ROZDZIAŁ

18

Szczepienia

STRESZCZENIE

- **Szczepienia to zastosowanie praktyczne dla ludzkiego zdrowia podstawowych znanych zasad z zakresu immunologii.**
- **Odporność nabyta i zdolność limfocytów do zapamiętywania antygenów drobnoustrojowych są podstawą szczepień.** Wakcynacja jest rozumiana jako czynne uodpornianie.
- **Jako szczepionki stosowany jest szeroki zakres preparatów antygenowych:** od pełnych (całych) komórek drobnoustrojów do prostych peptydów i cukrów. Szczepionki z drobnoustrojów żywych i inaktywowanych różnią się istotnie; szczepionki z żywych drobnoustrojów są bardziej skuteczne.
- **Adiuwanty wzmagają wytwarzanie przeciwciał** i są zazwyczaj stosowane w szczepionkach z drobnoustrojów inaktywowanych. Ich działanie polega na zagęszczeniu antygenu we właściwym miejscu w uodpornianym organizmie lub indukcji cytokin.
- **Większość szczepionek jest podawana poprzez iniekcję;** badane są inne drogi uodporniania.
- **Skuteczność działania szczepionek powinna być okresowo sprawdzana.**
- **W wakcynologii nadrzędnym zagadnieniem jest bezpieczeństwo.** Kontrowersje odnośnie do stosowania szczepionki MMR były przyczyną epidemii odry.
- **Szczepionki ogólnie stosowane mają różny wskaźnik skuteczności.** Pewne szczepionki są zarezerwowane dla określonych grup (grup ryzyka) ludzi. Szczepionki przeciw zakażeniom pasożytniczym i niektórym innym są w fazie eksperymentalnej.
- **Immunizacja bierna może być stosowana jako ratująca życie.** Bezpośrednie podawanie przeciwciał odgrywa rolę w szczególnych sytuacjach, np. gdy w krwiobiegu znajduje się toksyna tężcowa.
- **Immunoterapia nieswoista pobudza aktywność immunologiczną.** W określonych warunkach można w celu nieswoistej immunizacji zastosować cytokiny.
- **Nieswoista immunoterapia może pobudzić aktywność immunologiczną. Immunizacja nieswoista, np. z użyciem cytokin, może być przydatna w wybranych sytuacjach.**
- **Immunizacja przeciwko różnym czynnikom niezakaźnym jest w trakcie badań. Rekombinacyjna technologia DNA będzie prawdopodobnie stanowić podstawę do następnej generacji szczepionek.**

SZCZEPIENIE TO ZASTOSOWANIE PRAKTYCZNE PODSTAWOWYCH ZASAD IMMUNOLOGII DLA LUDZKIEGO ZDROWIA

Szczepienia są najbardziej znanym i najbardziej skutecznym zastosowaniem wiedzy z zakresu immunologii dla ludzkiego zdrowia. Od nazwy wirusa ospy krowiej – *cowpox virus*, inaczej *vaccinia* – pochodzi angielska nazwa *vaccine* (szczepionka). Pierwszy zastosował ją Jenner 200 lat temu. Był to pierwszy świadomy eksperyment naukowy przeprowadzony w celu zapobieżenia chorobie infekcyjnej (ospie), bez jakiejkolwiek wiedzy o wirusach (a właściwie o jakichkolwiek drobnoustrojach) i immunologii.

Dopiero 100 później Pasteur wykazał ogólne prawa rządzące szczepieniami, a mianowicie, że zmienione drobnoustroje mogą być użyte do uodporniania przeciwko zakażeniom drobnoustrojami o pełnej wirulencji. Szczepionki Pasteura z suszonych rdzeni kręgowych królików zakażonych wirusem wścieklizny i gotowanych laseczek wąglika były poprzednikami dzisiejszych szczepionek, użyty zaś przez Jennera wirus ospy pochodzenia zwierzęcego nie miał następców.

Pasteur nie miał jednak odpowiedniej wiedzy o pamięci immunologicznej i funkcji limfocytów; na odkrycie tych zjawisk trzeba było czekać następne pół wieku. Dopiero teoria klonalnej selekcji Burneta (1957) i odkrycie limfocytów T i B (1965) stały się kluczem do zrozumienia wielu mechanizmów.

W każdej odpowiedzi immunologicznej antygeny pobudzają klonalny rozrost swoistych komórek T i/lub B, tworząc populację komórek pamięci. Dzięki nim powtórny kontakt z tym samym antygenem (antygenami) indukuje odpowiedź wtórną, szybszą i bardziej skuteczną od odpowiedzi pierwotnej (ryc. 18.1).

W wielu zakażeniach odpowiedź pierwotna może być zbyt powolna, by przerwać poważną infekcję, jeżeli jednak osobnik był eksponowany na antygen w postaci szczepionki przed wtargnięciem patogenu, to rozrastająca się populacja komórek pamięci i wzrastające stężenie specyficznych przeciwciał są w stanie chronić przed chorobą.

Zasady szczepień
wakcynacja pobudza ochronę przez nabytą odpowiedź immunologiczną – poszerza pulę swoistych komórek pamięci
następująca infekcja naturalna powoduje szybką, silną odpowiedź
do szczepień stosuje się nieszkodliwe formy antygenu – mogą to być zabite lub zmodyfikowane żywe organizmy, subkomórkowe fragmenty lub toksoidy
adiuwanty, stosowane w szczepionkach, wzmacniają odpowiedź immunologiczną
szczepionka musi być bezpieczna, dostępna i wywoływać odporność grupową

Ryc. 18.1 Zasady szczepień.

Pytanie: Wścieklizna jest jedną z nielicznych chorób, w których czynna immunizacja może być prowadzona w przypadku już dokonanego zakażenia. Jakie szczególne cechy zakażenia wirusem wścieklizny pozwalają na takie postępowanie?
Odpowiedź: Czas między zakażeniem a rozwojem choroby jest długi, dlatego też jest możliwe skuteczne wykształcenie odpowiedzi immunologicznej, nim wirus osiągnie ośrodkowy układ nerwowy i pojawią się objawy zakażenia.

Dwa najważniejsze skutki stosowania szczepionek

Pierwszy to ochrona osobnicza przed chorobą infekcyjną, a drugi – to przerwanie transmisji zakażenia, jeżeli poszczególni osobnicy populacji są dostatecznie uodpornieni. Zjawisko takie nosi nazwę **odporności grupowej**.

Proporcja osobników w populacji, którzy powinni być uodpornieni, aby przerwać epidemię, zależy od charakteru infekcji:

- jeżeli drobnoustrój jest wysoko zakaźny, tak że jeden osobnik może szybko zainfekować wielu nieodpornych, jak to jest w przypadku odry, duży odsetek populacji musi być uodporniony, aby uzyskać odporność grupową;
- jeżeli infekcja nie przenosi się łatwo, to mniejszy odsetek odpornej populacji wystarcza do przerwania transmisji choroby.

Skuteczne szczepionki muszą być bezpieczne w stosowaniu, wywoływać prawidłowy typ odpowiedzi immunologicznej i być dostępne populacji, dla której są przeznaczone. W przypadku wielu chorób cel został osiągnięty z wielkim sukcesem, dla innych nie ma żadnej szczepionki. Niniejszy rozdział jest ukierunkowany na wykazanie tych rozbieżności.

JAKO SZCZEPIONKI STOSOWANY JEST SZEROKI ZAKRES PREPARATÓW ANTYGENOWYCH

Ogólnie w szczepionkach występuje większość antygenów bakteryjnych, co więcej, żywe drobnoustroje są bardziej skuteczne niż organizmy zabite. Wyjątkiem od tych zasad są:

- choroby, w których toksyna jest odpowiedzialna za patogenność – w tych wypadkach toksyna jest podstawą szczepionki;
- szczepionka, w której antygen bakteryjny wykazuje ekspresję w innej komórce odgrywającej rolę wektora.

Na ryc. 18.2 przedstawiono listę preparatów antygenowych obecnie dostępnych.

Szczepionki „żywe" mogą być drobnoustrojami naturalnymi lub atenuowanymi

Szczepionki z naturalnych żywych drobnoustrojów są rzadko stosowane

Z wyjątkiem wirusa krowianki żaden inny drobnoustrój nie był standardowo stosowany w uodpornianiu. Chociaż:

- próbowano uodporniać dzieci rotawirusami bydlęcymi i małpimi;
- w pewnym okresie popularne było szczepienie przeciw gruźlicy prątkami myszy polnych;
- na Środkowym Wschodzie i w Rosji przyjmuje się, że zakażenie *Leishmania* przeniesione od chorych o łagodnym przebiegu wywołuje odporność.

Możliwe, że zastosowanie znajdą inne dobre heterologiczne szczepionki, lecz do rozważenia pozostanie problem ich bezpieczeństwa.

Szczepionki z żywych atenuowanych drobnoustrojów odniosły duży sukces

Strategia uzyskania takiej szczepionki polega na atenuacji patogenu w celu osłabienia jego wirulencji, a pozostawieniu pożądanych właściwości antygenowych.

Pierwszy sukces w tym zakresie odnieśli Calmette i Guérin z bydlęcym szczepem (*Mycobacterium bovis*) *Mycobacterium tuberculosis*. W ciągu 13 lat hodowli *in vitro* istotnie zmniejszył on swą wirulencję i obecnie znany jako BCG (*bacille Calmette-Guérin*) wywołuje działanie ochronne przeciw gruźlicy.

Prawdziwym sukcesem było otrzymanie w 1937 r. atenuowanego wirusa 17D żółtej febry przez pasażowanie na zarodkach kurzych i myszach, a także przez podobne postępowanie z wirusami *polio*, odry, świnki i różyczki (ryc. 18.3).

Pytanie: Dlaczego pasażowanie wirusa na innym niż człowiek gatunku może być racjonalną drogą uzyskania szczepionki stosowanej u ludzi?
Odpowiedź: Nie ma selektywnego nacisku na utrzymanie genów wirulencji dla ludzi i genów dla transferu wirusa człowiek–człowiek. W konsekwencji można uzyskać warianty, które utraciły te geny (bez szkody dla zwierząt), a zatrzymały właściwości antygenowe, wobec czego mogą być wykorzystane do przygotowania szczepionek atenuowanych.

