vaccines

MDPI

Review

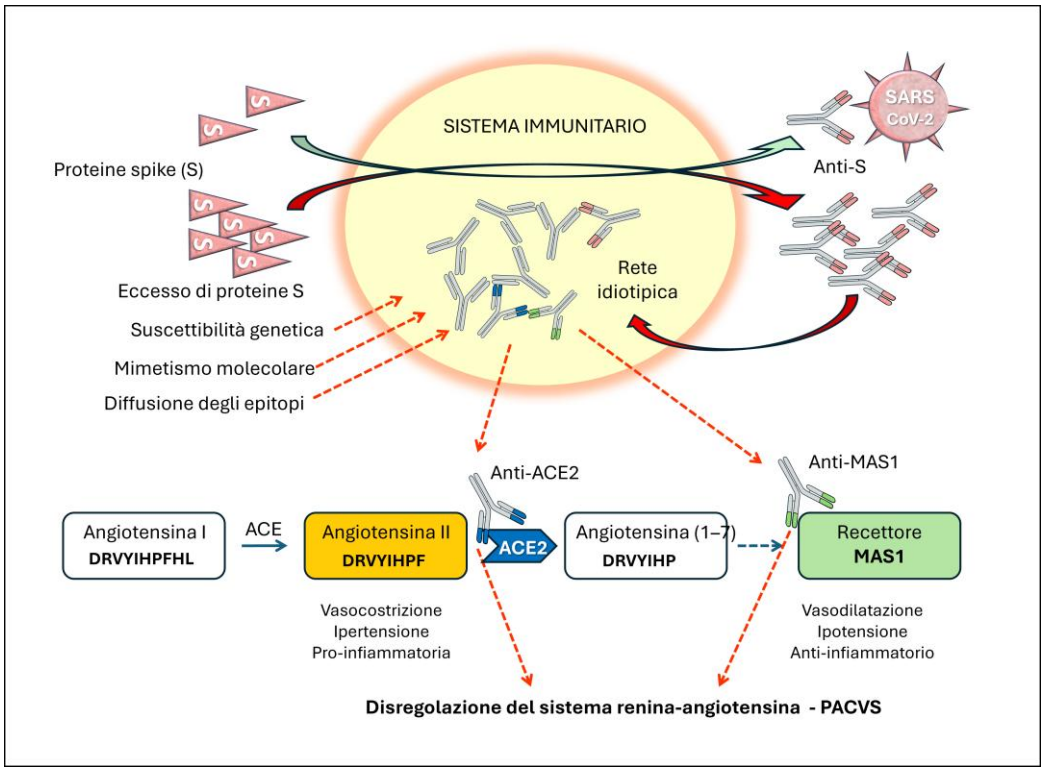
Caratteristiche autoimmuni della sindrome post-vaccinazione da COVID-19 e loro impatto sul sistema renina-angiotensina

Paolo Bellavite [1]*, Giuseppe Di Fede [2]*, Mauro Mantovani [2] and Elisabetta Zanolin [3]

[1] Independent Researcher, 37121 Verona, Italy
[2] Istituto di Medicina Biologica, 20129 Milano, Italy
[3] Unit of Epidemiology & Statistical Medicine, Department of Diagnostics and Public Health, University of Verona, 37134 Verona, Italy
* Correspondence: P.B.: paolo.bellavite@gmail.com; G.D.F.: giuseppe.difede@imbio.it

NB importante: Questo articolo è qui offerto in traduzione per le lettrici e i lettori italiani, ma va citato con la dizione originale: Bellavite P., Di Fede G., Mantovani M. and Zanolin E. Autoimmune Features of Post-COVID-19 Vaccination Syndrome and Their Impacts on the Renin–Angiotensin System. *Vaccines* **2026**, 14, 354. https://www.mdpi.com/2076-393X/14/4/354
È anche importante collegarsi al sito indicato dal giornale Vaccines e possibilmente scaricare l'originale in PDF.

Riassunto grafico



Academic Editor: Loredana Frasca
Received: 17 March 2026
Revised: 13 April 2026
Accepted: 14 April 2026
Published: 16 April 2026
Copyright: © 2026 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license..

Riassunto

Uno degli aspetti più critici della sindrome post-acuta da COVID-19 (PACS) e della sindrome post-vaccinazione da COVID-19 (PACVS) è la presenza di autoanticorpi. Tali autoanticorpi sono diretti contro diversi recettori del sistema nervoso autonomo e cardiovascolare, inclusi quelli che prendono di mira le proteine del sistema renina-angiotensina (RAS). Il RAS svolge un ruolo centrale nella regolazione dell'omeostasi vascolare,

dell'infiammazione e della funzione endoteliale. Durante l'infezione da SARS-CoV-2, l'interazione della proteina spike (S) con l'enzima di conversione dell'angiotensina 2 (ACE2) può alterare l'equilibrio del RAS, favorendo uno squilibrio a favore dell'asse ACE/Angiotensina II/AT1R, noto per le sue proprietà pro-infiammatorie, protrombotiche e vasocostrittive. Meccanismi patologici simili entrano in gioco anche in risposta ai vaccini che utilizzano la proteina S come antigene. Studi condotti da altri gruppi e da noi su pazienti con PACS e PACVS hanno rivelato la presenza di autoanticorpi diretti contro questi componenti del RAS e i meccanismi attraverso i quali questi anticorpi possono peggiorare la situazione clinica. In particolare, gli anticorpi anti-ACE2, presumibilmente formati dalla rete anti-idiotipica o dal mimetismo molecolare, sono correlati ai sintomi della PACVS in molti pazienti. Inoltre, la presenza di anticorpi anti-MAS1 può ridurre l'efficienza dell'asse ACE2/Angiotensina-(1-7)/MAS1, che normalmente agisce come controregolatore. Considerando queste conoscenze, un'analisi delle molecole del RAS e degli autoanticorpi implicati nelle reazioni ad esse potrebbe essere utile per valutare uno stato di disregolazione persistente associato a sintomi post-vaccinali come astenia, cefalea, edema cutaneo ed ecchimosi, alterazioni cardiovascolari e manifestazioni neurovegetative. Infine, offriamo spunti per la diagnosi di queste sindromi multifattoriali e ipotesi di lavoro per orientare la ricerca verso possibili approcci terapeutici.

Parole chiave: COVID-19 vaccination; Post-acute COVID-19 Syndrome; Post-acute COVID-19 Vaccination Syndrome; Spike protein; Angiotensin Converting Enzyme 2; Renin Angiotensin System; Autoantibodies; MAS1 receptor; Idiotype network; Anti-idiotype.

1. Introduzione

È noto da tempo che il COVID-19 può portare a complicazioni che prolungano il decorso della malattia e ne rendono più difficile il trattamento ("COVID lungo" o "sindrome post-acuta da COVID-19" - PACS), soprattutto in relazione alla sua gravità [1-4]. La prevalenza di questa condizione varia ampiamente nella letteratura a seconda della definizione utilizzata, della variante virale, dei sintomi considerati e della loro durata (settimane o mesi dopo l'infezione). Nel Regno Unito, il COVID lungo è stato riscontrato nel 4,5% e nel 10,8% dei casi rispettivamente di COVID-19 omicron e delta [5]. Un peggioramento dello stato di salute, con vari sintomi di origine neurologica e/o cardiaca, è frequente dopo aver superato la fase acuta del COVID-19, e si ipotizza che possa essere coinvolta la presenza di autoanticorpi diretti contro i recettori accoppiati alle proteine G (GPCR) [6].

Numerosi studi hanno evidenziato come anche i vaccini contro il COVID-19 possano causare reazioni avverse che persistono nel tempo (mesi o anni), anche dopo la fase acuta [7-11], generando sintomatologie spesso definite Sindrome Post-Acuta da Vaccinazione COVID-19 (PACVS) [12-18]. Un primo rapporto scientifico, che riportava le lamentele di molti pazienti riguardo agli effetti collaterali a lungo termine della vaccinazione contro il COVID-19 – principalmente annebbiamento mentale, mal di testa e fluttuazioni della pressione sanguigna – è apparso su Science il 20 gennaio 2022 [19]. Lo stesso rapporto sottolineava il notevole ritardo con cui il NIH (National Institutes of Health) aveva riconosciuto il problema, di cui i pazienti si lamentavano dalla primavera del 2021, e definiva questo silenzio "angosciante". Gli autori affermavano che diversi pazienti avevano riferito che i medici non sapevano come gestire la malattia e talvolta sostenevano che i sintomi fossero immaginari.

La PACVS è una sindrome altamente eterogenea che può presentare vari sintomi fisici che interessano tutto il corpo, come affaticamento generale e ipertensione, dolori

muscolari e articolari a carico di diversi apparati, intorpidimento degli arti, dispnea, tachicardia, nonché numerosi sintomi neurologici e neuropsichiatrici come insonnia, ansia e vertigini.

Molti segni e sintomi della PACVS, che caratterizzano un disturbo delle risposte autotonomiche e immunoendocrine alla vaccinazione, sono simili a quelli della PACS, suggerendo, almeno, una patogenesi parzialmente comune [10, 14, 20]. Anche i meccanismi autoimmuni sono stati implicati negli effetti avversi della vaccinazione [21-25], ma non è chiaro quali tipi di antigeni e anticorpi siano coinvolti. Alcuni autori hanno riscontrato livelli aumentati di autoanticorpi contro l'enzima di conversione dell'angiotensina 2 (ACE2, il principale recettore del SARS-CoV-2) e una serie di GPCR come MAS1 o recettori adrenergici e colinergici, nonché verso il recettore dell'angiotensina II di tipo 1 (AT1R), il recettore dell'endotelina A (ETAR), il recettore delle chemochine CXCR3, la stabilina-1 (Stab1), il recettore del fattore di crescita dei fibroblasti 3 (FGFR3) e il fattore piastrinico 4 (PF4) [26-30]. Il sospetto che si tratti di disturbi immuno-mediati deriva anche dalla loro somiglianza con i sintomi della tachicardia ortostatica posturale (POTS) e della sindrome da stanchezza cronica (CFS), entrambe considerate di origine autoimmune. Nello specifico, nella POTS sono stati rilevati livelli elevati di autoanticorpi diretti contro le proteine cardiache, i recettori dell'acetilcolina, i recettori β-adrenergici e i recettori muscarinici di tipo 2 e 3 [31].

La distinzione tra PACS e PACVS è difficile perché i sintomi sono simili e, in entrambi i casi, i meccanismi fisiopatologici sono in gran parte dovuti a una reazione distorta alle proteine S del virus SARS-CoV-2 o indotta dai vaccini [10, 24, 25, 32-34].

Nel complesso, la PACVS rimane una condizione poco compresa che richiede ulteriori ricerche per chiarirne la prevalenza, la prognosi, i fattori di rischio e i trattamenti. Ciò è dovuto a tre ragioni principali: a) le conseguenze a lungo termine delle vaccinazioni sono sistemiche e interessano più organi; b) le malattie autoimmuni sono sempre influenzate da predisposizioni individuali e, pertanto, la stessa causa può sviluppare anomalie diverse e assumere aspetti fenotipici diversi in individui diversi; e c) i meccanismi fisiopatologici e immunologici della risposta al vaccino e al virus si sovrappongono per molti aspetti, rendendo difficile distinguere le due situazioni in cui la maggior parte dei pazienti vaccinati ha anche contratto la malattia virale.

In alcuni casi, la PACVS si manifesta con segni e sintomi tipici di malattie già riconosciute come diagnosi consolidate, come la neuropatia delle piccole fibre (SFN) [22, 30, 35, 36], la POTS [18, 37], la CFS [11], o come sequele a lungo termine di malattie cardiache [38, 39]. In altri casi, i sintomi sono molto più lievi e variabili, e comprendono manifestazioni che vanno dalla parestesia ai disturbi visivi, dalle vertigini ai disturbi neuropsichiatrici, dalla dermatite alla coagulopatia. Sono stati segnalati anche sintomi infiammatori cutanei come sequele a lungo termine dei vaccini contro il COVID-19 [40-44].

I principali segni e sintomi della PACVS, come riportato da recenti pubblicazioni sull'argomento [10-12, 15, 45-48], sono riportati nella Tabella 1.

Table 1. Segni e sintomi della PACVS.

Localizzazione	Segni e sintomi
Pelle	Prurito, orticaria, eritema, eczema, comparsa di angiomi rubino, ecchimosi, petecchie
Sistema respiratorio	Difficoltà respiratorie anche con piccoli sforzi, broncospasmo, asma, fibrosi polmonare
Sistema gastrointestinale	Dolore addominale, diarrea, nausea, alterazioni dell'alvo, disbiosi e alterazioni del microbiota

Cardiovascolare	Ipotensione, ipertensione, sincope, tachicardia da cambiamenti di posizione da supina a eretta (POTS), extrasistoli, transizione improvvisa da bradicardia a tachicardia
Sistema nervosa centrale	Nebbia mentale, amnesia e difficoltà di concentrazione, cefalee ricorrenti, cefalea con aura, disturbi visivi, declino cognitivo progressivo accelerato
Sistema nervosa periferico	Parestesia degli arti periferici, dolore neuropatico
Sistema muscolare e scheletrico	Dolore osteomuscolare
Generale	Astenia, sensazione di bruciore interno

La patogenesi della PACVS comprende molti aspetti che coinvolgono fattori genetici, metabolici, immunologici e psicologici. In articoli dedicati alla sindrome post-COVID-19 e alla PACVS, altri autori hanno evidenziato come le proteine S possano danneggiare i mitocondri e causare disturbi del metabolismo energetico, il che potrebbe spiegare sintomi come affaticamento cronico e annebbiamento mentale [16, 47, 49, 50]. Tuttavia, ciò non spiega i sintomi più strettamente correlati ai fenomeni infiammatori, che sono più probabilmente associati a reazioni del sistema immunitario.

Una difficoltà particolare per coloro che sono colpiti dalle conseguenze a lungo termine dei vaccini COVID-19 è che la PACVS non è ancora codificata come malattia riconosciuta dai sistemi sanitari pubblici. Molti sintomi comuni della PACVS, considerati separatamente, sono stati registrati dai sistemi di farmacovigilanza come reazioni avverse, ma le autorità sanitarie finora non sono riuscite ad affrontare adeguatamente questa entità clinica [51]. Il problema fondamentale è che non esiste un consenso su quali siano i correlati clinici e diagnostici specifici. Di conseguenza, determinare la correlazione tra la malattia e la vaccinazione diventa ancora più difficile. Ciò dipende anche dal fatto che le reazioni avverse ai vaccini vengono in genere registrate nei primi giorni o, al massimo, nelle prime settimane successive all'inoculazione, mentre la durata dei sintomi è scarsamente monitorata dalla farmacovigilanza post-autorizzazione.

La prevalenza della PACVS tra le persone vaccinate è stata stimata intorno allo 0,02% [12], ma non sono stati riportati dati epidemiologici coerenti. Tuttavia, studi di farmacovigilanza attiva su giovani o persone in età lavorativa indicano una prevalenza dello 0,9% [51]. In uno studio condotto tra gli operatori sanitari nella Repubblica Ceca [52], l'1,4% dei partecipanti ha riportato effetti avversi dopo il vaccino a mRNA (Pfizer) della durata superiore a un mese, sebbene i sintomi di tale durata non siano stati descritti. In altri studi di farmacovigilanza attiva, sintomi generali come affaticamento cronico, mal di testa e dolori articolari e muscolari sono durati più di un mese nello 0,4% [53] o nello 0,2% dei partecipanti [54]. Queste diverse stime dipendono probabilmente dal fatto che non è ancora chiaro quali criteri o marcatori possano essere utilizzati per diagnosticare la PACVS e distinguerla da altre patologie post-vaccinazione con un decorso semi-acuto o cronico, come specifiche malattie organiche (epatite, miocardite, nefrite, ecc.).

In questa revisione, contribuiamo alla comprensione della patogenesi della PACVS affrontando l'autoimmunità e analizzando i meccanismi immunopatologici identificati fino ad oggi. Iniziamo riassumendo alcune evidenze di laboratorio derivanti dai nostri studi osservazionali e casi clinici, per poi esaminare gli aspetti relativi ai classici meccanismi anti-idiotipici e al mimetismo molecolare tra la proteina S derivata dal vaccino e le molecole presenti nel corpo umano. Ci concentriamo in particolare sull'autoimmunità verso ACE2 e MAS1, due componenti chiave del sistema renina-angiotensina (RAS). Infine, discutiamo i complessi e sfaccettati aspetti diagnostici della sindrome e formuliamo ipotesi razionali su potenziali terapie, che potrebbero guidare la futura ricerca clinica controllata in questo campo.

2. Studi osservazionali e casi clinici

Il nostro gruppo di ricerca, frutto della collaborazione tra l'Istituto di Medicina Biologica di Milano e professori dell'Università di Verona, ha inizialmente osservato il caso una paziente con PACVS grave, che ha causato inizialmente trombosi e poi sindrome disautonomica [45]. Studiando questa paziente, abbiamo osservato un aumento significativo degli anticorpi anti-GPCR, che poi sono diminuiti con due trattamenti di plasmaferesi terapeutica. Dopo questa esperienza iniziale, abbiamo continuato a vedere pazienti con conseguenze a lungo termine del COVID-19 e della vaccinazione. Dalla nostra serie di casi, abbiamo estratto l'anamnesi clinica e i dati di laboratorio di 17 individui (13 donne e 4 uomini; età media 44 anni) che non erano stati precedentemente infettati da COVID-19 e presentavano sintomi compatibili con PACVS [46]. Questi individui avevano ricevuto dosi multiple (min 1, max 3) di vaccini a vettore adenovirale (n = 2) o mRNA (n = 15) e il loro periodo di osservazione mediano dopo la vaccinazione è stato di 20 mesi (min 4, max 32). I pazienti erano sani prima della vaccinazione e tutti presentavano anticorpi IgG anti-S ma non anti-N. Pertanto, è quasi certo che la loro malattia sia stata causata dalla vaccinazione. Da allora, le nostre conoscenze cliniche si sono ampliate con l'osservazione di ulteriori casi e abbiamo acquisito maggiore esperienza negli approcci diagnostici e terapeutici, sebbene questi ultimi rimangano preliminari e di tipo osservazionale.

I casi di PACVS che abbiamo studiato ci hanno permesso di osservare le principali alterazioni di laboratorio e immunopatologiche. Una sintesi di questa analisi è fornita qui, insieme a una discussione sul disturbo immunologico primario osservato.

I sintomi dei nostri pazienti sono mostrati nella Figura 1, dai più frequenti (righe superiori) ai più rari (righe inferiori). Tutti i pazienti presentavano diversi dei sintomi elencati, con una media di 9,1 ± 3,5 (DS) sintomi per paziente (massimo: 16, minimo: 4).

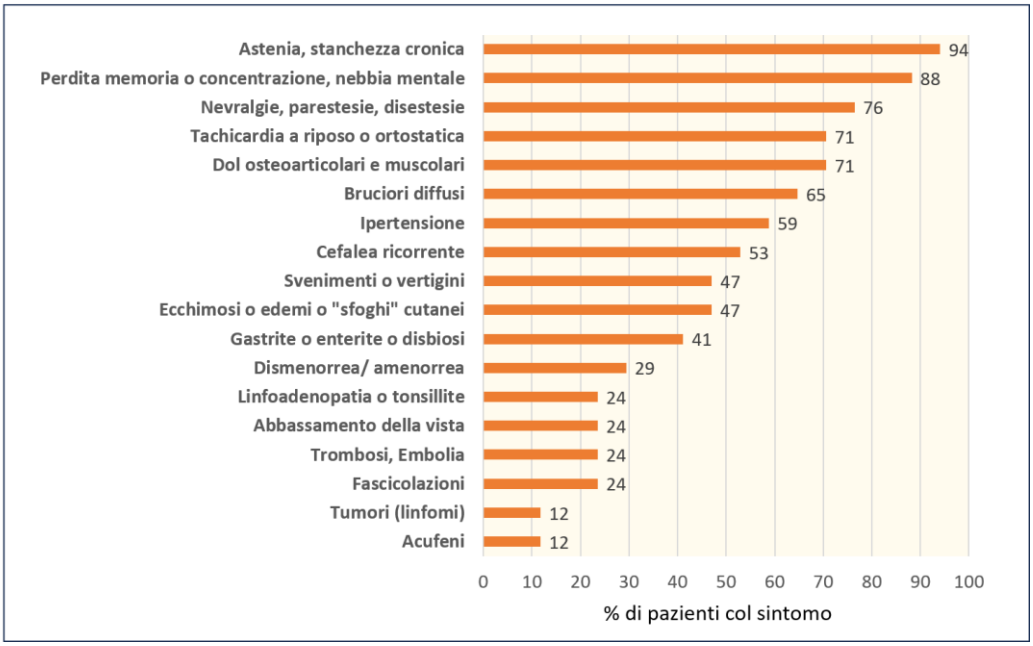


Figura 1. Frequenza percentuale di sintomi specifici di 17 pazienti con PACVS. Dati dal nostro studio di casi [46].

