

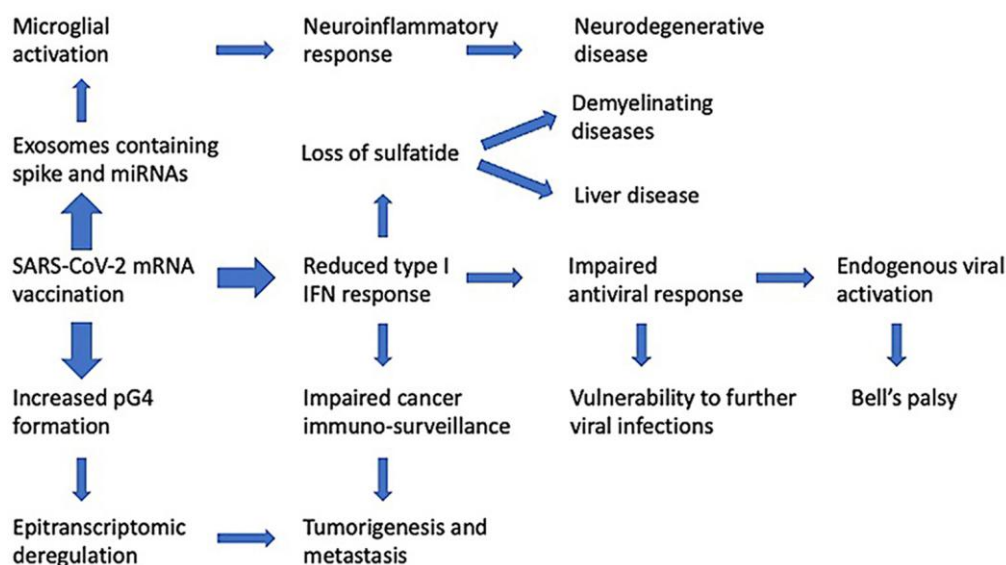
Soppressione immunitaria innata mediante vaccinazioni con mRNA SARS-CoV-2: il ruolo dei quadruplex G, degli esosomi e dei microRNA

In risalto

- I vaccini mRNA promuovono la sintesi prolungata della proteina spike SARS-CoV-2.
- La proteina spike è neurotossica e altera i meccanismi di riparazione del DNA.
- La soppressione delle risposte dell'interferone di tipo I provoca una compromissione dell'immunità innata.
- I vaccini mRNA potenzialmente causano un aumento del rischio di malattie infettive e cancro.
- L'ottimizzazione del codone si traduce in un mRNA ricco di G che ha effetti complessi imprevedibili.

Abstract

I vaccini mRNA SARS-CoV-2 sono stati immessi sul mercato in risposta alle crisi di salute pubblica del Covid-19. L'utilizzo dei vaccini mRNA nel contesto delle malattie infettive non ha precedenti. Le numerose alterazioni nell'mRNA del vaccino nascondono l'mRNA dalle difese cellulari e promuovono un'emivita biologica più lunga e un'elevata produzione di proteine spike. Tuttavia, la risposta immunitaria al vaccino è molto diversa da quella a un'infezione da SARS-CoV-2. In questo articolo, presentiamo prove che la vaccinazione induce una profonda compromissione della segnalazione dell'interferone di tipo I, che ha diverse conseguenze negative per la salute umana. Le cellule immunitarie che hanno assorbito le nanoparticelle del vaccino rilasciano in circolazione un gran numero di esosomi contenenti proteine spike insieme a microRNA critici, che inducono una risposta di segnalazione nelle cellule riceventi in siti distanti. Identifichiamo anche potenziali profondi disturbi nel controllo normativo della sintesi proteica e nella sorveglianza del cancro. Questi disturbi hanno potenzialmente un nesso causale con malattie neurodegenerative, miocardite, trombocitopenia immunitaria, paralisi di Bell, malattie del fegato, ridotta immunità adattativa, ridotta risposta al danno del DNA e tumorigenesi. Mostriamo prove dal database VAERS a sostegno della nostra ipotesi. Riteniamo che una valutazione completa del rischio/beneficio dei vaccini mRNA li metta in dubbio come contributori positivi alla salute pubblica.



Parole chiave

Vaccini SARS-CoV-2 mRNA
Risposta all'interferone di tipo I
Esosomi
G-quaduplex
microRNA
Cancro

1. Introduzione

La vaccinazione è uno sforzo per utilizzare materiale non patogeno per imitare la risposta immunologica di un'infezione naturale, conferendo così l'immunità in caso di esposizione al patogeno. Questo obiettivo è stato perseguito principalmente attraverso l'uso di vaccini contenenti sia per l'intero organismo virale sia virus attenuati. L'uso di frammenti di virus o dei loro prodotti proteici, indicati come "vaccini di subunità", è stato tecnicamente più impegnativo (Bhurani et al., 2018). In ogni caso, un presupposto implicito alla base dell'implementazione di qualsiasi campagna di vaccinazione è che il vaccino conferisca gli effetti di una "infezione benigna", attivando il sistema immunitario contro l'esposizione futura, evitando gli impatti sulla salute dell'infezione effettiva.

Gran parte della letteratura relativa al COVID-19 suggerisce che la risposta immunitaria alla vaccinazione basata sull'mRNA è simile all'infezione naturale. Uno studio preliminare ha rilevato "l'elevata immunogenicità del vaccino BNT162b2 rispetto all'infezione naturale". Gli autori hanno riscontrato che esistono molte somiglianze qualitative nonostante differenze quantitative (Psichogiou et al., 2021a). Jhaveri (2021) suggerisce che i vaccini mRNA fanno quello che fa l'infezione con il virus: "La proteina viene prodotta e presentata allo stesso modo dell'infezione naturale". I CDC statunitensi Centers for Disease Control and Prevention – Centri per il controllo e la prevenzione delle malattie (CDC) sostengono che la risposta immunitaria alla vaccinazione è analoga alla risposta alla infezione naturale (CDC, 2021a). È questa somiglianza nella risposta immunitaria umorale alla vaccinazione rispetto all'infezione naturale, abbinata a dati sperimentali e osservazionali che dimostrano un ridotto rischio di infezione dopo la vaccinazione, che costituisce la giustificazione per la campagna di vaccinazione di massa.

Il nostro articolo riassume l'attuale letteratura sull'mRNA e sui suoi effetti sulla biologia molecolare all'interno delle cellule umane. Riconosciamo che esiste un'ampia gamma di opinioni in questa fase nascente della tecnologia mRNA. Dato il suo diffuso dispiegamento prima del lavoro di base su così tanti dei meccanismi di cui discutiamo qui, riteniamo che il nostro lavoro sia importante per fornire un'ampia comprensione delle revisioni presenti e future relative al fiorente lavoro molecolare preclinico svolto in quest'area.

In questo articolo, esploriamo la letteratura scientifica che suggerisce che la vaccinazione con un vaccino a mRNA avvia una serie di eventi biologici che non solo sono diversi da quelli indotti dall'infezione, ma sono, in molti modi dimostrabili, controproducenti per la competenza immunitaria, sia a breve che a lungo termine e normale funzione cellulare. È stato ora dimostrato che queste vaccinazioni sottoregolano i percorsi critici relativi alla sorveglianza del cancro, al controllo delle infezioni e all'omeostasi cellulare. Introducono nel corpo materiale genetico altamente modificato. Un preprint ha rivelato una notevole differenza tra le caratteristiche della risposta immunitaria a un'infezione da SARS-CoV-2 rispetto alla risposta immunitaria a un vaccino mRNA contro il COVID-19 (Ivanova et al., 2021). L'analisi dell'espressione genica differenziale delle cellule dendritiche periferiche ha rivelato una drastica sovraregolazione degli interferoni di tipo I e di tipo II (IFN) nei pazienti COVID-19, ma non nei vaccinati. Un'osservazione notevole che hanno fatto è stata che c'era un'espansione delle cellule staminali e progenitrici ematopoietiche circolanti (HSPC) nei pazienti

COVID-19, ma questa espansione era notevolmente assente dopo la vaccinazione. Anche nei vaccinati non è stata osservata una sorprendente espansione dei plasmablasti circolanti osservata nei pazienti con COVID-19. Tutte queste osservazioni sono coerenti con l'idea che i vaccini anti-COVID-19 sopprimono attivamente la segnalazione di IFN di tipo I, come discuteremo di seguito. In questo articolo ci concentreremo ampiamente, anche se non esclusivamente, sulla soppressione dell'IFN di tipo I indotta dalla vaccinazione e sulla miriade di effetti a valle che ciò ha sulla relativa cascata di segnalazione.

Poiché gli studi preclinici a lungo termine e la sicurezza di Fase I sono stati combinati con gli studi di Fase II, sono stati combinati gli studi di fase II e III (Kwok, 2021); e poiché anche quelli sono stati sospesi precocemente e i partecipanti cui era stato somministrato il placebo sono stati sottoposti alle iniezioni, guardiamo al sistema di farmacovigilanza e ai rapporti pubblicati per segnali di sicurezza. In tal modo, troviamo che tale prova non è incoraggiante. La risposta biologica alla vaccinazione con mRNA come è attualmente impiegata è in modo dimostrabile non simile all'infezione naturale. In questo articolo illustreremo queste differenze e descriveremo i processi immunologici e patologici che ci aspettiamo vengano avviati dalla vaccinazione con mRNA. Collegheremo questi effetti fisiologici sottostanti con morbilità sia realizzate che non ancora osservate. Prevediamo che l'implementazione di vaccinazioni di richiamo su larga scala amplificherà tutti questi problemi.

I vaccini mRNA prodotti da Pfizer/BioNTech e Moderna sono stati visti come un aspetto essenziale dei nostri sforzi per controllare la diffusione del COVID-19. I paesi di tutto il mondo hanno promosso in modo aggressivo massicci programmi di vaccinazione, con la speranza che tali sforzi potessero finalmente ridurre la pandemia in corso e ripristinare la normalità. I governi sono reticenti a considerare la possibilità che queste iniezioni possano causare danni in modi inaspettati, e soprattutto che tali danni potrebbero persino superare i benefici ottenuti nella protezione da malattie gravi. Ora è chiaro che gli anticorpi indotti dai vaccini svaniscono in appena 3-10 settimane dopo la seconda dose (Shrotri et al., 2021), in modo tale che alle persone viene consigliato di fare richiami a intervalli regolari (CDC, 2021b). È anche diventato evidente che varianti rapidamente emergenti come il ceppo delta e ora il ceppo Omicron stanno mostrando resistenza agli anticorpi indotti dai vaccini, attraverso mutazioni nella proteina spike (Yahi et al., 2021). Inoltre, è diventato chiaro che i vaccini non prevenendo la trasmissione della malattia, ma si può solo affermare che riducano la gravità dei sintomi (Kampf, 2021a). Uno studio che ha confrontato i tassi di vaccinazione con i tassi di infezione da COVID-19 in 68 paesi e 2947 contee degli Stati Uniti all'inizio di settembre 2021, non ha trovato alcuna correlazione tra i due, suggerendo che questi vaccini non proteggono dalla diffusione della malattia (Subramanian e Kumar, 2021). Per quanto riguarda la gravità dei sintomi, anche questo aspetto comincia a essere messo in dubbio, come dimostrato da un focolaio in un ospedale israeliano che ha portato alla morte di cinque pazienti ospedalieri completamente vaccinati (Shitrit et al., 2021). Allo stesso modo, Brosh-Nissimov et al. (2021) hanno riferito che 34/152 (22%) dei pazienti completamente vaccinati tra 17 ospedali israeliani sono morti di COVID-19.

La crescente evidenza che i vaccini fanno poco per controllare la diffusione della malattia e che la loro efficacia diminuisce nel tempo rende ancora più imperativo valutare il grado in cui i vaccini potrebbero causare danni. Che le vaccinazioni con mRNA della proteina spike modificata da SARS-CoV-2 abbiano un impatto biologico è indiscutibile. Qui tentiamo di distinguere tali impatti dall'infezione naturale e stabilire un quadro meccanicistico che collega quegli impatti biologici unici alle patologie ora associate alla vaccinazione. Riconosciamo che i nessi causali tra gli effetti biologici iniziati dalla vaccinazione con mRNA e gli esiti avversi non sono stati stabiliti nella grande maggioranza dei casi.

2. Interferoni: una panoramica con attenzione alla sorveglianza tumorale

Scoperto nel 1957, l'interferone (IFN) si è guadagnato il nome con il riconoscimento che le cellule sfidate dal virus dell'influenza A attenuato hanno creato una sostanza che "ha interferito con" una successiva infezione da un virus vivo (Lindenmann, 1982). Con IFN si intende ora rappresentare una famiglia molto ampia di proteine immunomodulanti, suddivise in tre tipi, designate come tipo I, II e III in base ai recettori con cui ogni IFN interagisce. L'IFN di tipo I include sia IFN- α che IFN- β , e questo tipo è il più vario, essendo ulteriormente suddiviso in diciassette sottotipi. Il solo IFN- α ha tredici sottotipi attualmente identificati e ciascuno di questi è ulteriormente suddiviso in più categorie (Wang et al., 2017a). Gli IFN di tipo I svolgono un ruolo importante nella risposta immunitaria a molteplici fattori di stress.

Infatti, hanno goduto di valore clinico terapeutico come opzione di trattamento per una varietà di malattie e condizioni, comprese infezioni virali, tumori solidi, disturbi mieloproliferativi, neoplasie ematopoietiche e malattie autoimmuni come la sclerosi multipla (Passegu e Ernst, 2009).

Come gruppo, gli IFN svolgono ruoli estremamente complicati e pleiotropici che sono coordinati e regolati attraverso l'attività della famiglia dei fattori regolatori IFN, o IRF (Kaur e Fang, 2020). IRF9 è più direttamente coinvolto nell'immunità antivirale e antitumorale e nella regolazione genetica (Alsamman e El-Masry, 2018; Huang et al., 2019; Zitvogel et al., 2015).

Strettamente correlati a questo sono le cellule dendritiche plasmacitoidi (pDC), un raro tipo di cellula immunitaria che circola nel sangue ma migra verso l'area periferica degli organi linfoidi durante un'infezione virale. Rispondono a un'infezione virale sovraregolando nettamente la produzione di IFN di tipo I. L'IFN- α rilasciato nei linfonodi induce le cellule B a differenziarsi in plasmablasti. Successivamente, l'interleuchina-6 (IL-6) induce i plasmablasti ad evolversi in plasmacellule che secernono anticorpi (Jego et al., 2003). Pertanto, gli IFN svolgono un ruolo fondamentale sia nel controllo della proliferazione virale che nell'induzione della produzione di anticorpi. Al centro dell'immunità antivirale e antitumorale, l'IFN- α è prodotto da macrofagi e linfociti quando viene sfidato da un'infezione virale o batterica o incontra cellule tumorali (De Andrea et al., 2002). Il suo ruolo come potente terapia antivirale è stato riconosciuto nel trattamento delle complicanze del virus dell'epatite C (Feng et al., 2012), dell'infezione da citomegalovirus (Delannoy et al., 1999), dell'infezione cronica attiva da virus dell'ebola (Sakai et al., 1998), malattia infiammatoria intestinale associata a infezione da virus dell'herpes (Ruther et al., 1998) e altri

La segnalazione dell'IFN di tipo I alterata è collegata a molti rischi di malattie, in particolare al cancro, poiché la segnalazione dell'IFN di tipo I sopprime la proliferazione di virus e cellule tumorali arrestando il ciclo cellulare, in parte attraverso la sovraregolazione di p53, un gene oncosoppressore e varie cicline -inibitori della chinasi dipendenti (Musella et al., 2017; Matsuoka et al., 1998). L'IFN- α induce anche la presentazione dell'antigene di classe 1 di istocompatibilità maggiore (MHC) da parte delle cellule tumorali, rendendole più facilmente riconoscibili dal sistema di sorveglianza del cancro (Heise et al., 2016; Sundstedt et al., 2008). La gamma di effetti antitumorali avviati dall'espressione di IFN- α è sbalorditiva e si verifica attraverso meccanismi sia diretti che indiretti. Gli effetti diretti includono l'arresto del ciclo cellulare, l'induzione della differenziazione cellulare, l'inizio dell'apoptosi, l'attivazione del killer naturale e dei linfociti T CD8+ e altri (Schneider et al., 2014).

Gli effetti antitumorali indiretti sono prevalentemente effettuati attraverso l'attivazione della trascrizione genica del trasduttore del segnale della Janus chinasi e attivatore della trascrizione (JAK/STAT). Il legame dell'IFN- α sulla superficie cellulare avvia la JAK, una tirosin-chinasi, a fosforilare STAT1 e STAT2 (Asmana Ningrum, 2014). Una volta fosforilati, questi STAT formano un complesso con IRF9, uno di una famiglia di IRF che svolgono un'ampia gamma di ruoli nella regolazione dell'oncogene e in altre funzioni cellulari (Takaoka et al., 2008). È questo complesso, chiamato fattore 3 stimolato dall'IFN (ISGF3), che si trasloca nel nucleo cellulare per migliorare l'espressione di almeno 150 geni

(Schneider et al., 2014). È stato suggerito che IRF9 sia il membro principale della famiglia di proteine IRF responsabili dell'attivazione degli effetti antiproliferativi dell'IFN- α e che sembra essere dovuto al suo legame con il recettore 1 del ligando che induce l'apoptosi correlato al fattore di necrosi tumorale (TRAIL) e 2 (TRAIL-R1/2) (Tsuno et al., 2009). IRF7 è un altro membro cruciale della famiglia di proteine IRF coinvolte nelle prime fasi della risposta a un'infezione virale. Normalmente è espresso in basse quantità ma è fortemente indotto dall'ISGF3. IRF7 subisce anche fosforilazione della serina e traslocazione nucleare per attivare ulteriormente la risposta immunitaria. IRF7 ha un'emivita molto breve, quindi il suo processo di induzione genica è transitorio, forse per evitare la sovraespressione di IFN (Honda et al., 2006).

Una volta che TRAIL è vincolato da IRF9, è quindi in grado di agire come ligando per Death Receptor 4 (DR4) o DR5, avviando una cascata di eventi che coinvolgono la produzione di caspasi 8 e caspasi 3 e, infine, innescando l'apoptosi (Sayers, 2011). La disregolazione di questo percorso, attraverso la soppressione di IFN- α o IRF9 e il conseguente mancato legame di TRAIL-R, è stata associata a diverse neoplasie ematologiche (Testa, 2010) e ha dimostrato di aumentare il potenziale metastatico nei modelli animali di melanoma, cancro del colon-retto e linfoma (Finnberg e El-Deiry, 2008).

L'IFN- α avvia e orchestra un'ampia gamma di ruoli di soppressione del cancro. Dunn et al. (2005) hanno mostrato che l'IFN- α svolge un ruolo attivo nell'immunoediting del cancro, il suo luogo d'azione sono le cellule ematopoietiche che sono "programmate" tramite il legame dell'IFN- α per la sorveglianza del tumore. È attraverso le interazioni estremamente complesse tra IFN di tipo I e IRF7 e IRF9 in particolare che vengono effettuati molti effetti antiproliferativi. Ciò è dimostrato dal gran numero di studi che mostrano un aumento della crescita del tumore e/o metastasi associate a un ampio numero di tipi di cancro.

Ad esempio, Bidwell et al. (2012) hanno scoperto che, tra oltre 800 pazienti con cancro al seno, quelle con un'elevata espressione di geni regolati da IRF7 avevano un numero significativamente inferiore di metastasi ossee e propongono la valutazione di queste firme geniche correlate a IRF7 come un modo per prevedere quelle a maggior rischio. È stato anche dimostrato che l'uso di microRNA per mirare all'espressione di IRF7 migliora la proliferazione e l'invasione delle cellule del cancro al seno in vitro (Li et al., 2015). Zhao et al. (2017) hanno trovato un ruolo simile per IRF7 in relazione alle metastasi ossee in un modello murino di cancro alla prostata. Per quanto riguarda il meccanismo anticancro alla base dell'espressione IRF7, Solis et al. (2006) hanno scoperto che IRF7 induce la trascrizione di più geni e la traduzione dei loro prodotti proteici a valle, inclusi TRAIL, IL-15, ISG-56 e CD80, con le note implicazioni terapeutiche.

Anche IRF9 ha un ruolo centrale da svolgere nella sorveglianza e prevenzione del cancro. Erbe et al. (2013) hanno dimostrato che IRF9 è il mediatore attraverso il quale IL-6 aumenta gli effetti anti-proliferazione dell'IFN- α contro le cellule tumorali della prostata. Tian et al. (2018) hanno scoperto che IRF9 è un regolatore negativo chiave della proliferazione delle cellule della leucemia mieloide acuta e dell'evasione dell'apoptosi. Lo fa, almeno in parte, attraverso l'acetilazione della proteina regolatrice principale p53.

Sia IFN- α che IRF9 sono apparentemente necessari anche per le proprietà preventive del cancro di un gene BRCA2 completamente funzionale. In uno studio presentato come abstract alla First AACR International Conference on Frontiers in Basic Cancer Research, Mittal e Chaudhuri (2009) descrivono una serie di esperimenti che mostrano per la prima volta che l'espressione di BRCA2 porta a un aumento della produzione di IFN- α e aumenta il via di trasduzione del segnale con conseguente complessazione di IRF9, STAT1 e STAT2 descritta in precedenza. Due anni prima, Buckley et al. (2007) avevano stabilito che BRCA1 in combinazione con IFN- γ promuove IFN di tipo I e la successiva produzione di IRF7, STAT1 e STAT2. Pertanto, i geni regolatori del cancro estremamente importanti BRCA1 e BRCA2 si basano rispettivamente su IRF7 e IRF9 per svolgere i loro effetti protettivi.

Rasmussen et al. (2021) hanno esaminato prove convincenti che le carenze di IRF7 o IRF9 portano a un rischio significativamente maggiore di grave malattia COVID-19. È importante sottolineare anche che le prove suggeriscono che gli IFN di tipo I svolgono un ruolo particolarmente importante nell'immunità protettiva contro la malattia COVID-19, un ruolo condiviso da più citochine nella maggior parte delle altre malattie virali, inclusa l'influenza.

Come verrà discusso più dettagliatamente di seguito, la glicoproteina della punta SARS-CoV-2 modifica la produzione di esosoma della cellula ospite. La trasfezione delle cellule con il gene della proteina spike e la successiva produzione della proteina spike SARS-CoV-2 fa sì che quelle cellule generino esosomi contenenti microRNA che sopprimono la produzione di IRF9 mentre attivano una serie di trascrizioni geniche pro-infiammatorie (Mishra e Banerjea, 2021). Poiché questi vaccini sono specificamente progettati per indurre una produzione elevata e continua di glicoproteine spike SARS-CoV-2, le implicazioni sono inquietanti. Come descritto sopra, l'inibizione di IRF9 sopprimerà TRAIL e tutti i suoi effetti regolatori e di induzione dell'apoptosi a valle. Ci si dovrebbe anche aspettare che la soppressione di IRF9 tramite microRNA esosomiale comprometta gli effetti protettivi contro il cancro dell'attività del gene BRCA2, che dipende da quella molecola per la sua attività come descritto sopra. I tumori associati a BRCA2 includono il cancro al seno, alle tube di Falloppio e alle ovaie per le donne, il cancro alla prostata e al seno per gli uomini, la leucemia mieloide acuta nei bambini e altri (National Cancer Institute, 2021).

È stato anche dimostrato che la vaccinazione sopprime sia IRF7 che STAT2 (Liu et al., 2021). Ci si può aspettare che ciò interferisca con gli effetti protettivi contro il cancro di BRCA1 come descritto sopra. I tumori associati all'attività ridotta di BRCA1 includono il cancro al seno, all'utero e alle ovaie nelle donne; cancro alla prostata e al seno negli uomini; e un modesto aumento del cancro del pancreas sia per gli uomini che per le donne (Rischio di cancro e gene BRCA1, 2021).

L'espressione ridotta di BRCA1 è legata sia al cancro che alla neurodegenerazione. BRCA1 è un noto gene di suscettibilità al cancro al seno. BRCA1 inibisce la proliferazione delle cellule del cancro al seno attraverso l'attivazione di SIRT1 e la successiva soppressione del recettore degli androgeni (Zhang et al., 2016). In uno studio condotto da Suberbielle et al. (2015), sono stati trovati livelli ridotti di BRCA1 nel cervello dei malati di Alzheimer. Inoltre, esperimenti con l'abbattimento del BRCA1 neuronale nel giro dentato dei topi hanno mostrato che le rotture del doppio filamento del DNA erano aumentate, insieme al restringimento neuronale e alle alterazioni della plasticità sinaptica, dell'apprendimento e della memoria.