Główne preparaty antygenowe

typ antygenu		przykład szczepionki
drobnoustroje żywe	naturalny	krowianka (przeciw ospie) prątek bydlęcy (przeciw gruźlicy; historyczny)
	atenuowany	*polio* (Sabina; doustna szczepionka *polio**), odra*, świnka*, różyczka*, żółta febra 17D, półpasiec (ludzki wirus opryszczki 3), BCG (przeciw gruźlicy)*
pełne, zabite drobnoustroje	wirusy	*polio* (Salk)*, wścieklizna, grypa, wirus zapalenia wątroby typu A,
	bakterie	krztusiec*, dur brzuszny, cholera, dżuma
fragmenty komórkowe	wielocukry otoczkowe	pneumokoki, meningokoki, pałeczka hemofilna
	antygen powierzchniowy	wirus zapalenia wątroby typu B*
toksoidy		tężec*, błonica*
rekombinanty DNA	klonowanie i ekspresja genu	wirus zapalenia wątroby typu B (z drożdży)
	geny z ekspresją w wektorach	w fazie doświadczalnej
	DNA „nagi"	w fazie doświadczalnej
antyidiotypowe		w fazie doświadczalnej

* Standard w wielu krajach

Ryc. 18.2 Preparaty antygenowe używane jako szczepionki.

Szczepionki zawierające żywe atenuowane drobnoustroje

choroba		uwagi
wirusy	porażenie dziecięce (*poliomyelitis*)	typy 2 i 3 mogą ulegać rewersji; znana szczepionka ze szczepu zabitego
	odra	w 80% skuteczna
	świnka	
	różyczka	obecnie podawana obydwu płciom
	żółta febra	wirus ustalony od 1937 r.
	ospa wietrzna-półpasiec	stosowana głównie w białaczkach
	wirus zapalenia wątroby typu A	znana szczepionka ze szczepu zabitego
bakterie	gruźlica	szczep ustalony od 1921 r.; szczepionka chroni także częściowo przed trądem

Ryc. 18.3 Szczepionki z zarazków atenuowanych uzyskano przeciwko wielu, lecz nie wszystkim zakażeniom. Atenuowane wirusy jest uzyskać łatwiej niż bakterie.

Jak dużym sukcesem są szczepionki przeciw *polio*, odrze, śwince i różyczce, wskazuje spadek zachorowań w latach 1950–1980, przedstawiony na ryc. 18.4.

DROBNOUSTROJE ATENUOWANE MAJĄ ZMNIEJSZONĄ ZDOLNOŚĆ DO WYWOŁANIA CHOROBY U ICH NATURALNEGO GOSPODARZA. Atenuacja „zmienia" drobnoustrój, zmniejszając jego zdolność do rozmnażania się i wywoływania choroby u jego naturalnego gospodarza.

We wcześniej atenuowanych drobnoustrojach „zmiany" oznaczały przypadkową serię mutacji powodowaną przez niekorzystne warunki wzrostu.

Szczepy przygotowywane do szczepionki były selekcjonowane poprzez stałe monitorowanie pod kątem zachowania antygenowości a utraty wirulencji.

Gdy możliwe stało się sekwencjonowanie genów wirusowych, okazało się, że rezultaty atenuacji były bardzo różnorodne. Przykładem mogą być rozbieżności między trzema typami wirusów w żywej szczepionce (Sabina) przeciw porażeniu mięśniowemu:

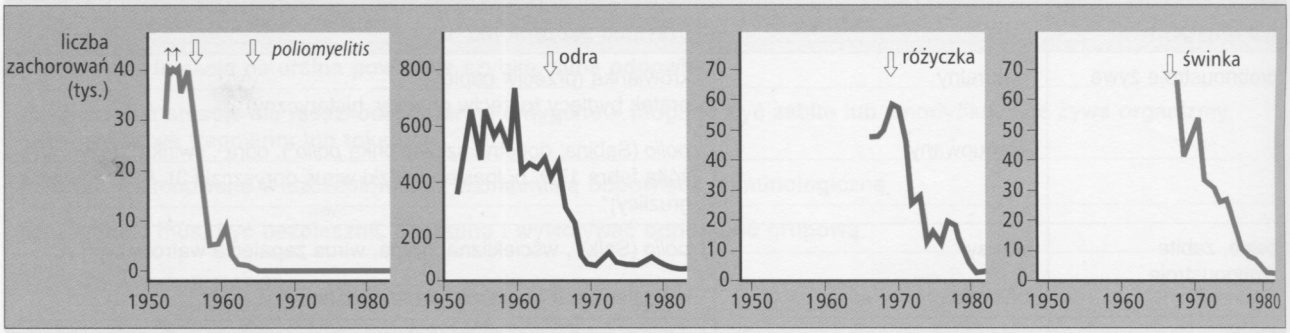
- typ 1 wirusa *polio* zawiera 57 mutacji i prawie nigdy nie wykazał rewersji do typu dzikiego;
- typy 2 i 3 stosowane w szczepionkach mają tylko dwa kluczowe miejsca mutacji warunkujące ich bezpieczne stosowanie – obserwuje się jednak częste rewersje do typu dzikiego i niektóre z nich doprowadziły do powstania ognisk porażennego zapalenia przednich rogów rdzenia.

WIRUS *VACCINIA* JEST UŻYWANY JAKO WEKTOR DLA ANTYGENÓW WIRUSA HIV I MALARII. Wirus *vaccinia* nie jest atenuowanym wirusem ospy krowiej (obecnie uważa się, że wirus *vaccinia* jest blisko spokrewniony z wirusami ospy gryzoni), nie jest także stosowany do uodporniania przeciw ospie prawdziwej. Powrócił jako wektor dla antygenów HIV i malarii; jest też źródłem interesujących informacji o skutkach atenuacji.

Wirusy ospy zawierają około 200 genów, z których dwie trzecie jest istotne dla ich wzrostu w komórkach ssaków *in vitro*.

Zmodyfikowany szczep *vaccinia* Ankara (MVA) replikował się w przedłużonym czasie w komórkach ptasich; Stwierdzono u niego delecję genów niezbędnych do pełne-

Wpływ szczepień na występowanie chorób wirusowych



Ryc. 18.4 W wyniku wprowadzenia w USA szczepień (strzałki) liczba zachorowań na różne choroby wirusowe obniżyła się bardzo wyraźnie.

go cyklu replikacyjnego w komórkach ssaków, lecz pozostała zdolność do zakażania tych komórek, jest więc bezpieczną i immunogenną szczepionką przeciw ospie prawdziwej. Geny nieistotne dla replikacji wirusa, które uległy delecji, są głównie związane z wirulencją wirusa i jego ucieczką przed mechanizmami obronnymi gospodarza.

Wirulencja jest określana jako zdolność wirusa do replikacji i rozsiewu w zakażonym organizmie z wystąpieniem objawów chorobowych.

Wszystkie wirusy ospy mają geny wirulencji, a wiele z nich naśladuje funkcję cytokin i chemokin lub na nią się nakłada. Niektóre z tych genów wykazują sekwencje homologiczne do obecnych w komórkach ssaków-gospodarza, inne nie. Większość szczepów *vaccinia* utraciła geny wirulencji, wirusy ospy prawdziwej zawierają zaś prawie wszystkie.

Obecnie możliwe jest kompletne usunięcie genów wirulencji za pomocą technik rekombinacji DNA lub inaktywację przez ukierunkowaną mutację. Problem, który pozostaje, to duży rozmiar wirusa ospy prawdziwej. Wskutek tego uzyskanie idealnego wektora jest głównym zadaniem, które nie zostało dotychczas spełnione.

Pytanie: Zdarza się często, że atenuowany awirulentny wirus nie jest dobrą szczepionką. Dlaczego może tak być?
Odpowiedź: Odczyn zapalny wywołany przez uszkodzenia tkanek w zakażeniu wirusem działa jak adiuwant, prowadzi więc do bardziej skutecznej prezentacji antygenu szczepionki.

Szczepionki z całych zabitych drobnoustrojów – szczepionki zabite

Szczepionki zabite są następcami wspomnianej wcześniej szczepionki Pasteura:

- niektóre są bardzo skuteczne (przeciw wściekliźnie, a szczepionka Salka – przeciw polio);
- niektóre są umiarkowanie skuteczne (przeciw durowi brzusznemu, cholerze i grypie);
- wątpliwej wartości szczepionki to szczepionki przeciw durowi brzusznemu i dżumie;
- stosowanie niektórych budzi kontrowersje z powodu ich toksyczności (przeciw kształcowi).

Na ryc. 18.5 przedstawiono najważniejsze szczepionki stosowane obecnie, w których antygenem są zabite drobnoustroje. Niektóre z nich będą niewątpliwie zastąpione szczepionkami atenuowanymi lub podjednostkowymi.

Szczepionki z całych zabitych zarazków

choroba		uwagi
wirusy	*polio*	preferowana w Skandynawii; bezpieczna dla osób z obniżoną odpornością
	wścieklizna	może być podana po ekspozycji wraz ze swoistą surowicą
	grypa	swoista dla szczepu
	wirus zapalenia wątroby typu A	w użyciu także szczepionka atenuowana
bakterie	krztusiec	może wywoływać uszkodzenie mózgu (twierdzenie kontrowersyjne)
	dur brzuszny	około 70% skuteczności
	cholera	ochrona wątpliwa, może być kojarzona z podjednostkami toksyny
	dżuma	krótki okres ochrony
	gorączka Q	dobra ochrona

Ryc. 18.5 Podstawowe szczepionki, w których antygenem są zabite całe drobnoustroje.

Inaktywowane toksyny i toksoidy należą do najbardziej skutecznych szczepionek bakteryjnych

Najskuteczniejsze ze wszystkich szczepionek bakteryjnych – przeciw tężcowi i błonicy – są inaktywowanymi egzotoksynami (ryc. 18.6). Podobną zasadę uodporniania można zastosować do wielu innych zakażeń.

Szczepionki podjednostkowe i nośniki

Obok szczepionek opartych na toksynach, będących subkomórkowymi składowymi odpowiednich do nich drobnoustrojów, wiele innych stosowanych szczepionek przygotowywanych jest z fragmentów komórkowych izolowa-

Szczepionki oparte na toksynach

bakteria	szczepionki	uwagi
Clostridium tetani	inaktywowane toksyny (formaliną)	3 dawki precypitowane ałunem; dawka przypominająca co 10 lat
Corynebacterium diphtheriae		zazwyczaj podawana razem z tężcową
Vibrio cholerae	toksyna, podjednostka B	czasem sprzężona z całymi zabitymi przecinkowcami
Clostridium perfringens	inaktywowana toksyna (formaliną)	szczepienia noworodków owiec

Ryc. 18.6 Najważniejsze szczepionki zawierające toksyny. Zwraca uwagę to, że nie ma wśród nich szczepionek przeciw licznym egzotoksynom gronkowcowym i paciorkowcowym, a także przeciw endotoksynom bakteryjnym – lipopolisacharydom.

