

# Krótką historia szczepionek mRNA

## *A Brief History Of mRNA Vaccines*

Prof. dr hab. Krzysztof L. Krzystyniak

*Profesor em., Université du Québec à Montréal (UQAM), Québec, Canada, Wyższa Szkoła Inżynierii i Zdrowia w Warszawie*

**Słowa kluczowe:** szczepionki mRNA, SARS-2/CoV, COVID-19

**Streszczenie:** Nowatorskie szczepionki na bazie mRNA mają szereg zalet w porównaniu z szczepionkami opartymi na plazmidowym DNA i wektorach wirusowych. Co ważne, szczepionki mRNA nie generują zakaźnych cząstek ani nie integrują się z genomem komórek gospodarza. Mogą indukować ekspresję antygeny in situ bez konieczności przekraczania bariery błony jądrowej w celu syntezy białka antygenowego. Ponadto szczepionki mRNA można wytwarzać szybko, w zasadzie w ciągu kilku dni od uzyskania informacji o sekwencji genów, przy użyciu całkowicie syntetycznych procesów produkcyjnych. Po szczepieniu szczepionka oparta na mRNA naśladuje infekcję wirusową, aby eksponować antygeny szczepionkowe in situ, powodując indukcję zarówno humoralnej, jak i cytotoksycznej odpowiedzi komórek T. Ta zaleta ma kluczowe znaczenie dla eliminacji infekcji SARS-2, w której do osiągnięcia skuteczności ochronnej wymagane są silne humoralne i komórkowe odpowiedzi immunologiczne. Silne, długotrwałe i bezpieczne odpowiedzi immunologiczne obserwowane w modelach zwierzęcych, a także zachęcające dane z wczesnych badań klinicznych sprawiają, że oparte na mRNA szczepienia przeciwko pandemii SARS-2-CoV są atrakcyjną alternatywą dla konwencjonalnych rozwiązań tworzenia szczepionek.

**Key words:** mRNA vaccines, SARS-2/CoV, COVID-19

**Summary:** Novel mRNA-based vaccines have several advantages over plasmid DNA and viral vector-based vaccines. Importantly, mRNA vaccines do not generate infectious particles or integrate in the genome of the host cells. They can induce antigen expression in situ without the need to cross the nuclear membrane barrier for synthesis of antigen protein. In addition, mRNA vaccines can be produced rapidly, possibly within days of obtaining gene sequence information, using completely synthetic manufacturing processes. Upon vaccination, mRNA-based vaccine mimic a viral infection to expose vaccine antigens in situ, resulting in induction of both humoral and cytotoxic T cell responses. This advantage is critical for the elimination of SARS-2 infection in which potent humoral and cellular immune responses are required to achieve protective efficacy. Potent, long-lasting, and safe immune responses observed in animal models, as well as encouraging data from early clinical trials, make mRNA-based vaccination against pandemic SARS-2-CoV an attractive alternative to conventional vaccine approaches

### Skróty użyte w tekście

Ad (adenovirus) – adenowirus

ACE2 (angiotensin-converting enzyme 2) – konwertaza angiotensyny 2

ADE (antibody-dependent enhancement) – wzmocnienie zależne od przeciwciał

ARDS (acute respiratory distress syndrome) – zespół ostrej niewydolności oddechowej

COVID-19 – koronawirus SARS-2/CoV

DC (dendritic cells) – komórki dendrytyczne

FP (fusion peptide) – peptyd fuzji

HP (heptad repeat) – domena powtórzona

LIPS (luciferase immunoprecipitation, fluid-phase system) – system immunoprecypitacji lucyferazy

MERS-CoV (Middle East respiratory syndrome coronavirus) – Środkowo-Wschodni koronawirus zespołu oddechowego

RNA (messenger RNA) – informacyjny kwas rybonukleinowy

MV (measles virus) – wirus odry

MVA (modified vaccinia virus Ankara) zmodyfikowany wirus krowianki Ankara

NK (natural killers) – komórki NK

NSP (non-structural proteins) – białka niestrukturalne

NTD (N-terminal domain) – domena N-końcowa

ORF (open reading frame) – otwarta ramka odczytu

pDNA (plasmid DNA) – DNA plazmidu

PPR (patterns recognition receptors) – receptory rozpoznawania wzorców

RBD (receptor binding domain) – domena wiązania receptora

RT-PCR (real-time polymerase chain reaction) – reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym

tPA (tissue plasminogen activator) – tkankowy aktywator plazminogenu

VSV (vesicular stomatitis virus) – wirus pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej

WHO (World Health Organization) – Światowa Organizacja Zdrowia

## Wprowadzenie

Podanie każdego farmaceutyku jest ingerencją w metabolizm człowieka. Podstawowym przeciwskazaniem dla jakiegokolwiek farmakoterapii jest brak wskazań, np. istnieje oczywisty brak wskazań podawania leków zdrowemu człowiekowi. Do wyjątków należy profilaktyka chorób infekcyjnych, gdzie istnieje (lub nie) możliwość wzbudzenia odporności przeciwko poszczególnym patogenom za pomocą szczepień, zanim dojdzie do rozwoju choroby. Odpowiedź przeciwwirusowa obejmuje reakcje zarówno odporności wrodzonej, jak i adaptacyjnej.

Szczepienie ma na celu przygotowanie układu odpornościowego do odpowiedzi na atakujące patogeny. Aktualnie istnieją szczepionki dla około 30 chorób wywołanych patogenami. Epidemie wywołane infekcjami wirusowymi mogą pojawiać się nieoczekiwanie i przeradzać się w światową pandemię. We wszystkich przypadkach pandemiczne infekcje wirusowe charakteryzują się nieprzewidywalnością, wysoką zachorowalnością, szybkim rozprzestrzenianiem się i znaczącym wpływem na społeczności.

Pożądanym byłoby rozwinięcie procedur „szczepionki na żądanie”, które umożliwią szybki rozwój, produkcję na dużą skalę i dystrybucję szczepionki. Jednak takie podejście może nie być zgodne z konwencjonalnym wytwarzaniem szczepionek, które często wymagają złożonych i długotrwałych badań, kontroli bezpieczeństwa i ich skuteczności u ludzi. Wysoka infekcyjność pandemicznego wirusa SARS-2-CoV/COVID-19 i jego nowych mutantów (współczynnik reprodukcji  $R = 2,5-3,0$ ) przyczyniła się do niekontrolowanego rozprzestrzenienia się wirusa. Szybko wzrastająca liczba zgonów z powodu choroby wirusowej COVID-19 na świecie (2 mln do stycznia 2021) nie pozwoliła na klasyczne opracowanie szczepionek w odpowiednio długim (zazwyczaj kilkuletnim lub dłuższym) okresie czasu. Pandemia w praktyce uniemożliwiła producentom szczepionek przeprowadzenie standardowych (odpowiednio długotrwałych) badań bezpieczeństwa i skuteczności szczepionek anty-COVID-19. W niezmiernie krótkim czasie kilku miesięcy powstało wiele rodzajów szczepionek przeciw pandemicznemu koronawirusowi.

