

Toxicité de la protéine SPIKE

Dr Kevin McCairn, PhD neurosciences Avril 2021

La protéine Spike est un facteur de virulence essentiel du virus SARS-CoV2.

Exprimée par les cellules infectées par le SARS-CoV2, ou après transduction par les vaccins à ARNm ou à vecteur Adenovirus (ADN), sous forme biologiquement active, son rôle n'est pas limité à la présentation inerte d'épitopes immunogènes.

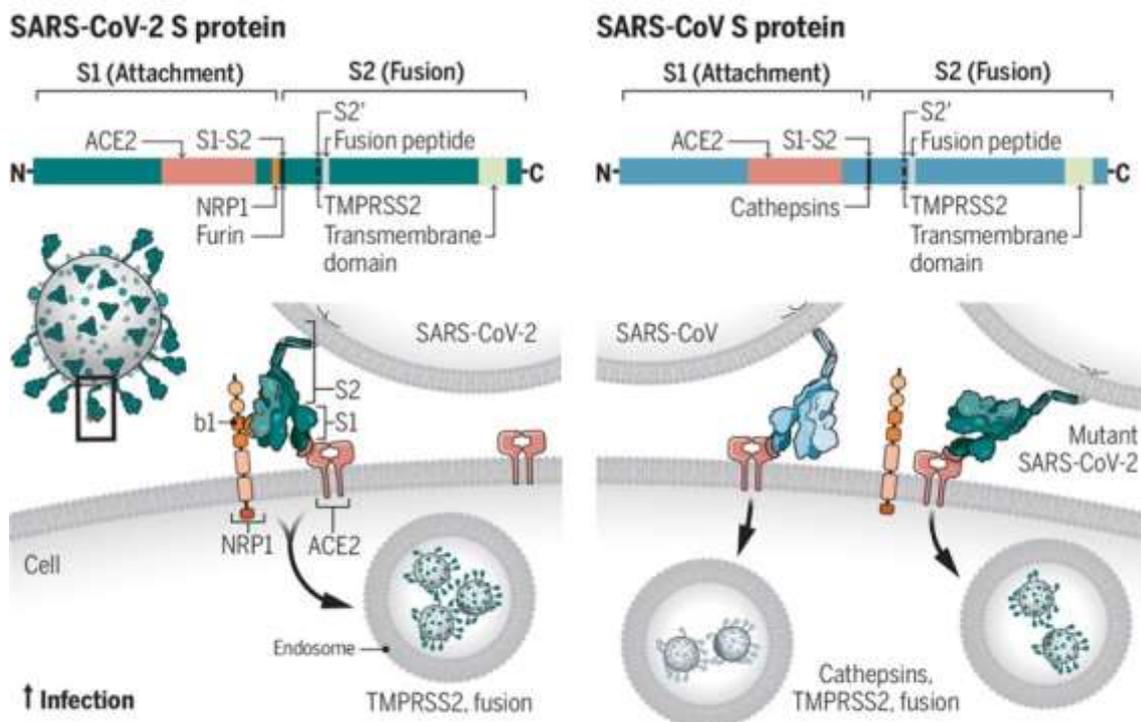
Son expression implique de nombreuses potentialités toxiques, autonomes de la présence du virus SARS-CoV2 et susceptibles de reproduire certaines manifestations cliniques de la maladie COVID-19. Cet article vise à synthétiser quelles sont les potentialités toxiques autonomes induites par l'expression de la protéine Spike, à court, moyen et long terme.

La protéine Spike détermine le tropisme du virus SARS-CoV2

Le SARS-Cov2 utilise pour son entrée dans la cellule, comme son cousin le SARS-CoV, le récepteur ACE2 et la protéase TMPRSS2 [1]. (Fig [1])

Model for SARS-CoV-2 processing and entry

Proteolytic processing of SARS-CoV and SARS-CoV-2 S proteins facilitates virus entry. SARS-CoV and SARS-CoV-2 bind to ACE2 at a region on S1. Furin cleavage at the S1-S2 junction exposes the C-terminal peptide on SARS-CoV-2 S1 and allows binding to NRP1. Subsequent processing by cathepsins and TMPRSS2 allows S2 fusion peptide-mediated membrane insertion and merging of membranes. The absence of a furin cleavage site in SARS-CoV S1 and a SARS-CoV-2 S1 mutant prevents binding to NRP1 and limits virus entry and infection.



ACE2, angiotensin-converting enzyme 2; NRP1, neuropilin 1; S, spike; SARS-CoV, severe acute respiratory syndrome coronavirus; TMPRSS2, transmembrane protease serine 2.

Fig [1] d'après [2]

Toutefois, son tropisme est étendu par l'existence d'un autre récepteur la Neuropiline-1, qui accroît l'infectiosité au niveau des épithéliums olfactifs et respiratoires, des endothéliums vasculaires et du cerveau [3] [4] (Fig [2])

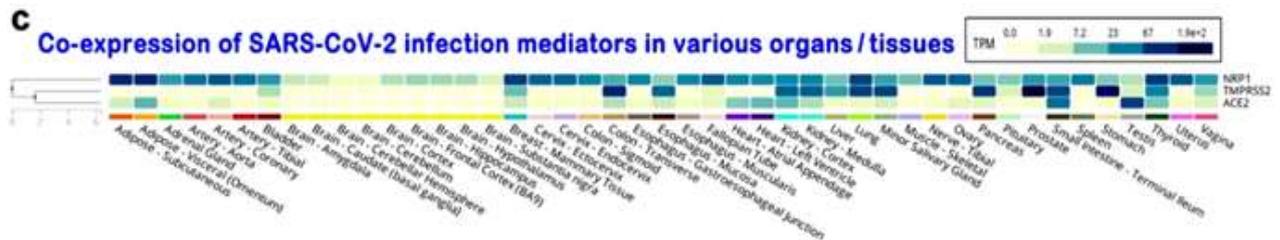


Fig [2] D'après [5]

Spike présente un domaine RGD (Arginine-Glycine-Aspartate), commun avec d'autres virus se liant aux intégrines (Fig [3]). Les intégrines, qui sont des récepteurs heterodimeriques intervenant dans l'adhésion cellulaire, la migration cellulaire et la signalisation cellulaire, notamment au niveau des pneumocytes, des plaquettes et des cellules endothéliales.

