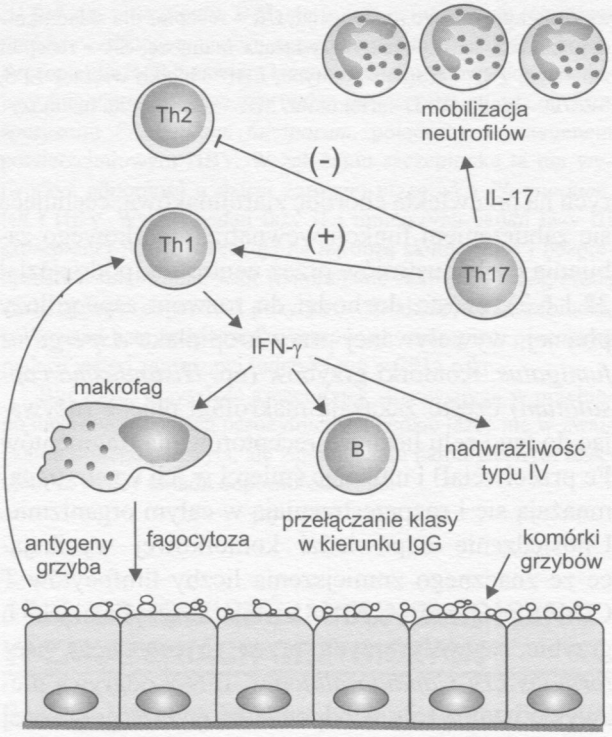
woju limfocytów Th1. Podawanie IFN-γ przywraca zdolność do eliminacji zakażeń grzybiczych pacjentom z przewlekłą chorobą ziarniniakową. IFN-γ nasila również skuteczność leków przeciwgrzybiczych.

Komórki dendrytyczne, pod wpływem pobudzenia ich receptorów PRR przez fragmenty komórek grzybów, uruchamiają specyficzne dla tych patogenów programy transkrypcyjne. W ich wyniku komórki dendrytyczne nabywają zdolność aktywacji i pobudzania proliferacji limfocytów T pomocniczych, głównie typu Th1 i Th17. Wydaje się, że przewaga odpowiedzi typu Th1 prowadzi do skutecznej eliminacji zakażeń grzybiczych i jest odpowiedzialna za ochronne działanie eksperymentalnych szczepionek. Limfocyty Th1 są bogatym źródłem IFN-γ, wspomagają wytwarzanie przeciwciał opsonizujących komórki grzybów, lecz przede wszystkim promują aktywację komórek żernych. U osób z prawidłowo funkcjonującym układem odpornościowym w przebiegu zakażenia grzybiczego odpowiedź typu Th1 prowadzi do rozwoju nadwrażliwości typu późnego (typ IV wg Gella i Coombsa) i skutecznej eliminacji patogenów. Co ciekawe, wykazano, że żeński hormon płciowy estradiol nasila odpowiedź typu Th1, w związku z czym kobiety rzadziej zapadają na niektóre choroby wywołane przez grzyby (np. parakokcydioidomikozę).

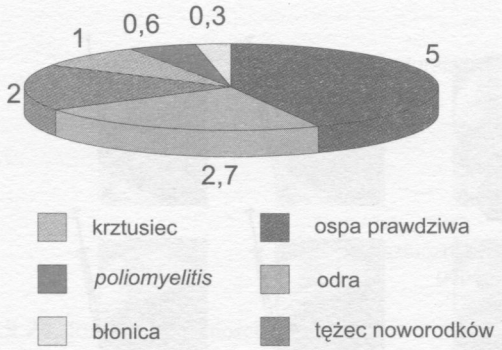


Ryc. 19.20. Rola limfocytów Th17 w odpowiedzi przeciwgrzybiczej

Ważną rolę w odpowiedzi przeciwko patogenom zewnątrzkomórkowym (w tym również grzybom) odgrywają limfocyty pomocnicze typu Th17 (ryc. 19.20). Jak wcześniej wspomniano (rozdział 9), komórki te uczestniczą również w patogenezie chorób alergicznych i autoimmunizacyjnych. Limfocyty te wydzielają IL-17A, która mobilizuje neutrofile i nasila wytwarzanie przez nie defensyn. Limfocyty Th17 promują także odpowiedź typu Th1 i hamują odpowiedź typu Th2. Znaczącą rolę w regulacji przeciwgrzybiczej odpowiedzi immunologicznej przypisuje się limfocytom T regulatorowym o fenotypie $CD4^+$ $CD25^+$ $FOXP3^+$. Komórki grzybów, dzięki wydzielaniu IL-10, TGF-β czy enzymu IDO (dioksygenazy indoloaminy uczestniczącej w degradacji tryptofanu), mogą aktywnie hamować wymierzoną przeciwko nim swoistą odpowiedź immunologiczną poprzez indukcję właśnie limfocytów Treg.

19.5. IMMUNOLOGIA SZCZEPIEŃ OCHRONNYCH

Postęp w dziedzinie immunologii, biologii molekularnej i biotechnologii umożliwił powstanie wakcynologii – nowej dziedziny nauki badającej szczepionki i ich wpływ na odporność indywidualną i populacyjną. Początki szczepień sięgają czasów, gdy wiedza o immunologii była szczątkowa, mimo to wprowadzenie szczepień w XX wieku było jedyną tak skuteczną interwencją medyczną na skalę globalną. Szczepienia umożliwiły eliminację ospy prawdziwej oraz radykalne zmniejszenie zachorowalności w krajach rozwiniętych na osiem groźnych chorób zakaźnych: nagminne porażenie dziecięce (*poliomyelitis)*, gruźlicę, wirusowe zapalenie wątroby typu B (WZW B), odrę, krztusiec, błonicę, tężec noworodkowy i zespół różyczki wrodzonej. Obecnie, szczepienia zapobiegają śmierci co najmniej 12 milionów ludzi na całym świecie rocznie (ryc. 19.21). Mimo to w wielu regionach świata utrzymuje się wysoka zapadalność na stare zakażenia (np. malaria, gruźlica, HIV, biegunki zakaźne, zapalenia płuc), a także rozprzestrzeniają się nowe patogeny, między innymi grupa wirusów gorączki krwotocznej (np. Hanta, Ebola, Denga, Marburg), wirusy *Herpes* 6 i 8, wirus SARS. W przypadku wielu tych chorób zakaźnych szczepionki stanowią jedyną drogę ograniczenia zachorowalności i śmiertelności ze względu na brak skutecznych leków. W ostatnich latach nastąpił znaczący postęp w produkcji szczepionek, pozyskiwaniu nowych antygenów i substancji pomocniczych. Roz-

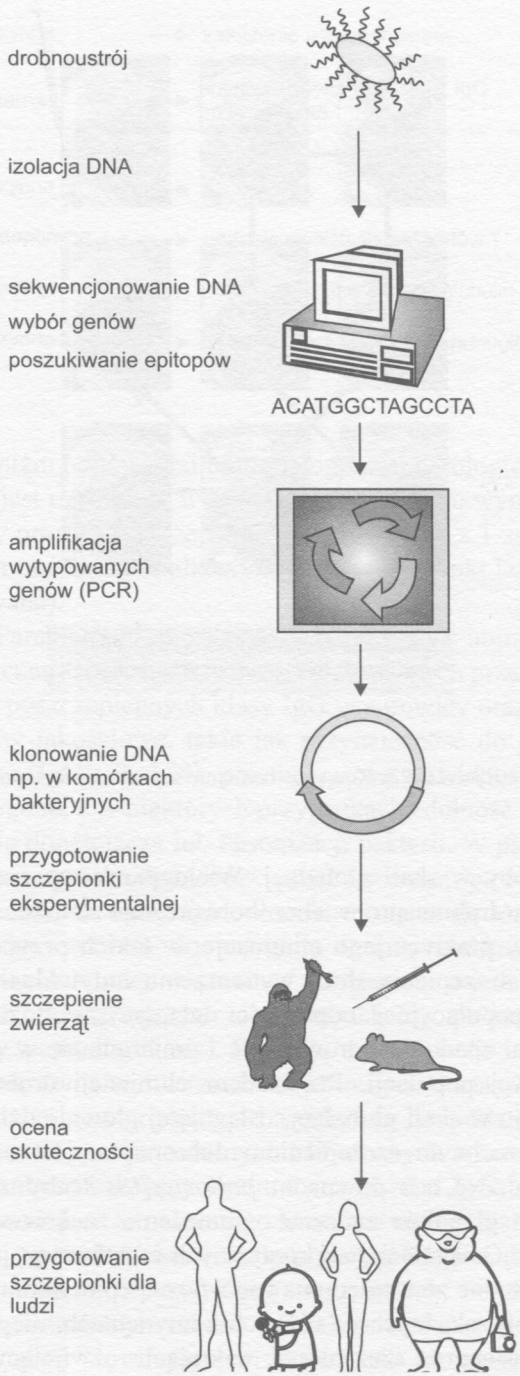


Ryc. 19.21. Liczba (w milionach) zgonów z powodu chorób zakaźnych, którym co rok udaje się zapobiec w wyniku szczepień

wój wakcynologii wiąże się ściśle z poznaniem genomów i proteomów drobnoustrojów, pierwsza szczepionka wytworzona dzięki technologii „od genu do antygenu" (reverse vaccinology) przeszła pomyślnie badania kliniczne. Technologia ta pozwala w praktyce na uzyskanie dowolnej szczepionki dzięki komputerowej analizie genomu drobnoustroju i kodowanych przez niego białek, które mogą być wykorzystane jako antygeny szczepionkowe (ryc. 19.22).