Obok szczepionek od lat produkowanych klasycznie dla różnych patogenów (np. atenuowany wirus, zabity wirus, białko wirusowe/antygen) powstały nieznanne wcześniej szczepionki nowej generacji.

Taką szczepionką, po raz pierwszy zastosowaną dla ludzi, jest szczepionka mRNA. W tych działaniach –

w warunkach pandemii - kryją się wątpliwości i pytania dotyczące skuteczności różnych szczepionek, różnic w sposobie działania, ale też pytania o ewentualne zagrożenia zdrowotne, wynikające z samego faktu zaszczepienia. Zgodnie z definicją, ewentualne poważne skutki uboczne szczepionki należy rozumieć jako „poważne zdarzenia niepożądane to każde nieprzewidziane zdarzenie medyczne, które powoduje śmierć, zagraża życiu, wymaga hospitalizacji lub przedłużenia istniejącej hospitalizacji lub trwałą niepełnosprawność / niezdolność do pracy”.

Celem artykułu jest przedstawienie hipotetycznych i praktycznych aspektów bezpieczeństwa szczepionek mRNA, w kontekście napływających danych uzyskiwanych z monitorowania stanu zdrowotnego osób już zaszczepionych.

## Pandemia SARS-2/ COVID-19

Koronawirusy, do których należy nowy wirus COVID-19, to grupa wirusów RNA niesegmentowanych, z bardzo dużym genomem od około 27 do 34 kb. Wcześniej (przed rokiem 2003) znano cztery niskopatogenne koronawirusy. Znane ludzkie szczepy HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 i HCoV-HKU1 zwykle powodują łagodne infekcje dróg oddechowych, potocznie zwane przeziębieniem. W przeciwieństwie do tych łagodnych koronawirusów, w ciągu ostatnich 17 lat pojawiły się trzy nowe beta-koronawirusy.

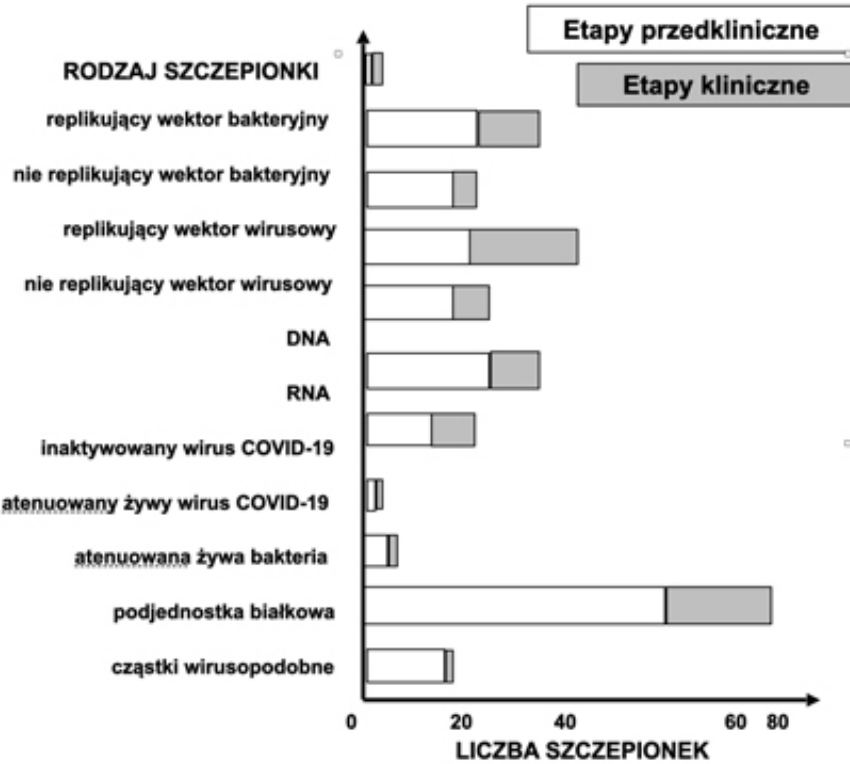
Wirusy te charakteryzują się wysoką zachorowalnością i śmiertelnością, przeciw którym do roku 2020 nie było skutecznych szczepionek:

- 2003 r.: SARS-CoV-1 (5-10% śmiertelności);
- 2012 r.: MERS-CoV (30-40% śmiertelności);
- 2019 r.: SARS-CoV-2, zwany również wirusem COVID-19 (2-6% śmiertelności wśród osób z infekcjami objawowymi); najwyższy współczynnik R (reprodukcji wirusa): 2,5-3,0. SARS-2 różni się od SARS-1 zamianą 380 aminokwasów, w tym 5 aminokwasów w białku kolca/RBD-spike S. Kompletna informacja genetyczna wirusa RNA COVID-19 jest dostępna w bazie danych GISAID (*Global Initiative on Sharing All Influenza Data*), pod numerem MN908947.