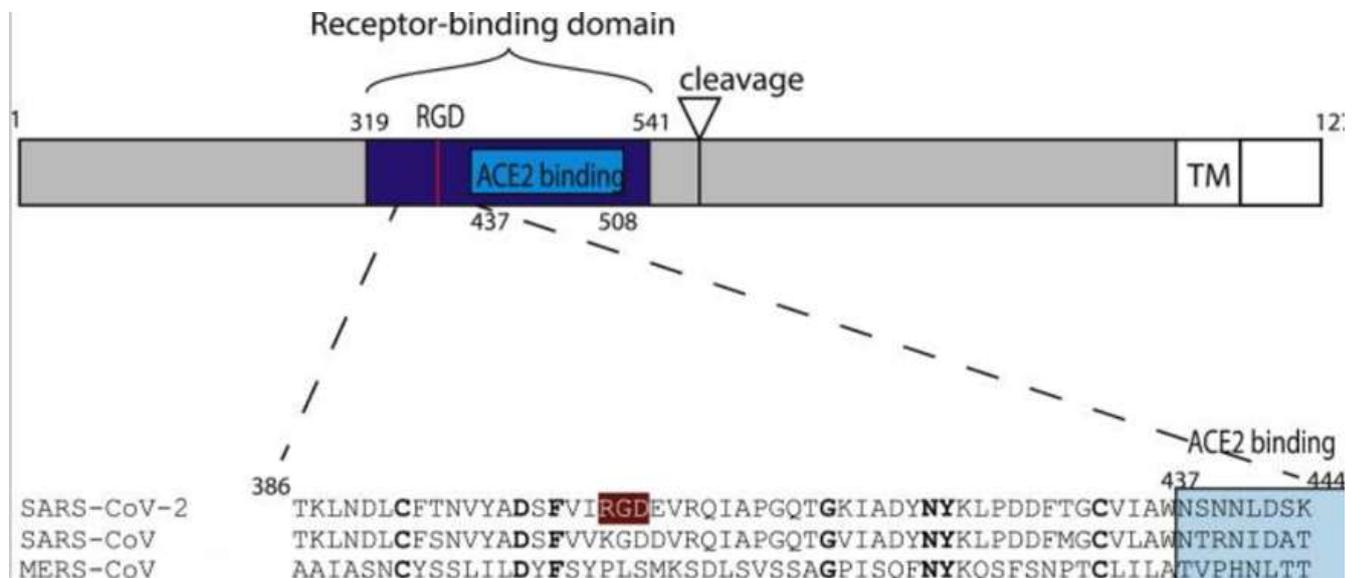


Fig [3] D'après [6]

L'interaction du virus avec les intégrines pourrait soit faciliter l'entrée du virus dans la cellule soit permettre au virus d'adhérer en surface de la cellule et se comporter soit en antagoniste (blocage du récepteur) soit en agoniste, entraînant une cascade de signalisation intracellulaire.

Enfin, l'existence de domaines liant l'héparine au niveau du RBD permet l'interaction avec des protéoglycanes à héparane sulfate membranaires et l'internalisation du virus par la voie de l'endocytose [7]

La protéine Spike de SARS-CoV2 présente des insertions uniques parmi les SARS coronavirus, superantigéniques, qui pourraient expliquer les syndromes inflammatoires multi systémiques (MIS) [8]

La singulière insertion du site clivage furine "PRRA" (FCS) [Fig. 4A], unique parmi les SARS coronavirus, est précédée d'un motif, également unique dans la clade, "YQTQTNS". La séquence obtenue (Y₆₇₄QTQTNSPRRAR₆₈₅) est **homologue de superantigènes présents dans le venin de Cobra, le virus de la rage, la protéine gp120 de HIV1, et l'entérotoxine B de *Staphylococcus aureus*, impliquée dans les syndromes de choc toxique staphylococciques (TSS)[Fig.4D].**

Ce superantigène au niveau du site de clivage S1/S2 est **susceptible d'activer le système immunitaire** par la voie du TCR (CMH2), entraînant chez certains **individus un orage cytokinique, expliquant les syndromes inflammatoires multisystémiques (MIS)**, proches des **syndromes de choc staphylococcique (TSS) et du syndrome de Kawasaki.**

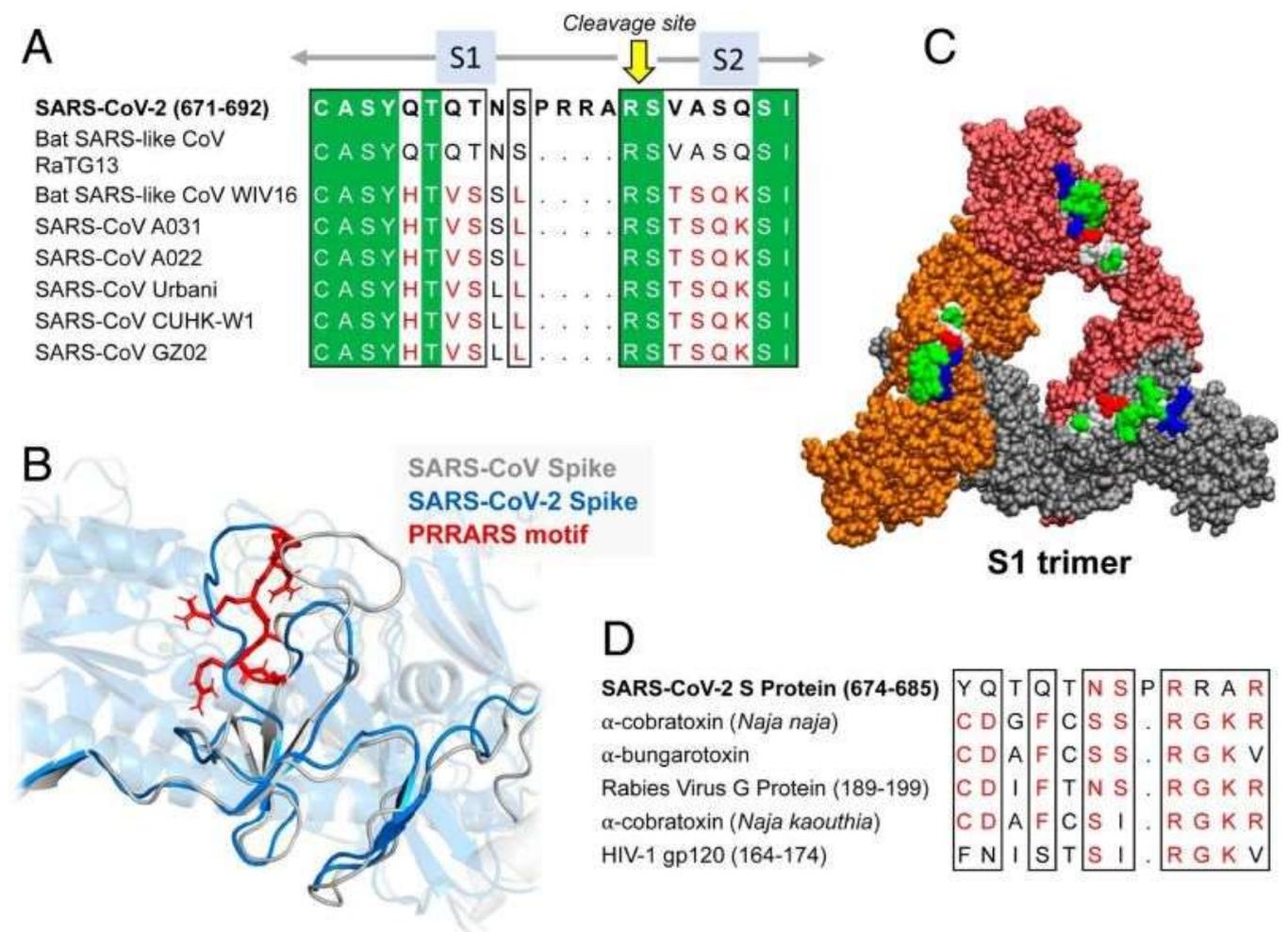


Fig [4] D'après [9]

La protéine Spike de SARS-CoV2 présente des **séquences homologues de neurotoxines de venin de serpent de la famille des *Elapilidae***, ayant une activité antagoniste des récepteurs nicotiniques de l'Acétylcholine, en particulier la séquence 375-390 [10][11],

homologue de la neurotoxine NL (Fig [5]), et la séquence 674-685 précitée [Fig 4D] [12][13][14], homologue de la cobratoxine et de l' α -bungarotoxine.