L'analisi dettagliata in un recente caso di studio su un paziente con diagnosi di una forma rara di linfoma chiamato linfoma angioimmunoblastico a cellule T ha fornito prove evidenti di una rapida progressione inaspettata delle lesioni linfomatose dopo la somministrazione della dose di richiamo dell'mRNA BNT162b2 (Goldman et al., 2021). Il confronto delle metriche dettagliate per le lesioni ipermetaboliche condotte immediatamente prima e 21 giorni dopo il richiamo del vaccino ha rivelato un aumento di cinque volte dopo il vaccino, con il test post-richiamo che ha rivelato un livello di attività 2 volte superiore nell'ascella destra rispetto a quella sinistra. Il vaccino era stato iniettato sul lato destro. Vale la pena sottolineare a questo proposito che le neoplasie linfoidi sono state associate alla soppressione di TRAIL-R1 (MacFarlane et al., 2005).

Data l'importanza universalmente riconosciuta di un funzionamento ottimale di BRCA1/2 per la prevenzione del cancro e dato il ruolo centrale della via di trasduzione del segnale TRAIL per un'ulteriore sorveglianza del cancro, la soppressione di IRF7 e IRF9 attraverso la vaccinazione e la successiva produzione di glicoproteina spike SARS-CoV-2 è estremamente riguardante il controllo del cancro a lungo termine nelle popolazioni iniettate con vaccino genetico mRNA SARS-CoV-2.

3. Considerazioni nella progettazione di vaccini mRNA

Si dice che negli ultimi tre decenni, la piattaforma tecnologica dell'mRNA volta a sviluppare strumenti terapeutici efficaci e sicuri per l'acido nucleico abbia superato seri ostacoli sull'instabilità del prodotto codificato, sulla schiacciante immunogenicità innata e sulle metodologie di somministrazione (Pardi et al., 2018). Una delle principali storie di successo dell'uso dell'mRNA come strumento di vaccinazione genetica riguarda l'introduzione di una robusta immunità contro il cancro (Van Lint et al., 2015). Inoltre, il potenziale degli mRNA di ripristinare o sostituire vari tipi di proteine in casi di rari disordini metabolici genetici come la malattia di Fabry ha offerto grandi potenziali alternative terapeutiche laddove nessun altro farmaco si è dimostrato efficace (Martini e Guey, 2019). Tuttavia, nel caso dell'uso dell'mRNA come vaccini genetici contro le malattie infettive, le indagini preliminari sulla sicurezza sembravano essere premature per un uso mondiale nella popolazione generale (Pardi et al., 2018; Douberis et al., 2021).

Sebbene esistano epitopi essenziali su altre proteine SARS-CoV-2 in cui una risposta anticorpale potrebbe aver fornito l'immunogenicità essenziale, ben noto da SARS-CoV-1 (Gordon et al., 2020), l'obiettivo principale degli sviluppatori del SARS- I vaccini CoV-2 mRNA avevano lo scopo di progettare un vaccino che potesse indurre una robusta risposta anticorpale esclusivamente alla glicoproteina spike. Tali anticorpi, in particolare le IgA nel rinofaringe, dovrebbero eliminare rapidamente i virus invasori prima che possano invadere le cellule ospiti, arrestando così precocemente il processo patologico. Come affermato succintamente da Kaczmarek et al. (2021):

“La logica alla base della vaccinazione è fornire a ogni persona vaccinata una protezione contro il virus SARS-CoV-2. Questa protezione si ottiene stimolando il sistema immunitario a produrre anticorpi contro il virus e a sviluppare linfociti che manterranno la memoria e la capacità di combattere il virus per lungo tempo”. Tuttavia, poiché la vaccinazione viene somministrata per via parenterale, l'IgG è la principale classe di anticorpi che viene generata contro la glicoproteina spike SARS-CoV-2, non IgA (Wisnewski et al., 2021).

I vaccini generalmente dipendono da adiuvanti come l'alluminio e lo squalene per indurre le cellule immunitarie a migrare verso il sito di iniezione subito dopo la vaccinazione. Nella storia dello sviluppo del vaccino mRNA, inizialmente si sperava che l'mRNA stesso potesse fungere da adiuvante. Questo perché le cellule umane riconoscono l'RNA virale come estraneo e questo porta alla sovraregolazione degli IFN di tipo I, mediata da recettori simili a pedaggio come TLR3, TLR7 e TLR8 (Karikó et al., 2005).

Tuttavia, con il tempo è diventato chiaro che c'erano problemi con questo approccio, sia perché l'intensa reazione poteva causare sintomi simil-influenzali sia perché l'IFN- α poteva lanciare una risposta a cascata che avrebbe portato alla rottura dell'mRNA prima che potesse produrre un'adeguata quantità di glicoproteina spike SARS-CoV-2 per indurre una risposta immunitaria (de Beuckelaer et al., 2016). Una svolta è arrivata quando è stato scoperto sperimentalmente che l'mRNA che codifica per la proteina spike potrebbe essere modificato in modi specifici che sostanzialmente indurrebbero le cellule umane a riconoscerlo come RNA umano innocuo. In un documento brillante Karikó et al. (2005) hanno dimostrato, attraverso una serie di esperimenti in vitro, che una semplice modifica dell'mRNA in modo tale che tutte le uridine fossero sostituite con pseudouridina potrebbe ridurre drasticamente l'attivazione immunitaria innata contro l'mRNA esogeno. Andry et al. (2015) hanno successivamente scoperto che la 1-metilpseudouridina in sostituzione dell'uridina era ancora più efficace della pseudouridina e poteva essenzialmente abolire la risposta TLR all'mRNA, prevenendo l'attivazione delle cellule dendritiche derivate dal sangue. Questa modifica viene applicata in entrambi i vaccini mRNA sul mercato (Park et al., 2021).

Piuttosto profeticamente, l'ampia revisione di Forni e Mantovani (2021) ha sollevato seri interrogativi sullo sviluppo dell'immunità innata da parte delle vaccinazioni genetiche mRNA SARS-CoV-2. Come hanno dichiarato gli autori: "A causa dei brevi tempi di sviluppo e della novità delle tecnologie adottate, questi vaccini verranno implementati con diverse questioni irrisolte che solo il passare del tempo consentirà di chiarire". Successivamente, gli autori hanno raccomandato di includere alcune molecole come la lunga pentraxina PTX3 come marker rappresentativi dell'immunità umorale per valutare l'attivazione precoce dei meccanismi immunitari innati e la reattogenicità sottostante nell'ambito dei protocolli del consorzio BIOVACSAFE (Forni e Mantovani, 2021; Weiner et al., 2019). Tuttavia, per quanto ne sappiamo, questi protocolli di sicurezza non sono stati inclusi nella valutazione dell'immunità innata indotta dai vaccini genetici mRNA SARS-CoV-2 (Mulligan et al., 2020).

A questo proposito, nel caso del vaccino mRNA SARS-CoV-2 BNT162b2, a differenza della risposta immunitaria indotta dall'infezione naturale da SARS-CoV-2, dove si osserva una robusta risposta interferone, i vaccinati con vaccini mRNA BNT162b2 hanno sviluppato un robusto sistema immunitario adattativo risposta che era limitata solo alle cellule di memoria, cioè una via alternativa di risposta immunitaria che bypassava le vie mediate dall'IFN (Mulligan et al., 2020). Inoltre, a causa delle successive mutazioni nella proteina spike SARS-CoV-2, vi è una sostanziale perdita di anticorpi neutralizzanti indotti dal vaccino mRNA BNT162b2 rispetto a quelli conferiti dai soli mutanti SARS-CoV-2 (Collier et al., 2021). A tale proposito, come ammettono gli sviluppatori di vaccini: "L'RNA del vaccino può essere modificato incorporando 1-metilpseudouridina, che smorza il sensing immunitario innato e aumenta la traduzione dell'mRNA in vivo". (Mulligan et al., 2020; Katalin Karikó et al., 2008). Tenendo presente le molteplici mutazioni che SARS-CoV-2 sviluppa, come ad esempio nei focolai brasiliani (Timmers et al., 2021), un'efficace risposta immunitaria che prevenga la diffusione dei mutanti SARS-CoV2 comporta necessariamente lo sviluppo di un robusto Risposta IFN-I come parte del sistema immunitario innato. Questa risposta richiede anche il coinvolgimento di una risposta funzionale NF- κ B. Sfortunatamente, la sovraespressione della glicoproteina spike smantella le risposte del percorso NF- κ B e questo evento molecolare può essere aumentato da mRNA codificanti le proteine spike (Kyriakopoulos e McCullough, 2021; Jiang e Mei, 2021).

Per una progettazione efficace del vaccino mRNA, l'mRNA deve essere incapsulato in particelle accuratamente costruite in grado di proteggere l'RNA dalla degradazione da parte delle depolimerasi dell'RNA. I vaccini mRNA sono formulati come nanoparticelle lipidiche contenenti colesterolo e fosfolipidi, con l'mRNA modificato complessato con uno scheletro lipidico di polietilenglicole (PEG) altamente modificato per promuoverne il rilascio precoce dall'endosoma e per proteggerlo ulteriormente dalla degradazione (Hou et al., 2021). Il macchinario biologico esistente della cellula ospite viene cooptato per facilitare la produzione naturale di proteine dall'mRNA attraverso l'assorbimento endosomiale di una particella lipidica (Hou et al., 2021). Viene aggiunto anche un lipide cationico sintetico, poiché è stato dimostrato sperimentalmente di funzionare come adiuvante per attirare le cellule immunitarie nel sito di iniezione e per facilitare la fuga endosomiale. De Beuckelaer et al. (2016) hanno osservato che "la condensazione dell'mRNA in lipoplessi cationici aumenta la potenza della risposta dei linfociti T evocati dal vaccino mRNA di diversi ordini di grandezza". Un'altra importante modifica è che hanno sostituito il codice per due aminoacidi adiacenti nel genoma con codici per la prolina, che fa sì che la glicoproteina spike rimanga in una forma stabilizzata alla prefusione (Wrapp et al., 2020).

L'mRNA della glicoproteina della punta SARS-CoV-2 viene ulteriormente "umanizzato" con l'aggiunta di un cappuccio metilato con guanina, regioni non tradotte (UTR) 3' e 5' copiate da quelle delle proteine umane e infine una lunga coda di poli (A) per stabilizzare ulteriormente l'RNA (Kyriakopoulos e McCullough, 2021). In particolare, i ricercatori hanno sapientemente selezionato il 3'UTR prelevato dalle globine che sono prodotte in grandi quantità dagli eritrociti, perché è molto efficace nel proteggere l'mRNA dalla degradazione e nel mantenere una produzione proteica sostenuta (Orlandini

von Niessen et al., 2019). Questo è prevedibile, poiché gli eritrociti non hanno nucleo; quindi, non sono in grado di sostituire gli mRNA una volta distrutti. Sia il vaccino Moderna che quello Pfizer hanno adottato un 3'UTR dalle globine e anche il vaccino Pfizer utilizza un 5'UTR globinico leggermente modificato (Xia, 2021). de Beuckelaer et al. (2016) ha giustamente riassunto le conseguenze di tali modifiche come segue: "Negli ultimi anni, miglioramenti tecnici nel modo in cui vengono preparati gli mRNA IVT [trascritti in vitro] (modifiche Cap 5', contenuto GC ottimizzato, code di poliA migliorate, UTR stabilizzanti) hanno aumentato la stabilità degli mRNA dell'IVT a tal punto che l'espressione proteica può ora essere raggiunta per giorni dopo la somministrazione diretta in vivo dell'mRNA.

Tuttavia, la formazione ottimizzata del cappuccio analogico degli mRNA sintetici costringe inevitabilmente le cellule riceventi a subire una traduzione prolungata dipendente dal cappuccio, ignorando le esigenze omeostatiche della fisiologia cellulare (Kyriakopoulos e McCullough, 2021). La metilazione del cappuccio 2'-O effettuata dalla metiltransferasi cap 2'-O (CMTR1) funge da motivo che contrassegna l'mRNA come "sé", per impedire il riconoscimento da parte delle proteine leganti l'RNA indotte dall'IFN (Williams et al., 2020). Pertanto, l'mRNA nei vaccini, dotato del motivo di metilazione del cappuccio 2'-O, elude il rilevamento come invasione virale. Inoltre, l'impeto schiacciante per le cellule di eseguire un approccio unico e artificiale alla traduzione secondo il robusto capping e le metilazioni sintetiche degli mRNA nei vaccini è fundamentalmente associato alla progressione della malattia a causa della segnalazione differenziale piuttosto che normale dei recettori di riconoscimento del pattern (PRR) (Leung e Amarasinghe, 2016).

Il processo regolatorio che controlla la traduzione dell'mRNA è estremamente complesso ed è molto disturbato nel contesto dei vaccini mRNA (Kyriakopoulos e McCullough, 2021; Leung e Amarasinghe, 2016). In breve, l'idea è che i vaccini mRNA raggiungano l'obiettivo previsto (cioè la produzione della proteina spike modificata) attraverso una strategia invisibile che bypassa la risposta immunologica naturale all'infezione virale di tipo RNA. Le nanoparticelle lipidiche iniettate contenenti mRNA vengono portate all'interno della cellula tramite endocitosi. L'mRNA sfugge al suo vettore lipidico e migra verso il ribosoma, dove viene abbondantemente tradotto nel suo prodotto proteico finale, seguendo un programma ottimizzato per produrre grandi quantità di una specifica proteina per un lungo periodo di tempo. Queste glicoproteine spike SARS-CoV-2 modificate seguono quindi uno dei tre percorsi primari. Alcuni sono degradati proteoliticamente e frammenti sono legati da molecole MHC di classe I per la presentazione superficiale ai linfociti T citotossici. Un secondo percorso ha quegli stessi frammenti di glicoproteina spike legano le molecole MHC di classe II, si spostano sulla superficie cellulare e attivano le cellule T-helper. Un percorso finale ha glicoproteine spike solubili estruse dalla cellula negli esosomi, dove possono essere riconosciute dagli anticorpi specifici della glicoproteina spike attivati dai linfociti B (Chaudhary et al., 2021).

Un recente studio a rilascio anticipato ha rilevato che l'mRNA nei vaccini COVID-19 è presente nei centri germinali nel tessuto linfoide secondario molto tempo dopo la somministrazione del vaccino e che continua a sintetizzare la glicoproteina spike fino ad almeno sessanta giorni dopo la vaccinazione (Röltgen et al., 2022). Ciò suggerisce che le cellule immunitarie che raccolgono l'mRNA nel muscolo del braccio migrano nel sistema linfatico fino ai linfonodi, presumibilmente per esporre le cellule B e T all'antigene tossico. La persistenza dell'mRNA nei linfonodi e la sua sintesi sostenuta della glicoproteina della punta SARS-CoV-2 riflettono l'ingegneria intelligente coinvolta nella tecnologia dell'mRNA, come descritto sopra.

Alla fine, è attraverso l'utilizzo dei nanolipidi e della sofisticata tecnologia dell'mRNA che la normale risposta immunitaria all'RNA esogeno viene elusa per produrre una forte risposta anticorpale contro un virus a RNA esogeno.

4. Arricchimento di GC e potenziali strutture G4 (pG4) negli mRNA dei vaccini

Recentemente, i membri del nostro team hanno studiato le possibili alterazioni nella struttura secondaria degli mRNA nei vaccini SARS-CoV-2 dovute all'ottimizzazione del codone dei trascritti di mRNA sintetici (McKernan et al., 2021). Questo studio ha dimostrato che esiste un arricchimento significativo del contenuto di GC negli mRNA nei vaccini (53% in BNT162b2 e 61% in Moderna mRNA-1273) rispetto all'mRNA nativo SARS-CoV-2 (36%). Il contenuto di GC arricchito di mRNA è il risultato dell'ottimizzazione del codone eseguita durante lo sviluppo degli mRNA utilizzati nei vaccini SARS-CoV-2, apparentemente senza determinare l'effetto sulle strutture secondarie, in particolare la formazione del quadruplex della guanina (G quadruplex) (McKernan et al., 2021).

L'ottimizzazione del codone descrive la produzione di polipeptidi e proteine sintetiche ottimizzate per i codoni utilizzati nelle terapie biotecnologiche (come gli mRNA sintetici utilizzati per la vaccinazione SARS-CoV-2). Le assegnazioni alterate del codone all'interno del modello di mRNA aumentano notevolmente la quantità di polipeptidi e/o proteine prodotte (Mauro e Chappell, 2014). La sostituzione del codone sinonimo si traduce anche in un cambiamento nei ruoli regolatori e strutturali multifunzionali delle proteine risultanti (Shabalina et al., 2013). Per questo motivo, l'ottimizzazione del codone è stata messa in guardia a causa dei suoi conseguenti cambiamenti che causano perturbazione nella conformazione secondaria dei prodotti proteici con effetti potenzialmente devastanti sulla loro conseguente immunogenicità, efficacia e funzione (Zhou et al., 2013; Agashe et al., 2013). In particolare, varie malattie umane sono il risultato di polimorfismi nucleotidici sinonimi (McCarthy et al., 2017).

In un esperimento in cui versioni ricche di GC e povere di GC di trascrizioni di mRNA per la proteina 70 da shock termico sono state configurate nel contesto di promotori identici e sequenze UTR, è stato scoperto che i geni ricchi di GC erano espressi diverse volte fino a oltre cento piegare in modo più efficiente rispetto alle loro controparti povere di GC (Kudla et al., 2006). Ciò è in parte dovuto al fatto che tutti i codoni preferiti dai mammiferi hanno nucleotidi G o C nella terza posizione. È anche ben documentato che gli elementi ricchi di AU negli UTR 3' possono destabilizzare l'mRNA (Otsuka et al., 2019). Ciò che può destare particolare preoccupazione è il fatto che il contenuto di arricchimento di GC negli mRNA del vaccino si traduce in una maggiore capacità di potenziali formazioni G-quadruplex (pG4) in queste strutture e ciò potrebbe causare l'insorgenza di malattie neurologiche (Wang et al., 2021). Sorprendentemente, la sequenza genetica della proteina prionica umana (PrP) contiene più motivi di formazione di G4 e la loro presenza può formare l'anello mancante nella conversione iniziale di PrP nella forma mal ripiegata, PrP^{Sc} (Olsthoorn, 2014). Il legame di PrP al proprio mRNA può essere il seme che causa il ripiegamento errato della proteina. Questa osservazione è particolarmente preoccupante alla luce del fatto che la glicoproteina della punta SARS-CoV-2 ha caratteristiche simili ai prioni (Tetz e Tetz, 2022).

Da un lato, il contenuto di GC ha un ruolo chiave nella modulazione dell'efficienza di traduzione e nel controllo dell'espressione di mRNA nei mammiferi (Babendure et al., 2006). Soprattutto durante l'inizio della traduzione, il contenuto GC che opera come elemento di mRNA ad azione cis orchestra l'attaccamento del complesso ribosomiale pre-iniziazione 43S e successivamente l'assemblaggio del complesso del fattore di iniziazione della traduzione eucariotica 4F (eIF4F). Un esempio rappresentativo di questo sistema in azione è la regolazione dell'espressione dell'mRNA della globina α e β attraverso le loro regioni 5' non tradotte (5'UTR) (Babendure et al., 2006).

D'altra parte, la presenza di pG4 negli RNA è implicata nella biologia del cancro come determinanti chiave della regolazione delle proteine leganti l'RNA G4 come l'elicasi (Herdy et al., 2018). In generale, i quadruplex G negli RNA hanno ruoli essenziali in a) nella regolazione dell'espressione genica, b) nella

localizzazione delle proteine ribonucleari, c) nella localizzazione dell'mRNA ed) nella regolazione dell'espressione del proto-oncogene (Fay et al., 2017).

Per quanto riguarda SARS-CoV-2, studi pertinenti rivelano somiglianze schiacciati tra SARS-CoV-2 pG4, incluso nella codifica dell'RNA per la glicoproteina spike SARS-CoV-2 e quelli sequenziati nel trascrittoma umano (Zhang et al., 2020). Pertanto, si può dedurre che gli mRNA sintetici nei vaccini che trasportano più strutture pG4 nella loro sequenza codificante per la glicoproteina spike SARS-CoV-2 amplificheranno e comporteranno la potenziale disorganizzazione post-trascrizionale dovuta all'RNA arricchito con G4 durante l'infezione naturale da SARS-CoV-2. Inoltre, la proteina legante l'acido nucleico cellulare (CNBP), che è la principale proteina cellulare che si lega al genoma dell'RNA SARS-CoV-2 nelle cellule infettate dall'uomo (Schmidt et al., 2021), si lega e promuove lo sviluppo di SARS-CoV-2 G4 formati da filamenti di modelli di senso sia positivi che negativi del genoma dell'RNA SARS-CoV-2. Una modulazione simile di CNBP sugli mRNA G4 del vaccino e la promozione dell'equilibrio G4 verso conformazioni spiegate creano condizioni favorevoli per il legame del miRNA e questo avrà un impatto diretto sulla regolazione dell'espressione genica dipendente dal miRNA (Rouleau et al., 2017).

Gli RNA a senso negativo sono molecole intermedie prodotte dal complesso della trascrittasi della replicasi (RTC) formato dalle proteine non strutturali dei coronavirus (incluso SARS-CoV-2) per fornire efficienza nella replicazione e nella trascrizione (Bezzi et al., 2021; Sola et al., 2015). Questo, tuttavia, introduce un'altra complicanza potenzialmente grave associata alla vaccinazione. La coinfezione con altri virus a RNA di senso negativo come l'epatite C (Jaubert et al., 2018) o l'infezione da altri coronavirus contemporanei ai periodi di vaccinazione fornirebbe il meccanismo necessario di RTC per riprodurre intermedi di senso negativo da mRNA sintetici e quindi amplificare la presenza di pG4 da modelli di senso negativo. Ciò comporterebbe un'ulteriore disregolazione epitrascrittomica (Spiegel et al., 2020).

Riassumendo l'argomento fino a questo punto, l'arricchimento del contenuto di GC nell'mRNA del vaccino porterà inevitabilmente ad un aumento del contenuto di pG4 dei vaccini. Questo, a sua volta, porterà alla disregolazione del sistema di legame della proteina G4-RNA e a un'ampia gamma di potenziali patologie cellulari associate alla malattia, tra cui la soppressione dell'immunità innata, la neurodegenerazione e la trasformazione maligna (Herdy et al., 2018).

Per quanto riguarda la disregolazione post-traduzionale dovuta all'emergere di nuove strutture G4 introdotte dalla vaccinazione, sorge un altro importante problema relativo alla regolazione dei miRNA e dei pG4. Nelle strutture di miRNA vengono identificate centinaia di sequenze di pG4 (Rouleau et al., 2018). Nella loro conformazione spiegata, come durante il legame ai rispettivi bersagli in sequenze da 3' a 5' di mRNA, i miRNA disattivano la traduzione del rispettivo mRNA bersaglio. In alternativa, in presenza di un ligando G4, viene promossa la traduzione dei loro mRNA target (Chan et al., 2018). Inoltre, un vasto numero di presunti siti di legame dei miRNA si sovrappone ai G4 in 3' UTR di mRNA poiché ci sono almeno 521 miRNA specifici che si prevede si legheranno ad almeno uno di questi G4. Complessivamente, 44.294 potenziali siti di legame G4-miRNA sono stati tracciati per possedere G4 presunti sovrapposti nell'uomo (Rouleau et al., 2017).

Come descritto altrove, durante la traduzione cellulare degli mRNA del vaccino, si verificherà un maggiore assemblaggio di un numero di elicasi proteiche leganti l'RNA, come eIF4A legato a eIF4G (Kyriakopoulos e McCullough, 2021). La presenza di un aumento dei pG4 negli mRNA sintetici può potenzialmente amplificare il legame delle proteine leganti l'RNA e dei miRNA. Questa forma di affollamento molecolare di componenti proteici (elicasi) con grande affinità per il legame G4 (Rouleau et al., 2017) ridurrà il numero di proteine che legano l'RNA che legano G4 normalmente disponibili per la regolazione del miRNA. Questa perdita di proteine leganti l'RNA e la disponibilità di miRNA per la regolazione legandosi ai G4 possono alterare drasticamente la regolazione traslazionale dei miRNA

presenti nelle cellule e quindi interrompere la regolazione essenziale dell'espressione dell'oncogene. Un esempio è la regolazione dipendente da p16 della proteina soppressore del tumore p53 (Rouleau et al., 2017; Al-Khalaf e Aboussekhra, 2018).

Questo processo è estremamente complicato ma equivale all'omeostasi cellulare. Quindi, ancora una volta, merita di essere riassunto. Se i pG4 si accumulano, come ci si aspetterebbe con una maggiore quantità di contenuto di GC nell'mRNA del vaccino, ciò avrebbe l'effetto di aumentare le potenziali strutture G4 disponibili durante gli eventi di traduzione e questo può influenzare la regolazione post-trascrizionale del miRNA. Questo, a sua volta, favorirebbe una maggiore espressione degli oncogeni correlati a una serie di tumori o guiderebbe le cellule verso l'apoptosi e la morte cellulare (Weldon et al., 2018). Il caso di studio descritto in precedenza in questo documento supporta fortemente l'ipotesi che queste iniezioni inducano una progressione accelerata del linfoma nei linfociti B follicolari (Goldman et al., 2021).