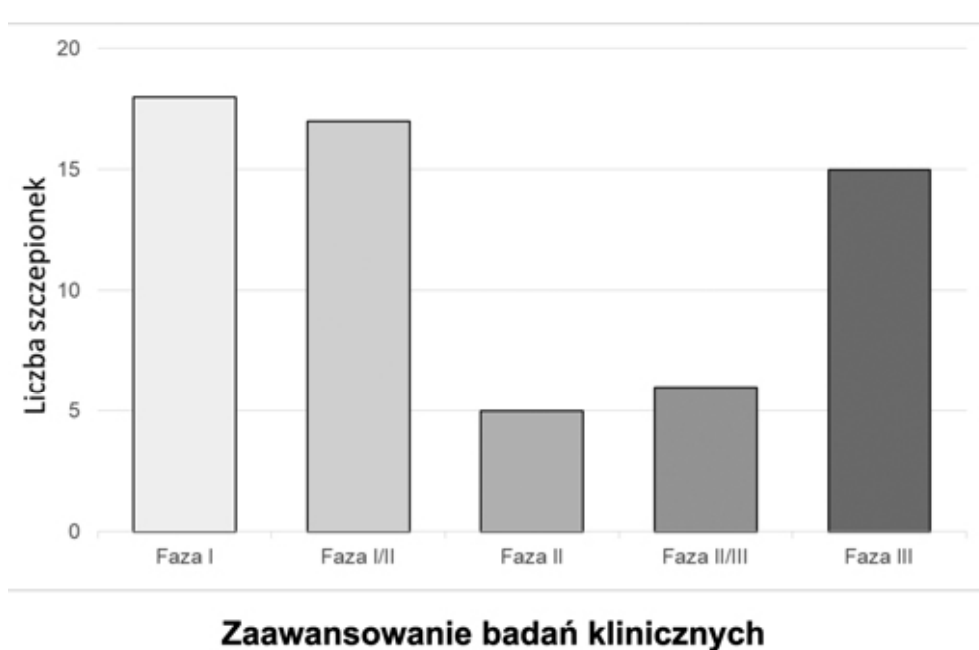
Pandemia SARS-2/ COVID-19 z przełomu 2019/2020 r. nie tylko zaburzyła funkcjonowanie społeczeństw, stała się przyczyną chorób, zgonów, stresów, wątpliwości i obaw o własne zdrowie i życie, sprowokowała również do dyskusji, stawania szeregu pytań. Jednym z kluczowych pytań było i jest zagadnienie uzyskania odporności zbiorowej (*herd immunity*) przeciw wirusowi COVID-19 za pomocą powszechnych szczepień całej

populacji. Odporność zbiorową można uzyskać albo po przechorowaniu około 60-70% populacji, albo za pomocą masowych szczepień.

Niezależnie od sytuacji pandemicznej, aktualne szczepionki skutecznie chronią przed kilkoma śmiertelnymi chorobami. Globalnie, zdaniem specjalistów, szczepienia zapobiegają obecnie około 2,5 mln zgonom rocznie [1].



Rycina 1. Różnorodność i liczba szczepionek anti-COVID-19, na różnych stopniach zaawansowania (styczeń 2021) wg [1].



Rycina 2. Zaawansowane szczepionki anti-COVID-19, znajdujące się w różnych fazach badań klinicznych (styczeń 2021) wg [1].

Priorytetowym zadaniem w sytuacji pandemii SARS-2/CoV stało się wytworzenie w ekspresowym tempie szczepionek anty-COVID-19. Bezpieczeństwo i skuteczność szczepionki, łatwość dystrybucji, koszty produkcji, stabilność produktu stanowią kryteria wyboru rodzaju/typu szczepionki. W tej sytuacji zasadne wydaje się ogólne spojrzenie na rozwój różnych typów szczepionek, których w sumie – na różnym etapie rozwoju – jest już ponad 200 [1] (Ryc. 1).

Ponad 70 szczepionek znajduje się już na etapie badań klinicznych (Ryc. 2). Szereg danych wskazuje na zasadność wyboru szczepionek RNA, w tym szczepionki mRNA, przy braku zgłaszanych teoretycznych zastrzeżeń bezpieczeństwa tych produktów. Dla jasności obrazu przypomnijmy chronologiczny rozwój wydarzeń wokół szczepionek mRNA.

## Szczepionki RNA oparte wektorach wirusowych

Pracowanie bezpiecznej i skutecznej szczepionki zwykle zajmuje kilka lat, ponieważ wymaga ścisłych zezwoleń regulacyjnych. Jest to konieczne, aby produkt mógł przejść przez badania kliniczne, zanim będzie wydane pozwolenie na wprowadzenie do obrotu i tym samym masowe stosowanie u ludzi.

Obecnie w badaniach klinicznych ocenianych jest siedem szczepionek-kandydatów RNA anty-COVID-19 [1], przy czym w dobie pandemii dwie szczepionki mRNA zostały niedawno dopuszczone warunkowo – zatwierdzono je w kilku krajach, w tym w USA i Unii Europejskiej.

Atrakcyjnym wyborem mogą być *szczepionki wektorowe RNA*, ponieważ są łatwiejsze i szybsze w produkcji w dużych ilościach. Replikujące/ nie-replikujące się szczepionki z wektorami wirusowymi (nieinfekcyjnymi lub osłabionymi) wykorzystują adenowirusy, zmodyfikowany wirus krowianki MVA (*modified vaccinia virus Ankara*) lub VSV (*vesicular stomatitis virus*). Kilka szczepionek wykorzystuje niereplikujące się adenowirusy (Ad). Ad-szczepionki uważane są za bezpieczne i były wcześniej stosowane u osób z obniżoną odpornością, które uważa się za osoby z grupy wyższego ryzyka rozwoju ciężkiej postaci choroby wirusowej COVID-19. Kolejną zaletą szczepionek opartych na wektorach jest to, że nie muszą być zamrożone do transportu, co ułatwia dystrybucję. W badaniach klinicznych ocenianych jest kilka Ad-szczepionek, z których dwie wykorzystują wektory adenowirusa typu 5 (Ad5), tzn. wirusa

wywołującego nieżyt dróg oddechowych. W sumie 40% mieszkańców USA i 90% mieszkańców Afryki Subsaharyjskiej ma już istniejące przeciwciała pochodzące z naturalnego narażenia na Ad5, co może ograniczyć skuteczność takiej szczepionki. Stwierdzono, że istniejąca wcześniej odporność na adenowirusy, przeciwciała neutralizujące, komórki T specyficzne dla Ad i stan zapalny wywołany adenowirusami przyczyniają się do zmniejszenia skuteczności wektora szczepionkowego Ad. Wirus Ad26, jako mniej powszechny, jest stosowany jako kandydat na szczepionkę Ad26-COV2.S.

W szczepionce rosyjskiej **Gam-COVID-Vac Sputnik V (Gamaleya Research Institute, Federacja Rosyjska)** zastosowano kombinację adenowirusów Ad26 i Ad5, oba kodujące białko S koronawirusa COVID-19. W badaniach klinicznych I i II fazy porównywano pojedyncze dawki szczepionek rAd26 lub rAd5-S lub w niewielkiej liczbie podawano uczestnikom, pojedynczą dawkę rAd26-S, a następnie wzmocniacz rAd5-S. Pojedyncza dawka rAd26-S wywołała produkcję przeciwciał tylko u 61,1% uczestników. Przeciwciała typu IgG swoiste dla fragmentu RBD białka S wykryto u 88,9% uczestników badań, którzy otrzymali szczepionkę rAd26-S, oraz u 84,2% uczestników zaszczepionych rAd5-S w dniu 14 i u 100% uczestników w dniu 21. Ogólnie uzyskano zadawalające wyniki bezpieczeństwa i wysokiej immunogenności dla heterologicznej szczepionki u 100% ochotników. Chociaż badania fazy III mające na celu ocenę skuteczności nie zostały ukończone, już w sierpniu 2020 r. Ministerstwo Zdrowia Federacji Rosyjskiej zatwierdziło rejestrację Gam-Sputnik V. Według danych uzyskanych do 24 listopada 2020 r., szczepionka wykazała skuteczność 91,4% 7 dni po drugiej dawce u ponad 18-tys. zaszczepionych. [2].

