυχούν για το εάν με την κλινική ανάρρωση υπάρξει και επαναφορά στην πριν φυσιολογική ανοσολογική κατάσταση.

ΣΚΟΠΟΣ

Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η μέτρηση του απόλυτου αριθμού των υποπληθυσμών των λεμφοκυττάρων σε ασθενείς που ανέρρωσαν από πνευμονία COVID-19, και η αξιολόγηση της λειτουργίας των κυκλοφορούντων μονοκυττάρων τους για την παραγωγή κυταροκινών. Επιπλέον, έγιναν συγκρίσεις σχετικά με την χρονική στιγμή έναρξης των συμπτωμάτων της νόσου COVID-19 και της χρονικής στιγμής εμφάνισης σημειολογίας συνδρόμου χρόνιου COVID-19 (LCS).

ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Η μελέτη εγκρίθηκε από την Επιτροπή Δεοντολογίας του Πανεπιστημιακού νοσοκομείου ΑΤΤΙΚΟΝ. Οι συμμετέχοντες ήταν ασθενείς οι οποίοι είχαν νοσήσει με COVID-19 και ανέρρωσαν. Έγινε προφορική ενημέρωση για την μελέτη και με εκούσια έγγραφη συγκατάθεσή τους δήλωσαν να εγγραφούν για συμμετοχή στη μελέτη.

Τα κριτήρια ένταξης ήταν: α) ενήλικες (ηλικίας 18 ετών και άνω) και των δύο φύλων, και β) προηγούμενη λοίμωξη του κατωτέρου αναπνευστικού συστήματος από τον COVID-19 τους τελευταίους έξι μήνες, όπως αυτό ορίστηκε από τους θεράποντες ιατρούς.

Τα κριτήρια αποκλεισμού ήταν:

- Λοίμωξη από τον ιό ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV)
- Ουδετεροπενία (ορίζεται ως αριθμός ουδετεροφίλων μικρότερος από 1.000/mm³,
- Χρόνια λήψη κορτικοστεροειδών (ορίζεται λήψη > 0.4mg/kg βάρους ισοδύναμου πρεδνιζόνης ημερησίως για χρονικό διάστημα μεγαλύτερο των τεσσάρων τελευταίων μηνών).

Υπό άσηπτες συνθήκες, συλλέχθηκαν μετά από φλεβοκέντηση μίας φλέβας 30ml περιφερικού αίματος σε δύο επικαλυμμένα με EDTA σωληνάρια (Becton Dickinson Vacutainer Systems, UK) και σε ένα αποστειρωμένο και pyrogen-free σωληνάριο. Το συλλεχθέν σε σωληνάρια αίμα, υποβλήθηκε άμεσα σε επεξεργασία με κυτταρομετρία ροής και απομόνωση μονοπύρηνων κυττάρων περιφερικού αίματος (PBMCs) και διέγερση κυτταροκινών. Το αίμα που συλλέχθηκε σε αποστειρωμένα σωληνάρια,

διατηρήθηκε σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά και στη συνέχεια φυγοκεντρήθηκε στους 3.000 g για 10 λεπτά. Ο ορός διατηρήθηκε σε κατάψυξη στους -80°C για περαιτέρω ανάλυση.

Πριν από τη συλλογή δειγμάτων, ζητήθηκε από κάθε συμμετέχον στη μελέτη άτομο να συμπληρώσει ένα ερωτηματολόγιο ST/IT.⁶⁷ Οι ακόλουθες πληροφορίες καταγράφηκαν επίσης για κάθε συμμετέχον στη μελέτη άτομο:

Δημογραφικά στοιχεία, συννοσηρότητες και ο δείκτης συννοσηρότητας του Charlson (CCI), σοβαρότητα της νόσησής του/της από COVID-19 σύμφωνα με τον ΠΟΥ⁶⁸, η κλίμακα κλινικής εξέλιξης του ΠΟΥ (CPS) μετά από δύο και τρεις μήνες από την έναρξη της COVID-19 νόσου⁶⁹ και ο ακριβής χρόνος από την έναρξη των συμπτωμάτων της νόσου.

Από υγιείς εθελοντές αντίστοιχα άτομα με την πρώτη ομάδα των αναρρωσάντων συμμετεχόντων ως προς την ηλικία, το φύλο και το CCI, συλλέχθηκε αίμα για να χρησιμοποιηθεί προς σύγκριση με την πρώτη ομάδα.

Τα PBMCs απομονώθηκαν μετά από βαθμιαία φυγοκέντρηση πλήρους αίματος πάνω από Ficoll (Biochrom, Berlin, Γερμανία) σε θερμοκρασία δωματίου για 25 λεπτά στα 1400 g serial. Το στρώμα των μονοπύρηνων κυττάρων αφαιρέθηκε προσεκτικά από τη διαχωριστική επιφάνεια. Μετά από τρεις σειριακές πλύσεις σε παγωμένο PBS (Biowest, Γαλλία) pH 7,2, τα PBMC μετρήθηκαν σε πλάκα Neubauer με αποκλεισμό με Trypan Blue νεκρών κυττάρων. Τα PBMC αραιώθηκαν έπειτα σε RPMI 1640 (Biowest), εμπλουτίστηκαν με 2mM L-γλουταμίνης, 10 mM πυροσταφυλικού, 500μg/ml γενταμικίνης, 100 U / ml πενικιλίνης G, 10% θερμικά απενεργοποιημένου εμβρύου βόειου ορού (Biowest) και διαμοιράστηκαν σε φρεάτια πλάκας 96 θέσεων. Ο

τελικός όγκος ανά φρεάτιο/θέση ήταν 200μl με πυκνότητα 5×10^6 κύτταρα/ml. Τα PBMC εκτέθηκαν εις διπλούν στους 37°C σε 5% CO₂ για 24 ώρες σε 4 ng/ml *Escherichia coli* O55:B5 λιποπολυσακχαρίτη (LPS, Sigma, St. Louis, USA), και για 5 ημέρες σε 5×10^6 μονάδες αποικιών *Candida albicans* απενεργοποιημένες με θερμότητα. Στο τέλος της επώασης, οι πλάκες φυγοκεντρήθηκαν και οι συγκεντρώσεις του παράγοντα άλφα νέκρωσης όγκου (TNFα), ιντερλευκίνης (IL) -1β, IL-6, IL-17A και ιντερφερόνης-γάμμα (IFNγ) μετρήθηκαν σε υπερκείμενα κυττάρων εις διπλούν με μια ενζυμική ανοσοπροσροφητική δοκιμασία (Invitrogen, Vienna, Αυστρία). Τα χαμηλότερα όρια ανίχνευσης ήταν: για TNFα 20 pg / ml. για IL-1β 10 pg / ml; για IL-6 40 pg / ml. για IL-17A 62 pg / ml και για IFNγ 20 pg / ml.

Δοκιμασία κυτταρομετρίας ροής: τα λευκά αιμοσφαίρια επωάστηκαν για 15 λεπτά στο σκοτάδι με αντι-CD3 FITC και αντι-CD19 FITC (ισοθειοκυανική φλουορεσκεΐνη, εκπομπή 525 nm, Beckman Coulter); Με anti-CD4 PE, anti-CD8 PE και anti-CD (16 + 56) PE (phycoerythrin, emission 575nm, Beckman Coulter); και με anti-CD45 PC5 (εκπομπή 667 nm, Beckman Coulter). Οι φθοροσφαίρες (Beckman Coulter) χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των απόλυτων μετρήσεων. Τα λευκά αιμοσφαίρια επωάστηκαν επίσης για 15 λεπτά στο σκοτάδι με τα μονοκλωνικά αντισώματα anti-CD14 FITC, anti-HLA-DR-PE, anti-CD45 PC5 (Beckman Coulter, Μασσαλία, Γαλλία). Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως μέση ένταση φθορισμού (MFI) HLA-DR σε CD45 + CD14 +. Για όλα τα πειράματα, χρησιμοποιήθηκαν ιστοτυπικοί μάρτυρες που χρωματίστηκαν με anti-IgG1 FITC, anti-IgG1 PE και anti-CD45 PC5. Οι πληθυσμοί μονοπύρηνων κυττάρων αποτυπώθηκαν σε ιστόγραμμα CD45/γραμμικής πλευρικής σκέδασης (SSC) ή σε γραμμικό ιστόγραμμα σκέδασης φωτός γραμμικής προς τα εμπρός/SSC. Τα κύτταρα αναλύθηκαν μετά από διήθηση μέσω του

κυτταρομέτρου ροής 5 χρωμάτων CYTOMICS FC500 (Beckman Coulter Co, Miami, Florida).

Η ποιοτική ανίχνευση αντισωμάτων ανοσοσφαιρίνης τάξης G (IgG) έναντι πρωτεΐνης νουκλεοκαψιδίου του SARS-CoV-2 στον ορό πραγματοποιήθηκε με τον προσδιορισμό Abbott SARS-CoV-2 IgG, με το αυτοματοποιημένο σύστημα τυχαίας πρόσβασης Architect I 2000 SR (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιεί τεχνολογία ανοσοπροσδιορισμού μικροσωματιδίων χημειοφωταύγειας (CMIA). Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως δείκτης (S/C) με σύγκριση της χημειοφωταύγειας RLU στην αντίδραση με τον βαθμονομητή RLU. Το όριο ήταν 1,40 Index (S/C).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η μελέτη διεξήχθη μεταξύ Απριλίου και Μαΐου 2021. Κατά τη διάρκεια αυτής της χρονικής περιόδου, ενεγράφησαν για συμμετοχή στη μελέτη 46 πρώην ασθενείς που ανέρρωσαν, και 25 υγιείς εθελοντές. Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά τους παρέχονται στον **Πίνακα 1**. Η κύρια διαφορά στους υποπληθυσμούς λεμφοκυττάρων μεταξύ των ασθενών που ανέρρωσαν από COVID-19 και των υγιών εθελοντών ήταν οι σημαντικές αυξήσεις των απόλυτων μετρήσεων των κυττάρων NKT, της έκφρασης του HLA-DR σε κυκλοφορούντα CD14-μονοκύτταρα, και των τίτλων αντισωμάτων IgG αντι-νουκλεοκαψιδίου (**Εικόνα 3, 5, 7**).

Υπο-αναλύσεις έγιναν εντός των ανακτηθέντων αποτελεσμάτων μεταξύ των αναρρωσάντων ασθενών. Περιελάμβαναν συγκρίσεις απόλυτου αριθμού CD4-λεμφοκυττάρων μεταξύ υγιών εθελοντών και αναρρωσάντων από νόσο COVID-19 (**Εικόνα 1,2,3,4,5,6,7**), μεταξύ αναρρωσάντων ασθενών από νόσο COVID-19 με ένα

τουλάχιστον σύμπτωμα χρόνιου COVID συνδρόμου και αναρρωσάντων χωρίς κανένα σύμπτωμα χρόνιου COVID συνδρόμου [Εικόνα 8,9,10,11,12], και ασθενών με περισσότερο από και λιγότερο από 90 ημέρες από την έναρξη των συμπτωμάτων του COVID-19 (Εικόνα 13,14,15,16,17).

Τα μόνα σημαντικά ευρήματα ήταν οι μικρότεροι αριθμοί φυσικών φονικών κυττάρων (CD45 + CD3-CD16 + CD56 +) μεταξύ ασθενών χωρίς συμπτώματα χρόνιου COVID-19 και εκείνων με συμπτώματα χρόνιου COVID. Παραδόξως, δεν βρέθηκαν σημαντικοί συσχετισμοί μεταξύ των τίτλων IgG των αντι-νουκλεοκαψιδικών αντισωμάτων και του χρόνου από την έναρξη των συμπτωμάτων του COVID-19 και του απόλυτου αριθμού των υποπληθυσμών των λεμφοκυττάρων (Εικόνα 18,19, 20, 21).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα μελέτη έδειξε ότι κατά τη διάρκεια των πρώτων έξι μηνών ανάρρωσης από COVID-19, ασθενείς παρουσίασαν σημαντική μεταβολή των διαφόρων χαρακτηριστικών τόσο της έμφυτης όσο και της επίκτητης ανοσίας.

Η παρουσίαση αντιγόνου εκφράζεται ως η πυκνότητα του HLA-DR στα CD14- μονοκύτταρα. Ο απόλυτος αριθμός των φυσικών φονικών T-κυττάρων αυξάνεται, και ο αριθμός των CD4- και CD8- αποκαθίσταται.