Cette activité antagoniste des récepteurs de l'acétylcholine serait impliquée dans des paralysies et dans des dysfonctions du système nerveux autonome dont la voie cholinergique anti-inflammatoire du nerf vague régulant l'activité des macrophages [Fig 6]. Les agonistes nicotiques, et les modulateurs allostériques positifs du récepteur alpha-7 du récepteur nicotinique de l'acétylcholine telle que l'ivermectine [15], pourraient restaurer ces dysfonctions induites par la protéine Spike.

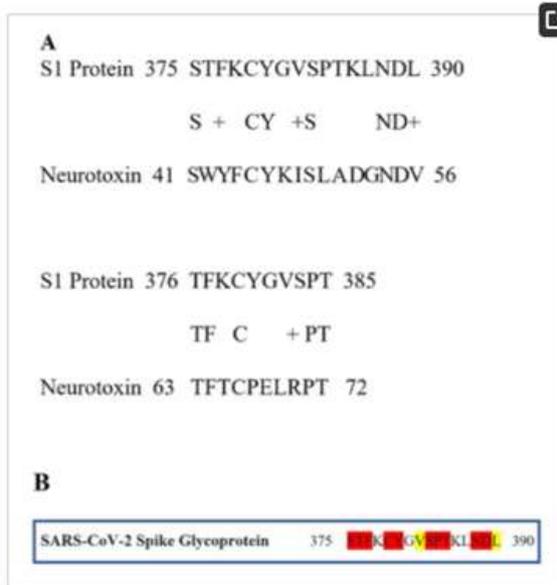


Fig [5]. Double homologie avec la neurotoxine NL, d'après [10]

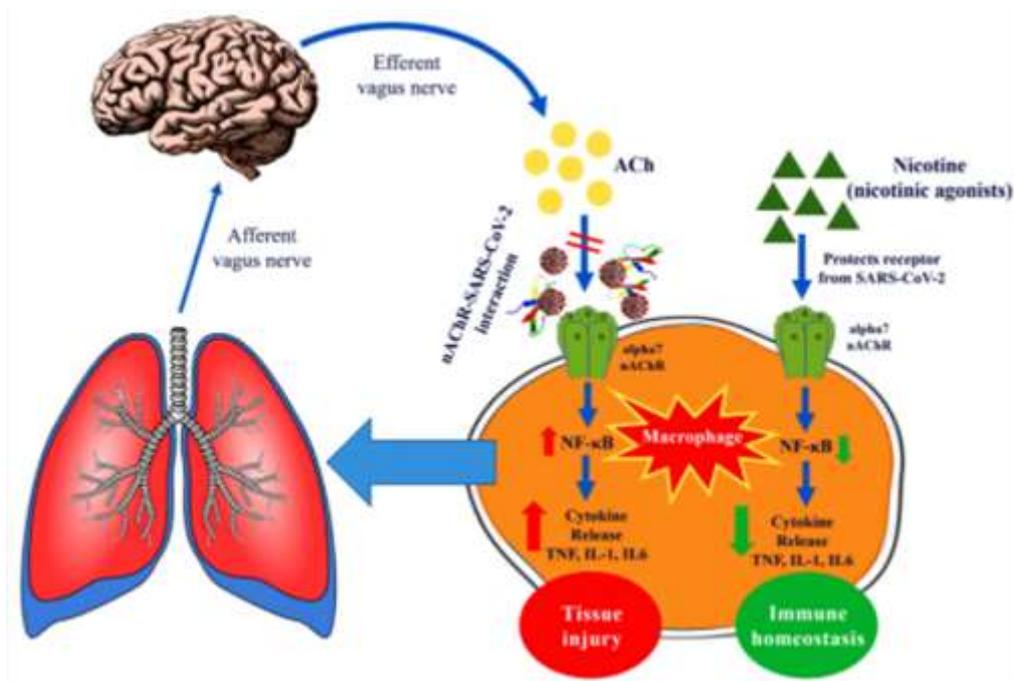


Fig [6] d'après [10]

La protéine Spike pourrait induire un état de procoagulabilité, et de neo-angiogenese, lié à son domaine RGD, voisin du domaine de liaison à l' ACE2, d'interaction avec les intégrines cellulaires [16] Les autopsies au niveau pulmonaires montrent cet état d'hypercoagulabilité avec la présence inhabituelle de microthrombi et de neoangiogenese (x9 et x2.7 par rapport au virus de la grippe) [17], événements qui sont régulés en partie par les interactions avec les intégrines.

Le SARS-CoV1, qui aurait entraîné des événements thrombotiques, mais moins marqués que le SARS-CoV2, possède un domaine homologue KGD, qui présenterait des affinités pour les intégrines. Le MERS-CoV n'a pas cette séquence homologue et en parallèle il n'a pas été rapporté de manifestations thrombotiques [Fig 3].

Les mutations N501Y, N439K, Y453F, présentes dans certains variants pourraient améliorer l'interaction du domaine RGD avec les intégrines en modulant son accessibilité en surface.

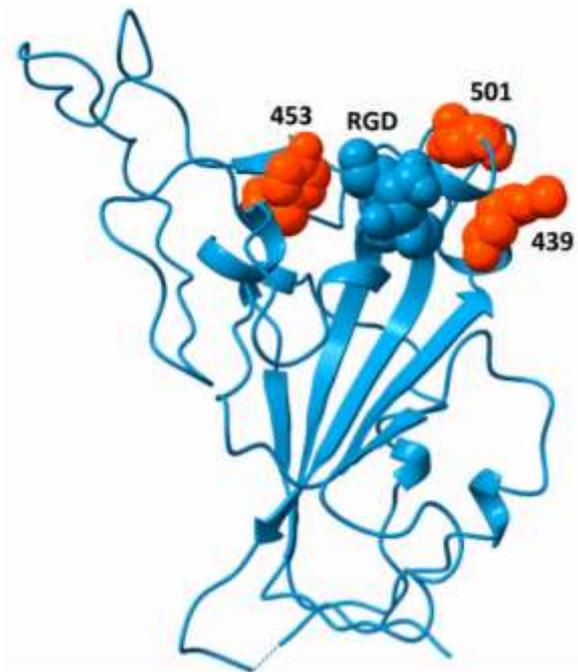


Fig [7] d'après [16]

Par analogie avec les coagulopathies induites par les hantavirus, Il est suggéré que l'invasion de l'endothélium pourrait entraîner l'adhésion et l'activation plaquettaire, impliquant l'activation de l'intégrine $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$. Le fibrinogène se lie à l'intégrine $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ et est converti en fibrine par l'activité de la thrombine en surface plaquettaire, entraînant l'agrégation plaquettaire.

La protéine Spike de SARS-CoV2 est thrombogène, notamment par l'induction de mécanismes immuno-allergiques à complexes immuns, dépendant possiblement d'anticorps anti-PF4.

Lors des traitements par héparine, des **manifestations immuno-allergiques**, associant thrombopénies et/ou thromboses peuvent survenir liées à **l'apparition d'anticorps anti-PF4**.