W badaniach klinicznych oceniona została również szczepionka AstraZeneca ChAdOx1 / AZD1222 / Covishield, w której wykorzystuje się również adenowirusa pochodzącego od szympansa [1].

Szczepionka **AZD1222 (University of Oxford, AstraZeneca, Wielka Brytania)** jest oparta na wektorze ChAdOx1 kodującym białko S wraz z tkankowym aktywatorem plazminogenu (tPA) na końcu 5' łańcucha RNA, oflankowana przez promotor wirusa cytomegalii (CMV) wraz z sekwencją sygnałową poli A bydłczego hormonu wzrostu (BGH) [2]. Dodanie tkankowego aktywatora plazminogenu tPA, jak wykazano, wzmocniło immunogenność i zwiększało ekspresję białek rekombinowanych w konstrukcie.

W badaniach przedklinicznych, w modelu zwierzęcym makaka rezus, szczepionka AZD1222 zmniejszyła obciążenie wirusem SARS-CoV-2 w płucach i działała ochronnie przeciwko zapaleniu płuc, chociaż nie zmniejszyła miana wirusa w górnych drogach oddechowych. W badaniach klinicznych I i II fazy uzyskano akceptowalny profil bezpieczeństwa szczepionki. W badaniach reakcji immunologicznych stwierdzono szczyt odpowiedzi S-specyficznych efektorowych komórek T w 14 dniu po szczepieniu; aktywność utrzymywała się po 56 dniach. Wzrost odpowiedzi IgG anty-S notowano do 28 dnia już po pojedynczej dawce szczepionki. Po drugiej dawce wszyscy uczestnicy badań uzyskiwali aktywność neutralizującą przeciwciał, chociaż nie zaobserwowano wzmocnienia odpowiedzi komórkowych. W doborze dawek korzystano z doświadczeń uzyskanych w poprzednich badaniach klinicznych koronawirusa MERS. Badanie fazy II/III obejmowało zarówno dorosłych młodych, jak i starszych.

Niereplikująca szczepionka **CanSino Ad5-CoV (CanSino Biologics, Beijing Institute of Biotechnology, ChRL)** zawiera zoptymalizowaną, pełnej długości sekwencję białka S wirusa SARS-CoV-2. Wektor ten został wybrany na podstawie wcześniejszych doświadczeń ze szczepionką Ebola. W badaniach przedklinicznych szczepionka Ad5-CoV chroniła przed zakażeniem SAR-CoV-2 u fretok, gdy była podawana przez domięśniowo lub do śluzówek.

W badaniach klinicznych I i II fazy szczepionkę Ad5-CoV podawano domięśniowo, wykazano specyficzne odpowiedzi humoralne i odpowiedzi limfocytów T na SARS-CoV-2.

U osób starszych wykryto słabszą odpowiedź immunologiczną. Spośród uczestników, którzy mieli niskie wcześniej występujące przeciwciała anty-Ad5, stężenie przeciwciał specyficznych dla fragmentu RBD białka S było około dwa razy wyższe niż u osób z wysokim mianem przeciwciał anty-Ad5. Na podstawie tych wyników oczekuje się, że szczepionka CanSinoAd5-CoV być może zapewni lepszą immunogenność osobom z niską, istniejącą wcześniej odpornością na adenowirusa Ad5 [2].

Opisane tu szczepionki nie zamykają listy zaawansowanych projektów szczepionek wektorowych RNA.

- W firmie **Janssen, (Belgia)** opracowano szczepionkę **Ad26CoV2-S**, w której wykorzystano wektor Ad26 kodujący białko S.
- Włoska szczepionka **GRAd-CoV2 (Reitera; Włochy)** jest oparta na nowatorskiej replikacji małpiego szczepu adenowirusa Ad, kodującego białko S.

- Szczepionka **VXA-CoV2-1 (Vaxart, USA)** zawiera wektor Ad5 i jeden lub więcej antygenów SARS-2/CoV.
- Biwalentna szczepionka **hAd5 S + N (ImmunityBio, Inc./ NantKwest Inc., USA)** jest oparta na wektorze Ad5, z informacją zarówno białka S jak i białka N koronawirusa. Szczepionka **COH04S1 (City of Hope Medical Center, USA)** oparta jest na wektorze zmodyfikowanego wirusa krowianki MVA (*modified vaccinia virus Ankara*) z ekspresją białek S i N koronawirusa SARS-CoV-2.
- Na podstawie wcześniejszych doświadczeń z wektorową szczepionką MVA-MERS-S, tenże wektor MVA został zastosowany do opracowania niemieckiej szczepionki **MVA-SARS-2-S (Ludwig Maximilian University of Munich, RFN)** z ekspresją białka S. Zarówno COH04S1, jak i MVA-SARS-2-S są niereplikującymi się wektorami wirusowymi.
- Korzystając z wcześniejszych doświadczeń z technologią wektora wirusa odry MV (*measles virus*) dla ludzi, **francuski Instytut Pasteur'a, (we współpracy z Themis)**, opracował szczepionkę przeciwko SARS-CoV-2 (**TMV-083**) (projekt zarzucony).
- Chińska szczepionka **DelNS1-2019-nCoV-RBD-OPT1 (Uniwersytet Xiamen, ChRL)**, jest oparta na wektorze replikującego wirusa grypy.
- Wektor wirusa pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej VSV (*vesicular stomatitis virus*) został użyty do opracowania szczepionki **IIBR-100 (Israel Institute for Biological Research)** i **V590-001 (Merck Sharp & Dohme / IAVI)**, oba zawierające informacje białka S. Wstępny raport z badań przeprowadzonych na chomikach sugerował, że szczepionka IIBR-100 była bezpieczna, skuteczna i chroniła przed zakażeniem SARS-CoV-2 [2].

## Początki szczepionek mRNA

Przypomnijmy, nie ma formalnie zatwierdzonych szczepionek mRNA u ludzi (stąd odstępianie Szwajcarii od masowych szczepień), z wyjątkiem ekspresowej rejestracji dwóch szczepionek (Pfizer/BioNTech, Moderna, Oxford/Astra Zeneca) w USA, UE, i kilku krajów w trybie wyjątkowym (*emergency use approval*), podyktowanym wymogami pandemii.

