

Značaj prisutnosti CD4+ T limfocita specifičnih za SARS-CoV-2 u zdravih ljudi

Majta, Matea

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:662727>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-17**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Matea Majta

**Značaj prisutnosti CD4+ T limfocita specifičnih za SARS-CoV-2 u
zdravih ljudi**

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2022.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Kliničkom bolničkom centru Zagreb na Klinici za unutarnje bolesti, Zavod za kliničku farmakologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom mentora izv.prof.dr.sc. Roberta Likića i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2021./2022.

Kratice

ACE2 – angiotenzin konvertirajući enzim 2

APC – antigen prezentirajuće stanice

ARDS – akutni respiratorni distress sindrom

BAL – bronhoalveolarni lavat

CCL – kemokinski ligand

COVID-19 – bolest uzrokovana koronavirusom SARS-CoV-2 (engl. *coronavirus disease 2019*)

CXCL – kemokinski (C-X-C motiv) ligand

DAD – difuzno alveolarno oštećenje (engl. *diffuse alveolar damage*)

DAMPs – molekularni obrasci povezani s oštećenjem tkiva (engl. *Damage-Associated Molecular Patterns*)

DC – dendritička stanica

DC-SIGN – međustanična adhezijska molekula specifična za dendritične stanice-3-koja hvata neintegrinske receptore (engl. *Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin*)

FOXP3 – sekvenca viljuške P3 (engl. *forkhead box P3*)

HCoV – ljudski koronavirus (engl. *human coronavirus*)

HSV – herpes simplex virus

IFN - interferon

IFNR – interferon receptor

IL - interleukin

JAK – Janus kinaza

MAIT stanice – invarijantne T stanice mukoznog tkiva (engl. *mucosal-associated invariant T cells*)

MCMV – citomegalovirus miša

MCP – monocitni kemoatraktantni protein

MDA5 – protein povezan s diferencijacijom melanoma (engl. *melanoma differentiation-associated protein-5*)

MERS-CoV – Bliskoistočni respiratorni sindrom (engl. *Middle East respiratory syndrome coronavirus*)

MHC – glavni sustav tkivne podudarnosti (engl. *major histocompatibility complex*)

MIP1A – makrofagni upalni protein 1A (engl. *macrophage inflammatory protein 1A*)

NETs – neutrofilne izvanstanične zamke (engl. *neutrophil extracellular traps*)

NF-κB – nuklearni faktor κB

NK T stanice – prirodne T stanice-ubojice (engl. *natural killer T cells*)

PAMPs – molekularni obrasci povezani s patogenima (engl. *pathogen-associated molecular patterns*)

PRR – receptor prepoznavanja obrasca (engl. *pattern recognition receptor*)

RBD – domena za vezanje receptora (engl. *Receptor Binding Domain*)

RIG-I – retinoična kiselina-inducibilni gen I (engl. *retinoic acid-inducible gene I*)

ROS – reaktivni kisikovi radikali (engl. *reactive oxygen species*)

RT-PCR – lančana reakcija polimeraze s reverznom transkripcijom (engl. *reverse transcription polymerase chain reaction*)

SARS-CoV – teški akutni respiratorni sindrom uzrokovan koronavirusom (engl. *severe acute respiratory syndrome coronavirus*)

SARS-CoV-2 – teški akutni respiratorni sindrom uzrokovan koronavirusom 2 (engl. *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*)

STAT - pretvarač signala i aktivator transkripcijskih proteina (engl. *Signal Transducer and Activator of Transcription proteins*)

Tfh – folikularna pomoćnička T stanica (engl. *T-follicular helper cell*)

TLR – receptor sličan Toll-u (engl. *Toll like receptor*)

TMPRSS2 – transmembranska serinska proteaza 2 (engl. *transmembrane serine protease 2*)

TNF – faktor nekroze tumora (engl. *tumor necrosis factor*)

TRAIL – TNF ligand koji inducira apoptozu (engl. *TNF-related apoptosis-inducing ligand*)

TSCM – T memorijske stanice nalik na matične stanice

Tth – pomoćnički T limfocit (engl. *T-helper cell*)

$\gamma\delta$ T stanice – gama-delta T stanice

Sadržaj

Sažetak

Summary

| | |
|---|----|
| 1. Uvod..... | 1 |
| 2. SARS-CoV-2 | 2 |
| 2.1. Etiologija i epidemiologija | 2 |
| 2.2. Patogeneza i patologija | 3 |
| 2.3. Klinička slika | 4 |
| 2.4. Dijagnostika | 5 |
| 2.5. Prevencija | 6 |
| 2.6. Liječenje | 6 |
| 3. Imunosni odgovor organizma u SARS-CoV-2 infekciji | 9 |
| 3.1. Urođeni imunosni odgovor | 9 |
| 3.2. Humoralna imunost..... | 13 |
| 3.3. Stanična imunost | 16 |
| 4. Značaj stanične imunosti specifične za SARS-CoV-2 u zdravih pojedinaca | 19 |
| 4.1. Križno reaktivni odgovor T stanica na SARS-CoV-2 i endemske HCoV | 19 |
| 4.2. Odgovor CD4+ T stanica specifičnih za SARS-CoV-2 nakon primjene mRNA cjepiva | 20 |
| 4.3. Dugotrajna imunost posredovana memorijskim T stanicama nalik na matične stanice | 21 |
| 5. Zaključak | 22 |
| 6. Zahvale | 23 |
| 7. Literatura | 24 |
| 8. Životopis..... | 31 |

Sažetak

Pojavom pandemije SARS-CoV-2 znanost i čovječanstvo našli su se pred nizom novih izazova i prepreka. Od prvih karantena do razvoja cjepiva prošlo je nepunih godinu dana i medicina je napredovala nevjerojatnom brzinom. Pojavom novih varijanti virusa i rastom broja umrlih od COVID-19 znanstvenici su krenuli u detaljnu razradu imunosnog odgovora ljudskog organizma na infekciju SARS-CoV-2.

Od trenutka ulaska virusa u stanicu preko ACE2 receptora pokreću se mehanizmi urođenog imunosnog sustava te dolazi do aktivacije niza stanica kao što su neutrofil, makrofagi, dendritičke stanice, bazofili i eozinofili. Dolazi do lučenja velikih količina kemokina i citokina koji regrutiraju stanice imunosnog sustava na mjesto infekcije. Nakon samo 7 dana od infekcije dolazi do pojave protutijela usmjerenih protiv inficiranih stanica koja sprječavaju daljnji ulazak virusa u stanice domaćina vežući se za S protein. Paralelno s urođenim imunosnim sustavom dolazi do aktivacije stanične imunosti te interakcija CD4⁺ i CD8⁺ T limfocita sa svrhom uništenja inficiranih stanica. Potom slijedi faza razrješenja bolesti i stvaranja stečenog imuniteta koji štiti od daljnjih reinfekcija. Dugo se mislilo da su za to zaslužna protutijela koja nastaju iz plazma stanica, ali danas se smatra da ta uloga pripada upravo CD4⁺ limfocitima T.

Ove stanice pokazale su križnu reaktivnost sa SARS-CoV-2 u neizloženih pojedinaca, a njihov odgovor na cijepljenje protiv SARS-CoV-2 daje vrlo burnu reakciju gdje dolazi do stvaranja velikih količina stanica koje u našem organizmu ostaju prisutne čak i do 9 mjeseci. Također se smatra da bi ove stanice mogle biti ključan odgovor na pitanje zašto je starija populacija susceptibilnija na infekciju SARS-CoV-2 te zašto imaju lošije ishode bolesti. Njihova uloga i značaj u dugotrajnoj imunosti protiv SARS-CoV-2 i drugih vrsta HCoV u zdravih pojedinaca do ovog trenutka nije u potpunosti poznata, ali je aktualna tema brojnih istraživanja.

Ključne riječi: SARS-CoV-2, COVID-19, CD4⁺ limfociti T, križna reaktivnost

Summary

Significance of presence of CD4+ T lymphocytes specific for SARS-CoV-2 in peripheral blood of healthy individuals

With the emergence of the SARS-CoV-2 pandemic, science and humanity have been faced with several new challenges and obstacles. Less than a year passed from the first quarantines to the development of the vaccine, and medicine progressed at an incredible rate. With the emergence of new variants of the virus and the growing number of deaths from COVID-19, scientists have embarked on a detailed evaluation of the human body's immune response to the SARS-CoV-2 infection.

From the moment the virus enters the cell via ACE2 receptors, the mechanisms of the innate immune system are triggered and numerous cells such as neutrophils, macrophages, dendritic cells, basophils and eosinophils are activated. Large amounts of chemokines and cytokines are secreted that recruit immune system cells to the site of infection. Only 7 days after the infection, antibodies are directed against infected cells that prevent the virus from further entering the host cells by binding to the S protein. In parallel with the innate immune system, cellular immunity is activated and CD4 + and CD8 + T lymphocytes interact with the purpose of destroying infected cells. This is followed by a phase of resolving the disease and creating an acquired immunity that protects against further reinfections. It has long been thought that antibodies produced by the plasma cells are responsible for this, but today it is believed that this role belongs to CD4 + T lymphocytes.

These cells have shown cross-reactivity with SARS-CoV-2 in non-exposed individuals, and their response to vaccination against SARS-CoV-2 gives a very violent reaction where large amounts of cells are formed that remain present in our body for up to 9 months. It is also thought that these cells could be a key answer to the question of why the elderly population is more susceptible to SARS-CoV-2 infection and why they have poorer disease outcomes. Their role and importance in long-term immunity against SARS-CoV-2 and other types of HCoV in healthy individuals is not fully known to date but is a current topic of numerous studies.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, CD4 + T lymphocytes, immunity

1. Uvod

Koronavirusi su oduvijek prisutni u našem okruženju kao jedni od glavnih uzročnika obične prehlade u ljudi. Pojavom SARS-CoV-2 kao novog i nedovoljno istraženog koronavirusa promijenilo se sve ono što smo dosad znali o ovoj porodici virusa te su se otvorila brojna pitanja i izazovi u svijetu medicine i znanosti.