Opracowanie pierwszej szczepionki w technologii „od genu do antygenu" trwało ponad 10 lat. Jest to szczepionka przeciw meningokokom typu B, której opracowanie rozpoczęto od poznania genomu tej bakterii, następnie wyselekcjonowania istotnych 2158 genów, kodujących 570 protein. Spośród nich 350 poddano ekspresji w komórkach *Escherichia coli*, które oczyszczono i przetestowano na zwierzętach. Uzyskano 91 białek powierzchniowych, z których 28 miało cechy antygenów, a 4 z nich zawarte są w szczepionce, która pomyślnie przeszła badania kliniczne III fazy.

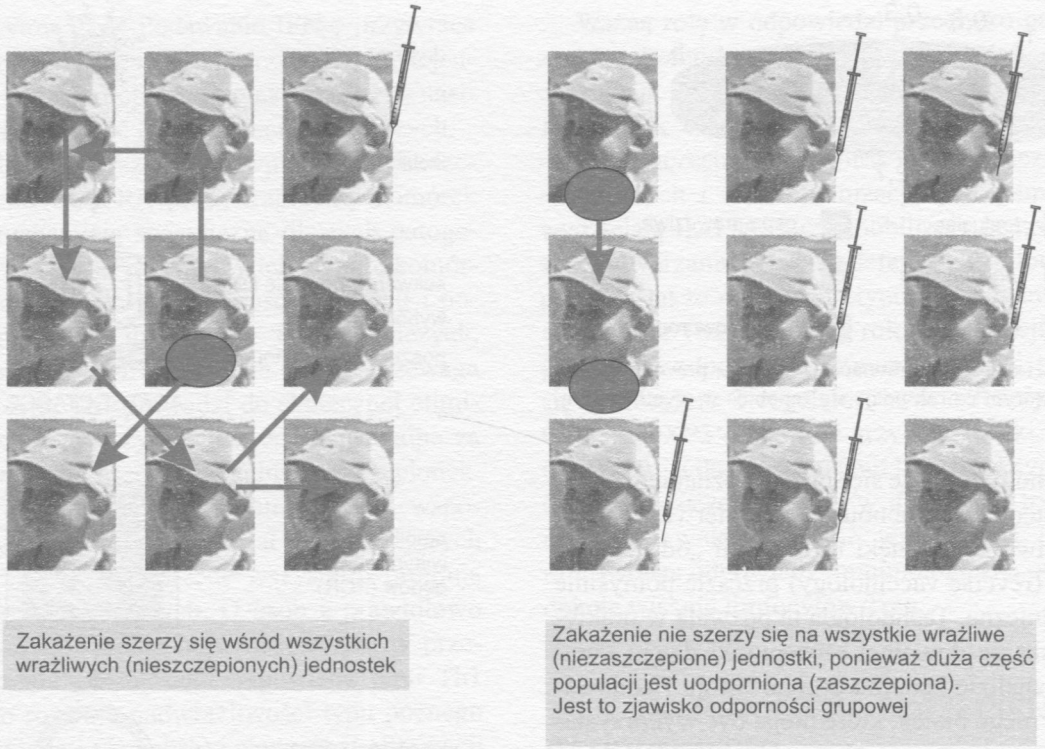
Równolegle do badań nad nowymi szczepionkami przeciw chorobom zakaźnym trwają prace nad wykorzystaniem szczepień w terapii chorób niezakaźnych, w tym autoimmunizacyjnych, nowotworowych, alergicznych czy uzależnień. Pierwsze szczepionki zapobiegające transformacji nowotworowej związanej z przewlekłym zakażeniem wirusami HBV (hepatitis B virus) i HPV (human papilloma virus) są stosowane z powodzeniem, trwają badania nad szczepionkami terapeutycznymi.



Ryc. 19.22. Zasada opracowania szczepionek według technologii „reverse vaccinology"

19.5.1. Cele szczepień ochronnych

Wymagania wobec współczesnych szczepionek są wysokie, preparaty te powinny charakteryzować się maksymalnym bezpieczeństwem i skutecznością, stymulować specyficzne mechanizmy odporności i wieloletnią pamięć immunologiczną, a także być powszechnie dostępne i cechować się wysoką trwałością, prostym sposobem podawania oraz niską ceną. Dlatego wprowadzenie nowej szczepionki na rynek trwa wiele lat, a jej powszechne zastosowanie wynika z medycznych i społecznych skutków choroby i jej powikłań, przed którymi szczepionka chroni, jej klinicznej i ekonomicznej efektywności oraz profilu bezpieczeństwa. Jeśli jedynym rezerwuarem drobnoustroju chorobotwórczego jest człowiek i nie istnieje stan bezobjawowego nosicielstwa, w wyniku powszechnych szczepień możliwa jest eliminacja



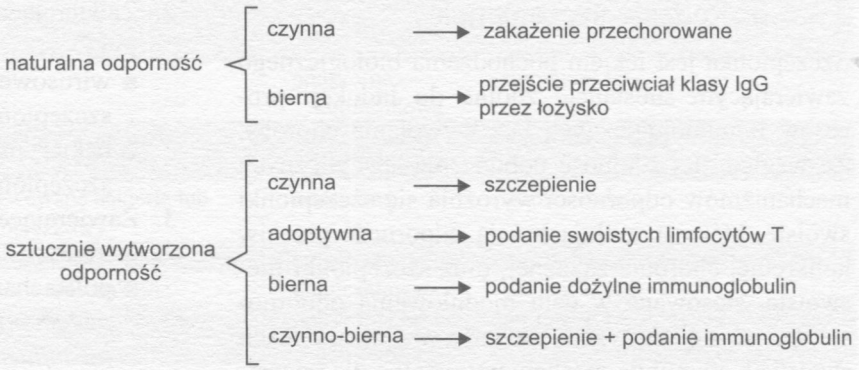
Ryc. 19.23. Rozprzestrzenianie się zakażenia w populacji nieszczepionej i zaszczepionej przeciwko drobnoustrojom

choroby w skali globalnej. Wielogatunkowy rezerwuar drobnoustroju chorobotwórczego uniemożliwia w praktyce jego eliminację, w takich przypadkach szczepienia służą wytworzeniu indywidualnej lub populacyjnej odporności adaptacyjnej, dzięki czemu spada zachorowalność i śmiertelność w docelowej populacji. Przykładem eliminacji drobnoustroju w skali globalnej, osiągniętej głównie dzięki powszechnym szczepieniom ochronnym, jest ospa prawdziwa, a w przypadku *poliomyelitis* i odry uzyskano globalnie znaczne ograniczenie zachorowalności. Osiągnięcie tak korzystnych efektów jest jednak trudne ze względu na specyficzną epidemiologię chorób zakaźnych na różnych kontynentach, niepełną dostępność szczepionek w krajach rozwijających się, a także bariery kulturowe i religijne ograniczające powszechne szczepienia. Jednocześnie, stopień mobilności ludzi zwiększył się radykalnie za sprawą rozwoju transportu lotniczego, co umożliwia drobnoustrojom chorobotwórczym szybkie przenoszenie między kontynentami, czego dobitnym przykładem była ostatnia pandemia grypy wywołana wirusem A/H1N12009, która w ciągu dwóch miesięcy objęła ponad 60 krajów na pięciu kontynentach.

Wskazania do szczepienia mogą obejmować cel indywidualny, czyli ochronę zaszczepionej osoby przed zachorowaniem lub jego powikłaniami (np. szczepienia przeciw cholerze dla turystów), a także cel populacyjny obejmujący redukcję lub przerwanie transmisji drobnoustroju w populacji wrażliwej na zakażenie (np. szczepienia przeciw krztuścowi u niemowląt). W takich przypadkach wykorzystuje się zjawisko odporności grupowej (zwanej także odpornością stadną lub populacyjną), polegające na ochronie osób nieszczepionych dzięki przewadze osób odpornych w ich otoczeniu, co redukuje możliwość transmisji drobnoustroju. Dla większości chorób zakaźnych konieczne jest zaszczepienie co najmniej 90% populacji wrażliwej na zakażenie, aby powstała odporność grupowa (ryc. 19.23).

19.5.2. Wpływ szczepień ochronnych na układ odpornościowy

Odporność przeciw chorobom zakaźnym powstaje w wyniku procesów naturalnych (np. zakażenie, przezłożyskowe przekazanie immunoglobulin do płodu) lub w wyniku interwencji medycznej – odporność nabyta sztucznie (np. szczepienia, podanie immunoglobulin). Zarówno odporność naturalna, jak i uzyskana sztucznie mogą zostać nabyte w sposób czynny (np. zakażenie, szczepienia) lub bierny (np. przekazanie płodowi przeciwciał przez łożysko, terapeutyczne podanie immunoglobulin). W wyjąt-



Ryc. 19.24. Rodzaje odporności przeciwzakaźnej

kowych sytuacjach, gdy konieczne jest szybkie zabezpieczenie osoby wrażliwej na zakażenie, stosuje się jednoczesne podanie immunoglobuliny razem ze szczepionką – jest to tzw. uodpornienie czynno-bierne, którego przykładem jest podanie bezpośrednio po porodzie noworodkowi urodzonemu przez matkę z aktywnym WZW B przeciwciał anty-HBs oraz szczepionki przeciw WZW B (ryc. 19.24).