Idea szczepionek mRNA jest przejrzysta: zamiast podawać np. wirusowy antygen białkowy, podaje się szczepionej osobie samą informację genetyczną do produkcji białek wirusowych. Szczepionki mRNA zawierają informację genetyczną dla endogennej ekspresji wyłącznie białka–antygeny wirusowego u zaszczipionej osoby, podobnie jak w przypadku infekcji wirusowej.

**Szczepionka mRNA nie jest wirusem**, jest informacją, jak zbudować białko wirusowe.

Przypomnijmy, że wirus jest wewnątrzkomórkowym „pasożytem”, który nie potrafi namnażać się autonomicznie, tak jak np. bakterie. Wirus może tylko wykorzystać komórkową „maszynę” gospodarza do wyprodukowania swoich „części zamiennych”, w tym materiału genetycznego, nukleokapsydu i innych białek wirusowych.

Już ponad dwie dekady temu wprowadzenie myszkom nieskompleksowanego informacyjnego kwasu rybonukleinowego (*messenger RNA*) (mRNA) zaowocowało produkcją białka zakodowanego w sekwencji nukleotydów tegoż mRNA [3]. Pionierskie prace nad szczepionką mRNA dotyczyły głównie immunoterapii onkologicznych. Dla uzyskania lepszego efektu immunogenności, w badaniach przedklinicznych wykorzystywano również *in vitro* komórki dendrytyczne do iniekcji mRNA. Twórców zniechęcały jednak koszt produkcji syntetycznych wektorów RNA i ich stopień komplikacji. Przełomowa praca Wolff i wsp. z 1990 roku [4] dostarczyła pierwszego udanego przykładu ekspresji białka po wstrzyknięciu mRNA do mięśnia. Następnie uzyskano potwierdzenie skuteczności szczepień mRNA zawierającego informację sekwencji aminokwasów antygenów wirusowych lub nowotworowych: szczepienie mRNA wywołało specyficzne dla antygeny odpowiedzi immunologiczne.

Mimo wczesnych obiecujących wyników, dopiero w ostatniej dekadzie postęp technologiczny w biologii, chemii i systemach dostarczania RNA umożliwił wydajną i stabilną produkcję produktów mRNA.

Pierwsze udane badania przedkliniczne, potwierdzające koncepcję profilaktycznych szczepionek RNA u małych i dużych zwierząt zostały zgłoszone w 2012 r. [5]. Badania te obejmowały bezpośrednie porównanie szczepionek mRNA z licencjonowanymi komparatorami, a wyniki zachęciły do rozszerzonych testów profilaktyki opartej na szczepionce mRNA w pierwszym badaniu klinicznym na ludziach (NCT02241135).

Stosowanie mRNA jako szczepionki zostało zaaprobowane w marcu 2016 r. przez Światową Organizację

Zdrowia (WHO), jako **nową klasę środka terapeutycznego** z własną międzynarodową niezastrzeżoną nomenklaturą (przyrostek „-meran” użyty po raz pierwszy dla określenia „nadorameran”, specyficzny dla szczepionki przeciw wściekliczynie).

Ogólnie **szczepionki mRNA są nieinfekcyjne (nie ma w nich wirusa)**, co oznacza również, że nie posiadają niskopatogenego, atenuowanego wektora wirusowego, np. adenowirusa, czy wirusa VSV (*vesicular stomatitis virus*).

Szczepionki na bazie mRNA, służą do syntezy obcych dla gospodarza immunogennych białek, indukując humoralną i komórkową odpowiedź immunologiczną.

Pierwszą szczepionką mRNA wykazującą skuteczność u ludzi przeciwko wirusowi Chikungunya była **mRNA-1944 (Moderna Therapeutics, USA)**, kapsułkowana za pomocą zastrzeżonej przez firmę technologii LNP. Dwa różne mRNA kodowały sekwencje odpowiednio dla ciężkich i lekkich łańcuchów immunoglobuliny anti-Chikungunya IgG. Ta szczepionka podawana dożylnie indukowała liniową, zależną od dawki produkcję specyficznych przeciwciał u ludzi. Również przeciwko wirusowi Chikungunya została niedawno wyprodukowana przez firmę Moderna szczepionka mRNA-1388 [2].

W firmie Moderna została również opracowana szczepionka mRNA przeciw grypie. Fazę I przeszły dwie szczepionki: jedna kodująca HA GP z H10N8, a druga kodująca GP z H7N9. Uzyskano silną odpowiedź humoralną i zarazem wysoką serokonwersję.

Wcześniejsze szczepionki H7N9 dla uzyskania wysokich wskaźników serokonwersji i ochrony przeciwciałami wymagały adiuwantów. Wiąże się to z samo-adiuwantującym efektem szczepionki mRNA. Ponadto działanie szczepionki mRNA H7N9 wskazuje na potencjał rozwoju komórek B pamięci, potwierdzony trwałym testem zahamowania hemaglutyniny oraz wysokiego miana przeciwciał, do 6 miesięcy po podaniu szczepionki. Próby I fazy przeszła również szczepionka przeciwko wirusowi Zika mRNA-1325 firmy Moderna.[2].

## Chronologia wprowadzenia szczepionki mRNA anty-COVID-19

**N**a przełomie roku 2019/2020 świat dowiedział się o nowym koronawirusie, charakteryzującym się nad wyraz szybkim rozprzestrzenianiem się (wysoką infekcyjnością), ciężkimi przypadkami choroby ARDS (zespół ostrej niewydolności oddechowej) i zgonów u osób starszych, z współistniejącymi schorzeniami

i otyłością – o czym jako pierwsi donosili lekarze chińscy, borykający się z epidemią w mieście Wuhan.

**Od marca 2020 r.** kraje Unii Europejskiej (głównie Włochy, następnie Hiszpania, Francja, Niemcy, Wielka Brytania) zostały zaatakowane tym nowym wirusem, nazwanym SARS-2 z powodu wysokiego, 79% podobieństwa genomu do wirusa SARS-1 z epidemii 2002/2003. Nowy koronawirus został następnie nazwany SARS-2/Cov-19 (COVID-19). Na tym etapie nie było szczepionek anty-COVID-19. Wcześniejsze próby wytworzenia szczepionek dla koronawirusów SARS-1 i MERS nie przyniosły zadawalających rezultatów. Świat w obliczu pandemii postawił na szybką produkcję szczepionek przeciw nowemu wirusowi.