Kako se infekcija SARS-CoV-2 već od početka iznimno brzo širila, ubrzo je poprimila pandemijski potencijal te su shodno tome znanstvenici krenuli istraživati odgovor ljudskog imunosnog sustava na infekciju. Sve to odvijalo se u svrhu razvoja adekvatne terapije, a u konačnici i učinkovitog cjepiva protiv COVID-19 koje će zaustaviti daljnje širenje zaraze. Pomno su istražene i objašnjene uloge pojedinih stanica urođenog, humoralnog i staničnog imunosnog sustava. Međutim, i dalje ostaje pitanje trajnosti imuniteta nakon infekcije te djelotvornost cjepiva s pojavom novih varijanti virusa.

Istraživanjem stanica imunosnog sustava posebno su mjesto zauzeli CD4+ T limfociti za koje se smatra da bi mogli biti od iznimne važnosti u uklanjanju virusa tijekom infekcije, stvaranju imunodne memorije za buduće reinfekcije SARS-CoV-2, ali i mnoge druge dosad neistražene stvari. Istraživanja na temu značaja prisutnosti CD4+ T limfocita specifičnih za SARS-CoV-2u zdravih pojedinaca trenutno su u punom jeku, a ovaj pregledni rad prikazuje neke od gorućih tema vezanih uz ovu vrstu imunskih stanica.

2. SARS-CoV-2

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) novi je beta koronavirus koji se prvi put pojavio krajem 2019. godine u kineskoj provinciji Hubei u gradu Wuhanu. Odgovoran je za pojavu bolesti pod nazivom coronavirus disease 2019 (COVID-19) te je Svjetska zdravstvena organizacija 11. ožujka 2020. godine proglasila SARS-CoV-2 pandemijom globalnih razmjera (1,2). Do 8. svibnja 2022. u svijetu je prijavljeno više od 514 milijuna potvrđenih slučajeva zaraze SARS-CoV-2 te više od 6 milijuna smrtnih slučajeva, a od kraja ožujka 2022. zabilježen je kontinuirani pad broja zaraženih i umrlih (3).

2.1. Etiologija i epidemiologija

SARS-CoV-2 pripada porodici Coronaviridae, potporodici Coronavirinae i razredu Nidovirales. Zajedno sa severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) te Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) ova se tri virusa svrstavaju u izrazito patogenu skupinu humanih koronavirusa koji su prisutni u ljudskoj populaciji posljednja dva desetljeća (4,5). Podrijetlo SARS-CoV-2 do današnjeg dana nije u potpunosti utvrđeno, ali trenutni znanstveni dokazi ukazuju na dva scenarija. Jedni smatraju da je virus „pobjegao iz laboratorija“ dok drugi tvrde da je on došao s tržnice u Wuhanu gdje se svakodnevno prodaju razne vrste divljih životinja koje bi potencijalno mogle biti prijenosnici infekcije na ljude. Unatoč činjenici da životinjski rezervoar za SARS-CoV-2 i dalje nije sa sigurnošću identificiran, postoje brojni znanstveni dokazi koji govore u prilog da je došlo do „spillover“ fenomena, odnosno prelaska patogena SARS-CoV-2 sa životinjske vrste na ljudsku (6).

Interhumani prijenos smatra se glavnim putem širenja SARS-CoV-2. On može biti izravan preko kapljica respiratornog trakta ili pak neizravan dodirivanjem površina kontaminiranih virusom. Poznato je da se virus u zraku zadržava čak i do 3 sata što značajno povećava rizik od infekcije putem aerosola. SARS-CoV-2 RNA detektirana je i u uzorcima urina i stolice što implicira na fekooralni put transmisije virusa. Ipak, razina virusa u urinu i stolici značajno je manja od razine virusa u nazofaringealnim tekućinama te se smatra da nema značajniju ulogu u transmisiji. Izlučivanje virusa iz organizma započinje 1 do 2 dana prije pojave samih simptoma. U početnoj fazi infekcije zabilježeni

su najviši titri virusa u tekućinama respiratornog trakta koji onda rapidno opadaju s daljnjim tijekom infekcije (7). Sve su dobne skupine podložne infekciji SARS-CoV-2, a srednja dob oboljelih kreće se oko brojke od 50 godina. Većina mladih i djece ima blagi oblik infekcije ili se prezentiraju bez simptoma, dok su muškarci u dobi iznad 60 godina s komorbiditetima ugroženiji i imaju veću mogućnost razvoja teškog oblika infekcije SARS-CoV-2 koji zahtijeva hospitalizaciju te je u konačnici moguć i smrtni ishod. Znakovi bolesti uglavnom se pojavljuju nakon perioda inkubacije od 1-14 dana, u prosjeku najčešće oko 5. dana, dok se dispneja i upala pluća najčešće javljaju 8. dana bolesti (8). Glavni problem u prijenosu SARS-CoV-2 jest činjenica da infekciju prenose i asimptomatske osobe. Prema jednom istraživanju čak 59% svih prijenosa dolazi upravo od asimptomatskih osoba od čega 35% od presimptomatskih pojedinaca, koji su infektivni i prije same pojave simptoma, a 24% od onih koji nikad nisu razvili nikakve simptome. Ovaj podatak svakako ide u prilog mjerama koje je propisala Svjetska zdravstvena organizacija u svrhu usporavanja širenja COVID-a 19 kao što je nošenje maski, održavanje higijene ruku te socijalno distanciranje čak i u zdravih pojedinaca (9). Kod teško bolesnih pacijenata rizični su čimbenici bili starija dob, muški spol, hipertenzija, pretilost, dijabetes mellitus, astma, KOPB, kronične bolesti jetre i bubrega te prisutnost zloćudne bolesti. Starija je dob uvjetovana slabijim odgovorom imunološkog sustava, većim brojem komorbiditeta te višim vrijednostima proupalnih citokina, dok se muški spol povezuje s drugačijim životnim stilom kao i prisutnošću različitih spolnih hormona koji sudjeluju u upalnom procesu u usporedbi sa ženama (10).

2.2. Patogeneza i patologija

Kao član porodice Coronaviridae SARS-CoV-2 je virus čiji genom je građen od jednolančane pozitivne RNA sastavljene otprilike od 29.9 tisuća nukleotida. Sadrži četiri strukturalna proteina: šiljasti glikoprotein (S), protein ovojnice (E), protein membrane (M) i nukleokapsidu (N). Preko šiljastog proteina SARS-CoV-2 ulazi u stanicu domaćina te se on sastoji od dvije funkcionalne podjedinice, S1 i S2. S1 podjedinica na sebi sadržava domene koje služe za prepoznavanje ulaznih receptora i na taj način započinje ulazak virusa u organizam domaćina. S druge strane S2 podjedinica ima ulogu fuzije membrane domaćina i ovojnice virusa. Da bi SARS-CoV-2 ušao u stanicu domaćina S1 podjedinica pomoću vlastite domene za vezanje receptora (RBD) prepoznaje receptor za angiotenzin-

konvertirajući enzim 2 (ACE2) koji je smješten na epitelu, vaskularnom endotelu te alveolarnim makrofagima u plućima (11,12). Nakon toga dolazi do aktivacije transmembranske serinske proteaze 2 (TMPRSS2) koja cijepa S2 podjedinicu i na taj način pokreće proces fuzije virusa sa stanicom domaćina (13).

Nakon vezanja za epitelne stanice respiratornog trakta SARS-CoV-2 se počinje umnažati i spuštati u donje dišne puteve sve dok ne dosegne alveolarne epitelne stanice pluća. Kako se virus iznimno brzo umnaža, tako se razvija i snažan imunosni odgovor organizma što u konačnici može dovesti i do pojave citokinske oluje. Upravo zbog toga dolazi do razvoja akutnog respiratornog distresa (ARDS), a na kraju i respiratornog zatajenja što je ujedno i glavni uzrok smrti u bolesnika s COVID-19. Najznačajnije patohistološke promjene događaju se na plućima gdje je vidljivo bilateralno difuzno oštećenje alveola (DAD), stvaranje hijalinih membrana, deskvamacija pneumocita te depoziti fibrina u pacijenata s teškim oblikom COVID-19 (8). COVID-19 između ostalog pogađa i kardiovaskularni, gastrointestinalni, središnji živčani sustav te bubrege (14). SARS-CoV-2 isto tako može uzrokovati endotelitis, odnosno oštećenje krvnih žila koje onda povećava sklonost tromboembolijskim incidentima (15).

2.3. Klinička slika

SARS-CoV-2 uzročnik je COVID-19 bolesti koja najčešće pogađa respiratorni sustav i pojavljuje se kao akutni sindrom gornjeg ili donjeg respiratornog trakta. Bolest ne pogađa sve jednako, a tome nam u prilog govori istraživanje provedeno u Kini na 72 314 zaraženih SARS-CoV-2 gdje je njih 81% imalo blagu do umjerenu bolest, 14% teški oblik bolesti, a njih 5% bilo je u kritičnom stanju, odnosno zahtijevali su intenzivnu skrb (15). Prvi simptomi bolesti najčešće se pojavljuju između 4. i 5. dana od zadnjeg kontakta sa zaraženom osobom, ali se pokazalo da period inkubacije može trajati čak 14 dana. Najčešće prijavljivani simptomi infekcije SARS-CoV-2 su temperatura, kašalj, umor i otežano disanje te je tako teško razlikovati COVID-19 od ostalih virusnih infekcija. Uz to, još se javljaju i grlobolja, glavobolja, rinoreja te gastrointestinalni simptomi kao što su mučnina, proljev i bol u abdomenu. Dva vrlo česta simptoma za koje se smatra da su karakteristični za infekciju SARS-CoV-2 su anosmija i gubitak okusa. Oni najčešće prethode pojavi drugih simptoma. Većina zaraženih prezentira se blagom do umjerenom

bolešću, njih 55%, dok će ih oko 30% razviti i dispneju oko 5. dana bolesti. Kod onih s težim oblikom bolesti obično dolazi do pogoršanja stanja između 7. i 8. dana. Tada se može uočiti hipoksemija i bilateralna upala pluća čak kod 75% pacijenata iz prethodno navedene skupine. Valja napomenuti i kako određeni broj osoba nema nikakve simptome, odnosno prezentiraju se asimptomatski (16,17). Osim pluća, SARS-CoV-2 može zahvatiti i druge organske sustave te se prezentirati kao tromboembolija, srčane aritmije, kardiogeni šok, ozljede miokarda, akutni koronarni sindrom, akutno oštećenje bubrega, povišene aminotransferaze i bilirubin, hiperglikemija, moždani udar, GuillainBarré sindrom, encefalopatija te dermatološke promjene poput eritematoznog osipa, urtikarija i vezikula nalik vodenim kozicama (18).