Szczepienie uruchamia reakcję zbliżoną do naturalnego kontaktu z antygenem, która prowadzi do aktywacji limfocytów oraz powstania swoistych przeciwciał. Pierwszy kontakt organizmu z antygenem indukuje pierwotną odpowiedź poszczepienną cechującą się powolnym okresem narastania stężenia przeciwciał i krótkim czasem ich utrzymywania się we krwi. Są to początkowo przeciwciała klasy IgM (5–10 dni), które szybko zanikają, a w ich miejsce pojawiają się przeciwciała klasy IgG lub IgA, które dłużej utrzymują się w ustroju i mają właściwości ochronne. Powtórny kontakt z antygenem (wtórna odpowiedź poszczepienna) powoduje szybką proliferację komórek wytwarzających przeciwciała w klasie IgG o dużym powinowactwie do antygenu. Ochronny efekt szczepień jest zależny także od pobudzenia odpowiedzi komórkowej oraz powstania limfocytów B pamięci, które zapewniają szybką indukcję syntezy przeciwciał przy kolejnych kontaktach z drobnoustrojem.

Ze względu na zdolność aktywacji limfocytów T antygeny drobnoustrojów dzieli się na grasiczozależne i grasiczoniezależne (podrozdział 1.2.1). Antygeny grasiczozależne (T-zależne) obejmują większość białkowych antygenów bakteryjnych i wirusowych. Antygeny grasiczoniezależne (T-niezależne) to zazwyczaj duże cząsteczki z powtarzającymi się determinantami antygenowymi (np. polisacharydy otoczkowe *Haemophilus influenzae* typu b, *Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis*) oraz małe cząsteczki białkowe (do 10–20 aminokwasów). Ten mechanizm odpowiedzi immunologicznej fizjologicznie nie jest rozwinięty u dzieci poniżej 2 lat, co wymaga przy produkcji szczepionek połączenia ich z T-zależnym nośnikiem białkowym (tzw. szczepionki koniugowane).

Parametrami określającymi skuteczność immunologiczną szczepionki jest stężenie swoistych przeciwciał poszczepiennych klasy IgG w surowicy oraz ich cechy jakościowe, takie jak przynależność do podklasy (IgG1, 2, 3, 4), powinowactwo i awidność do antygenu, a w niektórych przypadkach zdolność wiązania dopełniacza lub opsonizacji bakterii. W pierwszym etapie odpowiedzi poszczepiennej powstają przeciwciała klasy IgM, charakteryzujące się małym powinowactwem do antygenu i dużą awidnością, szczególnie przy wiązaniu z antygenami o jednakowych, powtarzających się epitopach (np. polisacharydy, peptydoglikany). Po kilku dniach dochodzi do przełączenia wytwarzania na przeciwciała klasy IgG o dużym powinowactwie i awidności. **Na podstawie badań eksperymentalnych i klinicznych wyznacza się zabezpieczający poziom przeciwciał IgG, czyli najmniejsze ich stężenie chroniące osobę zaszczepioną przed zachorowaniem po kontakcie z drobnoustrojem w zwykłych warunkach**. Stężenie przeciwciał wytworzone po zakończeniu szczepień zmniejsza się z upływem czasu, jeśli nie następuje kolejny kontakt z antygenem w warunkach naturalnych lub po podaniu dawki przypominającej szczepionki. Terminy podawania dawek przypominających wyznacza się na podstawie badań długoterminowych, w których analizuje się czas utrzymywania zabezpieczającego stężenia przeciwciał oraz występowanie przypadków zachorowań wśród osób zaszczepionych w wyniku przełamania odporności poszczepiennej. Jego przyczyną może być zmniejszenie stężenia przeciwciał poniżej poziomu zabezpieczającego albo znaczna dawka zakażająca drobnoustroju.

19.5.3. Rodzaje szczepionek

Szczepionka jest lekiem pochodzenia biologicznego zawierającym substancje zdolne do indukcji procesów immunologicznych bez wywołania choroby. Ze względu na zdolność pobudzenia specyficznych mechanizmów odporności wyróżnia się szczepionki swoiste, które stymulują trwałą odporność przeciw konkretnej chorobie zakaźnej, oraz szczepionki nieswoiste, stosowane w celu modulowania odporności nieswoistej. Antygeny zawarte w szczepionkach swoistych stymulują mechanizmy istotne dla początkowych etapów odpowiedzi na zakażenie lub neutralizujące główne czynniki zjadliwości drobnoustroju. W szczepionkach nieswoistych znajdują się inaktywowane drobnoustroje, których antygeny pobudzają nieswoistą odporność komórkową i humoralną, szczególnie w zakresie aktywacji limfocytów cytotoksycznych i wytwarzania interferonu. Ze względu na drogę podania wyróżniamy szczepionki pozajelitowej (domięśniowa, podskórna, śródskórna), dojelitowe (doustna) oraz śluzówkowe (donosowa).

19.5.3.1. Szczepionki swoiste

Wytworzenie szczepionki swoistej polega na zmianie właściwości drobnoustroju lub jego produktów, tak by nie były one chorobotwórcze i zachowały zdolność wywołania swoistej reakcji immunologicznej. **Proces modyfikacji właściwości chorobotwórczych żywego drobnoustroju w celu wytworzenia szczepionki nazywany jest atenuacją, proces zabicia drobnoustroju w celu wytworzenia szczepionki – inaktywacją**. Inaktywacja może zachodzić pod wpływem temperatury, związków chemicznych (np. formalina, związki alkoholowe) oraz warunków fizycznych (np. ultrawirowanie, filtrowanie, wysokie ciśnienie).

Ogólną charakterystykę dostępnych aktualnie szczepionek swoistych podano w tabeli 19.5.

W zależności od rodzaju antygenów wyróżnia się cztery typy szczepionek:

1. Zawierające żywe mikroorganizmy:
   - pochodzenia naturalnego – zwierzęce o zmniejszonej zjadliwości, np. ospa prawdziwa, gruźlica (szczepionka BCG),
   - pochodzenia naturalnego – ludzkie atenuowane, np. *poliomyelitis* (doustna szczepionka Sabina), odra, różyczka, świnka, żółta gorączka, ospa wietrzna,
   - otrzymane sztucznie, np. zmutowane cząstki wirusowe (tak zwane reasortanty ludzkich i zwierzęcych rotawirusów, reasortanty powstają w wyniku wytwarzania wirionów przez komórki zakażone co najmniej dwoma serotypami wirusa).
2. Zawierające pełne komórki zabitych drobnoustrojów:
   - wirusowe, np. *poliomyelitis* (domięśniowa szczepionka Salka, wścieklizna, WZW A),
   - bakteryjne, np. krztusiec (pełnokomórkowa szczepionka).
3. Zawierające antygeny powierzchniowe drobnoustrojów:
   - polisacharydy otoczkowe, np. *Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis, Haemophilus influenzae* typu b,
   - antygen powierzchniowy, np. WZW B,
   - neuraminidaza i hemaglutynina, np. grypa,
   - cząstki wirusopodobne z rekombinowanymi antygenami, np. HPV.
4. Zawierające inaktywowane toksyny – toksoidy:
   - toksoidy bakteryjne, np. tężec, błonica, krztusiec – szczepionka bezkomórkowa.

Ze względu na liczbę antygenów wyróżnia się szczepionki monowalentne, które zawierają jeden gatunek lub serotyp drobnoustroju (np. odra), oraz szczepionki poliwalentne, które zawierają kilka serotypów tego samego drobnoustroju (np. grypa – trzy serotypy). Szczepionki przeciw różnym chorobom mogą być połączone w jednym preparacie – są to tzw. szczepionki skojarzone:

- dwuskładnikowe – np. przeciw WZW A i WZW B,
- trójskładnikowe – np. przeciw błonicy, tężcowi, krztuścowi,
- czteroskładnikowe – np. przeciw różyczce, odrze, śwince i ospie wietrznej,
- pięcioskładnikowe – np. przeciw błonicy, tężcowi, krztuścowi, *poliomyelitis*, *Haemophilus influenzae* typu b,
- sześcioskładnikowe – np. przeciw błonicy, tężcowi, krztuścowi, *poliomyelitis*, *Haemophilus influenzae* typu b, WZW B.

Szczepionki oparte na żywych drobnoustrojach są z zasady bardziej immunogenne od zawierających martwe drobnoustroje lub izolowane antygeny, co wynika z dłuższej ich obecności w organizmie oraz ekspozycji układu odporności na znacznie większą liczbę antygenów. Na przykład, liczbę antygenów w pełnokomórkowej szczepionce przeciw krztuścowi ocenia się na około 3000, w porównaniu z 3–5 antygenami w szczepionkach bezkomórkowych. Prezentacja antygenów żywych drobnoustrojów, które namnażają się wewnątrz komórek (wirusy i bakterie wewnątrzkomórkowe), odbywa się przez kompleksy z cząsteczkami MHC klasy I, szczepionki zawierające inaktywowane drobnoustroje lub izolowane antygeny są