- **11 sierpnia 2020 r.** rząd Federacji Rosyjskiej jako pierwszy zaaprobował do masowego szczepienia rosyjską szczepionkę Sputnik 5. Jednak decyzję podjęto przed próbami klinicznymi III fazy, co spowodowało szereg krytycznych artykułów i opinii w świecie nauki.
- **Pod koniec listopada 2020 r.** kontynuowano 13 prób klinicznych w III fazie z udziałem dziewięciu różnych szczepionek SARS-CoV-2 opartych na inaktywowanych wirusach, rekombinowanych niepatogennych wektorach wirusowych i białkach. Od jesieni 2020 r. wprowadzono pilotażowe szczepienia pierwszych szczepionek na bazie mRNA, oraz rozpoczęto ich ocenę w badaniach klinicznych II/III fazy.

**W grudniu 2020** kontynuowane były projekty ponad 200 szczepionek-kandydatów opracowywanych w 52 badaniach klinicznych oraz w 163 badaniach przedklinicznych.

- **11 grudnia 2020 r.** amerykańska Administracja Żywności i Leków (*Food and Drug Administration*) (FDA) wydała zezwolenie na użycie w nagłych wypadkach (EUA) dla szczepionki Pfizer-BioNTech COVID-19 w celu zapobiegania infekcjom wirusowym COVID-19, podawanej w 2 dawkach w odstępie 21 dni. **W dniu 12 grudnia 2020 r.** Komitet Doradczy ds. Praktyk Szczepień (ACIP) wydał tymczasową rekomendację dotyczącą stosowania szczepionki Pfizer/ BioNTech COVID-19 [6]; dawki początkowe były zalecane dla personelu medycznego i rezydentów placówek opieki długoterminowej. **Od grudnia 2020 r.** rozpoczęło się rozprowadzanie i stosowanie szczepionek mRNA w populacjach wysokiego ryzyka w Wielkiej Brytanii, Stanach Zjednoczonych i Izraelu, a następnie w krajach Unii Europejskiej.

**W styczniu 2021 r.** opublikowane zostały wyniki badań reakcji poszczepiennych monitorowanych u prawie 2 milionów osób w USA [7]. Dane te uznane zostały za przekonujące, jeśli chodzi o bezpieczeństwo/ niskie ryzyko poważnych skutków ubocznych.

- **W styczniu 2021 r.** podane zostały pierwsze prowizoryczne wyniki dotyczące skuteczności pierwszej dawki szczepiennej w Izraelu [8]. We wstępnej analizie 200 tysięcy osób w wieku powyżej 60 lat, które otrzymały szczepionkę mRNA, w porównaniu z adekwatną grupą kontrolną 200 tysięcy osób, które jej nie otrzymały, naukowcy odkryli, że szanse na pozytywny wynik testu na obecność wirusa były o 33% niższe, dwa tygodnie po pierwszej dawce szczepionki.

Jak już wspomniano, ekspresowe tempo tworzenia szczepionek anty-COVID-19 i brak właściwych ram czasowych na standardowe badania bezpieczeństwa i skuteczności nowych szczepionek wywołało nieufność i obawy zdrowotne u wielu przyszłych (lub niedoszłych) beneficjentów tych szczepionek. Obawy o ewentualne skutki uboczne szczepień, w zależności od kraju, sięgały jednej/trzeciej – połowy populacji. Warto tu wyjaśnić, że pytanie, czy dana szczepionka „szkodzi?” jest pytaniem niewłaściwym w rozpatrywaniu ewentualnych skutków ubocznych danej szczepionki. Podobnie, jak w badaniach skuteczności leków, w farmakologii szczepionek obowiązuje analiza ryzyka względem korzyści. W pytaniach o szczepionki anty-COVID-19 obowiązuje zatem identyczne pytanie o *ryzyko względem korzyści* w przypadku wprowadzenia danej szczepionki. Mówiąc językiem popularnym, obowiązuje zasada rozpatrzenia możliwych „za” i „przeciw” szczepieniu daną szczepionką.

W wakcynologii w przypadku poszczególnych patogenów istnieją w zasadzie dwa podstawowe pytania: „*czym szczepić?*” oraz „*kogo szczepić?*” Obie te kwestie są integralnym składnikiem analizy ryzyka względem korzyści dla każdej szczepionki o znanych właściwościach immunogennych, trwałości efektu szczepienia i zbadanych skutkach ubocznych. Jak dotąd, nie ma formalnie zatwierdzonych szczepionek mRNA u ludzi (stąd odstępianie Szwajcarii od masowych szczepień). Wymogiem czasów pandemii COVID-19 było wyjątkowo szybkie wprowadzenie do masowych szczepień produktów firm Pfizer/BioNTech oraz Moderna, zatwierdzonych warunkowo (*emergency use approval*) do użytku przez amerykańską Agencję FDA oraz Agencję

EMA w Unii Europejskiej. Są to szczepionki nowej generacji, znane pod nazwą: szczepionki mRNA.

Nie jest tajemnicą, że upłynęło zbyt mało czasu od wynalezienia i wyprodukowania tych szczepionek do ich zarejestrowania i wprowadzenia do masowych szczepień, aby producenci szczepionek mogli uzyskać komplet danych bezpieczeństwa i skuteczności swoich produktów, dla których wykonuje się badania w standardowych protokołach badawczych. Tym bardziej warto zastanowić się nad fenomenem ultranowoczesnych szczepionek mRNA. Trzeba też wspomnieć, że spośród wielu liczących się projektów tworzenia szczepionek anty-COVID-19 powstały różne prototypowe szczepionki, wśród których szczepionki mRNA

są produktem nowatorskim. (Tab. I). Objasnienia zasadności takich, czy innych rozwiązań w projektowaniu różnych szczepionek, przeglądy i opisy różnych projektów szczepionek anty-COVID-19 można już znaleźć w artykułach przeglądowych [1, 2, 9, 10].

Wśród szczepionek RNA znajdują się takie, których konstrukcja polega na „dołączeniu” zapisu RNA białka wirusowego (w założeniu immunogennego) do niskopatogennego wirusa RNA (platformy wirusa RNA). Do konstrukcji takiego „pseudowirusa” za platformę może posłużyć atenuowany adenowirus, VSV/ *Vesicular Stomatitis Virus*, lentiwirus i inne. Konstrukcja pseudowirusa powiela swój cały materiał

Tabela 1. Porównanie zalet/korzyści i potencjalnych zagrożeń/ niedogodności istniejących prototypowych szczepionek anty-COVID-19, wytworzonych w różnych technologiach (wg [9]; wersja uproszczona).