I modelli di riconoscimento del legame dei miRNA sono imperfettamente complementari alle loro regioni bersaglio e per questo motivo vengono definiti "regolatori principali", poiché un miRNA colpisce una pletera di bersagli diversi (Rouleau et al., 2018). La moltitudine di pG4 nell'mRNA del vaccino agirebbe prevedibilmente come esca, distraendo i miRNA dalla loro normale funzione nella regolazione dell'espressione proteica umana. L'aumento dei bersagli G4 dovuto al vaccino ridurrebbe la disponibilità di miRNA per colpire i G4 espressi dall'uomo per la regolazione dell'espressione genica. Ciò può comportare una sottoregolazione dell'espressione di miRNA che è implicata nella patologia cardiovascolare (Small and Olson, 2011), nell'insorgenza della neurodegenerazione (Abe e Bonini, 2013) e/o nella progressione del cancro (Farazi et al., 2013).

Per molti aspetti all'interno del meccanismo epitrascrittomico, i miRNA sono coinvolti nella repressione della traduzione. Un esempio, vitale per la normale pulizia cellulare, è quello dell'omologo del doppio minuto 2 del topo (MDM2), una proteina regolatrice fisica negativa di p53. P53 stesso è considerato il principale regolatore della rete di geni di soppressione del tumore cellulare. P16 controlla l'espressione di molti miRNA e, tramite il legame di miR-141 e miR-146b-5p all'mRNA di MDM2, induce la regolazione negativa di MDM2, consentendo così l'ubiquitinazione di p53 e la promozione della sopravvivenza cellulare in caso di eventi di danno al DNA (Al-Khalaf e Aboussekhra, 2018). La disregolazione dei miRNA che controllano la soppressione di p53 da parte di MDM2 porterebbe prevedibilmente a un aumento del rischio di una serie di tumori (Ozaki e Nakagawara, 2011).

5. IFN di tipo I e COVID-19

Gli IFN di tipo I svolgono un ruolo essenziale nella lotta contro le infezioni virali e le carenze nella segnalazione di IFN di tipo I sono state associate a scarsi risultati di COVID-19 in più studi. Questi casi sono spesso associati ad autoanticorpi contro gli IFN di tipo I. Come esaminato di seguito, gli IFN di tipo I sono stati utilizzati con un certo successo nel trattamento di COVID-19 grave, in particolare se somministrati molto presto nel processo della malattia. Se, come affermato sopra, i vaccini mRNA interferiscono con la segnalazione dell'IFN di tipo I, ciò potrebbe portare a una maggiore suscettibilità al COVID-19 nelle due settimane successive al primo vaccino, prima che sia stata avviata una risposta anticorpale.

Le cellule infettate da un virus rilevano la presenza della replicazione del virus attraverso una serie di recettori di riconoscimento del pattern (PRR), che fungono da sentinelle rilevando le strutture aberranti dell'RNA che spesso si formano durante la replicazione virale. Questi recettori rispondono oligomerizzando e successivamente inducendo gli IFN di tipo I, sovraregolando infine un gran numero di proteine coinvolte nella soppressione della proliferazione virale (Janeway e Medzhitov, 2002).

Uno studio di più autori condotto da ricercatori a Parigi, in Francia, che ha coinvolto una coorte di 50 pazienti COVID-19 con vari gradi di gravità della malattia, ha rivelato che i pazienti con malattia grave erano caratterizzati da una risposta IFN di tipo I altamente compromessa (Hadjadj et al., 2020). Questi pazienti non avevano essenzialmente alcuna produzione e attività di IFN- β e bassa produzione e attività di IFN- α . Ciò era associato a una carica virale nel sangue persistente e a una risposta infiammatoria esacerbata, caratterizzata da alti livelli di fattore di necrosi tumorale α (TNF- α) e Il-6. Gli autori hanno proposto la terapia con IFN di tipo I come potenziale opzione di trattamento. Un documento di diversi ricercatori negli Stati Uniti ha anche identificato una risposta infiammatoria unica e inappropriata nei pazienti con COVID-19 grave, caratterizzata da bassi livelli di IFN di tipo I e di tipo III insieme a chemochine elevate ed elevata espressione di Il-6 (Blanco- Melo et al., 2020).

Gli IFN di tipo I sono stati persino proposti come opzione di trattamento per il COVID-19 grave. In un modello di criceto, i ricercatori hanno esposto i criceti alla SARS-CoV-2 e hanno indotto una risposta infiammatoria nei polmoni e un'inflammation sistemica nei tessuti distali. Hanno scoperto che la somministrazione intranasale di IFN- α ricombinante ha comportato una riduzione della carica virale e un alleviamento dei sintomi (Hoagland et al., 2021). Uno studio di coorte retrospettivo su 446 pazienti con COVID-19 ha determinato che la somministrazione precoce di IFN- α 2b era associata a una ridotta mortalità intraospedaliera. Tuttavia, la terapia tardiva con IFN ha aumentato la mortalità e ritardato il recupero, rivelando che la somministrazione precoce della terapia con interferone è essenziale per una risposta favorevole (Wang et al., 2020a).

Un numero sorprendente di persone ha autoanticorpi neutralizzanti contro gli IFN di tipo I, sebbene l'eziologia alla base di questo fenomeno non sia stata compresa. Uno studio che utilizza la profilazione longitudinale di oltre 600.000 cellule mononucleate del sangue periferico e il sequenziamento del trascrittoma di 54 pazienti con COVID-19 e 26 controlli ha rilevato una notevole mancanza di risposte geniche stimulate dall'IFN di tipo I nelle cellule mieloidi di pazienti con malattia critica (van der Wijst et al., 2021). Autoanticorpi neutralizzanti contro gli IFN di tipo I sono stati trovati nel 19% dei pazienti con malattia critica, nel 6% dei pazienti con malattia grave e nello 0% dei pazienti con malattia moderata. Un altro studio con sede a Madrid, in Spagna, ha rivelato che il 10% dei pazienti con grave malattia da COVID-19 aveva anticorpi autoimmuni contro gli IFN di tipo I (Troya et al., 2021). Uno studio multi-autore con sede in Francia ha rilevato che la mortalità da COVID-19 era significativamente più frequente nei pazienti con autoanticorpi neutralizzanti contro l'interferone di tipo I rispetto a quelli senza anticorpi neutralizzanti (55% vs. 23%) (Chauvineau - Grenier et al., 2022). Infine, Stertz e Hale (2021) osservano che, a causa di autoanticorpi o forse di polimorfismi di perdita di funzione associati ai geni del sistema dell'interferone, le carenze nella produzione di interferone sono associate fino al 15% di tutti i casi di COVID-19 pericolosi per la vita.

6. Le strategie di metilazione per la pulizia cellulare sono generalmente omesse dagli mRNA del vaccino?

La metilazione degli mRNA è stata evolutivamente concepita per controllare la traduzione delle trascrizioni e quindi l'espressione dei geni da parte di una complessa cascata di proteine metilatrici (scrittori), de-metilatrici (gomma) e lettrici. La metilazione dell'adenosina è la modifica dell'mRNA epitranscriptomica più abbondante e si verifica in più siti attraverso la molecola dell'mRNA (Zaccara et al., 2019). Una metilazione chiave dell'adenosina "N6-metiladenosina (m6A)" in particolare nell'UTR 5' degli mRNA regola la normale fisiologia cellulare, la risposta infiammatoria e la progressione del cancro. Il ruolo e i meccanismi di m6A nelle malattie umane sono ampi ed è ampiamente trattato in altre revisioni complete (Yang et al., 2020; Knuckles and Bühler, 2018). Primo tra questi, la vaccinazione molecolare SARS-CoV-2 induce condizioni di stress cellulare, come descritto dall'elevata segnalazione NF- κ B dopo la vaccinazione (Liu et al., 2021; Koo et al., 2010).

In condizioni di stress cellulare, che può essere indotto da un'infezione virale o da stati patologici come il cancro, m6A media gli mRNA affinché subiscano la traduzione preferenzialmente in modo indipendente dal cappuccio (Meyer et al., 2015). Come discusso in precedenza, questo è opposto all'impatto della vaccinazione con mRNA SARS-CoV-2, che guida le cellule verso una traduzione dipendente dal cappuccio. Inoltre, in condizioni diversificate di stress cellulare, c'è una schiacciante induzione dell'aggiunta di m6A a livello di trascrittoma che fa sì che un numero maggiore di mRNA possieda 5'UTR arricchiti con m6A (Meyer et al., 2015).

Il fattore di inizio della traduzione eucariotica 4E (eIF4E) è la proteina legante il cappuccio dell'mRNA iniziale che dirige i ribosomi alla struttura del cappuccio degli mRNA, al fine di avviare la traduzione in proteine. La dipendenza dalla traduzione cap-dipendente degli mRNA del vaccino consumerà un surplus di disponibilità di eIF4E necessaria per tradurre un numero innaturalmente alto di mRNA sintetici. Tuttavia, la traduzione indipendente dal cappuccio avviene senza richiedere che eIF4E sia vincolato a eIF4F. La competizione per i ribosomi si sposterà verso la traduzione indipendente dal cappuccio dei trascritti, poiché gli mRNA sottoposti a traduzione indipendente dal cappuccio sono dotati, oltre ai siti di ingresso del ribosoma interno (IRES), con motivi di legame speciali che si legano a fattori che reclutano attivamente mRNA per i potenziatori traslazionali indipendenti dal cappuccio del ribosoma (CITE) (Shatsky et al., 2018).

Inoltre, ciò significa anche che eIF4E, che è un potente regolatore dell'oncogene e modulatore della proliferazione cellulare, sosterrà le sue attività attraverso questa competizione per un periodo di tempo innaturalmente prolungato, cercando di controbilanciare la competizione tra mRNA con tappo robusto nei vaccini e contenenti IRES mRNA (Kyriakopoulos e McCullough, 2021; Svitkin et al., 2005). Questo tipo di condizione si traduce in una disregolazione delle modifiche dell'mRNA co-trascrizionale di m6A e si collega seriamente alle progressioni molecolari di vari tumori (Han e Choe, 2020), oltre a creare condizioni predisponenti per successive infezioni virali (Svitkin et al., 2005).

Successivamente consideriamo l'impatto della glicoproteina spike SARS-CoV-2 derivata dalla vaccinazione mRNA sul sistema IFN cellulare tramite la massiccia produzione di esosomi.

7. Esosomi e microRNA

Un'importante rete di comunicazione tra le cellule è costituita da vescicole extracellulari (EVs) che sono costantemente rilasciate da una cellula e successivamente assunte da un'altra cellula, che potrebbe trovarsi in un organo lontano. Le piccole vescicole note come esosomi, formate all'interno degli endosomi, hanno dimensioni simili a quelle dei virus e vengono rilasciate attraverso l'esocitosi nello spazio extracellulare per circolare successivamente in tutto il corpo (Yoshikawa et al., 2019). Gli esosomi possono trasportare un insieme diversificato di molecole biologicamente attive, tra cui mRNA, microRNA (miRNA), proteine e lipidi (Ratajczak e Ratajczak, 2016). Durante un'infezione virale, le cellule infette secernono grandi quantità di esosomi che agiscono come una rete di comunicazione tra le cellule per orchestrare la risposta all'infezione (Chahar et al., 2015).

In uno sforzo collaborativo di un team di ricercatori dell'Arizona e del Connecticut, è stato scoperto che le persone che sono state vaccinate con i vaccini mRNA hanno acquisito esosomi circolanti contenenti la glicoproteina spike della SARS-CoV-2 entro il 14° giorno dalla vaccinazione (Bansal et al., 2021). Hanno anche scoperto che non c'erano anticorpi circolanti verso la glicoproteina spike quattordici giorni dopo il primo vaccino. Dopo il secondo vaccino, tuttavia, il numero di esosomi circolanti contenenti glicoproteina spike è aumentato fino a un fattore di 12.

Inoltre, gli anticorpi sono apparsi per la prima volta il 14° giorno. Gli esosomi presentavano la glicoproteina spike sulla loro superficie, il che, secondo gli autori, facilitava la produzione di anticorpi. Quando i topi sono stati esposti agli esosomi derivati da persone vaccinate, hanno sviluppato anticorpi contro la glicoproteina spike. È interessante notare che, dopo il picco di espressione, il numero di esosomi circolanti contenenti glicoproteina spike è diminuito nel tempo, di pari passo con la diminuzione del livello di anticorpi alla glicoproteina spike. Gli esosomi esistono come parte del meccanismo di decadimento dell'mRNA in stretta associazione in condizioni di stress con i granuli di stress (SG) e i corpi P (PB) (Decker e Parker, 2012; Kothandan et al., 2020). In condizioni di traduzione vaccino-mRNA-indotta, che potrebbe essere chiamata "eccessiva dipendenza dalla traduzione cap-dipendente", c'è una evidente resistenza alla promozione e all'assemblaggio del grande complesso di decapping (Kyriakopoulos e McCullough, 2021), e quindi resistenza ai processi fisiologici di decadimento dell'mRNA (Decker e Parker, 2012). Questo significherebbe che il destino di particolari mRNA sintetici, che altrimenti sarebbe determinato dalla comune strategia cellulare per il turnover dell'mRNA che coinvolge le ribonucleoproteine messaggere (mRNP), viene omesso (Borbolis e Syntichaki, 2015). Inoltre, in condizioni di eccessivo affidamento alla traduzione cap-dipendente da parte degli mRNA sintetici nei vaccini SARS-CoV-2 (Kyriakopoulos e McCullough, 2021), molti mRNA nativi che detengono notevoli IRES e metilazioni specifiche (m6A) nella loro struttura sceglieranno favorevolmente la traduzione cap-indipendente, che è fortemente legata ai meccanismi di controllo della qualità del decadimento dell'mRNA (Han e Choe, 2020). In questo senso, considerevoli prodotti di mRNA deadenilato così come i prodotti derivati dal metabolismo dell'mRNA (decadimento) sono direttamente legati ai carichi di esosomi (Borbolis e Syntichaki, 2015). Un esempio di dipendenza dalla traduzione cap-dipendente è descritto nella leucemia linfoblastica acuta a cellule T (T-ALL). A causa dell'iperfunzionamento del bersaglio meccanicistico della rapamicina C (mTORC)-1 nella T-ALL, le cellule sono guidate completamente verso la traduzione cap-dipendente (Girardi e De Keersmaecker, 2015). Una condizione analoga è descritta da Kyriakopoulos e McCullough (2021). Anche in questo stato canceroso altamente aggressivo, durante l'inibizione della traduzione cap-dipendente nelle cellule T-ALL, c'è una rapida inversione alla traduzione cap-indipendente (Girardi e De Keersmaecker, 2015). Allo stesso modo, un'infezione da picornavirus (Jang et al., 1990) spinge le cellule verso la traduzione cap-indipendente a causa dell'inibizione dei componenti del complesso eIF4F e del pluralismo delle IRES nell'RNA virale.

Negli esseri umani, c'è un'abbondanza di infezioni da picornavirus per lo più asintomatiche come il Safford Virus, con una sieroprevalenza superiore al 90% nei bambini piccoli e negli adulti (Zoll et al., 2009). In entrambi i casi, sia che si tratti di un evento apoptotico dovuto a una condizione di stress (Rusk, 2008) o di un effetto carcinomatoso guidato da mRNA-cap (De Paolis et al., 2021), i livelli di miRNA saranno aumentati a causa del maggiore funzionamento epitrascrittomico e al maggiore decadimento dell'mRNA. A causa dell'elevata richiesta di espressione genica, ci si aspetta che alti livelli di certi miRNA siano contenuti negli esosomi attraverso i corpi P (Yu et al., 2016).

Inoltre, in condizioni di sovrabbondante produzione di glicoproteine spike di SARS-CoV-2 a causa della vaccinazione molecolare SARS-CoV-2, ci si aspetterebbe naturalmente che una proporzione significativa di glicoproteine spike intracellulari sovrabbondanti venga esportata anche attraverso i carichi esosomiali (Wei et al., 2021).

Mishra e Banerjea (2021) hanno studiato il ruolo degli esosomi nella risposta cellulare delle cellule trasfettate con spike SARS-CoV-2. Hanno scritto nell'abstract: "Proponiamo che il prodotto del gene SARS-CoV-2, Spike, sia in grado di modificare il carico esosomiale dell'ospite, che viene trasportato a tessuti e organi distanti non infetti e può avviare una

cascata immunitaria catastrofica all'interno del Sistema Nervoso Centrale (SNC)". I loro esperimenti hanno coinvolto la coltivazione di cellule umane HEK293T in coltura e l'esposizione a plasmidi del gene spike della SARS-CoV-2, che hanno indotto la sintesi della glicoproteina spike all'interno delle cellule. Hanno scoperto sperimentalmente che queste cellule hanno rilasciato abbondanti esosomi contenenti glicoproteina spike insieme a specifici microRNA. Hanno poi raccolto gli esosomi e li hanno trasferiti in una coltura cellulare di microglia umana (le cellule immunitarie residenti nel cervello). Hanno dimostrato che la microglia ha assorbito prontamente gli esosomi e ha risposto ai microRNA iniziando una risposta infiammatoria acuta. Il ruolo della microglia nel causare la neuroinfiammazione in varie malattie virali, come il virus dell'immunodeficienza umana (HIV), il virus dell'encefalite giapponese (JEV) e la dengue, è ben noto. Hanno proposto che la comunicazione cellula-cellula a lunga distanza attraverso gli esosomi potrebbe essere il meccanismo attraverso il quale i sintomi neurologici si manifestano nei casi gravi di COVID-19.

In un'ulteriore esplorazione, gli autori hanno identificato due microRNA che erano presenti in alte concentrazioni negli esosomi: miR-148a e miR-590. Hanno proposto un meccanismo specifico attraverso il quale questi due microRNA interromperebbero specificamente la segnalazione dell'interferone di tipo I, attraverso la soppressione di due proteine critiche che controllano il percorso: ubiquitina peptidasi specifica 33 (USP33) e IRF9. Gli eterodimeri STAT1 e STAT2 fosforilati richiedono IRF9 per legare gli elementi di risposta stimolati da IFN, e quindi IRF9 gioca un ruolo essenziale nella risposta di segnalazione. Gli autori hanno dimostrato sperimentalmente che la microglia esposta agli esosomi estratti dalla coltura HEK293 aveva una diminuzione del 50% dell'espressione cellulare di USP33 e una diminuzione del 60% di IRF9. Hanno inoltre scoperto che il miR-148a blocca specificamente USP33 e il miR-590 blocca specificamente IRF9. USP33 rimuove l'ubiquitina da IRF9, e così facendo lo protegge dalla degradazione. Così, i due microRNA insieme cospirano per interferire con IRF9, bloccando così la risposta del recettore agli interferoni di tipo I.

Uno studio di de Gonzalo-Calvo et al. (2021) ha esaminato il profilo dei microRNA nel sangue dei pazienti COVID-19 e la loro varianza quantitativa in base alla gravità della malattia. Più miRNA sono stati trovati up- e down-regolati. Tra questi c'era il miR-148a-3p, il precursore del filamento guida del miR-148a. Tuttavia, il miR-148a stesso non era tra i microRNA catalogati come eccessivi o carenti nel loro studio, né lo era il miR-590. Da questi risultati sembra che miR148a e miR-590 e i loro effetti infiammatori siano unici per la produzione di glicoproteine spike SARS-CoV-2 indotta dalla vaccinazione.

Studi sui traccianti hanno dimostrato che, dopo l'iniezione nel muscolo del braccio, l'mRNA nei vaccini mRNA viene trasportato nel sistema linfatico dalle cellule immunitarie e alla fine si accumula nella milza in alte concentrazioni (Bahl et al., 2017). Altri studi hanno dimostrato che le cellule immunitarie stressate nei centri germinali nella milza rilasciano grandi quantità di esosomi che viaggiano verso i nuclei del tronco cerebrale lungo il nervo vago (come rivisto in Seneff e Nigh (2021)). Il nervo vago è il 10° nervo cranico ed entra nel tronco encefalico vicino alla laringe. I nervi laringei superiori e ricorrenti sono rami del vago che innervano le strutture coinvolte nella deglutizione e nel parlare. Le lesioni di questi nervi causano la paralisi delle corde vocali associata a difficoltà di deglutizione (disfagia), difficoltà nel parlare (disfonia) e/o mancanza di respiro (dispnea) (Gould et al., 2019; Erman et al., 2009).

Torneremo su queste patologie specifiche nella nostra revisione dei dati VAERS di seguito.

Le cellule HEK293 sono state originariamente derivate da colture prelevate dal rene di un feto umano diversi decenni fa e immortalate attraverso l'infezione con DNA di adenovirus. Anche se sono state estratte dal rene, le cellule mostrano attraverso il loro profilo di espressione proteica che sono probabilmente di origine neuronale (Shaw et al., 2002). Questo suggerisce che i neuroni del nervo vago risponderebbero in modo simile alla glicoproteina spike della SARS-CoV-2. Quindi, le prove disponibili suggeriscono fortemente che la glicoproteina spike della SARS-CoV-2 prodotta endogenicamente crea un profilo di microRNA diverso rispetto all'infezione naturale con SARS-CoV-2, e queste differenze comportano una gamma potenzialmente ampia di effetti deleteri. Un punto centrale della nostra analisi è l'importante distinzione tra l'impatto della vaccinazione e l'infezione naturale sull'IFN di tipo I. Mentre la vaccinazione sopprime attivamente la sua produzione, l'infezione naturale promuove la produzione di IFN di tipo I molto presto nel ciclo della malattia. I pazienti con condizioni preesistenti spesso mostrano un'alterazione della segnalazione di IFN di tipo I, che porta a una forma di COVID-19 più grave, critica e persino fatale. Se la compromissione indotta dal vaccino viene mantenuta, mentre i livelli di anticorpi diminuiscono nel tempo, questo potrebbe portare a una situazione in cui il vaccino causa un'espressione della malattia più grave di quella che si sarebbe avuta in assenza del vaccino. Un'altra conseguenza attesa della soppressione dell'IFN di tipo I sarebbe la riattivazione di infezioni virali croniche preesistenti, come descritto nella sezione 9.

8. Riparazione alterata del DNA e immunità adattativa

Il sistema immunitario e il sistema di riparazione del DNA sono i due principali sistemi a cui gli organismi superiori si affidano per la difesa contro diverse minacce, e condividono elementi comuni. La perdita di funzione di proteine chiave per la riparazione del DNA porta a difetti di riparazione che inibiscono la produzione di cellule B e T funzionali, con conseguente immunodeficienza. La riparazione attraverso l'unione delle estremità non omologhe (NHEJ) gioca un ruolo critico nella ricombinazione V(D)J specifica dei linfociti, che è essenziale per produrre il repertorio altamente diversificato di anticorpi delle cellule B in risposta all'esposizione all'antigene (Jiang e Mei, 2021). L'alterazione della riparazione del DNA è anche un percorso diretto verso il cancro.

Un articolo pubblicato da Liu et al. nel 2021 ha monitorato diversi parametri associati alla funzione immunitaria in una coorte di pazienti conducendo il sequenziamento dell'mRNA di singole cellule di cellule mononucleate del sangue periferico (PBMC) raccolte dai pazienti prima e 28 giorni dopo la prima iniezione di un vaccino COVID-19 basato su una versione indebolita del virus (Liu et al., 2021). Mentre questi vaccini sono diversi dai vaccini a mRNA, anche essi funzionano iniettando il contenuto del vaccino nel muscolo deltoide, bypassando le barriere mucosali e vascolari.

Gli autori hanno trovato un'alterazione consistente dell'espressione genica dopo la vaccinazione in molti diversi tipi di cellule immunitarie. Gli aumenti osservati in NF- κ B e la riduzione delle risposte IFN di tipo I sono stati ulteriormente confermati da saggi biologici. Coerentemente con altri studi, essi hanno scoperto che gli STAT2 e IRF7 erano significativamente sottoregolati 28 giorni dopo la vaccinazione, il che è indicativo di risposte IFN di tipo I compromesse.

Essi hanno scritto: "Insieme, questi dati suggeriscono che dopo la vaccinazione, almeno dal giorno 28, a parte la generazione di anticorpi neutralizzanti, il sistema immunitario delle persone, compresi linfociti e monociti, era forse in uno stato più vulnerabile". (Liu et al., 2021).

Questi autori hanno anche identificato cambiamenti inquietanti nell'espressione genica che implicherebbero un'alterata capacità di riparare il DNA. Fino al 60% dell'attività totale di trascrizione nelle cellule in crescita interessa la trascrizione del DNA ribosomiale (rDNA) per produrre RNA ribosomiale (rRNA). L'enzima che trascrive il DNA ribosomiale in RNA è la RNA polimerasi I (Pol I).