Tabela 19.5. Aktualnie dostępne szczepionki – charakterystyka ogólna

Choroba	Typ antygenu użyty do produkcji szczepionki – rodzaj szczepionki	Droga podania	Indukowany mechanizm immunologiczny
Zakażenie adenowirusowe*	żywy – atenuowany wirus	doustna	surowicze IgG, śluzówkowe IgA, limfocyty T
Błonica	martwy – toksoid	podskórna, domięśniowa	surowicze IgG
Cholera	martwy – inaktywowane bakterie	podskórna lub domięśniowa	surowicze IgG
Dur brzuszny	martwy – inaktywowane bakterie lub polisacharyd otoczkowy	podskórna	surowicze IgG
Dur brzuszny	żywy – inaktywowane bakterie	doustna	surowicze IgG, śluzówkowe IgA
Dżuma*	martwy – inaktywowane bakterie	domięśniowa	surowicze IgG
Gruźlica	żywy – atenuowane prątki bydlęce	podskórna lub śródskórna	limfocyty T
Grypa	martwy – podjednostkowa lub rozszczepiony wirion szczepów ludzkich żywa – zmutowany szczep ludzki	domięśniowa, śródskórna donosowa	surowicze IgG, śluzówkowe IgA, limfocyty T
Zakażenie *H. influenzae* typu b (HiB)	martwy – polisacharyd koniugowany z toksoidem tężcowym lub błoniczym	domięśniowa	surowicze IgG
Zakażenie ludzkim wirusem brodawczaka (HPV)	martwy – rekombinowane w komórkach drożdży lub w bakulowirusach cząstki wirusopodobne zawierające białka kapsydowe L1	domięśniowa	surowicze IgG
Japońskie zapalenie mózgu	martwy – inaktywowany wirus ludzki	podskórna	surowicze IgG
Kleszczowe zapalenie mózgu	martwy – inaktywowany wirus ludzki	domięśniowa	surowicze IgG
Krztusiec	martwy – komórkowa – inaktywowane bakterie	domięśniowa	surowicze IgG, limfocyty T
Krztusiec	martwy – bezkomórkowa – 1–5 białek (m.in. toksyna, pertaktyna)	domięśniowa	surowicze IgG
Zakażenie *N. meningitidis*	martwy – izolowany antygen polisacharydowy lub koniugowany z toksoidem tężcowym bądź błoniczym	podskórna lub domięśniowa	surowicze IgG
Odra	żywy – atenuowany wirus ludzki	podskórna lub domięśniowa	surowicze IgG, limfocyty T
Ospa prawdziwa*	żywy – wirus ospy krowiej	śródskórna	surowicze IgG
Ospa wietrzna	żywy – atenuowany wirus ludzki	podskórna lub domięśniowa	surowicze IgG, limfocyty T
Zakażenie *S. pneumoniae*	martwy – izolowany antygen polisacharydowy lub koniugowany z białkiem maczugowca błonicy	podskórna lub domięśniowa	surowicze IgG
Poliomyelitis – szczepionka Sabina	żywy – atenuowany wirus ludzki	doustna	surowicze IgG, śluzówkowe IgA
Poliomyelitis – szczepionka Salka	martwy – inaktywowany wirus ludzki	podskórna lub domięśniowa	surowicze IgG
Rotawirus	żywy – atentowany wirus ludzki żywy – reasortant szczepów ludzkich i bydlęcych	doustna doustna	surowicze IgG, śluzówkowe IgA, limfocyty T
Różyczka	żywy – atenuowany wirus ludzki	podskórna lub domięśniowa	surowicze IgG, śluzówkowe IgA, limfocyty T (?)
Świnka	żywy – atenuowany wirus ludzki	podskórna lub domięśniowa	surowicze IgG, limfocyty T (?)
Tężec	martwy – toksoid	domięśniowa	surowicze IgG
Wąglik*	martwy – inaktywowane bakterie	podskórna	surowicze IgG
Wścieklizna	martwy – inaktywowany wirus ludzki	domięśniowa	surowicze IgG, limfocyty T
WZW typu A	martwy – inaktywowany wirus ludzki	domięśniowa	surowicze IgG
WZW typu B	martwy – rekombinowany antygen HBs uzyskiwany w hodowli komórek drożdży	podskórna lub domięśniowa	surowicze IgG
Żółta gorączka	żywy – atenuowany wirus ludzki	podskórna	surowicze IgG

* Szczepionki nie zarejestrowane lub nie stosowane w Polsce.

prezentowane przez kompleksy z cząsteczkami MHC klasy II, co warunkuje słabsze pobudzenie odpowiedzi poszczepiennej. Zwykle szczepionki te wymagają podania kilku dawek do osiągnięcia pełnej odpowiedzi immunologicznej oraz dawek przypominających co kilka lat. W celu zwiększenia skuteczności słabiej immunogenne antygeny polisacharydowe łączy się z białkami nośnikowymi (np. polisacharyd otoczkowy *Haemophilus infuenzae* typu b koniugowany z toksoidem tężcowym). Połączenie z białkiem nośnikowym wywołuje aktywację limfocytów Th i wytwarzanie przeciwciał klasy IgG. Najczęściej jako białka nośnikowe wykorzystuje się toksoid tężcowy lub błoniczy.

Aktualne kierunki rozwoju szczepionek zawierających żywe drobnoustroje zmierzają do konstruowania szczepów laboratoryjnych o pożądanych właściwościach na drodze inżynierii genetycznej. Przykładem jest laboratoryjny szczep *Corynebacterium diphtheriae* CRM197 wykorzystywany w niektórych szczepionkach jako nośnik, który został całkowicie pozbawiony zjadliwości w wyniku manipulacji genetycznej. Innym kierunkiem jest pozyskiwanie izolowanych antygenów na drodze biotechnologii. Przykładem jest szczepionka przeciw WZW B zawierająca antygen HBs uzyskiwany w wyniku rekombinacji DNA w komórkach drożdży (*Saccharomyces cerevisiae*). Metoda polega na wbudowaniu w genom drożdży genu kodującego białko o właściwościach antygenowych. Szczepionki zawierające rekombinowane antygeny charakteryzują się wysokim poziomem bezpieczeństwa, nie zawierają szkodliwych zanieczyszczeń biologicznych i efektywnie stymulują odpowiedź immunologiczną.

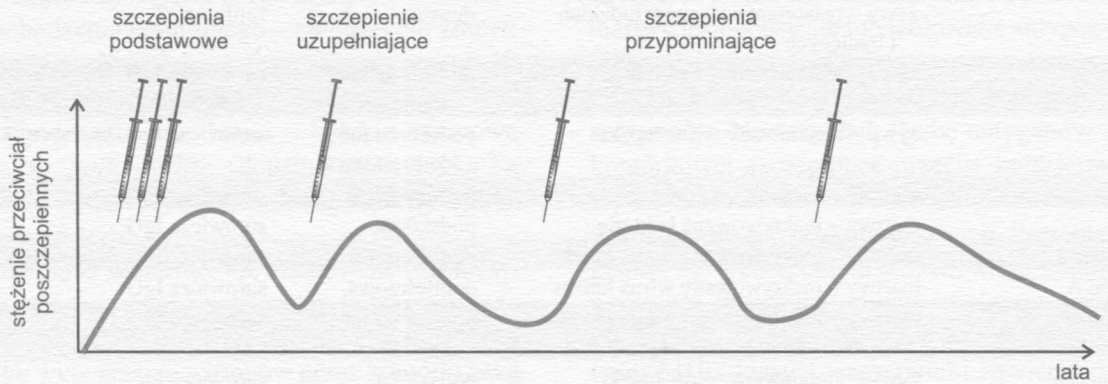
Pierwsze szczepionki zawierały żywe drobnoustroje wykazujące pełną zjadliwość, co wywoływało poważne odczyny poszczepienne, a nawet zgony. Obecnie takie szczepionki nie są stosowane w medycynie. Pierwsze szczepionki zawierające drobnoustroje o zmodyfikowanej zjadliwości uzyskiwane były dzięki wykorzystaniu szczepów odzwierzęcych. Dzięki eksperymentom Edwarda Jennera, który wykorzystał wirusa ospy krowiej w szczepionce przeciw ospie prawdziwej, wykazano, że podanie drobnoustroju o zredukowanej zjadliwości chroni przed zachorowaniem. Na tej samej koncepcji oparta jest szczepionka przeciw gruźlicy (BCG – Bacillus Calmette-Guérin), zawierająca prątek bydlęcy, atenuowany podczas pasażowania w specjalnych warunkach hodowli. Pierwsze obserwacje zjawiska utraty zjadliwości drobnoustroju w wyniku hodowli w zmienionych warunkach (temperatura, zawartość tlenu, składniki podłoża) poczynił Ludwik Pasteur. W wyniku zastosowania eksperymentalnych warunków hodowli uzyskał niezjadliwe szczepy wąglika i cholery ptasiej. Kolejne zmutowane na drodze pasażowania drobnoustroje szczepionkowe to wirusy żółtej gorączki, *poliomyelitis*, odry, świnki i różyczki. Nowa technologia dzięki sekwencjonowaniu genomów zmutowanych drobnoustrojów pozwala określić ich trwałość, na przykład dla szczepionkowego wirusa *poliomyelitis* typu 1 wykazano możliwość 57 mutacji, zaś dla typu 2 i 3 tylko 2, co tłumaczy obserwowane w naturze zjawisko częstszej rewersji wirusów typu 2 i 3 do form zjadliwych niż typu 1.

19.5.4. Skuteczność szczepień ochronnych

Skuteczność szczepionki zależy od rodzaju i dawki antygenu, drogi podania, zawartości adiuwantów oraz od indywidualnych cech układu odporności osoby szczepionej. Zawartość antygenów oraz schemat szczepień są ustalane na podstawie szerokich badań eksperymentalnych i klinicznych. Zazwyczaj stosowany jest schemat trzystopniowy obejmujący szczepienie pierwotne, szczepienie uzupełniające i szczepienia przypominające (ryc. 19.25).