Szczepionka	Zalety	Niekorzystne/wątpliwe
Żywy, atenuowany wirus	Silnie indukuje odpowiedź komórek T	Ryzyko infekcji, możliwa rewersja genetyczna
Inaktywowany cały wirus	Infekcja wykluczona, silna antygenowość, stabilna szczepionka	Konieczne dodawanie adjuwantów, może dojść do niepożądanych reakcji immunologicznych
Podjednostka (białko S*)	Infekcja wykluczona, odpowiednio dobrane białko immunogenne	Niewystarczająca immunogenność komórkowa, odpowiedź słabnie z czasem
Wirusopodobne cząstki VLP** - podjednostka/białko S*	Powtarzalna prezentacja antygeny, ma właściwości adjuwantu, bezpieczna	Trudności w uzyskiwaniu stabilnych cząstek VLP** o właściwej immunogenności i stabilności
Wektor wirusowy, podjednostka S* (Sputnik V, Astra-Zeneca)	Geny białek wirusowych wstawione do nieinwazyjnego wektora wirusowego, długotrwała ekspresja białek antygenowych	Rekombinowane wirusy mogą być groźne dla osób z ograniczoną odpornością (np. otrzymujących leki immunosupresyjne)
Szczepionki DNA/ plazmid: kodowane białko S*	Indukuje odpowiedź komórek B i T, łatwa, tania produkcja, produkt trwały, termostabilny	Ryzyko (teoretyczne) wbudowania DNA plazmidu w genom biorcy, słaba indukcja immunogenności
Szczepionki mRNA: informacja białka S* (Pfizer BioNTech, Moderna)	Indukuje odpowiedź komórek B i T, nie ma ryzyka interakcji z genami człowieka	Koduje fragment wirusa, mniejsza immunogenność, brak interakcji z receptorami endosomalnymi RNA, termolabilna

\*S = immunogenne białko kolca (*spike*) koronawirusa COVID-19;

\*\*VLP = wirusopodobne cząstki (*virus-like particles*)

Tabela 2. Zaawansowane szczepionki RNA anty-COVID-19 [wg 9]

Producent	Nazwa szczepionki	Typ szczepionki RNA
Pfizer/BioNTech	BNT162b2	mRNA
Moderna	mRNA1273	mRNA
AstraZeneca	ChAdO x1 AZD1222	Wektorowa (adenowirus)
Johnson & Johnson	JNJ-78436735	Wektorowa (adenowirus)
Oxford	ChAdOx1 nCoV-19	Wektorowa (adenowirus)
CanSino	Ad5-nCoV	Wektorowa (adenowirus)
Russian Gamaleya Institute	Sputnik V	Wektorowa (adenowirus)
Sinovac	SARS-CoV-2	Inaktywowany wirus



genetyczny i produkuje w zainfekowanych komórkach gospodarza wszystkie swoje białka plus białko wirusa patogennego (antygen).

Natomiast szczepionki mRNA w zasadzie stanowią wyłącznie informację do produkcji białka wirusowego (antygeny). Komórki gospodarza zostają zmuszone do produkcji tego białka/ antygeny wirusowego. Z badań nad skutecznością szczepionek okazało się, że w przypadku wirusa COVID-19 szczepienie samym białkiem wirusowym nie dało zadowalających wyników z powodu niskiej immunogenności takich szczepionek.

Przeciwnie, podanie mRNA i wyprodukowanie białka wirusowego przez komórki gospodarza indukowało pełną odpowiedź przeciwwirusową, zarówno komórkową, jak i produkcję wysokiego miana przeciwciał anti-COVID-19 [9, 11] (Tab. 2).

### Immunogenność białek wirusa COVID-19

Dobór białek wirusowych, kandydatów do immunizacji, okazał się skomplikowanym zagadnieniem. Kompletny genom RNA wirusa COVID-19 zawiera przynajmniej 10 otwartych ramek odczytu ORF (*open reading frame*), z których ORF1 jest nośnikiem informacji 16 niestrukturalnych białek NSP (*non-structural*

*proteins*) [12]. Białka NSP pełnią różne funkcje związane z replikacją genomu i są niezbędne dla utrzymania cyklu życiowego wirusa. Wirus COVID-19 zawiera cztery białka strukturalne: kolec (S), nukleokapsyd (N), białko otoczki (E), i białko błonowe (M). Białko kolca S składa się z podjednostek S1 i S2 (Ryc. 3).

Podjednostka S1 ma dwie domeny funkcjonalne:

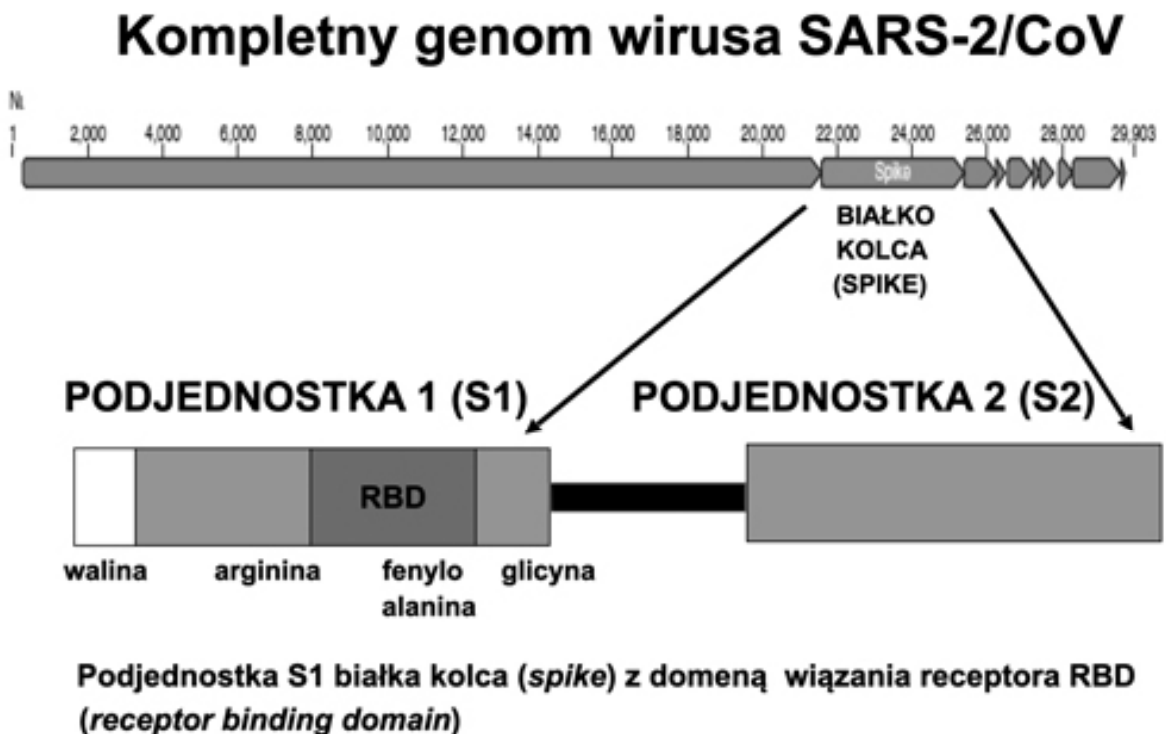
- NTD (*N-terminal domain*) oraz
- RBD (*receptor binding domain*).