Pol I controlla anche l'integrità dell'rDNA e influenza la sopravvivenza delle cellule (Kakarougkas et al., 2013). Durante la trascrizione, le RNA polimerasi (RNAP) scansionano attivamente il DNA per trovare lesioni voluminose (rotture del doppio filamento) e innescare la loro riparazione. Nelle cellule eucariotiche in crescita, la maggior parte della trascrizione comporta sintesi di RNA ribosomiale da parte di Pol I. Così, Pol I promuove la sopravvivenza dopo un danno al DNA (Kakarougkas et al., 2013). Molti dei geni sottoregolati identificati da Liu et al. (2021) erano legati al ciclo cellulare, al mantenimento dei telomeri e alla promozione dell'apertura e della trascrizione di POL I, indicativi di processi di riparazione del DNA compromessi.

Uno degli insiemi di geni soppressi era dovuto alla "deposizione di nuovi nucleosomi contenenti CENPA [proteina A del centromero] al centromero". La CENPA appena sintetizzata si deposita nei nucleosomi al centromero durante la tarda telofase/inizio della fase G1 del ciclo cellulare.

Questo indica l'arresto del ciclo cellulare in fase G1 come una caratteristica della risposta al vaccino inattivato SARS-CoV-2. L'arresto di cellule staminali embrionali pluripotenti nella fase G1 (prima dell'inizio della replicazione) comporterebbe una riduzione dell'auto-rinnovamento e del mantenimento della pluripotenza (Choi et al., 2013).

Due proteine checkpoint crucialmente coinvolte nella riparazione del DNA e nell'immunità adattativa sono BRCA1 e 53BP1, che facilitano sia la ricombinazione omologa (HR) che l'NHEJ, i due principali processi di riparazione (Zhang e Powell, 2005; Panier e Boulton, 2014). In un esperimento *in vitro* su cellule umane, la glicoproteina spike SARS-CoV-2 a lunghezza intera ha dimostrato specificamente di entrare nel nucleo e di ostacolare il reclutamento di queste due proteine di riparazione nel sito di una rottura del doppio filamento (Jiang e Mei, 2021). Gli autori hanno riassunto i loro risultati dicendo: "Meccanicamente, abbiamo scoperto che la proteina spike si localizza nel nucleo e inibisce la riparazione dei danni al DNA ostacolando le proteine di riparazione BRCA1 e 53BP1 nel sito del danno".

Un altro meccanismo con cui i vaccini mRNA potrebbero interferire con la riparazione del DNA è attraverso il miR-148. Questo microRNA ha dimostrato di sottoregolare l'HR nella fase G1 del ciclo cellulare (Choi et al., 2014). Come è stato menzionato in precedenza in questo articolo, questo è stato uno dei due microRNA trovati negli esosomi rilasciati dalle cellule umane dopo la sintesi della glicoproteina Spike SARS-CoV-2 negli esperimenti di Mishra e Banerjea (2021).

9. Riattivazione della varicella-zoster

La segnalazione del recettore IFN di tipo I nelle cellule T CD8+ è fondamentale per la generazione di cellule effettrici e di memoria in risposta a un'infezione virale (Kolumam et al., 2005). Le cellule T CD8+ possono bloccare la riattivazione dell'infezione latente da herpes nei neuroni sensoriali (Liu et al., 2000). Se la segnalazione dell'IFN di tipo I è compromessa, come accade dopo la vaccinazione ma non dopo l'infezione naturale da SARS-CoV-2, la capacità delle cellule T CD8+ di tenere sotto controllo l'herpes sarebbe anch'essa compromessa. Potrebbe essere questo il meccanismo all'opera in risposta ai vaccini?

Il fuoco di Sant'Antonio è una condizione sempre più comune causata dalla riattivazione dei virus dell'herpes zoster latente (HZV), che causa anche la varicella nell'infanzia. In una revisione sistematica, Katsikas Triantafyllidis et al. (2021) hanno identificato 91 casi di herpes zoster che si sono verificati una media di 5,8 giorni dopo la vaccinazione mRNA. Pur riconoscendo che la causalità non è ancora confermata, "l'herpes zoster è forse una malattia che i medici e altri operatori sanitari possono aspettarsi di vedere nei pazienti che ricevono i vaccini COVID-19" (Katsikas Triantafyllidis et al., 2021). In una lettera all'editore pubblicata il 2 settembre 2021, Fathy et al. (2022) hanno riportato 672 casi di reazioni cutanee presumibilmente legate al vaccino, compresi 40 casi di riattivazione dell'herpes zoster e/o dell'herpes simplex. Questi casi erano stati segnalati all'American Academy of Dermatology e all'International League of Dermatologic Societies' COVID-19 Dermatology Registry, istituito appositamente per tracciare le sequele dermatologiche dei vaccini. In letteratura ci sono molteplici segnalazioni di ulteriori casi di riattivazione dell'herpes zoster in seguito alla vaccinazione COVID-19 (Psichogiou et al., 2021b; Iwanaga et al., 2021). Llado' et al. (2021) hanno notato che 51 delle 52 segnalazioni di infezioni da herpes zoster riattivato sono avvenute dopo la vaccinazione con mRNA. L'herpes zoster stesso interferisce anche con la segnalazione di IFN- α nelle cellule infette sia interferendo con la fosforilazione di STAT2 sia facilitando la degradazione di IRF9 (Verweij et al., 2015).

Anche un altro caso di riattivazione virale è degno di nota. Si tratta di una donna di 82 anni che aveva acquisito un'infezione da virus dell'epatite C (HCV) nel 2007. Un forte aumento della carica HCV si è verificato pochi giorni dopo la vaccinazione con un vaccino mRNA Pfizer/BioNTech, insieme a una comparsa di ittero. ~~Morì~~ È deceduta tre settimane dopo la vaccinazione per insufficienza epatica (Lensen et al., 2021).

10. Trombocitopenia immunitaria

La trombocitopenia immunitaria è una malattia autoimmune, in cui il sistema immunitario attacca le piastrine in circolazione. La porpora trombocitopenica immunitaria (ITP) è stata associata a diverse vaccinazioni, tra cui morbillo, parotite, rosolia (MMR), epatite A, varicella, difterite, tetano, pertosse (DPT), polio orale e influenza (Perricone et al., 2014). Mentre c'è un'ampia consapevolezza che i vaccini a base di DNA dell'adenovirus possono causare trombocitopenia immunitaria indotta da vaccino (VITT) (Kelton et al., 2021), i vaccini a mRNA non sono senza rischio di VITT, poiché sono stati pubblicati studi di casi che documentano tali eventi, compresa la trombosi del seno venoso cerebrale minacciosa e fatale (Lee et al., 2021; Akiyama et al., 2021; Atoui et al., 2022; Zakaria et al., 2021). Si ritiene che il meccanismo coinvolga gli anticorpi VITT che si legano al fattore IV delle piastrine (PF4) e formano immunocomplessi che inducono l'attivazione delle piastrine. Le successive cascate di coagulazione causano la formazione di microcoaguli diffusi nel cervello, nei polmoni, nel fegato, nelle gambe e altrove, associati a un drammatico calo della conta piastrinica (Kelton et al., 2021). La reazione al

vaccino è stata descritta come molto simile alla trombocitopenia indotta da eparina (HIT), tranne che la somministrazione di eparina non è notevolmente coinvolta (Cines e Bussel, 2021).

È stato dimostrato che i vaccini mRNA suscitano principalmente una risposta immunitaria di immunoglobuline G (IgG), con minori quantità di IgA indotte (Wisnewski et al., 2021), e ancora minor produzione di IgM (Danese et al., 2021). La quantità di anticorpi IgG prodotti è paragonabile alla risposta vista nei casi gravi di COVID-19. Sono gli anticorpi IgG in complesso con l'eparina che inducono la HIT. Si può ipotizzare che le IgG complessate con la glicoproteina spike della SARS-CoV-2 e il PF4 siano il complesso che induce la VITT in risposta ai vaccini mRNA. È stato infatti dimostrato sperimentalmente che il dominio di legame del recettore (RBD) della proteina spike si lega al PF4 (Passariello et al., 2021).

Il meccanismo alla base della HIT è stato ben studiato, anche attraverso l'uso di modelli murini umanizzati. È interessante notare che le piastrine umane, ma non quelle del topo, esprimono il recettore FcγRIIA, che risponde ai complessi PF4/eparina/IgG attraverso una cascata di fosforilazione della tirosina per indurre l'attivazione delle piastrine. Dopo l'attivazione, le piastrine rilasciano granuli e generano microparticelle procoagulanti. Assumono anche il calcio, attivano la chinasi proteica C, si raggruppano in microtrombi e lanciano una cascata di morte cellulare attraverso l'attivazione della calpina. Queste piastrine attivate rilasciano PF4 nello spazio extracellulare, sostenendo un circolo vizioso, poiché questo PF4 aggiuntivo si lega anche all'eparina e all'anticorpo IgG per promuovere ulteriormente l'attivazione delle piastrine. Quindi, FcγRIIA ha un ruolo centrale nel processo della malattia (Nevzorova et al., 2019).

Gli studi sui topi ingegnerizzati per esprimere il recettore umano FcγRIIA hanno dimostrato che questi topi transgenici sono molto più suscettibili alla trombocitopenia rispetto alle loro controparti selvatiche (McKenzie et al., 1999). È stato proposto che le piastrine possano avere un ruolo importante nella rimozione dei complessi anticorpo-antigene intrappolando l'antigene nei trombi e/o trasportandoli nella milza per la rimozione da parte delle cellule immunitarie. Le piastrine sono ovviamente consumate rapidamente in questo processo, il che si traduce in un basso numero di piastrine (trombocitopenia).

Le piastrine circolano normalmente con una vita media di soli cinque-nove giorni; quindi, sono costantemente sintetizzate nel midollo osseo e ripulite nella milza. Le piastrine legate agli anticorpi, in seguito all'attivazione delle piastrine attraverso i recettori Fcγ, migrano verso la milza dove vengono intrappolate e rimosse attraverso la fagocitosi dai macrofagi (Crow e Lazarus, 2003). Circa un terzo delle piastrine totali del corpo si trova nella milza.

Poiché i vaccini a mRNA sono portati nella milza da cellule immunitarie inizialmente attratte dal sito di iniezione nel muscolo del braccio, c'è un'enorme opportunità per il rilascio di esosomi contenenti glicoproteina spike da parte delle cellule dendritiche nella milza che sintetizzano la proteina spike. Si può ipotizzare che l'attivazione delle piastrine in seguito alla formazione di un complesso PF4/IgG/proteina spike nella milza sia parte del meccanismo che cerca di eliminare la glicoproteina spike tossica.

Abbiamo detto prima che uno dei due microRNA altamente espressi negli esosomi rilasciati da cellule umane esposte alla glicoproteina spike della SARS-CoV-2 era miR-148a. MiR-148a ha dimostrato sperimentalmente di sopprimere l'espressione di una proteina che gioca un ruolo centrale nella regolazione dell'espressione FcγRIIA sulle piastrine. Questa proteina, chiamata T-cell ubiquitin ligand-2 (TULA-2), inibisce specificamente l'attività del recettore Fcγ delle piastrine. miR-148a si rivolge a

TULA-2 mRNA e sottoregola la sua espressione. Così, il miR-148a, presente negli esosomi rilasciati dai macrofagi che sono costretti dal vaccino a sintetizzare la glicoproteina spike della SARS-CoV-2, agisce per aumentare il rischio di trombocitopenia in risposta ai complessi immunitari formati dall'antigene della glicoproteina spike e dagli anticorpi IgG prodotti contro la glicoproteina spike.

11. PPAR- α , solfatide e malattie del fegato

Come abbiamo già detto, un esperimento di Mishra e Banerjea (2021) ha dimostrato che la glicoproteina spike della SARS-CoV-2 induce il rilascio di esosomi contenenti microRNA che interferiscono specificamente con la sintesi di IRF9. In questa sezione mostreremo che una delle conseguenze della soppressione di IRF9 sarebbe una ridotta sintesi di solfatide nel fegato, mediata dal recettore nucleare recettore α (PPAR- α) attivato dal proliferatore del perossisoma.

I solfatidi sono i principali sfingocolipidi del siero dei mammiferi che vengono sintetizzati e secreti principalmente dal fegato (Lu et al., 2019). Essi sono gli unici sfingolipidi solfonati nel corpo. I solfatidi sono formati da un processo in due fasi che coinvolge la conversione della ceramide in galattocerebrosidi e la sua successiva solfatazione. Il solfatide è espresso sulla superficie di piastrine, eritrociti e linfociti. I solfatidi del siero esercitano sia funzioni anti-coagulative che di attivazione antiplastrinica.

L'enzima nel fegato che sintetizza il solfatide, cerebrosidi solfotransferasi, è stato specificamente trovato per essere indotto dall'attivazione di PPAR- α nei topi (Kimura et al., 2012). Pertanto, una ridotta espressione di PPAR- α porta alla carenza di solfatide.

I ligandi PPAR- α mostrano effetti antinfiammatori e antifibrotici, mentre la carenza di PPAR- α porta a steatosi epatica, steatoepatite, steatofibrosi e cancro al fegato (Wang et al., 2020b). Nel 2019, un esperimento è stato condotto da un team di ricercatori in Giappone su topi con un gene difettoso per PPAR- α (Lu et al., 2019). Questi topi, quando alimentati con una dieta ad alto contenuto di colesterolo, erano suscettibili di accumulo di trigliceridi in eccesso e all'esacerbazione di infiammazione e stress ossidativo nel fegato, oltre a un aumento dei livelli dei fattori di coagulazione. I topi hanno anche mostrato livelli diminuiti di solfatidi sia nel fegato che nel siero. Gli autori hanno ipotizzato che il sovraccarico di colesterolo esercita i suoi effetti tossici in parte migliorando la trombosi, a seguito di anormale metabolismo lipidico epatico e stress ossidativo. Hanno dimostrato che PPAR- α può attenuare questi effetti tossici attraverso la regolazione trascrizionale di fattori di coagulazione e la sovraregolazione della sintesi di solfatide, oltre ai suoi effetti nel migliorare la malattia del fegato. Hanno proposto che le terapie come i fibrati volti ad attivare PPAR- α potrebbe prevenire la malattia cardiovascolare indotta dalla dieta ad alto contenuto di colesterolo.

Studi sui traccianti hanno dimostrato che l'mRNA dei vaccini a mRNA migra preferenzialmente nel fegato e nella milza, raggiungendo una maggiore concentrazione lì che in qualsiasi altro organo (Bahl et al., 2017). Così, c'è potenziale per la soppressione di IRF9 nel fegato da parte del vaccino. IRF9 è altamente espresso negli epatociti, dove interagisce con PPAR- α , attivando geni bersaglio di PPAR- α . Uno studio sui topi danneggiati da IRF9 ha mostrato che questi topi hanno sviluppato steatosi e insulino-resistenza epatica quando esposti a una dieta ad alto contenuto di grassi. Al contrario, la sovraespressione di IRF9 epatico mediato da adenovirale in topi obesi ha aumentato la sensibilità all'insulina e migliorato la steatosi e l'infiammazione (Wang et al., 2013).

Molteplici rapporti di casi nella letteratura di ricerca descrivono danni al fegato a seguito di vaccini a mRNA (Zin Tun et al., 2021; Dumortiera, 2022; Mann et al., 2021). Un fattore plausibile che porta a questi risultati è la soppressione di PPAR- α attraverso la sottoregolazione di IRF9, e successivamente diminuzione della sintesi di solfatide nel fegato.

12. Sindrome di Guillain Barre' e sindromi da lesioni neurologiche

La GBS è una neuropatia demielinizzante infiammatoria acuta associata a morbilità di lunga durata e a un rischio significativo di mortalità (Cr'e ange, 2000). La malattia comporta un attacco autoimmune sui nervi associato al rilascio di citochine pro-infiammatorie. La GBS è spesso associata ad autoanticorpi contro il solfatide e altri sfingolipidi (Ilyas et al., 1991). Le cellule T attivate producono citochine in risposta alla presentazione dell'antigene da parte dei macrofagi, e queste citochine possono indurre la produzione di autoanticorpi attraverso la diffusione dell'epitopo (Van derlugt e Miller, 2002). Gli anticorpi, a loro volta, inducono l'attivazione del complemento, che causa demielinizzazione e danno assonale, portando a gravi lesioni ai neuroni periferici (Kuwahara e Kusunoki, 2018). È stato dimostrato che la glicoproteina spike della SARS-CoV-2 si lega al solfato di eparano, che è un complesso amino-zuccherino solfatato simile al galattosio solfatato del solfatide (Kalra e Kandimalla, 2021). Quindi, è concepibile che la glicoproteina spike si leghi anche al solfatide, e questo potrebbe innescare una reazione immunitaria al complesso spike-glicoproteina-solfatide.

Come descritto nella sezione precedente, un'alterata sintesi di solfatide nel fegato, a causa della soppressione di IRF9 porterà nel tempo a una carenza sistemica di solfatide. La carenza di solfatidi può avere un impatto importante nel cervello e sistema nervoso. Il 20% dei galattolipidi che si trovano nella guaina mielinica sono solfatidi. Il solfatide è un componente importante del sistema nervoso, trovato in concentrazioni particolarmente elevate nella guaina mielinica sia nel sistema nervoso periferico che centrale. Le carenze di solfatide possono portare a debolezza muscolare, tremori e atassia (Honke, 2013), che sono sintomi comuni della GBS. La neuroinfiammazione cronica mediata dalla microglia e dagli astrociti nel cervello porta a drammatiche perdite di solfatide cerebrale, e le carenze cerebrali di solfatide sono una delle principali caratteristiche della malattia di Alzheimer (Qiu et al., 2021). I topi con un difetto nella capacità di sintetizzare il solfatide dalla ceramide mostrano una ridotta capacità di mantenere la salute degli assoni con l'età. Nel corso del tempo sviluppano guaine mieliniche ridondanti, non compatte e degeneranti, nonché una struttura deteriorata nei nodi di Ranvier negli assoni, causando la perdita di una giunzione assogliale funzionalmente competente (Marcus et al., 2006). L'angiotensina II (Ang II), oltre ai suoi profondi effetti sulla malattia cardiovascolare, gioca anche un ruolo nell'infiammazione nel cervello che porta alla malattia neurodegenerativa (Lanz. et al., 2010). La glicoproteina spike della SARS-CoV-2 contiene un unico sito di scissione della furina che non si trova nella SARS-CoV, che permette all'enzima extracellulare furina di staccare il segmento S1 della glicoproteina spike e rilasciarlo in circolo (Letarov et al., 2021). È stato dimostrato che S1 attraversa la barriera emato-encefalica nei topi (Rhea et al., 2021). S1 contiene il dominio di legame al recettore che si lega ai recettori ACE2, disabilitandoli. Quando la segnalazione del recettore ACE2 è ridotta, la sintesi di Ang II è aumentata. I neuroni nel cervello possiedono recettori ACE2 che sarebbero suscettibili di essere interrotti da S1 rilasciato da esosomi contenenti glicoproteina spike o da cellule produttrici di glicoproteina spike che avevano preso le nano particelle nei vaccini. Ang II aumenta la segnalazione TLR4-mediata nella microglia, inducendo l'attivazione microgliale e aumentando la produzione di specie reattive dell'ossigeno portando al danno tissutale, all'interno del nucleo paraventricolare nel cervello (Rodriguez-Perez et al., 2015).

Livelli elevati di Ang II sono un fattore causale nella neurodegenerazione del nervo ottico, causando neurite ottica, che può provocare una grave perdita visiva irreversibile (Guo et al., 2017). Molteplici segnalazioni di casi hanno descritto casi di neuropatia ottica apparsi poco dopo la vaccinazione mRNA per COVID-19 (Maleki, 2021; Barone et al., 2021). Altre patologie neurologiche debilitanti stanno comparando anche poco dopo la vaccinazione, e si sospetta una relazione causale. Uno studio di casi basato in Europa che segue i sintomi neurologici dopo la vaccinazione COVID-19 ha identificato 21 casi che si sviluppano entro una media di 11 giorni dopo la vaccinazione. I casi avevano diverse diagnosi, tra cui trombosi del seno venoso cerebrale, malattie demielinizzanti del sistema nervoso, neuropatie periferiche infiammatorie, miosite, miastenia, encefalite limbica e arterite a cellule giganti (Kaulen et al., 2021).

Khayat-Khoei et al. (2021) descrivono una serie di casi di 7 pazienti, di età compresa tra 24 e 64 anni, che presentano una malattia demielinizzante entro 21 giorni da una prima o seconda vaccinazione mRNA. Quattro avevano una storia precedente di SM (controllata), mentre tre erano precedentemente sani.

Anche la perdita dell'udito e l'acufene sono effetti collaterali ben noti di COVID-19. Un caso di studio ha coinvolto una serie di dieci pazienti di COVID-19 che soffrivano di sintomi audiovestibolari come la perdita dell'udito, disfunzioni vestibolari e acufeni (Jeong et al., 2021). Gli autori hanno dimostrato che il tessuto dell'orecchio interno umano esprime ACE2, furina e la serina proteasi trans membrana 2 (TMPRSS2), che facilita l'ingresso del virus. Hanno anche dimostrato che la SARS-CoV-2 può infettare specifici tipi di cellule dell'orecchio interno umano. Un altro studio che valuta il potenziale del virus SARS-CoV-2 di infettare l'orecchio ha esaminato specificamente l'espressione del recettore ACE2 e degli enzimi furina e TM-PRSS2 vari tipi di cellule nell'orecchio medio e interno dei topi. Hanno trovato che ACE2 e la furina erano "diffusamente presenti nella tuba di Eustachio, negli spazi dell'orecchio medio e nella coclea, suggerendo che questi tessuti sono suscettibili all'infezione da SARS-CoV-2." (Uranaka et al., 2021). L'acufene è positivamente associato all'ipertensione, che è indotta da livelli elevati di Ang II (Rodrigues Figueiredo et al., 2016).

Il mal di testa è una reazione avversa molto comune ai vaccini COVID-19 a mRNA, in particolare per le persone che sono già suscettibili al mal di testa. In uno studio basato su un questionario che ha coinvolto 171 partecipanti, l'incidenza del mal di testa è risultata essere del 20,5% dopo il primo vaccino, salendo al 45,6% dopo la seconda iniezione (Sekiguchi et al., 2021). Un caso di studio ha descritto una donna di 37 anni che soffriva di un attacco di emicrania debilitante durato 11 giorni dopo il secondo vaccino a ccmRNA Pfizer/BioNtech (Consoli et al., 2021). Gli steroidi sono spesso utilizzati come terapia aggiuntiva per trattare l'emicrania (Huang et al., 2013). Il desametasone e altri steroidi stimolano i recettori PPAR- α nel fegato attraverso il recettore steroideo, compensando così gli effetti della soppressione di IRF9 (Lemberger et al., 1994). Una teoria per le origini dell'emicrania coinvolge l'elaborazione alterata di input sensoriali nel tronco encefalico, soprattutto i neuroni del trigemino (Dodick e Silberstein, 2006). Il nervo trigemino è in prossimità del nervo vago nel tronco encefalico, quindi gli esosomi portatori di glicoproteina spike potrebbero facilmente raggiungerlo lungo il percorso vagale. La risonanza magnetica ha rivelato che i cambiamenti strutturali nel nervo trigemino che riflettono una aberrante microstruttura e demielinizzazione sono una caratteristica delle persone che soffrono di frequenti emicranie (Mungoven et al., 2020). Un potenziale fattore legato sia all'infezione da SARS-CoV-2 che alla vaccinazione con mRNA è un livello eccessivo di Ang II nel tronco cerebrale dovuto all'inibizione dei recettori ACE2 da parte della glicoproteina spike della SARS-CoV-2. Gli ACE-inibitori e gli antagonisti dei recettori dell'Ang II sono diventati farmaci popolari per trattare l'emicrania off-label (Tronvik et al., 2003; Nandha e Singh, 2012). L'emicrania potrebbe quindi derivare sia dalle interruzioni della glicoproteina spike dei recettori

ACE2 e la distruzione della guaina mielinica che copre i nervi facciali critici attraverso una risposta infiammatoria microgliale e la perdita di solfatide. La fonte di questa glicoproteina spike potrebbe essere esogena o endogena.

13. Paralisi di Bell

La paralisi di Bell è una comune neuropatia cranica che causa una paralisi facciale unilaterale. Anche negli studi clinici di fase III, la paralisi di Bell si è distinta, con sette casi apparsi nel braccio di trattamento rispetto a uno solo nel gruppo placebo (FDA, 2021a; FDA, 2021b). Un caso di studio riportato in letteratura ha riguardato un uomo di 36 anni che ha sviluppato debolezza nel braccio sinistro un giorno dopo la vaccinazione, progredendo verso intorpidimento e formicolio nel braccio e successivi sintomi di paralisi di Bell nei giorni successivi. Una causa comune della paralisi di Bell è la riattivazione dell'infezione da virus herpes simplex centrata sul ganglio genicolato (Evison et al., 2015). Questo, a sua volta, può essere causato da un'interruzione della segnalazione IFN di tipo I.