Szczepionki podjednostkowe

	drobnoustrój	uwagi
wirus	wirus zapalenia wątroby typu B	antygen powierzchniowy może być izolowany i oczyszczany z surowicy nosicieli lub produkowany w drożdżach technologią rekombinacyjną DNA
bakterie	*Neisseria meningitidis*	polisacharydy otoczkowe lub koniugaty grupy A i C są aktywne; grupa B jest nieimmunogenna
	Streptococcus pneumoniae	84 serotypy; szczepionka zawiera 23 typy polisacharydu otoczkowego; koniugaty z 5 lub 7 serotypów są obecnie testowane
	Haemophilus influenzae B	obecnie dostępne są dobre szczepionki koniugowane

Ryc. 18.7 Koniugowane szczepionki wielocukrowe są zastępowane czystym polisacharydem. *N. meningitidis* typu B jest nieimmunogenny, ponieważ polisacharyd otoczkowy reaguje krzyżowo z wielocukrami gospodarza, na skutek czego powstaje tolerancja na antygen.

nych z mikroorganizmów i oczyszczanych lub uzyskiwanych przez techniki rekombinacji DNA (ryc. 18.7).

Uzyskana bezkomórkowa szczepionka kształcowa zawierająca niewielką liczbę oczyszczonych białek jest skuteczna i mniej toksyczna.

Także antygen powierzchniowy wirusa zapalenia wątroby typu B jest immunogenny, kiedy podaje się go z adiuwantem (np. wodorotlenkiem glinu). Bakteryjne otoczkowe polisacharydy *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae i Haemophilus influenzae B* są stosunkowo słabo immunogenne i często nie powodują odpowiedzi w postaci przeciwciał IgG i nie dają dłużej trwającej ochrony.

Pytanie: Dlaczego polisacharydowe antygeny nie wzbudzają wytwarzania przeciwciał klasy IgG i trwałej odporności?
Odpowiedź: Antygeny polisacharydowe nie są prezentowane komórkom T pomocniczym, dlatego nie wywołują zmiany klas, dojrzewania powinowactwa i nie powodują powstawania komórek T pamięci (zob. rozdziały 7 i 8).

Wyraźną poprawę w skuteczności podjednostkowych szczepionek uzyskano przez połączenie oczyszczonych polisacharydów z nośnikami białkowymi, takimi jak toksoid tężcowy lub błoniczy. Białka nośnikowe przypuszczalnie mobilizują limfocyty T pomocnicze i koniugat powoduje powstawanie przeciwciał IgG i bardziej skuteczną ochronę. Szczepionki podjednostkowe są droższe niż konwencjonalne szczepionki zabite, dlatego też ich zastosowanie może być ograniczone do krajów rozwiniętych.

Antygeny mogą być wytwarzane syntetycznie lub przez klonowanie genów

Z chwilą, gdy wykazano, że małe peptydy wykazują właściwości ochronne, zdecydowano, że bardziej racjonalne może być uzyskiwanie ich syntetycznie. Jednak pomimo że na modelu zwierzęcym w infekcji wirusowej oraz w immunoterapii raka immunizacja syntetycznym wiążącym MHC epitopem peptydowym okazała się skuteczna, nie wprowadzono dotychczas szczepionki opartej na tej podstawie.

Pytanie: Jaki podstawowy problem wiąże się z antygenem peptydowym jako szczepionką, kiedy użyty jest u ludzi, w przeciwieństwie do zastosowania go na modelu zwierzęcym.
Odpowiedź: W zróżnicowanej populacji, takiej jak ludzka, pojedyncze peptydy byłyby skutecznie immunogenne tylko w części populacji. Ponieważ tylko niektóre typy MHC mogą prezentować podawany antygen u osobników o innym antygenie zgodności tkankowej, działałaby reguła restrykcji MHC (zob. rozdział 7).

Bardziej przydatna jest druga możliwość, a mianowicie przygotowywanie antygenu przez klonowanie jego genów w odpowiednim wektorze. W tym przypadku uzyskany antygen ma epitopy wiążące się ze wszystkimi antygenami MHC.

- To podejście okazało się bardzo korzystne w przypadku powierzchniowego antygenu wirusa *hepatitis* typu B (HB) klonowanego w komórkach drożdży. Antygen ten obecnie zastąpił pierwszą generację szczepionki

HB, pracochłonnej, do której antygen uzyskiwany był z krwi nosicieli wirusa *hepatitis* B (przez zagęszczanie i oczyszczanie). Nowy sposób otrzymywania szczepionki wydatnie obniżył jej koszty.

- Drugim przykładem szczepionki opartej na wyżej wymienionych zasadach jest testowana obecnie szczepionka przeciwko ludzkim wirusom brodawczaka typu 16 i 11. Głównym komponentem tej szczepionki jest kapsydowy antygen L1, ekspresjonowany w drożdżach. Uzyskany rekombinant jest białkowym polimerem uformowanym w podobne do wirusa cząsteczki (VLP), które są wysoce immunogenne.

Zachęcająca przyszłość tej metody polega na możliwości dodawania następnych sekwencji, np. wyselekcjonowanych z komórek B i T epitopów łączonych w różny sposób w celu wzmacniania odpowiedzi immunologicznej.

Trzeba pamiętać, że komórki B odpowiadają na trójwymiarowy kształt antygenu, komórki T zaś rozpoznają linearne sekwencje aminokwasów (zob. rozdziały 3 i 5). Dlatego też peptydy mogą funkcjonować jako epitopy komórek T, lecz niełatwo jest skonstruować epitopy komórek B.

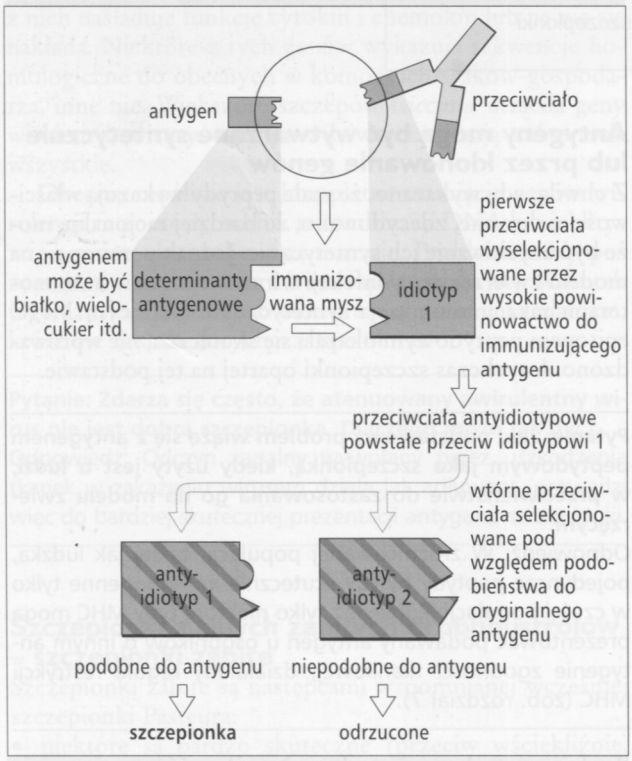
Jeżeli nawet determinanta komórek B jest linearna, to pobudza przeciwciała przeciw wolnym giętkim peptydom. Peptydy te przybierają wiele konfiguracji i nie wiążą się optymalnie, tak jak wówczas, gdyby to były bardziej sztywne struktury, jak to jest w przypadku białkowych cząstek naturalnych.

Szczepionki antyidiotypowe mogłyby być stosowane w sytuacji, kiedy oryginalny antygen nie nadaje się do immunizowania

Jest to jedyny rodzaj szczepionek powstałych wyłącznie na podstawie koncepcji immunologicznej. Idea polega na użyciu technologii przeciwciał monoklonalnych (mAb), opartej na przygotowaniu dużej ilości przeciwciał antyidiotypowych (anty-Id) przeciwko regionowi V (idiotyp) przeciwciał o sprawdzonej wartości ochronnej.

Jeżeli anty-Id są prawidłowo wyselekcjonowane, powinny mieć trójwymiarowy kształt, podobny do oryginalnego immunizującego antygenu, i mogą być użyte zamiast niego (ryc. 18.8). Strategia przeciwciał anty-Id, chociaż często odrzucana jako „immunologia fotelowa", ma realną wartość, jeżeli oryginalny antygen nie jest immunogenny lub jest toksyczny. Tak jest w przypadku polisacharydów lub lipidowego regionu A endotoksyny (lipopolisacharyd – LPS). Korzyść ze stosowania mAb polega na tym, że jako białka indukują one pamięć immunologiczną, podczas gdy wielocukry i lipidy takich właściwości nie mają, jeżeli nie są koniugowane z nośnikiem.

Przeciwciała antyidiotypowe jako szczepionki



Ryc. 18.8 Technologia uzyskiwania przeciwciał monoklonalnych i odkrycie „siatki idiotypowej" pozwoliły na wykorzystanie immunoglobulin jako „surogatu" antygenowego. W przypadku antygenów wielocukrowych lub lipidowych możliwość uzyskania ich kopii białkowych może być użyta do wytworzenia szczepionek. Należy zwrócić uwagę, że antyidiotypy monoklonalne mogą działać jako nieciągłe epitopy limfocytów B.

ADIUWANTY WSPOMAGAJĄ WYTWARZANIE PRZECIWCIAŁ

W 1920 r. podczas prac nad przygotowywaniem zwierzęcych surowic dla terapii wykryto, że niektóre substancje, np. sole glinu, dodane lub zemulgowane z antygenem, w dużym stopniu wzmagają wytwarzanie przeciwciał. Efekt ten nazwano działaniem adiuwantowym.

Wodorotlenek glinu jest wciąż szeroko stosowany, np. z toksoidem błoniczym i tężcowym.

Zgodnie z nowoczesnym podejściem do procesów warunkujących aktywację limfocytów i rozwój pamięci immunologicznej włożono wiele wysiłku w poszukiwania lepszych adiuwantów, szczególnie dla odpowiedzi zależnej od komórek T. Na ryc. 18.9 przedstawiono listę tych adiuwantów, należy jednak podkreślić, że żaden z nich nie jest dotychczas zalecany do stosowania u ludzi.

Adiuwanty koncentrują antygen we właściwych miejscach lub indukują cytokiny

Wydaje się, że działanie adiuwantu zależy głównie od dwóch rodzajów jego aktywności:

- zagęszczania antygenu w miejscu obecności limfocytów (efekt *depot*);
- indukcji cytokin, które regulują funkcję limfocytów.

Sole glinu prawdopodobnie pełnią funkcję deponowania, tworząc małe ziarniniaki, w których obecny jest antygen.

Najnowsze preparaty, takie jak liposomy i immunostymulujące kompleksy (ISCOM), pozwalają osiągnąć ten sam cel, ponieważ antygen jest zamykany w cząsteczce adiuwantu i dostarczany do komórek prezentujących antygen (APC).

Antygeny cząsteczkowe, takie jak cząsteczki podobne do wirusa (polimery białek kapsydu wirusowego, nie zawierające wirusowego DNA lub RNA), są wysoce immunogenne i mają taką użyteczną właściwość, że mogą także indukować proces prezentacji krzyżowej (*cross priming*), tzn.