Il s'agit de **Thrombopénie induite à l'héparine** (TIH de type II) avec formation de complexes immuns [Héparine-PF4-Ac anti-PF4] activant le récepteur Fc γ RII plaquettaire (Fig [8]). Les TIH de type II, à complexes immuns dépendant des anticorps anti-PF4, peuvent survenir au moins 5 à 15 jours après l'instauration d'un traitement, ou plus précocement en cas de sensibilisation préalable par un traitement antérieur.

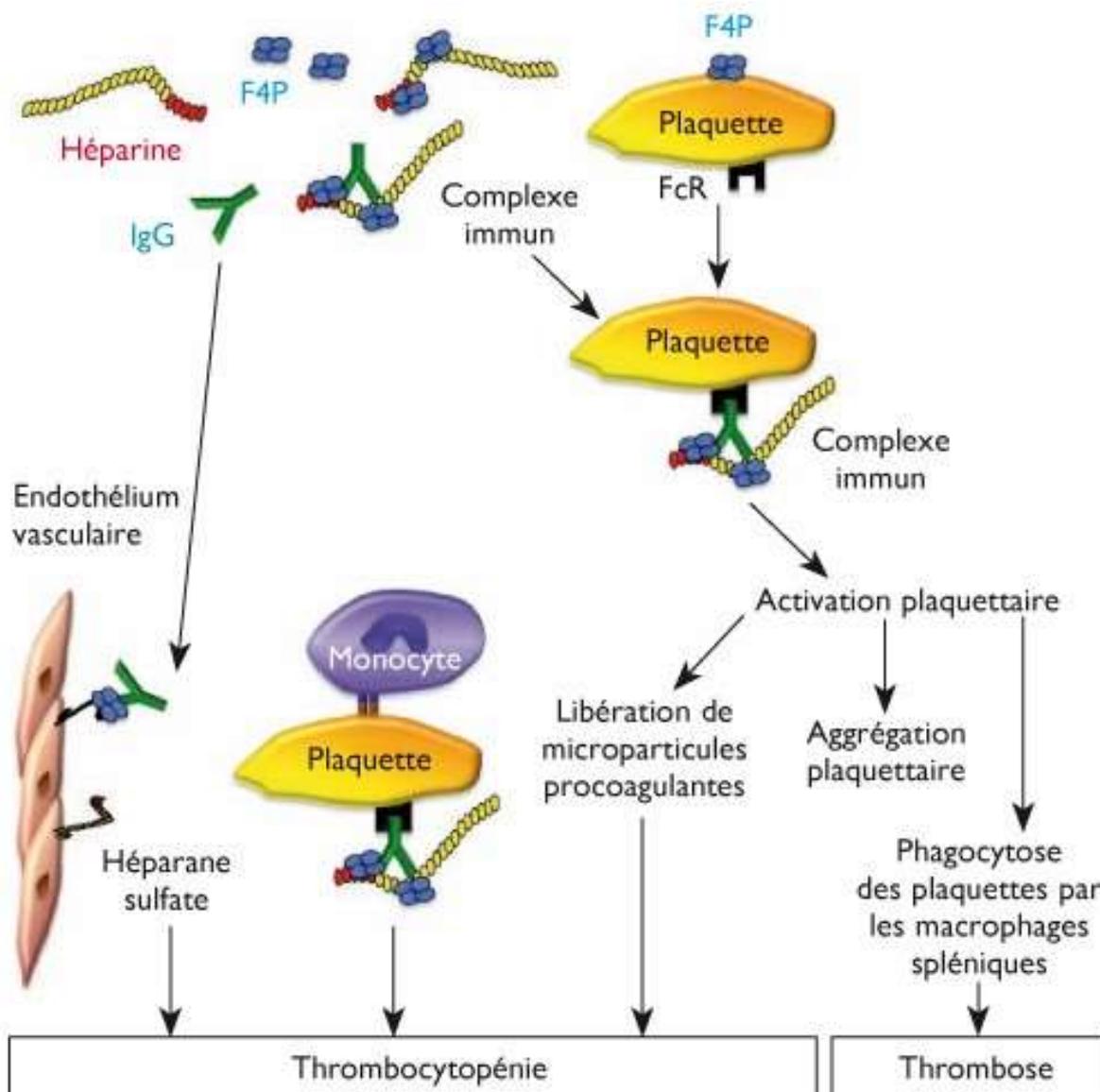


Fig [8] D'après [18]

Ces tableaux de thrombose avec thrombocytopénie ont été observés avec le SARS-Cov2 dans le cadre de la Covid 19.

Certains auteurs ont mis en évidence une incidence accrue de la thrombopénie induite à l'héparine avec thrombose, associée à la présence des anticorps anti-PF4, chez les patients COVID-19 en soins intensifs [19], tandis que d'autres auteurs ont montré que le mécanisme résultait de la formation de complexes immuns, en l'absence d'anticorps anti-PF4, activant le récepteur FcγRIIa plaquettaire [20].

Les anticorps anti-PF4 semblent, au moins partiellement, associés aux premières observations de thromboses cérébrales post-vaccinales, dénommées VIPIT Vaccine Induced prothrombotic immune thrombocytopenia [21]. La protéine Spike déclencherait notamment la libération de la chemokine CXCL4, également dénommée PF-4 [22].

La libération de PF-4, est l'une des conditions inaugurales nécessaires au développement de réactions immuno-allergiques à Anticorps Anti-PF4 [23], le cofacteur participant à la formation du complexe immun avec PF-4 en l'absence d'héparine reste actuellement inconnu.

La sous-unité S1 de Spike de SARS-CoV2 est vasculotoxique et déclenche les voies de signalisation cellulaire au niveau des cellules vasculaires pulmonaires (Cellules endothéliales et cellules musculaires lisses), prédisposant à l'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP)[24].

L'hypertension artérielle pulmonaire est la pathologie qui a révélé le scandale du Mediator (Benfluorex). L'hypertension artérielle pulmonaire est une maladie rare provoquée par une augmentation de la pression artérielle pulmonaire, souvent lié à un épaissement de leur paroi, aboutissant à une insuffisance cardiaque droite.

Le principal symptôme est l'essoufflement progressif. Les symptômes ne sont pas spécifiques et ne sont ressentis fortement qu'après une longue évolution de la maladie vasculaire pulmonaire. Le diagnostic, techniquement complexe, est souvent tardif, et en l'absence de traitement approprié la médiane de survie est de 3 ans lors du diagnostic.

10 autopsies, post-mortem après infection à SARS-Cov2, comparées à un groupe contrôle de 10 autopsies post-mortem après infection de la grippe H1N1, ont révélé **l'épaississement des artères pulmonaires consécutive à l'infection par le SARS-Cov2** (Fig[9]).