Δύο ακόμα μελέτες έχουν δημοσιευθεί σχετικά με τις ανοσολογικές μεταβολές στους ασθενείς που αναρρώνουν από τη νόσο COVID-19. Η πρώτη μελέτη ανέλυσε 13 ασθενείς και έδειξε αποκατάσταση των CD4- λεμφοκυττάρων. Τα κυκλοφορούντα μονοκύτταρα δεν διεγέρθηκαν για παραγωγή κυτταροκινών, αλλά μετρήθηκαν κυτταροκίνες στο αίμα.⁴²

Η δεύτερη μελέτη περιέγραψε τις αλλαγές στο κύτταρο των CD4-λεμφοκυττάρων και CD4-μονοκυττάρων οκτώ ασθενών που είχαν αναρρώσει σε σύγκριση με τέσσερα υγιή άτομα. Αλλαγές στο επιγένωμα σε επίπεδα χρωματίνης συνδέθηκαν με ενεργοποίηση και εκπαίδευση μονοκυττάρων.⁷⁰

Περισσότερες μελέτες απαιτούνται για την διερεύνηση των ανοσολογικών μεταβολών στους ασθενείς που αναρρώνουν από τη νόσο COVID-19.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Steven Sanche, Yen Ting Lin, Chonggang Xu, Ethan Romero-Severson, Nick Hengartner, and Ruian Ke. High Contagiousness and Rapid Spread of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. *Emerg Infect Dis.* 2020 Jul; 26(7): 1470–1477. doi: 10.3201/eid2607.200282
2. Kikkert, M. (2020). Innate immune evasion by human respiratory RNA viruses. *J. Innate Immun.* 12 (1), 4–20. doi: 10.1159/000503030
3. Merad, M., Martin, J. C. (2020). Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages. *Nat. Rev. Immunol.* 20(6), 355–362. doi: 10.1038/s41577-020-0331-4
4. Walls AC, Tortorici MA, Bosch BJ, Frenz B, Rottier PJM, DiMaio F, et al. Cryo-electron microscopy structure of a coronavirus spike glycoprotein trimer. *Nature.* 2016;531(7592):114–7
5. Eric Salazar , Suresh V Kuchipudi, Paul A Christensen, Todd Eagar, Xin Yi 1 , Picheng Zhao, Zhicheng Jin, S Wesley Long, Randall J Olsen, Jian Chen, Brian Castillo, Christopher Leveque, Dalton Towers, Jason Lavinder, Jimmy Gollihar, Jose Cardona, Gregory Ippolito, Ruth Nissly, Ian Bird, Denver Greenawalt, Randall M Rossi, Abhinay Gontu, Sreenidhi Srinivasan, Indira Poojary, Isabella M Cattadori, Peter J Hudson, Nicole M Josleyn, Laura Prugar, Kathleen Huie,

Andrew Herbert, David W Bernard, John M Dye, Vivek Kapur, James M Musser. “Convalescent plasma anti-SARS-CoV-2 spike protein ectodomain and receptor-binding domain IgG correlate with virus neutralization”. *J Clin Invest* . 2020 Dec 1;130(12):6728-6738. doi: 10.1172/JCI141206

6. Feng Z., Yu Q., Yao S., Luo L., Duan J., Yan Z. Early Prediction of Disease Progression in 2019 Novel Coronavirus Pneumonia Patients Outside Wuhan with CT and Clinical Characteristics. *medRxiv*. 2020
7. Gong J., Ou J., Qiu X., Jie Y., Chen Y., Yuan L. A Tool to Early Predict Severe 2019-Novel Coronavirus Pneumonia (COVID-19): A Multicenter Study using the Risk Nomogram in Wuhan and Guangdong, China. *medRxiv*. 2020
8. Wu Z, McGoogan JM . Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA* 2020 Feb. 24. Epub ahead of print. doi: 10.1001/jama.2020.2648
9. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. China Medical Treatment Expert Group for COVID-19. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med* 2020;382:1708–20
10. Zhou F, Yu T, Du R, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet* 2020;395:1054–62

11. Alberici, F., Delbarba, E., Manenti, C., Econimo, L., Valerio, F., Pola, A., et al. (2020). Management of patients on dialysis and with kidney transplant during SARS-COV-2 (COVID-19) pandemic in Brescia, Italy. *Kidney Int. Rep.* 5 (5), 580–585. doi: 10.1016
12. Koyama, S., Ishii, K. J., Coban, C., Akira, S. (2008). Innate immune response to viral infection. *Cytokine* 43 (3), 336–341. doi: 10.1016/j.cyto.2008.07.009
13. Bowie, A. G., Unterholzner, L. (2008). Viral evasion and subversion of pattern-recognition receptor signalling. *Nat. Rev. Immunol.* 8 (12), 911–922. doi: 10.1038/nri2436
14. Kumar, M., Carmichael, G. G. (1998). Antisense RNA: function and fate of duplex RNA in cells of higher eukaryotes. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62 (4), 1415–1434. doi: 10.1128/MMBR.62.4.1415-1434.1998
15. Murira, A., Lamarre, A. (2016). Type-I interferon responses: from friend to foe in the battle against chronic viral infection. *Front. Immunol.* 7, 609. doi: 10.3389/fimmu.2016.00609
16. Samuel, C. E. (2001). Antiviral actions of interferons. *Clin. Microbiol. Rev.* 14 (4), 778–809. doi: 10.1128/CMR.14.4.778-809.2001

17. Q.-X. Long, X.-J. Tang, Q.-L. Shi, Q. Li, H.-J. Deng, J. Yuan, J.-L. Hu, W. Xu, Y. Zhang, F.-J. Lv, K. Su, F. Zhang, J. Gong, B. Wu, X.-M. Liu, J.-J. Li, J.-F. Qiu, J. Chen, A.-L. Huang , Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat. Med.* 26, 1200–1204 (2020)
18. Niveditha Devasenapathy, Zhikang Ye, Mark Loeb, Fang Fang, Borna Tadayon Najafabadi, Yingqi Xiao, Rachel Couban, Philippe Bégin and Gordon Guyatt. Efficacy and safety of convalescent plasma for severe COVID-19 based on evidence in other severe respiratory viral infections: a systematic review and meta-analysis. *CMAJ* July 06, 2020 192 (27) E745-E755; DOI: <https://doi.org/10.1503/cmaj.200642>
19. Evangelos J Giamarellos-Bourboulis, Mihai G Netea , Nikoletta Rovina, Karolina Akinosoglou, Anastasia Antoniadou, Nikolaos Antonakos , Georgia Damoraki, Theologia Gkavogianni, Maria-Evangelia Adami , Paraskevi Katsaounou, Maria Ntaganou, Magdalini Kyriakopoulou, George Dimopoulos, Ioannis Koutsodimitropoulos, Dimitrios Velissaris, Panagiotis Koufargyris, Athanassios Karageorgos, Konstantina Katrini, Vasileios Lekakis, Mihaela Lupse, Antigone Kotsaki, George Renieris, Danai Theodoulou, Vassiliki Panou, Evangelia Koukaki, Nikolaos Koulouris, Charalambos Gogos, Antonia Koutsoukou. Complex Immune Dysregulation in COVID-19 Patients with Severe Respiratory Failure. *Cell Host Microbe* . 2020 Jun 10;27(6):992-1000.e3. doi: 10.1016/j.chom.2020.04.009. Epub 2020 Apr 21

20. Grifoni A, et al. Targets of T cell responses to SARS-CoV-2 coronavirus in humans with COVID-19 disease and unexposed individuals. *Cell*. 2020;181(7):1489–1501.e15
21. Thevarajan I, et al. Breadth of concomitant immune responses prior to patient recovery: a case report of non-severe COVID-19. *Nat Med*. 2020;26(4):453–455
22. Zheng HY, et al. Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients. *Cell Mol Immunol*. 2020;17(5):541–543
23. Xu Z, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med*. 2020;8(4):420–422
24. Chen G, et al. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *J Clin Invest*. 2020;130(5):2620–2629
25. Shen C, et al. Treatment of 5 critically ill patients with COVID-19 with convalescent plasma. *JAMA*. 2020;323(16):1582–1589
26. Ko JH, et al. Serologic responses of 42 MERS-coronavirus-infected patients according to the disease severity. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2017;89(2):106–111

27. Vijay R, Perlman S. Middle East respiratory syndrome and severe acute respiratory syndrome. *Curr Opin Virol.* 2016;16:70–76]
28. Ni L, et al. Detection of SARS-CoV-2-specific humoral and cellular immunity in COVID-19 convalescent individuals. *Immunity.* 2020;52(6):971–977.e3
29. Sallusto F, Lenig D, Förster R, Lipp M, Lanzavecchia A. Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. *Nature.* 1999;401(6754):708–712
30. Yang LT, et al. Long-lived effector/central memory T-cell responses to severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) S antigen in recovered SARS patients. *Clin Immunol.* 2006;120(2):171–178
31. Zhao J, et al. Airway memory CD4(+) T cells mediate protective immunity against emerging respiratory coronaviruses. *Immunity.* 2016;44(6):1379–1391].
32. Vinuesa CG, Linterman MA, Yu D, MacLennan IC. Follicular helper T cells. *Annu Rev Immunol.* 2016;34:335–368

33. Ueno H, Banchereau J, Vinuesa CG. Pathophysiology of T follicular helper cells in humans and mice. *Nat Immunol.* 2015;16(2):142–152
34. Morita R, et al. Human blood CXCR5(+)CD4(+) T cells are counterparts of T follicular cells and contain specific subsets that differentially support antibody secretion. *Immunity.* 2011;34(1):108–121
35. Bost P, et al. Host-viral infection maps reveal signatures of severe COVID-19 patients. *Cell.* 2020;181(7):1475–1488.e12
36. Chevalier N, et al. CXCR5 expressing human central memory CD4 T cells and their relevance for humoral immune responses. *J Immunol.* 2011;186(10):5556–5568
37. He J, et al. Circulating precursor CCR7(lo)PD-1(hi) CXCR5+CD4+ T cells indicate Tfh cell activity and promote antibody responses upon antigen reexposure. *Immunity.* 2013;39(4):770–781
38. Bentebibel SE, et al. Induction of ICOS+CXCR3+CXCR5+ TH cells correlates with antibody responses to influenza vaccination. *Sci Transl Med.* 2013;5(176):176ra32

39. Koutsakos M, et al. Circulating TFH cells, serological memory, and tissue compartmentalization shape human influenza-specific B cell immunity. *Sci Transl Med.* 2018;10(428):eaan8405
40. Chung Y, et al. Follicular regulatory T cells expressing Foxp3 and Bcl-6 suppress germinal center reactions. *Nat Med.* 2011;17(8):983–988]
41. Linterman MA, et al. Foxp3+ follicular regulatory T cells control the germinal center response. *Nat Med.* 2011;17(8):975–982
42. Fang Gong, Yaping Dai, Ting Zheng, Liang Cheng, Dan Zhao, Hao Wang, Min Liu, Hao Pei, Tengchuan Jin, Di Yu, and Pengcheng Zhou “ Peripheral CD4+ T cell subsets and antibody response in COVID-19 convalescent individuals”. *J Clin Invest.* 2020;130(12):6588-6599. <https://doi.org/10.1172/JCI141054>
43. Ni L, et al. Detection of SARS-CoV-2-specific humoral and cellular immunity in COVID-19 convalescent individuals. *Immunity.* 2020;52(6):971–977.e3
44. Robbiani DF, et al. Convergent antibody responses to SARS-CoV-2 infection in convalescent individuals. *bioRxiv.* <https://doi.org/10.1101/2020.05.13.092619> Published May 22, 2020. Accessed September 23, 2020

45. Yang Y, et al. Plasma IP-10 and MCP-3 levels are highly associated with disease severity and predict the progression of COVID-19. *J Allergy Clin Immunol.* 2020;146(1):119–127.e4
46. Chen L., Xiong J., Bao L., Shi Y. Convalescent plasma as a potential therapy for COVID-19. *The Lancet Infectious Diseases.* 2020;20(4):398–400
47. Lu H. Drug treatment options for the 2019-new coronavirus (2019-nCoV) *Bioscience Trends.* 2020;14(1):69–71
48. Gautret P., Lagier J.-C., Parola P., Meddeb L., Mailhe M., Doudier B. Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2020;105949
49. Sullivan H.C., Roback J.D. Convalescent plasma: therapeutic hope or hopeless strategy in the SARS-CoV-2 pandemic. *Transfus. Med. Rev.* 2020
50. Guan W-j, Ni Z-y, Hu Y, Liang W-h, Ou C-q, He J-x, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *New England journal of medicine.* 2020;382(18):1708-20