Adiuwanty

typ adiuwantu	rutynowo stosowane u ludzi	eksperymentalne* lub zbyt toksyczne do stosowania u ludzi†
sole nieorganiczne	wodorotlenek glinu fosforan glinu fosforan wapnia	wodorotlenek berylu
systemy dostarczające		liposomy* ISCOM* polimery blokowe związki wolno uwalniane*
produkty bakteryjne	*Bordetella pertussis* (z toksoidami błoniczym, tężcowym)	BCG *Mycobacterium bovis* i olej† (pełny adiuwant Freunda) dwupeptyd muramylowy (MDP)†
naturalne mediatory (cytokiny)		IL-1 IL-2 IL-12 IFNγ

ISCOM – kompleksy immunostymulujące; * stosowanie eksperymentalne; † toksyczne dla ludzi.

Ryc. 18.9 Różne obce i endogenne substancje mogą działać jako adiuwanty, ale w praktyce klinicznej stosuje się rutynowo sole glinu, wapnia oraz pałeczki krztuśca.

wchodzą na szlak przetwarzania antygenu z udziałem cząsteczek MHC klasy I, chociaż nie są syntetyzowane wewnątrz komórki prezentującej antygen (zob. rozdział 7).

Pytanie: Wiele bakteryjnych cukrów i glikolipidów jest dobrymi adiuwantami, chociaż nie jest dobrymi immunogenami. Dlaczego tak jest?
Odpowiedź: Odkrycie receptorów Toll-podobnych (TLR, zob. ryc. 6.24) i innych receptorów grupy PRR, takich jak lektynopodobne receptory cukrów (ryc. 9.18), daje wyjaśnienie długotrwałej skuteczności wielu bakteryjnych produktów jako adiuwantów. Jest jasne, że działają one głównie przez wiązanie się z receptorami PRR i pobudzanie wytwarzania odpowiednich cytokin przez komórki APC.

Wiązanie się z różnymi PRR może skierować odpowiedź do wytwarzania TH1 lub TH2 cytokin.

Nie jest zaskakujące, że same cytokiny są skutecznymi adiuwantami, zwłaszcza gdy są bezpośrednio związane z antygenami. Cytokiny mogą być szczególnie przydatne w przypadku chorych z immunosupresją (zob. ryc. 18.11), często nie odpowiadających na normalne szczepienie. Jest nadzieja, że mogą być także przydatne do ukierunkowania odpowiedzi immunologicznej według potrzeby, np. w chorobach, w których potrzebna jest wybiórczo pamięć komórek TH1 lub TH2.

WIĘKSZOŚĆ SZCZEPIONEK JEST PODAWANA W INIEKCJACH

Szczepionki najczęściej podaje się w iniekcjach. W krajach rozwijających się metoda ta nie jest bezpieczna – z powodu częstego wielokrotnego używania igieł i strzykawek i możliwości przenoszenia infekcji, szczególnie HIV.

Ponieważ większość drobnoustrojów wnika przez błony śluzowe, logiczne jest uodpornianie taką drogą; sukces doustnego podawania szczepionki *polio* wskazuje, że metoda ta może działać. Chociaż szczepionka *polio* przygotowana z żywych zarazków była skuteczna, jeżeli podawano ją doustnie, to jednak szczepienie doustne większością szczepionek zabitych okazało się nieskuteczne.

Pytanie: Jakiego problemu związanego ze szczepieniem doustnym można się spodziewać?
Odpowiedź: Antygen może być niszczony w czasie przechodzenia przez żołądek i system trawienny, lecz bardziej prawdopodobny problem jest związany z tym, że system immunologiczny przewodu pokarmowego jest nastawiony bardziej na tolerancję niż na odpowiedź immunologiczną na antygeny pokarmowe.

Immunizacja następuje tylko wtedy, gdy patogen wnika w ścianę jelita. Reakcję taką można uzyskać przez wprowadzenie adiuwantu. Toksyny patogennych drobnoustrojów jelitowych (cholera, *Escherichia coli*) są badane jako adiuwanty szczepionek doustnych. Ponieważ naturalne toksyny są niezwykle silne w działaniu, zahamowanie nadmiernego pobudzenia jelita uzyskuje się przez częściową inaktywację drogą mutacji. W badaniach działania tych adiuwantów na zwierzęcych modelach eksperymentalnych trudno jest uzyskać powtarzalną równowagę między:

- właściwą, dostateczną stymulacją odpowiedzi immunologicznej i
- nadmiernym odczynem zapalnym jelita.

Alternatywą dla nich jest użycie rekombinantów bakteryjnych ekspresjonujących potrzebne antygeny; niestety spotyka się w tym przypadku problemy podobne do poprzednich :

- jeżeli bakterie nie wykazują cech chorobotwórczości, to nie powodują immunizacji;
- jeżeli bakterie są zbyt patogenne, mogą wywoływać objawy niepożądane.

Wielu rekombinantów i częściowo atenuowanych szczepów *Salmonella* użyto eksperymentalnie do wykorzystania tej strategii w celu uzyskania szczepionek.

Podobne problemy wiążą się z immunizacją donosową, stosowaną eksperymentalnie przeciw zakażeniom górnych

dróg oddechowych, takim jak grypa lub wirus RSV. Szczepionki donosowej nie ma w użyciu ze względu na:

- trudności w utrzymaniu równowagi pomiędzy atenuacją a immunogennością w przypadku żywej szczepionki RSV;
- brak odpowiedniego adiuwantu dla inaktywowanej donosowej szczepionki z wirusa grypy;
- obawę o bezpieczeństwo z powodu bliskości między śluzówką nosa a mózgiem, którą to przestrzeń dzieli kość sitowata.

Ostatnio uwagę przyciągnęło przezskórne wprowadzanie antygenu. Mikroskopowe cząsteczki złota opłaszczone DNA wprowadza się do skóry pod ciśnieniem gazu z użyciem specjalnie skonstruowanego urządzenia – *gene gun*. W ten sposób mogą być wprowadzane różne cząsteczki, białka lub inne immunogeny. Celem tak wprowadzanych antygenów są komórki Langerhansa skóry. Wiele antygenów – jeżeli są na odpowiednim nośniku – jest wchłanianych i immunogennych, gdy są nałożone na lekko zadrapaną skórę lub nawet skórę nieuszkodzoną. Na razie metody te są w fazie eksperymentalnej, jest jednak nadzieja, że iniekcje będą zastąpione metodami mniej inwazyjnymi i bezpieczniejszymi.

SKUTECZNOŚĆ DZIAŁANIA SZCZEPIONEK MUSI BYĆ OD CZASU DO CZASU KONTROLOWANA

Aby szczepionka mogła być wprowadzona i zatwierdzona, musi być skuteczna. Właściwość ta jest od czasu do czasu kontrolowana we wszystkich stosowanych szczepionkach. Na efekt działania szczepionki wpływa wiele czynników.

Skuteczna szczepionka musi **indukować prawidłowy rodzaj odpowiedzi**:

- przeciwciała przeciw toksynom i drobnoustrojom pozakomórkowym, takim jak *Streptococcus pneumoniae*;
- odpowiedź komórkową w stosunku do drobnoustrojów wewnątrzkomórkowych, takich jak prątki gruźlicy.

W przypadku drobnoustrojów, w stosunku do których nie jest znany najlepszy typ odpowiedzi (np. w malarii), określenie skuteczności szczepionki staje się trudne.

Skuteczna szczepionka musi także:

- **być trwała w przechowywaniu** – jest to szczególnie ważna cecha szczepionek z żywych drobnoustrojów, normalnie przechowywanych w niskiej temperaturze, co oznacza konieczność utworzenia (nie zawsze łatwego) „zimnej linii" od wytworzenia do zastosowania;
- mieć **dostateczną immunogenność** – w przypadku szczepionek z drobnoustrojów inaktywowanych często konieczne jest wzmocnienie ich immunogenności adiuwantem (zob. powyżej s. 330).

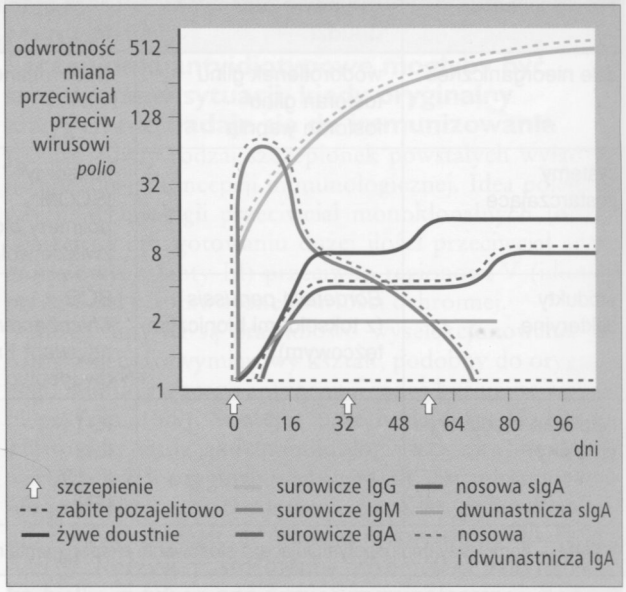
Żywe szczepionki są zwykle bardziej skuteczne niż zabite.

Wywołanie właściwej odpowiedzi zależy od cech antygenu

Zaletą szczepionek z żywych drobnoustrojów jest działanie na zasadzie wzrastającego pobudzenia antygenowego, trwającego dni lub tygodnie, a także właściwa stymulacja miejscowa – niezwykle ważna dla pobudzenia odporności błon śluzowych (ryc. 18.10).

Żywe szczepionki zawierają największą liczbę antygenów bakteryjnych, lecz wraz z nasileniem ich stężenia pojawia się problem bezpieczeństwa ze względu na działania uboczne szczepionek.

Odpowiedź humoralna na żywą i zabitą szczepionkę polio



Ryc. 18.10 Odpowiedź humoralna na podanie doustne szczepionki polio z żywych atenuowanych wirusów (linie ciągłe) i podanie domięśniowo z zabitych poliowirusów (linie przerywane). Żywa szczepionka powoduje wytwarzanie przeciwciał IgA (sIgA) obok przeciwciał surowiczych, podczas gdy zabita szczepionka nie indukuje przeciwciał sIgA błony śluzowej nosa i dwunastnicy. Ponieważ sIgA jest immunoglobuliną systemu MALT (zob. rozdział 2), żywa szczepionka zapewnia ochronę we wrotach (miejscu) wtargnięcia wirusa przez błonę śluzową przewodu pokarmowego. (Dzięki uprzejmości prof. J. R. Pattisona, w: J. Brostoff i wsp., *Clinical immunology*. London: Mosby 1991, rozdział 26).