2.4. Dijagnostika

Dijagnostika igra važnu ulogu u sprječavanju širenja SARS-CoV-2 omogućavajući brzu implementaciju mjera za suzbijanje širenja infekcije, detekciju zaraženih, određivanje izolacije i praćenje kontakata (19). Zlatni standard dijagnostike je test temeljen na lančanoj reakciji polimeraze reverzne transkripcije (RT-PCR) (20). Uzorak za ovu vrstu testa najčešće se prikuplja iz gornjeg respiratornog trakta, točnije iz nazofarinksa ili orofarinksa. Ukoliko osoba ima produktivan kašalj, onda je kao uzorak moguće uzeti i bronhoalveolarni lavat (BAL) (21). Nakon prikupljanja uzorak se stavlja u medij za prijenos virusa ili u izotoničnu fiziološku otopinu. Nedostatak ove metode je podatak o lažno negativnim rezultatima kao i činjenica da za ovu vrstu testa trebamo imati dobro opremljene laboratorije sa posebno obučanim stručnjacima. Danas su u uporabi i brzi antigenski testovi koji rade po principu detekcije virusa u obrisu nazofarinksa u samo 15 minuta. I ovaj test ima svoje nedostatke, a najveći je taj što ima nižu osjetljivost od RT-PCR-a pa samim time i veći broj lažno negativnih rezultata. Tu su još i serološki testovi koji nisu u potpunosti prikladni za dijagnostiku akutne infekcije SARS-CoV-2 jer daju negativne rezultate tijekom prvog tjedna bolesti. Njihova upotreba korisna je stoga u praćenju kontakata, otkrivanju prethodne infekcije i imuniteta, retrospektivnu procjenu opsega izbijanja te potvrdu asimptomatskih slučajeva zaraze (22). CT pluća se isto tako koristi kao dijagnostička metoda s karakterističnom slikom bilateralnog „zasjenjena nalik na mliječno staklo“ (ground-glass opacity). Uz to moguća je pojava konsolidacija i zadebljanje interlobarnih septi pluća (23).

2.5. Prevencija

Kako bi se minimiziralo širenje SARS-CoV-2, kao i za druge respiratorne infekcije, tako je i za ovu bilo potrebno poduzeti određene javnozdravstvene mjere. U početku su to bile mjere kao što su pravilno pranje ruku i održavanje higijene, održavanje socijalne distance, izbjegavanje prostora sa slabom ventilacijom ili nemogućnošću prozračivanja, izbjegavanje mjesta na kojima se okuplja veći broj ljudi te nošenje maski u zatvorenim prostorima. Ukoliko bi osoba imala simptome respiratorne infekcije, preporučeno joj je ostati doma te se izolirati od ostalih ukućana. Putovanja su bila svedena na minimum, te su svi putnici na zračnim lukama bili testirani pri samom dolasku, a neke su zemlje čak i propisivale 14-dnevnu karantenu za putnike koji dolaze iz visokorizičnih zemalja. Ključ dobre kontrole širenja infekcije je bio u ranom otkrivanju i izolaciji slučajeva opsežnim testiranjem, brzom praćenju kontakata te određivanju karantene u svrhu zaštite cjelokupne zajednice (15).

Kako se infekcija SARS-CoV-2 brzo proširila na globalnoj razini, tako je rasla potreba za razvojem efikasnog cjepiva koje bi potencijalno moglo spriječiti daljnje širenje. Tako je već u prosincu 2020. godine, nepunih godinu dana nakon pojave virusa, bilo odobreno prvo cjepivo protiv SARS-CoV-2 u Europskoj Uniji i Sjedinjenim Američkim Državama. Do ovog trenutka u Europskoj Uniji je u uporabi čak 5 cjepiva: dva rekombinantna mRNA cjepiva (Comirnaty i Spikevax), dva vektorska (COVID-19 Vaccine Janssen i Vaxzevria) te jedno proteinsko cjepivo (Nuvaxovid) (24,25). Procjenjuje se da je trenutno 65,7% svjetske populacije primilo barem jednu dozu cjepiva protiv COVID-19 (26).

2.6. Liječenje

Temelj liječenja infekcije SARS-CoV-2 je i dalje potporna terapija. Kod težih infekcija u upotrebi je terapija kisikom, mehanička ventilacija rezevirana je za one koji su u respiratornom zatajenju, a ne reagiraju na terapiju kisikom, dok hemodinamsku potporu vršimo kod pacijenata koji se nalaze u septičkom šoku. Osim toga, u potpornu terapiju još ubrajamo i nadoknadu tekućine te primjenu antimikrobne terapije u onih sa sekundarnom infekcijom. Smjernice za liječenje SARS-CoV-2 infekcije različite su u pojedinim zemljama (7).

U početku pandemije kao jedna od terapijskih opcija bili su klorkinolon i hidroksiklorkinolon. Riječ je o dva antimalarika za koje se otkrilo da sprječavaju replikaciju SARS-CoV-2 podižući pH unutarstaničnih organela kao što su endosomi i lizosomi te tako blokirajući fuziju između stanice domaćina i virusa. Nakon provedenog randomiziranog kliničkog ispitivanja od strane Svjetske zdravstvene organizacije pod nazivom SOLIDARITY, ova su dva lijeka odbačena kao terapijska opcija budući da se pokazalo da ne poboljšavaju kliničke ishode pacijenata oboljelih od COVID-19 (27,28). Od antivirusnih lijekova terapijski su korišteni remdesivir, favipiravir, ribavirin i lopinavir/ritonavir. Njihova učinkovitost u liječenju SARS-CoV-2 infekcije još uvijek nije dokazana te osim remdesivira, ovi lijekovi nisu uvršteni u rutinsku terapiju u hospitaliziranih pacijenata oboljelih od COVID-19. Remdesivir je analog nukleotida koji izravno inhibira virusnu RNA-polimerazu te sprječava replikaciju virusa u stanicama domaćina. Ovaj je lijek također bio dio randomiziranog kliničkog ispitivanja SOLIDARITY te su rezultati govorili u prilog tome da remdesivir ima mali ili gotovo nikakav učinak na poboljšanje kliničkih ishoda kod hospitaliziranih pacijenata. Znanstvenici su i danas podijeljenih mišljenja kada je u pitanju ovaj lijek (29). Valja spomenuti i deksametazon, lijek koji se pokazao učinkovitim u kontroli citokinske oluje koja nastaje u infekciji SARS-CoV-2. Naime, na Oxfordu je provedeno randomizirano kliničko istraživanje pod nazivom RECOVERY koje je uključivalo 2 104 pacijenta kojima je kroz 10 dana bila administrirana terapija deksametazonom u dozi od 6 mg dnevno u usporedbi sa ostalih 4 321 pacijenata koji su primili standardnu terapijsku skrb. Važno je napomenuti da se radilo o teško bolesnim pacijentima koji su zahtijevali potporu kisikom ili su bili priključeni na mehaničku ventilaciju. Rezultati su pokazali da je deksametazon smanjio stopu smrtnosti za jednu trećinu kod pacijenata na mehaničkoj ventilaciji te za jednu petinu kod onih na potpori kisikom tijekom 28 dana (30). U liječenju infekcije SARS-CoV-2 može se koristiti i konvalescentna plazma. Provedena su višestruka klinička istraživanja na ovu temu i pokazano je da ova terapija ne smanjuje smrtnost od COVID-19, ali može doći do poboljšanja kliničkog statusa nakon njene primjene. Primjena konvalescentne plazme ograničena je na rani stadij COVID-19 bolesti u hospitaliziranih pacijenata (29). Važno je spomenuti i terapiju monoklonskim protutijelima kao što su bamlanivimab, etesevimab, sotrovimab, casirivimab te imdevimab koji se vežu za S protein i time blokiraju ulazak

SARS-CoV-2 u stanicu. U ovu skupinu još spada i tocilizumab koji se veže na receptore za IL-6 i na taj način blokira ovaj signalni put, a u konačnici i proupalni učinak IL-6. U terapiju su još uključeni i baricitinib te tofacitinib, inhibitori Januz kinaze (JAK), a shodno tome i modulatori imunskog odgovora organizma (31).

3. Imunosni odgovor organizma u SARS-CoV-2 infekciji

Da bismo u potpunosti razumjeli patogenezu i kliničke manifestacije SARS-CoV-2, terapiju konvalescentnom plazmom ili monoklonskim protutijelima te u konačnici i razvoj efikasnog cjepiva protiv COVID-19, potrebno nam je znanje o imunosnom odgovoru domaćina na infekciju SARS-CoV-2. Upravo imunosni odgovor domaćina određuje daljnji tijek infekcije SARS-CoV-2 kao i oporavak od iste, dok podaci o trajnosti imuniteta kod osoba oboljelih od COVID-19 mogu pridonijeti u daljnjem razvoju novih vrsta cjepiva i revolucionarne terapije koja bi olakšala borbu s virusom. Trenutne spoznaje o imunitetu domaćina u infekciji SARS-CoV-2 temelje se na činjenicama o SARS-CoV i MERS-CoV infekcijama uz dopunu rezultatima istraživanja provedenih na pojedincima zaraženim i oporavljenim od infekcije SARS-CoV-2. Dosadašnji podaci govore u prilog kako urođeni, ali i stečeni imunitet imaju važne uloge u borbi protiv SARS-CoV-2 infekcije i značajno pridonose patogenezu COVID-19 (32).

3.1. Urođeni imunosni odgovor

U ranim fazama infekcije urođeni imunitet igra ključnu ulogu u sprječavanju viremije, a aktivacijom njegovih stanica dolazi do pokretanja stečenog imunosnog odgovora. Stanice urođenog imunosnog sustava kao što su makrofagi, monociti, dendritičke stanice i neutrofilii detektiraju virusnu infekciju pomoću receptora za prepoznavanje uzoraka (PRR) koji prepoznaju molekularne uzorke povezane s patogenom (PAMPs) i tako pokreću daljnji imunološki odgovor (33).