51. Zhang L., Pang R., Xue X., Bao J., Ye S., Dai Y. Anti-SARS-CoV-2 virus antibody levels in convalescent plasma of six donors who have recovered from COVID-19. *Aging (Albany NY)* 2020;12(8):6536
52. Duan Y, Liu Q, Zhao S, Huang F, Ren L, Liu L, et al. The Trial of Chloroquine in the Treatment of Corona Virus Disease 2019 (COVID-19) and Its Research Progress in Forensic Toxicology. *Fa yi xue za zhi.* 2020;36(2)
53. Recommendations for investigational COVID-19 convalescent plasma. Silver Spring (MD): US Food and Drug Administration; 2020. Available: www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/investigational-new-drug-ind-or-device-exemption-ide-process-cber/investigational-covid-19-convalescent-plasma-emergency-inds (accessed 2020 Mar. 26)
54. Ying Wang, Pengfei Huo, Rulin Dai, Xin Lv, Shaofei Yuan, Yang Zhang, Yiming Guo, Rui Li, Qian Yu, Kun Zhu. "Convalescent plasma may be a possible treatment for COVID-19: A systematic review". *Int Immunopharmacol.* 2021 Feb;91:107262. doi: 10.1016/j.intimp.2020.107262. Epub 2020 Dec 5
55. Abolghasem Allahyari, Mohsen Seddigh-Shamsi, Mahmoud Mahmoudi, Saeid Amel Jamehdar, Mahnaz Amini, Mahnaz Mozdourian, Zahra Javidarabshahi, Saeed Eslami Hasan Abadi, Shahram Amini, Alireza Sedaghat, Maryam Emadzadeh, Mohammad Moeini Nodeh, Hossein Rahimi, Alireza Bari, Zahra Mozaheb, Mostafa Kamandi, Sajad Ataei Azimi, Mojtaba Abrishami, Arezoo

Akbarian, Parisa Ataei, Negin Allahyari, Sepideh Hasanzadeh, and Neda Saeedian. "Efficacy and safety of convalescent plasma therapy in severe COVID-19 patients with acute respiratory distress syndrome". *Int Immunopharmacol.* 2021 Apr; 93: 107239. Published online 2020 Dec 2. doi: 10.1016/j.intimp.2020.107239

56. Rojas M., Rodríguez Y., Monsalve D.M., Acosta-Ampudia Y., Camacho B., Gallo J.E. Convalescent plasma in Covid-19: Possible mechanisms of action. *Autoimmun. Rev.* 2020;102554

57. Blanco-Melo D., Nilsson-Payant B.E., Liu W.-C., Uhl S., Hoagland D., Møller R. Imbalanced host response to SARS-CoV-2 drives development of COVID-19. *Cell.* 2020

58. Mair-Jenkins J., Saavedra-Campos M., Baillie J.K., Cleary P., Khaw F.-M., Lim W.S. The effectiveness of convalescent plasma and hyperimmune immunoglobulin for the treatment of severe acute respiratory infections of viral etiology: a systematic review and exploratory meta-analysis. *J. Infect. Dis.* 2015;211(1):80–90

59. Luke T.C., Kilbane E.M., Jackson J.L., Hoffman S.L. Meta-analysis: convalescent blood products for Spanish influenza pneumonia: a future H5N1 treatment? *Ann. Intern. Med.* 2006;145(8):599–609

60. US Food & Drug Administration. Recommendations for Investigational COVID-19 Convalescent Plasma. <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/investigational-new-drug-ind-or-device-exemption-ide-process-cber/recommendations-investigational-covid-19--convalescent-plasma>
Accessed June 22, 2020

61. Ventura A. Simonovich, Leandro D. Burgos Pratx, Paula Scibona, María V. Beruto, Marcelo G. Vallone, Carolina Vázquez, Nadia Savoy, Diego H. Giunta, Lucía G. Pérez, Marisa del L. Sánchez, Andrea Vanesa Gamarnik, Diego S. Ojeda, Diego M. Santoro, Pablo J. Camino, Sebastian Antelo, Karina Rainero, Gabriela P. Vidiella, Erica A. Miyazaki, Wanda Cornistein, Omar A. Trabadelo, Fernando M. Ross, Mariano Spotti, Gabriel Funtowicz, Walter E. Scordo, Marcelo H. Losso, Inés Ferniot, Pablo E. Pardo, Eulalia Rodriguez, Pablo Rucci, Julieta Pasquali, Nora A. Fuentes, Mariano Esperatti, Gerardo A. Speroni, Esteban C. Nannini, Alejandra Matteaccio, Hernán G. Michelangelo, Dean Follmann H. Clifford Lane, and Waldo H. Belloso. for the PlasmAr Study Group. "A Randomized Trial of Convalescent Plasma in Covid-19 Severe Pneumonia". February 18, 2021 N Engl J Med 2021; 384:619-629 DOI: 10.1056/NEJMoa2031304

62. Romina Libster, Gonzalo Pérez Marc, Diego Wappner, Silvina Coviello, Alejandra Bianchi, Virginia Braem, Ignacio Esteban, Mauricio T. Caballero, Cristian Wood, Mabel Berrueta, Aníbal Rondan, Gabriela Lescano, Pablo Cruz, Yvonne Ritou, Valeria Fernández Viña, Damián Álvarez Paggi, Sebastián Esperante, Adrián Ferreti, Gastón Ofman, Álvaro Ciganda, B.I.T., Rocío Rodríguez, Jorge Lantos, Ricardo Valentini, Nicolás Itcovici, Alejandra Hintze,

M. Laura Oyarvide, Candela Etchegaray, Alejandra Neira, Ivonne Name, Julieta Alfonso, Rocío López Castelo, Gisela Caruso, Sofía Rapelius, M.S., Fernando Alvez, Federico Etchenique, Federico Dimase, Darío Alvarez, M.S., Sofía S. Aranda, Clara Sánchez Yanotti, Julián De Luca, Sofía Jares Baglivo, Sofía Laudanno, Florencia Nowogrodzki, Ramiro Larrea, María Silveyra, Gabriel Leberzstein, Alejandra Debonis, Juan Molinos, Miguel González, Eduardo Perez, Nicolás Kreplak., Susana Pastor Argüello, Luz Gibbons, Fernando Althabe, Eduardo Bergel, and Fernando P. Polack. for the Fundación INFANT–COVID-19 Group. “Early High-Titer Plasma Therapy to Prevent Severe Covid-19 in Older Adults”. February 18, 2021 N Engl J Med 2021; 384:610-618 DOI: 10.1056/NEJMoa2033700

63. María Elvira Balcells, Luis Rojas, Nicole Le Corre, Constanza Martínez-Valdebenito, María Elena Ceballos, Marcela Ferrés, Mayling Chang, Cecilia Vizcaya, Sebastián Mondaca, Álvaro Huete, Ricardo Castro, Mauricio Sarmiento, Luis Villarroel, Alejandra Pizarro, Patricio Ross, Jaime Santander, Bárbara Lara, Marcela Ferrada, Sergio Vargas-Salas, Carolina Beltrán-Pavez, Ricardo Soto-Rifo, Fernando Valiente-Echeverría, Christian Caglevic, Mauricio Mahave, Carolina Selman, Raimundo Gazitúa, José Luis Briones, Franz Villarroel-Espindola, Carlos Balmaceda, Manuel A. Espinoza, Jaime Pereira, Bruno Nerv. «Early versus deferred anti-SARS-CoV-2 convalescent plasma in patients admitted for COVID-19: A randomized phase II clinical trial». PLOS Medicine. Published: March 3, 2021
<https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003415>

64. Polidoro RB, Hagan RS, de Santis Santiago R, Schmidt NW. Overview: systemic inflammatory response derived from lung injury caused by SARS-CoV-2 infection explains severe outcomes in COVID-19. *Front Immunol.* 2020;11:1626. pmid:32714336
65. McElvaney OJ, McEvoy NL, McElvaney OF, et al. Characterization of the inflammatory response to severe COVID-19 illness. *Am J Resp Crit Care Med*, 2020; 202: 812-821. 2.
66. Secchi M, Bazzigaluppi E, Brigatti C, et al. COVID-19 survival associates with the immunoglobulin response to the SARS-CoV-2 spike receptor binding domain. *J Clin Invest*, 2020; 130: 6366-6378
67. Tran VT, Riveros C, Cleprier B, et al. Development and validation of the long COVID symptom and impact tools, a set of patient-reported instruments constructed from patients' lived experience. *Clin Infect Dis*, 2021: ciab352
68. WHO working group on the clinical characterization and management of COVID-19 infection. A minimal common outcome measure set for COVID-19 clinical research. *Lancet Infect Dis*, 2020; 20: e192-e197
69. <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/concomitant-medications>
70. You M, Chen L, Zhang D, et al. Single-cell epigenome landscape of peripheral immune cells reveals establishment of trained immunity in individuals convalescing from COVID-19. *Nature Cell Biol*, **2021**; 23: 620-630