I sintomi riportati da quasi tutti i pazienti includevano grave affaticamento, perdita di concentrazione, amnesia, una sensazione descritta come "nebbia cerebrale" e sintomi neurologici come nevralgia o parestesia diffusa, spesso descritta come una sensazione interna di "bruciore". Sintomi di disautonomia cardiovascolare, come tachicardia a riposo e/o ortostatica e ipertensione, erano molto comuni. Artralgia e/o dolori muscolari sono

stati riportati da circa il 70% dei pazienti. Anche cefalea, svenimenti o vertigini e disturbi visivi erano comuni. Circa la metà dei pazienti presentava patologie cutanee, spesso ricorrenti, come eruzioni cutanee eritematose e/o edematose ed ecchimosi. Dismenorrea o amenorrea sono state frequentemente riportate nelle pazienti di sesso femminile. Va notato che i sintomi riportati erano gravi e persistenti o si presentavano come crisi ricorrenti e, in tutti i casi, hanno avuto un impatto significativo sulla qualità della vita.

Tra i 17 pazienti, 13 presentavano livelli di interleuchina 1-beta superiori al limite normale e 11 presentavano anche livelli aumentati di interleuchina 8, in linea con i risultati riportati da altri. In 16 pazienti, i livelli di cellule T regolatorie (Treg) erano inferiori al limite inferiore della normalità, in linea con un meccanismo autoimmune [55] e con i risultati riscontrati nei casi gravi di COVID-19 [56, 57]. Tra i 15 pazienti in cui è stata misurata la concentrazione plasmatica di angiotensina-(1-7) [ang-(1-7)], 10 (66,6%) presentavano livelli superiori al limite normale (226 ng/ml).

Gli anticorpi antinucleo (ANA), gli anticorpi anticitoplasma dei neutrofili (ANCA), gli anticorpi antinucleo estraibili (ENA) e gli anticorpi anti-muscolo cardiaco sono risultati negativi in tutti i casi testati. Data la negatività degli autoanticorpi convenzionalmente riconosciuti e il sospetto di una natura autoimmune della malattia, abbiamo avviato test anticorpali più specifici che non vengono comunemente eseguiti. Questi test includono un pannello di 16 anticorpi contro le proteine correlate al sistema RAS (ACE2 e MAS1) e altri recettori GPCR. I risultati nella nostra serie di pazienti sono mostrati nella Figura 2.

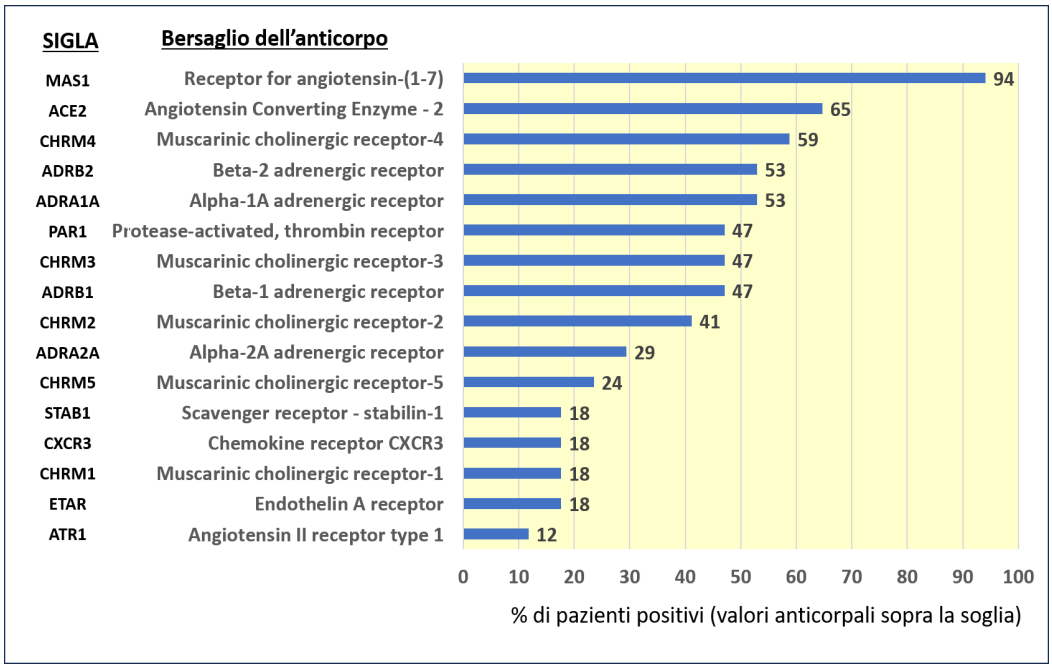


Figura 2. Percentuale (numero) di autoanticorpi positivi nel siero di un gruppo di pazienti con sintomi di PACVS. Il pannello di 16 anticorpi è stato testato su siero congelato utilizzando kit ELISA commerciali dal Prof. Dr. Kai Schulze-Forster e dal Dr. Harald Heidecke presso CellTrend GmbH–ImBio technologiepark, Luckenwalde, secondo le istruzioni del produttore (https://www.celltrend.de/). Il test è stato considerato positivo se il livello di anticorpi era superiore alla soglia di positività stabilita specificamente per ciascun anticorpo, utilizzando un valore determinato in soggetti sani dal laboratorio che ha eseguito i test [46, 58].

Nella maggior parte dei pazienti, gli anticorpi contro MAS1, ACE2, recettore colinergico muscarinico-4, recettore adrenergico beta-2 e recettore adrenergico alfa-1A hanno dato risultati positivi. Era quindi interessante verificare se la positività a uno qualsiasi di

questi anticorpi fosse correlata a sintomi specifici. Per la maggior parte degli anticorpi non è stata riscontrata alcuna correlazione con i sintomi, il che suggerisce che non siano coinvolti nell'espressione della patologia o che rappresentino un processo di adattamento interno del sistema immunitario senza implicazioni organiche dirette.

Sebbene il campione fosse di piccole dimensioni, abbiamo riscontrato una correlazione statisticamente significativa tra la positività agli anticorpi anti-ACE2 e sintomi quali ematomi, edema cutaneo o eruzioni cutanee (Figura 3).

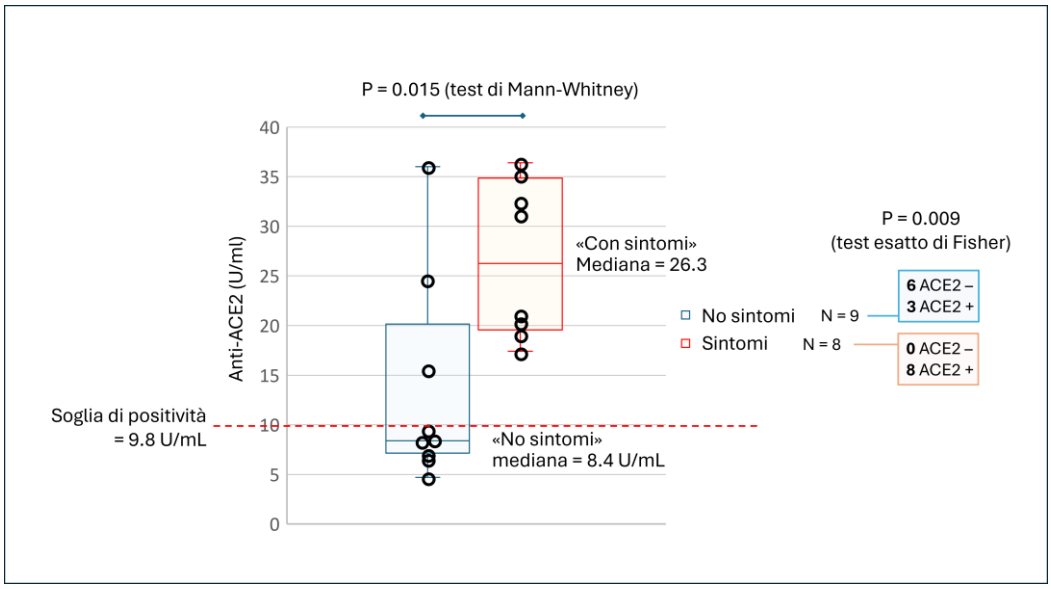


Figura 3. Diagramma a scatola (valutata tramite test di Mann-Whitney) dei livelli di anticorpi anti-ACE2 in soggetti con o senza sintomi di ematomi, edema cutaneo o eruzioni cutanee. Parte destra della figura: associazione (valutata tramite test esatto di Fisher) tra la presenza dei sintomi citati e la positività all'ACE2. Figura basata sui nostri dati di 17 pazienti con PACVS [46].

Su 17 pazienti, 9 senza i sintomi considerati presentavano una concentrazione mediana di anticorpi pari a 8,4 U/ml (intervallo interquartile = 7,5-15,6), mentre quelli sintomatici presentavano una mediana di 26,3 (intervallo interquartile = 19,8-34,0; test di Mann-Whitney: p= 0,015). Inoltre, degli 11 pazienti ACE2-positivi, 8 presentavano tali sintomi, mentre tra i 6 pazienti ACE2-negativi, nessuno presentava tali sintomi (test esatto di Fisher: p= 0,009).

Inoltre, un'analisi più dettagliata delle correlazioni tra anticorpi e sintomi presentati dai pazienti ha evidenziato che i casi positivi agli anticorpi ACE2 presentavano una maggiore prevalenza di ipertensione, cefalea, gastrite, ecchimosi, edema cutaneo, eruzioni cutanee, trombosi e riduzione della vista rispetto ai casi negativi agli stessi anticorpi ($p<0,001$) [46].

Nei nostri pazienti, abbiamo osservato un aumento degli anticorpi anti-MAS1 e, contemporaneamente, un aumento dell'ang-(1-7) in due terzi di essi. Quasi tutti i pazienti presentavano livelli di anti-MAS1 superiori alla soglia di normalità e la misurazione di questi anticorpi ha chiaramente distinto i pazienti con sintomi come la sensazione di bruciore diffusa da quelli senza tali sintomi. Il livello sierico mediano di anticorpi anti-MAS1 in 5 pazienti senza questi sintomi era di 30,9 U/ml (intervallo 28,7-44,6), mentre quello in 12 pazienti con questi sintomi era di 51,6 U/ml (intervallo interquartile 45,1-53,6) (test di Mann-Whitney: $p<0,009$).

In un caso recente osservato nel nostro ambulatorio (non incluso nello studio precedente), l'aumento degli anticorpi anti-MAS1 è stato particolarmente marcato e ha

rappresentato, di gran lunga, la maggiore deviazione rispetto agli altri anticorpi del pannello autoimmune utilizzato.

Una donna di 55 anni affetta da una patologia post-vaccinazione contro il COVID-19, ha manifestato principalmente artralgia, eritema cutaneo, parestesie urenti diffuse e crisi ipertensive ricorrenti. In questa paziente, la maggior parte degli autoanticorpi è risultata negativa: gli anticorpi anti-recettore α-1-adrenergico e anti-recettore β-2-adrenergico erano appena al di sopra della norma, mentre gli anticorpi anti-MAS1 erano ben al di sopra della soglia patologica (25,0 U/ml), raggiungendo i 94,5 U/ml. I test per ANA, ENA e ANCA hanno dato esito negativo. I dettagli di questo caso sono riportati nel file supplementare in calce (prima della bibliografia).

Un altro aspetto importante è che recenti test condotti nel nostro laboratorio hanno rivelato alti livelli di anticorpi IgG anti-SARS-CoV-2 S-RBD e anticorpi IgG e IgM anti-SARS-CoV-2 Nucleocapside. Questi dati suggeriscono che il sistema immunitario rimane stimolato, il che potrebbe spiegare la persistenza della malattia autoimmune. Chiaramente, la presenza di anticorpi anti-nucleocapside suggerisce anche un'infezione virale, ma l'anamnesi clinica indica che gli effetti avversi sono comparsi pochi giorni dopo la vaccinazione e prima della prima infezione da SARS-CoV-2, avvenuta e documentata tramite PCR il 24 dicembre 2021. È importante considerare che, in relazione ai meccanismi qui evidenziati, una volta che il disturbo è innescato dal vaccino, qualsiasi nuovo incontro con antigeni virali, anche senza causare una malattia grave, può teoricamente riattivare l'autoimmunità.

L'analisi genetica ha documentato la presenza di entrambe le mutazioni/polimorfismi C677T e A1298C nel gene della metilenetetraidrofolato reduttasi (MTHFR) in stato eterozigote. Ciò potrebbe suggerire l'esistenza di una predisposizione genetica che ha causato la malattia dopo lo stimolo vaccinale, che ha agito da fattore scatenante. Infatti, altri studi hanno riportato una mutazione del gene MTHFR in pazienti con COVID-19 grave [59-61], eventi avversi correlati al vaccino contro il COVID-19 [62-64] e altre malattie autoimmuni [65].

Chiaramente, un singolo caso non può dimostrare che la causa della PACVS in questo paziente sia precisamente un eccesso di anticorpi anti-MAS1. Tuttavia, evidenzia la rilevanza del fenomeno, poiché i criteri che devono essere soddisfatti per stabilire un nesso causale includono, oltre a un intervallo di tempo compatibile e all'assenza di altre spiegazioni alternative per la patologia, anche la plausibilità biologica e la presenza di casi simili descritti in letteratura [66, 67]. Nelle sezioni successive, esamineremo come i disturbi del sistema RAS indotti dalla presenza di autoanticorpi anti-ACE2 e anti-MAS1 potrebbero spiegare almeno alcuni dei sintomi riportati dai pazienti affetti da PACS e PACVS.

3. Aspetti immunopatologici della PACVS

I primi fenomeni autoimmuni di nuova insorgenza segnalati dopo la vaccinazione contro il COVID-19 sono stati trombocitopenia trombotica immunitaria, malattie epatiche, sindrome di Guillain-Barré, nefropatia da IgA, artrite reumatoide, alopecia areata, psoriasi, crisi ipertensiva, miocardite e pericardite, diabete mellito di tipo 1 ed epatite [68-76]. È già stato riportato che la vaccinazione contro il COVID-19 aumenta il rischio di sviluppare malattie renali [77], malattie epatiche autoimmuni [78], lupus eritematoso sistemico [79], e una dose di richiamo del vaccino è stata associata a un aumento del rischio di alcune malattie autoimmuni, tra cui alopecia areata, psoriasi e artrite reumatoide [73]. Le riacutizzazioni di malattie reumatiche autoimmuni si verificano in circa 1 paziente su 10 dopo la vaccinazione contro il COVID-19 [80].

Per quanto riguarda le sequele neurologiche, sia a seguito del COVID-19 che della sua vaccinazione, sono state descritte complicazioni quali disturbi dello stato mentale e

del linguaggio, cambiamenti comportamentali, difficoltà di movimento e convulsioni [81-83]. Come osservato anche nella nostra coorte (Figura 1), tra le sequele croniche dei vaccini, sono stati spesso segnalati problemi dermatologici correlati all'infiammazione, in particolare sintomi orticarioidi [40-44, 84, 85]. In una coorte di 159 donne e 32 uomini con PACVS, il 19,37% presentava sintomi sovrapponibili a quelli della sindrome da attivazione dei mastociti (MCAS) [12], i cui sintomi principali sono orticaria, angioedema e rossore [86].

Più recentemente, si è compreso che molte manifestazioni autoimmuni non colpiscono un singolo organo ma sono di natura sistemica, con notevoli variazioni tra i diversi individui, il che ha portato all'emergere di una nuova sindrome autoimmune chiamata PACVS. Questo è simile a quanto osservato con le conseguenze del COVID-19, che vengono raggruppate sotto la definizione di PACS.

È importante notare che l'infezione da virus SARS-CoV-2 è anche associata a un aumentato rischio di malattie autoimmuni come spondiloartrite, artrite reumatoide, psoriasi, pemfigoide, morbo di Graves, sindrome da anticorpi antifosfolipidi, trombocitopenia immuno-mediata, sclerosi multipla e vasculite [79, 87]. Pertanto, la vaccinazione può causare autoimmunità, ma può anche proteggere indirettamente dall'autoimmunità causata dal virus. Bilanciare i benefici e i rischi dei vaccini è una valutazione estremamente complessa che va oltre lo scopo di questa revisione, poiché richiede la conoscenza della suscettibilità individuale e, soprattutto, del rischio epidemiologico della malattia e della sua gravità nelle diverse fasi della vita.

I meccanismi della patologia post-vaccinazione variano a causa della complessa composizione delle nanoparticelle lipidiche o dei vaccini adenovirali. Tuttavia, tra le principali fonti di reazioni avverse acute o croniche vi è la proteina S [18, 24, 32, 34, 88, 89]. In seguito alla produzione da parte delle cellule trasfettate dal vaccino, questa proteina viene espressa sulla membrana cellulare o rilasciata nell'ambiente dei linfonodi e può anche entrare nel sangue ed essere distribuita a vari tessuti. La proteina S ha caratteristiche molto simili, sebbene non identiche, a quelle del virus [24]; in qualche modo mima l'azione patogena del virus, interagendo con i recettori ACE2 e innescando risposte immunitarie disregolate. I principali meccanismi che spiegano l'insorgenza dell'autoimmunità sono i seguenti:

1. **L'effetto adiuvante delle nanoparticelle lipidiche** [90] o la presenza di **impurezze** [91-93], che possono dipendere dal lotto di produzione [94, 95];
2. Sintesi cellulare di **proteine S ricombinanti** con spostamento del modulo di lettura anomalo o di loro frammenti [96, 97];
3. **Mimetismo molecolare** probabilmente dovuto alla somiglianza della proteina S con i componenti delle cellule umane [24, 28, 76, 98-101];
4. **Rete idiotipica** [102, 103] e diffusione degli epitopi [104];
5. **Suscettibilità genetica**, ad esempio aplotipo HLA [100], MTHFR [62, 63], sesso femminile [105, 106].

Considerando l'importanza dell'ACE2 come principale recettore del SARS-CoV-2 e la sua funzione enzimatica all'interno del RAS, noi [24, 46] e altri [102, 107, 108] abbiamo sviluppato un'ipotesi secondo la quale gli anticorpi anti-ACE2 si formerebbero attraverso un meccanismo immunologico anti-idiotipo (Figura 4).

La rete idiotipica rappresenta una delle teorie immunologiche più importanti, insieme alla selezione clonale (che spiega la specificità della risposta immunitaria) e alla delezione clonale (che spiega la tolleranza immunitaria). Questo concetto, sviluppato da Niels Jerne [110], che lo descrisse con straordinaria chiarezza alla fine del secolo scorso, si basa sull'idea che l'idiotipo (dal greco ἴδιος /'idios/, "proprio") – ovvero la regione di un anticorpo che si lega all'antigene – possa essere riconosciuto dal sistema immunitario

come una struttura potenzialmente estranea e possa, di conseguenza, diventare bersaglio di un altro anticorpo, chiamato anti-idiotipo.

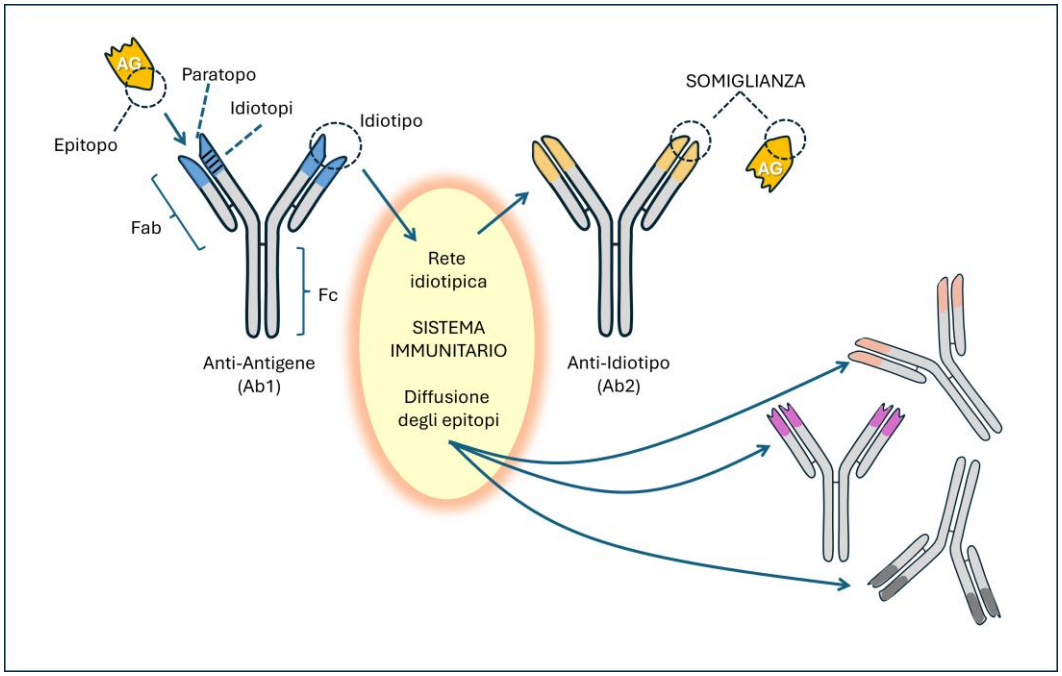


Figura 4. Illustrazione schematica della formazione di anticorpi anti-idiotipici. L'epitopo (o determinante antigenico) è la piccola porzione dell'antigene che lega l'anticorpo specifico. Il paratopo è la regione specifica di un anticorpo (Ab1) che riconosce e si lega all'epitopo dell'antigene, funzionando come una "chiave" che si inserisce nella "serratura" dell'antigene. Il termine idiotipo indica un'intera collezione di idiotopi e paratopi presenti in una singola molecola di immunoglobulina che si sviluppa a causa di mutazioni somatiche nei linfociti B [107]. I paratopi, che rappresentano parti di proteine "nuove", hanno il potenziale di indurre anticorpi anti-idiotipici (Ab2), che possono essere considerati un'"immagine interna" dell'antigene esterno originale. Nel caso dei vaccini COVID-19, alcuni cloni Ab2 possono avere parti della molecola simili alla proteina S e, di conseguenza, potrebbero anche legarsi al suo bersaglio, ACE2. La diffusione degli epitopi è definita come la diversificazione della specificità degli epitopi dalla risposta immunitaria iniziale focalizzata e dominante specifica per l'epitopo, diretta contro una proteina propria o estranea, a epitopi subdominanti e/o criptici su quella proteina (diffusione intramolecolare) o su altre proteine simili (diffusione intermolecolare) [109].