14. Miocardite

C'è stata una notevole attenzione dei media sul fatto che i vaccini COVID-19 causano miocardite e pericardite, con un rischio aumentato in particolare per gli uomini di età inferiore ai 50 anni (Simone et al., 2021; Jain et al., 2021). È stato dimostrato che la glicoproteina spike della SARS-CoV-2 ferisce i periciti cardiaci, che sostengono i capillari e i cardiomiociti (Avolio et al., 2020). La miocardite è associata all'attivazione delle piastrine, quindi questo potrebbe essere un fattore in gioco nella risposta ai vaccini (Weikert et al., 2002). Tuttavia, un altro fattore potrebbe essere legato agli esosomi rilasciati dai macrofagi che hanno assunto le nanoparticelle di mRNA, e i microRNA specifici trovati in questi esosomi.

Uno studio che ha interessato pazienti affetti da una grave malattia COVID-19 ha esaminato specificamente l'espressione dei microRNA circolanti rispetto ai pazienti affetti da influenza e ai controlli sani. Un microRNA che è stato costantemente sovraregolato in associazione al COVID-19 è stato miR-155, e gli autori hanno suggerito che potrebbe essere un predittore di danno miocardico cronico e di infiammazione. Al contrario, l'infezione influenzale non è stata associata ad un aumento dell'espressione di miR-155. Essi hanno concluso: "Il nostro studio ha identificato livelli significativamente alterati di miR [microRNA] associati al cuore nei pazienti COVID-19, indicando una forte associazione della COVID-19 con disturbi cardiovascolari e rispettivi biomarcatori" (Garg et al., 2021).

Uno studio che ha confrontato 300 pazienti con malattie cardiovascolari con controlli sani ha mostrato un aumento statisticamente significativo dei livelli circolanti di miR-155 nei pazienti rispetto ai controlli. Inoltre, quelli con arterie più altamente costrittive (secondo un punteggio di Gensini) avevano livelli più alti di quelli con una malattia minore (Qiu e Ma, 2018). È importante notare che gli esosomi svolgono un ruolo nell'infiammazione in associazione alle malattie cardiache. Durante l'infarto miocardico, il miR-155 è fortemente sovraregolato nei macrofagi nel muscolo cardiaco e rilasciato nell'ambiente extracellulare all'interno degli esosomi. Questi esosomi sono consegnati ai fibroblasti, e il miR-155 sottoregola le proteine nei fibroblasti che proteggono dall'infiammazione e promuovono la proliferazione dei fibroblasti. La compromissione risultante porta alla rottura cardiaca (Wang et al., 2017b).

Abbiamo già discusso come il segmento S1 della glicoproteina spike della SARS-CoV-2 possa essere scisso dalla furina e rilasciato in circolo. Si lega ai recettori di ACE2 attraverso il suo dominio di legame al recettore (RBD), e questo inibisce la loro funzione. Poiché ACE2 degrada l'Ang II, la disabilitazione di ACE2 porta direttamente alla sovraespressione di Ang II, aumentando ulteriormente il rischio di malattie cardiovascolari. La vasocostrizione indotta dall'Ang II è un meccanismo indipendente che induce un danno miocardico permanente anche quando non è presente un'ostruzione coronarica. Ripetuti episodi di improvvisa costrizione di un'arteria cardiaca dovuti all'Ang II possono alla fine portare a insufficienza cardiaca o morte improvvisa (Gavras e Gavras, 2002). Sono stati descritti casi fatali di vaccinazione COVID-19 (Choi et al., 2021; Verma et al., 2021).

La soppressione dell'ACE2 era già stata vista in studi sul virus originale della SARS-CoV. Uno studio autoptico su pazienti che soccombevano alla SARS-CoV ha rivelato un ruolo importante dell'inibizione dell'ACE2 nel promuovere il danno cardiaco. L'RNA virale della SARS-CoV è stato rilevato nel 35% dei 20 campioni di cuore umano autopsiati prelevati da pazienti deceduti. C'è stato un marcato aumento dell'infiltrazione dei macrofagi associato al danno miocardico nei pazienti i cui cuori erano infettati dalla SARS-CoV. È importante notare che la presenza di SARS-CoV nel cuore era associata a una marcata riduzione dell'espressione della proteina ACE2 (Oudit et al., 2009).

15. Considerazioni riguardanti il Vaccine Adverse Event Reporting System (VAERS)

Il Vaccine Adverse Event Reporting System (VAERS) della Food and Drug Administration è una risorsa imperfetta ma preziosa per identificare potenziali reazioni avverse ai vaccini. Istituito attraverso la collaborazione tra il CDC e la FDA, VAERS è "un sistema nazionale di allarme rapido per rilevare possibili problemi di sicurezza nei vaccini autorizzati negli Stati Uniti". Secondo il CDC è "particolarmente utile per rilevare modelli insoliti o inaspettati di segnalazione di eventi avversi che potrebbero indicare un possibile problema di sicurezza con un vaccino." (<https://vaers.hhs.gov/about.html>) Anche il CDC riconosce che gli eventi avversi riportati al VAERS rappresentano "solo una piccola frazione degli eventi avversi reali" (Vaers Home, 2021). Un rapporto ampiamente citato ha osservato che meno dell'1% di tutti gli eventi avversi legati ai vaccini sono riportati al VAERS (Lazarus et al., 2010). Questa affermazione, però, non ha alcuna citazione, quindi la base per l'affermazione non è chiara. Rose (2021) ha pubblicato un'analisi molto più sofisticata dei dati VAERS per offrire una stima di sottosegnalazione di un fattore 31 (Rose, 2021). Mentre è impossibile determinare con precisione l'entità della sottosegnalazione, l'evidenza è che la sottosegnalazione caratterizza fortemente i dati VAERS. Le informazioni presentate di seguito dovrebbero essere comprese in questa luce.

Scavando nel VAERS alla ricerca di 'segnali' che potrebbero indicare reazioni avverse (AEs) alle vaccinazioni mRNA, ci accorgiamo che nessuna segnalazione al VAERS stabilisce un nesso causale con la vaccinazione. Detto questo, la possibilità di una relazione causale è rafforzata sia dal percorso causale che abbiamo descritto in questo documento, sia dalla forte associazione temporale tra le iniezioni e gli AE riportati. Quasi il 60% di tutti gli -AEs legati all'iniezione di mRNA sono avvenuti entro 48 ore dall'iniezione (https://medalerts.org/vaersdb/findfield.php?TABLE_ON&GROUP1_ON&EVENTS_ON&VAX_COVID19&VAXTYPES_COVID-19&S_TATE_NOTFR).

Due importanti precauzioni riguardanti l'analisi dei dati VAERS devono essere notate. La prima è che, oltre agli operatori sanitari che presentano i rapporti, VAERS è aperto anche alle presentazioni

pubbliche. I membri del pubblico possono non avere le competenze necessarie per valutare un sintomo in modo appropriato per determinare se merita una voce nel VAERS. Una seconda cautela è che l'accesso pubblico permette anche la possibilità agli attivisti anti-vaccinazione per di popolare VAERS con false segnalazioni per esagerare l'aspetto del rischio AE.

Un'analisi provvisoria dei decessi citati in precedenza ha trovato che i dipendenti del servizio sanitario erano il segnalatore VAERS nel 67% delle segnalazioni analizzate (Nandha e Singh, 2012), suggerendo che una gran parte delle segnalazioni al VAERS sono presentate da professionisti medici e non dal pubblico. Questa constatazione smentisce anche la nozione che gli attivisti anti-vaccinazione stanno presentando un numero eccessivo di segnalazioni eclatanti di lesioni da vaccino. Tutti i dati riportati in questa sezione sono stati ottenuti interrogando la risorsa online, <http://wonder.cdc.gov/vaers.html>. Nel corso dei 31 anni di storia del VAERS fino al 3 febbraio 2022, ci sono stati un totale di 10.321 decessi segnalati come "sintomo" in associazione con qualsiasi vaccino, e 8.241 (80%) di queste morti sono state collegate ai vaccini COVID-19.

È importante notare che solo il 14% dei decessi segnalati da VAERS per COVID-19 a partire da giugno 2021 potrebbe avere la vaccinazione esclusa come causa (McLachlan et al, 2021). Questo suggerisce fortemente che questi vaccini mostrano meccanismi insoliti di tossicità senza precedenti che vanno ben oltre quello che si vede con vaccini più tradizionali. Abbiamo deciso che un modo ragionevole per caratterizzare il significato di eventi avversi legati ai vaccini COVID-19 era quello di concentrarsi sugli eventi ricevuti nell'anno 2021, e di confrontare i conteggi nel campo "SINTOMO" per gli eventi associati ai vaccini COVID-19 al totale conteggi per quello stesso sintomo per tutti i vaccini in quello stesso anno. In totale, ci sono stati 737.689 eventi riportati in VAERS per i vaccini COVID-19 nel 2021, che rappresenta uno scioccante 93% del totale dei casi segnalati per qualsiasi vaccino in quello stesso anno. Mentre riconosciamo che alcuni vaccini COVID-19 sono basati sulla tecnologia del vettore DNA piuttosto che tecnologia mRNA, questa classe (cioè il vaccino Johnson & Johnson) rappresenta meno del 9% dei rapporti COVID-19, e il suo profilo di reazione è sicuramente molto più simile a quello dei vaccini mRNA che a quello di tutti gli altri vaccini.

Il numero totale di segnalazioni di eventi avversi per le iniezioni di COVID-19 è di gran lunga superiore al numero cumulativo di segnalazioni di eventi avversi da vaccino annuali combinati in tutti gli anni precedenti, come mostrato da Rose (2021). Il vaccino antinfluenzale è un buon termine di paragone. Dato che il protocollo per i vaccini mRNA richiede due dosi, e che molti sono stati convinti a ricevere anche un richiamo, è chiaro che il numero totale di vaccini COVID-19 somministrati è grande rispetto ad altri vaccini. Possiamo effettivamente stimare quale percentuale delle reazioni avverse nel 2021 dovrebbe essere associata ai vaccini COVID-19 se la probabilità di una reazione avversa fosse simile a quella del vaccino influenzale. Il CDC ci dice che il 52% della popolazione statunitense ha ricevuto un vaccino antinfluenzale nel 2021. Il sito USAFacts fornisce percentuali della popolazione statunitense che ha ricevuto una, due o tre dosi di vaccini COVID-19 in funzione del tempo (vedi: <https://usafacts.org/visualizations/covid-vaccine-tracker-states/>). I numeri che riportano per il 30 dicembre 2021 sono 73% a dose singola, 62% completamente vaccinati, e 21% con richiamo. Questo corrisponde al 156% della popolazione come numero totale di vaccini COVID-19 somministrati. Questo è esattamente il triplo dei vaccini COVID rispetto ai vaccini antinfluenzali.

Dal VAERS, si può facilmente ottenere il numero totale di reazioni avverse associate ai vaccini COVID-19, il numero totale associato ai vaccini antinfluenzali e il numero totale associato a tutti i vaccini, per i dati VAERS limitati agli Stati Uniti dal 2021. Questi vengono fuori come: COVID-19: 737.587, FLU: 9.124, e ALL: 792,935. In primo luogo, possiamo osservare che il 93% di tutti gli eventi riportati erano legati ai vaccini COVID-19. Se rimuoviamo i conteggi per il COVID-19 e li

sostituiamo con tre volte i conteggi per l'influenza (dato che i vaccini COVID-19 sono stati somministrati tre volte più spesso), troviamo che il COVID-19 avrebbe dovuto rappresentare il 32,6% di tutti gli eventi, che può essere confrontato con il risultato effettivo, che è del 93%. Possiamo anche concludere che qualsiasi evento che si presenta con una frequenza superiore al 93% per i vaccini COVID-19 e per tutti gli altri vaccini è particolarmente significativo come potenziale effetto tossico di questi vaccini. Infine, troviamo che ci sono 27 volte più segnalazioni per i vaccini COVID-19 di quanto ci si aspetterebbe se le sue reazioni avverse fossero paragonabili a quelle del vaccino antinfluenzale.

Tabella 1

Numero di sintomi riportati nel VAERS, limitatamente alla popolazione statunitense, per l'anno 2021, per vari effetti avversi che potrebbero essere causati da infiammazione nei nervi principali associati, mostrando i conteggi totali per i vaccini COVID-19 e per tutti i vaccini.

Sintomo	Nervo/i infiammato/i	Vaccini Covid-19	Tutti i Vaccini	Percentuale COVID-19
Anosmia	nervo olfattivo	3657	3677	99,5
Tinnito	nervo vestibolo-cocleare	13,275	13,522	98.2
Sordità	coclea	2.895	3.033	95,5
Paralisi di Bell/ paralisi facciale	nervo facciale	5.881	6.129	96,0
Vertigini	nervo vestibolare	7.638	7.819	97,7
Emicrania mal di testa	nervo trigemino	8.872	9.059	97,9
Disfonia	nervo glossofaringeo	1,692	1,751	96.6
Disfagia	diversi nervi cranici inferiori	4,711	4,835	97.4
Nausea	nervo vago	69.121	71.275	97,0
Vomito	nervo vago	27.885	28.955	96,3
Dispnea	nervo vago	39.551	40.387	97,9
Sincope	nervo vago	14.701	15.268	96,3
Bradycardia	nervo vago			

TOTALE	-	673	699	96,3
		200.552	206.409	97,2

15.1. Dati VAERS indicativi di danni ai nervi e al coinvolgimento del nervo vago

La tabella 1 elenca una serie di sintomi nel VAERS che possono essere associati con l'infiammazione o il danneggiamento di vari nervi principali del corpo, in particolare quelli cranici. Sorprendentemente, i vaccini COVID-19 hanno rappresentato dal 96 al 98% delle segnalazioni nell'anno 2021 relative a ciascuna di queste condizioni debilitanti. Ci sono stati quasi 100.000 casi di nausea o vomito, che sono sintomi comuni di stimolazione o danno del nervo vago (Babic e Browning, 2014). 14.701 casi di sincope legati a vaccini COVID-19 hanno rappresentato il 96.3% di tutti i casi di sincope, una caratteristica ben stabilita di disfunzione del nervo vago (Fenton et al., 2000). Ci sono stati 3.657 casi di anosmia (perdita dell'olfatto), dimostrando chiaramente che la glicoproteina spike della SARS-CoV-2 dall'iniezione nel braccio raggiungeva il nervo olfattivo. La dispnea (mancanza di respiro) è legata alla compromissione del nervo vago nei polmoni, e ci sono stati 39.551 casi di dispnea collegati ai vaccini COVID-19 nel 2021. Complessivamente, questi eventi sommano un totale di oltre 200.000 eventi, che rappresentano il 97,2% di tutte le voci legate a qualsiasi vaccino nel 2021. Questo è anche un sostanziale 27,2% di tutti gli eventi elencati per il 2021 in associazione con i vaccini COVID-19.

15.2 Dati VAERS su cuore e fegato

In questo documento, abbiamo identificato sia il cuore che il fegato come organi che possono essere interessati dai vaccini mRNA. Il database VAERS mostra un forte segnale per entrambi gli organi. La tabella 2 mostra le statistiche per il 2021 sui principali disturbi del cuore, tra cui miocardite, arresto (cardiaco, cardiorespiratorio e arresto sinusale), aritmia (tra cui sopraventricolare, nodale, sinusale, tachiaritmia e aritmia ventricolare), infarto miocardico (tra cui acuto e silenzioso), e insufficienza cardiaca (tra cui acuta, cronica e congestizia). Complessivamente, ci sono stati un totale di 8.090 eventi COVID-19 legati a queste condizioni cardiache, che rappresentano quasi il 98% di tutti gli eventi per tutti i vaccini per questi sintomi nel 2021.

È difficile trovare tutti i sintomi associati a danni al fegato nel VAERS, ma ne abbiamo selezionato un certo numero che aveva conteggi abbastanza alti da essere interessanti e che chiaramente rappresentano gravi problemi al fegato. Complessivamente ci sono stati 731 eventi in queste categorie per i vaccini COVID-19, come mostrato nella Tabella 3, che rappresenta oltre il 97% di tutti i casi che collegano queste condizioni a qualsiasi vaccino nel 2021.

15.3 Dati VAERS relativi alla trombosi

Ci sono stati 78 sintomi unici in VAERS che coinvolgono la trombosi, specificando diverse arterie e vene. La tabella 4 mostra i nove sintomi con i conteggi più alti, per un totale di 7.356 eventi. Abbiamo

studiato l'intervallo di tempo per i tre dominanti (trombosi, trombosi venosa profonda e trombosi polmonare), e abbiamo scoperto che tutti questi hanno un picco acuto nell'intervallo di 15-30 giorni per l'inizio (tempo dopo la vaccinazione). Questo coincide con un forte picco nell'embolia polmonare, una condizione pericolosa per la vita, anche nell'intervallo di tempo 15-30 giorni. Nel complesso, per questi nove sintomi trombotici, un campionamento casuale dall'anno 2021 produrrebbe un vaccino COVID rispetto a qualsiasi altro vaccino il 98,7% del tempo. L'embolia polmonare, una condizione pericolosa per la vita che può essere causata da un coagulo di sangue che viaggia verso i polmoni, ha una probabilità leggermente più alta del 98,8%, con 3.100 casi elencati per COVID-19.

Tabella 2

Numero di sintomi riportati nel VAERS, limitatamente alla popolazione statunitense, per l'anno 2021, per vari disturbi del cuore, mostrando i conteggi totali per i vaccini COVID-19 e per tutti i vaccini.

Sintomo	Vaccini Covid-19	Tutti i vaccini	Percentuale COVID-19
Miocardite	2322	2361	98,3
Arresto	1.319	1.371	96,2
Aritmia	1.069	1.087	98,3
Infarto miocardico	2.224	2.272	97,9
Insufficienza cardiaca	1.156	1.190	97,1
TOTALE	8.090	8.281	97,7

Tabella 3

Numero di sintomi riportati nel VAERS, limitatamente alla popolazione statunitense, per l'anno 2021, per vari indicatori di malattia epatica, mostrando i conteggi totali per i vaccini COVID-19 e per tutti i vaccini.

Sintomo	Vaccini Covid-19	Tutti i Vaccini	Percentuale COVID-19
Disturbo del fegato	83	87	95,4
Danno al fegato [indotti da farmaci]	65	65	100

Insufficienza epatica [acuta]	86	88	97,7
Cancro epatico [metastatico]	12	12	100
Cirrosi epatica	67	69	97.1
Cisti epatica	33	34	97,0
Test di funzionalità epatica aumentata	238	245	97.1
Test di funzionalità epatica anormale	90	94	95.7
Funzione epatica anormale	34	34	100
Emangioma del fegato			
Ascesso epatico	10	10	100
Trapianto di fegato	7	7	100
TOTALE	6	6	100
	731	751	97,3

Tabella 4

Numero di sintomi riportati nel VAERS, limitatamente alla popolazione statunitense, per l'anno 2021, per vari tipi specifici di trombosi, mostrando i conteggi totali per i vaccini COVID-19 e per tutti i vaccini. Viene mostrata anche l'embolia polmonare, un sintomo altamente correlato.

Sintomo	Vaccini Covid-19	Tutti i Vaccini	Percentuale COVID-19
Trombosi	3899	3951	98,7
Trombosi venosa profonda	2.275	2.297	99,0
Trombosi polmonare	631	646	97,7
Trombosi cerebrale	211	215	98,1
Trombosi della vena porta	89	90	98,9
Trombosi venosa superficiale	81	81	100
Trombosi arteriosa periferica	74	74	100
Trombosi venosa mesenterica	55	56	98.2
Trombosi venosa	41	41	100
TOTALE	7.356	7.451	98,7

Embolia polmonare	3.100	3.137	98,8
--------------------------	--------------	--------------	-------------

Tabella 5

Numero di sintomi riportati nel VAERS, limitatamente alla popolazione statunitense, per l'anno 2021, per vari disturbi legati a malattie neurodegenerative, mostrando i conteggi totali per i vaccini COVID-19 e per tutti i vaccini.

Sintomo	Vaccini Covid-19	Tutti i vaccini	Percentuale COVID-19
Morbo di Alzheimer	37	39	94,09
Sintomi parkinsoniani	83	89	93.3
Disturbo della memoria	1.681	1,720	97.7
Anosmia	3,657	3,677	99.5
Mobilità diminuita	8,975	9,743	92.1
Disturbo cognitivo	779	815	92.1
TOTALE	15,212	16,083	94.6

15.4 Dati VAERS relativi a malattie neurodegenerative

La tabella 5 elenca i risultati per diverse condizioni che sono collegate a malattie neurodegenerative. La diminuzione della mobilità può essere causata dal morbo di Parkinson, e ci sono stati ben 8.975 casi elencati per il 2021 e i vaccini COVID-19. L'Alzheimer e il Parkinson sono malattie che normalmente impiegano decenni per svilupparsi, e normalmente si supporrebbe che un vaccino non abbia nulla a che fare con esse. Mentre i numeri sono piccoli, la maggior parte dei casi nel VAERS sono stati collegati ai vaccini COVID-19. L'anosmia, inclusa anche nella tabella sul nervo vago, è particolarmente interessante, perché è un noto segno precoce della malattia di Parkinson, ed è anche una caratteristica ben identificata dell'infezione da SARS-CoV-2. Il 99,5% dei casi con l'anosmia come sintomo erano legati ai vaccini COVID-19. Nel complesso, i sintomi in questa tabella sono stati collegati ai vaccini COVID-19 quasi il 95% delle volte.

15.5 Segnale del VAERS per il cancro

Il cancro è una malattia generalmente intesa che richiede mesi o, più comunemente, anni per progredire da una trasformazione maligna iniziale in una cellula allo sviluppo di una condizione clinicamente riconosciuta. Dal momento che le segnalazioni VAERS di eventi avversi avvengono principalmente entro il primo mese o addirittura i primi giorni dopo la vaccinazione (Rose, 2021), sembra probabile che l'accelerazione della progressione del cancro in seguito ai vaccini sarebbe un segnale difficile da riconoscere. Inoltre, la maggior parte delle persone non si aspetta che il cancro sia un evento avverso che potrebbe essere causato da un vaccino, e quindi non riescono a inserire una segnalazione quando il cancro si sviluppa poco dopo la vaccinazione. Tuttavia, come abbiamo delineato nel nostro articolo, se le vaccinazioni mRNA stanno portando ad una diffusa disregolazione dei controlli degli oncogeni, della regolazione del ciclo cellulare e dell'apoptosi, allora le segnalazioni VAERS dovrebbero riflettere un aumento delle segnalazioni di cancro, rispetto agli altri vaccini, anche se i numeri sono piccoli. L'esperimento che dimostra la compromissione dei meccanismi di riparazione del DNA da parte della proteina spike della SARS-CoV-2 in uno studio in vitro fornisce la prova convincente che i vaccini potrebbero accelerare il tasso di mutazioni del DNA, aumentando il rischio di cancro (Jiang e Mei, 2021). Per la nostra analisi delle prove di aumento del rischio di cancro nel VAERS, ci concentriamo su due approcci un po' distinti. Uno, rappresentato dai risultati nella tabella 6, è stato quello di raccogliere i conteggi per tutti i termini che contenevano parole chiave chiaramente legate al cancro, vale a dire "cancro", "linfoma", "leucemia", "metastasi", "carcinoma" e "neoplasia". Nel complesso, abbiamo trovato 1.474 voci che collegano questi termini ai vaccini COVID-19, che rappresentano il 96% di tutte le voci per uno qualsiasi di questi termini per qualsiasi vaccino in quell'anno.

L'approccio complementare è stato quello di trovare termini che coinvolgono il cancro in organi specifici, vale a dire, seno, prostata, vescica, colon, cervello, polmoni, pancreas e ovaie, come mostrato nella tabella 7. Anche se tutti i numeri sono piccoli, il più alto di gran lunga è stato per il cancro al seno (246 casi), con quasi quattro volte tanto rispetto al cancro ai polmoni, il secondo tipo più comune. Tutti i casi di cancro al pancreas, alle ovaie e alla vescica erano legati ai vaccini COVID-19, con zero casi per qualsiasi altro vaccino. Complessivamente, abbiamo tabulato 534 casi di cancro di organi specifici legati ai vaccini COVID-19, che rappresentano il 97,3% di tutti i casi per qualsiasi vaccino nel 2021.

Tabella 6

Numero di sintomi riportati nel VAERS, limitatamente alla popolazione statunitense, per l'anno 2021, per vari termini legati al cancro, mostrando i conteggi totali per i vaccini COVID-19 e per tutti i vaccini.