Wyróżnia się dwa rodzaje skuteczności szczepionki:

- skuteczność laboratoryjna – immunogenność – odsetek populacji, który po podaniu szczepionki wykazuje określone wskaźniki efektywności, np. serokonwersja – pojawienie się przeciwciał poszczepiennych, seroprotekcja – uzyskanie zabezpieczającego stężenia przeciwciał;



Ryc. 19.25. Trójstopniowy schemat szczepień przeciwzakaźnych

- skuteczność kliniczna – efektywność kliniczna – odsetek populacji, który po podaniu szczepionki jest zabezpieczony przed wystąpieniem zachorowania lub jego ciężkiej postaci.

Przeciętnie około 5% zdrowej populacji, mimo prawidłowo przeprowadzonych szczepień, nie uzyskuje odporności poszczepiennej. Zjawisko to jest najczęściej uwarunkowane genetycznie i dotyczy zaburzeń prezentacji antygenu lub funkcji limfocytów B. Znacznie wyższy odsetek nieskuteczności szczepień obserwuje się u osób z udowodnionymi pierwotnymi lub wtórnymi zaburzeniami odporności wynikającymi z choroby podstawowej lub stosowanego leczenia (np. u pacjentów poddanych immunosupresji farmakologicznej, u osób dializowanych). Zwiększenie immunogenności antygenu można osiągnąć w szczepionce przez zastosowanie adiuwantu (np. fosforan glinu, wodorotlenek glinu). Adiuwant nie wykazuje cech swoistego antygenu, stymuluje nieswoistą reakcję zapalną, dzięki czemu spowalnia transport antygenu z miejsca podania i wzmacnia odpowiedź poszczepienną. Efektem niepożądanym adiuwantu są występujące u niektórych osób silne miejscowe odczyny zapalne w postaci rozległego rumienia lub długo utrzymujących się guzków.

Ważnym kierunkiem rozwoju wakcynologii jest poszukiwanie nowych adiuwantów wśród substancji pochodzenia naturalnego i syntetycznego. Wykazano zdolność stymulowania odpowiedzi immunologicznej przez niektóre składniki ściany komórkowej bakterii gramujemnych (np. lipopolisacharyd, lipid A) lub grzybów (β-glukan). W eksperymentalnych preparatach przeznaczonych dla osób o upośledzonej odporności jako adiuwanty wykorzystywane są izolowane cytokiny, np. interleukina 2. Aktualnie stosowane i badane adiuwanty przedstawiono w tabeli 19.6.

19.5.5. Bezpieczeństwo szczepień ochronnych

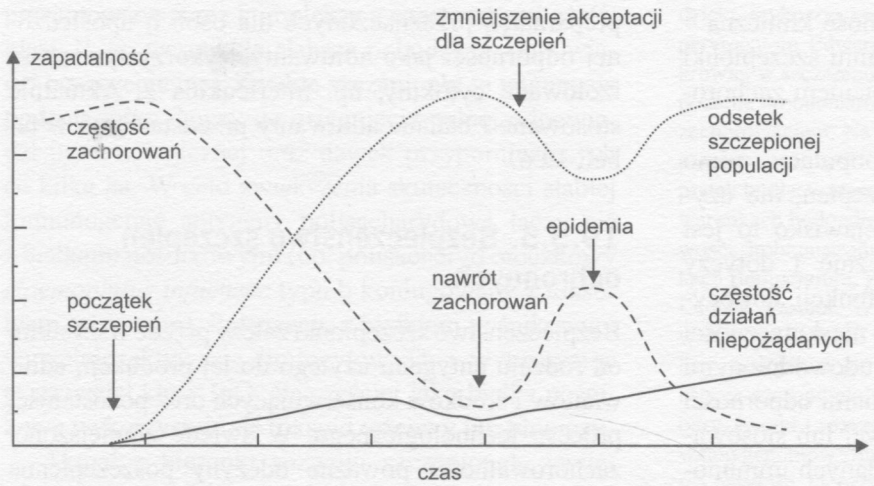
Bezpieczeństwo szczepionki zależy przede wszystkim od rodzaju antygenu użytego do jej produkcji, adiuwantów i środków konserwujących oraz pozostałości procesu technologicznego. W świetle zmniejszonej zachorowalności poważne odczyny poszczepienne są szeroko komentowane przez media i nagłaśniane przez przeciwników szczepień jako argument przemawiający za ich zaniechaniem (ryc. 19.26). Łagodne działania niepożądane w miejscu podania szczepionki są akceptowalne, jednak uogólnione reakcje lub odległe następstwa są powodem do kwestionowania zasadności szczepień. W każdym kraju prowadzącym program szczepień ochronnych istnieją systemy gromadzenia i przetwarzania informacji na temat niepożądanych odczynów poszczepiennych, a osoby odpowiedzialne za realizację szczepień są zobowiązane do ich monitorowania i zgłaszania do organów nadzoru. Hipotetyczne i potwierdzone działania niepożądane szczepień przedstawiono w tabeli 19.7.

Działania niepożądane mogą być również wywołane przez adiuwanty lub substancje konserwujące zawarte w szczepionkach. Zgodnie z aktualnymi wytycznymi Światowej Organizacji Zdrowia szcze-

Tabela 19.6. Obecnie stosowane i eksperymentalne adiuwanty

Typ adiuwantu	Bieżące stosowanie	Badania eksperymentalne	Mechanizm działania
		Związki nieorganiczne	
Sole nieorganiczne	wodorotlenek glinu, fosforan glinu, fosforan wapnia	wodorotlenek berylu	miejscowa reakcja zapalna, aktywacja dopełniacza, spowolnienie uwalniania antygenu
Systemy powolnego uwalniania antygenu	MF-59 liposomy	mikrokapsułki, liposomy, polimery, SAF, ISCOM	spowolnienie uwalniania antygenu, modulowanie prezentacji antygenu, przyspieszony transport do węzłów limfatycznych
		Związki pochodzenia naturalnego	
Emulsje tłuszczowe	ASO3	olej parafinowy, olej arachidonowy, skwalen	miejscowa reakcja zapalna, aktywacja dopełniacza, spowolnienie uwalniania antygenu
Składniki bakterii lub grzybów	toksoid krztuścowy, błoniczy, tężcowy, ASO4	peptydy prątków gruźlicy, LPS, lipid A, lipoproteina, β-glukan	aktywacja limfocytów T, makrofagów, dopełniacza, pobudzenie wydzielania cytokin, ułatwienie prezentacji antygenu
Cytokiny		IL-1, IL-2, IL-12, IFN-γ	wybiórcza aktywacja limfocytów T, makrofagów, limfocytów B

MF59, ASO3, ASO4 nazwy własne (zastrzeżone) nowych adiuwantów, ISCOM – immune stimulating complex, LPS – lipopolisacharyd, SAF – syntax antigen formulation.



Ryc. 19.26. Zjawiska epidemiologiczne towarzyszące programom powszechnych szczepień ochronnych

pionki powinny być wolne zarówno od związków glinu jako adiuwantów, jak i związków rtęci (tiomersal zawierający 49,6% rtęci) czy fenolu jako konserwantów. Przeprowadzone analizy wykazały, że w niektórych przypadkach sumaryczna dawka rtęci zawartych w szczepionkach stosowanych w pierwszym roku życia przekraczała dopuszczalne normy, a w badaniach eksperymentalnych tiomersal wykazywał silne działanie nefrotoksyczne i neurotoksyczne u zwierząt laboratoryjnych. Mimo że nie potwierdzono działań niepożądanych tiomersalu w populacji ludzkiej, związek ten nie jest stosowany w nowych szczepionkach, a ze starych powinien być wyeliminowany.

Tabela 19.7. Poważne domniemane i rzeczywiste działania niepożądane szczepień ochronnych

Szczepionka	Działanie niepożądane	Aktualny stan wiedzy
Czterowalentna szczepionka rotawirusowa w USA	wgłobienie jelit	potwierdzono związek czasowy, nie udowodniono związku przyczynowego – szczepionka wycofana ze stosowania (1998)
Szczepionka doustna polio	rewersja zjadliwości, poszczepienne *poliomyelitis*	potwierdzono dla typu 2 i 3 wirusa w szczepionkach pierwszej generacji – obecnie ta generacja nie jest stosowana
Skojarzona szczepionka przeciw odrze, różyczce i śwince	przewlekłe zapalenie jelita grubego, autyzm	wykluczono związek przyczynowy w badaniach epidemiologicznych
Rekombinowana szczepionka przeciw WZW B	zespoły demielinizacyjne i autoimmunizacyjne (stwardnienie rozsiane, reumatoidalne zapalenie stawów, toczeń rumieniowaty)	wykluczono związek przyczynowy w badaniach epidemiologicznych
Szczepionki produkowane na zarodkach kurzych (m.in. przeciw odrze, różyczce, śwince, żółtej febrze)	zanieczyszczenie retrowirusem ptasim	wykazano małą aktywność odwrotnej transkryptazy w szczepionkach produkowanych na zarodkach kurzych bez wpływu na bezpieczeństwo szczepionek
Szczepionka przeciw grypie zawierająca serotyp A/New Jersey	zespół Guillaina–Barrégo	relatywne ryzyko wynosiło 1 przypadek na 1 mln szczepionych; aktualnie nie stosuje się tego serotypu w szczepionkach
Pełnokomórkowa szczepionka przeciw krztuścowi, szczepionki przeciw grypie	astma, zaostrzenia przewlekłej choroby oskrzelowo-płucnej	niektóre szczepionki aktywują odpowiedź typu Th2, jednak w badaniach epidemiologicznych nie wykazano związku między szczepieniami a rozwojem alergii
Szczepienia niemowląt (BCG, HiB, ospa wietrzna, DTP)	cukrzyca typu 1	wykluczono związek przyczynowy w badaniach epidemiologicznych
Szczepionki przeciw rotawirusom (aktualnie stosowane)	zanieczyszczenie świńskim cirkowirusem PCV-1 lub PCV-2	wykazano obecność cząstek wirusów w obu szczepionkach bez wpływu na ich bezpieczeństwo