Gli idiotipi possono essere considerati proteine estranee e, quindi, immunogeniche. L'anticorpo anti-idiotipo (Ab2) si lega ai domini variabili idiotipici di un anticorpo. Il paratopo dell'anticorpo Ab2 mima l'antigene originale come se fosse un'immagine interna completa dell'antigene e può mostrare un'attività funzionale che assomiglia all'attività fisiologica naturale dell'antigene. Secondo la teoria della rete immunitaria [110], si sviluppa una rete di diversi cloni tra anticorpi anti-idiotipici (Ab2, Ab3, Ab4, ecc.) [103, 111, 112]. Questa rete può generare una vasta serie di recettori e anticorpi anti-idiotipici, che amplia il repertorio di epitopi [76, 113, 114].

Sebbene il meccanismo idiotipico sia il più probabile, anche un classico meccanismo di mimetismo molecolare potrebbe essere coinvolto nell'autoimmunità. Infatti, la proteina S condivide una significativa omologia con varie proteine o peptidi umani [98, 99, 115-117]. Molte proteine umane sono state indicate come coinvolte nel fenomeno del mimetismo perché hanno peptidi in comune con la proteina S [99]. Questi autori hanno sottolineato la reattività crociata con l'adiponectina, con il recettore dell'adenosina A2b, con il

recettore del macrofago C163A, con il fattore di trascrizione CREB1 che controlla l'espressione di NF-κB e con l'IL-10. È stato inoltre identificato un gran numero di pentapeptidi condivisi tra la proteina S e le proteine di H. sapiens, tra cui 39 proteine sono state collegate all'omeostasi dell'assone e della mielina [118]. In particolare, alcune proteine, come il fosfacano, l'attractina, la teneurina-4 e la glicoproteina associata alla mielina, sono state identificate come bersagli suscettibili delle cellule B e T. Secondo Nunez-Castilla et al. [119], un motivo TQLPP (Treonina–Glutammina–Leucina–Prolina–Prolina) nelle proteine S condivide proprietà di legame anticorpale simili con la trombopoietina e può indurre trombocitopenia. Un altro motivo, ELDKY (Acido Glutammico–Leucina–Acido Aspartico–Lisina–Tirosina), è condiviso da diverse proteine umane, come la proteina chinasi G1, coinvolta nell'attivazione piastrinica, e la tropomiosina, collegata alle malattie cardiache.

Mizuno et al. [120] hanno valutato il mimetismo molecolare sia bioinformaticamente che in vitro e hanno identificato un anticorpo con elevata affinità per la proteina spike che reagisce in modo crociato con un motivo EPLDVL (Acido Glutammico–Prolina–Leucina–Acido Aspartico–Lisina–Valina–Lisina) presente in diverse proteine umane espresse principalmente nell'intestino tenue, nelle ovaie e nello stomaco. Una percentuale significativa di pazienti infetti da SARS-CoV-2 ha sviluppato autoanticorpi contro l'angiotensina II, un fenomeno che potrebbe spiegare la disregolazione della pressione sanguigna e una maggiore gravità della malattia [121]. Questi autoanticorpi si formerebbero per reazione crociata tra il dominio di legame al recettore della proteina S e l'angiotensina II, suggerendo quindi una certa mimesi epitopica tra le due proteine, entrambe capaci di legarsi all'ACE2. Sulla base di questi risultati, è stata raccomandata una rivalutazione della composizione del vaccino e l'esclusione dei peptidi a reazione crociata dagli epitopi del vaccino per prevenire possibili reazioni autoimmuni [118, 120].

Una recente analisi ha dimostrato che la proteina S condivide elementi strutturali con l'ACE2, con allineamenti che racchiudono informazioni sulla trascrizione, l'idrofobicità e la struttura secondaria della proteina (cinque livelli di concordanza in totale) [122]. Nello specifico, segmenti della proteina S del SARS-CoV-2 (residui 49-53, 226-230, 418-428, 529-536, 744-774 e 977-980) presentano somiglianze strutturali e chimiche con alcuni segmenti del recettore ACE2 (residui 137-141, 335-345, 350-352, 463-471 e 545-573). Queste aree potrebbero far parte di motivi strutturali funzionali comuni a entrambe le proteine.

Inoltre, un ruolo patogeno potrebbe essere svolto dalle nanoparticelle lipidiche che caratterizzano questi vaccini, composte da sostanze come polietilenglicole, lipidi cationici, fosfolipidi e colesterolo, che possono agire come adiuvanti, stimolando la secrezione di citochine pro-infiammatorie come IL-1 beta, IL-8 e specie reattive dell'ossigeno [123, 124].

3.1. Il Ruolo di ACE2

Al centro di questa discussione c'è l'ACE2, che rappresenta il punto di ingresso sia per il virus SARS-CoV-2 sia per il recettore della proteina S del vaccino. Tuttavia, l'ACE2 non è solo un recettore: presenta anche attività enzimatica, catalizzando la conversione dell'angiotensina II in ang-(1-7) e svolgendo un ruolo nel metabolismo della bradichinina. Questa duplice funzione, sia recettoriale che enzimatica, è cruciale per molteplici processi fisiologici. Dal punto di vista recettoriale, l'ACE2 facilita l'ingresso del virus nelle cellule; dal punto di vista enzimatico, la sua inibizione porta all'accumulo di angiotensina II, con conseguenti effetti pro-ipertensivi, pro-coagulanti e pro-infiammatori, nonché un aumento dello stress ossidativo e del dolore mediato dalla bradichinina. Inoltre, il coinvolgimento del recettore ACE2 nell'attivazione piastrinica porta a un aumento dell'aggregazione piastrinica, facilitando la trombosi.

Nel migliore dei casi, come illustrato nella Figura 5 (parte superiore), il vaccino induce la produzione della proteina S, che stimola il sistema immunitario a generare anticorpi specifici contro di essa. Questi anticorpi neutralizzano il virus, impedendone

l'interazione con l'ACE2 e riducendo la probabilità di infezione. Questo è il meccanismo auspicabile, che idealmente dovrebbe fornire almeno una protezione temporanea dopo la vaccinazione.

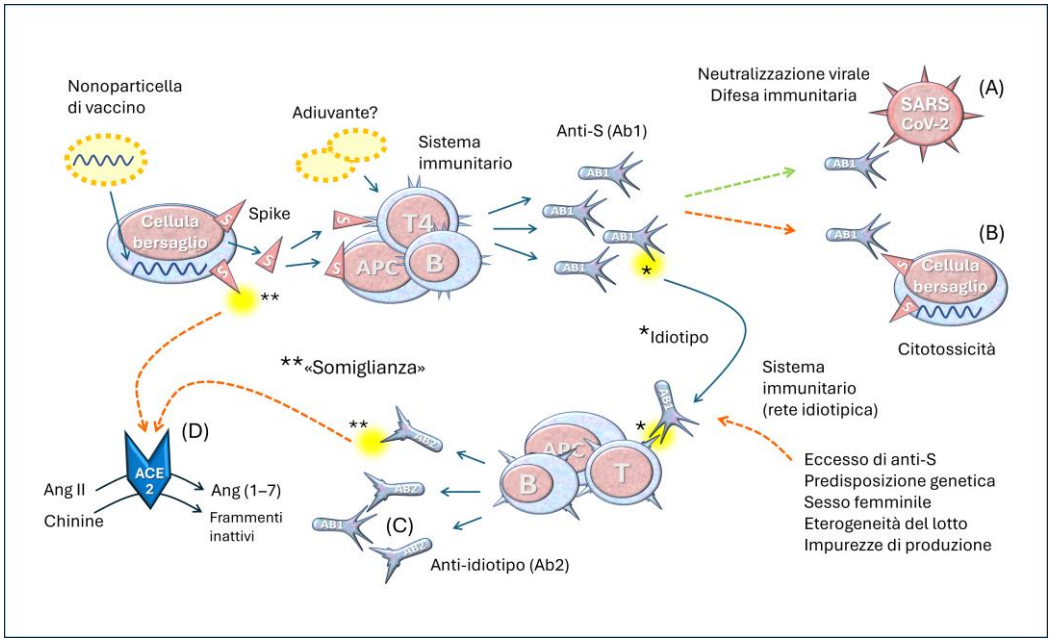


Figura 5. Modello concettuale semplificato della formazione di anticorpi anti-S e anti-ACE2 in seguito alla vaccinazione contro il COVID-19. La parte superiore illustra la sintesi degli anticorpi anti-S (Ab1) e le loro utili funzioni antivirali (A) o dannose e citotossiche (B). La parte inferiore illustra la sintesi degli anticorpi anti-idiotipo (Ab2), che agiscono mantenendo l'omeostasi immunitaria (C) o interagendo con l'ACE2, interrompendo così l'omeostasi del sistema renina-angiotensina (RAS) (D). Questa figura non illustra la presenza di recettori ACE2 solubili nel siero (sACE2), che aggiungono un ulteriore livello di complessità alla fisiopatologia. Frecce continue: cambiamenti nel sistema immunitario e produzione di anticorpi; freccia tratteggiata verde: effetti fisiologici; frecce tratteggiate rosse: effetti patologici. * Complementarietà molecolare degli idiotipi. ** Somiglianza molecolare tra la proteina S e Ab2.

Tuttavia, sorge un problema quando questi stessi anticorpi anti-S si legano alle proteine S espresse dalle cellule dell'organismo anziché neutralizzare semplicemente il virus. Di conseguenza, possono attaccare le stesse cellule che producono la proteina S, come nel caso delle cellule cardiache. Questo fenomeno rappresenta uno dei principali problemi di questa strategia vaccinale e costituisce un grave difetto concettuale nella progettazione di questi vaccini.

Nella parte inferiore della Figura 5, viene delineato un possibile ruolo patogenetico degli anticorpi anti-ACE2 idiotipici. L'ipotesi è che la vaccinazione e le complicanze del COVID-19 diano origine ad anticorpi anti-idiotipici la cui forma spaziale può portare a interazioni con le molecole ACE2, soprattutto in individui con sintesi prolungata della proteina S. Altri hanno suggerito che gli anticorpi anti-idiotipici, con una forma simile alla proteina S, probabilmente interagiscono con le molecole ACE2 e causano vari sintomi [103]. Questo meccanismo non rappresenta una condizione patologica; è un fenomeno fisiologico di autoregolazione immunitaria che aiuta a bilanciare la presenza di anticorpi e a prevenire un'eccessiva produzione di nuove immunoglobuline. Bisogna inoltre considerare che ogni anticorpo possiede degli idiotipi e che gli anti-idiotipi danno origine a ulteriori generazioni di anticorpi (Ab3, Ab4, ecc.), generando così una rete regolatoria. Alcuni ricercatori ritengono di poter sfruttare questo meccanismo per creare anticorpi neutralizzanti contro il virus dell'influenza A [125].

Tuttavia, in alcune circostanze, questo equilibrio può essere alterato, portando a una disregolazione. Tale squilibrio può manifestarsi attraverso una sovrapproduzione dell'anti-idiotipo, in cui l'anticorpo Ab2 non solo attacca l'anticorpo primario, ma inizia anche a interagire con altre strutture biologiche, generando effetti inattesi e potenzialmente dannosi. Questo è precisamente il fenomeno che abbiamo osservato nei nostri studi, che si inseriscono in una linea di ricerca portata avanti da diversi gruppi [20, 71, 107, 108].

Uno scenario possibile è il seguente: quando la produzione di anticorpi anti-S diventa eccessiva, ovvero si configura come una condizione di sovraccarico immunologico, il sistema immunitario reagisce generando grandi quantità di anticorpi anti-idiotipo (Ab2). Questi anticorpi hanno la capacità di legarsi agli anticorpi anti-S (Ab1), che a loro volta riconoscono e si legano alla proteina S. In particolare, gli anticorpi Ab2 possono assumere una conformazione strutturale simile alla proteina S stessa. Ciò significa che gli anti-idiotipi sviluppano una capacità inaspettata: possono interagire con il recettore ACE2, lo stesso recettore bersaglio della proteina S virale. Questo argomento è stato ampiamente discusso in altri articoli [24, 126].

Il fatto che le dosi di anti-ACE2 siano correlate ai livelli di anti-S [46, 127] supporta questa ipotesi. Altri autori hanno osservato un aumento significativo di anti-ACE2 dopo la vaccinazione contro il COVID-19 [20, 128]. Infine, Collins et al. [108] hanno dimostrato che la vaccinazione sequenziale con mRNA di SARS-CoV-2 in topi transgenici hACE2 può indurre risposte anticorpali sia anti-S che anti-ACE2, e quest'ultima è stata gradualmente amplificata ad ogni richiamo. Questo risultato è molto importante perché fornisce una conferma sperimentale delle osservazioni empiriche sugli esseri umani e dimostra che la vaccinazione non è seguita solo dalla produzione di anticorpi antigene-specifici, come comunemente si crede, ma anche da una serie di anticorpi secondari, che non erano stati osservati negli studi di registrazione. Se venisse confermato un ruolo patogeno per gli anticorpi anti-ACE2, la loro misurazione dovrebbe essere inclusa tra i controlli chiave nei futuri studi clinici di questi vaccini di nuova concezione.

3.2. Il Ruolo di MAS1

MAS1 codifica un recettore accoppiato a proteina G che lega ang-(1–7), con effetti antinfiammatori, antifibrotici e antiangiogenici. Questo recettore è parte integrante del braccio protettivo del RAS, spesso indicato come asse ACE2/ang-(1–7)/MAS1. Questo asse controbilancia gli effetti della via classica ACE/angiotensina II/recettore AT1, nota per promuovere vasocostrizione, infiammazione, fibrosi e ipertensione [129]. Il ruolo cruciale di ang-(1–7) nell'infiammazione è evidenziato dalla sua inibizione concentrazione-dipendente della produzione e secrezione del fattore di necrosi tumorale alfa e dell'interleuchina-6 nei macrofagi indotti da LPS. Questi effetti inibitori sono stati invertiti da A-779, un antagonista del recettore MAS1 [130]. È stato inoltre riportato che, in un modello murino di asma, il trattamento con ang-(1–7) ha esercitato funzioni antinfiammatorie, mediate dall'inibizione della via di segnalazione Src/EGFR/ERK1/2 [131].

La stimolazione di MAS1 e/o la sua maggiore espressione contribuiscono al mantenimento di una sana omeostasi vascolare generando un graduale aumento della prostaciclina, che riduce il rischio di trombosi attraverso l'aumento del fattore di trascrizione vasoprotettivo Sirtuina 1 e l'inibizione dell'attivazione piastrinica [132]. In modelli di laboratorio, ang-(1–7) ha mostrato effetti neuroprotettivi, riducendo significativamente il danno ossidativo indotto dal rotenone nelle cellule neuronali e aumentando la superossido dismutasi (SOD) e il glutatione (GSH) [133, 134]. Nei ratti spontaneamente ipertesi, l'iniezione di ang-(1–7) mostra effetti ipotensivi [135], e nei ratti Wistar controregola la risposta contrattile miocardica all'acetilcolina [136]. Questi effetti sono stati bloccati dall'antagonista del recettore MAS, A-779. Inoltre, ang-(1–7) ha aumentato l'espressione

del recettore MAS1 e ridotto l'attivazione della NADPH ossidasi, ed entrambi gli effetti sono stati completamente eliminati da A-779 [137].

È noto da tempo che la disfunzione dell'asse ACE2/ang-(1–7)/MAS1 ha profonde ripercussioni sul sistema nervoso centrale, in particolare per quanto riguarda le malattie cardiovascolari, come l'ipertensione, l'insufficienza cardiaca cronica e l'ictus, nonché le malattie neurologiche [138]. Diversi autori hanno descritto la presenza di autoanticorpi contro MAS1 nei pazienti con COVID-19 [139]. Nei pazienti affetti da PACS, caratterizzata da uno spettro di sintomi neurologici e cardiovascolari, sono stati rilevati autoanticorpi funzionalmente attivi diretti contro i recettori MAS1 [6]. Testati su cardiomiociti di ratto, questi anticorpi hanno mostrato un effetto cronotropo negativo [6].

Il ruolo centrale dell'asse ACE2/ang-(1–7)/MAS1 è suggerito anche dalla scoperta di una rara variante del gene MAS1 (c.446C>T p.(S149L) presente esclusivamente in un paziente con COVID-19 grave, deceduto a causa di polmonite e molteplici eventi trombotici [140]. Inoltre, uno studio osservazionale che analizza i profili di espressione genica dei recettori RAS in pazienti COVID-19 ospedalizzati ha rivelato un'associazione tra ridotta espressione di MAS1 nei pazienti anziani e in quelli che necessitavano di ossigenoterapia [141]. Questi risultati sottolineano l'importanza dell'asse ACE2/ang-(1–7)/MAS1 nella regolazione dell'infiammazione e suggeriscono che il targeting di questa via potrebbe avere un potenziale terapeutico.

È difficile spiegare il frequente aumento degli anticorpi anti-MAS1, poiché non sono state descritte omologie con proteine virali o vaccinali. Una possibile ipotesi è quella della "diffusione dell'epitopo" all'interno della rete idiotipica. Infatti, supponendo che gli anticorpi anti-ACE2 blocchino l'enzima funzione, è concepibile che anticorpi “simili” generati dalla rete idiotipica e dalla diffusione dell’epitopo siano anche in grado di interagire con MAS1. Il sito di legame di ACE2 per l’angiotensina II dovrebbe essere molto simile al sito di legame del recettore di MAS1, poiché le due proteine legano peptidi che differiscono per un solo aminoacido, la fenilalanina. Una singola molecola antigenica può contenere diversi epitopi riconosciuti da diversi anticorpi, e lo stesso accade per le catene variabili delle immunoglobuline, che sono viste come nuovi antigeni. Questo processo segue le infezioni e complica le malattie autoimmuni poiché il danno tissutale rilascia nuovi antigeni e anticorpi correlati, portando all’amplificazione della reazione immunitaria e alla persistenza della malattia [113]. Questo fenomeno è stato invocato anche nel contesto dell’autoimmunità nel long COVID [104].

3.3. La Disregolazione Immunologica del RAS

Nella COVID-19 e nelle patologie post-vaccinali, il RAS è al centro della disregolazione immunologica di importanti sistemi regolatori, in particolare il sistema cardiovascolare e quello della coagulazione [101, 139, 141-148].

La Figura 6 riassume la funzione del RAS e i principali punti in cui tre diversi tipi di anticorpi possono agire contro la proteina S, l'ACE2 e il MAS1.

La renina, prodotta dal rene in risposta all'ipotensione e all'iponatriemia, scinde la molecola di angiotensinogeno in corrispondenza di un residuo di leucina, generando il decapeptide angiotensina I, che viene poi convertito nel prodotto biologicamente attivo angiotensina II nei capillari polmonari. L'angiotensina II media la maggior parte delle sue funzioni fisiologiche attraverso il recettore AT1, contribuendo all'omeostasi vascolare, ma livelli elevati sono dannosi, causando vasocostrizione e stress ossidativo [149]. L'ACE2 può scindere l'angiotensina I per generare il peptide inattivo angiotensina-(1–9), che può poi essere convertito nell'eptapeptide ang-(1–7) tramite ACE o altre peptidasi. L'ACE2 può anche metabolizzare direttamente l'angiotensina II in ang-(1–7). Quest'ultimo peptide agisce sul recettore MAS1, promuovendo vasodilatazione, antiproliferazione e antiipertrofia.