Nakon vezanja površinskog S glikoproteina na ACE2 receptor dolazi do membranske fuzije i ulaska SARS-CoV-2 u stanice domaćina, izlaska RNA genoma virusa iz vlastite ovojnice u citoplazmu domaćina, procesa translacije virusnih proteina, replikacije virusnog genoma i na posljétku spajanja dijela membrane domaćina te nastanka novih virusnih čestica. Ovaj se proces odvija u stanicama koje imaju visoku ekspresiju receptora za ACE2 i TMPRSS2 kao što su nazalne epitelne stanice. One pokazuju ujedno i najveću ekspresiju među svim stanicama respiratornog trakta što govori u prilog visokoj učinkovitosti prijenosa virusa te su prvo mjesto ulaska virusa u organizam. U plućima je ekspresija receptora za ACE2 i TMPRSS2 pronađena u pneumocitima tipa II (34). Nakon što su one inficirane virusom, započinju lučiti inteleukin-8 (IL-8) koji djeluje kao

kemoatraktant za neutrofile i T limfocite. Prve stanice koje dolaze na mjesto infekcije su alveolarni makrofagi i neutrofili i odgovorne su za daljnje pokretanje imunskog odgovora. One prepoznaju molekularne uzorke povezane s virusom (PAMPs) pomoću vlastitih receptora za prepoznavanje uzoraka (PRR) kao što su Toll-like receptori (TLR) uključujući TLR7 i TLR3, receptori za prepoznavanje citosolnog uzorka (RIG-I) i gen 5 povezan s diferencijacijom melanoma (MDA5). To dovodi do aktivacije signalnih puteva JAK/STAT i NF- κ B te produkcije interferona, citokina i kemokina koji dodatno aktiviraju imunski odgovor (35).

Neutrofili su prve stanice koje dolaze na mjesto infekcije SARS-CoV-2 i sudjeluju u eliminaciji virusa pomoću reaktivnih kisikovih radikala (ROS) te procesom fagocitoze. Stanice zaražene virusom luče kemoatraktante koji će dodatno potaknuti neutrofile da regrutiraju na mjesto infekcije. Količina neutrofila u plućima korelira s težinom bolesti pa tako veći broj neutrofila govori u prilog težoj kliničkoj slici kod osoba oboljelih od COVID-19. Isto je tako dokazano da su makrofagi i neutrofili glavne stanice urođenog imunskog sustava koje su pronađene u teškim slučajevima COVID-19. Smatra se da bi jedan od mogućih mehanizama imunopatologije neutrofila mogao biti stvaranje neutrofilnih ekstracelularnih zamki (NETs). Radi se o izvanstaničnim mrežama kromatina, mikrobicidnih proteina i oksidacijskih enzima koje neutrofili oslobađaju u svrhu ubijanja patogena. Međutim, nekontrolirano stvaranje velikih količina NET-ova može izazvati upalu i oštećenje tkiva te tako pogoršati već postojeću upalu, potaknuti nastanak mikrotromboze i ARDS-a u oboljelih od COVID-19. Dokazano je da su NET markeri u krvnom serumu pacijenata na mehaničkoj ventilaciji bili značajno viši nego u onih koji dišu samostalno (36).

Monociti i tkivni makrofagi putem PRR-a potiču lučenje IFN- γ te drugih proupalnih citokina kao što su IL-6, IL-1 i TNF- α . Oni ujedno luče i visoke razine kemokina CCL2, CXCL8, CXCL10, MCP1 i MIP1A, koji onda regrutiraju ostale stanice urođenog i stečenog imunskog sustava na mjesto infekcije virusom. Kao posrednik urođenih i stečenih imunoloških funkcija IL-6 ima važnu ulogu u infekciji SARS-CoV-2. Njegovo povećano lučenje rezultira nastankom citokinske oluje, oštećenjem endotelnih stanica, pojavom

sindroma kapilarnog curenja te kliničkim i patološkim značajkama ARDS-a. Osim toga, ključan je i za rast plazma stanica pa tako i proizvodnju imunoglobulina (33,37).

Dendritičke stanice se mogu podijeliti u dvije skupine: konvencionalne ili mijeloidne (cDC) i plazmacitne (pDC) dendritičke stanice. One su svoju ulogu u infekciji SARS-CoV-2 pronašle u aktivaciji T stanica i poticanju razvoja stečenog imunskog odgovora. Plazmacitne dendritičke stanice luče velike količine interferona tipa I (INF-I) koji ima vrlo važnu antivirusnu ulogu kako u infekciji HSV1, MCMV, gripe i SARS-CoV tako i u infekciji SARS-CoV-2. S druge strane, konvencionalne dendritičke stanice imaju ulogu antigen prezentirajućih stanica (APC) i na taj način mogu pokrenuti snažan odgovor stečenog imunskog sustava. Nakon što dendritičke stanice preko TLR7 i TLR9 prepoznaju virus, dolazi do pojačanog lučenja INF-I, povećanja ekspresije kemokina te u konačnici i do pojačane ekspresije ligand receptora smrti, TNF liganda koji iducira apoptozu (TRAIL). Smatra se da bi upravo on mogao biti povezan s pojavom limfopenije u pacijenata zaraženih SARS-CoV-2. U krvi osoba s teškim oblikom COVID-19 pronađene su značajno niske koncentracije dendritičkih stanica, a to je ujedno i u korelaciji s visokim upalnim markerima u krvi i lošim kliničkim ishodom. Nakon što dođe do stimulacije stanice antigenom nezreli dendriti se aktiviraju kako bi postali zrele dendritičke stanice. Ako se infekcija SARS-CoV-2 pojavi u nezrelim stanicama, to onda ometa proces njihovog sazrijevanja i posljedično smanjuje stvaranje IFN-I te ometa signalizaciju i odgovor T stanica na infekciju. Ako pak infekcija zahvati zrele stanice onda posljedično dolazi do povećane ekspresije DC-SIGN i furina i tako čineći te stanice još dostupnijima infekciji SARS-CoV-2. Ovi svi događaji negativno utječu na razvoj stečenog imunskog odgovora što rezultira nastankom smanjenih i disfunkcionalnih T stanica. Starost isto tako negativno utječe na broj dendritičkih stanica, posebice plazmacitnih, kao i na njihovu funkciju. Ovi popratni događaji kao što su infekcija SARS-CoV-2 i starost zajedno mogu dovesti do disfunkcije pa u konačnici i smrti dendritičkih stanica što rezultira povećanim virusnim opterećenje, nastankom citokinske oluje i na kraju razvojem sepse. Zaključno iz toga proizlazi činjenica da bi disfunkcija ili smrt dendritičkih stanica mogla biti ključan događaj u razvoju teške infekcije i lošeg ishoda u COVID-19 (38).

Eozinofili i bazofili su granulociti koji isto tako imaju svoju ulogu u odgovoru na infekciju SARS-CoV-2. Teži slučajevi COVID-19 povezani su sa smanjenjem broja eozinofila i bazofila u perifernoj krvi, ali razlog tome još uvijek nije u potpunosti razjašnjen. U akutnoj fazi infekcije pad eozinofila može ukazivati na loš ishod bolesti te je povezan s povećanim virusnim opterećenjem u pacijenata s COVID-19. Nasuprot tome, povećani broj eozinofila u krvi pacijenata zaraženih SARS-CoV-2 nakon liječenja može značiti bolji ishod bolesti. Situacija s bazofilima je vrlo slična. Primijećen je značajan pad broja bazofila u perifernoj krvi tijekom akutne faze infekcije u težih slučajeva COVID-19 pacijenata. Iako razlog tome još uvijek nije u potpunosti utvrđen, moguće je da je pad broja bazofila u perifernoj krvi uzrokovan njihovom migracijom na samo mjesto infekcije. Još uvijek se istražuju mogući mehanizmi pada broja eozinofila i bazofila u perifernoj krvi osoba zaraženih SARS-CoV-2 te do ovog trenutka nisu u potpunosti poznati (39,40).

Osim klasičnih stanica urođenog imunskog sustava, u infekciji SARS-CoV-2 sudjeluju i druge, novije otkrivene stanice, za koje se smatra da bi mogle biti povezane s imunopatologijom COVID-19. U te stanice spadaju urođene limfoidne stanice (ILCs) te razne podskupine T stanica. U njih ubrajamo MAIT, $\gamma\delta$ T stanice i NK T stanice koje isto tako pridonose urođenom imunitetu sluznice, odnosno plućnog tkiva. One prepoznaju nepeptidne antigene uz pomoć neklasičnih MHC molekula te sudjeluju u ranim fazama infekcije u svrhu pokretanja stečenog imunskog odgovora. Većina težih slučajeva COVID-19 u perifernoj će krvi imati smanjen broj ovih stanica, a uzrok tome nije točno definiran. Smatra se da je to posljedica regrutacije stanica na mjesto infekcije, odnosno u plućno tkivo. Primijećeno je da je broj NK T stanica snižen u akutnoj fazi bolesti čak i u blažim oblicima bolesti, dok je s druge strane uočen povećan broj ovih stanica u BAL-u što može govoriti u prilog teoriji o smanjenju broja stanica u perifernoj cirkulaciji (33,41)

Učinkovitost odgovora urođenog imunskog sustava uvelike ovisi o lučenju interferona tipa I te njegovoj aktivaciji daljnjih signalnih putova. Njegova je uloga u virusnim infekcijama kontrola replikacije virusa, modulacija urođenog te aktivacija stečenog imunskog odgovora. Od prije nam je poznato da SARS-CoV i MERS-CoV koriste višestruke strategije ometanja lučenja IFN tipa I ili signalnih putova nizvodno od IFN receptora (IFNR) i tako inhibiraju njegov odgovor na ove virusne infekcije. Shodno

genomskoj sličnosti ova dva virusa sa SARS-CoV-2, nedavna su istraživanja pokazala kako i ovaj virus također posjeduje sposobnost suzbijanja i odgode lučenja IFN tipa I od strane plazmacitnih dendritičkih stanica. Taj odgođeni odgovor IFN tipa I povećava nakupljanje monocita i makrofaga što dovodi do teške kliničke slike u COVID-19 pacijenata. Još se uvijek istražuju točni mehanizmi inhibicije lučenja IFN tipa I od strane SARS-CoV-2 (35,42).