Sintomo	Conteggio dei vaccini COVID-19	Conteggio di tutti i vaccini	Percentuale COVID-19
Cancro	396	403	98,3
Linfoma	144	153	94,1
Leucemia	155	161	96,3
Metastatico/metastasi	175	179	97,8

Carcinoma	176	187	94,1
Neoplasia	428	452	94,7
TOTALE	1.474	1.535	96,0

Tabella 7

Numero di sintomi riportati nel VAERS, limitatamente alla popolazione statunitense, per l'anno 2021, per il cancro di organi specifici, mostrando i conteggi totali per i vaccini COVID-19 e per tutti i vaccini.

Sintomo	Conteggi vaccini COVID-19	Conteggi Tutti i vaccini	Percentuale COVID-19
Cancro al seno	246	254	96,8
Cancro alla prostata	50	52	96,2
Cancro alla vescica	30	30	100
Cancro al colon	40	41	97,6
Neoplasia del cervello	53	55	96,4
Cancro al polmone	64	66	97,0
Cancro al pancreas	24	24	100
Cancro alle ovaie	27	27	100
Totale	534	549	97,3

16. Conclusioni

C'è stato un messaggio incrollabile sulla sicurezza e l'efficacia delle vaccinazioni mRNA contro la SARS-CoV-2 da parte dell'apparato di salute pubblica negli Stati Uniti e in tutto il mondo. L'efficacia è sempre più in dubbio, come dimostra una recente lettera di Günter Kampf (2021b) al Lancet Regional Health. Kampf ha fornito dati che mostrano che i vaccinati hanno ora la stessa probabilità dei non vaccinati di diffondere la malattia. Ha concluso: "Sembra essere gravemente negligente ignorare la popolazione vaccinata come una possibile e rilevante fonte di trasmissione quando si decidono le misure di controllo della salute pubblica". Inoltre, l'inadeguatezza degli studi di fase I, II e III per valutare gli effetti collaterali a medio e lungo termine dei vaccini genetici mRNA può essere stata fuorviante sul loro impatto soppressivo sull'immunità innata dei vaccinati.

In questo articolo, richiamiamo l'attenzione su tre aspetti molto importanti del profilo di sicurezza di queste vaccinazioni. Il primo è il sovvertimento ampiamente documentato dell'immunità innata, principalmente attraverso la soppressione di IFN- α e la sua cascata di segnalazione associata. Questa soppressione avrà una vasta gamma di conseguenze, non ultima delle quali la riattivazione di infezioni virali latenti e la ridotta capacità di combattere efficacemente le infezioni future. In secondo luogo, la disregolazione del sistema di prevenzione e rilevamento delle trasformazioni maligne geneticamente guidate all'interno delle cellule e il conseguente potenziale della vaccinazione di promuovere tali trasformazioni. In terzo luogo, la vaccinazione con mRNA potenzialmente interrompe la comunicazione intracellulare effettuata dagli esosomi e induce le cellule che assumono mRNA di glicoproteina spike a produrre alti livelli di esosomi portatori di glicoproteina spike, con conseguenze infiammatorie potenzialmente gravi. Se uno di questi potenziali dovesse realizzarsi pienamente, l'impatto su miliardi di persone in tutto il mondo potrebbe essere enorme e potrebbe contribuire al carico di malattie a breve e lungo termine che il nostro sistema sanitario deve affrontare.

Data l'attuale rapida espansione in consapevolezza dei molteplici ruoli dei G4 nella regolazione della traduzione dell'mRNA e della clearance attraverso i granuli di stress, l'aumento dei pG4 dovuto all'arricchimento del contenuto di GC come conseguenza dell'ottimizzazione dei codoni ha conseguenze sconosciute ma probabilmente di vasta portata. Una valutazione analitica specifica della sicurezza di queste strutture nei vaccini è urgentemente necessaria, compresa la spettrometria di massa per l'identificazione dell'espressione criptica e studi di immunoprecipitazione per valutare il potenziale di disturbo o interferenza con le attività essenziali delle proteine leganti l'RNA e il DNA.

È essenziale che vengano condotti ulteriori studi per determinare la portata delle potenziali conseguenze patologiche descritte in questo documento. Non è pratico che queste vaccinazioni siano considerate parte di una campagna di salute pubblica senza un'analisi dettagliata dell'impatto umano del potenziale danno collaterale. Il VAERS e altri sistemi di monitoraggio dovrebbero essere ottimizzati per rilevare i segnali relativi alle conseguenze sulla salute della vaccinazione mRNA che abbiamo delineato. Crediamo che il sistema di monitoraggio VAERS aggiornato descritto nello studio di Harvard Pilgrim Health Care, Inc., ma purtroppo non supportato dal CDC, sarebbe un prezioso inizio a questo proposito (Lazarus et al., 2010).

Alla fine, miliardi di vite sono potenzialmente a rischio, dato il grande numero di individui iniettati con i vaccini mRNA della SARS-CoV-2 e l'ampia gamma di esiti avversi che abbiamo descritto. Facciamo appello alle istituzioni sanitarie pubbliche perché dimostrino, con le prove, perché le questioni discusse in questo documento non sono rilevanti per la salute pubblica, o a riconoscere che lo sono e agire di conseguenza. Inoltre, noi incoraggiamo tutti gli individui a prendere le proprie decisioni di assistenza sanitaria con queste informazioni come un fattore che contribuisce a tali decisioni.

Contributi degli autori

S.S., G.N e A.K. hanno tutti contribuito sostanzialmente alla stesura della bozza originale. P.M. ha partecipato al processo di revisione editoriale.

Finanziamento

Questa ricerca è stata finanziata in parte da Quanta Computers, Inc., Taipei, Taiwan, sotto gli auspici del progetto Qmulus.

Dichiarazione di interesse concorrente

Gli autori dichiarano di non avere interessi finanziari concorrenti noti o relazioni personali che avrebbero potuto influenzare il lavoro riportato in questo articolo.

Riferimenti

- Abe, M., Bonini, N.M., 2013. MicroRNAs and neurodegeneration: role and impact. *Trends Cell Biol.* 23 (1), 30–36. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2012.08.013>.
- Agashe, D., Martinez-Gomez, N.C., Drummond, D.A., Marx, C.J., 2013. Good codons, bad transcript: large reductions in gene expression and fitness arising from synonymous mutations in a key enzyme. *Mol. Biol. Evol.* 30, 549–560. <https://doi.org/10.1093/molbev/mss273>.
- Akiyama, H., Kakiuchi, S., Rikitake, J., Matsuba, H., Sekinada, D., Kozuki, Y., Iwata, N., 2021. Immune thrombocytopenia associated with Pfizer-BioNTech's BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine. *IDCases* 25, e01245. <https://doi.org/10.1016/j.idcr.2021.e01245>.
- Al-Khalaf, H.H., Aboussekhra, A., 2018. p16 controls p53 protein expression through miR-dependent destabilization of MDM2. *Mol. Cancer Res.* 16 (8), 1299–1308. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-18-0017>.
- Alsamman, K., El-Masry, O.S., 2018. Interferon regulatory factor 1 inactivation in human cancer. *Biosci. Rep.* 38 (3), BSR20171672 <https://doi.org/10.1042/BSR20171672>, 2018.
- Andries, O., Mc Cafferty, S., De Smedt, S.C., Weiss, R., Sanders, N.N., Kitada, T., 2015. N1-methylpseudouridine-incorporated mRNA outperforms pseudouridine-incorporated mRNA by providing enhanced protein expression and reduced immunogenicity in mammalian cell lines and mice. *J. Contr. Release* 217, 337–344. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.08.051>.
- Asmana Ningrum, R., 2014. Human interferon α -2b: a therapeutic protein for cancer treatment. *Sci. Tech. Rep.*, 970315 <https://doi.org/10.1155/2014/970315>, 2014.
- Atoui, A., Jarrah, K., Al Mahmasani, L., Bou-Fakhredin, R., Taher, A.T., 2022. Deep venous thrombosis and pulmonary embolism after COVID-19 mRNA vaccination. *Ann. Hematol.* 1–3. <https://doi.org/10.1007/s00277-021-04743-1> [Epub ahead ofprint].
- Avolio, E., Gamez, M., Gupta, K., Foster, R., Berger, I., Caputo, M., Davidson, A., Hill, B., Madeddu, P., 2020. The SARS-CoV-2 spike protein disrupts the cooperative function of human cardiac pericytes - endothelial cells through CD147 receptor-mediated signalling: a potential non-infective mechanism of COVID-19 microvascular disease. *bioRxiv preprint*. <https://doi.org/10.1101/2020.12.21.423721>. December 21.
- Babendure, J.R., Babendure, J.L., Ding, J.H., Tsien, R.Y., 2006. Control of mammalian translation by mRNA structure near caps. *RNA* 12 (5), 851–861. <https://doi.org/10.1261/rna.2309906>.
- Babic, T., Browning, K.N., 2014. The role of vagal neurocircuits in the regulation of nausea and vomiting. *Eur. J. Pharmacol.* 722, 38–47. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.08.047>.
- Bahl, K., Senn, J.J., Yuzhakov, O., Bulychev, A., Brito, L.A., Hassett, K.J., Laska, M.E., Smith, M., Almarsson, O., Thompson, J., et al., 2017. Preclinical and clinical demonstration of immunogenicity by mRNA vaccines against H10N8 and H7N9 influenza viruses. *Mol. Ther.* 25 (6), 1316–1327. <https://doi.org/10.1016/j.ymth.2017.03.035>.
- Bansal, S., Perincheri, S., Fleming, T., Poulson, C., Tiffany, B., Bremner, R.M., Mohanakumar, T., 2021. Cutting edge: circulating exosomes with COVID spike protein are induced by BNT162b2 (PfizerBioN-Tech) vaccination prior to development of antibodies: a novel mechanism for immune activation by mRNA vaccines. *J. Immunol.* 207 (10), 2405–2410. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.2100637>.
- Barone, V., Camilli, F., Crisci, M., Scandellari, C., Barboni, P., Lugaresia, A., 2021.

Inflammatory optic neuropathy following SARS-CoV-2 mRNA vaccine: description of two cases. *J. Neurol. Sci.* 429, 118186. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2021.118186>.

Bezzi, G., Piga, E.J., Binolfi, A., Armas, P., 2021. CNBP binds and unfolds in vitro G-quadruplexes formed in the SARS-CoV-2 positive and negative genome strands. *Int.J. Mol. Sci.* 22 (5), 2614. <https://doi.org/10.3390/ijms22052614>.

Bhurani, V., Mohankrishnan, A., Morrot, A., Dalai, S.K., 2018. Developing effective vaccines: cues from natural infection. *Int. Rev. Immunol.* 37 (5), 249–265. <https://doi.org/10.1080/08830185.2018.1471479>.

Bidwell, B.N., Slaney, C.Y., Withana, N.P., Forster, S., Cao, Y., Loi, S., Andrews, D., Mikeska, T., Mangan, N.E., Samarajiwa, S.A., et al., 2012. Silencing of Irf7 pathways in breast cancer cells promotes bone metastasis through immune escape. *Nat. Med.* 18 (8), 1224–1231. <https://doi.org/10.1038/nm.2830>.

Blanco-Melo, D., Nilsson-Payant, B.E., Liu, W.C., Uhl, S., Hoagland, D., Møller, R., Jordan, T.X., Oishi, K., Panis, M., Sachs, D., et al., 2020. Imbalanced host response to SARS-CoV-2 drives development of COVID-19. *Cell* 181 (5), 1036–1045 e9.

Borbolis, F., Syntichaki, P., 2015. Cytoplasmic mRNA turnover and ageing. *Mech. Ageing Dev.* 152, 32–42. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2015.09.006>.

Brosh-Nissimov, T., Orenbuch-Harroch, E., Chowers, M., Elbaz, M., Nesher, L., Stein, M., Maor, Y., Cohen, R., Hussein, K., Weinberger, M., et al., 2021. BNT162b2 vaccine breakthrough: clinical characteristics of 152 fully vaccinated hospitalized COVID-19 patients in Israel. *Clin. Microbiol. Infect.* 27 (11), 1652–1657. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.06.036>.

Buckley, N.E., Hosey, A.M., Gorski, J.J., Purcell, J.W., Mulligan, J.M., Harkin, D.P., Mullan, P.B., 2007. BRCA1 regulates IFN- γ signaling through a mechanism involving the type I IFNs. *Mol. Cancer Res.* 5 (3), 261–270. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-06-0250>. Cancer risk and BRCA1 gene mutations. Available at: <https://www.facingourrisk.org/info/hereditary-cancer-and-genetic-testing/hereditary-cancer-genes-and-risk/genes-by-name/brca1/cancer-risk-> (Accessed 27 November 2021).

Centers for Disease Control and Prevention, 2021a. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) [online] Available at: https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/science/science-briefs/vaccine-induced-immunity.html#anchor_1635540449320. (Accessed 28 November 2021).

Centers for Disease Control and Prevention, 2021b. COVID-19 Booster Shot [online] Available at: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/vaccines/booster-shot.html>. (Accessed 28 November 2021).

Chahar, H.S., Bao, X., Casola, A., 2015. Exosomes and their role in the life cycle and pathogenesis of RNA viruses. *Viruses* 7, 3204–3225. <https://doi.org/10.3390/v7062770>.

Chan, K.L., Peng, B., Umar, M.I., Chan, C.Y., Sahakyan, A.B., Le, M.T.N., Kwok, C.K., 2018. Structural analysis reveals the formation and role of RNA G-quadruplex structures in human mature microRNAs. *Chem. Commun.* 54 (77), 10878–10881. <https://doi.org/10.1039/c8cc04635b>.

Chaudhary, N., Weissman, D., Whitehead, K.A., 2021. mRNA vaccines for infectious diseases: principles, delivery and clinical translation. *Nat. Rev. Drug Discov.* 20, 817–838. <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00283-5>.

Chauvineau-Grenier, A., Bastard, P., Servajean, A., Gervais, A., Rosain, J., Jouanguy, E., Cobat, A., Casanova, J.-L., Rossi, B., 2022. Autoantibodies neutralizing type I interferons in 20% of COVID-19 deaths in a French hospital. *January J. Clin. Immunol.* 27. <https://doi.org/10.1007/s10875-021-01203-3> [Epub ahead of print].

Choi, H.S., Lee, H.M., Jang, Y.-J., Kim, C.-H., Ryua, C.J., 2013. Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1 regulates the self-renewal and pluripotency of human embryonic stem cells via the control of the G1/S transition. *Stem Cell.* 31, 2647–2658. <https://doi.org/10.1002/stem.1366>.

Choi, Y.E., Pan, Y., Park, E., Konstantinopoulos, P., De, S., D'Andrea, A., Chowdhury, D., 2014. MicroRNAs downregulate homologous recombination in the G1 phase of cycling cells to maintain genomic stability. *Elife* 3, e02445. <https://doi.org/10.7554/eLife.02445>.

Choi, S., Lee, S., Seo, J.-W., Kim, M.-J., Jeon, Y.H., Park, J.H., Lee, J.K., Yeo, N.S., 2021. Myocarditis-induced sudden death after BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccination in Korea: case report focusing on histopathological findings. *J. Kor. Med. Sci.* 36 (40), e286. <https://doi.org/10.3346/jkms.2021.36.e286>.

Cines, D.B., Bussell, J.B., 2021. SARS-CoV-2 vaccine-induced immune thrombotic thrombocytopenia. *N. Engl. J. Med.* 384, 2254–2256. <https://doi.org/10.1056/NEJMe2106315>.

Collier, D.A., De Marco, A., Ferreira, I.A.T.M., Meng, B., Datir, R.P., Walls, A.C., et al., 2021. Sensitivity of SARS-CoV-2 B.1.1.7 to mRNA vaccine-elicited antibodies. *Nature* 593, 136–141. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03412-7>.

Consoli, S., Dono, F., Evangelista, G., D'Apolito, M., Travaglini, D., Onofri, M., Bonanni, L., 2021. Status migrainosus: a potential adverse reaction to Comirnaty (BNT162b2, BioNtech/Pfizer) COVID-19 vaccine case report [Epub ahead of print] *Neurol. Sci.* 22, 1–4. <https://doi.org/10.1007/s10072-021-05741-x>.

Nov. Cr'eange, A., 2000. A role for interferon-beta in Guillain-Barr'e Syndrome? *BioDrugs* 14 (1), 1–11. <https://doi.org/10.2165/00063030-200014010-00001>.

Crow, A.R., Lazarus, A.H., 2003. Role of Fcγ receptors in the pathogenesis and treatment of idiopathic thrombocytopenic purpura. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 25 (Suppl. 1), S14S18. <https://doi.org/10.1097/00043426-200312001-00004>.

Danese, E., Montagnana, M., Salvagno, G.L., Peserico, D., Pighi, L., De Nitto, S., Henry, B. M., Porru, S., Lippi, G., 2021. Comprehensive assessment of humoral response after Pfizer BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccination: a three-case series. *Clin. Chem. Lab. Med.* 59 (9), 1585–1591. <https://doi.org/10.1515/cclm-2021-0339>.

De Andrea, M., Ravera, R., Gioia, D., Gariglio, M., Landolfo, S., 2002. The interferon system: an overview. *Eur. J. Paediatr. Neurol.* 6, A41–A46. <https://doi.org/10.1053/ejpn.2002.0573>.

de Beuckelaer, A., Pollard, C., Van Lint, S., Roose, K., Van Hoecke, L.V., Naessens, T., Udhayakumar, V.K., Smet, M., Sanders, N., Lienenklaus, S., et al., 2016. Type I interferons interfere with the capacity of mRNA lipoplex vaccines to elicit cytolytic T cell responses. *Mol. Ther.* 24 (11), 2012–2020. <https://doi.org/10.1038/mt.2016.161>.

de Gonzalo-Calvo, D., Benítez, I.D., Pinilla, L., Carratalá, A., Moncusí-Moix, A., Gort-Paniello, C., Molinero, M., González, J., Torres, G., Bernal, M., et al., 2021. Circulating microRNA profiles predict the severity of COVID-19 in hospitalized patients. *Transl. Res.* 236, 147–159. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2021.05.004>.

De Paolis, V., Loreface, E., Orecchini, E., Carissimi, C., Laudadio, I., Fulci, V., 2021. Epitranscriptomics: a new layer of microRNA regulation in cancer. *Cancers* 13 (13), 3372. <https://doi.org/10.3390/cancers13133372>.

Decker, C.J., Parker, R., 2012. P-bodies and stress granules: possible roles in the control of translation and mRNA degradation. *Cold Spring Harbor Perspect. Biol.* 4 (9), a012286. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012286>.

Delannoy, A.S., Hober, D., Bouzidi, A., Wattré, P., 1999. Role of interferon alpha (IFN-α) and interferon gamma (IFN-γ) in the control of the infection of monocyte-like cells with Human Cytomegalovirus (HCMV). *Microbiol. Immunol.* 43 (12), 1087–1096.

Dodick, D., Silberstein, S., 2006. Central sensitization theory of migraine: clinical implications. *Headache* 46 (Suppl. 4), S18291. <https://doi.org/10.1111/j.1526-4610.2006.00602.x>.

Doulberis, M., Papaefthymiou, A., Kotronis, G., Gialamprinou, D., Soteriades, E.S., Kyriakopoulos, A., et al., 2021. Does COVID-19 vaccination warrant the classical principle "ofelein i mi vlaptin. *Medicina (Kaunas)*. 57 (3), 253. <https://doi.org/10.3390/medicina57030253>.

Dumortiera, J., 2022. Liver injury after mRNA-based SARS-CoV-2 vaccination in a liver transplant recipient. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.* 46, 101743 <https://doi.org/10.1016/j.clinre.2021.101743>.

Dunn, G.P., Bruce, A.T., Sheehan, K.C.F., Shankaran, V., Uppaluri, R., Bui, J.D., Diamond, M.S., Koebel, C.M., Arthur, C., White, J.M., et al., 2005. A critical function for type I interferons in cancer immunoeediting. *Nat. Immunol.* 6 (7), 722–729. <https://doi.org/10.1038/ni1213>.

Erb, H.H., Langlechner, R.V., Moser, P.L., Handle, F., Casneuf, T., Verstraeten, K., Schlick, B., Schäfer, G., Hall, B., Sasser, K., Culig, Z., Santer, F.R., et al., 2013. IL6 sensitizes prostate cancer to the antiproliferative effect of IFNα2 through IRF9. *Endocr. Relat. Cancer* 20 (5), 677. <https://doi.org/10.1530/ERC-13-0222>.

Erman, A.B., Kejner, A.E., Norman, B.S., Hogikyan, D., Feldman, E.L., 2009. Disorders of cranial nerves IX and X. *Semin. Neurol.* 29 (1), 8592. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1124027>.

Eviston, T., Croxson, G.R., Kennedy, P.G.E., Hadlock, T., Krishnan, A.V., 2015. Bell's palsy: aetiology, clinical features and multidisciplinary care. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 86, 13561361. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2014-309563>.

Farazi, T.A., Hoell, J.I., Morozov, P., Tuschl, T., 2013. MicroRNAs in human cancer. *Adv. Exp. Med. Biol.* 774, 1–20. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5590-1_1.

Fathy, R.A., McMahon, D.E., Lee, C., Chamberlin, G.C., Rosenbach, M., Lipoff, J.B., Tyagi, A., Desai, S.R., French, L.E., Lim, H.W., et al., 2022. Varicella-zoster and herpes simplex virus reactivation post-COVID-19 vaccination: a review of 40 cases in an International Dermatology Registry. *JEADV* 36 (1), e6–e9. <https://doi.org/10.1111/jdv.17646>.

Fay, M.M., Lyons, S.M., Ivanov, P., 2017. RNA G-quadruplexes in biology: principles and molecular mechanisms. *J. Mol. Biol.* 429 (14), 2127–2147. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2017.05.017>.

FDA, 2021a. In: Vaccines and Related Biological Products Advisory Committee December 10, 2020 Meeting Announcement. <https://www.fda.gov/advisory-committees/advisory-committee-calendar/vaccines-and-related-biological-products-advisory-committee-december-10-2020-meeting-announcement>. (Accessed 29 March 2021).

FDA, 2021b. In: Vaccines and Related Biological Products Advisory Committee December 17, 2020 Meeting Announcement. <https://www.fda.gov/advisory-committees/advisory-committee-calendar/vaccines-and-related-biological-products-advisory-committee-december-17-2020-meeting-announcement>. (Accessed 29 March 2021).

Feng, B., Eknoyan, G., Guo, Z.S., Jadoul, M., Rao, H.Y., Zhang, W., Wei, L., 2012. Effect of interferon- alpha-based antiviral therapy on hepatitis C virus-associated glomerulonephritis: a meta-analysis. *Nephrol. Dial. Transplant.* 27 (2), 640–646.

Fenton, A.M., Hammill, S.C., Rea, R.F., Low, P.A., Shen, W.-K., 2000. Vasovagal syncope. *Ann. Intern. Med.* 133 (9), 714–725. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-133-9-200011070-00014>.

Finnberg, N.K., El-Deiry, W.S., 2008. TRAIL death receptors as tumor suppressors and drug targets. *Cell Cycle* 7 (11), 1525–1528. <https://doi.org/10.4161/cc.7.11.5975>.

Forni, G., Mantovani, A., 2021. COVID-19 Commission of Accademia Nazionale dei Lincei, Rome. COVID-19 vaccines: where we stand and challenges ahead. *Cell Death Differ.* 28 (2), 626–639. <https://doi.org/10.1038/s41418-020-00720-9>.

Garg, A., Seeliger, B., Derda, A.A., Xiao, K., Gietz, A., Scherf, K., Sonnenschein, K., Pink, I., Hoepfer, M.M., Welte, T., et al., 2021. Circulating cardiovascular microRNAs in critically ill COVID-19 patients. *Eur. J. Heart Fail.* 23 (3), 468–475. <https://doi.org/10.1002/ejhf.2096>.

Gavras, I., Gavras, H., 2002. Angiotensin II as a cardiovascular risk factor. *J. Hum. Hypertens.* 16 (Suppl. 2), S2–S6. <https://doi.org/10.1038/sj.jhh.1001392>.

Girardi, T., De Keersmaecker, K., 2015. T-ALL: ALL a matter of translation? *Haematologica* 100 (3), 293–295. <https://doi.org/10.3324/haematol.2014.118562>.

Goldman, S., Bron, D., Tousseyn, T., Vierasu, I., Dewispelaere, L., Heimann, P., Cogan, E., Goldman, M., 2021. Rapid progression of angioimmunoblastic T cell lymphoma following BNT162b2 mRNA vaccine booster shot: a case report. *Front. Med.* 8, 798095 <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.798095>.

Gordon, D.E., Hiatt, J., Bouhaddou, M., Rezelj, V.V., Ulferts, S., Braberg, H., et al., 2020.