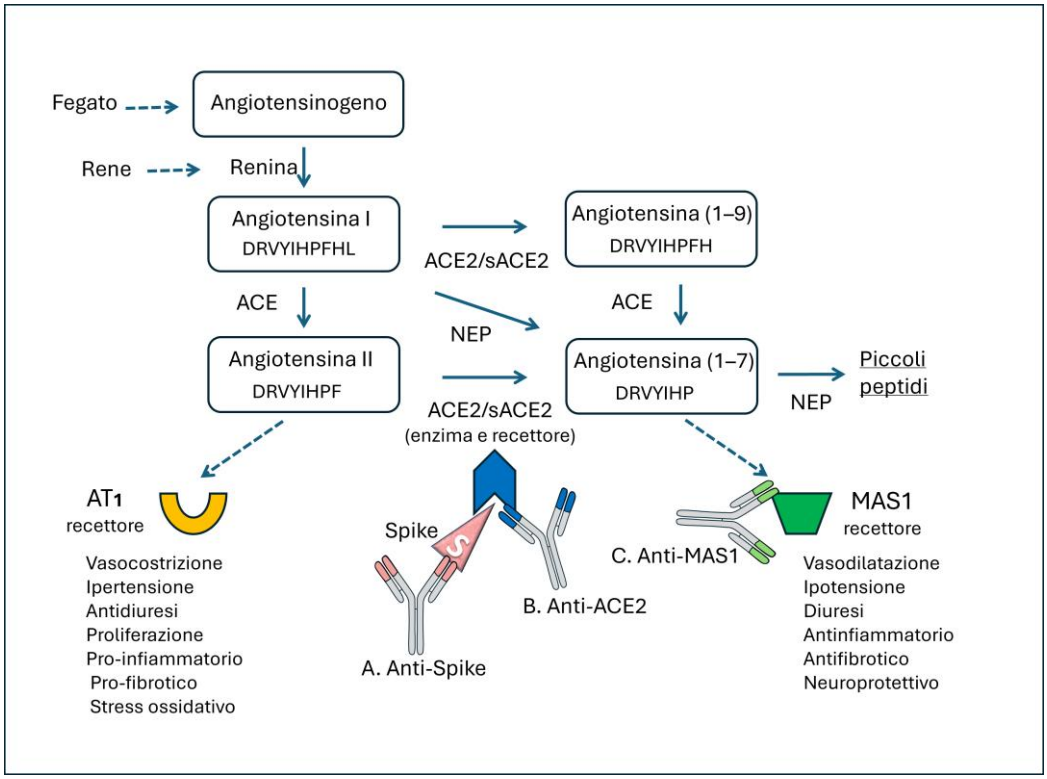


Figura 6. Schema del sistema renina-angiotensina e siti di attacco degli anticorpi anti-Spike (A), anti-ACE2 (B) e anti-MAS1 (C). Per le abbreviazioni, vedere l'elenco alla fine del testo.

Pertanto, nel sistema RAS si possono delineare due "assi": ACE/Angiotensina II/AT1R e ACE2/ang-(1–7)/MAS1R, che hanno funzioni opposte. L'ang-(1–7) viene generata anche tramite la neprilisina [150], che scinde l'angiotensina I. Tuttavia, l'ang-(1–7) viene ulteriormente scissa in peptidi più piccoli [151]. L'ACE2 esiste in una forma legata alle membrane cellulari e in una forma solubile (sACE2), entrambe con funzioni enzimatiche in grado di scindere l'angiotensina II e legare la proteina S.

Gli anticorpi anti-S (Figura 6A) possono avere effetti sia positivi che negativi sul sistema RAS, come già evidenziato nel caso delle reazioni associate al COVID-19 [24, 126, 152]. Gli effetti positivi sono correlati all'eliminazione della proteina S, che potrebbe agire in modo agonistico o antagonistico sulle funzioni dell'ACE2. Le azioni agonistiche dell'ACE2 coinvolgono le funzioni recettoriali sulle membrane delle piastrine o dei leucociti, che portano all'attivazione cellulare, all'aggregazione piastrinica e al rilascio di citochine infiammatorie. D'altra parte, la proteina S può legarsi alle molecole solubili di ACE2 [153] (sACE2) e, in questo caso, questi anticorpi possono portare a una riduzione dell'attività enzimatica plasmatica. Lo squilibrio dell'attività dell'ACE2 potrebbe essere particolarmente grave nei pazienti con un basso livello basale di questo recettore [154, 155]. La downregulation dell'sACE2 può causare danni polmonari e vasocostrizione perché la conversione dell'angiotensina II in ang-(1-7) non avviene correttamente [153, 156]. Inoltre, un aumento dell'angiotensina II può avere effetti più estesi sui tessuti perché innesca molteplici risposte infiammatorie attraverso i recettori ATR1, compresi i polmoni [157].

Per quanto riguarda l'ACE2 (Figura 6B), quando questi recettori enzimaticamente attivi diventano bersaglio di un attacco anticorpale, possono verificarsi due possibili esiti. In primo luogo, se gli anticorpi bloccano l'attività carbossipeptidasica del recettore, ciò potrebbe portare ad un aumento dei livelli di angiotensina II e alla conseguente attivazione del recettore AT1. Questa attivazione può causare ipertensione, effetti pro-

infiammatori e disfunzione endoteliale. In alternativa, se gli anticorpi sono funzionalmente attivi stimolando il recettore ACE2, potrebbero mimare l'attività della proteina S e trasmettere segnali di attivazione cellulare nell'endotelio, nelle piastrine e nei leucociti, contribuendo così alle cascate pro-infiammatorie [24, 25, 88, 158]. Un'altra importante connessione fisiopatologica si stabilisce tra il RAS e il sistema delle chinine. Come carbossipeptidasi, l'ACE2 scinde molti substrati biologici oltre all'angiotensina II per controllare la vasodilatazione e la permeabilità vascolare [159]. Infatti, l'ACE2 scinde la bradichinina in peptidi inattivi e quindi riduce l'attività del sistema delle chinine, inclusa la vasodilatazione, l'aumento della permeabilità endoteliale e l'essudazione. La disregolazione della bradichinina spiega diversi meccanismi delle malattie infiammatorie e dei disturbi della coagulazione. Diversi studi hanno evidenziato l'importanza del sistema delle chinine nel COVID-19, descrivendo una "tempesta di chinine" responsabile di fenomeni incontrollati, come vasodilatazione, permeabilità vascolare e ipotensione [160, 161]. È quindi plausibile che la riduzione dell'attività chinasi dell'ACE2 possa peggiorare i sintomi delle reazioni al vaccino, in particolare quelli di natura infiammatoria e dolorosa.

Considerando gli studi riportati, gli anticorpi anti-MAS1 (Figura 6C) sono rilevanti. Questi anticorpi potrebbero bloccare il recettore MAS1 [6] e impedire l'azione benefica dell'ang-(1–7). L'aumento di ang-(1–7) osservato nella maggior parte dei pazienti nella nostra serie PACVS può essere correlato a questo blocco e/o all'attivazione di meccanismi compensatori mediati dalla neprilisina, un enzima che trasforma direttamente l'angiotensina 1(1-19) in ang-(1–7)[150, 162].

4. Implicazioni Cliniche

La complessità dei disturbi immunologici e metabolici della PACVS e le significative incertezze relative ai meccanismi coinvolti richiedono un approccio clinico dinamico e adattabile, in continua evoluzione sulla base dei progressi della medicina di laboratorio e delle terapie emergenti. In questa sezione, proponiamo suggerimenti basati sulle basi fisiopatologiche e sui meccanismi sottostanti per guidare la diagnosi di questa sindrome multifattoriale e, ove possibile, per stabilire una strategia terapeutica razionale, anche in assenza di certezze nella medicina basata sulle prove di efficacia.

4.1. Diagnosi

Per la diagnosi è necessaria un'anamnesi familiare completa, poiché le reazioni più gravi hanno spesso una base genetica, come accade con altri vaccini [163], sebbene la genetica da sola non possa essere la causa della PACVS. In base ai problemi clinici, si suggeriscono test di supporto o diagnostici. I pazienti devono essere indirizzati ai servizi di emergenza competenti se presentano segni o sintomi che potrebbero essere causati da una complicanza acuta o potenzialmente letale, tra cui ipossiemia, segni di grave malattia polmonare, dolore toracico di origine cardiaca o sindrome infiammatoria multisistemica. Le persone che presentano gravi sintomi psichiatrici o che sono ad alto rischio di autolesionismo o suicidio devono essere indirizzate a una valutazione psichiatrica.

Per la valutazione cardiaca, è necessario eseguire un ECG e un ecocardiogramma. La risonanza magnetica cardiaca con mezzo di contrasto a base di gadolinio svolge un ruolo importante nella valutazione non invasiva del tessuto miocardico nella miocardite e aiuta a prevedere la prognosi della miocardite acuta in base a specifiche caratteristiche fenotipiche [164]. La misurazione della troponina consente la diagnosi precoce di infarto miocardico e miocardite post-vaccinale [165, 166]. La misurazione della troponina è un valido marker di danno cardiaco e può essere utile anche in sede autoptica, a condizione che venga eseguita entro 48 ore dal decesso [167]. Nei soggetti con sintomi posturali, come palpitazioni o vertigini in posizione eretta, è opportuno registrare la pressione sanguigna

e la frequenza cardiaca sia in posizione supina che in piedi. Se necessario, si possono eseguire tomografie computerizzate ad alta risoluzione (TC/TC del torace) per valutare eventuali alterazioni polmonari.

Se clinicamente indicato, è opportuno eseguire esami del sangue, tra cui emocromo completo, test di funzionalità renale ed epatica, analisi dei principali marker infiammatori, valutazione dello stress ossidativo e D-dimero, per monitorare il rischio trombotico. I marker di laboratorio utili sono descritti nelle sezioni seguenti.

4.1.1. Popolazioni linfocitarie

La rilevanza dei test sulle popolazioni linfocitarie può variare notevolmente a seconda della fase post-vaccinale e del tipo di effetto collaterale. Nella fase acuta (reazioni che si verificano nelle prime due settimane), i test sono utili solo se il paziente presenta reazioni sistemiche significative e si sospetta una sindrome infiammatoria acuta o immuno-mediata. Se i sintomi (astenia, febbricola, mialgia, annebbiamento mentale o altre infezioni virali) persistono per più di 3 o 4 settimane, può essere utile valutare uno squilibrio persistente CD4/CD8, una riduzione dei linfociti B o T o segni di disfunzione dell'immunità adattativa. Il test delle cellule T regolatorie (Treg) è importante per valutare potenziali meccanismi autoimmuni. Alterazioni cliniche persistenti post-vaccinazione possono verificarsi anche in presenza di titoli anticorpali normali, suggerendo il possibile coinvolgimento di meccanismi mediati dalle cellule T o una disregolazione dell'immunità innata.

4.1.2. Anticorpi anti-S e anti-nucleocapside (N)

Gli anticorpi anti-S sono indicati per valutare la risposta immunitaria al vaccino ≥ 3-4 settimane dopo il completamento del ciclo vaccinale e ≥ 2 settimane dopo la dose di richiamo. Sono utili nei casi di sospetto fallimento primario del vaccino (malattia da COVID-19 contratta poco dopo la vaccinazione) [168], nei pazienti immunocompromessi e per valutare la possibile causa di effetti avversi post-vaccinazione persistenti (valutazione indiretta dell'attivazione immunitaria). Noi e altri abbiamo notato una correlazione tra gli anticorpi circolanti e la gravità della sindrome post-vaccinazione. Gli anticorpi anti-nucleocapside (N) sono utili per distinguere una risposta al vaccino da un'infezione naturale precedente o intercorrente, poiché queste non sono indotte dalla vaccinazione. Tuttavia, l'interpretazione dei livelli anticorpali presenta importanti limitazioni. In primo luogo, è noto un progressivo decadimento degli anticorpi anti-S nel tempo, anche in soggetti con una risposta immunitaria inizialmente adeguata; pertanto, bassi titoli anticorpali non escludono una memoria immunologica funzionale. In secondo luogo, la risposta anticorpale non riflette pienamente l'immunità cellulare, che svolge un ruolo centrale nella protezione immunologica e nella modulazione degli eventi avversi immuno-mediati. Alla luce di queste considerazioni, il dosaggio degli anticorpi anti-S e anti-N deve essere interpretato nel contesto clinico e temporale e, in casi selezionati, integrato con la valutazione dell'immunità cellulare (popolazioni linfocitarie, rapporto CD4/CD8) e dei marcatori di attivazione sistemica o infiammazione.

4.1.3. Citochine infiammatorie

Le citochine infiammatorie sono mediatori chiave dell'attivazione dell'immunità innata e adattativa indotta dalla vaccinazione. Sebbene la risposta infiammatoria transitoria sia un meccanismo fisiologico necessario per lo sviluppo dell'immunità protettiva, la sua persistenza o disregolazione può contribuire all'insorgenza e al mantenimento di effetti collaterali sistemici. L'analisi delle citochine infiammatorie dovrebbe pertanto essere eseguita per valutare la presenza di uno stato persistente di attivazione immunitaria, che può essere associato a sintomi post-vaccinazione prolungati. Citochine come IL-6, TNF-α, IL-1β e IL-8 sono coinvolte nella modulazione della risposta infiammatoria sistemica, nonché

nei sintomi simil-influenzali, nell'astenia e nelle manifestazioni muscoloscheletriche frequentemente riportate dopo la vaccinazione. Inoltre, prove crescenti suggeriscono che gli eventi avversi post-vaccinazione, soprattutto quando persistenti, possono riflettere una risposta immunitaria sbilanciata piuttosto che una semplice risposta umorale, con possibile coinvolgimento dell'immunità innata e dei meccanismi di segnalazione delle citochine[169]. L'IL-6 e l'IL-8 erano elevati rispettivamente nel 60% e nel 90% delle persone affette da PACVS [12]. Recentemente, Patterson et al. hanno osservato aumenti statisticamente significativi di IL-4, CCL3, CCL5, sCD40L, IL-8 e VEGF nei pazienti con PACVS, mentre TNF-α e GM-CSF erano sottoregolati [170]. Uno studio su un gruppo di 14 pazienti con PACVS ha riscontrato livelli elevati di IL-10 (42,9% dei casi), recettore IL2 (42,9%), IL-13 (28,6%), TNF-α (21,4%) e IL-12 (14,3%) [171]. La valutazione delle citochine, pertanto, consente l'integrazione dei dati sierologici e linfocitari, offrendo una visione più completa dei meccanismi immunologici alla base degli effetti collaterali osservati.

4.1.4. Autoanticorpi contro i recettori GPCR

Parallelamente, è consigliabile valutare gli anticorpi anti-GPCR, in particolare quelli diretti contro i recettori coinvolti nella regolazione vascolare e autonomica (ad es. AT1R, β-adrenergici, muscarinici). Questi autoanticorpi possono agire come agonisti o antagonisti funzionali, determinando alterazioni prolungate nella segnalazione recettoriale e sintomi di disautonomia, indipendentemente dalla presenza di un'infiammazione sistemica manifesta. Prove emergenti suggeriscono che la produzione di anticorpi anti-GPCR possa essere innescata o amplificata da un'intensa attivazione immunitaria, contribuendo a quadri clinici persistenti caratterizzati da disfunzione endoteliale, disregolazione autonomica e sintomi multisistemici [58, 172]. In questo contesto, la loro valutazione ci permette di esplorare meccanismi immuno-mediati che non possono essere rilevati attraverso i soli parametri infiammatori o sierologici convenzionali.

4.1.5. Molecole del RAS e autoanticorpi correlati

La valutazione degli anticorpi anti-ACE2 e anti-MAS1 è stata considerata sulla base dell'ipotesi che questi autoanticorpi possano interferire funzionalmente con il RAS e contribuire a manifestazioni cliniche persistenti. La misurazione di questi autoanticorpi non è raccomandata come test di screening di routine, ma può essere considerata selettivamente in presenza di sintomi persistenti (>8-12 settimane) dopo la vaccinazione contro il COVID-19, nonché segni e sintomi compatibili con disfunzione endoteliale o vascolare, disautonomia (tachicardia, ipotensione ortostatica, intolleranza all'esercizio) o alterazioni cutanee come edema o ecchimosi. Pertanto, il loro utilizzo è principalmente in un contesto esplorativo e patofisiologico, piuttosto che diagnostico, in pazienti con effetti collaterali post-vaccinazione persistenti e di difficile classificazione. Gli anticorpi contro i recettori correlati al RAS sono stati presi in considerazione in casi selezionati per esplorare il possibile coinvolgimento di meccanismi autoimmuni e disregolazione del RAS in soggetti con sintomi post-vaccinazione persistenti [29, 173]. Autori italiani hanno riportato una serie di casi di 71 pazienti con CFS che presentavano sintomi neurologici, come parestesie e deficit cognitivi, e disautonomia, come tachicardia parossistica, non correlata all'esercizio fisico dopo la vaccinazione contro SARS-CoV-2. Di questi pazienti, solo nove (12%) erano positivi per anti-ACE2, con conseguente nessuna differenza statisticamente significativa rispetto ai donatori sani. Se questi dati vengono confermati, potrebbe suggerire che gli agenti anti-ACE2 potrebbero aiutare a distinguere la PACVS dalla SFN.

4.1.6. Dosaggio di Ang-(1–7)

Il dosaggio plasmatico di Ang-(1–7) fornisce un'indicazione indiretta dell'equilibrio tra i due bracci del sistema renina-angiotensina (RAS). Valori ridotti suggeriscono una prevalenza della via ACE/Angiotensina II/AT1R, associata a disfunzione endoteliale, infiammazione cronica, stress ossidativo e aumento del rischio cardiovascolare. Valori

relativamente elevati o bilanciati indicano una maggiore attività della via protettiva, con effetti compensatori sull'eccesso di angiotensina II. Il dosaggio può essere utile in contesti di disfunzione endoteliale, patologie cardiovascolari e metaboliche e condizioni infiammatorie croniche. Sebbene non sia ancora un biomarcatore di routine, la misurazione di Ang-(1–7) può contribuire a guidare le strategie di riequilibrio del RAS e a supportare l'uso di ACE-inibitori o bloccanti dei recettori dell'angiotensina. Si consiglia di valutare l'impatto di interventi antinfiammatori, metabolici e sullo stile di vita (attività fisica, controllo dell'insulina, riduzione dello stress ossidativo) in contesti di ricerca e di monitorare le terapie mirate al recettore MAS1 o agli analoghi dell'angiotensina II (1-7). I limiti includono un'elevata variabilità pre-analitica e analitica, basse concentrazioni plasmatiche e difficoltà di standardizzazione. L'interpretazione deve essere sempre integrata con i livelli di angiotensina II, ACE, ACE2 e il contesto clinico.

4.1.7. Test di attivazione dei basofili

Un test di attivazione dei basofili (BAT) può avere un valore strumentale, ma in genere non è utile per studiare gli effetti collaterali immunologici generali successivi alla vaccinazione contro il COVID-19, tranne in casi molto specifici e selezionati in cui si sospetta un'allergia mediata da IgE.

4.1.8. Identificazione dell'mRNA del vaccino e della proteina S

Nel caso dei vaccini a mRNA, la PCR può essere utilizzata per identificare frammenti di mRNA del vaccino tramite primer progettati per sequenze uniche del costrutto del vaccino (ad esempio, regioni non presenti nel virus naturale, come UTR specifici o modifiche della sequenza della proteina S) [89]. Le proteine S derivate dal vaccino nel sangue dei soggetti vaccinati contro il COVID-19 possono essere misurate tramite citometria a flusso [170] e spettrometria di massa, consentendo di distinguerle dalle proteine derivate dal virus [96, 174]. Nei tessuti, la presenza di S può essere identificata tramite immunoistochimica [25, 175].

4.1.9. Virus

Nel contesto di infezione acuta, post-COVID-19, long COVID o riattivazione immunitaria, è spesso utile valutare altri virus latenti o persistenti che possono influenzare il decorso clinico e la risposta immunitaria. Gli herpesvirus condividono la capacità di stabilire una latenza e di riattivarsi in condizioni di stress immunologico. HSV-1/HSV-2 sono implicati nelle riattivazioni mucocutanee, contribuendo potenzialmente all'infiammazione sistemica; VZV (HHV-3) è responsabile di casi di riattivazione (Herpes zoster) dopo infezioni virali o immunodisfunzione; e HHV-6/HHV-7 sono associati a disfunzione immunitaria, neuroinfiammazione e affaticamento cronico. L'EBV è uno dei virus più frequentemente implicati nella riattivazione post-COVID-19, con possibili associazioni con affaticamento cronico, annebbiamento mentale, mialgia, disautonomia, attivazione policlonale dei linfociti B e aumento della produzione di citochine. Si raccomanda la valutazione di EBV VCA IgM/IgG, EBNA IgG e, in casi selezionati, EBV-DNA. Il citomegalovirus (CMV) ha un impatto significativo sull'immunosenescenza, sulle risposte delle cellule T e sull'espansione dei linfociti CD8+ senescenti; è inoltre associato a un peggioramento delle risposte infiammatorie e vascolari, rilevanti nei pazienti con comorbilità cardiovascolari o immunitarie. La valutazione del CMV può essere effettuata mediante la ricerca di IgG/IgM specifiche e, se indicato, mediante il test del DNA del CMV. L'analisi congiunta di SARS-CoV-2 e virus latenti consente di identificare riattivazioni virali subcliniche, spiegare la persistenza di sintomi non riconducibili al solo COVID-19, valutare il grado di disfunzione immunitaria e infiammazione cronica e orientare le strategie di monitoraggio, il supporto immunologico e il follow-up personalizzato. È importante sottolineare che la PACVS (sindrome da attivazione del citomegalovirus) dovrebbe essere considerata un'ipotesi diagnostica anche in presenza di un'anamnesi del paziente con

infezione virale da SARS-CoV-2. Poiché queste malattie autoimmuni sono causate, almeno in parte, da mimetismo molecolare, è probabile che la ripetuta esposizione ad antigeni simili (la proteina S) aumenti le risposte e che le due cause (vaccino e virus) si sovrappongano. Questo è importante perché sarebbe un errore escludere la PACVS se il paziente avesse anche contratto un'infezione. Al contrario, la vaccinazione può peggiorare il decorso della PACS in alcuni pazienti, in particolare quelli vaccinati con Moderna (mRNA-1273) [176].