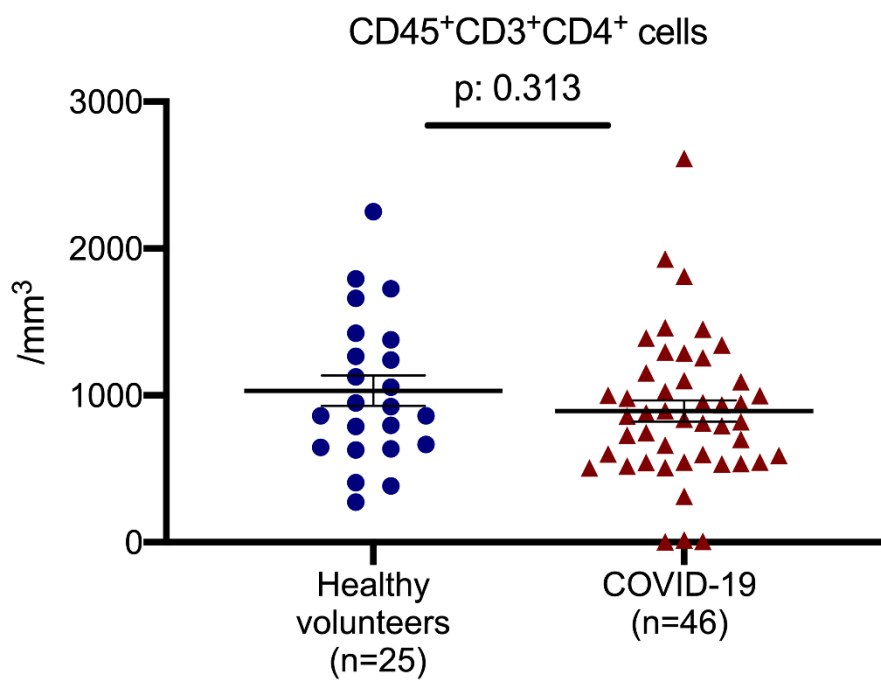
ΠΙΝΑΚΕΣ ΚΑΙ ΕΙΚΟΝΕΣ

Πίνακας 1. Δημογραφικά χαρακτηριστικά των εγγεγραμμένων στη μελέτη

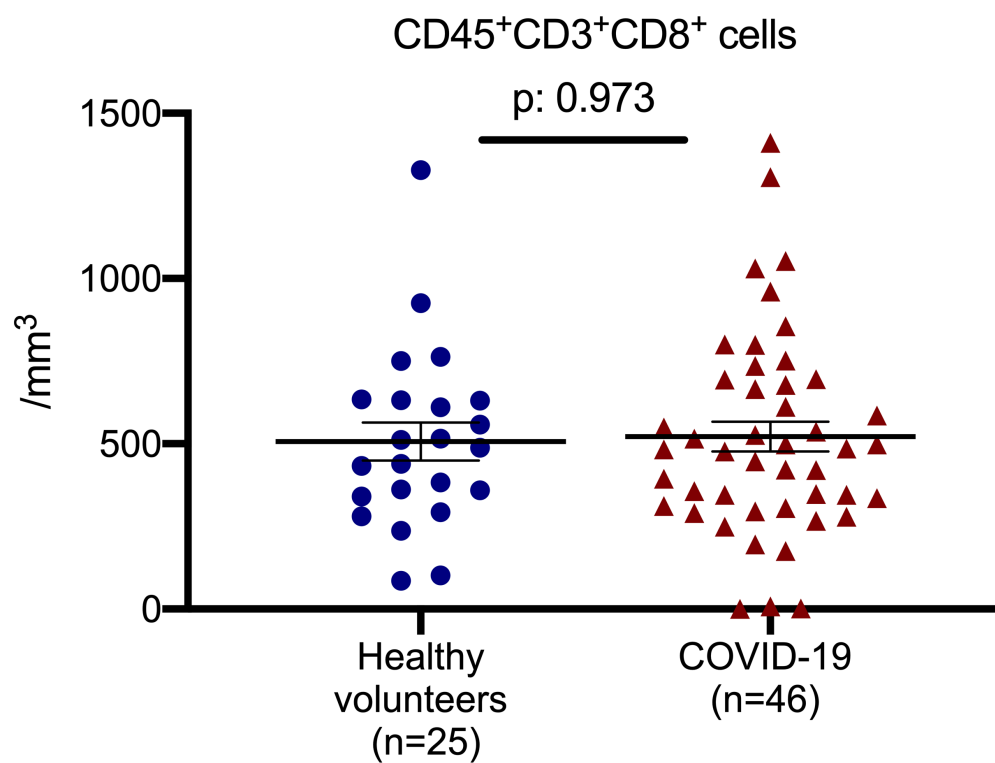
	Υγιείς (n=25)	εθελοντές Αναρρώσαντες (n=46)	ασθενείς p-value
Άνδρες, n (%)	16 (64.0)	30 (62.2)	1.00
Ηλικία, mean (SD)	51.6 (16.6)	49.2 (15.6)	0.543
CCI, mean (SD)	1.60 (2.23)	1.17 (1.70)	0.371
ΠΟΥ COVID-19 ταξινόμηση, n (%)			
Ελαφρά/μέτρια		34 (73.9)	
Σοβαρή		8 (17.4)	
Κρίσιμη		4 (8.7)	
ΠΟΥ-CPS στον 2 ^ο μήνα, n(%)			
ΠΟΥ-CPS=0		33 (71.7)	
ΠΟΥ-CPS=2		7 (15.2)	
ΠΟΥ-CPS=3		6 (13.0)	
ΠΟΥ-CPS στον 3 ^ο μήνα, n (%)			
ΠΟΥ-CPS=0		36 (78.3)	
ΠΟΥ-CPS=2		7 (15.2)	
ΠΟΥ-CPS=3		3 (6.5)	
Μήνες από την έναρξη της νόσου COVID-19 μέχρι την αιμοληψία, median (range)		4 (3-6)	
Long-COVID symptoms, n (%)			
Ανοσμία/αγευσία		9 (19.6)	
Κόπωση		6 (13.0)	
Απώλεια μαλλιών		2 (4.3)	
Ταχυκαρδία		1 (2.2)	
Υποθυρεοειδισμό		1 (2.2)	

Abbreviations CCI: Charlson's Comorbidity Index; CPS: Clinical Progression Scale; SD: standard deviation; WHO: World Health Organization

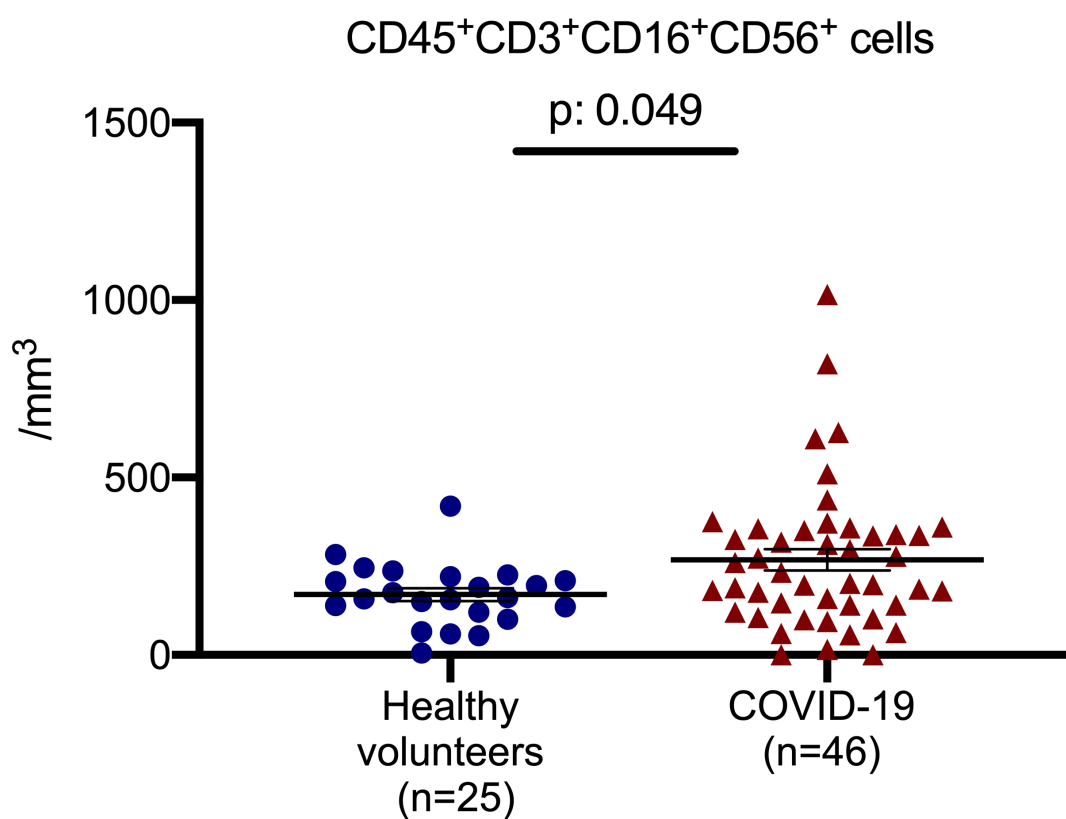
Εικόνα 1. Σύγκριση απόλυτου αριθμού CD45+CD3+CD4+ λεμφοκυττάρων μεταξύ υγιών εθελοντών και αναρρωσάντων από νόσο COVID-19. Δίνεται η τιμή του στατιστικού κριτηρίου σύγκρισης με τη δοκιμασία κατά Mann Whitney U.



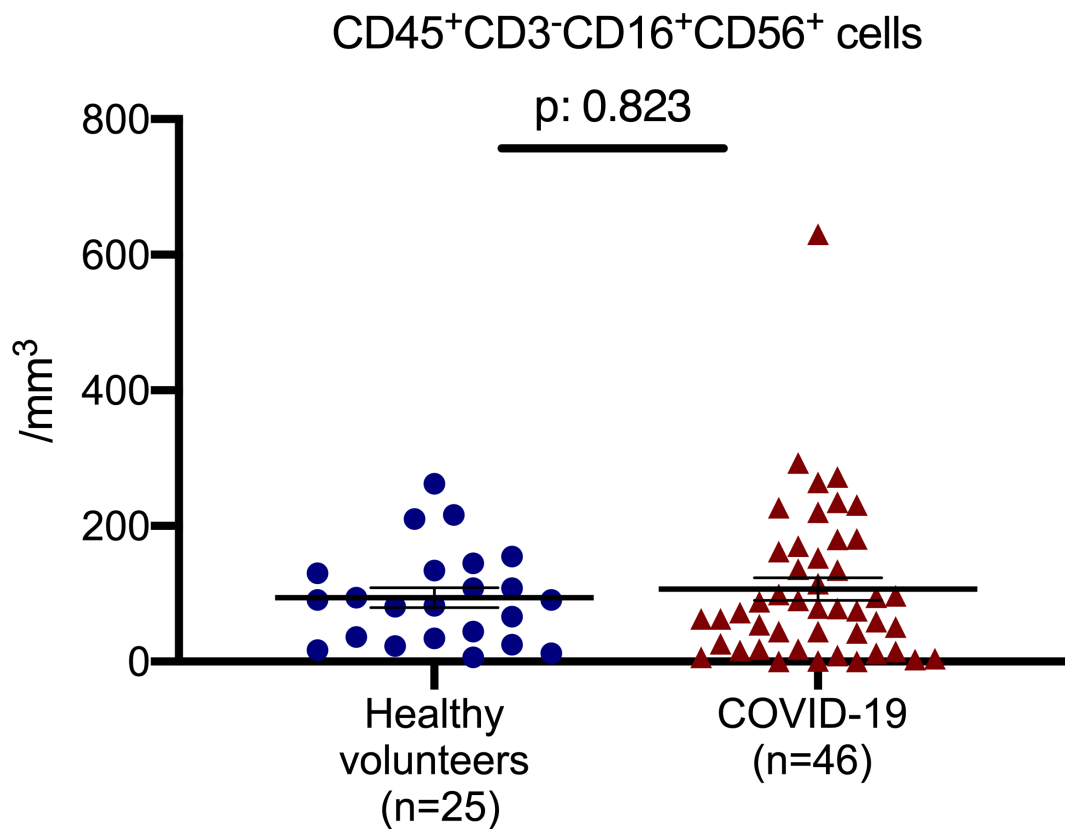
Εικόνα 2. Σύγκριση απόλυτου αριθμού $CD45^+CD3^+CD8^+$ λεμφοκυττάρων μεταξύ υγιών εθελοντών και αναρρωσάντων από νόσο COVID-19. Δίνεται η τιμή του στατιστικού κριτηρίου σύγκρισης με τη δοκιμασία κατά Mann Whitney U.



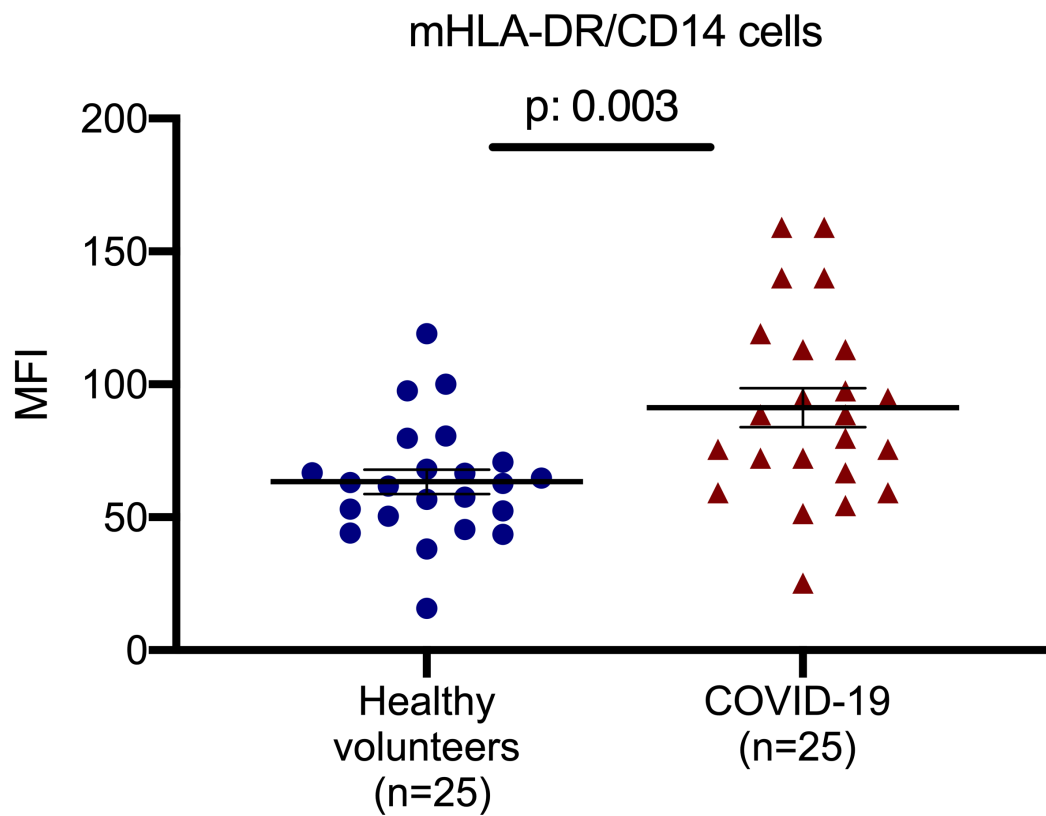
Εικόνα 3. Σύγκριση απόλυτου αριθμού CD45⁺CD3⁺CD16⁺CD56⁺ λεμφοκυττάρων μεταξύ υγιών εθελοντών και αναρρωσάντων από νόσο COVID-19. Δίνεται η τιμή του στατιστικού κριτηρίου σύγκρισης με τη δοκιμασία κατά Mann Whitney U