Szczepionki przygotowane z pełnych zabitych drobnoustrojów są w użyciu, ponieważ jednak nie mają zdolności przedłużonej antygenowej stymulacji, pełne drobnoustroje obecnie są często zastępowane oczyszczonymi komponentami (szczepionkami podjednostkowymi). Z tymi ostatnimi związanych jest wiele problemów:

- oczyszczone podjednostki mogą być względnie słabymi immunogenami i wymagają adiuwantów;
- im mniejszy antygen, tym większym problemem może być restrykcja MHC (zob. rozdziały 5 i 7);
- oczyszczone polisacharydy są substancjami typowymi niezależnymi od grasicy – nie wiążą się z MHC i wskutek tego nie pobudzają limfocytów T.

W szczepionkach, które są rutynowo stosowane u ludzi, wymieniony wyżej problem rozwiązano przez zastosowanie adiuwantów i łączenie polisacharydów z:

- standardowymi nośnikami białkowymi, takimi jak toksoid tężcowy, lub
- białkami pochodzącymi z tego samego drobnoustroju, takimi jak białka błonowe pneumokoków.

Problem z restrykcją MHC jest prawdopodobnie bardziej hipotetyczny niż prawdziwy, ponieważ większość „kandydatów" na szczepionki jest dostatecznie duża, aby zawie-

rać kilka epitopów wiązanych przez MHC. Jednakże nawet najbardziej skuteczne szczepionki nie uodporniają wszystkich osobników – np. mniej więcej u 5% uodpornianych pełnym programem szczepionki *hepatitis* B nie stwierdza się serokonwersji.

Większość szczepionek rutynowo stosowanych u ludzi wzbudza powstawanie ochronnych przeciwciał. W wielu ważnych zakażeniach, szczególnie patogenami wewnątrzkomórkowymi (np. gruźlica, malaria, HIV), podstawowym mechanizmem ochronnym jest odpowiedź komórkowa. Dlatego też w ostatnich latach wkłada się wiele wysiłku w rozwój szczepionek indukujących limfocyty CD4 i CD8. Użycie DNA i wirusowych wektorów jest powszechnie wykorzystywane, ponieważ obydwa te sposoby prowadzą do wytwarzania antygenu wewnątrz komórek. Dzięki temu epitopy peptydów są prezentowane na cząsteczkach MHC.

Chociaż te metody, szczególnie w połączeniu z regulaminem (zasadą) pierwszego podania, są całkiem skuteczne w eksperymentalnym modelu zwierzęcym, w przypadku ludzi napotyka się trudności z wywołaniem dużych ilości komórek pamięci T, długo utrzymujących się i antygenowo swoistych.

Nawet w doświadczeniach na zwierzętach czas ochrony może nie utrzymywać się długo, prawdopodobnie dlatego, że ochrona związana z mechanizmem komórkowym wymaga aktywacji raczej komórek efektorowych niż utrzymujących się dłużej komórek pamięci. Dla przetrwania wymienionych komórek ważna jest obecność antygenu.

BEZPIECZEŃSTWO SZCZEPIONEK JEST WARUNKIEM NADRZĘDNYM

Bezpieczeństwo szczepionek jest pojęciem względnym – niewielki miejscowy ból lub obrzęk w miejscu iniekcji są ogólnie akceptowane. Przyczyny poważniejszych powikłań mogą mieć związek ze szczepionką lub z pacjentem (ryc. 18.11):

- szczepionki mogą być zanieczyszczone nieprzewidzianymi białkami, toksynami lub nawet żywymi wirusami;
- drobnoustroje wchodzące w skład zabitych szczepionek mogą być nieprawidłowo zabite;
- atenuowane szczepionki mogą ulegać rewersji do typu dzikiego;
- osobnik szczepiony może być uczulony nawet na śladowe ilości białka (w związku z tym u chorych o obniżonej odporności stosowanie żywych szczepionek jest przeciwwskazane).

Chociaż poważne powikłania poszczepienne są bardzo rzadkie, bezpieczeństwo szczepionek stało się przedmiotem szczególnej uwagi, częściowo z powodu dużego sukcesu szczepień:

- w krajach rozwiniętych wiele chorób zakaźnych wieku dziecięcego występuje sporadycznie, w związku z czym społeczeństwo przestało być świadome, jak wielkie niebezpieczeństwo niosą infekcje;
- szczepienia, w przeciwieństwie do podawania leków, przeprowadza się u osób całkowicie zdrowych;
- wzrost świadomości medycznej i możliwość uzyskania korzystnych odszkodowań przyniosła zwiększenie działań firm ubezpieczeniowych.

Pytanie: Dlaczego uwaga skierowana na bezpieczeństwo jest mniejsza, gdy szczepionka jest nowo wprowadzana?
Odpowiedź: W czasie wprowadzania szczepionki występowanie zakażenia i niebezpieczeństwo z nim związane jest tak duże, że ryzyko związane z uodpornianiem jest względnie małe.

Kontrowersyjne wyniki szczepionki MMR w epidemiach odry

Ostatnie problemy dotyczące MMR (potrójnej szczepionki – przeciw odrze, śwince i różyczce) dobrze pokazują trudności związane z bezpieczeństwem szczepień, chociaż tak naprawdę ruch przeciw szczepieniom części społeczeństwa w Anglii datuje się od czasu wprowadzenia szczepień krowianką przez Jennera w 1796 r.

Opublikowany w 1998 r. artykuł popierający przypuszczenia o związku między uodpornianiem szczepionką MMR a rozwojem autyzmu i przewlekłych schorzeń jelita grubego wywołał duży oddźwięk w angielskich mediach i społeczeństwie. Chociaż dokonano szerokich badań obalających podstawy wymienionych wyżej spostrzeżeń, wy-

Problemy bezpieczeństwa szczepionek

typ szczepionki	potencjalne problemy bezpieczeństwa	przykłady
szczepionki atenuowane	rewersja do dzikiego typu zarazka	szczególnie wirus *polio* typu 2 i 3
	ciężkie zakażenie u chorych z niedoborem immunologicznym	krowianka, BCG, odra
	przetrwałe zakażenie	ospa wietrzna, półpasiec
	nadwrażliwość na antygeny wirusowe	odra
	nadwrażliwość na antygeny z jaj	odra, świnka
szczepionki zabite	żywe drobnoustroje w szczepionce	przypadki *polio* w przeszłości
	zanieczyszczenia komórkami drożdży	zapalenie wątroby typu B
	skażenia wirusami zwierzęcymi	*polio*
	zanieczyszczenie endotoksyną	krztusiec

Ryc. 18.11 Bezpieczeństwo szczepionek wymaga stałej kontroli zarówno w procesie produkcji, jak i w przebiegu szczepień.

jaśnienia dotyczące oryginalnego artykułu nie zostały przyjęte, a popularność szczepień MMR w Anglii spadła na wiele lat, w związku z czym na skutek zmniejszenia się odporności populacji pojawiły się ogniska odry.

Wprowadzenie pięcioskładnikowej szczepionki, zawierającej toksoid błoniczy i tężcowy, bezkomórkowe pałeczki krztuśca, *Haemophilus influezae* typu B i inaktywowane wirusy *polio*, wzbudziło obawy doprowadzające do spadku stosowania tej szczepionki w Anglii. W tym wypadku argumentem jest to, że podawanie pięciu immunogenów jednocześnie może być zbyt dużym obciążeniem delikatnego układu immunologicznego u dzieci, chociaż szczepionka wydaje się bezpieczna i skuteczna. Ponieważ szczepionka składa się z podjednostek z wyjątkiem inaktywowanych wirusów *polio*, cała szczepionka zawiera mniej antygenów niż żywe bakterie i inne drobnoustroje, które dziecko napotyka codziennie.

Szczepionka przeciw zakażeniom rotawirusami może uchronić wiele dzieci od śmierci w krajach rozwijających się

Historia sporządzonej ostatnio szczepionki rotawirusowej jest pouczająca. W 1998 r. żywą szczepionkę z rotawirusów testowano na dużej liczbie dzieci w USA. W przybliżeniu u jednego na 2500 uodpornianych dzieci pojawiały się wgłobienia jelita (przy złym stanie jelit), szczepionka została więc przez wytwórców wycofana. Chociaż z powodu częstości występowania wymienionych powikłań szczepionka ta w USA nie mogła być akceptowana, jest ona bardzo skuteczna, mogłaby więc uchronić wiele istnień, gdyby ją stosowano w krajach rozwijających się, w których bowiem jedno na 200 dzieci umiera z powodu biegunki wywołanej rotawirusami.

Z dalszych ocen i analiz powikłań poszczepiennych wynika, że realne ryzyko wgłobienia u szczepionych dzieci jest niższe od tego, które wystąpiło w przeprowadzonej próbie, i to nawet niższe, jeśli poda się szczepionkę dzieciom poniżej 2. miesiąca życia. Dwie nowe szczepionki przeciw rotawirusom przygotowali inni producenci; są one obecnie w późnej fazie badań. Niewątpliwie sprawa bezpieczeństwa szczepionek wiąże się z wieloma zagadnieniami etycznymi i praktycznymi.

Nowe szczepionki mogą być bardzo drogie

Jakkolwiek szczepienia można uznać za najbardziej ekonomiczny sposób leczenia chorób zakaźnych, nowe szczepionki są niekiedy bardzo drogie. Wyjściowy wysoki koszt jest niezbędny do zrekompensowania ogromnych nakładów na wprowadzenie preparatu (200–400 mln dolarów).

Dobrym przykładem jest rekombinowana szczepionka przeciw wirusowemu zapaleniu wątroby typu B, której cena wynosiła na początku, w 1986 r., 150 dolarów za trzy dawki. Chociaż cena spadła znacznie, nawet 1 dolar jest zbyt dużym obciążeniem dla budżetu przeznaczanego na służbę zdrowia w wielu biednych krajach.

W przeciwieństwie do wysokich cen szczepionek cena siedmiu szczepionek włączonych do rozszerzonego programu immunizacji Światowej Organizacji Zdrowia (błonica, tężec, koklusz, polio, odra i gruźlica) wynosi niespełna jeden dolar. Jednakże obecnie koszt uodporniania jednego dziecka jest wielokrotnie wyższy, ponieważ obejmuje wyższe koszty badań laboratoryjnych, transportu, „zimnej linii", personelu.

Children's Vaccine Initiative utworzona w 1990 r. i skupiająca agencje, rządy, darczyńców oraz komercyjne i publiczne sektory producentów szczepionek, jest światowym forum, którego celem jest integrowanie badań nad szczepionkami i szukanie źródeł pozwalających dostarczać preparaty populacjom najbiedniejszym na świecie, które szczepionek najbardziej potrzebują.