4.1.10. Intestino e disbiosi

L'intestino è un organo immunologico centrale (GALT) e svolge un ruolo chiave nella regolazione dell'infiammazione sistemica, della tolleranza immunitaria e dell'equilibrio metabolico. Un intestino disbiotico e permeabile può agire come amplificatore dell'infiammazione sistemica e perpetuare i sintomi anche dopo un evento infettivo acuto. A seguito di infezioni virali (tra cui SARS-CoV-2), stress immunologico o vaccinazione contro il COVID-19 [177], possono verificarsi effetti collaterali gastrointestinali, tra cui disbiosi intestinale, aumento della permeabilità intestinale ("intestino permeabile") e traslocazione di antigeni microbici con attivazione immunitaria cronica silente. In questo contesto, è interessante notare che la disbiosi è stata rilevata in molti pazienti con sintomi prolungati dopo il COVID-19 (sia vaccinati che non vaccinati) [178, 179] e che l'uso di antibiotici ha migliorato la loro prognosi [180]. Questi meccanismi possono contribuire a stanchezza persistente, sintomi gastrointestinali, neuroinfiammazione, disfunzione endoteliale e alterazioni immunitarie. La permeabilità intestinale può essere valutata tramite la zonulina fecale o sierica (un marker indiretto di aumentata permeabilità) e la misurazione di LPS o LBP plasmatici (indicativi di traslocazione batterica). L'infiammazione intestinale può essere valutata utilizzando la calprotectina fecale, che distingue l'infiammazione organica da quella funzionale, e la lattoferrina fecale (se disponibile). Infine, l'analisi del microbiota fecale (NGS o PCR mirata) è molto importante, in quanto può rivelare una ridotta biodiversità, un rapporto Firmicutes/Bacteroidetes alterato e una proliferazione eccessiva di patobionti. Queste informazioni sono utili per interventi nutrizionali personalizzati, insieme ad altre tecniche per valutare la funzione della mucosa, l'insufficienza pancreatica, la barriera mucosa e le IgA secretorie fecali. Il monitoraggio intestinale aiuta a ridurre la stimolazione immunitaria cronica, a supportare la tolleranza immunitaria, a migliorare le risposte alle terapie antinfiammatorie o immunomodulatorie e a guidare gli interventi mirati a dieta, probiotici, prebiotici, polifenoli e stile di vita.

4.1.11. Stress ossidativo

Lo stress ossidativo è un meccanismo patogenetico centrale (attivato da citochine, angiotensina II, disbiosi e ipossia) in condizioni quali infezioni post-virali (inclusa la COVID-19), infiammazione cronica silente, disfunzione endoteliale e alterazioni del sistema renina-angiotensina (RAS) [181, 182]. Ciò contribuisce al danno endoteliale, alla disfunzione mitocondriale e all'immunosenescenza, perpetuando un circolo vizioso di infiammazione ↔ ROS. La valutazione dei marcatori di stress ossidativo è indicata in presenza di affaticamento cronico, annebbiamento mentale, mialgia, segni di disfunzione endoteliale o cardiovascolare, infiammazione di basso grado inspiegabile, permeabilità intestinale e traslocazione batterica. I marcatori di danno ossidativo includono MDA o TBARS per la perossidazione lipidica, idroperossidi (test d-ROMs) per il carico ossidativo globale e la misurazione di 8-OHdG (nelle urine), che evidenzia il danno ossidativo al DNA. La capacità antiossidante totale può essere valutata con un test BAP/TC e utilizzando il rapporto ossidante/antiossidante, che è più informativo di un singolo valore. Valori elevati di stress ossidativo non sono specifici, ma rafforzano l'ipotesi di un'attivazione infiammatoria persistente e supportano il coinvolgimento endoteliale e mitocondriale. Sono utili per monitorare l'efficacia degli interventi terapeutici (nutrizione, antiossidanti e attività

fisica mirata) e per valutare le strategie volte a ridurre i fattori scatenanti a monte (disbiosi, livelli elevati di angiotensina II e infiammazione). Lo stress ossidativo da solo non fornisce una diagnosi, ma aggiunge valore clinico se integrato con marcatori di infiammazione, intestino, endotelio e sistema renina-angiotensina, soprattutto durante la terapia e il follow-up.

Questi biomarcatori non sono sempre presenti, poiché la risposta ai vaccini è altamente individuale. Pertanto, i test devono essere scelti con attenzione e individualmente.

Come precedentemente accennato, distinguere tra PACVS e PACS è difficile perché la maggior parte delle persone ha avuto sia un'infezione virale che una vaccinazione nella propria storia clinica recente. Tuttavia, esistono criteri che possono differenziarle, a seguito di recenti scoperte scientifiche e della corretta applicazione dell'algoritmo di causalità dell'OMS [66-67]. È importante chiarire che una relazione causale tra vaccinazione e un evento avverso è considerata certa o almeno probabile quando l'evento avverso si sviluppa entro un lasso di tempo appropriato dopo la vaccinazione, quando vi è plausibilità biologica o immunologica e quando la relazione è supportata da altri casi simili nella letteratura scientifica. Nel caso della PACVS, la maggior parte di questi requisiti sono soddisfatti. È anche importante valutare se l'individuo ha una predisposizione genetica alle vaccinazioni, ma queste condizioni predisponenti non devono essere considerate la "causa" della malattia, che dipende da una combinazione di fattori genetici e acquisiti, come lo stesso agente scatenante del vaccino. Anche il sistema HLA può svolgere un ruolo come base genetica in questo tipo di autoimmunità. Secondo Karami et al. [183], un peptide della proteina spike (Arg-Arg-Ala-Arg-Ser-Val-Ala-Ser) si lega preferenzialmente a vari HLA, tra cui HLA-B*08:01 e HLA-B*07:02, che sono tipicamente associati a malattie autoimmuni neurologiche. Altri hanno notato una correlazione tra la presenza degli aplotipi HLA-A*03:01 e HLA-A*29:02 e gli effetti collaterali sistemici dei vaccini COVID-19, mentre HLA-B*08:01 sembra svolgere un ruolo protettivo [184]. Ovviamente, l'identificazione sistematica delle condizioni genetiche che predispongono alla PACVS, secondo un approccio "adversomico" [33, 185], è di grande importanza sociale e sanitaria.

4.2. Suggerimenti per la Terapia

I pazienti affetti da patologie d'organo, già comprese nell'ambito delle conoscenze mediche consolidate, dovrebbero essere trattati con gli approcci terapeutici più efficaci, secondo la letteratura scientifica e personalizzati in base alle esigenze individuali. Per le reazioni autoimmuni ai vaccini e le PACVS, non esistono studi randomizzati che dimostrino l'efficacia di terapie specifiche, pertanto le decisioni possono basarsi unicamente su razionali farmacologici, esperienza clinica personale, studi osservazionali ed eventualmente linee guida a lungo termine sul COVID (PACS). Sulla base delle conoscenze fisiopatologiche acquisite fino ad oggi e dell'esperienza clinica, i farmaci più utilizzati presso l'Istituto di Medicina Biologica di Milano (IMBIO), in ordine di priorità, sono glutatione, esperidina + quercetina, ang-(1-7) in formulazione galenica, nattokinasi, bromelina, vitamina D e antistaminici. È importante ribadire che la nostra esperienza, sebbene condotta nel rispetto dei criteri etici e con il consenso informato dei pazienti, non è stata testata su gruppi di pazienti confrontati con placebo o altri farmaci.

L'integrazione con glutatione (GSH) può agire come fattore protettivo a livello cellulare contro molti tipi di stress ossidativo, che a sua volta è una conseguenza di fenomeni infiammatori e dell'attivazione della NADPH ossidasi. D'altra parte, poiché il danno cellulare innesca reazioni infiammatorie, si genera un circolo vizioso che il GSH aiuta a moderare riducendo i livelli di citochine infiammatorie (come IL-6 e IL-8) [186-187]. Inoltre, un buon contenuto citoplasmatico di GSH ostacola le infezioni da virus opportunistici, rendendo l'ambiente meno ospitale per il patogeno [188]. L'importanza cruciale dello

stress ossidativo e gli effetti benefici dell'integrazione di GSH sono stati evidenziati sia nella PACS che nella PACVS, in cui si verificano varie alterazioni biochimiche dello stesso tipo [189-191]. Infine, l'effetto benefico del GSH potrebbe essere coerente con le evidenze più recenti secondo cui i profili trascrittomici di alcuni pazienti vaccinati con mRNA indicano risposte allo stress cellulare, disfunzione mitocondriale e persino oncogenesi [192].

Tra i fattori nutrizionali che potrebbero essere utili nel moderare gli effetti dell'autoimmunità vi sono i polifenoli, tra cui l'esperidina e la quercetina, che, grazie alle loro proprietà antiossidanti e antinfiammatorie, sono già stati indicati come potenzialmente utili nella malattia da COVID-19 [193-196]. Anche le proprietà neuroprotettive dei flavonoidi sono molto importanti [197], poiché lo squilibrio redox è stato implicato nella neuroinfiammazione associata al COVID-19, in parte mediata dalla deplezione di ACE2 e dalla generazione di ROS mediata da Angiotensina II/AT1R/NADPH ossidasi 2, contribuendo ai sintomi cognitivi e all'apoptosi neuronale [49]. Questi due flavonoidi hanno un'elevata affinità per il dominio di legame del recettore della proteina S e, secondo studi di docking molecolare, sono anche in grado di legarsi al recettore ACE2 [198, 199]. In questo modo, il legame dell'esperidina e/o della quercetina ostacola fisicamente l'attaccamento della proteina S all'ACE2 e quindi l'innesco di conseguenti fenomeni infiammatori e trombotici [24]. Studi clinici e meta-analisi supportano anche l'integrazione di quercetina nei pazienti affetti da COVID-19 [200, 201]. È plausibile che lo stesso tipo di inibizione possa verificarsi per quanto riguarda il legame degli autoanticorpi anti-idiotipo che presentano una somiglianza con la proteina S. Inoltre, questi flavonoidi possiedono attività contro le riattivazioni virali, che sono molto frequenti in questo tipo di pazienti, in particolare quelle della famiglia degli herpesvirus [202-204]. Ovviamente, una volta accertata un'infezione virale, possono essere somministrati farmaci specifici, se ne esistono di efficaci. Altri hanno anche suggerito l'uso di vitamine e polifenoli come supporto nutraceutico complementare nella PACVS [16].

Poiché i pazienti con COVID-19 e PACVS presentano una significativa disregolazione dell'asse ACE2/ang-(1–7)/MAS1 [24, 46, 141] e autoanticorpi contro i recettori dell'angiotensina I e l'ACE2 [205], un nuovo suggerimento per il trattamento dei pazienti con PACVS potrebbe essere la somministrazione di ang-(1–7). Inoltre, nei pazienti con insufficienza cardiaca un aumento di ang-(1–7) rispetto all'angiotensina II è un predittore di esiti positivi e sopravvivenza [206]. Non ci sono studi di efficacia di Ang-(1–7) nella PACVS ma questo eptapeptide migliora le prestazioni fisiche negli atleti [207] e studi su animali supportano la sua integrazione come agente antinfiammatorio, antitrombotico e neuroprotettivo [134, 208-211]. Questi risultati forniscono importanti prove precliniche per strategie volte a promuovere l'asse benefico ang-(1–7)/MAS1. Uno studio osservazionale condotto da un gruppo italiano, di cui faceva parte anche uno degli autori (GDF), ha suggerito l'utilità di un trattamento complementare a base di ang-(1-7) ed endocannabinoidi nelle malattie autoimmuni e neurodegenerative [212]. Tuttavia, va notato che l'uso di ang-(1-7) in pazienti con blocco del recettore MAS1 potrebbe essere, almeno in teoria, inefficace o controproducente da un punto di vista farmacologico.

Un'altra sostanza potenzialmente utile è il blu di metilene (MB), utilizzato in pazienti con COVID-19 per ridurre i marcatori infiammatori e migliorare i parametri respiratori [213]. Inoltre, il MB può ridurre lo stress ossidativo [214] e prevenire l'interazione tra la proteina S e il recettore ACE2 [215, 216]. Ad oggi, nessuno studio ha esplorato l'uso del blu di metilene in PACVS o PACS; tuttavia, vi sono evidenze di effetti benefici nello shock settico senza effetti avversi significativi [217, 218]. Abbiamo utilizzato l'infusione di MB in alcuni pazienti con manifestazioni particolarmente gravi, con risultati promettenti.

L'uso della nattokinasi come agente potenzialmente utile per la degradazione della proteina S è stato incluso nei protocolli terapeutici, come precedentemente suggerito da

altri autori [219, 220]. La bromelina è stata razionalizzata sulla base della sua presunta attività di inibitore dell'interazione spike-ACE2 [221].

Quando necessario, utilizziamo terapie farmacologiche come antistaminici H1 e H2 (ad esempio, cetirizina e famotidina) per gestire prurito, dolore addominale, dispepsia, disfagia e nausea. Gli antistaminici stabilizzano anche le cellule e aiutano a ridurre gli essudati infiammatori e il distress polmonare, anche nel COVID-19 [222]. In alcuni casi, i corticosteroidi possono essere utilizzati per brevi periodi, sempre in combinazione con terapie complementari. Il magnesio è considerato essenziale, poiché è quasi sempre carente nelle condizioni infiammatorie croniche; Ha inoltre effetti antistaminici e antinfiammatori.

Per rimuovere gli autoanticorpi in eccesso e i mediatori infiammatori, soprattutto nei casi gravi refrattari ad altri trattamenti, si potrebbe prendere in considerazione la plasmaferesi terapeutica [45, 223]. Infine, è stato avviato uno studio sull'infusione di immunoglobuline in pazienti con SFN a seguito della vaccinazione contro il SARS-CoV-2, che in alcuni casi ha prodotto risultati promettenti e duraturi [17].

5. Limiti dello Studio

È importante riconoscere che il nostro studio presenta alcune limitazioni. I dati che abbiamo riportato, e su cui si basano le nostre ipotesi, provengono da un piccolo studio retrospettivo. Inoltre, abbiamo considerato pazienti provenienti da un solo centro clinico. Tale limitazione è compensata dal nostro tentativo di inserire le nostre osservazioni nel quadro più ampio fornito da altri ricercatori nel campo della PACVS. Sebbene l'associazione tra alcuni sintomi, in particolare quelli cutanei, e livelli elevati di anti-ACE2 e MAS1 sia emersa da un piccolo campione, è statisticamente significativa, così da costituire una prova preliminare che merita ulteriori approfondimenti in casistiche più ampie. Questo risultato non può essere spiegato da un bias di selezione, poiché abbiamo incluso consecutivamente tutti i pazienti che si sono presentati alla nostra clinica nel corso del 2023 con sintomi compatibili con la PACVS [46]. L'unico criterio di esclusione era una storia di COVID-19. È importante sottolineare che un'associazione statistica non significa che gli anticorpi siano la causa della sindrome; una conclusione definitiva richiederebbe la dimostrazione diretta di anticorpi funzionali e, possibilmente, la ricerca di tali recettori in animali transgenici.

In questo articolo, abbiamo presentato la nostra esperienza con pazienti che manifestavano sintomi potenzialmente correlati alla sindrome descritta in letteratura come PACVS. Tuttavia, è necessario riconoscere che, allo stato attuale delle conoscenze, questa diagnosi è ancora provvisoria, priva di chiari correlati di laboratorio e strumentali e parzialmente sovrapponibile ad altre patologie. Non possiamo escludere che alcuni pazienti possano essere classificati come affetti da altre malattie scatenate dai vaccini anti-COVID-19, come patologie cardiovascolari o neurologiche. Con l'accumularsi di studi di caso e conoscenze sui marcatori di laboratorio, sarà possibile distinguere meglio la PACVS da altre patologie con sintomi parzialmente sovrapponibili.

La presenza di anticorpi anti-ACE2 e anti-MAS1 presenta ancora significative limitazioni interpretative e non implica automaticamente un nesso causale con i sintomi clinici. A causa delle persistenti incertezze sulla definizione di PACVS in letteratura, del numero limitato di casi e della mancanza di un gruppo di controllo sano per il confronto, non è possibile stabilire la sensibilità e la specificità dei vari anticorpi come biomarcatori, data la natura osservazionale del nostro studio. Infatti, l'analisi degli autoanticorpi deve essere interpretata nel contesto clinico e temporale, preferibilmente in associazione con altri marcatori di disregolazione immunitaria e vascolare. Il nostro obiettivo era quello di riportare le nostre osservazioni e di proporre ipotesi meccanicistiche riguardanti le alterazioni

immunopatologiche del sistema renina-angiotensina (RAS), che meritano ulteriori indagini in studi prospettici con campioni di maggiori dimensioni.

Infine, il nostro approccio concettuale ha sottolineato l'importanza dei meccanismi autoimmuni nella PACVS. Tuttavia, non possiamo escludere che la persistenza dei sintomi dopo la vaccinazione possa essere dovuta, almeno in alcuni pazienti, alla persistenza prolungata della proteina spike nel siero o nei tessuti. La biodistribuzione, la quantità e la persistenza dell'antigene S dopo la vaccinazione non sono ancora del tutto comprese; tuttavia, la presenza della proteina S nei linfonodi e nel sangue di pazienti vaccinati con mRNA è stata riscontrata fino a 245 giorni dopo la seconda dose, con notevoli variazioni individuali [96, 170, 224]. Questa analisi non viene eseguita di routine nel nostro laboratorio, principalmente per ragioni etiche ed economiche.

6. Conclusioni

Esiste una crescente letteratura che descrive le cause e i meccanismi fisiopatologici della PACVS. Trattandosi di una sindrome multifattoriale con caratteristiche variabili tra gli individui e una parziale sovrapposizione con le conseguenze di un'infezione virale, l'identificazione di un singolo biomarcatore risulta complessa. Tuttavia, vi sono già prove significative che la combinazione di anamnesi clinica e test di laboratorio e strumentali possa consentire una diagnosi con elevata probabilità. La predisposizione genetica alle reazioni vaccinali (ad esempio, malattie autoimmuni o cardiovascolari) non esclude, ma anzi rafforza, la probabilità che il danno sia stato causato dalla somministrazione del vaccino.

La PACVS rappresenta una nuova frontiera nella medicina clinica, che richiede un ripensamento delle strategie diagnostiche e terapeutiche [51]. L'adozione di un approccio clinico personalizzato, basato su un'analisi dettagliata dei profili immunitari e infiammatori dei pazienti, è essenziale per affrontare questa complessa sindrome. Con la continua ricerca e la collaborazione tra gli specialisti, sarà possibile affinare le strategie terapeutiche e offrire ai pazienti soluzioni più efficaci e durature. È importante sottolineare che tutte le proposte basate su fondamenti scientifici, esperienza personale e studi osservazionali dovrebbero essere gradualmente valutate in studi controllati che confrontino pazienti trattati con approcci diversi o parzialmente diversi, con l'obiettivo di ottimizzare le terapie ed eliminare i farmaci inefficaci.

Con l'avanzare delle conoscenze su questa sindrome, diventa sempre più importante classificare la PACVS con un codice ICD-10 appropriato, come suggerito da altri [10]. Ciò consentirà ai pazienti di essere inclusi nei sistemi sanitari pubblici e riconosciuti dai sistemi di assicurazione sanitaria.

In prospettiva, la scoperta dei meccanismi molecolari alla base del danno mediato da autoanticorpi potrebbe migliorare la diagnosi di PACVS attraverso lo sviluppo di biomarcatori validati e, in definitiva, supportare un trattamento e un follow-up più efficaci per questa grave malattia.

Ci auguriamo che questo lavoro possa servire da base per un dialogo costruttivo, incoraggiando la collaborazione tra i professionisti per identificare soluzioni innovative e correggere eventuali errori riscontrati nella pratica clinica. Solo attraverso un impegno collettivo e la condivisione delle conoscenze è possibile affrontare con successo queste nuove sfide.

File S1. Caso clinico

Il caso in questione riguarda una donna di 55 anni, da sempre in buona salute, a eccezione di una lieve anemia trattata con integratori di ferro, fino all'insorgenza della malattia post-vaccinazione da COVID-19. Vaccinata il 22 marzo 2021 con il vaccino a vettore

virale (AstraZeneca), inizialmente ha manifestato artromialgia e febbricola, risoltesi con paracetamolo. Dopo tre giorni, è comparso eritema al viso e al tronco. Nelle settimane successive, si è verificato un peggioramento dell'eritema diffuso, con edemi cutanei, prurito, artralgia diffusa e parestesie urenti diffuse. Nel corso degli anni, la paziente ha lamentato crisi ipertensive ricorrenti. Questi sintomi persistono, con gravità variabile, documentate da ripetute visite mediche e talvolta anche da accessi al pronto soccorso (Figura S1).



Figura S1. Foto della cute con grave eritema pruriginoso accompagnato da una diffusa sensazione di bruciore a livello cutaneo e del tessuto sottocutaneo. Le immagini vengono pubblicate con il consenso scritto del paziente.