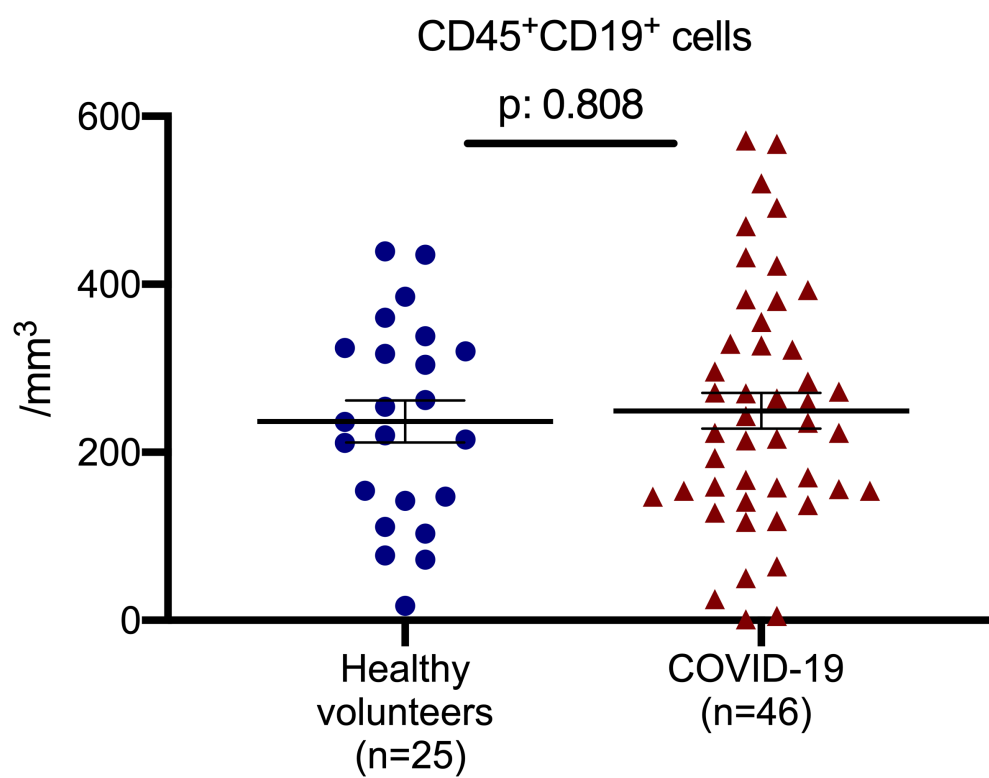
Εικόνα 4. Σύγκριση απόλυτου αριθμού CD45⁺CD3⁻CD16⁺CD56⁺ λεμφοκυττάρων μεταξύ υγιών εθελοντών και αναρρωσάντων από νόσο COVID-19. Δίνεται η τιμή του στατιστικού κριτηρίου σύγκρισης με τη δοκιμασία κατά Mann Whitney U



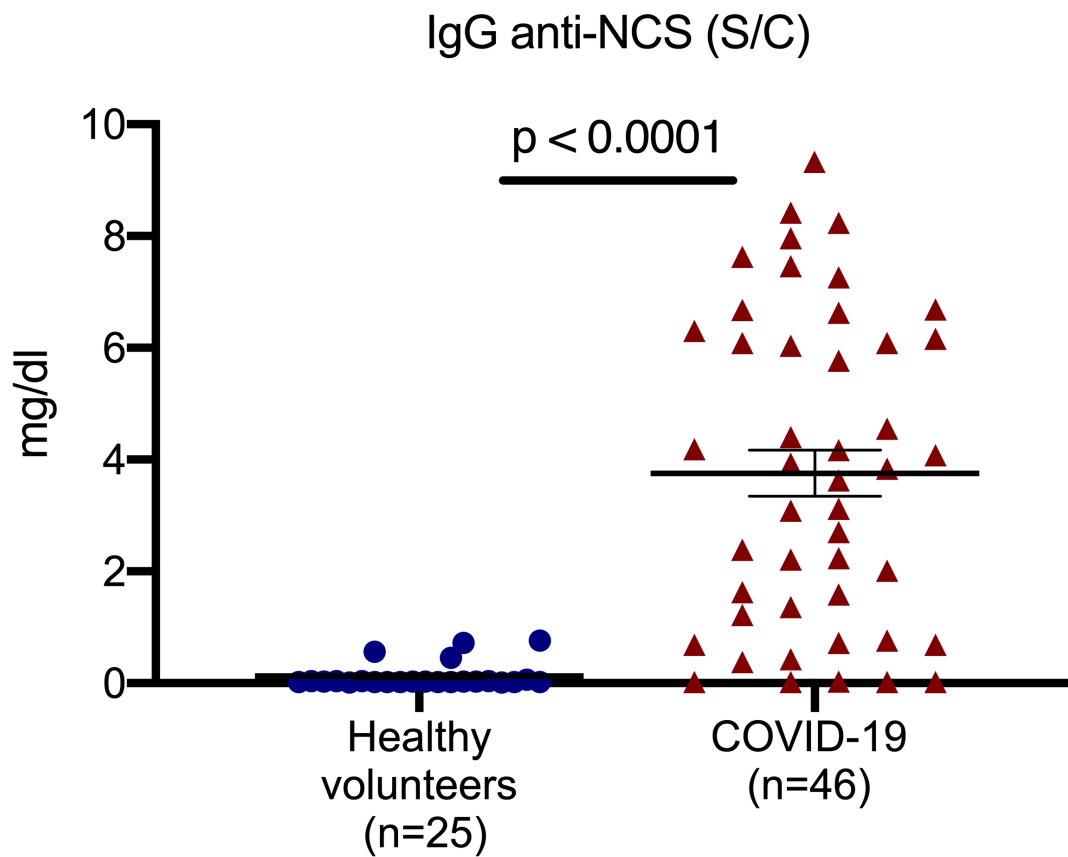
Εικόνα 5. Σύγκριση απόλυτου αριθμού των μονοκυτταρικών πληθυσμών mHLA-DR/CD14 μεταξύ υγιών εθελοντών και αναρρωσάντων από νόσο COVID-19. Δίνεται η τιμή του στατιστικού κριτηρίου σύγκρισης με τη δοκιμασία κατά Mann Whitney U



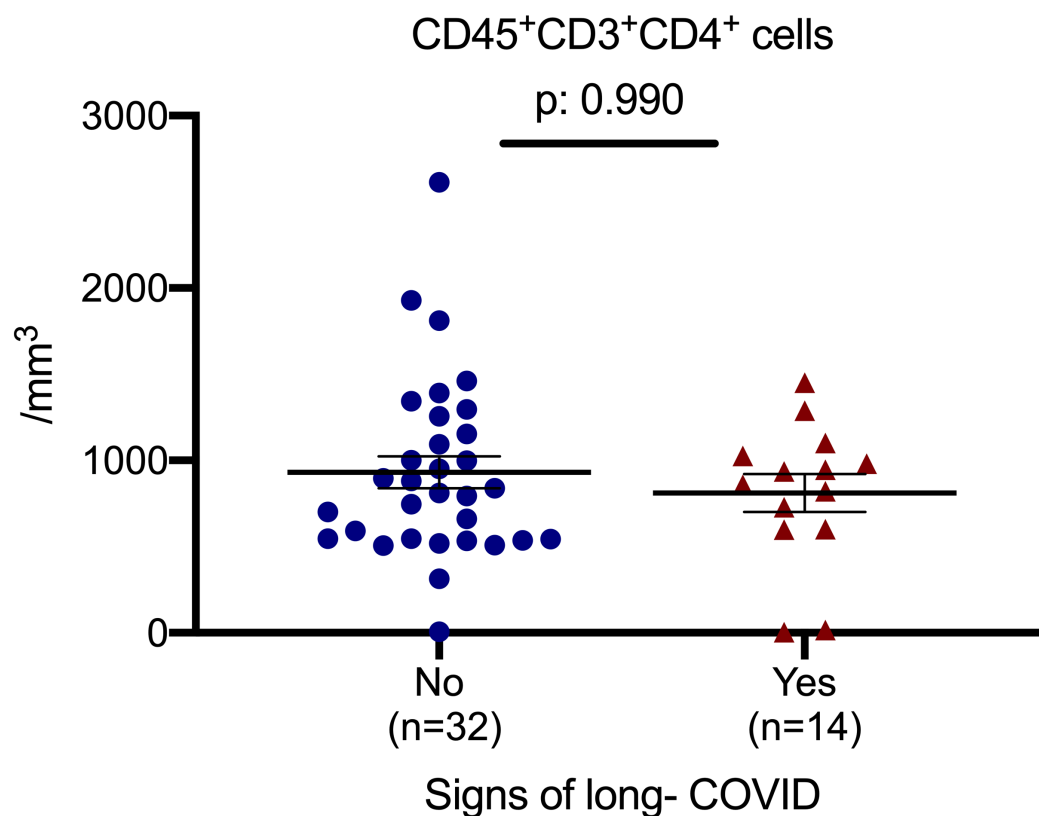
Εικόνα 6. Σύγκριση απόλυτου αριθμού CD45⁺CD19⁺ λεμφοκυττάρων μεταξύ υγιών εθελοντών και αναρρωσάντων από νόσο COVID-19. Δίνεται η τιμή του στατιστικού κριτηρίου σύγκρισης με τη δοκιμασία κατά Mann Whitney U



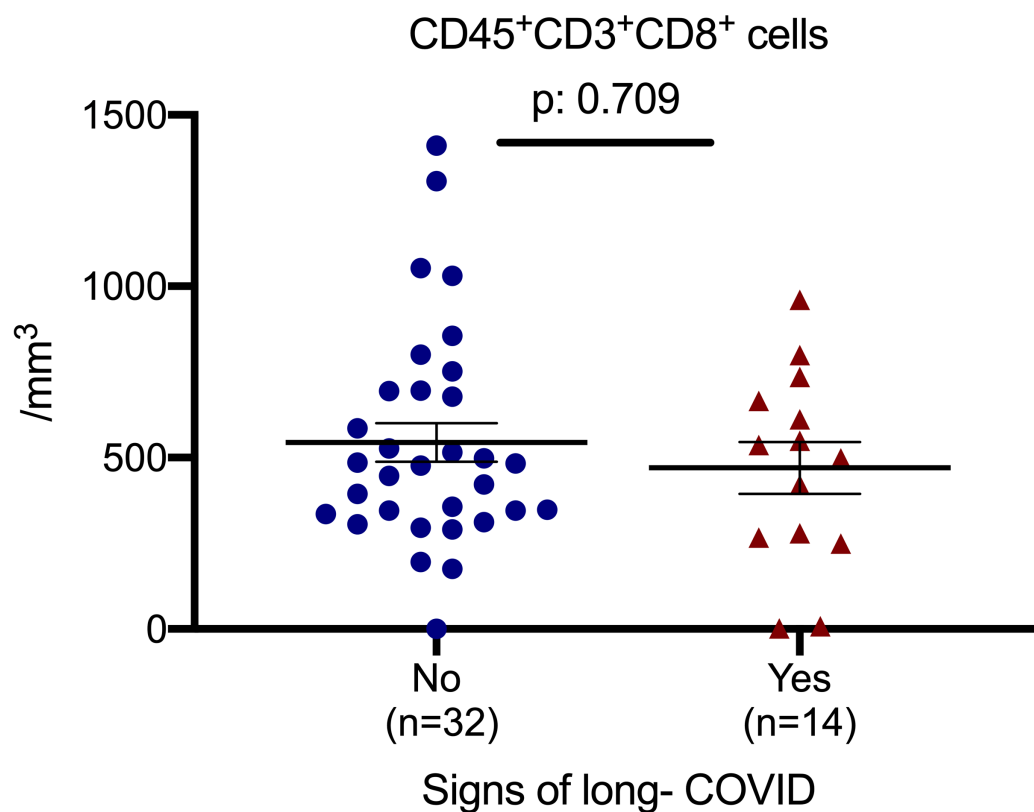
Εικόνα 7. Σύγκριση IgG και anti-NCS αντισωμάτων μεταξύ υγιών εθελοντών και αναρρωσάντων από νόσο COVID-19. Δίνεται η τιμή του στατιστικού κριτηρίου σύγκρισης με τη δοκιμασία κατά Mann Whitney U