Comparative host-coronavirus protein interaction networks reveal pan-viral disease mechanisms. *Science* 370 (6521), eabe9403. <https://doi.org/10.1126/science.abe9403>.

Gould, F.D.H., Lammers, A.R., Mayer, C.J., German, R.Z., 2019. Specific vagus nerve lesion have distinctive physiologic mechanisms of dysphagia. *Front. Neurol.* 10, 1301. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.01301>.

Guo, X., Namekata, K., Kimura, A., Harada, C., Harada, T., 2017. The renin-angiotensin system regulates neurodegeneration in a mouse model of optic neuritis. *Am. J. Pathol.* 187 (12), 2876–2885. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2017.08.012>.

Hadjadj, J., Yatim, N., Barnabei, L., Corneau, A., Boussier, J., Smith, N., P´er´e, H., Charbit, B., Bondet, V., Chenevier-Gobeaux, C., et al., 2020. Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients. *Science* 369 (6504), 718–724. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.026>.

Han, S.H., Choe, J., 2020. Diverse molecular functions of m6A mRNA modification in cancer. *Exp. Mol. Med.* 52 (5), 738–749. <https://doi.org/10.1038/s12276-020-0432-y>.

Heise, R., Amann, P.M., Ensslen, S., Marquardt, Y., Czaja, K., Jousen, S., Beer, D., Abele, R., Plewnia, G., Tamp´e, R., et al., 2016. Interferon alpha signaling and its relevance for the upregulatory effect of transporter proteins associated with antigen processing (TAP) in patients with malignant melanoma. *PLoS One* 11 (1), e0146325. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146325>.

Herdy, B., Mayer, C., Varshney, D., Marsico, G., Murat, P., Taylor, C., D'Santos, C.,

Tannahill, D., Balasubramanian, S., 2018. Analysis of NRAS RNA G-quadruplex binding proteins reveals DDX3X as a novel interactor of cellular G-quadruplex containing transcripts. *Nucleic Acids Res.* 46 (21), 11592–11604. <https://doi.org/10.1093/nar/gky861>.

Hoagland, D.A., Møller, R., Uhl, S.A., Oishi, K., Frere, J., Golyner, T., Horiuchi, S., Panis, M., Blanco-Melo, D., Sachs, D., et al., 2021. Leveraging the antiviral type I interferon system as a first line of defense against SARS-CoV-2 pathogenicity. *Immunity* 54, 557570. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.01.017>.

Honda, K., Takaoka, A., Taniguchi, T., 2006. Type I interferon [corrected] gene induction by the interferon regulatory factor family of transcription factors. *Immunity* 25 (3), 349–360. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2006.08.009>.

Honke, K., 2013. Biosynthesis and biological function of sulfoglycolipids. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* 89 (4), 129138 <https://doi.org/10.2183/pjab.89.129>.

Hou, X., Zaks, T., Langer, R., Dong, Y., 2021. Lipid nanoparticles for mRNA delivery. *Nat. Rev. Mater.* 6, 1078–1094. <https://doi.org/10.1038/s41578-021-00358-0>.

Huang, Y., Cai, X., Song, X., Tang, H., Huang, Y., Xie, S., Hu, Y., 2013. Steroids for preventing recurrence of acute severe migraine headaches: a meta-analysis. *Eur. J. Neurol.* 20 (8), 1184–1190. <https://doi.org/10.1111/ene.12155>.

Huang, F.T., Sun, J., Zhang, L., He, X., Zhu, Y.H., Dong, H.J., Wang, H.-Y., Zhu, L., Zou Huang, J.W., et al., 2019. Role of SIRT1 in hematologic malignancies. *J. Zhejiang Univ. - Sci. B* 20 (5), 391–398. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1900148>.

Ilyas, A.A., Mithen, F.A., Dalakas, M.C., Wargo, M., Chen, Z.W., Bielory, L., Cook, S.D., 1991. Antibodies to sulfated glycolipids in Guillain-Barré syndrome. *J. Neurol. Sci.* 105 (1), 108–117. [https://doi.org/10.1016/0022-510x\(91\)90126-r](https://doi.org/10.1016/0022-510x(91)90126-r).

Ivanova, E.N., Devlin, J.C., Buus, T.B., Koide, A., Cornelius, A., Samanovic, M.I., Herrera, A., Zhang, C., Desvignes, L., Odum, N., Ulrich, R., Mulligan, M.J., Koide, S., Ruggles, K.V., Herati, R.S., Koralov, S.B., 2021. Discrete immune response signature to SARS-CoV-2 mRNA vaccination versus infection. medRxiv preprint. <https://doi.org/10.1101/2021.04.20.21255677>. April 21.

Iwanaga, J., Fukuoka, H., Fukuoka, N., Yutori, H., Ibaragi, S., Tubbs, R.S., 2021. A narrative review and clinical anatomy of Herpes zoster infection following COVID-19 vaccination. *Clin. Anat.* 35 (1), 45–51. <https://doi.org/10.1002/ca.23790>.

Jain, S.S., Steele, J.M., Fonseca, B., Huang, S., Shah, S., Maskatia, S.A., Buddhe, S., Misra, N., Ramachandran, P., Gaur, L., et al., 2021. COVID-19 vaccination–associated myocarditis in adolescents. *Pediatrics* 148 (5), e2021053427. <https://doi.org/10.1542/peds.2021-053427>.

Janeway Jr., C.A., Medzhitov, R., 2002. Innate immune recognition. *Annu. Rev. Immunol.* 20, 197–216. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.20.083001.084359>.

Jang, S.K., Pestova, T.V., Hellen, C.U.T., Witherell, G.W., Wimmer, E., 1990. Capindependent translation of picornavirus RNAs: structure and function of the internal ribosomal entry site. *Enzyme* 44, 292–309. <https://doi.org/10.1159/000468766>.

Jaubert, C., Bedrat, A., Bartolucci, L., Di Primo, C., Ventura, M., Mergny, J.-L., Amrane, S., Andreola, M.-L., 2018. RNA synthesis is modulated by G-quadruplex formation in Hepatitis C virus negative RNA strand. *Sci. Rep.* 8, 8120. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26582-3>.

Jego, G.A., Palucka, K., Blanck, J.-P., Chalouni, C., Pascual, V., Banchereau, J., 2003. Plasmacytoid dendritic cells induce plasma cell differentiation through type I interferon and interleukin 6. *Immunity* 19, 225234. [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(03\)00208-5](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(03)00208-5).

Jeong, M., Ocwieja, K.E., Han, D., Wackym, P.A., Zhang, Y., Brown, A., Moncada, C., Vambutas, A., Kanne, T., Crain, R., et al., 2021. Direct SARS-CoV-2 infection of the human inner ear may underlie COVID-19-associated audiovestibular dysfunction. *Commun. Med.* 1, 44. <https://doi.org/10.1038/s43856-021-00044-w>.

Jhaveri, R., 2021. The COVID-19 mRNA vaccines and the pandemic: do they represent the beginning of the end or the end of the beginning? *Clin. Therapeut.* 43 (3), 549–556. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2021.01.014>.

Jiang, H., Mei, Y.-F., 2021. SARS-CoV-2 spike impairs DNA damage repair and inhibits V (D)J recombination in vitro. *Viruses* 13 (2056). <https://doi.org/10.3390/v13102056>.

Kaczmarek, R., El Ekiaby, M., Hart, D.P., Hermans, C., Makris, M., Noone, D., O'Mahony, B., Page, D., Peyvandi, F., Pipe, S.W., et al., 2021. Vaccination against COVID-19: rationale, modalities and precautions for patients with haemophilia and other inherited bleeding disorders. *Haemophilia* 27 (4), 515–518. <https://doi.org/10.1111/hae.14271>.

Kakarougkas, A., Ismail, A., Klement, K., Goodarzi, A.A., Conrad, S., Freire, R., Shibata, A., Lobrich, M., Jeggo, P.A., 2013. Opposing roles for 53BP1 during homologous recombination. *Nucleic Acids Res.* 41 (21), 9719–9731. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt729>.

Kalra, R.S., Kandimalla, R., 2021. Engaging the spikes: heparan sulfate facilitates SARSCoV-2 spike protein binding to ACE2 and potentiates viral infection. *Signal Transduct. Targeted Ther.* 6, 39. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00470-1>.

Kampf, G., 2021a. The epidemiological relevance of the COVID-19-vaccinated population is increasing. *Lancet. Reg. Health – Europ.* 11, 100272 <https://doi.org/10.1016/j.lanep.2021.100272>.

Kampf, G., 2021b. The epidemiological relevance of the COVID-19-vaccinated population is increasing. *Lancet Reg. Health - Europ.* 11, 100272 <https://doi.org/10.1016/j.lanep.2021.100272>.

Karik'o, K., Buckstein, M., Ni, H., Weissman, D., 2005. Suppression of RNA recognition by toll-like receptors: the impact of nucleoside modification and the evolutionary origin of RNA. *Immunity* 23, 165-175. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2005.06.008>.

Katalin Karik'o, K., Muramatsu, H., Welsh, F.A., Ludwig, J., Kato, H., Akira, S., Weissman, D., 2008. Incorporation of pseudouridine into mRNA yields superior nonimmunogenic vector with increased translational capacity and biological stability. *Mol. Ther.* 16, 1833–1840. <https://doi.org/10.1038/mt.2008.200>.

Katsikas Triantafyllidis, K., Giannos, P., Mian, I.T., Kyrtsonis, G., Kechagias, K.S., 2021. Varicella zoster virus reactivation following COVID-19 vaccination: a systematic review of case reports. *Vaccines* 9 (9), 1013. <https://doi.org/10.3390/vaccines9091013>.

Kaulen, L.D., Doubrovinskaia, S., Mooshage, C., Jordan, B., Purruicker, J., Haubner, C., Seliger, C., Lorenz, H.-M., Nagel, S., Wildemann, B., Bendszus, M., Wick, W., Schenberger, S., 2021. Neurological autoimmune diseases following vaccinations against SARS-CoV-2: a case series. *Eur. J. Neurol.* 1–9. <https://doi.org/10.1111/ene.15147> [Epub ahead of print].

Kaur, A., Fang, C.M., 2020. An overview of the human immune system and the role of interferon regulatory factors (IRFs). *Prog. Microb. Mol. Biol.* 3 (1) <https://doi.org/10.36877/pmmb.a0000129>, 2020.

Kelton, J.G., Arnold, D.M., Nazy, I., 2021. Lessons from vaccine-induced immune thrombotic thrombocytopenia. *Nat. Rev. Immunol.* 21 (12), 753–755. <https://doi.org/10.1038/s41577-021-00642-8>.

Khayat-Khoei, M., Bhattacharyya, S., Katz, J., Harrison, D., Tauhid, S., Bruso, P., Houtchens, M.K., Edwards, K.R., Bakshi, R., 2021 Sep 4. COVID-19 mRNA vaccination leading to CNS inflammation: a case series. *J. Neurol.* 1–14. <https://doi.org/10.1007/s00415-021-10780-7> [Epub ahead of print].

Kimura, T., Nakajima, T., Kamijo, Y., Tanaka, N., Wang, L., Hara, A., Sugiyama, E., Tanaka, E., Gonzalez, F.J., Aoyama, T., 2012. Hepatic cerebroside sulfotransferase is induced by PPAR activation in mice. *PPAR Res.*, 174932 <https://doi.org/10.1155/2012/174932>, 2012.

Knuckles, P., Bühler, M., 2018. Adenosine methylation as a molecular imprint defining the fate of RNA. *FEBS Lett.* 592 (17), 2845–2859. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.13107>.

Kolumam, G.A., Thomas, S., Thompson, L.J., Sprent, J., Murali-Krishna, K., 2005. Type I interferons act directly on CD8 T cells to allow clonal expansion and memory formation in response to viral infection. *J. Exp. Med.* 202 (5), 637-650 <https://doi.org/10.1084/jem.20050821>.

Koo, J.W., Russo, S.J., Ferguson, D., Nestler, E.J., Duman, R.S., 2010. Nuclear factor- κ B is a critical mediator of stress-impaired neurogenesis and depressive

behavior. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107 (6), 2669–2674. <https://doi.org/10.1073/pnas.0910658107>.

Kothandan, V.K., Kothandan, S., Kim, D.H., Byun, Y., Lee, Y.-K., Park, I.-K., Hwang, S.R., 2020. Crosstalk between stress granules, exosomes, tumour antigens, and immune cells: significance for cancer immunity. *Vaccines* 8 (2), 172. <https://doi.org/10.3390/vaccines8020172>.

Kudla, G., Lipinski, L., Caffin, F., Helwak, A., Zyllicz, M., 2006. High guanine and cytosine content increases mRNA levels in mammalian cells. *PLoS Biol.* 4 (6), e180 <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040180>.

Kuwahara, M., Kusunoki, S., 2018. Mechanism and spectrum of anti-glycolipid antibody-mediated chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Clin. Exper. Neuroimmunol.* 9 (1), 65–74. <https://doi.org/10.1111/cen3.12452>.

Kwok, H.F., 2021. Review of COVID-19 vaccine clinical trials – A puzzle with missing pieces. *Int. J. Biol. Sci.* 7 (6), 1461.

Kyriakopoulos, A.M., McCullough, P.A., 2021. Synthetic mRNAs; their analogue caps and contribution to disease. *Diseases* 9 (3), 57. <https://doi.org/10.3390/diseases9030057>.

Lanz, T.V., Ding, Z., Ho, P.P., Luo, J., Agrawal, A.N., Srinagesh, H., Axtell, R., Zhang, H., Platten, M., Wyss-Coray, T., Steinman, L., 2010. Angiotensin II sustains brain inflammation in mice via TGF-beta. *J. Clin. Invest.* 120 (8), 2782–2794. <https://doi.org/10.1172/JCI41709>.

Lazarus, R., Klompas, M., Bernstein, S., 2010. Electronic Support for Public Health–Vaccine Adverse Event Reporting System (ESP: VAERS). Grant. Final Report, Grant ID: R18 HS, p. 17045.

Lee, E.-J., Cines, D.B., Gernsheimer, T., Kessler, C., Michel, M., Tarantino, M.D., Semple, J.W., Arnold, D.M., Godeau, B., Lambert, M.P., Bussel, J.B., 2021. Thrombocytopenia following pfizer and Moderna SARS-CoV-2 vaccination. *Am. J. Hematol.* 96 (5), 534–537. <https://doi.org/10.1002/ajh.26132>.

Lemberger, T., Staels, B., Saladin, R., Desvergne, B., Auwerx, J., Wahli, W., 1994. Regulation of the peroxisome proliferator-activated receptor alpha gene by glucocorticoids. *J. Biol. Chem.* 269 (40), 24527–24530. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfn260>.

Lensen, R., Netea, M.G., Rosendaal, F.R., 2021. Hepatitis C virus reactivation following COVID-19 vaccination – A case report. *Int. Med. Case Rep. J.* 14, 573–575. <https://doi.org/10.2147/IMCRJ.S328482>.

Letarov, A.V., Babenko, V.V., Kulikov, E.E., 2021. Free SARS-CoV-2 spike protein S1 particles may play a role in the pathogenesis of COVID-19 infection. *Biochemistry (Mosc.)* 86 (3), 257–261. <https://doi.org/10.1134/S0006297921030032>.

Leung, D.W., Amarasinghe, G.K., 2016. When your cap matters: structural insights into self vs non-self recognition of 5' RNA by immunomodulatory host proteins. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 36, 133–141. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2016.02.001>.

Li, Y., Huang, R., Wang, L., Hao, J., Zhang, Q., Ling, R., Yun, J., 2015. Micro RNA-762 promotes breast cancer cell proliferation and invasion by targeting IRF7 expression. *Cell Prolif* 48 (6), 643–649. <https://doi.org/10.1111/cpr.12223>.

Lindenmann, J., 1982. From interference to interferon: a brief historical introduction. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 299 (1094), 3–6.

Liu, T., Khanna, K.M., Chen, X., Fink, D.J., Hendricks, R.L., 2000. CD8(+) T cells can block herpes simplex virus type 1 (HSV-1) reactivation from latency in sensory neurons. *J. Exp. Med.* 191 (9), 1459–1466. <https://doi.org/10.1084/jem.191.9.1459>.

Liu, J., Wang, J., Xu, J., Xia, H., Wang, Y., Zhang, C., Chen, W., Zhang, H., Liu, Q., Zhu, R., et al., 2021. Comprehensive investigations revealed consistent pathophysiological alterations after vaccination with COVID-19 vaccines. *Cell Discov.* 7 (1), 99. <https://doi.org/10.1038/s41421-021-00329-3>.

Lladó, I., Fernández-Bernáldez, A., Rodríguez-Jiménez, P., 2021. Varicella zoster virus reactivation and mRNA vaccines as a trigger. *JAAD. Case Rep.* 15, 62–63. <https://doi.org/10.1016/j.jdc.2021.07.011>.

Lu, Y., Harada, M., Kamijo, Y., Nakajima, T., Tanaka, N., Sugiyama, E., Kyogashima, M., Gonzalez, F.J., Aoyama, T., 2019. Peroxisome proliferator-activated receptor attenuates high-cholesterol diet-induced toxicity and pro-thrombotic effects in mice.

- Arch. Toxicol. 93 (1), 149161 <https://doi.org/10.1007/s00204-018-2335-4>.
- MacFarlane, M., Kohlhaas, S.L., Sutcliffe, M.J., Dyer, M.J., Cohen, G.M., 2005. TRAIL receptor-selective mutants signal to apoptosis via TRAIL-R1 in primary lymphoid malignancies. *Cancer Res.* 65 (24), 11265–11270. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-2801>.
- Maleki, A., 2021. COVID-19 recombinant mRNA vaccines and serious ocular inflammatory side effects: real or coincidence? *J. Ophthalmic Vis. Res.* 16 (3), 490501 <https://doi.org/10.18502/jovr.v16i3.9443>.
- Mann, R., Sekhon, S., Sekhon, S., 2021. Drug-induced liver injury after COVID-19 vaccine. *Cureus* 13 (7), e16491. <https://doi.org/10.7759/cureus.16491>.
- Marcus, J., Honigbaum, S., Shroff, S., Honke, K., Rosenbluth, J., Dupree, J.L., 2006. Sulfatide is essential for the maintenance of CNS myelin and axon structure. *Glia* 53 (4), 372–381. <https://doi.org/10.1002/glia.20292>.
- Martini, P.G.V., Guey, L.T., 2019. A new era for rare genetic diseases: messenger RNA therapy. *Hum. Gene Ther.* 30 (10), 1180–1189. <https://doi.org/10.1089/hum.2019.090>.
- Matsuoka, M., Tani, K., Asano, S., 1998. Interferon-alpha-induced G1 phase arrest through upregulated expression of CDK inhibitors, p19Ink4D and p21Cip1 in mouse macrophages. *Oncogene* 16, 2075–2086. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1201745>.
- Mauro, V.P., Chappell, S.A., 2014. A critical analysis of codon optimization in human therapeutics. *Trends Mol. Med.* 20 (11), 604–613. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2014.09.003>.
- McCarthy, C., Carrea, A., Diambra, L., 2017. Bicodon bias can determine the role of synonymous SNPs in human diseases. *BMC Genom.* 18 (1), 227. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3609-6>.
- McKenzie, S.E., Taylor, S.M., Malladi, P., Yuhan, H., Cassel, D.L., Chien, P., Schwartz, E., Schreiber, A.D., Surrey, S., Reilly, M.P., 1999. The role of the human Fc receptor FcRIIA in the immune clearance of platelets: a transgenic mouse model. *J. Immunol.* 162, 4311–4318. <http://www.jimmunol.org/content/162/7/4311>.
- McKernan, K., Kyriakopoulos, A.M., McCullough, P.A., 2021. Differences in vaccine and SARS-CoV-2 replication derived mRNA: implications for cell biology and future disease. *OSF Prepr.* <https://doi.org/10.31219/osf.io/bcsa6>. November 26.
- McLachlan, S., Osman, M., Dube, K., Chiketero, P., Choi, Y., Fenton, N., 2021. Analysis of COVID-19 vaccine death reports from the vaccine adverse events reporting system (VAERS) database. Preprint. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.26987.26402>.
- Meyer, K.D., Patil, D.P., Zhou, J., Zinoviev, A., Skabkin, M.A., Elemento, O., Pestova, T. V., Qian, S.-B., Jaffrey, S.R., 2015. 5' UTR m(6)A promotes cap-independent translation. *Cell* 163 (4), 999–1010. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.10.012>.
- Mishra, R., Banerjee, A.C., 2021. SARS-CoV-2 Spike targets USP33-IRF9 axis via exosomal miR-148a to activate human microglia. *Front. Immunol.* 12, 656700 <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.656700>.
- Mittal, M.K., Chaudhuri, G., 2009. In: Abstracts: First AACR International Conference on Frontiers in Basic Cancer Research—Oct 8–11, 2009. Boston, MA. https://cancerres.aacrjournals.org/content/69/23_Supplement/A16.short.
- Mulligan, M.J., Lyke, K.E., Kitchin, N., Absalon, J., Gurtman, A., Lockhart, S., Neuzil, K., Raabe, V., Bailey, R., Swanson, K.A., Li, P., Koury, K., Kalina, W., Cooper, D., Fontes-Garfias, C., Shi, P.-Y., Türeci, Ö., Tompkins, K.R., Walsh, E.E., Frenck, R., Falsey, A.
- R., Dormitzer, P.R., Gruber, W.C., Sahin, U., Jansen, K.U., 2020. Phase I/II study of COVID-19 RNA vaccine BNT162b1 in adults. *Nature* 586 (7830), 589–593. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2639-4>.
- Mungoven, T.J., Meylakh, N., Marciszewski, K.K., Macefield, V.G., Macey, P.M., Henderson, L.A., 2020. Microstructural changes in the trigeminal nerve of patients with episodic migraine assessed using magnetic resonance imaging. *J. Headache Pain* 21, 59. <https://doi.org/10.1186/s10194-020-01126-1>.
- Musella, M., Manic, G., de Maria, R., Vitale, I., Sistigie, A., 2017. Type-I-interferons in infection and cancer: unanticipated dynamics with therapeutic implications. *Oncol Immunology* 6 (5), e1314424. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2017.1314424>.
- Nandha, R., Singh, H., 2012. Renin angiotensin system: a novel target for migraine prophylaxis. *Indian J. Pharmacol.* 44 (2), 157160 <https://doi.org/10.4103/0253-7613.93840>.
- National Cancer Institute, 2021. BRCA gene mutations: cancer risk and genetic testing fact sheet [online] Available at: <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/genetics/brca-fact-sheet#what-other-cancers-are-linked-to-harmful-variants-in-brca1-and-brca2>. (Accessed 27 November 2021).

Nevzorova, T.A., Mordakhanova, E.R., Daminova, A.G., Ponomareva, A.A., Andrianova, I.A., Minh, G.L., Rauova, L., Litvinov, R.L., Weisel, J.W., 2019. Platelet factor 4-containing immune complexes induce platelet activation followed by calpain-dependent platelet death. *Cell Death Dis.* 5, 106. <https://doi.org/10.1038/s41420-019-0188-0>.

Olsthoorn, R.C., 2014. G-quadruplexes within prion mRNA: the missing link in prion disease? *Nucleic Acids Res.* 42, 9327–9333. <https://doi.org/10.1093/nar/gku559>.

Orlandini von Niessen, A.G., Poleganov, M.A., Rechner, C., Plaschke, A., Kranz, L.M., Fesser, S., Diken, M., L'ower, M., Vallazza, B., Beissert, T., et al., 2019. Improving mRNA-based therapeutic gene delivery by expression-augmenting 3' UTRs identified by cellular library screening. *Mol. Ther.* 27 (4), 824–836. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2018.12.011>.

Otsuka, H., Fukao, A., Funakami, Y., Duncan, K.E., Fujiwara, T., 2019. Emerging evidence of translational control by AU-rich element-binding proteins. *Front. Genet.*

10, 332. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00332.g>.

Oudit, G.Y., Kassiri, Z., Jiang, C., Liu, P.P., Poutanen, S.M., Penninger, J.M., Butany, J.,

2009. SARS coronavirus modulation of myocardial ACE2 expression and

inflammation in patients with SARS. *Eur. J. Clin. Invest.* 39 (7), 618625 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2009.02153>.

[org/10.1111/j.1365-2362.2009.02153](https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2009.02153).

Ozaki, T., Nakagawara, A., 2011. Role of p53 in cell death and human cancers. *Cancers* 3

(1), 994–1013. <https://doi.org/10.3390/cancers3010994>.

Panier, S., Boulton, S.J., 2014. Double-strand break repair: 53BP1 comes into focus. *Nat.*

Rev. 15, 9. <https://doi.org/10.1038/nrm3719>.

Pardi, N., Hogan, M.J., Porter, F.W., Weissman, D., 2018. mRNA vaccines - a new era in

vaccinology. *Nat. Rev. Drug Discov.* 17 (4), 261–279. <https://doi.org/10.1038/nrd.2017.243>.