La paziente è in terapia con antistaminici (cetirizina dicloridrato) con un miglioramento parziale, mentre la terapia steroidea si è rivelata inefficace. Durante una visita reumatologica il 18 agosto 2021, il bruciore avvertitosi dopo la vaccinazione è stato diagnosticato come "dermografismo reattivo a una puntura d'insetto, allergia a qualcosa, vaccino non escluso". Il dermografismo è una forma di orticaria cronica inducibile che si manifesta entro pochi minuti dallo sfregamento o dal graffio della pelle. Tuttavia, non sono state riscontrate punture d'insetto o loro sequele e i successivi test non hanno rivelato allergie. Gli effetti avversi sono comparsi pochi giorni dopo la vaccinazione e prima della prima infezione da SARS-CoV-2, avvenuta e documentata tramite PCR il 24 dicembre 2021.

La Figura S2 mostra il pannello di anticorpi utilizzato. Si può notare che in questo paziente la maggior parte degli anticorpi era negativa (numeri in verde); Gli anticorpi anti-recettore α-1-adrenergico e anti-recettore β-2-adrenergico erano leggermente superiori alla norma (valori in arancione), mentre il livello di anticorpi anti-MAS1 era di 94,5 U/ml, ben al di sopra della soglia patologica (valore in rosso).

sample:
date of birth:
sample date: 07.01.2026
date of receiving: 08.01.2026
ordered by: IMBIOLAB
method: ELISA

RESULT REPORT

Parameter	Cut off	Units/ml
anti AT1R Antibodies	<10.0 U/ml: negative 10.0 – 17.0 U/ml: at risk > 17.0 U/ml: positive	7,9
anti ETAR Antibodies	<10.0 U/ml: negative 10.0 – 17.0 U/ml: at risk > 17.0 U/ml: positive	8,8
anti α-1-adrenergic Receptor Antibodies	<7.0 U/ml: negative 7.0 – 11.0 U/ml: at risk > 11.0 U/ml: positive	*10,1*
anti α-2-adrenergic Receptor Antibodies	<15.0 U/ml: negative > 15.0 U/ml: positive	9,6
anti β-1-adrenergic Receptor Antibodies	<15.0 U/ml: negative > 15.0 U/ml: positive	7,7
anti β-2-adrenergic Receptor Antibodies	<8.0 U/ml: negative 8.0 – 14.0 U/ml: at risk > 14.0 U/ml: positive	*8,0*
anti-Muscarinic Cholinergic Receptor-1-Antibodies	<9.0 U/ml: negative > 9.0 U/ml: positive	3,7
anti-Muscarinic Cholinergic Receptor-2-Antibodies	<9.0 U/ml: negative > 9.0 U/ml: positive	4,2
anti-Muscarinic Cholinergic Receptor-3-Antibodies	<6.0 U/ml: negative 6.0 – 10.0 U/ml: at risk > 10.0 U/ml: positive	4,4
anti-Muscarinic Cholinergic Receptor-4-Antibodies	< 10.7 U/ml: negative > 10.7 U/ml: positive	3,6
anti-Muscarinic Cholinergic Receptor-5-Antibodies	< 14.2 U/ml: negative > 14.2 U/ml: positive	11,0
anti-FGF Receptor-3-Antibodies	<12.0 U/ml: negative > 12.0 U/ml: positive	5,7
anti-TSHDS-IgM-Antibodies	<9.0 U/ml: negative > 9.0 U/ml: positive	4,6
anti-ACE-2-Antibodies	<9.8 U/ml: negative > 9.8 U/ml: positive	5,4
anti-MAS1-Receptor-Antibodies	<25.0 U/ml: negative > 25.0 U/ml: positive	94,5
anti-PAR1-Antibodies	<4.2 U/ml: negative > 4.2 U/ml: positive	2,7
anti-CXCR3-Antibodies	<40.0 U/ml: negative > 40.0 U/ml: positive	10,8
anti-Stab1-Antibodies	<40.0 U/ml: negative > 40.0 U/ml: positive	14,4

Figura S2. Pannello anticorpale di una paziente affetta da sindrome PACVS. I dati di laboratorio vengono pubblicati con il consenso scritto della paziente.

I test per gli anticorpi ANA, ENA e ANCA hanno dato esito negativo.

L'analisi genetica, eseguita a scopo diagnostico, ha documentato la presenza delle mutazioni/polimorfismi C677T e A1298C nel gene della metilentetraidrofolato reduttasi (MTHFR) in eterozigosi.

Recenti test condotti nel nostro laboratorio (febbraio 2026) hanno rivelato un alto livello di anticorpi IgG anti-SARS-CoV-2 S-RBD (1.280,00 BAU/ml, quando la soglia di positività è di 4,33 BAU/ml) e di anticorpi IgG e IgM anti-SARS-CoV-2 Nucleocapsid (154,40 BAU/ml, quando la soglia di positività è di 1,10 BAU/ml).

Contributi degli autori: Concettualizzazione, P.B. e G.D.F.; metodologia, M.M. e E.Z.; analisi formale, P.B. e E.Z.; indagine, G.D.F. e M.M.; cura dei dati, P.B., M.M. e E.Z.; stesura della bozza originale, P.B.; revisione e modifica, E.Z. e M.M. Tutti gli autori hanno letto e approvato la versione pubblicata del manoscritto.

Finanziamento: Questa ricerca non ha ricevuto finanziamenti esterni.

Conflitti di Interesse Potenziali: P.B. e G.D.F. hanno un rapporto di consulenza con Vanda Omeopatici s.r.l. (Roma, Frascati), azienda produttrice di medicinali naturali e integratori alimentari; tuttavia, l'azienda non ha avuto alcun ruolo nella progettazione dello studio, nella raccolta, nell'analisi o nell'interpretazione dei dati, nella stesura del manoscritto o nella decisione di pubblicare i risultati. Gli altri autori dichiarano di non avere conflitti di interesse.

Abbreviazioni

ACE2 Angiotensin-converting enzyme 2
ANA Antinuclear antibody
ANCA Anti-neutrophil cytoplasmic antibody
Ang-(1–7) Angiotensin-(1–7)
AT1R Angiotensin II type 1 receptor
BAT Basophil activation test
CFS Chronic fatigue syndrome
CMV Cytomegalovirus
CXCR3 C-X-C motif chemokine receptor 3
EBNA Epstein–Barr nuclear antigen
EBV Epstein–Barr virus
ENA Extractable antinuclear antibody
ETAR Endothelin A receptor
FGFR3 Fibroblast growth factor receptor 3
GALT Gut-associated lymphoid tissue
GPCRs G-protein-coupled receptor
GSH Glutathione (reduced)
LNP Lipid nanoparticle
HHV Human herpes virus
HLA Human leukocyte antigen
HSV Herpes simplex virus
LBP Lipopolysaccharide binding protein
LPS Lipopolysaccharide
MAS1 Mas-related GPCR type 1
MTHFR Methylenetetrahydrofolate reductase
N protein Nucleocapsid protein
NADPH Nicotine adenine dinucleotide phosphate (reduced)
NEP Neprilysin
8-OHdG 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine
PACS Post-acute COVID-19 syndrome
PACVS Post-acute COVID-19 vaccination syndrome
PCR Polymerase chain reaction
POTS Postural orthostatic tachycardia syndrome
PF4 Platelet factor 4
RAS Renin–angiotensin system
ROS Reactive oxygen species
SFN Small fiber neuropathy
S protein Spike protein
SOD Superoxide dismutase
Stab1 Stabilin-1
Treg Regulatory T cell
VCA Virus capsid antigen
VZV Varicella Zoster virus

Bibliografia

1. Dotan, A; Muller, S; Kanduc, D; David, P; Halpert, G; Shoenfeld, Y. The SARS-CoV-2 as an instrumental trigger of autoimmunity. Autoimmun Rev 2021;20:102792.
2. Acosta-Ampudia, Y; Monsalve, DM; Rojas, M; Rodriguez, Y; Zapata, E; Ramirez-Santana, C, et al. Persistent Autoimmune Activation and Proinflammatory State in Post-Coronavirus Disease 2019 Syndrome. J Infect Dis 2022;225:2155-2162.
3. Soriano, JB; Murthy, S; Marshall, JC; Relan, P; Diaz, JV; Condition, WHOCCDWGoP-C-. A clinical case definition of post-COVID-19 condition by a Delphi consensus. Lancet Infect Dis 2022;22:e102-e107.
4. Angeli, F; Verdecchia, P; Reboldi, G. Long COVID [post-acute sequelae of coronavirus disease 2019]: experimental drugs for cardiopulmonary complications. Expert Opin Investig Drugs 2023;32:567-570.
5. Antonelli, M; Pujol, JC; Spector, TD; Ourselin, S; Steves, CJ. Risk of long COVID associated with delta versus omicron variants of SARS-CoV-2. Lancet 2022;399:2263-2264.
6. Wallukat, G; Hohberger, B; Wenzel, K; Furst, J; Schulze-Rothe, S; Wallukat, A, et al. Functional autoantibodies against G-protein coupled receptors in patients with persistent Long-COVID-19 symptoms. J Transl Autoimmun 2021;4:100100.
7. Krumholz, HM; Wu, Y; Sawano, M; Shah, R; Zhou, T; Arun, AS, et al. Post-Vaccination Syndrome: A Descriptive Analysis of Reported Symptoms and Patient Experiences After Covid-19 Immunization. medRxiv 2023. 10.1101/2023.11.09.23298266.
8. Finsterer, J. A Case Report: Long Post-COVID Vaccination Syndrome During the Eleven Months After the Third Moderna Dose. Cureus 2022;14:e32433.
9. Finterer, J; Scorza, FA. A retrospective analysis of clinically confirmed long post-COVID vaccination syndrome. J Clin Transl Res 2022;8:506-508.
10. Scholkmann, F; May, CA. COVID-19, post-acute COVID-19 syndrome (PACS, "long COVID") and post-COVID-19 vaccination syndrome (PCVS, "post-COVIDvac-syndrome"): Similarities and differences. Pathol Res Pract 2023;246:154497.
11. Semmler, A; Mundorf, AK; Kuechler, AS; Schulze-Bosse, K; Heidecke, H; Schulze-Forster, K, et al. Chronic Fatigue and Dysautonomia following COVID-19 Vaccination Is Distinguished from Normal Vaccination Response by Altered Blood Markers. Vaccines (Basel) 2023;11.

12. Mundorf, AK; Semmler, A; Heidecke, H; Schott, M; Steffen, F; Bittner, S, et al. Clinical and Diagnostic Features of Post-Acute COVID-19 Vaccination Syndrome (PACVS). Vaccines (Basel) 2024;12.
13. Finsterer, J. Myocarditis, Coagulopathy, and Small Fibre, Sensory, and Multiple Cranial Nerve Neuropathy Complicating BNT162b2 Vaccination: A Case Report. Cureus 2024;16:e55205.
14. Hotz, JF; Kellerberger, S; Elea Jochlinger, S; Danielova, I; Temizsoy, H; Otsch, S, et al. Exploring cognitive impairments and the efficacy of phosphatidylcholine and computer-assisted cognitive training in post-acute COVID-19 and post-acute COVID-19 Vaccination Syndrome. Front Neurol 2024;15:1419134.
15. Halma, M; Varon, J. Restoring trust in vaccination: listening to patients and acknowledging Post-Acute COVID Vaccine Syndrome. Front Med (Lausanne) 2025;12:1688170.
16. Halma, M; Varon, J. Metabolic modulation as a therapeutic strategy for post-acute vaccination syndrome (PACVS): A review of pathomechanisms and existing therapeutic components. Biomed Pharmacother 2025;193:118864.
17. Finsterer, J. Immunoglobulins are beneficial in SARS-CoV-2 vaccine-induced small fibre neuropathy even 3 years after onset Journal of Family Medicine and Primary Care 2025;14:4915-4919.
18. Yong, SJ; Kenny, TA; Halim, A; Munipalli, B; Alhashem, YN; AlSaihati, H, et al. Post-COVID-19 Vaccination (or Long Vax) Syndrome: Putative Manifestation, Pathophysiology, and Therapeutic Options. Rev Med Virol 2025;35:e70070.
19. Couzin-Frankel, J; Vogel, G. Vaccines may cause rare, Long Covid-like symptoms. Science 2022;375:364-366.
20. Bellucci, M; Bozzano, FM; Castellano, C; Pesce, G; Beronio, A; Farshchi, AH, et al. Post-SARS-CoV-2 infection and post-vaccine-related neurological complications share clinical features and the same positivity to anti-ACE2 antibodies. Front Immunol 2024;15:1398028.
21. David, P; Dotan, A; Mahroum, N; Shoenfeld, Y. Immune Thrombocytopenic Purpura (ITP) Triggered by COVID-19 Infection and Vaccination. Isr Med Assoc J 2021;23:378-380.
22. Finsterer, J. Small fiber neuropathy as a complication of SARS-CoV-2 vaccinations. J Family Med Prim Care 2022;11:4071-4073.
23. Mingot-Castellano, ME; Butta, N; Canaro, M; Gomez Del Castillo Solano, MDC; Sanchez-Gonzalez, B; Jimenez-Barcenas, R, et al. COVID-19 Vaccines and Autoimmune Hematologic Disorders. Vaccines (Basel) 2022;10.
24. Bellavite, P; Ferraresi, A; Isidoro, C. Immune Response and Molecular Mechanisms of Cardiovascular Adverse Effects of Spike Proteins from SARS-CoV-2 and mRNA Vaccines. Biomedicines 2023;11.
25. Polykretis, P; Donzelli, A; Lindsay, JC; Wiseman, D; Kyriakopoulos, AM; Morz, M, et al. Autoimmune inflammatory reactions triggered by the COVID-19 genetic vaccines in terminally differentiated tissues. Autoimmunity 2023;56:2259123.
26. Ryabkova, VA; Shubik, YV; Erman, MV; Churilov, LP; Kanduc, D; Shoenfeld, Y. Lethal immunoglobulins: Autoantibodies and sudden cardiac death. Autoimmun Rev 2019;18:415-425.
27. Maisch, B. SARS-CoV-2, vaccination or autoimmunity as causes of cardiac inflammation. Which form prevails? Herz 2023. 10.1007/s00059-023-05182-6:1-11.
28. Ray, SK; Mukherjee, S. Immunological Facet and Inception after Post-COVID-19 Vaccination. Infect Disord Drug Targets 2023;23:e060423215496.
29. Tsoi, JYH; Cai, J; Situ, J; Lam, WJ; Shun, EHK; Leung, JKY, et al. Autoantibodies against angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) after COVID-19 infection or vaccination. J Med Virol 2023;95:e29313.
30. Mastropaolo, M; Hasbani, MJ. Small Fiber Neuropathy Triggered by COVID-19 Vaccination: Association with FGFR3 Autoantibodies and Improvement during Intravenous Immunoglobulin Treatment. Case Rep Neurol 2023;15:6-10.
31. Dahan, S; Tomljenovic, L; Shoenfeld, Y. Postural Orthostatic Tachycardia Syndrome (POTS)--A novel member of the autoimmune family. Lupus 2016;25:339-342.
32. Cosentino, M; Marino, F. The spike hypothesis in vaccine-induced adverse effects: questions and answers. Trends Mol Med 2022;28:797-799.
33. Ferraresi, A; Isidoro, C. Will Omics Biotechnologies Save Us from Future Pandemics? Lessons from COVID-19 for Vaccinomics and Adversomics. Biomedicines 2022;11.
34. Parry, PI; Lefringhausen, A; Turni, C; Neil, CJ; Cosford, R; Hudson, NJ, et al. 'Spikeopathy': COVID-19 Spike Protein Is Pathogenic, from Both Virus and Vaccine mRNA. Biomedicines 2023;11.
35. Donadio, V; Incensi, A; Furia, A; Parisini, S; Colaci, F; Giannoccaro, MP, et al. Small fiber neuropathy associated with COVID-19 infection and vaccination: A prospective case-control study. Eur J Neurol 2025;32:e16538.
36. Primicerio, GC; Bille, MB; Lund, EL; Birk, S. Small fiber neuropathy following COVID-19 vaccination: A case series. J Neurol Sci 2025;474:123536.
37. Park, J; Kim, S; Lee, J; An, JY. A case of transient POTS following COVID-19 vaccine. Acta Neurol Belg 2022;122:1081-1083.
38. Yasmin, F; Najeeb, H; Naeem, U; Moeed, A; Atif, AR; Asghar, MS, et al. Adverse events following COVID-19 mRNA vaccines: A systematic review of cardiovascular complication, thrombosis, and thrombocytopenia. Immun Inflamm Dis 2023;11:e807.
39. Jain, SS; Anderson, SA; Steele, JM; Wilson, HC; Muniz, JC; Soslow, JH, et al. Cardiac manifestations and outcomes of COVID-19 vaccine-associated myocarditis in the young in the USA: longitudinal results from the Myocarditis After COVID Vaccination (MACiV) multicenter study. EClinicalMedicine 2024;76:102809.
40. Liang, I; Swaminathan, S; Lee, AYS. Emergence of de novo cutaneous vasculitis post coronavirus disease (COVID-19) vaccination. Clin Rheumatol 2022;41:1611-1612.
41. Tang, X; Liu, F; Li, Q; Fu, H; Wang, J; Mao, J. De Novo Vasculitis after COVID-19 Vaccination. Curr Rheumatol Rev 2023;19:151-158.
42. Camargo Coronel, A; Jimenez Balderas, FJ; Quinones Moya, H; Hernandez Zavala, MR; Mandinabeitia Rodriguez, P; Hernandez Vazquez, JR, et al. Dermatomyositis post vaccine against SARS-COV2. BMC Rheumatol 2022;6:20.
43. Ryad, R; Osman, A; Almusa, A; Gerges, P; Sumbul-Yuksel, B. Dermatomyositis Flare-Up Following the SARS-CoV-2 Vaccine: A Case Report and Literature Review. Cureus 2023;15:e44324.
44. Diaz-Menindez, M; Sullivan, MM; Wang, B; Majithia, V; Abril, A; Butendieck, RR, Jr., et al. Dermatomyositis in Association With SARS-CoV-2 Infection or COVID-19 Vaccine. Arthritis Care Res (Hoboken) 2024;76:98-104.
45. Mantovani, M; Grossi, R; Di Fede, G; Bellavite, P. Thrombosis With Thrombocytopenia and Post-COVID-Vaccination Syndrome With Anti-G-Protein-Coupled Receptor (GPCR) Antibodies Treated With Therapeutic Plasma Exchange. Cureus 2024;16:e60019.
46. Mantovani, M; Bellavite, P; Fazio, S; Di Fede, G; Tomasi, M; Belli, D, et al. Autoantibodies Targeting G-Protein-Coupled Receptors and RAS-Related Molecules in Post-Acute COVID Vaccination Syndrome: A Retrospective Case Series Study. Biomedicines 2024;12.
47. Halma, M; Dhillon, S; Gracidas, C; Hassaan, S; Bellavite, P; Di Fede, G, et al. (2026) Autoimmunity, Vascular Dysfunction and Metabolic Alterations: A Trifecta of Impacts in Postacute COVID-19 Vaccination Syndrome (PACVS) in *Vaccine Development - Lessons Learned and Future Trends* (Abdurakhmonov, IYaG, G.F., ed) pp. 1-34, Intechopen, London.
48. Bustamante, C; Pinilla-Bonilla, LB; Patino Soler, M; Estravis, M. Neuraltherapeutic Medicine in Post-Acute COVID-19 Vaccination Syndrome (PACVS): A Critical Review with a Case Report. Restor Neurol Neurosci 2026. 10.1177/09226028251412573:9226028251412573.
49. Lee, E; Ozigbo, AA; Varon, J; Halma, M; Laezzo, M; Ang, SP, et al. Mitochondrial Reactive Oxygen Species: A Unifying Mechanism in Long COVID and Spike Protein-Associated Injury: A Narrative Review. Biomolecules 2025;15.
50. Gracidas, C; Levy, R; Varon, J; Halma, M. Lactate, Capnia, and Fat Oxidation as Therapeutic Axes for SARS-CoV-2 Spike Protein-Induced Sequelae. Horm Metab Res 2026. 10.1055/a-2794-9646.
51. Platschek, B; Boege, F. The Post-Acute COVID-19-Vaccination Syndrome in the Light of Pharmacovigilance. Vaccines (Basel) 2024;12.
52. Riad, A; Pokorna, A; Attia, S; Klugarova, J; Koscik, M; Klugar, M. Prevalence of COVID-19 Vaccine Side Effects among Healthcare Workers in the Czech Republic. J Clin Med 2021;10.