SARS-CoV-2 je virus koji ima citopatski učinak, što znači da inducira oštećenje i smrt stanica domaćina koje je uspio inficirati, a to vrši procesom piroptoze. Piroptoza je programska smrt stanica posredovana inflamatorom poznatija i kao stanična smrt ovisna o kaspazi-1. PAMPs i DAMPs pokreću proces piroptoze stanica u makrofagima i limfocitima gdje dolazi do aktivacije kaspaze-1 što onda rezultira izlučivanjem proupalnih citokina IL-1 β i IL-18. U fiziološkim uvjetima ovaj bi proces pogodio eliminaciju virusa uz pomoć alveolarnih makrofaga, međutim u određenom broju ljudi bilo zbog velikog virusnog opterećenja ili određenih imunogenetskih čimbenika rizika dolazi do disfunkcionalnog imunskog odgovora koji rezultira hiperinflamacijom plućnog tkiva potaknutog prekomjernim lučenjem proupalnih citokina pod nazivom citokinska oluja (1,33). Zasad je poznato da osobe koje razviju ovaj fenomen imaju težu kliničku sliku te veću mogućnost za razvoj ARDS-a. Tijekom citokinske oluje dolazi do prekomjernog oslobađanja IL-1, IL-6, CXCL-8, IL-10 i TNF- α iz alveolarnih makrofaga koji djeluju kao kemoatraktanti za neutrofile. Oni ulaze u mikrocirkulaciju pluća uzrokujući brojne ozljede endotela i tako pogodujući nastanku ARDS-a (43). Zaključno s time, agresivna aktivacija urođenog imunskog odgovora rezultira pojavom fenomena citokinske oluje koja doprinosi ozljedi plućnog tkiva, nastanku sindroma akutnog respiratornog distresa te u konačnici sindromu multiorganskog zatajenja (MODS) (42).

3.2. Humoralna imunost

Razumijevanje odgovora humane imunosti na infekciju SARS-CoV-2 od iznimne nam je važnosti za razvitak cjepiva protiv COVID-19, strategije provođenja cijepljenja populacije te stvaranja imuniteta krda. Niz političkih i javnozdravstvenih intervencija za suzbijanje širenja SARS-CoV-2 zasnivaju se upravo na činjenicama o dinamici humoralne imunosti. Proučavanjem protutijela koja nastaju tijekom infekcije SARS-CoV-2 otvorile su se i nove

terapijske opcije kao što je konvalescentna plazma, a isto tako iz spoznaje o njihovoj dinamici tijekom infekcije mogla se predvidjeti priroda odgovora na cijepljenje protiv COVID-19. Iskustvo s drugim ljudskim vrstama koronavirusa (HCoV) sugerira da nakon infekcije nastaje djelomična imunost, promjenjivog karaktera i kratkog trajanja (u prosjeku 1-2 godine), a te karakteristike zasad povezujemo i sa SARS-CoV-2 (44).

Humoralna imunost nema ulogu kontrole infekcije SARS-CoV-2, već nam putem proizvodnje protutijela pruža prvobitnu zaštitu od nje. Nakon što je došlo do infekcije virusom, specifične B stanice diferenciraju se u plazma stanice koje potom luče protutijela specifična za virusne antigene. S protein i njegova domena za vezanje receptora (RBD) glavna su meta neutralizirajućih protutijela nastala u infekciji SARS-CoV-2 koja onda sprječavaju vezanje virusa za epitelne stanice u dišnim putovima (45). Uz S protein, tu je još i N protein kao drugo ciljno mjesto djelovanja sastavnica humoralne imunosti (46). Više od 90% pacijenata s COVID-19 u krvi imaju detektabilna neutralizirajuća protutijela koja ciljaju RBD proteina S (47).

Važno pitanje koje se proteže tijekom pandemije jest je li postojanje protutijela nakon oporavka od COVID-19 povezano sa manjim rizikom od ponovne infekcije, odnosno, ako i dođe do reinfekcije hoće li klinička slika tada biti lakša. Iako se prisutnost protutijela poistovjećuje s imunitetom koji nas zapravo štiti od ponovne infekcije, stvarni odnos između protutijela i imuniteta varira od virusa do virusa. Tako jedan pregledni rad donosi sistematičan prikaz rezultata vezanih uz serokonverziju, razine i seroeverziju pojedinih vrsta protutijela koja se mogu detektirati u infekciji SARS-CoV-2. Većina odraslih osoba koje su imale potvrđenu infekciju SARS-CoV-2 RT-PCR testom, njih 80%, razvili su IgM protutijela. Razina IgM protutijela svoj vrhunac doseže oko 20. dana od pojave simptoma ili pozitivne RT-PCR dijagnoze, a prvi put se ova protutijela u krvi zaražene osobe pojavljuju oko 7. dana infekcije te počinju opadati nakon 27. dana. Kada govorimo o IgG protutijelima, čak 95% njih koji su imali potvrđenu infekciju SARS-CoV-2 RT-PCR testom razvijaju ovu vrstu protutijela. IgG protutijela svoj vrhunac dosežu oko 25. dana infekcije, odnosno tada su najviše razine ovih protutijela u krvi zaražene osobe, nakon čega uslijedi plato koji može početi opadati već nakon 60 dana. Prvo pojavljivanje IgG protutijela bude u prosjeku oko 12. dana. Što se tiče rezultata vezanih uz IgA protutijela, malo je

istraživanja na ovu temu da bi se mogao izvući adekvatan zaključak osim da se ova vrsta protutijela može zadržati još mjesecima nakon infekcije SARS-CoV-2, baš kao i IgG protutijela. I za kraj nam još ostaje posebna vrsta protutijela, neutralizirajuća. Ovdje pak gotovo svi pojedinci, njih čak 99%, razviju ovu vrstu protutijela dok se rezultati o postojanju ovih protutijela u krvi zaraženih suviše razlikuju da bi se mogao izvesti adekvatan zaključak na ovu temu (48).

Čini se da je intenzitet odgovora IgG protutijela povezan s razinom virusnog opterećenja i težinom bolesti. Prema jednom istraživanju je uočeno da su asimptomatske osobe imale značajno niže razine IgG-a specifičnih za SARS-CoV-2 za razliku od skupine koja je razvila simptome COVID-19. Uz to, ističu se i podaci kako je u ranoj fazi rekonvalescencije 40% asimptomatskih pojedinaca naspram 13% simptomatskih pokazalo negativne rezultate o pristunosti IgG protutijela. Iz toga proizlazi činjenica kako zapravo humoralna imunost u takvih osoba koje su preboljele blagi oblik bolesti nije dugotrajna i ima niži stupanj zaštite od ponovne infekcije (1).

B stanice tijekom infekcije ili cijepljenja stvaraju protutijela visokog afiniteta koja nastaju u specijaliziranim mikroanatomskim strukturama koje nazivamo germinativnim centrima, a oni su smješteni u slezeni i limfnim čvorovima. Ovdje dolazi do interakcije između B i T stanica gdje B stanice potiču diferencijaciju CD4+ T stanica u takozvane pomoćničke limfocite T (T_h) koji će kasnije usmjeravati ponašanje B stanica tijekom idućeg imunološkog odgovora. S druge strane, T stanice usmjeravaju B stanice na proliferaciju i diferencijaciju u plazmablaste koji onda izlučuju protutijela. B stanice u germinativnim centrima proliferiraju i namjerno mutiraju vlastitu DNA te tako mijenjaju afinitet svojih receptora koji vežu antigen. Na taj način odvija se proces selekcije „najizdržljivijih“ B stanica koje onda postaju B memorijske stanice i sudjeluju u obrani organizma od reinfekcije (49). Iako nam dugovječnost protutijela na SARS-CoV-2 još uvijek nije u potpunosti razjašnjena, utvrđeno je da B memorijske stanice specifične za SARS-CoV-2 ostaju u cirkulaciji čak i do 6 mjeseci. U kohortnom istraživanju provedenom upravo na ovu temu kod 21 nasumično odabrane osobe titar anti-RBD protutijela se u periodu između 1,3 i 6,2 mjeseca značajno smanjio dok se broj B memorijskih stanica specifičnih za RBD u istom periodu neznatno povećao. Ovaj podatak je od iznimne važnosti kada

govorimo o procesu učinkovitog cijepljenja obzirom da nam B memorijske stanice potencijalno igraju glavnu ulogu u zaštiti od ponovnog izlaganja virusu. Pitanje dugovječnosti protutijela u infekciji SARS-CoV-2 kao i broja B memorijskih stanica te sposobnost obrane imunskog sustava od ponovne infekcije do ovog trenutka nisu u potpunosti odgovoreni te su i dalje aktualna tema brojnih istraživanja (50).

3.3. Stanična imunost

T stanice ključna su komponenta imunskog sustava tijekom virusne infekcije. CD8+ T stanice važne su nam zbog svoje citotoksičnosti usmjerene prema stanicama inficiranim virusom dok su CD4+ T stanice svoju ulogu pronašle u aktivaciji CD8+ T i B stanica te su ujedno i izvor lučenja brojnih citokina koji pogoduju regrutaciji stanica u akutnoj fazi infekcije (1). Da je uloga T stanica značajna u infekciji SARS-CoV-2 govori u prilog istraživanje koje uključuje pacijente s agamaglobulinemijom oboljele od COVID-19. Iako se radi o prikazu samo nekoliko dokumentiranih slučajeva, svi su se zaraženi pacijenti uspjeli oporaviti od infekcije bez potpore mehaničke ventilacije ili pružanja intenzivne njege što nam sugerira kako su B stanice i protutijela koja one stvaraju kritični za prevenciju infekcije, dok je odgovor T stanica ključna komponenta uklanjanja infekcije uz minimalne posljedice (51).

Samo nekoliko dana nakon izlaganja organizma virusu dolazi do aktivacije stanične imunosti. Stanice urođenog imunskog sustava potrebne su nam u stimulaciji efektorskih stanica humoralne i stanične imunosti kako bi došlo do uspješne eliminacije virusa. Lučenje IFN-I dovodi do sazrijevanja dendritičkih stanica, makrofaga i monocita u APC koje onda obrađuju virusne antigene u fragmente koje će potom prezentirati putem MHC molekula klase II (52). Tu na scenu stupaju CD4+ pomoćničke T stanice koje prepoznaju antigene predstavljene od strane MHC II molekula i tada aktiviraju CD8+ citotoksične T stanice. One pak preko MHC molekula klase I prepoznaju stanice zaražene virusom i pokreću citotoksičnu reakciju (33). Ove stanice imaju sposobnost izravnog uništavanja virusa skrivenog u stanicama domaćina putem molekula perforina i granzima (53) Perforini stvaraju pore na staničnoj membrani omogućujući tako prijenos granzima unutar stanice što posljedično dovodi do cijepanja i aktivacije kaspaza koje induciraju

apoptotičku smrt zaraženih stanica i na taj način uklanjanju virus iz organizma domaćina (54).