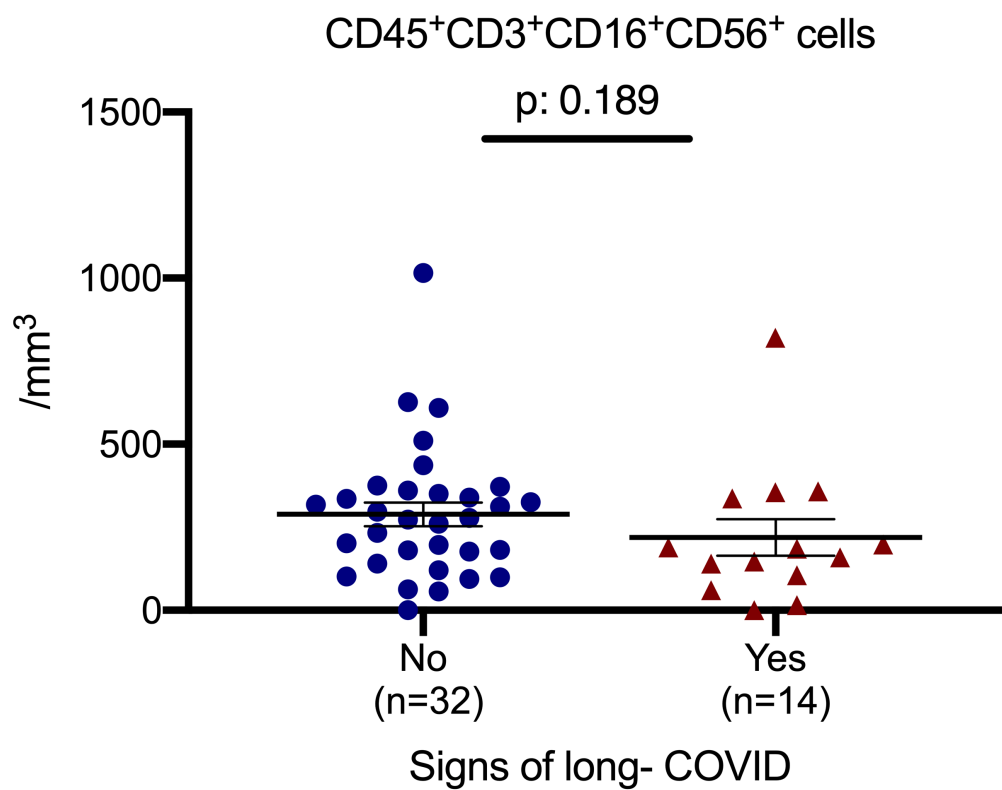
Εικόνα 8. Σύγκριση απόλυτου αριθμού CD45+CD3+CD4+ λεμφοκυττάρων λεμφοκυττάρων μεταξύ αναρρωσάντων από νόσο COVID-19 με ένα τουλάχιστον σύμπτωμα χρόνιου COVID συνδρόμου και αναρρωσάντων χωρίς κανένα σύμπτωμα χρόνιου COVID συνδρόμου. Δίνεται η τιμή του στατιστικού κριτηρίου σύγκρισης με τη δοκιμασία κατά Mann Whitney U.



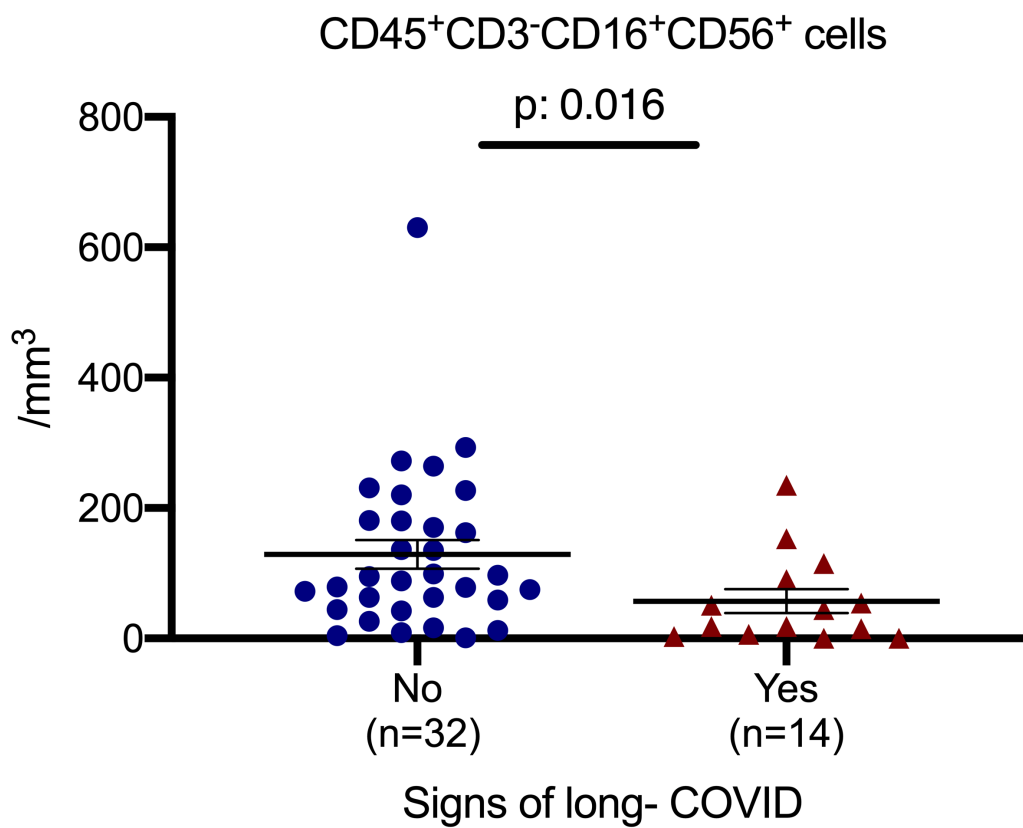
Εικόνα 9. Σύγκριση απόλυτου αριθμού CD45⁺CD3⁺CD8⁺ λεμφοκυττάρων μεταξύ αναρρωσάντων από νόσο COVID-19 με ένα τουλάχιστον σύμπτωμα χρόνιου COVID συνδρόμου και αναρρωσάντων χωρίς κανένα σύμπτωμα χρόνιου COVID συνδρόμου. Δίνεται η τιμή του στατιστικού κριτηρίου σύγκρισης με τη δοκιμασία κατά Mann Whitney U



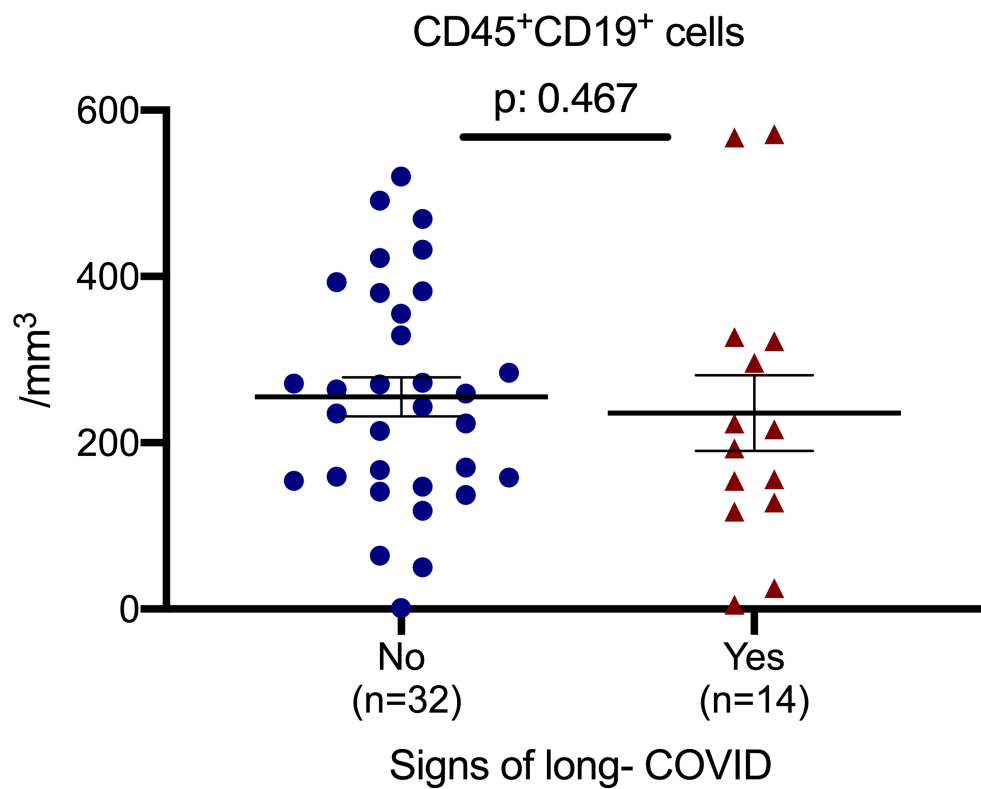
Εικόνα 10. Σύγκριση απόλυτου αριθμού CD45+CD3+CD16+CD56+ λεμφοκυττάρων μεταξύ αναρρωσάντων από νόσο COVID-19 με ένα τουλάχιστον σύμπτωμα χρόνιου COVID συνδρόμου και αναρρωσάντων χωρίς κανένα σύμπτωμα χρόνιου COVID συνδρόμου. Δίνεται η τιμή του στατιστικού κριτηρίου σύγκρισης με τη δοκιμασία κατά Mann Whitney U



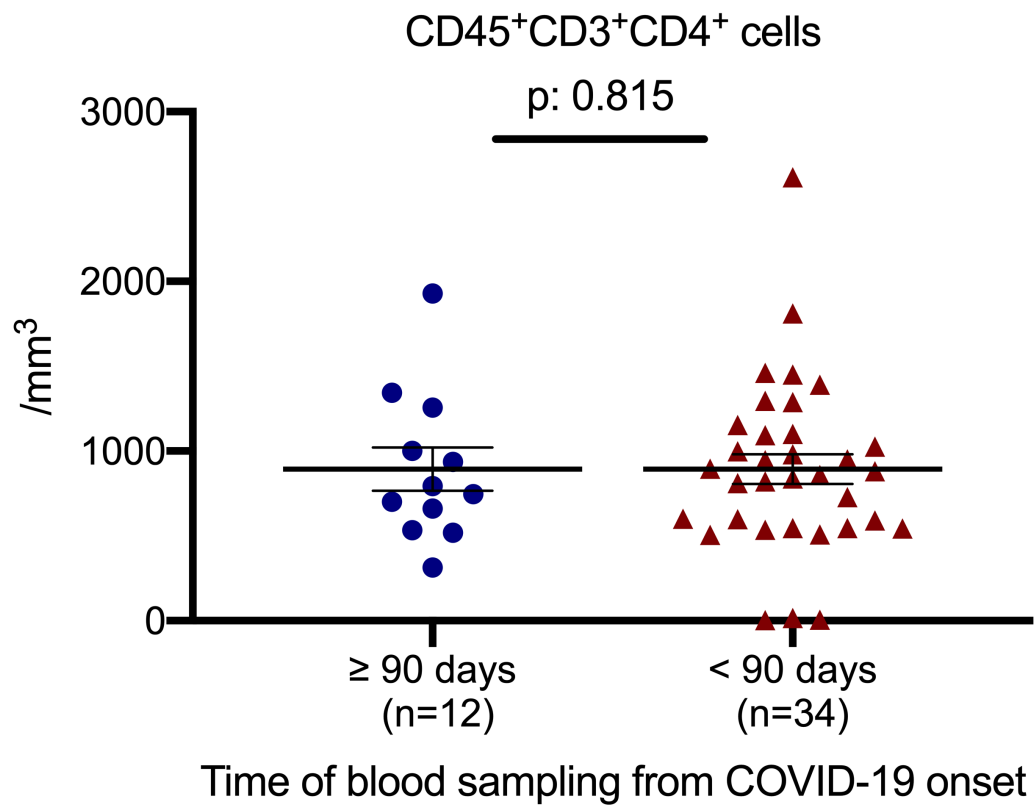
Εικόνα 11. Σύγκριση απόλυτου αριθμού CD45+CD3-CD16+CD56+ λεμφοκυττάρων μεταξύ αναρρωσάντων από νόσο COVID-19 με ένα τουλάχιστον σύμπτωμα χρόνιου COVID συνδρόμου και αναρρωσάντων χωρίς κανένα σύμπτωμα χρόνιου COVID συνδρόμου. Δίνεται η τιμή του στατιστικού κριτηρίου σύγκρισης με τη δοκιμασία κατά Mann Whitney U