SZCZEPIONKI OGÓLNIE STOSOWANE WYKAZUJĄ RÓŻNE WSKAŹNIKI DZIAŁANIA UODPORNIAJĄCEGO

Na ryc. 18.12 zestawiono szczepionki stosowane standardowo na całym świecie. Cztery z nich – przeciw *polio*, odrze, śwince i różyczce – są tak skuteczne, że już na początku XXI w. przewidywana jest eliminacja tych czterech chorób. Jeżeli tak się stanie, będzie to niezwykłe osiągnięcie, zwłaszcza że na podstawie modelu matematycznego sugeruje się, iż współczesne choroby infekcyjne są trudniejsze do eliminacji niż w przeszłości ospa.

W odniesieniu do *polio*, w którego szczepionce atenuowanej może zachodzić rewersja typu 2 i 3 do postaci wirulentnej, sugeruje się, że niezbędna będzie zmiana na kilka lat szczepionki na zabitą do czasu pozbycia się w populacji wirusa wirulentnego przez uodpornianie inną szczepionką (jak wspomniano wcześniej, nowa pięcioskładnikowa szczepionka, wprowadzona ostatnio w Anglii i innych krajach, zawiera – zgodnie z sugestiami – wirusy *polio* inaktywowane).

Z wielu przyczyn jest jednak mało prawdopodobne, że szczepienia doprowadzą do wyeliminowania chorób innych niż cztery wymienione powyżej. Przyczynami są:

- **stan nosicielstwa** – eradykacja wirusowego zapalenia wątroby typu B byłaby wielkim osiągnięciem, lecz wy-

Szczepionki ogólnie stosowane

choroba	szczepionka	uwagi
tężec błonica krztusiec *polio* (DTPP)	toksoid toksoid zabite całe komórki zabity (Salk), atenuowany (Sabina) wirus	podawane razem w trzech dawkach między 2. i 6. miesiącem życia; tężec i błonica – doszczepianie co 10 lat
odra świnka różyczka	wirusy atenuowane	podawane razem (MMR) w 12.–18. miesiącu życia
Haemophilus influenzae typu B	wielocukier	obecnie może być podawany ze szczepionką DTPP

Ryc. 18.12 Szczepionki stosowane powszechnie, jeżeli to możliwe, wszystkim osobnikom poddawanym szczepieniom.

Szczepionki, których stosowanie ograniczone jest do niektórych grup

choroba	szczepionka	wybrana grupa
gruźlica	BCG	kraje tropikalne: noworodki; Anglia: 13.–14. rok życia; USA: grupy ryzyka
wirusowe zapalenie wątroby typu B	antygen powierzchniowy	grupa ryzyka (personel medyczny, narkomani, homoseksualiści, kontakt z nosicielami)
wścieklizna	wirus zabity	grupa ryzyka – pracujący ze zwierzętami; po ekspozycji – ugryzienie, kontakt z chorym zwierzęciem
zapalenie opon m.-rdz. żółta febra dur brzuszny, cholera zapalenie wątroby typu A	wielocukier wirus atenuowany zarazek zabity lub zmutowany wirus zabity lub atenuowany	podróżujący
grypa	wirus zabity	grupy ryzyka, ludzie starzy
pneumokokowe zapalenie płuc	polisacharyd	ludzie starzy
półpasiec	wirus atenuowany	dzieci z białaczką

Ryc. 18.13 Szczepionki podawane obecnie niektórym grupom.

maga to likwidacji nosicielstwa, szczególnie na Dalekim Wschodzie, gdzie normalną drogą infekcji jest przenoszenie się wirusa od matki do dziecka;

- **suboptymalna skuteczność** – skuteczność szczepionki BCG jest różna w zależności od kraju, prawdopodobnie ze względu na różnorodność środowiskowych gatunków *Mycobacterium* (zapadalność na gruźlicę wzrasta szczególnie u chorych na AIDS), szczepienia zaś przeciw krztuścowi wywołują odporność tylko u 70% osobników poddanych szczepieniu;
- **działanie uboczne** – szczepionkę MMR podejrzewa się o działania uboczne, a to zmniejsza gotowość społeczeństwa do szczepień;
- **rezerwuary – drobnoustroje wolno żyjące w środowisku oraz takie, dla których gospodarzem są zwierzęta;** przykładem mogą być wolno żyjące postacie laseczek tężca, mające nieograniczony czas przeżycia, lub wirus żółtej febry, którego rezerwuarem są zwierzęta (zakażenia takimi drobnoustrojami trudno jest wyeliminować).

Problemem na przyszłość jest wyrobienie świadomości, że szczepienia przeciw chorobom, które pozornie zniknęły, są konieczne. W miarę redukowania rezerwuarów i zmniejszania liczby zachorowań niektóre zakażenia, np. odra czy różyczka, mogą występować w późniejszym wieku – mają wtedy cięższy przebieg i groźniejsze następstwa.

Niektóre szczepionki są przeznaczone dla wybranych grup

W krajach rozwiniętych w tej kategorii znalazły się szczepionki BCG, a także szczepionki przeciw zapaleniu wątroby B. Niektóre szczepionki będą zapewne zawsze stosowane w wybranych grupach, takich jak: podróżujący, pielęgniarki, ludzie starsi i inni (ryc. 18.13). W niektórych przypadkach jest to spowodowane:

- regionem geograficznym (np. żółta febra);
- częstością narażenia na zakażenie (np. wścieklizna);
- możliwością przygotowania odpowiedniej szczepionki w odpowiednim czasie (np. epidemie grypy wywołane różnymi typami wirusa wymagają nowych szczepionek).

Niezwykle ważne byłoby uzyskanie skutecznej szczepionki przeciwko wszystkim odmianom wirusa grypy. Utrudnieniem jest jednak to, że obydwa antygeny – neuraminidaza i hemaglutynina – tworzące zewnętrzną warstwę wirusa i będące w szczepionce najważniejszymi antygenami, podlegają zmianom.

Szczepionki przeciwko pasożytom i niektórym zakażeniom są w fazie eksperymentalnej

Najbardziej intensywne badania prowadzone są nad szczepionkami przeciw ważnym chorobom tropikalnym pierwotniakowym i robaczycom (zob. rozdział 15). Żadna z nich nie weszła do standardowego stosowania, a w stosunku do niektórych kwestionowane jest w ogóle ich wprowadzenie – w myśl zasady, że skoro naturalne zakażenie nie pozostawia uodpornienia, „nie powinno się poprawiać natury".

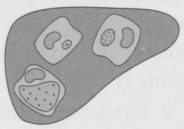
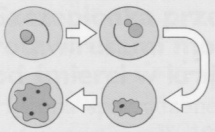
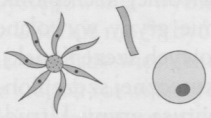
Intensywne badania na zwierzętach laboratoryjnych wykazały jednak, że szczepionki przeciw malarii, leiszmaniozie i schistosomozie są osiągalne i bardzo dobre; jest także stosunkowo skuteczna szczepionka przeciwko zakażeniom *Babesia* u psów. U bydła stosowana jest od dawna uzyskana przez napromieniowanie szczepionka przeciw robaczycy płuc.

Pytanie: Dlaczego nawet skuteczne szczepionki nie są w stanie wyeliminować wielu chorób pasożytniczych?
Odpowiedź: Dla wielu pasożytów ludzkich gospodarzami są również inne gatunki (zob. rozdział 15).

Inne przyczyny, dla których choroby pasożytnicze u ludzi są wyjątkowo trudne do leczenia, to polimorfizm i nagłe zmiany antygenowe pasożyta. Na przykład:

- żaden z modeli na małych zwierzętach nie wykazał takiej zmienności antygenowej jak *Plasmodium falcipa-*

Strategie przygotowania szczepionki przeciw malarii

stadium		mechanizm działania szczepionki
	sporozoity	szczepionka ze sporozoitów indukuje przeciwciała blokujące testowane obecnie na ludziach
	stadium wątrobowe	szczepionka ze sporozoitów indukująca odporność komórkową w stadium wątrobowym
	merozoity	antygen z merozoitów szczepionka indukująca przeciwciała blokujące
	stadium bezpłciowe w erytrocytach	antygen – stadium bezpłciowe szczepionka indukująca różne odpowiedzi przeciw pasożytom w stadium wewnątrzkrwinkowym i przeciw produktom toksycznym (szczepionka „przeciw chorobie")
	gametocyty	szczepionki przerywające stadium płciowe – „blokowanie transmisji"
	gamety	

Ryc. 18.14 W badaniu różnych aspektów szczepionek przeciw malarii bierze się pod uwagę charakter cyklu życiowego zarazka i odporności przeciw niemu.

rum – pierwotniak wywołujący malarię złośliwą u ludzi, zwaną trzeciaczką;

- szczury uodporniają się przeciw schistosomozie łatwiej niż inne zwierzęta łącznie z ludźmi.

Problemem jest także to, że w warunkach laboratoryjnych pasożyt nie znajduje się w swym naturalnym żywicielu.

Opublikowano wyniki prób klinicznych (z umiarkowanymi sukcesami) szczepionki przeciw malarii, z użyciem antygenów pochodzących ze stadium zakażenia albo wątrobowego, albo wewnątrzkrwinkowego. Niezwykłość zarazków malarii polega na tym, że cykl życiowy umożliwia wykorzystanie różnych „celów" do uodporniania (ryc. 18.14).

Problem ze zwalczaniem przewlekłych chorób pasożytniczych tkwi w ich immunopatologii. Na przykład objawy zakażenia *Trypanosoma cruzi* (choroba Chagasa) spowodowane są głównie przez autoimmunizację. Bakteryjnym odpowiednikiem trypanosomozy jest trąd, którego objawy kliniczne są skutkiem nadreaktywności komórek TH1 i TH2. Szczepionka pobudzająca odporność, a nie eliminująca patogenu może pogorszyć przebieg infekcji. Inne niepożądane działanie szczepień stwierdzono podczas uodporniania przeciw gorączce denga, kiedy to niektóre przeciwciała wzmagają infekcję, ułatwiając wirusowi wejście do komórki przez receptory Fc. Przeciwciała wzmagające zakażenie opisano także w doświadczalnym modelu szczepionki przeciwmalarycznej typu blokowanie transmisji.

W fazie eksperymentalnej są także niektóre szczepionki wirusowe i bakteryjne

W grupie szczepionek eksperymentalnych są następujące szczepionki wirusowe i bakteryjne:

- toksyna przecinkowców cholery;
- atenuowane pałeczki czerwonki;
- powierzchniowa glikoproteina wirusów Epsteina-Barr.

Rekombinowana szczepionka przeciwko ludzkim wirusom brodawczaka typu 16, zawierająca wirusopodobne cząsteczki, jest obecnie testowana klinicznie. Wydaje się, że będzie ona bardzo skuteczna w zapobieganiu infekcjom narządu płciowego. Pozostaje określenie, czy szczepionka ta będzie także wpływała na zmniejszenie częstości przypadków raka szyjki macicy.