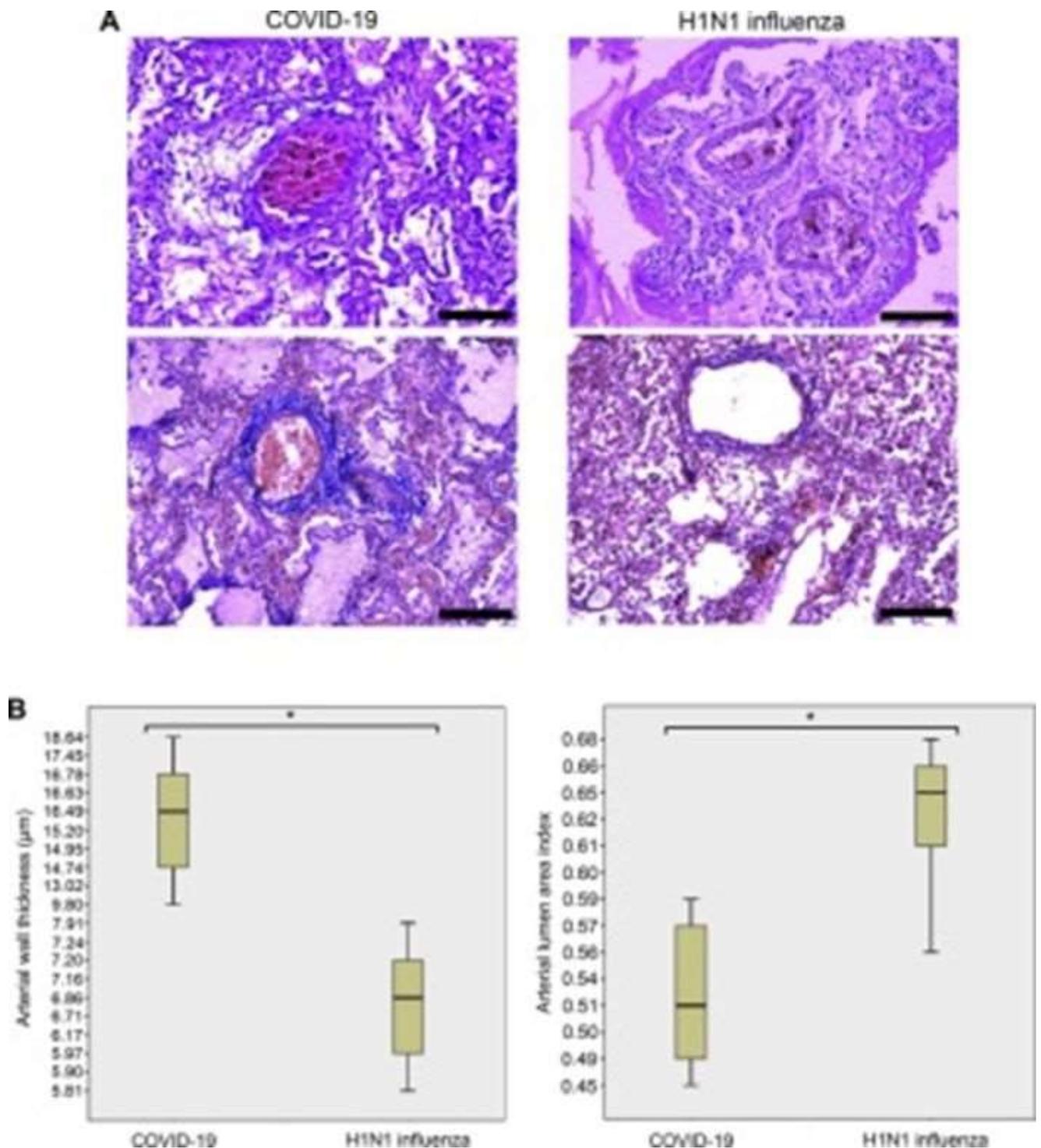


Fig [9] d'après [24]

Le SARS-CoV1 n'induisait pas un tel épaissement des parois vasculaires artérielles pulmonaires et il s'agit d'une **propriété singulière du SARS-CoV2**.

Des essais in vitro, sur des cultures de cellules vasculaires pulmonaires, endothéliales et musculaires lisses, ont démontré que **la sous-unité S1 de Spike entraînait une cascade de phosphorylation intracellulaire de la voie mitogène MEK/ERK, favorisant l'hyperplasie et ou l'hypertrophie des cellules de la paroi vasculaire.**

L'effet délétère sur la paroi vasculaire, n'exige pas l'invasion et la réplication par le SARS-CoV2, **Spike ayant des propriétés vasculotoxiques autonomes.**

La protéine Spike est neuroinvasive, et traverse la barrière hémato encéphalique (BHE)...avec ou sans capsid virale

La protéine Spike est neurotrope et permet au coronavirus de pénétrer dans les cellules cibles, notamment les cellules cérébrales, après avoir traversé la barrière hémato encéphalique. Il a été démontré dans des modèles murins que la protéine recombinante S1 conserve cette fonction neuroinvasive au travers de la barrière hémato encéphalique, même en l'absence de la capsid virale [25].

Des modèles de cultures cellulaires 2D et 3D de la BHE, montre que **la protéine Spike possède des propriétés vasculotoxiques autonomes de celles du virus au niveau de la barrière hémato-encéphalique**, provoquant inflammation et perméabilité de la BHE, facilitant la neuroinvasion [26].

La protéine Spike est susceptible d'induire, les protéines-prions, l'agrégation et la fibrillation de protéines amyloïdes, à l'origine de processus neurodégénératifs [19]

Chez l'animal, le SARS-CoV2 induit une maladie respiratoire pauci-symptomatique, systématiquement suivie d'une maladie neurologique dégénérative, commençant par l'invasion de la muqueuse olfactive

- Chez les souris transgéniques exprimant le récepteur ACE2 humain, K18-hACE2 [27]

Des souris transgéniques K18-hACE2, pour le récepteur ACE2 humain sous la dépendance du promoteur K18, infectées par le SARS-COV2 développent une maladie neurodégénérative fatale pour 93% d'entre elles en moins de 14 jours, tandis que la pneumopathie était restée modérée.

Le processus neuroinvasif débutait au niveau du bulbe olfactif, était marqué cliniquement par une anosmie précoce vers J2-J3. Les autopsies montraient une **spongieuse multifocale cérébrale, associée à la présence des marqueurs viraux.**

Le tropisme du virus n'est que partiellement corrélé à la présence de ACE2 dans les différents tissus, suggérant que d'autres mécanismes sont impliqués dans le tropisme du virus telle que la neuropiline-1 [4].

Chez les macaques [27], l'infection à SARS-Cov2 au niveau de la sphère ORL et respiratoire se traduisait par une réplication virale pendant 10 jours avec une symptomatologie modérée. Après ces 10 jours, des contrôles de l'activité métabolique cérébrale montraient une activité augmentée au niveau de la glande pituitaire (hypophyse) pendant un mois chez 2 macaques sur 8.

Après 5-6 semaines post-infection, les macaques ont été sacrifiés et autopsiés, l'un des macaques (1/8) avait de **l'ARN viral dans différentes aires du cerveau**, tous les macaques avaient une **inflammation cérébrale multifocale**, avec infiltrations de lymphocytes T et activation de la microglie et, 6/8 présentaient des corps de Lewy, structures amyloïdes riches en dépôt de alpha-synucléine qui est une **protéine prion-like caractéristique de la maladie de parkinson**. Cette étude sur des modèles simiens démontre qu'après une infection respiratoire pauci-symptomatique voire asymptomatique, limitée à une dizaine de jours succède systématiquement une maladie neurologique liée aux capacités neuro invasives du virus avec initiation de processus neurodégénératifs par dépôt de structures amyloïdes caractéristiques des maladies à prions. [28]

Chez l'homme, l'anosmie est un symptôme cardinal de l'infection à SARS-CoV2 et l'invasion du système nerveux central après pénétration par la muqueuse olfactive de SARS-CoV2 est également décrite [29]

Lorsque le virus est recherché dans le système nerveux central à l'autopsie [30], la présence du virus dans le système nerveux central est retrouvée dans 53% des cas (21/40), dont 13/40 par mise en évidence de l'ARN par RT-PCR et 16/40 par immunohistochimie, positives dans 88% des cas pour la protéine Spike (14/16) et 44% des cas pour la nucléocapside (7/16). 20% des cas associent positivité pour l'ARN et protéines virales.