Akutna faza SARS-CoV-2 infekcije u velikog je broja pacijenata obilježena limfopenijom, odnosno smanjenim brojem limfocita u cirkulaciji, te se povezuje s lošijim kliničkim ishodima COVID-19 (10,55). Mogući razlozi nastanka limfopenije u infekciji SARS-CoV-2 u korelaciji su sa onima kao i u sepsi, teškoj traumi, velikim kirurškim zahvatima, opeklinama pa čak i infekciji SARS-CoV. Sve ove okolnosti dovode do pokretanja osovine hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda kao odgovor na stres što dovodi do prekomjernog lučenja endogenih glukokortikoida, koji potiču regrutaciju limfocita iz perifernih dijelova cirkulacije. Slična stvar događa se i s primjenom egzogenih glukokortikoida kao jedne od terapijskih opcija u infekciji SARS-CoV-2 samo što u ovom slučaju limfopenija može biti prolazna pojava. Isto tako aktivacijom signalnog puta p53 dolazi do zaustavljanja replikacije SARS-CoV-2, ali i do apoptoze limfocita T te posljedično do oštećenja staničnog imunskog sustava (56).

Grifon i suradnici u svom su istraživanju kvantificirali SARS-CoV-2 specifične T stanice i otkrili da 100% CD4+ i 70% CD8+ T stanica posjeduju SARS-CoV-2 spike-specifične odgovore u rekonvalescentnih pacijenata. Upravo ti podaci impliciraju važnost T stanica u uklanjanju virusa i oporavku oboljelih od COVID-19. Štoviše, ovi podaci racionaliziraju važnost korištenja SARS-CoV-2 S proteina kao glavnog sastojka cjepiva protiv COVID-19 na čemu se danas i temelje sva dosad proizvedena cjepiva (57). SARS-CoV-2 specifične CD4 + T stanice pojavljuju se u infekciji već nakon 2-4 dana od pojave simptoma. Uvidjelo se kako upravo one imaju najjaču povezanost sa ozbiljnošću bolesti. Tako je odgođeni odgovor CD4+ T stanica povezan s teškim ili čak letalnim oblikom COVID-19 (58).

CD4+ pomoćnički limfociti T tijekom infekcije SARS-CoV-2 diferenciraju u određene podskupine kao što su Th1, Th2, Th17, Treg i Tfh stanice. Njihova se podjela temelji na vrsti citokina koje luče te koje su njihove uloge u staničnom imunskom odgovoru. Pa tako Th1 stanice luče velike količine IL-2 i INF- γ . One su odgovorne za posredovanje imunološkog odgovora protiv unutarstaničnih patogena poticanjem aktivacije makrofaga, B stanica, NK stanica i CD8+ T stanica (59). Th2 stanice, aktivirane povećanom

ekspresijom GATA 3 veznog proteina, luče IL-4, IL-5 i IL-13 i odgovorne su za posredovanje imunološkog odgovora protiv izvanstaničnih patogena aktivacijom eozinofila, bazofila i mastocita te poticanjem proizvodnje IgE protutijela (60). Za regrutaciju neutrofila i monocita odgovorne su Th17 stanice koje luče IL-17 i IL-22 te razne druge citokine i kemokine. Povezane su s teškim oblikom COVID-19 (61). Ključnu ulogu u održavanju imunološke homeostaze imaju T regulatorne stanice (Treg). One eksprimiraju transkripcijski faktor FOXP3 te inhibiraju učinak proupalnih T stanica Th1 i Th17 lučenjem IL-10 i IL-35 i TGF- β (54). Kao posljednja podskupina T stanica ističu se folikularne pomoćničke T stanice (Tfh) koje potiču B stanice na proizvodnju protutijela visokog afiniteta, a isto tako stimuliraju i B stanice germinativnih centara na diferencijaciju u B memorijske stanice (51).

Ulaskom virusa u stanice domaćina pokreću se mehanizmi stanične imunosti posredovane T stanicama. Na prvoj crti obrane stoje CD4+ pomoćnički limfociti T kontrolirajući cjelokupni stečeni imunski odgovor te poticanjem B stanica na stvaranje protutijela, dok CD8+ citotoksični limfociti T igraju vitalnu ulogu u čišćenju stanica zaraženih SARS-CoV-2 (62).

4. Značaj stanične imunosti specifične za SARS-CoV-2 u zdravih pojedinaca

Gotovo tri godine nakon pojave SARS-CoV-2 i dalje ostaju nerazjašnjena pitanja vezana uz čimbenike koji utječu na imunosni odgovor u infekciji SARS-CoV-2, trajanje imuniteta te učinkovitost trenutno dostupnih cjepiva protiv COVID-19 (63). Kod većine oboljelih od COVID-19 dolazi do spontanog razrješenja infekcije što nam sugerira da se imunitet domaćina prirodno inducira u infekciji SARS-CoV-2. Prema novijim podacima važno mjesto u tome imaju CD4+ T stanice za koje se i dalje istražuje kako se doista ponašaju u COVID-19 te koja je njihova uloga u napredovanju bolesti, uklanjanju virusa i zaštiti. Smatra se da bi upravo CD4+ T stanice mogle biti odgovorne za dugotrajnu imunost u zdravih pojedinaca (64).

4.1. Križno reaktivni odgovor T stanica na SARS-CoV-2 i endemske HCoV

Odgovor T stanica na SARS-CoV-2 javlja se u većine osoba oboljelih od COVID-19. Nekoliko je istraživanja došlo do zanimljivih podataka kako pojedinci koji nisu bili izloženi SARS-CoV-2 infekciji imaju već postojeću reaktivnost na epitope virusa (1). Znanstvenici smatraju kako bi se u pozadini toga mogla kriti prethodna izloženost širokocirkulirajućim HCoV koji su uzrok običnih prehlada. Otkriveno je, naime, da postojeća reaktivnost na SARS-CoV-2 potječe od memorijskih T stanica specifičnih za druge vrste HCoV te da svojstvom križne reaktivnosti T stanice mogu prepoznati epitope SARS-CoV-2 kao i homologne epitope virusa obične prehlade (65).

U jednom je istraživanju prikupljena grupa rekonvalescentnih zdravstvenih djelatnika te je proučavan njihov imunosni odgovor u razdoblju od 3 do 9 mjeseci nakon pojave prvih simptoma COVID-19. Tu je dokazan križno reaktivni T stanični odgovor na SARS-CoV-2 i endemske HCoV kao što su OC43 i NL63 u rekonvalescentnoj inficiranoj skupini kao i u skupini neizloženih osoba. Kako je i očekivano, prema rezultatima rekonvalescentna skupina pokazala je veći broj SARS-CoV-2 specifičnih CD4+ T stanica usmjerenih prema S proteinu u odnosu na skupinu koja nije bila izložena. Važan podatak govori nam kako je, za razliku od humoralne imunosti i brzo opadajućih razina titra protutijela, imunost T stanica u rekonvalescentnih pacijenata bila stabilna tijekom cijelog razdoblja istraživanja. Isto tako, u ovom istraživanju memorijske CD4+ T stanice imale su najjači odgovor

usmjeren protiv N proteina SARS-CoV-2 što govori u prilog tome da bi buduća cjepiva protiv COVID-19 mogla uz S protein uključivati i N protein (63).

Veličina i kvaliteta unakrsne reaktivnosti SARS-CoV-2 i HCoV opada s godinama. Zbog starenja imuniteta gubi se sposobnost održavanja SARS-CoV-2 križno reaktivnih T stanica stvorenih infekcijom HCoV zajedno s manjim brojem naivnih T stanica koje se mogu pretvoriti u SARS-CoV-2 specifične T stanice. Ovi podaci govore u prilog većoj susceptibilnosti starijih ljudi ka COVID-19, težoj kliničkoj slici i lošijim ishodima bolesti (66).

4.2. Odgovor CD4+ T stanica specifičnih za SARS-CoV-2 nakon primjene mRNA cjepiva

mRNA cjepiva protiv COVID-19 izazivaju snažan odgovor B i T stanica imunskog odgovora na S protein, kako u preboljelih od COVID-19, tako i u neizloženih osoba. Istraživanjem je utvrđeno kako u preboljelih od COVID-19 ne dolazi do restimulacije već postojećih CD4+ T stanica nakon primjene mRNA cjepiva, već da su one produkt stimulacije novih klonova aktiviranih cjepivom. Taj se repertoar stanica u potpunosti razlikuje od onog nastalog prirodnom infekcijom virusom. Također, rezultati ovog istraživanja ukazuju na to da cjepivo prvenstveno inducira T stanice koje su specifične samo za antigene SARS-CoV-2, a ne i T stanice koje križno prepoznaju i druge vrste HCoV uzročnika obične prehlade (67). U drugom istraživanju rezultati ukazuju kako nakon primjene mRNA cjepiva dolazi do snažnog odgovora T stanica na SARS-CoV-2 S protein, a istovremeno je došlo i do trostrukog povećanja odgovora CD4+ T stanica na HCoV-NL63 S protein. Tako suprotno prethodnom istraživanju ovi rezultati govore u prilog razvoju zaštite od SARS-CoV-2, ali i križne reaktivnosti usmjerene prema endemičnim HCoV (68).

Painter i sur. u svom su istraživanju došli do vrijednih zaključaka kada je u pitanju brzina indukcije SARS-CoV-2 specifičnih CD4+ T stanica nakon primanja samo jedne doze mRNA cjepiva u neizloženih osoba. Oni su uočili kako već samo dva tjedna nakon primanja prve doze cjepiva dolazi do snažnog odgovora SARS-CoV-2 specifičnih CD4+ T stanica. Iz prethodnih opažanja titri neutralizirajućih protutijela u tom su periodu još uvijek na niskim razinama te se postupno razvijaju, baš kao i SARS-CoV-2 specifične

CD8+ T stanice (69,70) Na životinjskom modelu dokazano je kako CD4+ T stanice zaista mogu spriječiti simptomatsku infekciju SARS-CoV (71). Tako brza aktivacija CD4+ T stanica može nam objasniti nepovezanost između niskih razina protutijela i zaštitnog imuniteta stvorenog već nakon prve doze cjepiva .