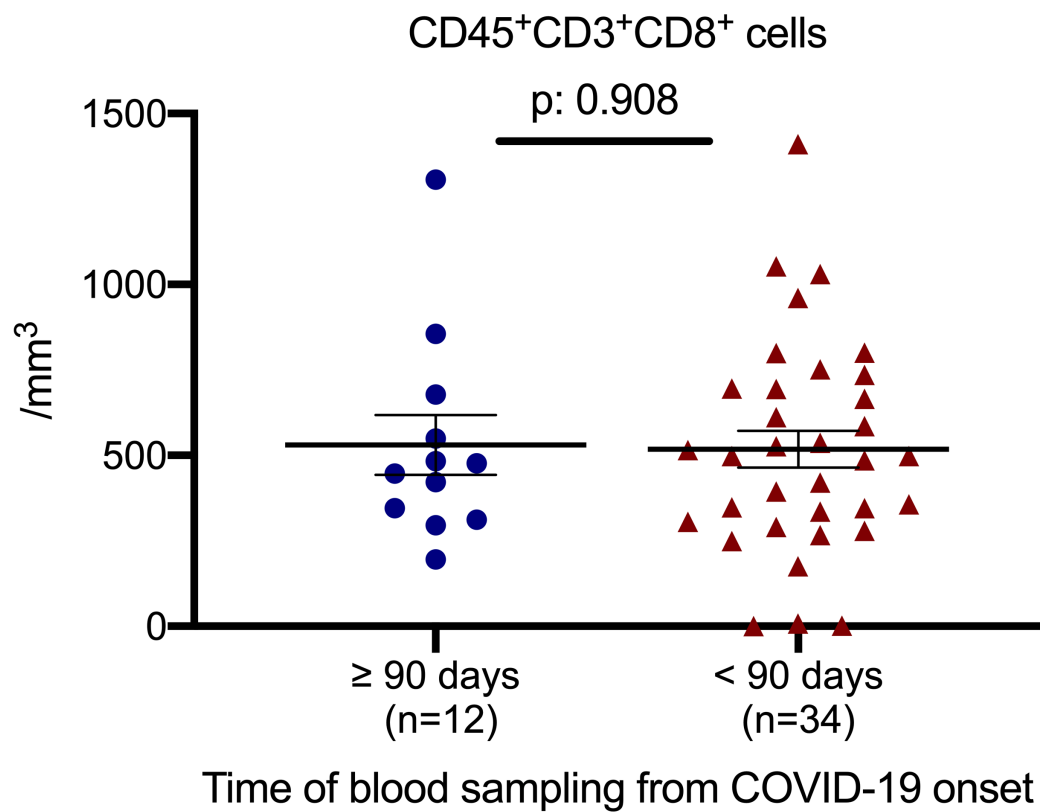
Εικόνα 12. Σύγκριση απόλυτου αριθμού CD45+CD19+ λεμφοκυττάρων μεταξύ αναρρωσάντων από νόσο COVID-19 με ένα τουλάχιστον σύμπτωμα χρόνιου COVID συνδρόμου και αναρρωσάντων χωρίς κανένα σύμπτωμα χρόνιου COVID συνδρόμου. Δίνεται η τιμή του στατιστικού κριτηρίου σύγκρισης με τη δοκιμασία κατά Mann Whitney U



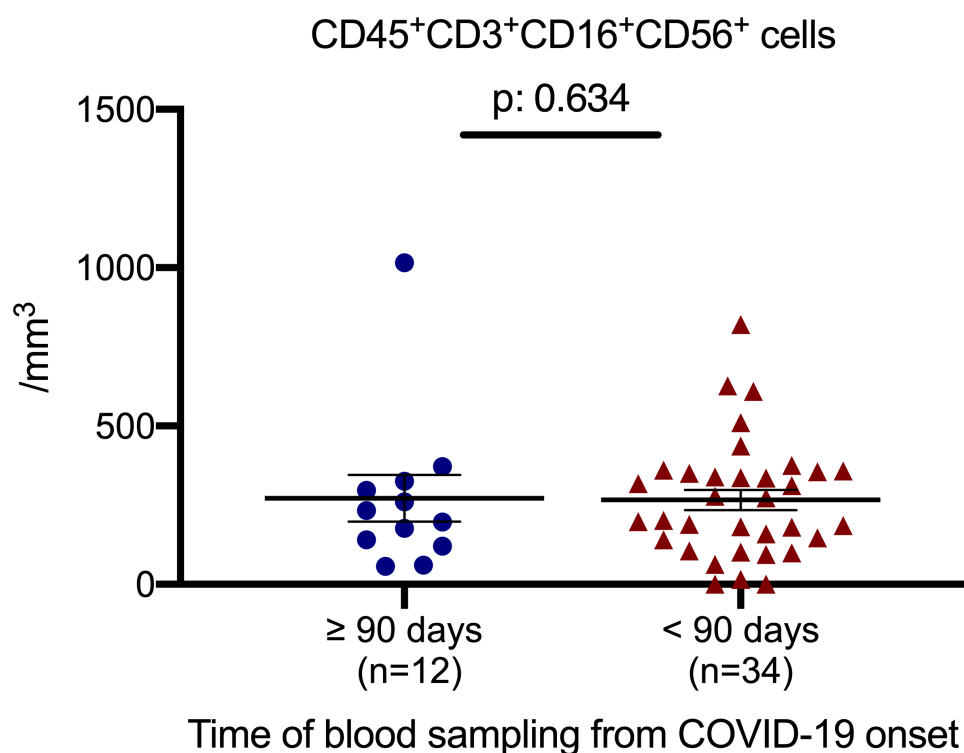
Εικόνα 13. Σύγκριση απόλυτου αριθμού CD45+CD3+CD4+ λεμφοκυττάρων μεταξύ αναρρωσάντων ασθενών από νόσο COVID-19 με έναρξη της νόσου κατά τη διάρκεια των τελευταίων 90 ημερών ή περισσότερων των 90 ημερών. Δίνεται η τιμή του στατιστικού κριτηρίου σύγκρισης με τη δοκιμασία κατά Mann Whitney U.



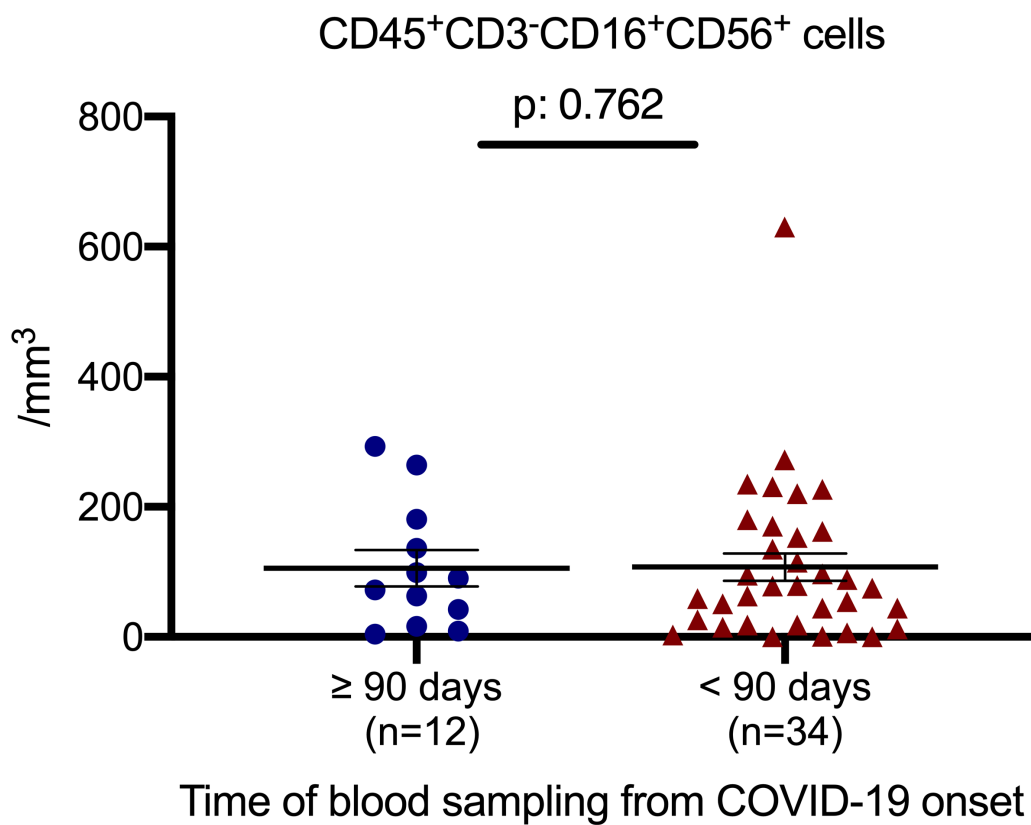
Εικόνα 14. Σύγκριση απόλυτου αριθμού CD45⁺CD3⁺CD8⁺ λεμφοκυττάρων μεταξύ αναρρωσάντων ασθενών από νόσο COVID-19 με έναρξη της νόσου κατά τη διάρκεια των τελευταίων 90 ημερών ή περισσότερων των 90 ημερών. Δίνεται η τιμή του στατιστικού κριτηρίου σύγκρισης με τη δοκιμασία κατά Mann Whitney U



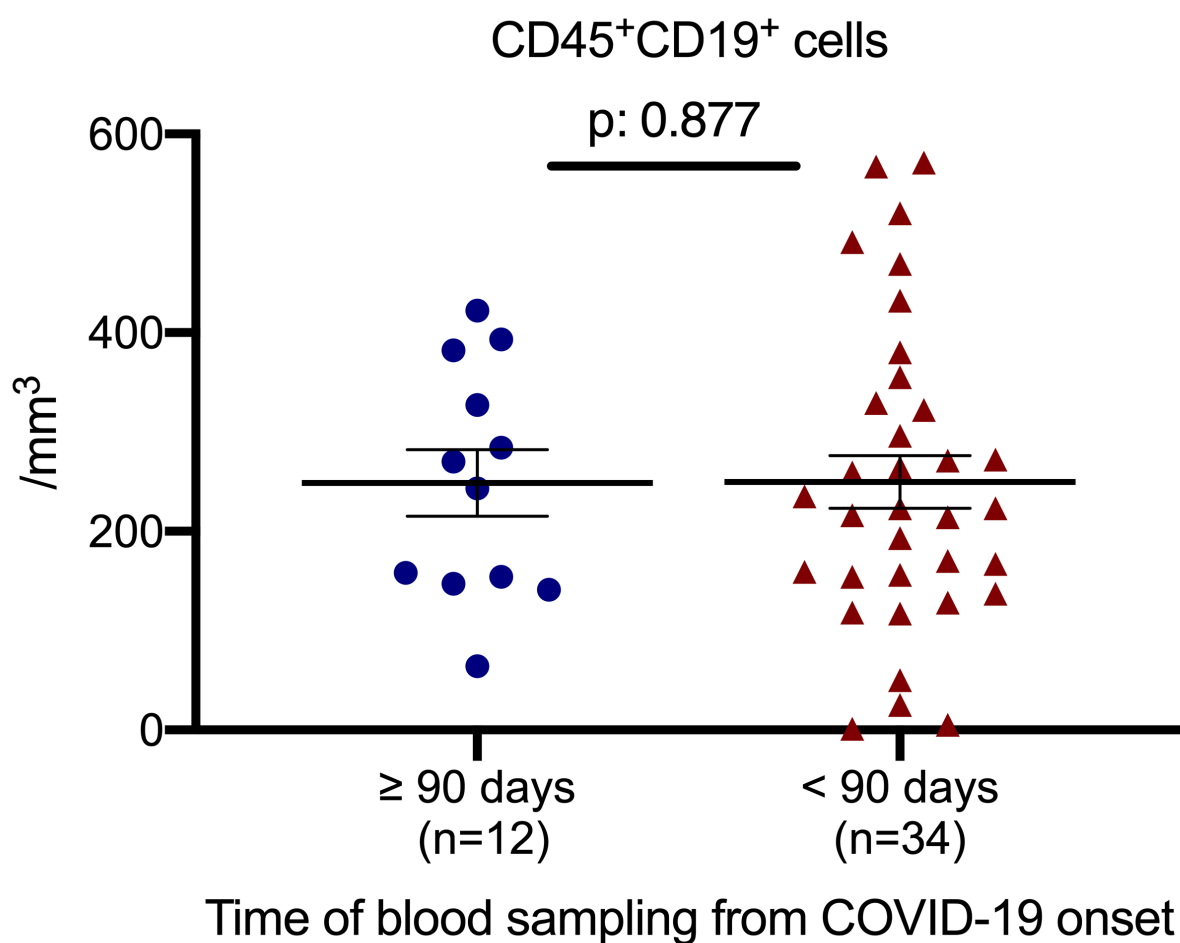
Εικόνα 15. Σύγκριση απόλυτου αριθμού CD45+CD3+CD16+CD56+ λεμφοκυττάρων μεταξύ αναρρωσάντων ασθενών από νόσο COVID-19 με έναρξη της νόσου κατά τη διάρκεια των τελευταίων 90 ημερών ή περισσότερων των 90 ημερών. Δίνεται η τιμή του στατιστικού κριτηρίου σύγκρισης με τη δοκιμασία κατά Mann Whitney U