19.5.6. Efekty populacyjne szczepień ochronnych

Ograniczenia klinicznej skuteczności szczepień mogą wynikać z dużej liczby nosicieli w populacji (np. WZW B) lub stałego rezerwuaru drobnoustrojów w środowisku naturalnym (np. tężec, żółta febra). Opisano zmiany genetyczne dzikich szczepów bakteryjnych i wirusowych pod wpływem populacji uodpornionej szczepieniami, np. wirus WZW B, u którego doszło do selekcji mutantów w zakresie determinanty „a" antygenu HBs. Zamiana glicyny na argininę w pozycji 145 nie redukuje zjadliwości wirusa, ale powoduje osłabienie siły wiązania z przeciwciałami anty-HBs, co umożliwia inwazję i namnażanie, mimo obecności przeciwciał we krwi. Powolne zmiany genetyczne, tak zwany dryf antygenowy, na skutek powszechnej odporności poszczepiennej zostały opisane w przypadku pałeczki krztuśca – ponad 90% szczepów obecnie krążących w środowisku w porównaniu ze szczepami szczepionkowymi pochodzącymi z końca lat pięćdziesiątych XX wieku, wykazuje mutacje w zakresie genu kodującego podjednostkę S1 toksyny krztuścowej, a także w genie kodującym pertaktynę. Innym zjawiskiem obserwowanym w populacjach o wysokim odsetku osób zaszczepionych jest zamiana serotypów, polegająca na zastępowaniu serotypów zawartych w szczepionce przez nowe. W celu ograniczenia tego zjawiska konstruowane są szczepionki poliwalentne zawierające wiele serotypów drobnoustroju (np. 3 serotypy wirusa grypy, 10-, 13- lub 23 serotypy *Streptococcus pneumoniae*, 2–4 serotypy *Neisseria meningitidis*). Innym zjawiskiem pojawiającym się w populacjach powszechnie zaszczepionych jest przesuwanie się granicy wieku zachorowań na skutek wygasania odporności poszczepiennej, co wymaga monitorowania uodpornienia populacji i stosowania szczepień przypominających, np. tężec, błonica, krztusiec u dorosłych.

19.5.7. Przeciwwskazania do szczepień ochronnych

Zgodnie z przepisami i wiedzą medyczną przed każdym szczepieniem obowiązuje badanie lekarskie w celu oceny stanu zdrowia i wykluczenia przeciwwskazań do szczepień. W niektórych przypadkach istnieją okresowe lub stałe przeciwwskazania do szczepień. Zgodnie z zaleceniami WHO czasowym przeciwwskazaniem jest ostra choroba gorączkowa (temperatura > 38°C) oraz zaostrzenie przewlekłego schorzenia. Przeciwwskazaniami czasowymi do szczepień wynikającymi z zaburzeń odporności są:

- immunosupresja farmakologiczna (np. leki cytostatyczne),
- glikokortykosteroidy stosowane ogólnie w dużych dawkach,
- transplantacja narządów,
- podawanie immunoglobulin w dużej dawce,
- podawanie immunoglobulin w czasie szczepień (żywe szczepionki!),
- radioterapia.

19.5.8. Szczepienia ochronne w grupach ryzyka

Grupa ryzyka, w epidemiologii chorób infekcyjnych, oznacza populację osób o znamiennie większym narażeniu na zakażenie w porównaniu z ogólną populacją. Zwiększone ryzyko wystąpienia zakażenia może wynikać ze zjawisk związanych z organizmem chorego, ale również może zależeć od gatunku i właściwości drobnoustroju chorobotwórczego oraz warunków otaczającego środowiska. Najważniejsze czynniki ryzyka ze strony pacjenta to zwiększona ekspozycja na drobnoustroje chorobotwórcze (częstość kontaktów i ich intensywność) oraz występowanie zaburzeń odporności. W wielu przypadkach obserwuje się współistnienie kilku czynników ryzyka u jednego chorego, co powoduje znaczny wzrost częstości zakażeń. Do niedawna istnienie zaburzeń odporności lub współistnienie przewlekłych schorzeń narządowych (niewydolność serca, nerek, wątroby, przewlekła obturacyjna choroba płuc) eliminowało pacjentów z programów szczepień ochronnych. Obecnie w tych grupach chorych zaleca się stosowanie różnych szczepionek według indywidualnych programów szczepień.

Zasadniczym parametrem różnicującym grupy ryzyka pod względem nieskuteczności szczepień jest stan odporności:

1. Osoby z prawidłową odpornością, u których ryzyko przełamania odporności poszczepiennej wynika ze zwiększonej ekspozycji na zakażenie. W takich sytuacjach duża dawka zakażająca drobnoustroju może wywołać zachorowanie, mimo wytworzonej odpowiedzi poszczepiennej (np. personel medyczny i weterynaryjny, ratownicy, wojsko, więźniowie, turyści podróżujący w obszarach endemicznych itp.). W tej grupie nie ma żadnych ograniczeń w stosowaniu uodpornienia czynnego, zaleca się stosowanie specyficznych szczepionek chroniących przed konkretnym narażeniem zawodowym (np. WZW B, tężec) lub podróżami do regionów endemicznego występowania określonych zakażeń (np. WZW A, cholera, dur brzuszny, żółta gorączka).

2. Osoby z upośledzoną odpornością, na skutek wrodzonych lub nabytych schorzeń o charakterze przejściowym lub utrwalonym (np. wcześniactwo, procesy starzenia się organizmu, przewlekła niewydolność narządowa, dializoterapia, mukowiscydoza, amyloidoza, brak śledziony, choroba nowotworowa, cukrzyca, zakażenie HIV i AIDS, stan po transplantacji narządów, leczenie immunosupresyjne). W tej grupie istnieją okresowe lub stałe przeciwwskazania do stosowania szczepionek, w szczególności zawierających żywe drobnoustroje. Efektywne programy immunoprofilaktyki w tej grupie pacjentów obejmują uodpornienie bierne w połączeniu z cyklicznym monitorowaniem stężenia przeciwciał ochronnych w surowicy.

Oddzielne zagadnienie stanowi immunoprofilaktyka zakażeń w wieku podeszłym (powyżej 65–75 roku życia). Starzenie się organizmu jest procesem fizjologicznym, którego wpływ na funkcjonowanie układu odpornościowego zaznacza się między innymi inwolucją grasicy, spadkiem liczby i osłabieniem funkcji limfocytów T cytotoksycznych z nasileniem aktywności limfocytów NK oraz osłabieniem odpowiedzi humoralnej ze zmniejszeniem powinowactwa przeciwciał. Z tego powodu zachorowalność na różne zakażenia w tym wieku wzrasta, co stanowi wskazanie do stosowania szczepień, ze szczególnym uwzględnieniem grypy, zakażeń pneumokokowych i WZW B.

19.5.9. Nowe kierunki rozwoju wakcynologii

Ważnym kierunkiem wakcynologii jest rozwój szczepionek skojarzonych i poliwalentnych. Obecnie są dostępne szczepionki zawierające kilka podtypów jednego gatunku drobnoustroju (np. szczepionka przeciw 2–4 serotypom wirusa HPV czy 3 serotypom wirusów *poliomyelitis*, szczepionka przeciw 10–13–23 serotypom pneumokoków) oraz szczepionki wysoce skojarzone, które zapewniają uodpornienie przeciw kilku różnym chorobom zakaźnym (np. błonicy, tężcowi, krztuścowi, *poliomyelitis*, zakażeniom *Haemophilus influenzae* typu b lub WZW B, a także przeciw różyczce, odrze, śwince i ospie wietrznej).

W najbliższych latach należy się spodziewać wprowadzenia nowych adiuwantów, szczególnie w szczepionkach przeznaczonych dla osób z zaburzeniami odporności (np. dostępna jest już szczepionka przeciw WZW B z nowym adiuwantem pochodzenia naturalnego zawierającym lipid A (HB-AS04) dla osób dializowanych).

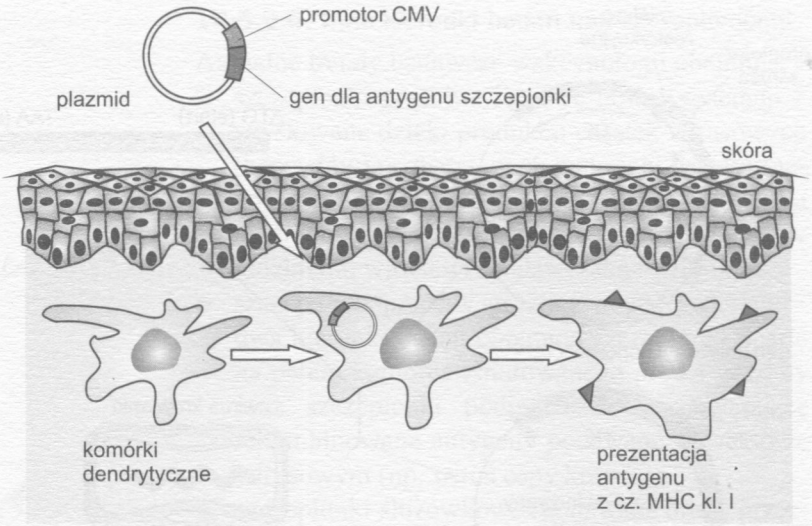
Na liście chorób zakaźnych i zakażeń mających największe znaczenie dla zdrowia publicznego, które mają największe szanse na skuteczne uodpornienie poprzez szczepienia ochronne, są zakażenia CMV (szczepionka dla dzieci), paciorkowcami grupy B (szczepionka dla dorosłych), *Chlamydia* spp. (szczepionka dla dzieci), *Helicobacter pylori* (szczepionka dla dzieci), WZW C (szczepionka dla dzieci), wirusem opryszczki (szczepionka dla dzieci), *Neisseria gonorrhoeae* (szczepionka dla dzieci), wirusem syncytialnym (RSV) (szczepionka dla dzieci).