4.3. Dugotrajna imunost posredovana memorijskim T stanicama nalik na matične stanice

Bez obzira na to radi li se o prirodnoj infekciji ili pak cijepljenju, stvaranje učinkovite i postojeće memorije T stanica je ključno za dugotrajnu zaštitnu imunost. Noviji podaci govore o posebnoj podskupini memorijskih T stanica za koje se smatra da bi mogle biti odgovorne za dugotrajnu imunost u infekciji SARS-CoV-2. Radi se o memorijskim T stanicama nalik na matične stanice (TSCM) koje posjeduju sposobnost regeneracije i multipotentnosti. Stoga nam je uspješno stvaranje TSCM stanica ključ dugotrajne zaštite putem T stanica. Prema istraživanju Junga i sur. otkriveno je kako se TSCM stanice uspješno razvijaju u odgovoru imunosnog sustava na infekciju SARS-CoV-2 te je najveći broj ovih stanica prisutan 120 dana nakon pojave simptoma COVID-19 (72). Zbog činjenice da je odgovor T stanica SARS-CoV i MERS-CoV prisutan čak i nakon 17 godina, takav se ishod očekuje i kod SARS-CoV-2 (67,73).

5. Zaključak

Koronavirusi dio su naše svakodnevice te su predmetom brojnih istraživanja dugi niz godina. Pojavom nove vrste virusa, SARS-CoV-2, veliki su naponi uloženi u istraživanje odgovora imunosnog sustava u COVID-19 u svrhu razvitka djelotvorne terapije i cjepiva. Trenutni dokazi upućuju na veliku važnost SARS-CoV-2 specifičnih CD4+ T stanica u infekciji novim virusom. Osim što su ključne stanice u uklanjanju virusa putem interakcije sa CD8+ T stanicama, ujedno mogu spriječiti infekciju i bez prethodne pojave protutijela križnom reaktivnošću s ostalim HCoV. Tijekom procesa cijepljenja temelj su razvoja zaštite od infekcije, ali i sprječavanja lošeg ishoda bolesti do infekcije i dođe. U rekonvalescentnih pacijenata djeluju kao memorijske stanice te tako pružaju zaštitu od reinfekcije i stvaraju dugotrajnu imunost. Iako njihova dugotrajnost još uvijek nije u potpunosti istražena, poučeni iskustvom prethodnih vrsta HCoV ove stanice pokazuju veliki potencijal za sposobnost buduće kontrole virusa i bolesti domaćina te važnost u zaštiti izazvanoj cjepivom. Daljnje spoznaje o CD4+ T stanicama mogle bi potencijalno dovesti do razvitka novih vrsta cjepiva ili poboljšanja već postojećih. Zaključno s tim, SARS-CoV-2 CD4+ T stanice od iznimnog su značaja u zdravih pojedinaca te su i dalje predmet brojnih istraživanja koja tek trebaju otkriti njihov veliki potencijal i ulogu u borbi s COVID-19.

6. Zahvale

Zahvaljujem svom mentoru izv.prof. Robertu Likiću na podršci, vodstvu i savjetima tijekom pisanja diplomskog rada, ali i zajedničkih znanstvenih radova. Zaista ste bili velika inspiracija.

Hvala svim mojim prijateljima i kolegama koji su učinili moje iskustvo studiranja ljepšim i lakšim. Posebno hvala Nini i Danijelu na svim zajedničkim pothvatima učenja i višesatnim online sastancima tijekom pandemije te što su bili odlični motivatori onda kada je to bilo najviše potrebno.

Na kraju, najviše hvala mojim roditeljima Josipi i Damiru kao i mom bratu Matiji na neizmjernoj podršci i ljubavi tijekom svih ovih godina. Bez vas ne bi bila danas to što jesam.

7. Literatura

1. Boechat JL, Chora I, Morais A, Delgado L. The immune response to SARS-CoV-2 and COVID-19 immunopathology – Current perspectives. *Pulmonology*. 2021.;27(5):423–37.
2. Cucinotta D, Vanelli M. WHO declares COVID-19 a pandemic. *Acta Biomed*. 2020.;91(1):157–60.
3. WHO. COVID-19 weekly epidemiological update. *World Heal Organ*. 2022.;(58):1–23.
4. V'kovski P, Kratzel A, Steiner S, Stalder H, Thiel V. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. *Nat Rev Microbiol*. 2021.;19(3):155–70.
5. Hasöksüz M, Kiliç S, Saraç F. Coronaviruses and sars-cov-2. *Turkish J Med Sci*. 2020.;50(SI-1):549–56.
6. Holmes EC, Goldstein SA, Rasmussen AL, Robertson DL, Crits-Christoph A, Wertheim JO, i ostali. The origins of SARS-CoV-2: A critical review. *Cell*. 2021.;184(19):4848–56.
7. Ochani RK, Asad A, Yasmin F, Shaikh S, Khalid H, Batra S, i ostali. Covid-19 pandemic: From origins to outcomes. A comprehensive review of viral pathogenesis, clinical manifestations, diagnostic evaluation, and management. *Infez Med*. 2021.;29(1):20–36.
8. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi ZL. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol*. 2021.;19(3):141–54.
9. Johansson MA, Quandelacy TM, Kada S, Prasad PV, Steele M, Brooks JT, i ostali. SARS-CoV-2 Transmission from People without COVID-19 Symptoms. *JAMA Netw Open*. 2021.;4(1):1–8.
10. Gao Y dong, Ding M, Dong X, Zhang J jin, Kursat Azkur A, Azkur D, i ostali. Risk factors for severe and critically ill COVID-19 patients: A review. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2021.;76(2):428–55.

11. Wang MY, Zhao R, Gao LJ, Gao XF, Wang DP, Cao JM. SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020.;10(November):1–17.
12. Harrison AG, Lin T, Wang P. Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis. *Trends Immunol.* 2020.;41(12):1100–15.
13. Koch J, Uckeley ZM, Doldan P, Stanifer M, Boulant S, Lozach P. TMPRSS2 expression dictates the entry route used by SARS-CoV-2 to infect host cells. *EMBO J.* 2021.;40(16):1–20.
14. Iida S, Arashiro T, Suzuki T. Insights into Pathology and Pathogenesis of Coronavirus Disease 2019 from a Histopathological and Immunological Perspective. *JMA J.* 2021.;4(3):179–86.
15. To KKW, Sridhar S, Chiu KHY, Hung DLL, Li X, Hung IFN, et al. Lessons learned 1 year after SARS-CoV-2 emergence leading to COVID-19 pandemic. *Emerg Microbes Infect.* 2021.;10(1):507–35.
16. Chams N, Chams S, Badran R, Shams A, Araji A, Raad M, et al. COVID-19: A Multidisciplinary Review. *Front Public Heal.* 2020.;8(July):1–20.
17. Salian VS, Wright JA, Vedell PT, Nair S, Li C, Kandimalla M, et al. COVID-19 Transmission, Current Treatment, and Future Therapeutic Strategies. *Mol Pharm.* 2021.;18(3):754–71.
18. Gupta A, Madhavan M V., Sehgal K, Nair N, Mahajan S, Sehrawat TS, et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nat Med.* 2020.;26(7):1017–32.
19. Udugama B, Kadhiresan P, Kozlowski HN, Malekjahani A, Osborne M, Li VYC, et al. Diagnosing COVID-19: The Disease and Tools for Detection. *ACS Nano.* 2020.;14(4):3822–35.
20. Sharma A, Farouk IA, Lal SK. COVID-19 : A Review on the Novel Coronavirus Disease. *Viruses.* 2021.;13(2):1–25.
21. Taleghani N, Taghipour F. Diagnosis of COVID-19 for controlling the pandemic: A

- review of the state-of-the-art. *Biosens Bioelectron.* 2021.;174:112830.
22. Vandenberg O, Martiny D, Rochas O, van Belkum A, Kozlakidis Z. Considerations for diagnostic COVID-19 tests. *Nat Rev Microbiol.* 2021.;19(3):171–83.
 23. Alsharif W, Qurashi A. Effectiveness of COVID-19 diagnosis and management tools: A review. *Radiography.* 2021.;27(2):682–7.
 24. Cjepiva protiv COVID-a 19 [Internet]. Dostupno na: <https://vaccination-info.eu/hr/covid-19/cjepiva-protiv-covid-19>
 25. Čivljak R, Markotić A. Coronavirus disease 2019 pandemic two years later... What's next? *Croat Med J.* 2022.;63(1):1–5.
 26. Hannah Ritchie, Edouard Mathieu, Lucas Rodés-Guirao, Cameron Appel, Charlie Giattino, Esteban Ortiz-Ospina, Joe Hasell, Bobbie Macdonald DB and MR. Coronavirus Pandemic (COVID-19). *Our World Data.* 2020.;
 27. Tsang HF, Chan LWC, Cho WCS, Yu ACS, Yim AKY, Chan AKC, i ostali. An update on COVID-19 pandemic: the epidemiology, pathogenesis, prevention and treatment strategies. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2021.;19(7):877–88.
 28. Rehman SU, Rehman SU, Yoo HH. COVID-19 challenges and its therapeutics. *Biomed Pharmacother.* 2021.;142(June):112015.
 29. Raman R, Patel KJ, Ranjan K. Covid-19: Unmasking emerging sars-cov-2 variants, vaccines and therapeutic strategies. *Biomolecules.* 2021.;11(7).
 30. Noreen S, Maqbool I, Madni A. Dexamethasone: Therapeutic potential, risks, and future projection during COVID-19 pandemic. *Eur J Pharmacol.* 2021.;894(August 2020):173854.
 31. Drożdżal S, Rosik J, Lechowicz K, Machaj F, Szostak B, Przybyciński J, i ostali. An update on drugs with therapeutic potential for SARS-CoV-2 (COVID-19) treatment. *Drug Resist Updat.* 2021.;59(November).
 32. Trigg CR, Bansal D, Ding H, Islam MM, Farag EABA, Hadi HA, i ostali. A Comprehensive Review of Viral Characteristics, Transmission, Pathophysiology,