[nrd.2017.243](https://doi.org/10.1038/nrd.2017.243).

Park, J.W., Lagniton, P., Liu, Y., Xu, R.H., 2021. mRNA vaccines for COVID-19: what,

why and how. *Int. J. Biol. Sci.* 17 (6), 1446–1460. <https://doi.org/10.7150/ijbs.59233>, 2021.

[ijbs.59233](https://doi.org/10.7150/ijbs.59233), 2021.

Passariello, M., Vetrei, C., Amato, F., De Lorenzo, C., 2021. Interactions of spike-RBD of

SARS-CoV-2 and platelet factor 4: new insights in the etiopathogenesis of

thrombosis. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 8562. <https://doi.org/10.3390/ijms22168562>.

Passegu, E., Ernst, P.A., 2009. IFN-alpha wakes up sleeping hematopoietic stem cells.

Nat. Med. 15 (6), 612613 <https://doi.org/10.1038/nm0609-612>.

Perricone, C., Ceccarelli, F., Neshler, G., Borella, E., Odeh, Q., Conti, F., Shoenfeld, Y.,

Valesini, G., 2014. Immune thrombocytopenic purpura (ITP) associated with

vaccinations: a review of reported cases. *Immunol. Res.* 60, 226–235. <https://doi.org/10.1007/s12026-014-8597-x>.

[org/10.1007/s12026-014-8597-x](https://doi.org/10.1007/s12026-014-8597-x).

Psichogiou, M., Karabinis, A., Poulakou, G., Antoniadou, A., Kotanidou, A.,

Degiannis, D., Pavlopoulou, I.D., Chaidaroglou, A., Roussos, S., Mastrogianni, E.,

et al., 2021a. Comparative immunogenicity of BNT162b2 mRNA vaccine with

natural COVID-19 infection. *Vaccines (Basel)* 9 (9), 1017. <https://doi.org/10.3390/vaccines9091017>.

[vaccines9091017](https://doi.org/10.3390/vaccines9091017).

Psichogiou, M., Samarkos, M., Mikos, N., Hatzakis, A., 2021b. Reactivation of Varicella

zoster virus after vaccination for SARS-CoV-2. *Vaccines* 9, 572. <https://doi.org/10.3390/vaccines9060572>.

[10.3390/vaccines9060572](https://doi.org/10.3390/vaccines9060572).

- Qiu, X.-K., Ma, J., 2018. Alteration in microRNA-155 level correspond to severity of coronary heart disease. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 78 (3), 219–223. <https://doi.org/10.1080/00365513.2018.1435904>.
- Qiu, S., Palavicini, J.P., Wang, J., Gonzalez, N.S., He, S., Dustin, E., Zou, C., Ding, L., Bhattacharjee, A., Van Skike, C.E., et al., 2021. Adult-onset CNS myelin sulfatide deficiency is sufficient to cause Alzheimer's disease-like neuroinflammation and cognitive impairment. *Mol. Neurodegener.* 16, 64. <https://doi.org/10.1186/s13024-021-00488-7>.
- Röltgen, K., Nielsen, S.C.A., Silva, O., Younes, S.F., Zaslavsky, M., Costales, C., Yang, F., Wirz, O.F., Solis, D., Hoh, R.A., 2022. Immune imprinting, breadth of variant recognition and germinal center response in human SARS-CoV-2 infection and vaccination. *Cell*. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.01.018>. Jan 25; S0092-8674 (22)00076-9. [Epub ahead of print].
- Rasmussen, S.A., Abul-Husn, N.S., Casanova, J.L., Daly, M.J., Rehm, H.L., Murray, M.F., 2021. The intersection of genetics and COVID-19 in 2021: preview of the 2021 Rodney Howell Symposium. *Genet. Med.* 23 (6), 1001–1003. <https://doi.org/10.1038/s41436-021-01113-0>.
- Ratajczak, M.Z., Ratajczak, J., 2016. Horizontal transfer of RNA and proteins between cells by extracellular microvesicles: 14 years later. *Clin. Transl. Med.* 5, 7. <https://doi.org/10.1186/s40169-016-0087-4>.
- Rhea, E.M., Logsdon, A.F., Hanse, K.M., Williams, L.M., Reed, M.J., Baumann, K.K., Holden, S.J., Raber, J., Banks, W.A., Erickson, M.A., 2021. The S1 protein of SARS-CoV-2 crosses the blood-brain barrier in mice. *Nat. Neurosci.* 24, 368–378. <https://doi.org/10.1038/s41593-020-00771-8>.
- Rodrigues Figueiredo, R., Aparecida Azevedo, A., De Oliveira Penido, N., 2016. Positive association between tinnitus and arterial hypertension. *Front. Neurol.* 7, 171. <https://doi.org/10.3389/fneur.2016.00171>.
- Rodriguez-Perez, A.I., Borrajo, A., Rodriguez-Pallares, J., Guerra, M.J., Labandeira-Garcia, J.L., 2015. Interaction between NADPH-oxidase and Rho-kinase in angiotensin II-induced microglial activation. *Glia* 63, 466e482. <https://doi.org/10.1002/glia.22765>
- Rose, J., 2021. Critical appraisal of VAERS pharmacovigilance: is the U.S. vaccine adverse events reporting system (VAERS) a Functioning pharmacovigilance system? *Sci. Publ. Health Pol. the Law* 3, 100–129.
- Rouleau, S., Glouzon, J.S., Brumwell, A., Bisailon, M., Perreault, J.P., 2017. 3' UTR Gquadruplexes regulate miRNA binding. *RNA* 23 (8), 1172–1179. <https://doi.org/10.1261/rna.060962.117>.
- Rouleau, S.G., Garant, J.-M., Balduc, F., Bisailon, M., Perreault, J.-P., 2018. GQuadruplexes influence pri-microRNA processing. *RNA Biol.* 15 (2), 198–206.

<https://doi.org/10.1080/15476286.2017.1405211>.

Rusk, N., 2008. When microRNAs activate translation. *Nat. Methods* 5, 122–123. <https://doi.org/10.1038/nmeth0208-122a>.

Ruther, U., Nunnensiek, C., Muller, H.A., Bader, H., May, U., Jipp, P., 1998. Interferon alpha (IFN alpha 2a) therapy for herpes virus-associated inflammatory bowel disease (ulcerative colitis and Crohn's disease). *Hepato-Gastroenterology* 45 (21), 691–699. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.1999.tb03365.x>.

Sakai, Y., Ohga, S., Tonegawa, Y., Takada, H., Nakao, F., Nakayama, H., Aoki, T., Yamamori, S., Hara, T., 1998. Interferon-alpha therapy for chronic active Epstein-Barr virus infection: potential effect on the development of T- lymphoproliferative disease. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 20 (4), 342–346.

Sayers, T.J., 2011. Targeting the extrinsic apoptosis signaling pathway for cancer therapy. *Cancer Immunol. Immunother.* 60 (8), 1173–1180. <https://doi.org/10.1007/s00262-011-1008-4>.

Schmidt, N., Lareau, C.A., Keshishian, H., Ganskih, S., Schneider, C., Hennig, T., Melanson, R., Werner, S., Wei, Y., Zimmer, M., et al., 2021. The SARS-CoV-2 RNAprotein interactome in infected human cells. *Nat. Microbiol.* 6 (3), 339–353. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-00846-z>.

Schneider, W.M., Chevillotte, M.D., Rice, C.M., 2014. Interferon-stimulated genes: a complex web of host defenses. *Annu. Rev. Immunol.* 32, 513–545.

Sekiguchi, K., Watanabe, N., Miyazaki, N., Ishizuchi, K., Iba, C., Tagashira, Y., Uno, S., Shibata, M., Hasegawa, N., Takemura, R., et al., 2021. Incidence of headache after COVID-19 vaccination in patients with history of headache: a cross-sectional study.

Cephalalgia, 3331024211038654. <https://doi.org/10.1177/03331024211038654> [Epub ahead of print].

Seneff, S., Nigh, G., 2021. Worse than the disease? Reviewing some possible unintended consequences of the mRNA vaccines against COVID-19. *IJVTPR* 2 (1), 38–79.

Shabalina, S.A., Spiridonov, N.A., Kashina, A., 2013. Sounds of silence: synonymous nucleotides as a key to biological regulation and complexity. *Nucleic Acids Res.* 41 (4), 2073–2094. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1205>.

Shatsky, I.N., Terenin, I.M., Smirnova, V.V., Andreev, D.E., 2018. Cap-independent translation: what's in a name? *Trends Biochem. Sci.* 43 (11), 882–895. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2018.04.011>.

Shaw, G., Morse, S., Ararat, M., Graham, F.L., 2002. Preferential transformation of human neuronal cells by human adenoviruses and the origin of HEK 293 cells. *Faseb.J.* 16 (8), 869–871. <https://doi.org/10.1096/fj.01-0995fje>.

Shitrit, P., Zuckerman, N.S., Mor, O., Gottesman, B.-S., Chowers, M., 2021. Nosocomial outbreak caused by the SARS-CoV-2 Delta variant in a highly vaccinated population, Israel, July 2021. *Euro Surveill.* 26 (39), 2100822 <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2021.26.39.2100822>.

7917.ES.2021.26.39.2100822.

Shrotri, M., Navaratnam, A.M., Nguyen, V., Byrne, T., Geismar, C., Fragaszy, E., Beale, S., Fong, W.L.E., Patel, P., Kovar, J., et al., 2021. Spike-antibody waning after second dose of BNT162b2 or ChAdOx1. *Lancet* 398 (10298), 385–387.

Simone, A., Herald, J., Chen, A., 2021. Acute myocarditis following COVID-19 mRNA vaccination in adults aged 18 years or older. *JAMA Intern. Med.* 181 (12), 1668–1670. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2021.5511>.

Small, E.M., Olson, E.N., 2011. Pervasive roles of microRNAs in cardiovascular biology. *Nature* 469 (7330), 336–342. <https://doi.org/10.1038/nature09783>.

Sola, I., Almazán, F., Zúñiga, S., Enjuanes, L., 2015. Continuous and discontinuous RNA synthesis in coronaviruses. *Ann. Rev. Virol.* 2 (1), 265–288. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-100114-055218>.

Solis, M., Goubau, D., Romieu-Mourez, R., Genin, P., Civas, A., Hiscott, J., 2006. Distinct functions of IRF-3 and IRF-7 in IFN- α gene regulation and control of anti-tumor activity in primary macrophages. *Biochem. Pharmacol.* 72 (11), 1469–1476. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2006.06.002>.

Spiegel, J., Adhikari, S., Balasubramanian, S., 2020. The structure and function of DNA G-quadruplexes. *Trend. Chem.* 2 (2), 123–136. <https://doi.org/10.1016/j.trechm.2019.07.002>.

Stertz, S., Hale, B.G., 2021. Interferon system deficiencies exacerbating severe pandemic virus infections. *Trends Microbiol.* 29 (11), 973–982. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.03.001>.

Suberbielle, E., Djukic, B., Evans, M., Kim, D.H., Taneja, P., Wang, X., Finucane, M., Knox, J., Ho, K., Devidze, N., et al., 2015. DNA repair factor BRCA1 depletion occurs in Alzheimer brains and impairs cognitive function in mice. *Nat. Commun.* 6, 8897. <https://doi.org/10.1038/ncomms9897>.

Subramanian, S.V.; Kumar, A. Increases in COVID-19 are unrelated to levels of vaccination across 68 countries and 2947 counties in the United States. *Eur. J.Epidemiol.* 2021, 1-4. doi: 10.1007/s10654-021-00808-7.

Sundstedt, A., Celander, M., Hedlund, G., 2008. Combining tumor-targeted superantigens with interferon- α results in synergistic anti-tumor effects. *Int.Immunopharm.* 8 (3), 442–452. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2007.11.006>, 2008.

Svitkin, U.V., Herdy, B., Costa-Mattioli, M., Gingras, A.-C., Raught, B., Sonenberg, N., 2005. Eukaryotic translation initiation factor 4E availability controls the switch between cap-dependent and internal ribosomal entry site-mediated translation. *Mol. Cell Biol.* 25 (23), 10556–10565. <https://doi.org/10.1128/MCB.25.23.10556-10565.2005>

Takaoka, A., Tamura, T., Taniguchi, T., 2008. Interferon regulatory factor family of transcription factors and regulation of oncogenesis. *Cancer Sci.* 99 (3), 467–478. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2007.00720>.

Testa, U., 2010. TRAIL/TRAIL-R in hematologic malignancies. *J. Cell. Biochem.* 110 (1), 21–34. <https://doi.org/10.1002/jcb.22549>.

Tetz, G., Tetz, V., 2022. Prion-like domains in spike protein of SARS-CoV-2 differ across its variants and enable changes in affinity to ACE2. *Microorganisms* 10, 280. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020280>.

Tian, W.-L., Guo, R., Wang, F., Jiang, Z.-X., Tang, P., Huang, Y.-M., Sun, L., 2018. The IRF9-SIRT1-P53 axis is involved in the growth of human acute myeloid leukemia. *Exp. Cell Res.* 365, 185–193. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2018.02.036>.

Timmers, L.F.S.M., Peixoto, J.V., Ducati, R.G., Bachega, J.F.R., de Mattos Pereira, L., Caceres, R.A., Majolo, F., da Silva, G.L., Anton, D.B., Dellagostin, O.A., Henriques, J.A.P., Xavier, L.L., Goertert, M.I., Laufer, S., 2021. SARS-CoV-2 mutations in Brazil: from genomics to putative clinical conditions. *Sci. Rep.* 11, 11998. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91585-6>.

Tronvik, E., Stovner, L.J., Helde, G., Sand, T., Bovim, G., 2003. Prophylactic treatment of migraine with an angiotensin II receptor-blocker: a randomized controlled trial. *JAMA* 289 (1), 65–69. <https://doi.org/10.1001/jama.289.1.65>.

Troya, J., Bastard, P., Planas-Serra, L., Ryan, P., Ruiz, M., de Carranza, M., Torres, J., Martinez, A., Abel, L., Casanova, J.-L., Pujol, A., 2021. Neutralizing autoantibodies to type I IFNs in >10% of patients with severe COVID-19 pneumonia hospitalized in Madrid, Spain. *J. Clin. Immunol.* 41, 914922 <https://doi.org/10.1007/s10875-021-01036-0>.

Tsuno, T., Mejido, J., Zhao, T., Morrow, A., Zoon, K.C., 2009. IRF9 is a key factor for eliciting the antiproliferative activity of IFN- α . *J. Immunother.* 32 (8), 803. <https://doi.org/10.1097/CJI.0b013e3181ad4092>.

Uranaka, T., Kashio, A., Ueha, R., Sato, T., Bing, H., Ying, G., Kinoshita, M., Kondo, K., Yamasoba, T., 2021. Expression of ACE2, TMPRSS2, and furin in mouse ear tissue, and the implications for SARS-CoV-2 infection. *Laryngoscope* 131 (6), E2013–E2017. <https://doi.org/10.1002/lary.29324>.

Vaers Home. VAERS. n.d.). Retrieved December 5, 2021, from <https://vaers.hhs.gov/data/dataguide.html>.

van der Wijst, M.G.P., Vazquez, S.E., Hartoularos, G.C., Bastard, P., Grant, T., Bueno, R., Lee, D.S., Greenland, J.R., Sun, Y., Perez, R., et al., 2021. Type I interferon autoantibodies are associated with systemic immune alterations in patients with COVID-19. *Sci. Transl. Med.* 13 (612), eabh2624 <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abh2624>.

Van Lint, S., Renmans, D., Broos, K., Dewitte, H., Lentacker, I., Heirman, C., Breckpot, K., Thielemans, K., 2015. The ReNAissanCe of mRNA-based cancer therapy. *Expert Rev. Vaccines* 14 (2), 235–251. <https://doi.org/10.1586/14760584.2015.957685>.

Vanderlugt, C.L., Miller, S.D., 2002. Epitope spreading in immune-mediated diseases: implications for immunotherapy. *Nat. Rev. Immunol.* 2, 85–95. <https://doi.org/10.1038/nri724>.

- Verma, A.K., Lavine, K.J., Lin, C.-Y., 2021. Myocarditis after covid-19 mRNA vaccination. *NEJM* 385, 1332–1334. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2109975>.
- Verweij, M.C., Wellish, M., Whitmer, T., Malouli, D., Lapel, M., Jonjić, S., Haas, J.G., DeFilippis, V.R., Mahalingam, R., Früh, K., 2015. Varicella viruses inhibit interferon-stimulated JAK-STAT signaling through multiple mechanisms. *PLoS Pathog.* 11 (5), e1004901 <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004901>.
- Wang, X.-A., Zhang, R., Jiang, D., Deng, W., Zhang, S., Deng, S., Zhong, J., Wang, T., Zhu, L.-H., Yang, L., et al., 2013. Interferon regulatory factor 9 protects against hepatic insulin resistance and steatosis in male mice. *Hepatology* 58 (2), 603–616. <https://doi.org/10.1002/hep.26368>.
- Wang, H., Hu, H., Zhang, K., 2017a. Overview of interferon: characteristics, signaling and anti-cancer effect. *Arch. Biotechnol. Biomed.* 1, 1–16.
- Wang, C., Zhang, C., Liu, L., A, X., Chen, B., Li, Y., Du, J., 2017b. Macrophage-derived mir-155-containing exosomes suppress fibroblast proliferation and promote fibroblast inflammation during cardiac injury. *Mol. Ther.* 25 (1), 192–204. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2016.09.001>.
- Wang, N., Zhan, Y., Zhu, L., Hou, Z., Liu, F., Song, P., Qiu, F., Wang, X., Zou, X., Wan, D., et al., 2020a. Retrospective multicenter cohort study shows early interferon therapy is associated with favorable clinical responses in COVID-19 patients. *Cell Host Microbe* 28 (3), 455–464. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.07.005> e2.
- Wang, Y., Nakajima, T., Gonzalez, F.J., Tanaka, N., 2020b. PPARs as metabolic regulators in the liver: lessons from liver-specific PPAR-null mice. *Int. J. Mol. Sci.* 21, 2061. <https://doi.org/10.3390/ijms21062061>.
- Wang, E., Thombre, R., Shah, Y., Latanich, R., Wang, J., 2021. G-Quadruplexes as pathogenic drivers in neurodegenerative disorders. *Nucleic Acids Res.* 49 (9), 4816–4830. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab164>.
- Wei, H., Chen, Q., Lin, L., Sha, C., Li, T., Liu, Y., Yin, X., Xu, Y., Chen, L., Gao, W., Li, Y., Zhu, X., 2021. Regulation of exosome production and cargo sorting. *Int. J. Biol. Sci.* 17 (1), 163–177. <https://doi.org/10.7150/ijbs.53671>.
- Weikert, U., Kühl, U., Schultheiss, H.-P., Rauch, U., 2002. Platelet activation is increased in patients with cardiomyopathy: myocardial inflammation and platelet reactivity. *Platelets* 13 (8), 487–491. <https://doi.org/10.1080/0953710021000057857>.
- Weiner, J., Lewis, D., Maertzdorf, J., Mollenkopf, H., Bodinham, C., Pizzoferro, K., Linley, C., Greenwood, A., Mantovani, A., Bottazzi, B., Denoel, P., Leroux-Roels, G., Kester, K., J'onsd'ottir, I., van den Berg, R.A., Kaufmann, S., Del Giudice, G., 2019.
- Characterization of potential biomarkers of reactogenicity of licensed antiviral vaccines: randomized controlled clinical trials conducted by the BIOVACSAFE consortium. *Sci. Rep.* 9 (1), 20362. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56994-8>.
- Weldon, C., Dacanay, J.G., Gokhale, V., Boddupally, P.V.L., Behm-Ansmant, I., Burley, G.
- A., Branlant, C., Hurley, L.M., Dominguez, C., Eperon, I.C., 2018. Specific Gquadruplex ligands modulate the alternative splicing of Bcl-X. *Nucleic Acids Res.* 46 (2), 886–896. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1122>.
- Williams, G.D., Gokhale, N.S., Snider, D.L., Horner, S.M., 2020. The mRNA cap 2'-O-methyltransferase CMTR1 regulates the expression of certain interferon-stimulated genes. *mSphere* 5 (3). <https://doi.org/10.1128/mSphere.00202-20> e00202-e00220.
- Wisniewski, A.V., Campillo Luna, J., Redlich, C.A., 2021. Human IgG and IgA responses to COVID-19 mRNA vaccines. *PLoS One* 16 (6), e0249499. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249499>.
- Wrapp, D., Wang, N., Corbett, K.S., Goldsmith, J.A., Hsieh, C.L., Abiona, O., Graham, B. S., McLellan, J.S., 2020. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science* 367 (6483), 1260–1263. <https://doi.org/10.1126/science.abb2507>.
- Xia, X., 2021. Detailed dissection and critical evaluation of the Pfizer/BioNTech and Moderna mRNA vaccines. *Vaccines* 9, 734. <https://doi.org/10.3390/vaccines9070734>.
- Yahi, N., Chahinian, H., Fantini, J., 2021. Infection-enhancing anti-SARS-CoV-2 antibodies recognize both the original Wuhan/D614G strain and Delta variants. A potential risk for mass vaccination? *J. Infect.* 83 (5), 607–635. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2021.08.010>.
- Yang, C., Hu, Y., Zhou, B., Bao, Y., Li, Z., Gong, C., Yang, H., Wang, S., Xiao, Y., 2020.
- The role of m6A modification in physiology and disease. *Cell Death Dis.* 11, 960. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-03143-z>.
- Yoshikawa, F.S., Teixeira, F.M., Sato, M.N., Oliveira, L.M., 2019. Delivery of microRNAs by extracellular vesicles in viral infections: could the news be packaged? *Cells* 8 (6), 611. <https://doi.org/10.3390/cells8060611>.

- Yu, X., Odenthal, M., Fries, J.W.U., 2016. Exosomes as miRNA carriers:formation–function–future. *Int. J. Mol. Sci.* 17, 2028. <https://doi.org/10.3390/ijms17122028>.
- Zaccara, S., Ries, R.J., Jaffrey, S.R., 2019. Reading, writing and erasing mRNA methylation. *Nat. Rev.* 20, 608–624. <https://doi.org/10.1038/s41580-019-0168-5>.
- Zakaria, Z., Sapiai, N.A., Izaini Ghani, A.R., 2021. Cerebral venous sinus thrombosis 2weeks after the first dose of mRNA SARS-CoV-2 vaccine. *Acta Neurochir.* 163 (8),2359–2362. <https://doi.org/10.1007/s00701-021-04860-w>.
- Zhang, J., Powell, S.N., 2005. The role of the BRCA1 tumor suppressor in DNA doublestrand break repair. *Mol. Cancer Res.* 3 (10), 531–539. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-05-0192>.
- Zhang, W., Luo, J., Yang, F., Wang, Y., Yin, Y., Strom, A., Gustafsson, J.Å., Guan, X., 2016. BRCA1 inhibits AR-mediated proliferation of breast cancer cells through the activation of SIRT1. *Sci. Rep.* 6, 22034. <https://doi.org/10.1038/srep22034>.
- Zhang, R., Xiao, K., Gu, Y., Liu, H., Sun, X., 2020. Whole genome identification of potential G-quadruplexes and analysis of the G-quadruplex binding domain for SARS-CoV-2. *Front. Genet.* 11, 587829 <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.587829>.
- Zhao, Y., Chen, W., Zhu, W., Meng, H., Chen, J., Zhang, J., 2017. Overexpression of interferon regulatory factor 7 (IRF7) reduces bone metastasis of prostate cancer cells in mice. *Oncol. Res.* 25 (4), 511. <https://doi.org/10.3727/096504016X14756226781802>.
- Zhou, M., Guo, J., Cha, J., Chae, M., Chen, S., Barral, J.M., Sachs, M.S., Liu, Y., 2013. Non-optimal codon usage affects expression, structure and function of clock protein FRQ. *Nature* 495 (7439), 111–115. <https://doi.org/10.1038/nature11833>.
- Zin Tun, G.S., Gleeson, D., Al-Joudeh, A., Dube, A., 2021. Immune-mediated hepatitis with the Moderna vaccine, no longer a coincidence but confirmed. *J. Hepatol.*<https://doi.org/10.1016/j.jhep.2021.09.031>. Oct 5. [Epub ahead of print].
- Zitvogel, L., Galluzzi, L., Kepp, O., Smyth, M.J., Kroemer, G., 2015. Type I interferons in anticancer immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 15 (7), 405–414. <https://doi.org/10.1038/nri3845>.
- Zoll, J., Erkens Hulshof, S., Lanke, K., Verduyn Lunel, F., Melchers, W.J.,Schoondermark-van de Ven, E., Roivainen, M., Galama, J.M., van Kuppeveld, F.J.,2009. Saffold virus, a human Theiler's-like coronavirus, is ubiquitous and causes