Przeciw wielu zakażeniom nie ma szczepionek

W odniesieniu do wielu poważnych chorób infekcyjnych – z zakażeniem HIV na czele – nie ma obecnie przygotowanych szczepionek (ryc. 18.15). Stanowi to główne wyzwanie dla badań w nadchodzącym dziesięcioleciu.

BIERNA IMMUNIZACJA MOŻE W OKREŚLONYCH PRZYPADKACH RATOWAĆ ŻYCIE

Wobec nieskuteczności stosowania antybiotyków podawanie gotowych przeciwciał w leczeniu infekcji ma wciąż dużą wartość w niektórych sytuacjach (ryc. 18.16.). Może ono ratować życie, gdy:

- toksyny znajdują się obecnie w krwiobiegu (np. w tężcu, błonicy, ukąszeniu przez żmiję);
- niezbędne jest wysokie miano przeciwciał, uzyskiwane najczęściej przez uodpornianie koni, lecz czasami otrzymywane z surowic ludzi – ozdrowieńców.

Inną przeciwstawną możliwością jest podawanie zbiorczych oczyszczonych ludzkich immunoglobulin, zawierających dostateczną ilość przeciwciał przeciw powszechnym zakażeniom. Immunoglobuliny podane w dawce 100–400 mg IgG chronią chorych z hipogammaglobulinemią przez wiele miesięcy. Na każdy preparat składa się około 1000 dawców, ich surowice muszą być badane na nosicielstwo wirusa HIV, zapalenia wątroby typu B i C.

Użycie swoistych przeciwciał monoklonalnych jest teoretycznie atrakcyjne, nie okazało się jednak lepsze od metod tradycyjnych. Główne ich zastosowanie w chorobach zakaźnych ogranicza się do diagnostyki. Sytuacja ta może się zmienić, gdy ludzkie przeciwciała monoklonalne staną się łatwiej dostępne (tańsze) przez zastosowanie do ich produkcji hodowli tkankowych i inżynierii genetycznej.

W immunoterapii nowotworów monoklonalne przeciwciała dla CD 20 znalazły zastosowanie w leczeniu chłoniaków B-komórkowych. Immunoterapia z zastosowaniem podobnego sposobu zmniejszania puli komórek B daje także korzystne wyniki w leczeniu reumatycznego zapalenia stawów oraz tocznia rumieniowatego układowego (SLE, zob. rozdział 20).

Geny przeciwciał mogą być obecnie przygotowywane na podstawie inżynierii genetycznej. Dzięki temu możliwe jest formowanie odcinków Fab, pojedynczych łańcuchów Fv lub fragmentów VH (zob. rozdział 3). Biblioteki tych genów mogą być prezentowane w rekombinantach fagowych i chronić przed antygenami, gdy jest to potrzebne. Wyselekcjonowane fragmenty przeciwciał mogą być wy-

Ważne zakażenia, dla których nie ma szczepionek

	choroba	problemy
wirusy	HIV	zmienność antygenowa; immunosupresja?
	wirusy opryszczki	ryzyko reaktywacji? (lecz szczepionka w przypadku półpaśca wydaje się bezpieczna)
	adenowirusy, rynowirusy	liczne serotypy
bakterie	gronkowce paciorkowce grupy A	wcześniejsze szczepionki nieskuteczne, lepsze leczenie antybiotykami
	Mycobacterium leprae	BCG – częściowo chroni
	Treponema pallidum (kiła)	nieznana skuteczność uodporniania
	Chlamydia spp.	wcześniejsze szczepionki nieskuteczne
grzyby	*Candida* spp.	nieznana skuteczność uodporniania
	Pneumocystis spp.	
pierwotniaki	malaria	zmienność antygenowa
	trypanosomozy – śpiączka, choroba Chagasa	krańcowa zmienność antygenowa, immunopatologia, autoimmunizacja, wyniki prób zachęcające
	leiszmanioza	
robaki	schistosomoza	(próby na zwierzętach zachęcające)
	onkocerkoza	skuteczność szczepień nieznana

Ryc. 18.15 Dla niektórych poważnych zakażeń brak obecnie skutecznych szczepionek. Nadrzędnym problemem jest brak wiedzy, jak wywołać skuteczną odpowiedź immunologiczną.

Uodpornianie bierne

choroba	źródło przeciwciał	wskazania
błonica, tężec	człowiek, koń	profilaktyka, leczenie
półpasiec	człowiek	leczenie u ludzi z immunosupresją
zgorzel gazowa, zatrucie jadem kiełbasianym, ukąszenie przez węża, ukłucie przez skorpiona	koń	leczenie po ekspozycji
wścieklizna	człowiek	po ekspozycji razem z dawką szczepionki
zapalenie wątroby typu B	człowiek	po ekspozycji
zapalenie wątroby typu A, odra	ludzkie immunoglobuliny	profilaktycznie przed podróżą po ekspozycji

Ryc. 18.16 Podanie swoistych przeciwciał, choć nie jest to tak powszechne jak 50 lat temu, może ratować życie w szczególnych warunkach.

twarzane masowo w bakteriach, drożdżach lub w komórkach ssaków do zastosowania *in vivo* lub *in vitro*.

Różna wielkość fragmentów przeciwciał może służyć różnym celom; na ogół mniejsze fragmenty wnikają lepiej do tkanek, cechuje je jednak krótszy okres półtrwania. Bakteryjna inżynieria wykorzystana do wytwarzania fragmentów przeciwciał może być w przyszłości użyta do przygotowania przeciwciał, dla których celami ochrony będą poszczególne mikrośrodowiska, np. jelito.

NIESWOISTA IMMUNOTERAPIA MOŻE POBUDZIĆ AKTYWNOŚĆ IMMUNOLOGICZNĄ

Wiele składników, które działają jako adiuwanty w szczepionkach, może być zastosowanych jako samodzielne stymulatory podnoszące ogólny poziom odporności (ryc. 18.17). Najlepsze wyniki uzyskano, gdy stosowano cytokiny, a spośród nich IFNα, szczególnie w zakażeniach wirusowych (a także w niektórych nowotworach – zob. niżej).

Immunoterapia nieswoista

źródło		uwagi
bakteryjne	filtrowane hodowle bakteryjne	zastosowane przez Coleya (1909) przeciw nowotworom
	BCG	niezupełnie zdefiniowana aktywność przeciwnowotworowa
cytokiny	IFNα	działanie w przewlekłym zapaleniu wątroby typu B i C, półpasiec, wirus brodawek, profilaktyka przeciw zaziębieniom, przeciw niektórym nowotworom
	IFNγ	działanie: przewlekła choroba ziarniniakowa, trąd (postać nerwowa), leiszmanioza skóry
	IL-2	leiszmanioza skóry
	G-CSF	odnowa szpiku kostnego po lekach cytotoksycznych
inhibitory cytokin	antagonisty TNF	wstrząs septyczny
	antagonisty IL-1	ciężka malaria (postać mózgowa?)
	IL-10	

G-CSF – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów; IFN – interferon; IL – interleukina; TNF – czynnik martwicy nowotworów.

Ryc. 18.17 Nieswoista stymulacja lub zahamowanie poszczególnych składowych układu immunologicznego może przynieść korzyści lecznicze.

Prawdopodobnie większość wyraźnych klinicznych skutków działania cytokin związana jest z G-CSF i odbudowywaniem funkcji szpiku po terapii przeciwnowotworowej; szczególną korzyść widać w ochronie zarówno przed krwawieniami, jak i infekcjami.

W ciężkich lub przewlekłych stanach zapalnych można stosować inhibitory cytokin. Różne drogi hamowania TNF i IL-1 potwierdziły skuteczność:

- w reumatoidalnym zapaleniu stawów;
- bardziej kontrowersyjnie – we wstrząsie septycznym (wywołanym pałeczkami Gram-ujemnymi) i w ciężkiej malarii.

Można się spodziewać, że za kilka lat klinika i farmakologia cytokin i inhibitorów cytokin będą dostatecznie poznane i że mechanizmy działania tych cząsteczek komunikacyjnych układu immunologicznego będą mogły być w pełni wytłumaczone w taki sam sposób, jak wakcynacja wykorzystała właściwości limfocytów.

BADANIA NAD UODPORNIANIEM PRZECIW RÓŻNYM CZYNNIKOM NIEINFEKCYJNYM

Idea nieswoistej stymulacji układu immunologicznego w celu zwalczania nowotworów sięga początków ubiegłego wieku, kiedy to Coley użył do tego celu bakteryjnego filtratu. Jego sukces polegał prawdopodobnie na indukcji cytokin, takich jak TNF i IFN. Jednakże próby powtórzenia jego wyników z zastosowaniem oczyszczonych cytokin lub immunostymulantów, np. BCG, okazały się skuteczne tylko w przypadku niektórych nowotworów. Obecne badania są ukierunkowane głównie na indukcję odporności swoistej, podobnie jak w przypadku zakażeń drobnoustrojami. Założenie to wynika z tego, że guzy mogą być spontanicznie odrzucane, podobnie jak to się dzieje z obcymi przeszczepami (zob. rozdział 21).

Zapłodnienie i implantacja płodu mogą być przerwane przez pobudzenie odporności przeciw wielu różnym hormonom ciążowym. Celem wielu udanych doświadczeń była ludzka gonadotropina kosmówkowa (hCG) – hormon swoisty dla zarodka, odpowiedzialny za utrzymanie ciałka żółtego.

Szczepionki oparte na łańcuchu β hCG, związane z toksoidem tężcowym lub błoniczym, okazały się niezwykle skuteczne w antykoncepcji u pawianów, a ostatnio u ludzi. W doświadczeniach na ludziach niepłodność była przejściowa i nie obserwowano działań ubocznych. Stało się jasne, że metoda ta stanowi nowy bezpieczny sposób limitujący wielkość rodzin, chociaż aspekty kulturowe i etyczne muszą w tym przypadku być uważnie rozważane.