19.5.9.1. Szczepionki skojarzone

Szybko zwiększa się liczba dostępnych szczepionek skojarzonych, jednak nowe połączenia antygenów wymagają szczegółowego dostosowania poszczególnych składników i adiuwantów. Jednoczesne podawanie kilku antygenów jest korzystne ze względu na zmniejszenie liczby wkłuć, redukcję zawartości substancji dodatkowych, a także poprawę terminowości realizacji szczepień. Obecnie dostępne szczepionki skojarzone oparte są głównie na szczepionce przeciw błonicy, tężcowi i krztuścowi (DTP lub DTaP), do której dołączane są antygeny *Haemophilus influenzae* typu B (HiB), wirusa *poliomyelitis* i wirusa WZW B. W badaniach klinicznych wykazano dużą skuteczność i niski poziom reakcji niepożądanych nowych pięcio- i sześcioskładnikowych szczepionek. Od wielu lat z powodzeniem stosowana jest także skojarzona szczepionka przeciw odrze, różyczce i śwince, do której ostatnio dołączono atenuowany wirus ospy wietrznej, uzyskując skuteczną i bezpieczną szczepionkę czterowalentną.

19.5.9.2. Szczepionki DNA

W badaniach eksperymentalnych wykazano, że oczyszczony DNA z układem promotora podawany domięśniowo wywołuje silną odpowiedź tak komórkową, jak i humoralną, bez wytworzenia tolerancji. Gen lub geny kodujące określone białko drobnoustroju umieszcza się w plazmidzie (autonomicznie replikująca się kolista cząsteczka DNA), który po podaniu penetruje do jądra komórkowego, gdzie dochodzi do jego transkrypcji. Białka wytwarzane w komórce są następnie wychwytywane przez komórki prezentujące antygen (ryc. 19.27). Podawanie nagiego DNA powoduje, że antygeny drobnoustroju są prezentowane zarówno w kompleksach z cząsteczkami MHC klasy I, jak i klasy II, co stymuluje limfocyty T pomocnicze i cytotoksyczne. Aby uzyskać w komórce ludzkiej ekspresję genu zawartego w plazmidzie, konieczne jest połączenie go z ukła-



Ryc. 19.27. Szczepienie DNA. Gen znajduje się w plazmidzie, który zawiera również promotor wirusa cytomegalii. Po podaniu (przez iniekcję domięśniową lub „wstrzelenie" do naskórka) plazmid przedostaje się do jądra komórki, gdzie ulega ekspresji. Antygeny szczepionki pojawiają się w błonie komórki, w połączeniu z cząsteczkami MHC klasy I, stymulując limfocyty cytotoksyczne. Te same antygeny uwolnione z transfekowanej komórki mogą być wychwytywane przez komórki prezentujące antygen, a następnie, po związaniu przez cząsteczki MHC klasy II, rozpoznawane przez limfocyty T pomocnicze

dem promotora eukariotycznego. Zaobserwowano, że antygen wprowadzony w ten sposób wykazuje znacznie większą immunogenność niż podany pozakomórkowo. Jednak mimo teoretycznych przesłanek, nie ma obecnie perspektyw na szybkie wprowadzenie takich szczepionek do praktyki klinicznej.

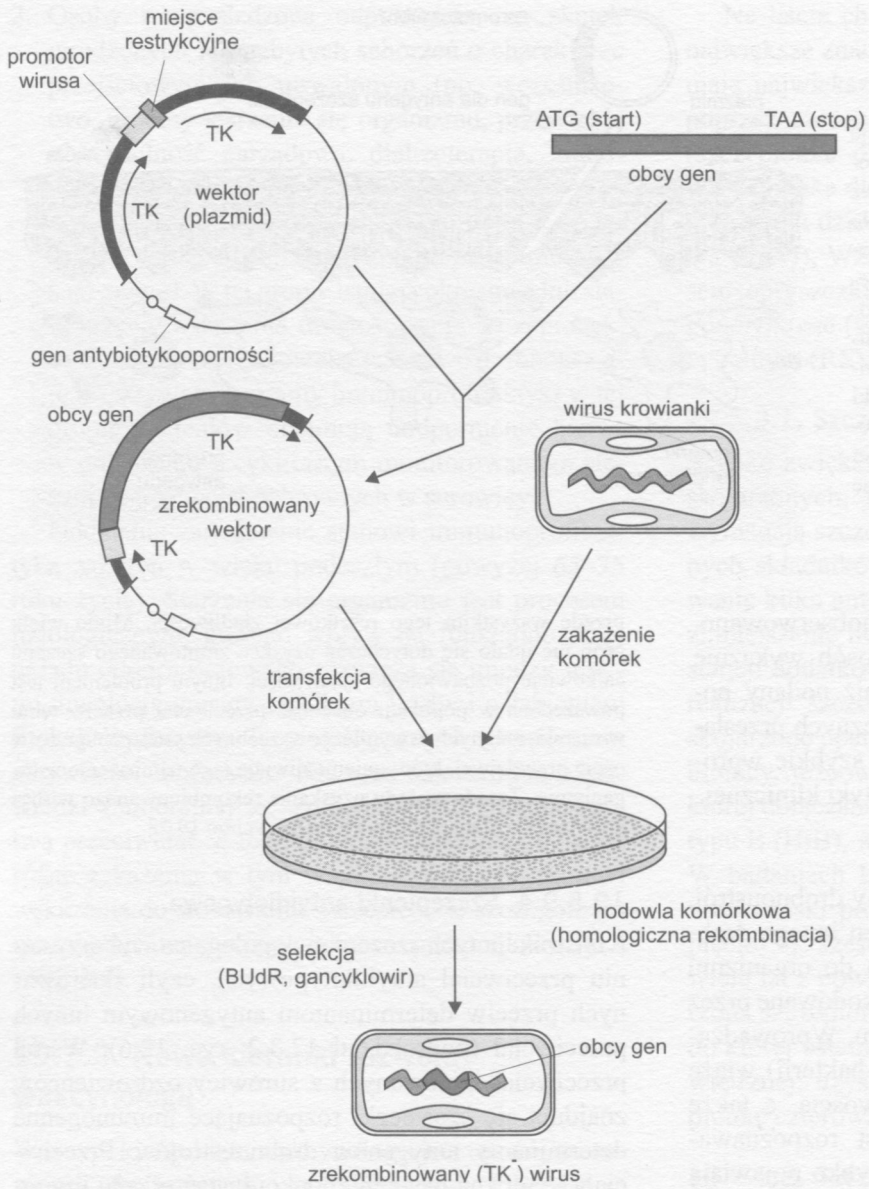
19.5.9.3. Szczepionki wektorowe

Wektor szczepionkowy to atenuowany drobnoustrój, do którego genomu wprowadzono gen innego drobnoustroju. Wektor po wprowadzeniu do organizmu ludzkiego ulega namnożeniu i białko kodowane przez ten gen prezentowane jest limfocytom. Wprowadzanie żywych wektorów (wirusów lub bakterii) wiąże się jednak z ich potencjalną zjadliwością, a także immunogennością. Jeśli wektor jest rozpoznawany przez układ odpornościowy, to szybko pojawiają się przeciwciała uniemożliwiające jego namnożenie w organizmie. Wiele drobnoustrojów może być wykorzystanych jako wektory szczepionkowe. Są to między innymi wirusy z rodzin *Herpes, Picorna, Flavi*, a także bakterie, takie jak prątek gruźlicy (BCG), szczepy *Listeria monocytogenes* oraz *Salmonella typhi*. Wśród wektorów wirusowych największe zainteresowanie naukowców koncentruje się na wirusach z rodziny *Poxviridae* (wirus ospy krowiej – *Vaccinia virus*) oraz *Canarypoxviridae*.

Wirus ospy krowiej ma korzystne cechy wektora szczepionkowego – duży genom i łatwość atenuacji. Do jego genomu można wprowadzić kilka genów kodujących białka różnych drobnoustrojów, co daje możliwość uzyskania szczepionki skojarzonej wprowadzanej za pomocą jednego wektora. Ponadto wirus ten replikuje się w cytoplazmie bez ryzyka włączenia wirusowego DNA do genomu gospodarza. Problem ograniczający praktyczne zastosowanie tego wirusa jako wektora dotyczy przede wszystkim jego resztkowej zjadliwości. Mimo wielu prób nie udało się dotychczas uzyskać zmutowanego szczepu całkowicie pozbawionego zjadliwości. Innym problemem jest powszechna w populacji obecność przeciwciał przeciw temu wirusowi, nabytych w wyniku powszechnych szczepień przeciw ospie prawdziwej, które uniemożliwiają jego namnażanie w organizmie. Zasada metody uzyskania rekombinowanego wirusa krowianki została przedstawiona na rycinie 19.28.