53. Riad, A; Sagiroglu, D; Ustun, B; Pokorna, A; Klugarova, J; Attia, S, et al. Prevalence and Risk Factors of CoronaVac Side Effects: An Independent Cross-Sectional Study among Healthcare Workers in Turkey. J Clin Med 2021;10.
54. Klugar, M; Riad, A; Mekhemar, M; Conrad, J; Buchbender, M; Howaldt, HP, et al. Side Effects of mRNA-Based and Viral Vector-Based COVID-19 Vaccines among German Healthcare Workers. Biology (Basel) 2021;10.
55. Horwitz, DA; Fahmy, TM; Piccirillo, CA; La Cava, A. Rebalancing Immune Homeostasis to Treat Autoimmune Diseases. Trends Immunol 2019;40:888-908.
56. Onofrio, LI; Marin, C; Dutto, J; Brugo, MB; Baigorri, RE; Bossio, SN, et al. COVID-19 patients display changes in lymphocyte subsets with a higher frequency of dysfunctional CD8lo T cells associated with disease severity. Front Immunol 2023;14:1223730.
57. Aquino, A; Zaikova, E; Kalinina, O; Karonova, TL; Rubinstein, A; Mikhaylova, AA, et al. T Regulatory Cell Subsets Do Not Restore for One Year After Acute COVID-19. Int J Mol Sci 2024;25.
58. Cabral-Marques, O; Halpert, G; Schimke, LF; Ostrinski, Y; Vojdani, A; Baiocchi, GC, et al. Autoantibodies targeting GPCRs and RAS-related molecules associate with COVID-19 severity. Nat Commun 2022;13:1220.
59. Ponti, G; Pastorino, L; Manfredini, M; Ozben, T; Oliva, G; Kaleci, S, et al. COVID-19 spreading across world correlates with C677T allele of the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene prevalence. J Clin Lab Anal 2021;35:e23798.
60. Tekcan, A; Cihangiroglu, M; Capraz, M; Capraz, A; Yigit, S; Nursal, AF, et al. Association of ACE ID, MTHFR C677T, and MIF-173GC variants with the clinical course of COVID-19 patients. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids 2023;42:782-796.
61. Petrova, B; Syphurs, C; Culhane, AJ; Chen, J; Chen, E; Cotsapas, C, et al. MTHFR allele and one-carbon metabolic profile predict severity of COVID-19. Proc Natl Acad Sci U S A 2025;122:e2509118122.
62. Jukic, I; Heffernan, A; Schelling, AF; Kokic Males, V; Savicevic, NJ; Kovacic, V. Association between COVID-19 Infection or Vaccination Outcomes and Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Polymorphism: A Systematic Review of the Literature. J Pers Med 2023;13.
63. Fousse, M; Schub, D; Merzou, F; Fassbender, K; Sester, M; Kettner, M, et al. Case report: cerebral sinus vein thrombosis in two patients with AstraZeneca SARS-CoV-2 vaccination. J Neurol 2022;269:583-586.
64. Atoui, A; Jarrah, K; Al Mahmasani, L; Bou-Fakhredin, R; Taher, AT. Deep venous thrombosis and pulmonary embolism after COVID-19 mRNA vaccination. Ann Hematol 2022;101:1111-1113.
65. Lu, M; Peng, K; Song, L; Luo, L; Liang, P; Liang, Y. Association between Genetic Polymorphisms in Methylenetetrahydrofolate Reductase and Risk of Autoimmune Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. Dis Markers 2022;2022:4568145.
66. WHO (2021) Causality assessment of an adverse event following immunization (AEFI): user manual for the revised WHO classification, 2nd ed., 2019 update in Pharmacovigilance (PVG) (Organization, WH, ed) pp. 74, World Health Organization, Geneva.
67. Bellavite, P; Donzelli, A; Isidoro, C. The WHO Algorithm for Causality Assessment of Adverse Effects Following Immunization with Genetic-Based Anti-COVID-19 Vaccines: Pitfalls and Suggestions for Improvement. J Clin Med 2024;13.
68. Faksova, K; Walsh, D; Jiang, Y; Griffin, J; Phillips, A; Gentile, A, et al. COVID-19 vaccines and adverse events of special interest: A multinational Global Vaccine Data Network (GVDN) cohort study of 99 million vaccinated individuals. Vaccine 2024;42:2200-2211.
69. Kim, MS; Jung, SY; Ahn, JG; Park, SJ; Shoenfeld, Y; Kronbichler, A, et al. Comparative safety of mRNA COVID-19 vaccines to influenza vaccines: A pharmacovigilance analysis using WHO international database. J Med Virol 2021. 10.1002/jmv.27424.
70. Chen, Y; Xu, Z; Wang, P; Li, XM; Shuai, ZW; Ye, DQ, et al. New-onset autoimmune phenomena post-COVID-19 vaccination. Immunology 2022;165:386-401.
71. Root-Bernstein, R; Huber, J; Ziehl, A; Pietrowicz, M. SARS-CoV-2 and Its Bacterial Co- or Super-Infections Synergize to Trigger COVID-19 Autoimmune Cardiopathies. Int J Mol Sci 2023;24.
72. Al Kadri, HM; Al Sudairy, AA; Alangari, AS; Al Khateeb, BF; El-Metwally, AA. COVID-19 vaccination and menstrual disorders among women: Findings from a meta-analysis study. J Infect Public Health 2023;16:697-704.
73. Jung, SW; Jeon, JJ; Kim, YH; Choe, SJ; Lee, S. Long-term risk of autoimmune diseases after mRNA-based SARS-CoV2 vaccination in a Korean, nationwide, population-based cohort study. Nat Commun 2024;15:6181.
74. Bhatia, U; Aggarwal, N; Barjuca, R; Halalau, A. Type 1 Diabetes Mellitus Caused by COVID-19 mRNA Vaccination: A Case Report and Literature Review of 17 Published Cases. AACE Clin Case Rep 2024;10:179-183.
75. Jeong, J; Jo, H; Park, J; Smith, L; Rahmati, M; Lee, K, et al. Global Estimates of Vaccine-Associated Hepatic Autoimmune Disorders and Their Related Vaccines, 1968-2024: An International Analysis of the WHO Pharmacovigilance Database. Int Arch Allergy Immunol 2025;186:696-702.
76. Peng, M; Wang, Z. Vaccine-Associated Autoimmunity: From Clinical Signals to Immune Pathways. Vaccines (Basel) 2025;13.
77. Fenoglio, R; Lalloni, S; Marchisio, M; Oddone, V; De Simone, E; Del Vecchio, G, et al. New Onset Biopsy-Proven Nephropathies after COVID Vaccination. Am J Nephrol 2022;53:325-330.
78. Ueno, M; Takabatake, H; Itakura, J; Fujita, R; Kayahara, T; Morimoto, Y, et al. Corticosteroid-refractory autoimmune hepatitis after COVID-19 vaccination: a case report and literature review. Clin J Gastroenterol 2023;16:554-558.
79. Peng, K; Li, X; Yang, D; Chan, SCW; Zhou, J; Wan, EYF, et al. Risk of autoimmune diseases following COVID-19 and the potential protective effect from vaccination: a population-based cohort study. EClinicalMedicine 2023;63:102154.
80. Jagtap, K; Naveen, R; Day, J; Sen, P; Vaidya, B; Nune, A, et al. Flares in autoimmune rheumatic diseases in the post-COVID-19 vaccination period-a cross-sequential study based on COVAD surveys. Rheumatology (Oxford) 2023;62:3838-3848.
81. Patone, M; Handunnetthi, L; Saatci, D; Pan, J; Katikireddi, SV; Razvi, S, et al. Neurological complications after first dose of COVID-19 vaccines and SARS-CoV-2 infection. Nat Med 2021;27:2144-2153.
82. Samim, MM; Dhar, D; Goyal, S; Dey, T; Parvin, N; Shah, RD, et al. AI-CoV Study: Autoimmune Encephalitis Associated With COVID-19 and Its Vaccines-A Systematic Review. J Clin Neurol 2022;18:692-710.
83. Gerhard, A; Raeder, V; Pernice, HF; Boesl, F; Schroeder, M; Richter, J, et al. Neurological symptoms after COVID-19 vaccination: a report on the clinical presentation of the first 50 patients. J Neurol 2023;270:4673-4677.
84. Rodriguez, Y; Rojas, M; Beltran, S; Polo, F; Camacho-Dominguez, L; Morales, SD, et al. Autoimmune and autoinflammatory conditions after COVID-19 vaccination. New case reports and updated literature review. J Autoimmun 2022;132:102898.
85. Schwab, J; Foglierini, M; Pescosolido, E; Pacheco, I; Ruiz Buendia, GA; Madelon, N, et al. Features of chronic urticaria after COVID-19 mRNA vaccine over time. Commun Med (Lond) 2024;4:254.
86. Frieri, M. Mast Cell Activation Syndrome. Clin Rev Allergy Immunol 2018;54:353-365.
87. Ehrenfeld, M; Tincani, A; Andreoli, L; Cattalini, M; Greenbaum, A; Kanduc, D, et al. Covid-19 and autoimmunity. Autoimmun Rev 2020;19:102597.
88. Suzuki, YJ; Gychka, SG. SARS-CoV-2 Spike Protein Elicits Cell Signaling in Human Host Cells: Implications for Possible Consequences of COVID-19 Vaccines. Vaccines (Basel) 2021;9.
89. Castruita, JAS; Schneider, UV; Mollerup, S; Leineweber, TD; Weis, N; Bukh, J, et al. SARS-CoV-2 spike mRNA vaccine sequences circulate in blood up to 28 days after COVID-19 vaccination. APMIS 2023;131:128-132.
90. Lee, Y; Jeong, M; Park, J; Jung, H; Lee, H. Immunogenicity of lipid nanoparticles and its impact on the efficacy of mRNA vaccines and therapeutics. Exp Mol Med 2023;55:2085-2096.
91. Camperi, J; Lippold, S; Ayalew, L; Roper, B; Shao, S; Freund, E, et al. Comprehensive Impurity Profiling of mRNA: Evaluating Current Technologies and Advanced Analytical Techniques. Anal Chem 2024;96:3886-3897.
92. Konig, B; Kirchner, JO. Methodological Considerations Regarding the Quantification of DNA Impurities in the COVID-19 mRNA Vaccine Comirnaty((R)). Methods Protoc 2024;7.

93. Speicher, DJ; Rose, J; McKernan, K. Quantification of residual plasmid DNA and SV40 promoter-enhancer sequences in Pfizer/BioNTech and Moderna modRNA COVID-19 vaccines from Ontario, Canada. Autoimmunity 2025;58:2551517.
94. Schmeling, M; Manniche, V; Hansen, PR. Batch-dependent safety of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine. Eur J Clin Invest 2023;53:e14102.
95. Manniche, V; Schmeling, M; Gilthorpe, JD; Hansen, PR. Reports of Batch-Dependent Suspected Adverse Events of the BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine: Comparison of Results from Denmark and Sweden. Medicina (Kaunas) 2024;60.
96. Boros, LG; Kyriakopoulos, AM; Brogna, C; Piscopo, M; McCullough, PA; Seneff, S. Long-lasting, biochemically modified mRNA, and its frameshifted recombinant spike proteins in human tissues and circulation after COVID-19 vaccination. Pharmacol Res Perspect 2024;12:e1218.
97. Mulroney, TE; Poyry, T; Yam-Puc, JC; Rust, M; Harvey, RF; Kalmar, L, et al. N(1)-methylpseudouridylation of mRNA causes +1 ribosomal frameshifting. Nature 2024;625:189-194.
98. Kanduc, D; Shoenfeld, Y. Molecular mimicry between SARS-CoV-2 spike glycoprotein and mammalian proteomes: implications for the vaccine. Immunol Res 2020;68:310-313.
99. Kanduc, D. From Anti-SARS-CoV-2 Immune Response to the Cytokine Storm via Molecular Mimicry. Antibodies (Basel) 2021;10.
100. Talotta, R. Molecular Mimicry and HLA Polymorphisms May Drive Autoimmunity in Recipients of the BNT-162b2 mRNA Vaccine: A Computational Analysis. Microorganisms 2023;11.
101. Devaux, CA; Camoin-Jau, L. Molecular Mimicry of the Viral Spike in the SARS-CoV-2 Vaccine Possibly Triggers Transient Dysregulation of ACE2, Leading to Vascular and Coagulation Dysfunction Similar to SARS-CoV-2 Infection. Viruses 2023;15.
102. Murphy, WJ; Longo, DL. A Possible Role for Anti-idiotype Antibodies in SARS-CoV-2 Infection and Vaccination. N Engl J Med 2022;386:394-396.
103. Kurbel, S. Jerne's "immune network theory", of interacting anti-idiotypic antibodies applied to immune responses during COVID-19 infection and after COVID-19 vaccination. Bioessays 2023;45:e2300071.
104. Talwar, S; Harker, JA; Openshaw, PJM; Thwaites, RS. Autoimmunity in Long-COVID. J Allergy Clin Immunol 2025. 10.1016/j.jaci.2025.02.005.
105. Dotan, A; Kanduc, D; Muller, S; Makatsariya, A; Shoenfeld, Y. Molecular mimicry between SARS-CoV-2 and the female reproductive system. Am J Reprod Immunol 2021;86:e13494.
106. Lahita, RG. Sex and gender influence on immunity and autoimmunity. Front Immunol 2023;14:1142723.
107. Naveed, A; Naz, D; Rahman, SU. Idiotype/anti-idiotype antibodies: as a glorious savior in COVID-19 pandemics. Transl Med Commun 2021;6:18.
108. Collins, CP; Herzog, C; Vick, LV; Nielsen, R; Harville, YI; Longo, DL, et al. Sequential SARS-CoV-2 mRNA Vaccination Induces Anti-Idiotype (Anti-ACE2) Antibodies in K18 Human ACE2 Transgenic Mice. Vaccines (Basel) 2025;13.
109. Vanderlugt, CJ; Miller, SD. Epitope spreading. Curr Opin Immunol 1996;8:831-6.
110. Jerne, NK. Idiotypic networks and other preconceived ideas. Immunol Rev 1984;79:5-24.
111. Poland, GA; Kennedy, RB; McKinney, BA; Ovsyannikova, IG; Lambert, ND; Jacobson, RM, et al. Vaccinomics, adversomics, and the immune response network theory: Individualized vaccinology in the 21st century. Semin Immunol 2013;25:89-103.
112. Kasten-Jolly, J; Lawrence, DA. Cellular and Molecular Immunity to Influenza Viruses and Vaccines. Vaccines (Basel) 2024;12.
113. Vanderlugt, CL; Miller, SD. Epitope spreading in immune-mediated diseases: implications for immunotherapy. Nat Rev Immunol 2002;2:85-95.
114. Smatti, MK; Cyprian, FS; Nasrallah, GK; Al Thani, AA; Almishal, RO; Yassine, HM. Viruses and Autoimmunity: A Review on the Potential Interaction and Molecular Mechanisms. Viruses 2019;11.
115. Lyons-Weiler, J. Pathogenic Priming Likely Contributes to Serious and Critical Illness and Mortality in COVID-19 via Autoimmunity. J Transl Autoimmun 2020. 10.1016/j.jtauto.2020.100051 [doi];S2589-9090(20)30018-6 [pii];100051 [pii]:100051.
116. Vojdani, A; Kharrazian, D. Potential antigenic cross-reactivity between SARS-CoV-2 and human tissue with a possible link to an increase in autoimmune diseases. Clin Immunol 2020;217:108480.
117. Sotzny, F; Filgueiras, IS; Kedor, C; Freitag, H; Wittke, K; Bauer, S, et al. Dysregulated autoantibodies targeting vaso- and immunoregulatory receptors in Post COVID Syndrome correlate with symptom severity. Front Immunol 2022;13:981532.
118. Felipe Cuspoca, A; Isaac Estrada, P; Velez-van-Meerbeke, A. Molecular Mimicry of SARS-CoV-2 Spike Protein in the Nervous System: A Bioinformatics Approach. Comput Struct Biotechnol J 2022;20:6041-6054.
119. Nunez-Castilla, J; Stebliankin, V; Baral, P; Balbin, CA; Sobhan, M; Cickovski, T, et al. Potential Autoimmunity Resulting from Molecular Mimicry between SARS-CoV-2 Spike and Human Proteins. Viruses 2022;14.
120. Mizuno, Y; Nakasone, W; Nakamura, M; Otaki, JM. In Silico and In Vitro Evaluation of the Molecular Mimicry of the SARS-CoV-2 Spike Protein by Common Short Constituent Sequences (cSCSs) in the Human Proteome: Toward Safer Epitope Design for Vaccine Development. Vaccines (Basel) 2024;12.
121. Briquez, PS; Rouhani, SJ; Yu, J; Pyzer, AR; Trujillo, J; Dugan, HL, et al. Severe COVID-19 induces autoantibodies against angiotensin II that correlate with blood pressure dysregulation and disease severity. Sci Adv 2022;8:eabn3777.
122. Kakoulidis, P; Vlachos, IS; Thanos, D; Blatch, GL; Emiris, IZ; Anastasiadou, E. Identifying and profiling structural similarities between Spike of SARS-CoV-2 and other viral or host proteins with Machaon. Commun Biol 2023;6:752.
123. Segalla, G. Chemical-physical criticality and toxicological potential of lipid nanomaterials contained in a COVID-19 mRNA vaccine. International Journal of Vaccine Theory, Practice, and Research 2023;3:787-817.
124. Segalla, G. Apparent Cytotoxicity and Intrinsic Cytotoxicity of Lipid Nanomaterials Contained in a COVID-19 mRNA Vaccine. International Journal of Vaccine Theory, Practice, and Research 2023;3:957-972.
125. Olia, AS; Prabhakaran, M; Harris, DR; Cheung, CS; Gillespie, RA; Gorman, J, et al. Anti-idiotype isolation of a broad and potent influenza A virus-neutralizing human antibody. Front Immunol 2024;15:1399960.
126. Bellavite, P. Renin-Angiotensin System, SARS-CoV-2 and Hypotheses about Adverse Effects Following Vaccination. EC Pharmacology and Toxicology 2021;9:1-10.
127. Takahashi, W; Mizuno, T; Hara, K; Ara, Y; Hurutani, R; Agatsuma, T, et al. Association of Systemic Adverse Reactions and Serum SARS-CoV-2 Spike Protein Antibody Levels after Administration of BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine. Intern Med 2022. 10.2169/internalmedicine.9699-22.
128. Chao, CH; Cheng, D; Huang, SW; Chuang, YC; Yeh, TM; Wang, JR. Serological responses triggered by different SARS-CoV-2 vaccines against SARS-CoV-2 variants in Taiwan. Front Immunol 2022;13:1023943.
129. Kuriakose, J; Montezano, AC; Touyz, RM. ACE2/Ang-(1-7)/Mas1 axis and the vascular system: vasoprotection to COVID-19-associated vascular disease. Clin Sci (Lond) 2021;135:387-407.
130. Jiang, M; Huang, W; Wang, Z; Ren, F; Luo, L; Zhou, J, et al. Anti-inflammatory effects of Ang-(1-7) via TLR4-mediated inhibition of the JNK/FoxO1 pathway in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 cells. Dev Comp Immunol 2019;92:291-298.
131. El-Hashim, AZ; Khajah, MA; Babyson, RS; Renno, WM; Ezeamuzie, CI; Benter, IF, et al. Ang-(1-7)/ MAS1 receptor axis inhibits allergic airway inflammation via blockade of Src-mediated EGFR transactivation in a murine model of asthma. PLoS One 2019;14:e0224163.
132. Fang, C; Schmaier, AH. Novel anti-thrombotic mechanisms mediated by Mas receptor as result of balanced activities between the kallikrein/kinin and the renin-angiotensin systems. Pharmacol Res 2020;160:105096.
133. Tao, MX; Xue, X; Gao, L; Lu, JL; Zhou, JS; Jiang, T, et al. Involvement of angiotensin-(1-7) in the neuroprotection of captopril against focal cerebral ischemia. Neurosci Lett 2018;687:16-21.
134. Bennion, DM; Jones, CH; Donnangelo, LL; Graham, JT; Isenberg, JD; Dang, AN, et al. Neuroprotection by post-stroke administration of an oral formulation of angiotensin-(1-7) in ischaemic stroke. Exp Physiol 2018;103:916-923.