Inne zastosowanie immunizacji, obecnie badane, obejmuje:

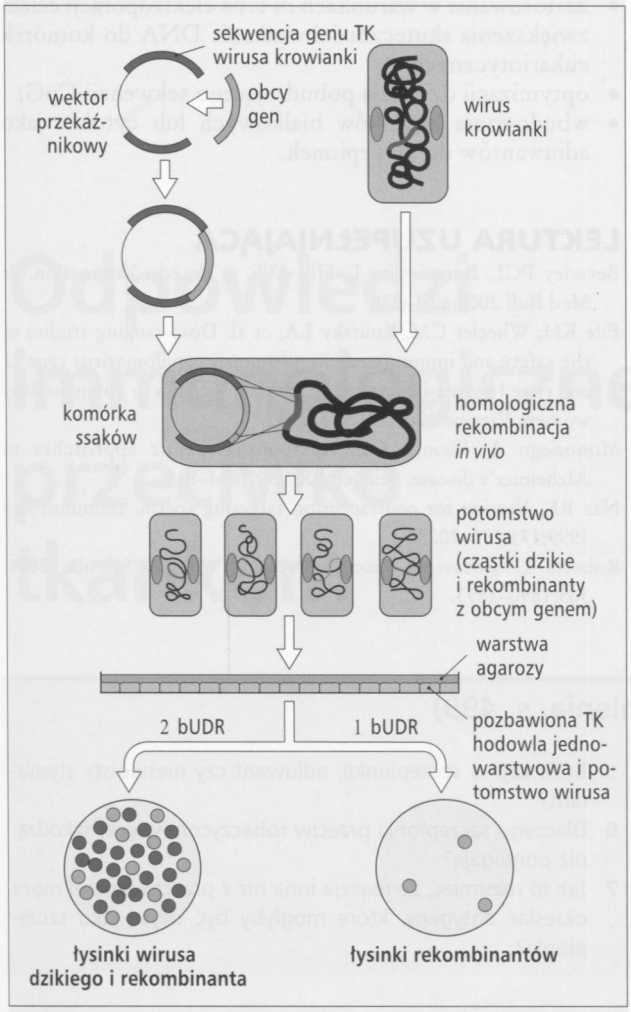
- zapobieganie uzależnieniom lekowym, jest bowiem możliwe neutralizowanie skutków działania leku przez preimmunizację lekiem związanym z odpowiednim nośnikiem (*the „hapten-carrier" effect*);
- obniżanie stężenia cholesterolu przez neutralizowanie białek wiążących lipidy;
- zapobieganie chorobie Alzheimera na zasadzie uodporniania przeciw komponentom płytek amyloidowych.

Na razie szczepionki te są w fazie eksperymentalnej.

Pytanie: Jaki problem związany z wyżej opisanym postępowaniem można przewidzieć?

Odpowiedź: Przełamanie tolerancji na własne antygeny (cząsteczki) przywołuje kwestię bezpieczeństwa. Jest to uzasadnione, ponieważ zarówno u naczelnych, jak i we wczesnej fazie badań klinicznych szczepionki przeciw chorobie Alzheimera u ludzi obserwowano po szczepieniach przypadki zapalenia mózgu.

Wytworzenie rekombinantów wirusa krowianki dla ekspresji obcego genu



Ryc. 18.18 Rekombinant wirusa krowianki może być skonstruowany dla ekspresji obcego genu. Gen ten jest wbudowany w gen kinazy tymidynowej (TK), dzięki czemu łysinki rekombinanta można odróżnić od szczepu dzikiego. TK służy wirusowi do wykorzystywania tymidyny z podłoża hodowlanego lub z zapasów wewnątrzkomórkowych do syntezy wirusowego DNA: ponieważ rekombinant wirusa nie może wytwarzać kinazy (gen TK został przerwany), musi użyć innej drogi do syntezy tymidyny. W obecności bromodeksyurydyny (bUDR) – analogu tymidyny blokującego syntezę DNA, w który się wbuduje – replikacja dzikiego szczepu zostaje zablokowana, natomiast może się replikować rekombinant, syntetyzujący temidynę *de novo*. Jednowarstwowa hodowla komórkowa nie może zawierać kinazy tymidynowej, ponieważ mogłaby zostać ona wykorzystana przez rekombinanta wirusowego do pobierania z podłoża bUDR. (Dzięki uprzejmości dr. D. J. Rowlandsa, rozdział 16 w: J. Brostoff i wsp., Clinical Immunology, London: Mosby; 1991).

Szczepionki przyszłości będą stosowane w postaci genów lub wektorów dostarczających antygeny

Wirus krowianki jako odpowiedni wektor

Rozwój metod klonowania genów pozwala na wprowadzenie pożądanego genu do odpowiedniego wektora, który wstrzyknięty do organizmu ludzkiego ulega replikacji, a ekspresja niesionego przez niego genu dostarcza *in situ* dużej ilości antygenu (ryc. 18.18). Krowianka jest wygodnym wektorem, ponieważ jest on dostatecznie duży, aby nieść i wprowadzić wiele antygenów. Zmodyfikowana krowianka Ankara (MVA) jest szczególnie bezpieczna, ponieważ nie replikuje się w ludzkich komórkach (zob. powyżej, s. 330).

Ponieważ immunizacja przeciw ospie prawdziwej została przerwana jakiś czas temu, problem przetrwałej oporności na wirusa się zmniejsza. Pewna liczba doświadczalnych szczepionek z zastosowaniem rekombinantów krowianki jest testowana; żadna z nich nie jest w rutynowym zastosowaniu. Jako wektory szczepionkowe proponowane i testowane są różne wirusy.

BCG i Salmonellae są najczęściej wykorzystywane do eksperymentalnych bakteryjnych szczepionek rekombinowanych

Zaletą atenuowanych bakterii jest to, że mają dostatecznie duży genom do wbudowania wielu genów z innych drobnoustrojów; szczepy *Salmonella* i BCG mają dodatkowe cechy przydatne do wykorzystania.

Mutanty *Salmonella* mogą być podawane doustnie i działać uodporniająco poprzez układ chłonny błon śluzowych przewodu pokarmowego, nim zostaną wyeliminowane. Jest to bardzo przydatna właściwość, biegunka bowiem jest jedną z najgroźniejszych na świecie przyczyn śmierci dzieci. Mutanty bakterii są zdolne do indukcji odporności systemowej. Jednakże jak dotychczas żadna rekombinowana szczepionka bakteryjna nie jest rutynowo stosowana.

Transgeniczne rośliny mogą także być genetycznie konstruowane w celu ekspresji antygenów szczepionkowych

Nowatorskim podejściem do szczepionek jest tworzenie transgenicznych roślin prezentujących antygeny jako szczepionki. Na modelu myszek wykazano skuteczną immunizację wywołaną karmieniem ich genetycznie przygotowanymi surowymi kartoflami. Podejście takie niesie ze sobą wiele problemów, które powinny być rozwiązane:

- antygeny białkowe mogą być zbyt szybko degradowane w przewodzie pokarmowym;
- trudna może być kontrola konsystencji i dawki;
- antygeny podawane doustnie często wywołują tolerancję, nie immunizację, a doustnie podawane adiuwanty mogą wymagać inkorporacji do roślin.

Jeżeli szczepionki jadalnych roślin wiążą się z jakimiś problemami, to rekombinanty roślin mogą prowadzić do wygodnej i taniej drogi uzyskiwania antygenów szczepionkowych z liści i owoców, które po oczyszczeniu mogą być użyte jako konwencjonalne podjednostkowe szczepionki.

Obecny postęp w kierunku stosowania „nagiego" DNA

Potrzebne geny związane z odpowiednim promotorem są wstrzykiwane bezpośrednio do mięśni lub opłaszczane mikrocząsteczkami złota i wstrzeliwane przez skórę za pomocą urządzenia zwanego *gene gun*. Zaskoczeniem jest wywoływanie przedłużonej odpowiedzi komórkowej i humoralnej u zwierząt doświadczalnych. Wydaje się, że w mechanizmie tym następuje ekspresja DNA w komórkach APC.

Metoda jest korzystna, ponieważ immunomodulujące geny (cytokiny i inne) mogą być wbudowywane w konstrukty

DNA wraz z genami kodującymi antygeny dla wzmacniania pożądanej odpowiedzi immunologicznej. Stwierdzono także, że bakteryjne, nukleotydowe sekwencje (CpG DNA) wykazują właściwości adiuwantowe i mogą być włączone do plazmidów, w których konstruowane jest DNA.

W chwili obecnej szczepionki DNA nie są satysfakcjonujące w badaniach u ludzi, tak jak by to wynikało z modelu zwierzęcego; może dlatego, że dawki DNA stosowane u zwierząt są względnie wyższe niż u ludzi, a także że różne bakteryjne sekwencje CpG są potrzebne do optymalnej stymulacji komórek dendrytycznych ludzi i zwierząt.

Obecnie immunizacja DNA jest testowana raczej w sytuacjach zagrożenia życia (nowotwory, zakażenia HIV) niż w rutynowym uodpornianiu dzieci.

Pierwotna stymulacja przez DNA i wtórne podanie rekombinantu wirusa *vaccinia* jest znacznie bardziej skuteczne niż podawanie samego DNA, zwłaszcza u zwierząt. Jak dotąd kliniczne badania reguły pierwotnego podania DNA (*a prime boost regimen of DNA*) według MVA dotyczące szczepionki HIV nie okazały się szczególnie zachęcające.

Pomimo wszystko szczepionki DNA mają ważne korzystne cechy – są tanie i stabilne, dlatego w celu pokonania wielu związanych z nimi problemów są testowane w kierunku:

- zastosowania w warunkach *in vivo* elektroporacji celem zwiększenia skuteczności wnikania DNA do komórek eukariotycznych;
- optymizacji działania pobudzającego sekwencji CpG;
- wbudowania nośników białkowych lub cytokin jako adiuwantów do szczepionek.

LEKTURA UZUPEŁNIAJĄCA

Beverley PCL, Borysiewicz L, Hill AVS, et al., eds. Vaccination. Br Med Bull 2002;62:1–230.

Fife KH, Wheeler CM, Koutsky LA, et al. Dose-ranging studies of the safety and immunogenicity of human papillomavirus type 11 and type 16 virus-like particle candidate vaccines in young healthy women. Vaccine 2004;22:2943–2952.

Mononego A, Weiner HL. Immunotherapeutic approaches to Alzheimer's disease. Science 2003;302:834–838.

Naz RK. Vaccine for contraception targeting sperm. Immunol Rev 1999;171:193–202.

Roberts L. Rotavirus vaccines' second chance. Science 2004; 305:1890–1893.

Myślenie krytyczne: Szczepienia (zob. wyjaśnienia, s. 499)

1 Dlaczego szczepionek atenuowanych nie wytworzono dla wszystkich bakterii i wirusów?
2 „Szczepionki nie mogą poprawiać natury". Czy to jest stwierdzenie niesłusznie pesymistyczne?
3 „Historia sukcesu z ospą prawdziwą jest niemożliwa do powtórzenia". Czy to prawda?
4 Czy szczepionki mogą zastąpić antybiotyki?
5 BCG: czy to szczepionka, adiuwant czy nieswoisty stymulant?
6 Dlaczego szczepionki przeciw robaczycom więcej szkodzą, niż pomagają?
7 Jak to rozumieć, że reakcja inna niż z przeciwciałami może określać antygeny, które mogłyby być użyte jako szczepionki?