Parmi les symptômes persistants post-covid ("Covid-long"), il est rapporté des dysfonctions du système nerveux autonome [31], qui pourraient être expliquées par le tropisme du virus pour le tronc cérébral [32][33]. Les PET-scans cérébraux des Covid long montrent un hypo métabolisme cérébral [34][35].

Les études in silico montrent la singularité de la protéine Spike pour induire l'agrégation et la fibrillation de protéines amyloïdes

Les prions, acronymes de « PRotinoaceous Infectious Only », sont des agents infectieux non conventionnels (ATNC) de nature exclusivement protéique, sans acide nucléique.

La forme infectieuse des prions présente un repliement protéique anormal, susceptible d'induire cette anomalie conformationnelle aux protéines physiologiques. L'agrégation de ces protéines anormales participe à de nombreuses maladies neurodégénératives, d'évolution lente pouvant rester plusieurs années asymptomatiques [37][38]

Des études in silico, telles que l'algorithme PLAAC ont permis d'identifier la présence de domaines prion-like dans la protéine Spike de SARS-COV2. Il s'agit du seul coronavirus, avec un domaine prion-like au niveau de son RBD (Receptor Binding Domain) dans la région S1 de la protéine Spike [36][39]. Il est suggéré que ce domaine prion-like augmenterait 10 à 20 fois l'interaction avec ACE2, par rapport à celui du SARS-CoV [36].

La protéine Spike présente au niveau de son RBD des domaines liant l'héparine et des protéines liant l'héparine, de sorte que l'héparine non fractionnée, et dans une moindre mesure, les héparines de bas poids moléculaire telle que l'énoxaparine, seraient aux concentrations thérapeutiques usuelles inhibitrices de l'entrée du SARS-CoV2 [40].

Les domaines de liaisons à l'héparine sont une caractéristique commune aux protéines amyloïdes pathologiques, et l'héparine accélère l'agrégation de ces protéines puis leur fibrillation [7].

Certains virus tels que SARS-Cov2 ayant ces domaines de liaisons à l'héparine peuvent pirater les protéoglycanes à heparane sulfate membranaires pour infecter les cellules par la voie de l'endocytose. Par analogie avec le virus Herpès simplex HSV1, dont le domaine de liaison à l'héparine interagit avec le peptide A β 42, pour provoquer son agrégation et favoriser la maladie d'alzheimer, il est suggéré que les domaines liant l'héparine de SARS-Cov2 pourrait interagir avec les protéines prions A β 42, α -synucleine, tau, and prions et initier leur agrégation et favoriser le **développement de maladies neurodégénératives** [7] [41] [42]

SARS-CoV-2 S protein

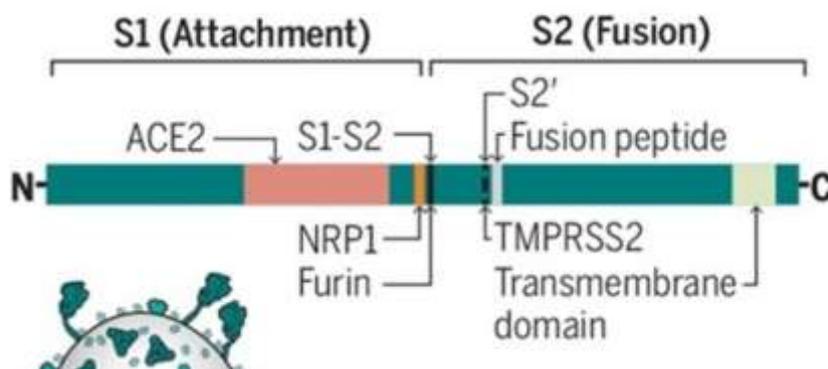


Fig [10] D'après [2]

L'activation de Spike lors de l'entrée cellulaire nécessite deux clivages successifs par deux protéases, la furine au niveau du site de clivage S1/S2 (résidus 669-688) puis par la transmembraneprotease serine 2 (TMPRSS2) (Résidus 808-820), libérant un peptide d'environ 150 acides aminés.

Le Serveur AGGRESCAN, permettant de prédire l'autoagrégation de peptides, indique que ce peptide dénommé S-CoV-peptide, pourrait se comporter comme un amyloïde fonctionnel (assemblages protéiques fibrillaires constitués de feuillets β dont les brins β sont perpendiculaires à l'axe des fibres, résistants aux agents dénaturants et aux protéases) et aurait une propension à s'autoagréger supérieure aux protéines prions A β 40 et α -synuclein [41]

En conséquence, en l'absence d'étude sur les effets neurodégénératifs induits par Spike, **il ne peut être exclu que les domaines prion-like de Spike induisent la formation de prions pathologiques, s'agrégeant en plaques amyloïdes, expliquant les effets neurodégénératifs inexplicables de SARS-Cov2** observés chez l'animal, chez les modèles murins et simiens. Rappelons que les dysfonctions du système nerveux autonome font également partie du spectre des maladies à Prions [43].

Bibliographie

[1] SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor.

Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, Schiergens TS, Herrler G, Wu NH, Nitsche A, Müller MA, Drosten C, Pöhlmann S. Cell. 2020 Apr 16;181(2):271-280.e8. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052.

[2] Enhancing host cell infection by SARS-CoV-2.

Kielian M. Science. 2020 Nov 13;370(6518):765-766. doi: 10.1126/science.abf0732.

[3] Neuropilin-1 is a host factor for SARS-CoV-2 infection.

Daly JL, Simonetti B, Klein K, Chen KE, Williamson MK, Antón-Plágaro C, Shoemark DK, Simón-Gracia L, Bauer M, Hollandi R, Greber UF, Horvath P, Sessions RB, Helenius A, Hiscox JA, Teesalu T, Matthews DA, Davidson AD, Collins BM, Cullen PJ, Yamauchi Y. Science. 2020 Nov 13;370(6518):861-865. doi: 10.1126/science.abd3072.

[4] Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and infectivity.

Cantuti-Castelvetri L, Ojha R, Pedro LD, Djannatian M, Franz J, Kuivanen S, van der Meer F, Kallio K, Kaya T, Anastasina M, Smura T, Levanov L, Szivovics L, Tobi A, Kallio-Kokko H, Österlund P, Joensuu M, Meunier FA, Butcher SJ, Winkler MS, Mollenhauer B, Helenius A, Gokce O, Teesalu T, Hepojoki J, Vapalahti O, Stadelmann C, Balistreri G, Simons M. Science. 2020 Nov 13;370(6518):856-860. doi: 10.1126/science.abd2985.

[5] Not only ACE2-the quest for additional host cell mediators of SARS-CoV-2 infection: Neuropilin-1 (NRP1) as a novel SARS-CoV-2 host cell entry mediator implicated in COVID-19.