19.5.9.4. Szczepionki antyidiotypowe

Konstrukcja tych szczepionek polega na wykorzystaniu przeciwciał antyidiotypowych, czyli skierowanych przeciw determinantom antygenowym innych przeciwciał (podrozdział 12.3.2, ryc. 12.6). Wśród przeciwciał izolowanych z surowicy ozdrowieńców znajdują się cząsteczki rozpoznające immunogenne determinanty antygenów drobnoustrojów. Przeciwciała te można następnie wykorzystać w celu immunizacji zwierząt. Wśród wielu powstających przeciwciał będą również przeciwciała antyidiotypowe, których paratop będzie przypominać determinantę antygenową drobnoustroju. Takie swoiste przeciwciało antyidiotypowe zastępuje naturalny antygen i może stymulować powstanie odpowiedzi immunologicznej. Strategia ta jest wykorzystywana do produkcji szczepionek przeciw antygenom, które nie są dostępne na powierzchni komórki, np. endotoksyny uwalniane z komórek już po zakażeniu, lub nie są immunogenne, np. bakteryjne polisacharydy otoczkowe. Potencjalne zalety takich szczepionek to łatwość produkcji, czystość uzyskiwanych produktów i ich nietoksyczność. Ograniczeniem tej metody jest słaba immunogenność idiotopów oraz trudność w zdefiniowaniu właściwego przeciwciała antyidiotypowego na skutek ich heterogenności (ryc. 19.29).



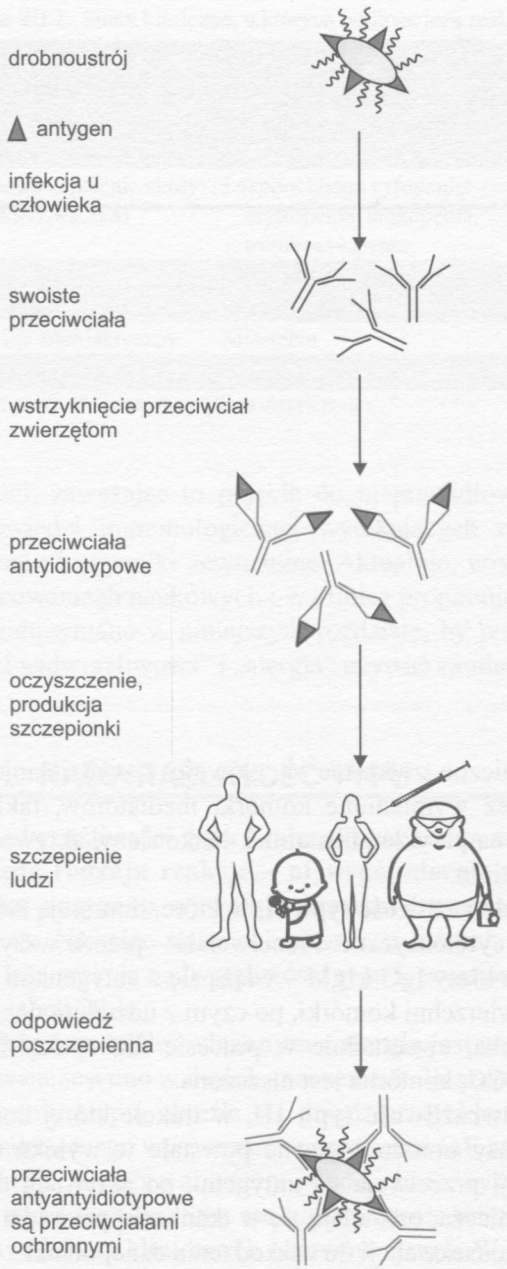
Ryc. 19.28. Schemat uzyskania rekombinowanego wirusa krowianki zawierającego obcy gen. Gen kodujący białko warunkujące odporność zostaje najpierw umieszczony w plazmidzie, który służy jako wektor wprowadzający obcy gen do cząsteczki wirusa. W powstałym wektorze gen znajduje się obok promotora replikacji wirusa i wewnątrz sekwencji kodującej kinazę tymidyny (TK) wirusa krowianki. Plazmid zostaje wprowadzony do komórek, które równocześnie zakażono wirusem krowianki. W trakcie replikacji wirusa w zarażonych komórkach dochodzi do wymiany homologicznych sekwencji (w tym przypadku kodujących kinazę tymidyny) między wirusem a plazmidem. Wystąpienie tej rekombinacji homologicznej powoduje ekspresję obcego genu w cząsteczce wirusa krowianki. Wstawienie sekwencji kodujących obce geny wewnątrz genu dla kinazy tymidyny uniemożliwia syntezę aktywnej cząsteczki enzymu. W przeciwieństwie do szczepu, który nie uległ rekombinacji, wirusy TK⁻ replikują się w obecności gancyklowiru czy BRdU, co pozwala na izolację poprzez hodowlę w podłożu z dodatkiem tych związków (dzięki uprzejmości Z. Gacionga)

19.5.9.5. Szczepionki nieswoiste

Mieszaniny zabitych drobnoustrojów nazywane są szczepionkami nieswoistymi. Mają zastosowanie jako niespecyficzne stymulatory odporności w nawracających lub przewlekłych zakażeniach o różnej etiologii. Zawierają nieoczyszczone mieszaniny bakteryjnych białek, peptydów, lipopolisacharydów, kwasów nukleinowych i innych składników. Mieszaniny te są podawane doustnie, donosowo, podskórnie lub domięśniowo. Obecność w tych preparatach niezdefiniowanych antygenów i możliwość ich renaturacji po wniknięciu do organizmu mogą stwarzać ryzyko działań niepożądanych.

Inna grupa preparatów nieswoistych to tzw. autoszczepionki. Są to zawiesiny inaktywowanych drobnoustrojów przygotowane indywidualnie na podstawie flory bakteryjnej wyizolowanej od pacjenta. Preparaty te nie są oficjalnie dopuszczone do stosowania, nie zostały poddane randomizowanym badaniom według wymogów medycyny opartej na podstawach naukowych. Wytwarzanie oraz stosowanie tych preparatów stanowi eksperyment terapeutyczny i do czasu uzyskania wiarygodnych dowodów na bezpieczeństwo i skuteczność powinno być zaniechane.

Przy stosowaniu szczepionek nieswoistych może powstać zjawisko tzw. mimikry molekularnej. Polega ono na homologii strukturalnej, antygenowej i biologicznej antygenów bakteryjnych i ludzkich, co może prowadzić do autoimmunizacji. Do najlepiej udokumentowanych schorzeń wynikających ze zjawiska mimikry należą gorączka reumatyczna



Ryc. 19.29. Zasada opracowania szczepionek antyidiotypowych

i ostre kłębuszkowe zapalenie nerek (paciorkowcowe białko M), zapalenie tarczycy (lipoproteina *Yersinia enterocolitica*), zesztywniające zapalenie stawów (nitrogenaza *Klebsiella pneumoniae*), zespół Reitera (antygeny *Klebsiella pneumoniae*), zapalenie błony naczyniowej oka (białko E-116 *Escherichia coli*).

19.5.9.6. Inne kierunki badań nad szczepionkami

Aktualne trendy badawcze wakcynologii obejmują:

- szczepionki przeciwwirusowe nowej generacji – uzyskiwane dzięki produkcji cząstek wirusowych (kapsydów) pozbawionych materiału genetycznego, co zapewnia dużą immunogenność przy braku możliwości namnażania (np. szczepionka przeciw ludzkiemu wirusowi brodawczaka – HPV),
- szczepionki przeciw gruźlicy nowej generacji – dwa kierunki badań obejmują szczepionki oparte na pełnej komórce zmutowanego prątka gruźlicy oraz szczepionki podjednostkowe zawierające rekombinowane antygeny podawane w wektorze wirusowym (np. wirus ospy krowiej),
- szczepionki śluzówkowe (podawane drogą przezśluzówkową) – np. szczepionka donosowa przeciw grypie zarejestrowana w USA. Zawiera żywy atenuowany wariant wirusa grypy, który jest zaadaptowany do niskich temperatur. Drugim kierunkiem prac nad szczepionką śluzówkową przeciw grypie jest szczepionka oparta na białku M2 w kompleksie z antygenem HBs oraz fragmentem toksyny cholery połączonej ze strukturami ściany komórkowej gronkowca złocistego,
- szczepionki dla noworodków – podawane mimo supresyjnego wpływu matczynych przeciwciał na odpowiedź poszczepienną,
- szczepionki dla kobiet w ciąży – w celu zapewnienia odporności u noworodka w wyniku przekazania przeciwciał ochronnych IgG drogą przełożyskową,
- szczepionki terapeutyczne – szczepionki przeciw chorobom niezakaźnym (alergie, uzależnienia, choroby autoimmunologiczne, nowotwory).

Literatura polecana

1. Allen J.E., Maizels R.M. Diversity and dialogue in immunity to helminths. *Nat. Rev. Immunol.* 2011; 11: 375–388.
2. Miller L.S., Cho J.S. Immunity against Staphylococcus aureus cutaneous infections. *Nat. Rev. Immunol.* 2011; 11: 505–518.
3. Pulendran B., Ahmed R. Immunological mechanisms of vaccination. *Nat. Immunol.* 2011; 12: 509–517.
4. Revilleza M.J., Wang R., Mans J., Hong M., Natarajan K., Margulies D.H. How the virus outsmarts the host: function and structure of cytomegalovirus MHC-I-like molecules in the evasion of natural killer cell surveillance. *J. Biomed Biotechnol.* 2011; 2011: 724607.