- Immune Response, and Management of SARS-CoV-2 and COVID-19 as a Basis for Controlling the Pandemic. *Front Immunol.* 2021.;12(February):1–23.
33. Ruenjaiman V, Hirankarn N, Palaga T. Innate immunity in COVID-19: Drivers of pathogenesis and potential therapeutic targets. *Asian Pacific J Allergy Immunol.* 2021.;39(2):69–77.
 34. Schultze JL, Aschenbrenner AC. COVID-19 and the human innate immune system. *Cell.* 2021.;184(7):1671–92.
 35. Lotfi R, Kalmarzi RN, Roghani SA. A review on the immune responses against novel emerging coronavirus (SARS-CoV-2). *Immunol Res.* 2021.;69(3):213–24.
 36. Ackermann M, Anders HJ, Bilyy R, Bowlin GL, Daniel C, De Lorenzo R, et al. Patients with COVID-19: in the dark-NETs of neutrophils. *Cell Death Differ.* 2021.;28(11):3125–39.
 37. Jordan SC. Innate and adaptive immune responses to SARS-CoV-2 in humans: relevance to acquired immunity and vaccine responses. *Clin Exp Immunol.* 2021.;204(3):310–20.
 38. Borges RC, Hohmann MS, Borghi SM. Dendritic cells in COVID-19 immunopathogenesis: insights for a possible role in determining disease outcome. *Int Rev Immunol.* 2021.;40(1–2):108–25.
 39. Rosenberg HF, Foster PS. Eosinophils and COVID-19: diagnosis, prognosis, and vaccination strategies. *Semin Immunopathol.* 2021.;43(3):383–92.
 40. Murdaca G, Di Gioacchino M, Greco M, Borro M, Paladin F, Petrarca C, et al. Basophils and mast cells in COVID-19 pathogenesis. *Cells.* 2021.;10(10):1–13.
 41. Björkström NK, Ponzetta A. Natural killer cells and unconventional T cells in COVID-19. *Curr Opin Virol.* 2021.;49:176–82.
 42. Park SH. An impaired inflammatory and innate immune response in COVID-19. *Mol Cells.* 2021.;44(6):384–91.
 43. Pum A, Ennemoser M, Adage T, Kungl AJ. Cytokines and chemokines in SARS-

- CoV-2 infections—therapeutic strategies targeting cytokine storm. *Biomolecules*. 2021.;11(1):1–21.
44. Post N, Eddy D, Huntley C, van Schalkwyk MCI, Shrotri M, Leeman D, et al. Antibody response to SARS-CoV-2 infection in humans: A systematic review. *PLoS One*. 2020.;15(12):1–27.
 45. Cox RJ, Brokstad KA. Not just antibodies: B cells and T cells mediate immunity to COVID-19. *Nat Rev Immunol*. 2020.;20(10):581–2.
 46. Galipeau Y, Greig M, Liu G, Driedger M, Langlois MA. Humoral Responses and Serological Assays in SARS-CoV-2 Infections. *Front Immunol*. 2020.;11(December):1–19.
 47. Torbati E, Krause KL, Ussher JE. The immune response to sars-cov-2 and variants of concern. *Viruses*. 2021.;13(10):1–22.
 48. Arkhipova-Jenkins I, Helfand M, Armstrong C, Gean E, Anderson J, Paynter RA, et al. Antibody response after SARS-CoV-2 infection and implications for immunity: A rapid living review. *Ann Intern Med*. 2021.;174(6):811–21.
 49. Quast I, Tarlinton D. B cell memory: understanding COVID-19. *Immunity*. 2021.;54(2):205–10.
 50. Gaebler C, Wang Z, Lorenzi JCC, Muecksch F, Finkin S, Tokuyama M, et al. Evolution of antibody immunity to SARS-CoV-2. *Nature*. 2021.;591(7851):639–44.
 51. DiPiazza AT, Graham BS, Ruckwardt TJ. T cell immunity to SARS-CoV-2 following natural infection and vaccination. *Biochem Biophys Res Commun*. 2021.;538:211–7.
 52. Mistry P, Barmania F, Mellet J, Peta K, Strydom A, Viljoen IM, et al. SARS-CoV-2 Variants, Vaccines, and Host Immunity. *Front Immunol*. 2022.;12(January):1–21.
 53. Chung JY, Thone MN, Kwon YJ. COVID-19 vaccines: The status and perspectives in delivery points of view. *Adv Drug Deliv Rev*. 2021.;170:1–25.
 54. de Candia P, Prattichizzo F, Garavelli S, Matarese G. T Cells: Warriors of SARS-

- CoV-2 Infection. *Trends Immunol.* 2021.;42(1):18–30.
55. Moss P. The T cell immune response against SARS-CoV-2. *Nat Immunol.* 2022.;23(2):186–93.
 56. Yan S, Wu G. Is lymphopenia different between SARS and COVID-19 patients? *FASEB J.* 2021.;35(2):1–7.
 57. Toor SM, Saleh R, Sasidharan Nair V, Taha RZ, Elkord E. T-cell responses and therapies against SARS-CoV-2 infection. *Immunology.* 2021.;162(1):30–43.
 58. Sette A, Crotty S. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. *Cell.* 2021.;184(4):861–80.
 59. Martonik D, Parfieniuk-Kowerda A, Rogalska M, Flisiak R. The role of th17 response in COVID-19. *Cells.* 2021.;10(6).
 60. Pavel AB, Glickman JW, Michels JR, Kim-Schulze S, Miller RL, Guttman-Yassky E. Th2/Th1 Cytokine Imbalance Is Associated With Higher COVID-19 Risk Mortality. *Front Genet.* 2021.;12(July):1–7.
 61. Muyayalo KP, Huang DH, Zhao SJ, Xie T, Mor G, Liao AH. COVID-19 and Treg/Th17 imbalance: Potential relationship to pregnancy outcomes. *Am J Reprod Immunol.* 2020.;84(5):1–7.
 62. Chowdhury MA, Hossain N, Kashem MA, Shahid MA, Alam A. Immune response in COVID-19: A review. *J Infect Public Health.* 2020.;13(11):1619–29.
 63. Wirsching S, Harder L, Heymanns M, Gröndahl B, Hilbert K, Kowalzik F, et al. Long-Term, CD4+ Memory T Cell Response to SARS-CoV-2. *Front Immunol.* 2022.;13(April):1–9.
 64. Zhao J, Wang L, Schank M, Dang X, Lu Z, Cao D, et al. SARS-CoV-2 specific memory T cell epitopes identified in COVID-19-recovered subjects. *Virus Res.* 2021.;304(March):198508.
 65. Mateus J, Grifoni A, Tarke A, Sidney J, Ramirez SI, Dan JM, et al. Selective and cross-reactive SARS-CoV-2 T cell epitopes in unexposed humans. *Science* (80-).

- 2020.;370(6512):89–94.
66. Loyal L, Braun J, Henze L, Kruse B, Dingeldey M, Reimer U, i ostali. Cross-reactive CD4+ T cells enhance SARS-CoV-2 immune responses upon infection and vaccination. *Science* (80-). 2021.;374(6564).
 67. Dykema AG, Zhang B, Woldemeskel BA, Garliss CC, Rashid R, Westlake T, i ostali. SARS-CoV-2 vaccination diversifies the CD4+ spike-reactive T cell repertoire in patients with prior SARS-CoV-2 infection. *eBioMedicine*. 2022.;80:1–13.
 68. Woldemeskel BA, Garliss CC, Blankson JN. SARS-CoV-2 mRNA vaccines induce broad CD4+ T cell responses that recognize SARS-CoV-2 variants and HCoV-NL63. *J Clin Invest*. 2021.;131(10):4–9.
 69. Painter MM, Mathew D, Goel RR, Apostolidis SA, Pattekar A, Kuthuru O, i ostali. Rapid induction of antigen-specific CD4+ T cells is associated with coordinated humoral and cellular immunity to SARS-CoV-2 mRNA vaccination. *Immunity*. 2021.;54(9):2133-2142.e3.
 70. Goel RR, Apostolidis SA, Painter MM, Mathew D, Pattekar A, Kuthuru O, i ostali. Distinct antibody and memory B cell responses in SARSCoV-2 naïve and recovered individuals following mRNA vaccination. *Sci Immunol*. 2021.;6(58):1–19.
 71. Zhao J, Zhao J, Mangalam AK, Channappanavar R, Fett C, Meyerholz DK, i ostali. Airway Memory CD4+ T Cells Mediate Protective Immunity against Emerging Respiratory Coronaviruses. *Immunity*. 2016.;44(6):1379–91.
 72. Jung JH, Rha MS, Sa M, Choi HK, Jeon JH, Seok H, i ostali. SARS-CoV-2-specific T cell memory is sustained in COVID-19 convalescent patients for 10 months with successful development of stem cell-like memory T cells. *Nat Commun*. 2021.;12(1):1–12.
 73. Ng OW, Chia A, Tan AT, Jadi RS, Leong HN, Bertoletti A, i ostali. Memory T cell responses targeting the SARS coronavirus persist up to 11 years post-infection. *Vaccine*. 2016.;34(17):2008–14.

8. Životopis

Rođena sam 23.01.1998. u Zagrebu. Pohađala sam osnovnu školu Antuna Branka Šimića, a potom i III. gimnaziju općeg smjera u Zagrebu. 2016. godine upisala sam Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

Pohađala sam Školu pjevanja Emilije Kokić 6 godina. Govorim tečno engleski jezik, a posjedujem i B1 razinu znanja njemačkog jezika.

Tijekom studija medicine postajem aktivni član Udruge StEPP te sam imala priliku voditi edukacije iz područja hitne medicine organizirane za studente medicine i stomatologije. Sudjelovala sam također u provođenju javnozdravstvene akcije pod nazivom "Oživi me" i tako doprinijela edukaciji laika o važnosti kardiopulmonalne reanimacije i kako ju na pravi način izvesti. U 2022. godini položila sam službeni ILS tečaj ERC-a.

Prisustvovala sam kongresu pod nazivom ZIMS 20th Zagreb International Medical Summit koji se održavao od 1. do 5. prosinca 2020. Tamo sam kao aktivni sudionik prikazala rezultate rada pod nazivom „Satisfaction and attitudes of Zagreb medical students towards online education during the COVID-19 pandemic“. Drugi kongres koji sam pohađala kao pasivni sudionik bio je 10th Adriatic and 7th Croatian congress of pharmacoconomics and outcomes research gdje sam bila koautor teksta „Challenges in nursing during the COVID-19 pandemic in Croatia“. Taj se kongres održao u Puli od 2. do 4. lipnja 2022. Koautor sam dva članka objavljena u indeksiranom časopisu Postgraduate Medical Journal koje sam napisala zajedno sa kolegom Robertom Marčecom te profesorom Robertom Likićem. Prvi članak objavljen je pod naslovom „Will vaccination refusal prolong the war on SARS-CoV-2?“, dok je naslov drugog članka „Brave, new and divided post-COVID-19 world“.