Kyrou I, Rande HS, Spandidos DA, Karteris E. Signal Transduct Target Ther. 2021 Jan 18;6(1):21. doi: 10.1038/s41392-020-00460-9.

[6] A potential role for integrins in host cell entry by SARS-CoV-2.

Sigrist CJ, Bridge A, Le Mercier P. Antiviral Res. 2020 May;177:104759. doi: 10.1016/j.antiviral.2020.104759.

[7] Heparin-binding Peptides as Novel Therapies to Stop SARS-CoV-2 Cellular Entry and Infection.

Tavassoly O, Safavi F, Tavassoly I. *Mol Pharmacol*. 2020 Nov;98(5):612-619. doi: 10.1124/molpharm.120.000098.

[8] Superantigenic character of an insert unique to SARS-CoV-2 spike supported by skewed TCR repertoire in patients with hyperinflammation.

Cheng MH, Zhang S, Porritt RA, Noval Rivas M, Paschold L, Willscher E, Binder M, Arditi M, Bahar I. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020 Oct 13;117(41):25254-25262. doi: 10.1073/pnas.2010722117.

[9] Superantigenic character of an insert unique to SARS-CoV-2 spike supported by skewed TCR repertoire in patients with hyperinflammation.

Cheng MH, Zhang S, Porritt RA, Noval Rivas M, Paschold L, Willscher E, Binder M, Arditi M, Bahar I. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020 Oct 13;117(41):25254-25262. doi: 10.1073/pnas.2010722117.

[10] Nicotinic Cholinergic System and COVID-19: In Silico Identification of an Interaction between SARS-CoV-2 and Nicotinic Receptors with Potential Therapeutic Targeting Implications.

Farsalinos K, Eliopoulos E, Leonidas DD, Papadopoulos GE, Tzartos S, Poulas K. *Int J Mol Sci*. 2020 Aug 13;21(16):5807. doi: 10.3390/ijms21165807.

[11] Nicotinic cholinergic system and COVID-19: In silico identification of interactions between $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor and the cryptic epitopes of SARS-Co-V and SARS-CoV-2 Spike glycoproteins.

Lagoumintzis G, Chasapis CT, Alexandris N, Kouretas D, Tzartos S, Eliopoulos E, Farsalinos K, Poulas K. *Food Chem Toxicol*. 2021 Mar;149:112009. doi: 10.1016/j.fct.2021.112009.

[12] A nicotinic hypothesis for Covid-19 with preventive and therapeutic implications.

Changeux JP, Amoura Z, Rey FA, Miyara M. *C R Biol*. 2020 Jun 5;343(1):33-39. doi: 10.5802/crbio.8.

[13] Simulations support the interaction of the SARS-CoV-2 spike protein with nicotinic acetylcholine receptors and suggest subtype specificity.

Oliveira ASF, Ibarra AA, Bermudez I, Casalino L, Gaieb Z, Shoemark DK, Gallagher T, Sessions RB, Amaro RE, Mulholland AJ. *bioRxiv*. 2020 Jul 21:2020.07.16.206680. doi: 10.1101/2020.07.16.206680. Preprint.

[14] A potential interaction between the SARS-CoV-2 spike protein and nicotinic acetylcholine receptors.

Oliveira ASF, Ibarra AA, Bermudez I, Casalino L, Gaieb Z, Shoemark DK, Gallagher T, Sessions RB, Amaro RE, Mulholland AJ. *Biophys J*. 2021 Feb 18;S0006-3495(21)00146-6. doi: 10.1016/j.bpj.2021.01.037

[15] Ivermectin: a positive allosteric effector of the alpha7 neuronal nicotinic acetylcholine receptor.

Krause RM, Buisson B, Bertrand S, Corringer PJ, Galzi JL, Changeux JP, Bertrand D. *Mol Pharmacol*. 1998 Feb;53(2):283-94. doi: 10.1124/mol.53.2.283.

[16] Biological and Clinical Consequences of Integrin Binding via a Rogue RGD Motif in the SARS CoV-2 Spike Protein.

Makowski L, Olson-Sidford W, W-Weisel J. *Viruses*. 2021 Jan 20;13(2):146. doi: 10.3390/v13020146.

[17] Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19.

Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, Haverich A, Welte T, Laenger F, Vanstapel A, Werlein C, Stark H, Tzankov A, Li WW, Li VW, Mentzer SJ, Jonigk D. *N Engl J Med*. 2020 Jul 9;383(2):120-128. doi: 10.1056/NEJMoa2015432.

[18] Héparines et réactions cutanées : du diagnostic à la prise en charge

Neda Barouti, Isabelle Masouyé, Wolf-Henning Boehncke, Christa Prins
Rev Med Suisse 2013; volume 9. 705-711

[19] Heparin-Induced Thrombocytopenia in Severe COVID-19

Daviet F, Guervilly C, Baldesi O, Bernard-Guervilly F, Pilarczyk E, Genin A, Lefebvre L, Forel JM, Papazian L, Camoin-JauL. *Circulation*. 2020 Nov 10;142(19):1875-1877. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.049015

[20] Platelet-activating immune complexes identified in critically ill COVID-19 patients suspected of heparin-induced thrombocytopenia.

Nazy I, Jevtic SD, Moore JC, Huynh A, Smith JW, Kelton JG, Arnold DM. *J Thromb Haemost*. 2021 Feb 27;10.1111/jth.15283. doi: 10.1111/jth.15283.

[21] A Prothrombotic Thrombocytopenic Disorder Resembling Heparin-Induced Thrombocytopenia Following Coronavirus-19 Vaccination

Andreas Greinacher, Thomas Thiele, Theodore E. Warkentin, Karin Weisser, Paul Kyrle, Sabine Eichinger