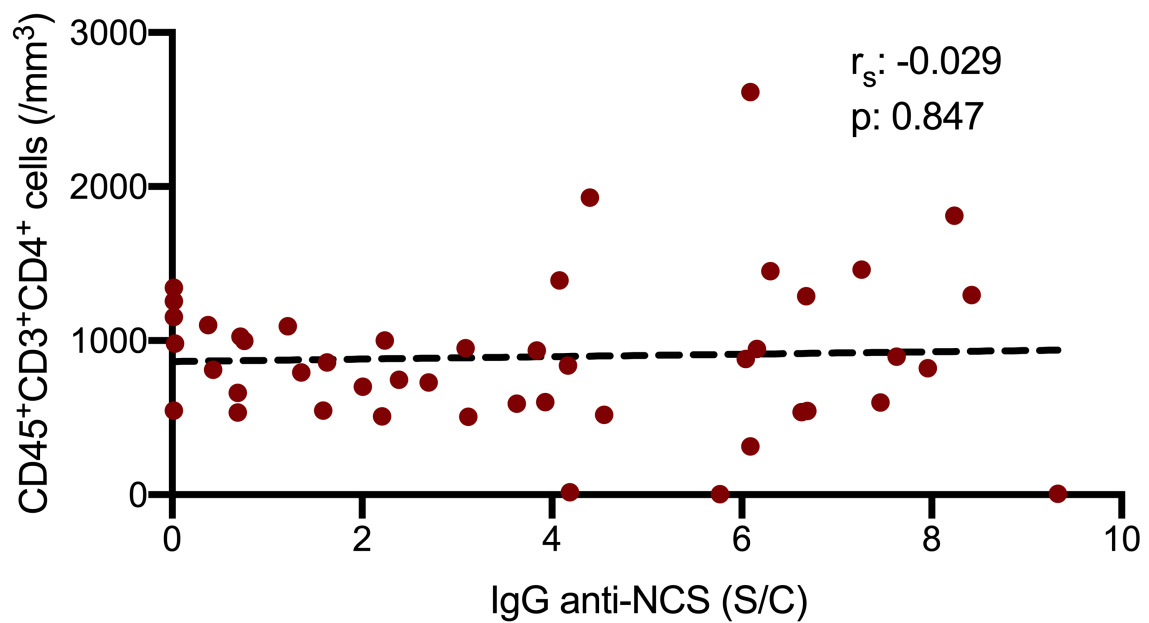
Εικόνα 16. Σύγκριση απόλυτου αριθμού CD45⁺CD3⁻CD16⁺CD56⁺ λεμφοκυττάρων μεταξύ αναρρωσάντων ασθενών από νόσο COVID-19 με έναρξη της νόσου κατά τη διάρκεια των τελευταίων 90 ημερών ή περισσότερων των 90 ημερών. Δίνεται η τιμή του στατιστικού κριτηρίου σύγκρισης με τη δοκιμασία κατά Mann Whitney U



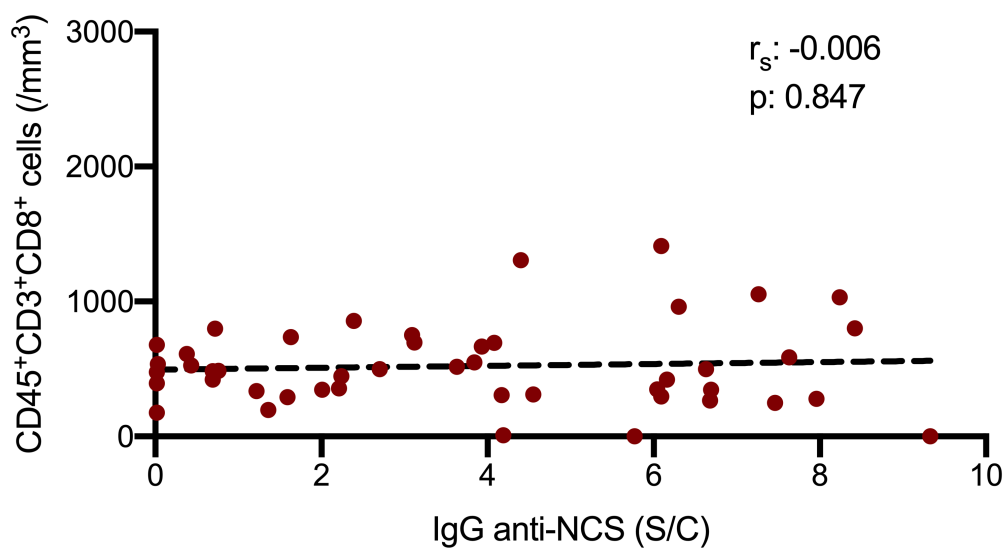
Εικόνα 17. Σύγκριση απόλυτου αριθμού CD45+CD19+ λεμφοκυττάρων μεταξύ αναρρωσάντων ασθενών από νόσο COVID-19 με έναρξη της νόσου κατά τη διάρκεια των τελευταίων 90 ημερών ή περισσότερων των 90 ημερών. Δίνεται η τιμή του στατιστικού κριτηρίου σύγκρισης με τη δοκιμασία κατά Mann Whitney U



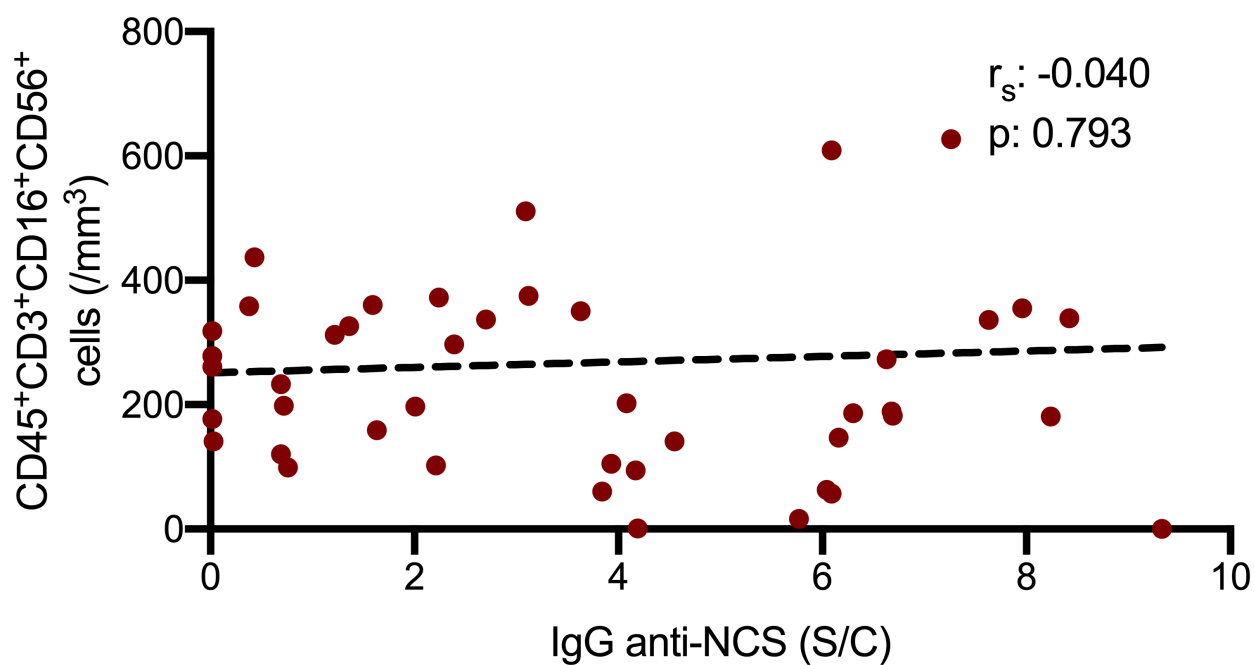
Εικόνα 18. Εύρεση μη συσχετισμού μεταξύ του απόλυτου αριθμού CD45+CD3+CD4+ λεμφοκυττάρων και IgG τίτλων έναντι του νουκλεοκαψιδίου του SARS-CoV-2. Δίνονται οι συσχετίσεις και ο συντελεστής συσχέτισης του Spearman (r_s) καθώς και η αντίστοιχη τιμή p (p-value)



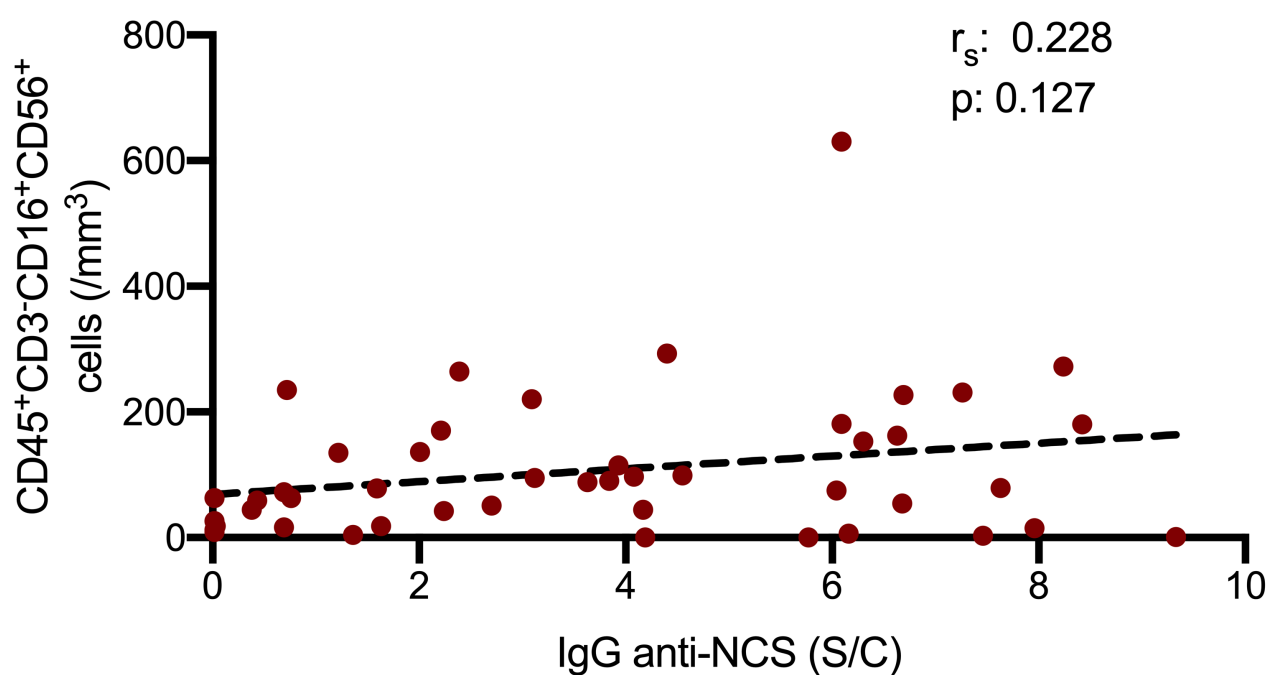
Εικόνα 19. Εύρεση μη συσχετισμού μεταξύ του απόλυτου αριθμού CD45+CD3+CD8+ λεμφοκυττάρων και IgG τίτλων έναντι του νουκλεοκαψιδίου του SARS-CoV-2. Δίνονται οι συσχετίσεις και ο συντελεστής συσχέτισης του Spearman (r_s) καθώς και η αντίστοιχη τιμή p (p -value)



Εικόνα 19. Εύρεση μη συσχέτισμού μεταξύ του απόλυτου αριθμού CD45+CD3+CD16+CD56+ λεμφοκυττάρων και IgG τίτλων έναντι του νουκλεοκασιδίου του SARS-CoV-2. Δίνονται οι συσχετίσεις και ο συντελεστής συσχέτισης του Spearman (r_s) καθώς και η αντίστοιχη τιμή p (p -value)



Εικόνα 20. Εύρεση μη συσχετισμού μεταξύ του απόλυτου αριθμού CD45+CD3-CD16+CD56+ λεμφοκυττάρων και IgG τίτλων έναντι του νουκλεοκαψιδίου του SARS-CoV-2. Δίνονται οι συσχετίσεις και ο συντελεστής συσχέτισης του Spearman (r_s) καθώς και η αντίστοιχη τιμή p (p-value)



Εικόνα 21. Εύρεση μη συσχετισμού μεταξύ του απόλυτου αριθμού CD45+CD19+ λεμφοκυττάρων και IgG τίτλων έναντι του νουκλεοκαψιδίου του SARS-CoV-2. Δίνονται οι συσχετίσεις και ο συντελεστής συσχέτισης του Spearman (r_s) καθώς και η αντίστοιχη τιμή p (p -value)