135. Zhang, F; Tang, H; Sun, S; Luo, Y; Ren, X; Chen, A, et al. Angiotensin-(1-7) induced vascular relaxation in spontaneously hypertensive rats. Nitric Oxide 2019;88:1-9.
136. Pontes, CNR; Scalzo, S; Jesus, ICG; Jesus, EF; Nunes, ADC; Mendonca, MM, et al. Angiotensin-(1-7) attenuates the negative inotropic response to acetylcholine in the heart. Peptides 2022;158:170862.
137. Zhou, Y; Li, M; Zhu, DL; Jiang, T; Gao, Q; Tang, XH, et al. Neuroprotective effect of angiotensin-(1-7) against rotenone-induced oxidative damage in CATH.a neurons. Toxicol In Vitro 2018;50:373-382.
138. Xu, P; Sriramula, S; Lazartigues, E. ACE2/ANG-(1-7)/Mas pathway in the brain: the axis of good. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2011;300:R804-17.
139. Chappell, MC. Renin-Angiotensin System and Sex Differences in COVID-19: A Critical Assessment. Circ Res 2023;132:1320-1337.
140. Azzara, A; Cassano, I; Tirindelli, MC; Nobile, C; Schittone, V; Paccagnella, E, et al. Whole exome sequencing identifies a rare variant in MAS1 gene in a subject with lethal COVID-19. Gene Rep 2022;29:101705.
141. Barreto Fernandes, TF; Pilotto, JH; Cezar, PA; Cortes, FH; Morgado, MG; Giacoia-Gripp, CBW, et al. Modulation of RAAS receptors and miRNAs in COVID-19: implications for disease severity, immune response, and potential therapeutic targets. BMC Infect Dis 2025;25:399.
142. Kurbel, S. The renin-angiotensin system in COVID-19: Why ACE2 targeting by coronaviruses produces higher mortality in elderly hypertensive patients? Bioessays 2021;43:e2000112.
143. Shirbhate, E; Pandey, J; Patel, VK; Kamal, M; Jawaid, T; Gorain, B, et al. Understanding the role of ACE-2 receptor in pathogenesis of COVID-19 disease: a potential approach for therapeutic intervention. Pharmacol Rep 2021;73:1539-1550.
144. von Bohlen Und Halbach, O. The angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) system in the brain: possible involvement in Neuro-Covid. Histol Histopathol 2021;36:1125-1131.
145. Angeli, F; Reboldi, G; Trapasso, M; Zappa, M; Spanevello, A; Verdecchia, P. COVID-19, vaccines and deficiency of ACE2 and other angiotensinases. Closing the loop on the "Spike effect". Eur J Intern Med 2022;103:23-28.
146. Angeli, F; Zappa, M; Verdecchia, P. Rethinking the Role of the Renin-Angiotensin System in the Pandemic Era of SARS-CoV-2. J Cardiovasc Dev Dis 2023;10.
147. Angeli, F; Zappa, M; Reboldi, G; Gentile, G; Trapasso, M; Spanevello, A, et al. The spike effect of acute respiratory syndrome coronavirus 2 and coronavirus disease 2019 vaccines on blood pressure. Eur J Intern Med 2023;109:12-21.
148. Hallmann, E; Sikora, D; Poniedzialek, B; Szymanski, K; Kondratiuk, K; Zurawski, J, et al. IgG autoantibodies against ACE2 in SARS-CoV-2 infected patients. J Med Virol 2023;95:e28273.
149. Alam, MS; Czajkowsky, DM. SARS-CoV-2 infection and oxidative stress: Pathophysiological insight into thrombosis and therapeutic opportunities. Cytokine Growth Factor Rev 2022;63:44-57.
150. Kaltenecker, CC; Domenig, O; Kopecky, C; Antlanger, M; Poglitsch, M; Berlakovich, G, et al. Critical Role of Neprilysin in Kidney Angiotensin Metabolism. Circ Res 2020;127:593-606.
151. Esser, N; Zraika, S. Neprilysin Inhibitors and Angiotensin(1-7) in COVID-19. Br J Cardiol 2020;27:109-111.
152. Grimm, L; Onyeukwu, C; Kenny, G; Parent, DM; Fu, J; Dhingra, S, et al. Immune Dysregulation in Acute SARS-CoV-2 Infection. Pathog Immun 2022;7:143-170.
153. Rahman, MM; Hasan, M; Ahmed, A. Potential detrimental role of soluble ACE2 in severe COVID-19 comorbid patients. Rev Med Virol 2021. 10.1002/rmv.2213 [doi].
154. Verdecchia, P; Cavallini, C; Spanevello, A; Angeli, F. The pivotal link between ACE2 deficiency and SARS-CoV-2 infection. Eur J Intern Med 2020;76:14-20.
155. Verdecchia, P; Cavallini, C; Spanevello, A; Angeli, F. COVID-19: ACE2centric Infective Disease? Hypertension 2020;76:294-299.
156. Costa, LB; Perez, LG; Palmeira, VA; Cordeiro, ME; Ribeiro, VT; Lanza, K, et al. Insights on SARS-CoV-2 Molecular Interactions With the Renin-Angiotensin System. Front Cell Dev Biol 2020;8:559841.
157. Rojas, A; Gonzalez, I; Morales, MA. SARS-CoV-2-mediated inflammatory response in lungs: should we look at RAGE? Inflamm Res 2020;69:641-643.
158. Suzuki, YJ; Nikolaienko, SI; Dibrova, VA; Dibrova, YV; Vasylyk, VM; Novikov, MY, et al. SARS-CoV-2 spike protein-mediated cell signaling in lung vascular cells. Vascul Pharmacol 2021;137:106823.
159. Lu, J; Sun, PD. High affinity binding of SARS-CoV-2 spike protein enhances ACE2 carboxypeptidase activity. J Biol Chem 2020;295:18579-18588.
160. McCarthy, CG; Wilczynski, S; Wenceslau, CF; Webb, RC. A new storm on the horizon in COVID-19: Bradykinin-induced vascular complications. Vascul Pharmacol 2020. S1537-1891(20)30331-1 [pii];10.1016/j.vph.2020.106826 [doi]:106826.
161. Garvin, MR; Alvarez, C; Miller, JI; Prates, ET; Walker, AM; Amos, BK, et al. A mechanistic model and therapeutic interventions for COVID-19 involving a RAS-mediated bradykinin storm. Elife 2020;9.
162. Rice, GI; Thomas, DA; Grant, PJ; Turner, AJ; Hooper, NM. Evaluation of angiotensin-converting enzyme (ACE), its homologue ACE2 and neprilysin in angiotensin peptide metabolism. Biochem J 2004;383:45-51.
163. Bellavite, P. Causality assessment of adverse events following immunization: the problem of multifactorial pathology. F1000Res 2020;9:170.
164. Kim, SG; Lee, JY; Jeong, WG; Lee, JE; Kim, YH. Cardiac Magnetic Resonance Imaging Findings and Clinical Features of COVID-19 Vaccine-Associated Myocarditis, Compared With Those of Other Types of Myocarditis. J Korean Med Sci 2024;39:e42.
165. Shaheen, N; Ramadan, A; Shaheen, A; Elmasry, M; Swed, S; Hafez, W, et al. Myocarditis Following COVID-19 Vaccination: A Systematic Review. Cureus 2023;15:e37999.
166. Lee, JS; Choi, H; Shin, SH; Hwang, MJ; Na, S; Kim, JH, et al. Characterization of Brighton Collaboration criteria for myocarditis and pericarditis following COVID-19 vaccine in Korean adolescents. Vaccine 2024. 10.1016/j.vaccine.2024.04.032.
167. Cao, Z; Zhao, M; Xu, C; Zhang, T; Jia, Y; Wang, T, et al. Diagnostic Roles of Postmortem cTn I and cTn T in Cardiac Death with Special Regard to Myocardial Infarction: A Systematic Literature Review and Meta-Analysis. Int J Mol Sci 2019;20.
168. Levin, EG; Lustig, Y; Cohen, C; Fluss, R; Indenbaum, V; Amit, S, et al. Waning Immune Humoral Response to BNT162b2 Covid-19 Vaccine over 6 Months. N Engl J Med 2021;385:e84.
169. Teijaro, JR; Farber, DL. COVID-19 vaccines: modes of immune activation and future challenges. Nat Rev Immunol 2021;21:195-197.
170. Patterson, BK; Yogendra, R; Francisco, EB; Guevara-Coto, J; Long, E; Pise, A, et al. Detection of S1 spike protein in CD16+ monocytes up to 245 days in SARS-CoV-2-negative post-COVID-19 vaccine syndrome (PCVS) individuals. Hum Vaccin Immunother 2025;21:2494934.
171. Purpura, L; Heisler, T; Palmer, S; Shah, J; Graham, A; Seo, GY, et al. Overlapping Clinical Presentation of Long COVID and Postacute COVID-19 Vaccination Syndrome: Phenotypes, Severity, and Biomarkers. Clin Infect Dis 2026. 10.1093/cid/ciaf624.
172. Cohen Tervaert, JW; Martinez-Lavin, M; Jara, LJ; Halpert, G; Watad, A; Amital, H, et al. Autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants (ASIA) in 2023. Autoimmun Rev 2023;22:103287.
173. Arthur, JM; Forrest, JC; Boehme, KW; Kennedy, JL; Owens, S; Herzog, C, et al. Development of ACE2 autoantibodies after SARS-CoV-2 infection. PLoS One 2021;16:e0257016.
174. Brogna, C; Cristoni, S; Marino, G; Montano, L; Viduto, V; Fabrowski, M, et al. Detection of recombinant Spike protein in the blood of individuals vaccinated against SARS-CoV-2: Possible molecular mechanisms. Proteomics Clin Appl 2023. 10.1002/prca.202300048:e2300048.
175. Morz, M. A Case Report: Multifocal Necrotizing Encephalitis and Myocarditis after BNT162b2 mRNA Vaccination against COVID-19. Vaccines (Basel) 2022;10.
176. Beidari, MS; Audet, M; Turcotte, S; Daoust, R; Hohl, CM; Archambault, PM. Factors Associated with the Deterioration of Post-COVID-19 Condition Symptoms Following a Dose of SARS-CoV-2 Vaccine. MedRxiv 2026;Posted January 09, 2026.

177. Massad, M; Odeh, M; Al-Ghsoon, S; El-Mousa, A; Hindiyeh, H; Hindiyeh, H, et al. Association Between COVID-19 Vaccination and Gastrointestinal Manifestations: A Cross-Sectional Study. Health Sci Rep 2025;8:e71231.
178. Rubio-Casillas, A; Rodriguez-Quintero, CM; Hromic-Jahjefendic, A; Uversky, VN; Redwan, EM; Brogna, C. The essential role of prebiotics in restoring gut health in long COVID. Prog Mol Biol Transl Sci 2025;213:385-411.
179. Petrillo, M; Querci, M; Brogna, C; Ponti, J; Cristoni, S; Markov, PV, et al. Evidence of SARS-CoV-2 bacteriophage potential in human gut microbiota. F1000Res 2022;11:292.
180. Brogna, C; Montano, L; Zanolin, ME; Bisaccia, DR; Ciammetti, G; Viduto, V, et al. A retrospective cohort study on early antibiotic use in vaccinated and unvaccinated COVID-19 patients. J Med Virol 2024;96:e29507.
181. El-Arif, G; Khazaal, S; Farhat, A; Harb, J; Annweiler, C; Wu, Y, et al. Angiotensin II Type I Receptor (AT1R): The Gate towards COVID-19-Associated Diseases. Molecules 2022;27.
182. Richard, D; Muthuirulan, P; Aguiar, J; Doxey, AC; Banerjee, A; Mossman, K, et al. Intronic regulation of SARS-CoV-2 receptor (ACE2) expression mediated by immune signaling and oxidative stress pathways. iScience 2022;25:104614.
183. Karami Fath, M; Jahangiri, A; Ganji, M; Sefid, F; Payandeh, Z; Hashemi, ZS, et al. SARS-CoV-2 Proteome Harbors Peptides Which Are Able to Trigger Autoimmunity Responses: Implications for Infection, Vaccination, and Population Coverage. Front Immunol 2021;12:705772.
184. Hollenbach, J; Srivastava, A; Chatzileontiadou, D; Adhikari, A; Suseno, R; Lin, S, et al. An HLA Association With COVID-19 Vaccine Reactogenicity Correlates With Fewer SARS-CoV-2 Infections and Monocyte Activation. Res Sq 2025. 10.21203/rs.3.rs-8282930/v1.
185. Omersel, J; Karas Kuzelicki, N. Vaccinomics and Adversomics in the Era of Precision Medicine: A Review Based on HBV, MMR, HPV, and COVID-19 Vaccines. J Clin Med 2020;9.
186. Pena, LR; Hill, DB; McClain, CJ. Treatment with glutathione precursor decreases cytokine activity. JPEN J Parenter Enteral Nutr 1999;23:1-6.
187. Silvagno, F; Vernone, A; Pescarmona, GP. The Role of Glutathione in Protecting against the Severe Inflammatory Response Triggered by COVID-19. Antioxidants (Basel) 2020;9.
188. Polonikov, A. Endogenous Deficiency of Glutathione as the Most Likely Cause of Serious Manifestations and Death in COVID-19 Patients. ACS Infect Dis 2020;6:1558-1562.
189. Glassman, I; Le, N; Mirhosseini, M; Alcantara, CA; Asif, A; Goulding, A, et al. The Role of Glutathione in Prevention of COVID-19 Immunothrombosis: A Review. Front Biosci (Landmark Ed) 2023;28:59.
190. Akanchise, T; Angelov, B; Angelova, A. Nanomedicine-mediated recovery of antioxidant glutathione peroxidase activity after oxidative-stress cellular damage: Insights for neurological long COVID. J Med Virol 2024;96:e29680.
191. Lesgards, JF; Cerdan, D; Perronne, C. Do Long COVID and COVID Vaccine Side Effects Share Pathophysiological Picture and Biochemical Pathways? Int J Mol Sci 2025;26.
192. Von Ranke, NL; Zhang, W; Anokin, P; Hulscher, N; McKernan, K; McCullough, P, et al. Synthetic messenger RNA vaccines and transcriptomic dysregulation: Evidence from new-onset adverse events and cancers post-vaccination. World J Exp Med 2025;15:113869.
193. Rana, A; Samtiya, M; Dhewa, T; Mishra, V; Aluko, RE. Health benefits of polyphenols: A concise review. J Food Biochem 2022;46:e14264.
194. Imran, M; Thabet, HK; Alaqel, SI; Alzahrani, AR; Abida, A; Alshammari, MK, et al. The Therapeutic and Prophylactic Potential of Quercetin against COVID-19: An Outlook on the Clinical Studies, Inventive Compositions, and Patent Literature. Antioxidants (Basel) 2022;11.
195. Yousefian, M; Shakour, N; Hosseinzadeh, H; Hayes, AW; Hadizadeh, F; Karimi, G. The natural phenolic compounds as modulators of NADPH oxidases in hypertension. Phytomedicine 2019;55:200-213.
196. Fazio, S; Affuso, F; Bellavite, P. A Review of the Potential Roles of Antioxidant and Anti-Inflammatory Pharmacological Approaches for the Management of Mild-to-Moderate Symptomatic COVID-19. Med Sci Monit 2022;28:e936292.
197. Bellavite, P. Neuroprotective Potentials of Flavonoids: Experimental Studies and Mechanisms of Action. Antioxidants (Basel) 2023;12.
198. Colunga Biancatelli, RML; Berrill, M; Catravas, JD; Marik, PE. Quercetin and Vitamin C: An Experimental, Synergistic Therapy for the Prevention and Treatment of SARS-CoV-2 Related Disease (COVID-19). Front Immunol 2020;11:1451.
199. Bellavite, P; Donzelli, A. Hesperidin and SARS-CoV-2: New Light on the Healthy Function of Citrus Fruits. Antioxidants (Basel) 2020;9.
200. Ziaei, S; Alimohammadi-Kamalabadi, M; Hasani, M; Malekahmadi, M; Persad, E; Heshmati, J. The effect of quercetin supplementation on clinical outcomes in COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. Food Sci Nutr 2023;11:7504-7514.
201. Cheema, HA; Sohail, A; Fatima, A; Shahid, A; Shahzil, M; Ur Rehman, ME, et al. Quercetin for the treatment of COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. Rev Med Virol 2023;33:e2427.
202. Brito, JCM; Lima, WG; Cordeiro, LPB; da Cruz Nizer, WS. Effectiveness of supplementation with quercetin-type flavonols for treatment of viral lower respiratory tract infections: Systematic review and meta-analysis of preclinical studies. Phytother Res 2021. 10.1002/ptr.7122 [doi].
203. Montenegro-Landivar, MF; Tapia-Quiros, P; Vecino, X; Reig, M; Valderrama, C; Granados, M, et al. Polyphenols and their potential role to fight viral diseases: An overview. Sci Total Environ 2021;801:149719.
204. Di Petrillo, A; Orru, G; Fais, A; Fantini, MC. Quercetin and its derivates as antiviral potentials: A comprehensive review. Phytother Res 2022;36:266-278.
205. Rodriguez-Perez, AI; Labandeira, CM; Pedrosa, MA; Valenzuela, R; Suarez-Quintanilla, JA; Cortes-Ayaso, M, et al. Autoantibodies against ACE2 and angiotensin type-1 receptors increase severity of COVID-19. J Autoimmun 2021;122:102683.
206. Wang, K; Basu, R; Poglitsch, M; Bakal, JA; Oudit, GY. Elevated Angiotensin 1-7/Angiotensin II Ratio Predicts Favorable Outcomes in Patients With Heart Failure. Circ Heart Fail 2020;13:e006939.
207. de Moura, SS; Mendes, ATP; de Assis Dias Martins-Junior, F; Totou, NL; Coelho, DB; Oliveira, EC, et al. Angiotensin-(1-7) oral formulation improves physical performance in mountain bike athletes: a double-blinded crossover study. BMC Sports Sci Med Rehabil 2021;13:47.
208. Fraga-Silva, RA; Costa-Fraga, FP; De Sousa, FB; Alenina, N; Bader, M; Sinisterra, RD, et al. An orally active formulation of angiotensin-(1-7) produces an antithrombotic effect. Clinics (Sao Paulo) 2011;66:837-41.
209. Feltenberger, JD; Andrade, JM; Paraiso, A; Barros, LO; Filho, AB; Sinisterra, RD, et al. Oral formulation of angiotensin-(1-7) improves lipid metabolism and prevents high-fat diet-induced hepatic steatosis and inflammation in mice. Hypertension 2013;62:324-30.
210. Totou, NL; de Moura, SS; Martins Junior, FAD; de Sousa, FB; Coelho, DB; de Oliveira, EC, et al. Oral administration of angiotensin-(1-7) decreases muscle damage and prevents the fibrosis in rats after eccentric exercise. Exp Physiol 2021;106:1710-1719.
211. Magalhaes, GS; Gregorio, JF; Cancado Ribeiro, ATP; Baroni, IF; Vasconcellos, AVO; Nakashima, GP, et al. Oral Formulation of Angiotensin-(1-7) Promotes Therapeutic Actions in a Model of Eosinophilic and Neutrophilic Asthma. Front Pharmacol 2021;12:557962.
212. Lissoni, P; Rovelli, F; Monzon, A; Messina, G; Merli, N; Tartarelli, R, et al. Efficacy of a Neuroimmune Therapy Including Pineal Methoxyindoles, Angiotensin 1-7, and Endocannabinoids in Cancer, Autoimmune, and Neurodegenerative Diseases. Clin Interv Aging 2025;20:513-522.
213. Sanei, ZS; Shahrahmani, F; Khaleghi Manesh, B; Hamidi-Alamdari, D; Mehrad-Majd, H; Mavaji Darban, B, et al. Methylene blue for COVID-19 ARDS: insights from a randomized Clinical Trial. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 2025;398:1915-1924.
214. Salaris, SC; Babbs, CF; Voorhees, WD, 3rd. Methylene blue as an inhibitor of superoxide generation by xanthine oxidase. A potential new drug for the attenuation of ischemia/reperfusion injury. Biochem Pharmacol 1991;42:499-506.
215. Emadi, E; Hamidi Alamdari, D; Attaran, D; Attaran, S. Application of methylene blue for the prevention and treatment of COVID-19: A narrative review. Iran J Basic Med Sci 2024;27:780-792.
216. Bojadzic, D; Alcazar, O; Buchwald, P. Methylene Blue Inhibits the SARS-CoV-2 Spike-ACE2 Protein-Protein Interaction-a Mechanism that can Contribute to its Antiviral Activity Against COVID-19. Front Pharmacol 2020;11:600372.
217. Alkazemi, A; Almoosawy, SA; Murad, A; Alfares, A. Methylene Blue for Septic Shock: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized and Prospective Observational Studies. J Intensive Care Med 2024. 10.1177/08850666241300312:8850666241300312.

218. Shaker, EH; Soliman, AM; Bedewy, AAE; Elrawas, MM. Comparative study between high and low dose methylene blue infusion in septic cancer patients: a randomized, blinded, controlled study. BMC Anesthesiol 2025;25:15.
219. Tanikawa, T; Kiba, Y; Yu, J; Hsu, K; Chen, S; Ishii, A, et al. Degradative Effect of Nattokinase on Spike Protein of SARS-CoV-2. Molecules 2022;27.
220. Hulscher, N; Procter, BC; Wynn, C; McCullough, PA. Clinical Approach to Post-acute Sequelae After COVID-19 Infection and Vaccination. Cureus 2023;15:e49204.
221. Ahuja, P; Rao, L; Dsouza, N. Targeting SARS-CoV-2 variants with Bromelain: an in-silico study of Spike-ACE2 inhibition using docking, molecular dynamic simulation, and MM-PBSA. In Silico Pharmacol 2025;13:157.
222. Hogan Ii, RB; Hogan Iii, RB; Cannon, T; Rappai, M; Studdard, J; Paul, D, et al. Dual-histamine receptor blockade with cetirizine - famotidine reduces pulmonary symptoms in COVID-19 patients. Pulm Pharmacol Ther 2020;63:101942.
223. Gallo, R; Trave, I; Cotzia, E; Russo, R; Parodi, A. Dermato-neuro Syndrome after COVID-19 Vaccination in a Patient with Scleromyxoedema Previously Controlled with Bortezomib and Intravenous Immunoglobulins. Acta Derm Venereol 2022;102:adv00836.
224. Roltgen, K; Nielsen, SCA; Silva, O; Younes, SF; Zaslavsky, M; Costales, C, et al. Immune imprinting, breadth of variant recognition, and germinal center response in human SARS-CoV-2 infection and vaccination. Cell 2022;185:1025-1040 e14.

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.