DOI: 10.21203/rs.3.rs-362354/v1

- [22] SARS-CoV-2 binds platelet ACE2 to enhance thrombosis in COVID-19.
Zhang S, Liu Y, Wang X, Yang L, Li H, Wang Y, Liu M, Zhao X, Xie Y, Yang Y, Zhang S, Fan Z, Dong J, Yuan Z, Ding Z, Zhang Y, Hu L.J HematolOncol. 2020 Sep 4;13(1):120. doi: 10.1186/s13045-020-00954-7.
- [23] Emphasis on the Role of PF4 in the Incidence, Pathophysiology and Treatment of HeparinInducedThrombocytopenia.
Prechel MM, WalengaJM.Thromb J. 2013 Apr 5;11(1):7. doi: 10.1186/1477-9560-11-7.
- [24] SARS-CoV-2 spike protein-mediated cell signaling in lung vascular cells.
Suzuki YJ, Nikolaienko SI, Dibrova VA, Dibrova YV, Vasylyk VM, Novikov MY, Shults NV, Gychka SG.Vascul Pharmacol. 2021 Apr;137:106823. doi: 10.1016/j.vph.2020.106823. Epub 2020 Nov 21.
- [25] The S1 protein of SARS-CoV-2 crosses the blood-brain barrier in mice.
Rhea EM, Logsdon AF, Hansen KM, Williams LM, Reed MJ, Baumann KK, Holden SJ, Raber J, Banks WA, Erickson MA. Nat Neurosci. 2021 Mar;24(3):368-378. doi: 10.1038/s41593-020-00771-8.
- [26] The SARS-CoV-2 spikeproteinaltersbarrierfunction in 2D static and 3D microfluidic in-vitro models of the humanblood-brainbarrier.
Buzhdygan TP, DeOre BJ, Baldwin-Leclair A, Bullock TA, McGary HM, Khan JA, Razmpour R, Hale JF, Galie PA, Potula R, Andrews AM, Ramirez SH. Neurobiol Dis. 2020 Dec;146:105131. doi: 10.1016/j.nbd.2020.105131.
- [27] Fatal neuroinvasion of SARS-CoV-2 in K18-hACE2 mice is partially dependent on hACE2 expression
Mariano Carossino, Paige Montanaro, Aoife O'Connell, Devin Kenney, Hans Gertje, Kyle A. Grosz, Susanna A. Kurnick, Markus Bosmann, Mohsan Saeed, Udeni B. R. Balasuriya, Florian Douam, Nicholas A. Crossland
doi: <https://doi.org/10.1101/2021.01.13.425144>
- [28] SARS-CoV-2 causes brain inflammation and induces Lewy body formation in macaques
Ingrid H.C.H.M. Philippens, Kinga P. Böszörményi, Jacqueline A. Wubben, Zahra C. Fagrouch, Nikki van Driel, Amber Q. Mayenburg, Diana Lozovagia, Eva Roos, Bernadette Schurink, Marianna Bugiani, Ronald E. Bontrop, Jinte Middeldorp, Willy M. Bogers, Lioe-Fee de Geus-Oei, Jan A.M. Langermans, Marieke A. Stammes, Babs E. Verstrep, Ernst J. Verschoor
bioRxiv. Preprint. 2021 Feb 23 doi: <https://doi.org/10.1101/2021.02.23.432474>

[29] Olfactory transmucosal SARS-CoV-2 invasion as a port of central nervous system entry in individuals with COVID-19.

Meinhardt J, Radke J, Dittmayer C, Franz J, Thomas C, Mothes R, Laue M, Schneider J, Brünink S, Greuel S, Lehmann M, Hassan O, Aschman T, Schumann E, Chua RL, Conrad C, Eils R, Stenzel W, Windgassen M, Rößler L, Goebel HH, Gelderblom HR, Martin H, Nitsche A, Schulz-Schaeffer WJ, Hakrrouch S, Winkler MS, Tampe B, Scheibe F, Körtvélyessy P, Reinhold D, Siegmund B, Kühl AA, Elezkurtaj S, Horst D, Oesterhelweg L, Tsokos M, Ingold-Heppner B, Stadelmann C, Drost C, Corman VM, Radbruch H, Heppner FL. *NatNeurosci.* 2021 Feb;24(2):168-175. doi: 10.1038/s41593-020-00758-5

[30] Neuropathology of patients with COVID-19 in Germany: a post-mortem case series.

Matschke J, Lütgehetmann M, Hagel C, Sperhake JP, Schröder AS, Edler C, Mushumba H, Fitzek A, Allweiss L, Dandri M, Dottermusch M, Heinemann A, Pfefferle S, Schwabenland M, Sumner Magruder D, Bonn S, Prinz M, Gerloff C, Püschel K, Krasemann S, Aepfelbacher M, Glatzel M. *Lancet Neurol.* 2020 Nov;19(11):919-929. doi: 10.1016/S1474-4422(20)30308-2.

[31] Autonomic dysfunction in 'long COVID': rationale, physiology and management strategies.

Dani M, Dirksen A, Taraborrelli P, Torocastro M, Panagopoulos D, Sutton R, Lim PB. *Clin Med (Lond).* 2021 Jan;21(1):e63-e67. doi: 10.7861/clinmed.2020-0896.

[32] Autonomic Brain Centers and Pathophysiology of COVID-19.

Chigr F, Merzouki M, Najimi M. *ACS ChemNeurosci.* 2020 Jun 3;11(11):1520-1522. doi: 10.1021/acchemneuro.0c00265.

[33] Persistent Brainstem Dysfunction in Long-COVID: A Hypothesis.

Yong SJ. *ACS ChemNeurosci.* 2021 Feb 17;12(4):573-580. doi: 10.1021/acchemneuro.0c00793.

[34] (18)F-FDG brain PET hypometabolism in post-SARS-CoV-2 infection: substrate for persistent/delayed disorders?

Guedj E, Million M, Dudouet P, Tissot-Dupont H, Bregeon F, Cammilleri S, Raoult D. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2021 Feb;48(2):592-595. doi: 10.1007/s00259-020-04973-x.

[35] (18)F-FDG brain PET hypometabolism in patients with long COVID.

Guedj E, Champion JY, Dudouet P, Kaphan E, Bregeon F, Tissot-Dupont H, Guis S, Barthelemy F, Habert P, Ceccaldi M, Million M, Raoult D, Cammilleri S, Eldin C. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2021 Jan 26:1-11. doi: 10.1007/s00259-021-05215-4.

- [36] SARS-CoV-2 Prion-Like Domains in Spike Proteins Enable Higher Affinity to ACE2. Tetz, G.; Tetz, V. *Preprints* 2020, 2020030422 (doi: 10.20944/preprints202003.0422.v1).
- [37] The propagation of prion-like protein inclusions in neurodegenerative diseases. Goedert M, Clavaguera F, Tolnay M. *Trends Neurosci.* 2010 Jul;33(7):317-25. doi: 10.1016/j.tins.2010.04.003.
- [38] Prion-like transmission of protein aggregates in neurodegenerative diseases. Brundin P, Melki R, Kopito R. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2010 Apr;11(4):301-7. doi: 10.1038/nrm2873.
- [39] Prion-like Domains in Eukaryotic Viruses. Tetz G, Tetz V. *Sci Rep.* 2018 Jun 12;8(1):8931. doi: 10.1038/s41598-018-27256-w.
- [40] Heparin Inhibits Cellular Invasion by SARS-CoV-2: Structural Dependence of the Interaction of the Spike S1 Receptor-Binding Domain with Heparin. Mycroft-West CJ, Su D, Pagani I, Rudd TR, Elli S, Gandhi NS, Guimond SE, Miller GJ, Meneghetti MCZ, Nader HB, Li Y, Nunes QM, Procter P, Mancini N, Clementi M, Bisio A, Forsyth NR, Ferro V, Turnbull JE, Guerrini M, Fernig DG, Vicenzi E, Yates EA, Lima MA, Skidmore MA. *Thromb Haemost.* 2020 Dec;120(12):1700-1715. doi: 10.1055/s-0040-1721319.
- [41] Seeding Brain Protein Aggregation by SARS-CoV-2 as a Possible Long-Term Complication of COVID-19 Infection. Tavassoly O, Safavi F, Tavassoly I. *ACS Chem Neurosci.* 2020 Nov 18;11(22):3704-3706. doi: 10.1021/acscchemneuro.0c00676.
- [42] SARS-CoV-2 spike protein interactions with amyloidogenic proteins: Potential clues to neurodegeneration. Idrees D, Kumar V. *Biochem Biophys Res Commun.* 2021 Mar 24;554:94-98. doi: 10.1016/j.bbrc.2021.03.100.
- [43] The clinical approach to autonomic failure in neurological disorders. Benarroch EE. *Nat Rev Neurol.* 2014 Jul;10(7):396-407. doi: 10.1038/nrneurol.2014.88.