Domena RBD umożliwia molekularne dokowanie wirusa do receptorów ACE2 komórek gospodarza; znajduje się pomiędzy 319 a 541 aminokwasem w zapisie RNA tego regionu (Ryc. 3).

Białkowa domena RBD jest niezbędna dla wiązania i wniknięcia wirusa do wnętrza komórek. W szczegółowej analizie molekularnego dokowania wirusa do receptorów ACE2 gospodarza ustalono, że sekwencja aminokwasów domeny RBD znajduje się pomiędzy aminokwasami 331 a 524 białka S kolca wirusowego. Podjednostka S2 ma trzy domeny operacyjne:

- peptyd fuzji FP (*fusion peptide*) oraz
- domeny HR (*heptad repeat*) 1 i 2 [12].

Podjednostka S1 o pełnej długości (Val16-Gln690)



Rycina 3. Immunogenne białko wirusowe: podjednostka S1 białka kolca (*spike*) z domeną wiązania receptora RBD (*receptor binding domain*); miejsce molekularnego dokowania do receptora ACE2 komórek gospodarza [wg 11]

oraz białko zawierające tylko RBD (Arg319-Phe541) białka SARS-CoV-2 mają numer dostępu w bazie danych GenBank: QHD43416.1 [11].

Firmy Pfizer i BioNTech ogłosiły 9 listopada 2020 r., że ich kandydat na szczepionkę BNT162b2 na bazie mRNA jest skuteczny w ponad 90% przeciwko COVID-19. Ta szczepionka mRNA koduje pełnej długości białko kolca SARS-CoV-2 z dwoma aminokwasami zmutowanymi do proliny w podjednostce S2.

Jej siostrzana szczepionka BNT162b1 (również z firmy Pfizer/BioNTech) koduje tylko RBD białka SARS-CoV-2.

W badaniach klinicznych potwierdzono, że zarówno BNT162b1, jak również BNT162b2 nie wykazują poważnych krótkoterminowych skutków ubocznych. Natomiast 10 grudnia 2020 roku opublikowano wyniki dużego badania klinicznego dotyczącego BNT162b, w którym pokazano że ta szczepionka zapewnia 95% ochrony osobom w wieku 16 lat lub starszym. Producent zastrzegł, że na tym etapie, z oczywistych względów (ekspresowe tempo powstania szczepionki) długoterminowe skutki działania szczepionki nie są znane.

Z kolei szczepionka mRNA-1273 firmy Moderna zawiera zapis mRNA pełnowymiarowego białka kolca SARS-2/CoV [11]. Już 10 lat wcześniej było wiadomo, że iniekcja myszom rekombinowanego białka kolca SARS-1 (genomy SARS-1 i SARS-2 są w 79% kompatybilne) prowadzi do łączenia się białka wirusowego do transbłonowego białka-enzymu ACE2 komórek gospodarza, redukuje ekspresję ACE2 na komórkach płuc i prowadzi do uszkodzenia pneumocytów [11]. Szczepionka Moderna mRNA-1273 koduje glikoproteinę SARS CoV-2 z częścią transbłonową i nienaruszonym miejscem cięcia S1-S2; dwa podstawione aminokwasy proliny w pozycjach 986 i 987 stabilizują białko kolca w konformacji sprzed fuzji w celu zwiększenia jego immunogenności. Aby zwiększyć biostabilność mRNA, urydynę zastąpiono N1-metylo-pseudourydyną. Szczepionka mRNA jest dostarczana do ludzkich komórek przez nanocząstki,

składające się z czterech lipidów. Dokładny skład nanocząsteczek nie jest znany, jednak w poprzednich szczepionkach Moderna wykorzystywano lipidy, 1,2-distearoilo-sn-glicero-3-fosfocholiny, cholesterol i lipid glikolu polietylenowego [13].

W badaniach kohortowych 509 pacjentów zainfekowanych wirusem COVID-19 potwierdzono obecność wirusa testem genetycznym RT-PCR (*real-time polymerase chain reaction*), 452 pacjentów było hospi-

talizowanych, z których 96 zmarło (20,6%). Średni czas hospitalizacji (74,3% pacjentów) wynosił 14 dni, średni czas od przyjęcia pacjenta do zgonu wynosił 12 dni (6–21 dni). Po 4 tyg. od potwierdzenia obecności wirusa, u 94% pacjentów stwierdzono pojawienie się przeciwciał przeciw różnym antygenom wirusa COVID-19. Przeciwciała anty-RBD IgG przeciw wirusowi COVID-19 były obecne po 1 tyg. u 25,9% pacjentów objawowych do 4 tyg. i później u 96% pacjentów [14]. Specyficzność przeciwciał anty-RBD IgG potwierdzono wysokospecyficzną metodą immunoprecypitacji lucyferazy w płynnej fazie LIPS (*luciferase immunoprecipitation, fluid-phase system*). Odpowiedź IgG przeciw domenie RBD białka S wirusa powiązано z większą przeżywalnością pacjentów, niezależnie od innych czynników jak płeć, lub wiek [14]. Według autorów, potwierdza to, że przeciwciała IgG przeciw domenie RBD wirusowego białka S są głównym czynnikiem odpowiedzi humoralnej, chroniącym przed rozwojem choroby wirusowej COVID-19 [14].

W badaniach *in vitro* wirusa COVID-19 wykazano, że jego dokowanie na ACE2 na komórkach gospodarza jest blokowane przez przeciwciała, np. rozpoznające domenę wiążącą receptor (RBD) białka kolca S. Wejście wirusa może być również zablokowane przez neutralizujące przeciwciała skierowane przeciwko powtórzonej domenie HR1 i HR2 tegoż białka. Ponadto przeciwciała neutralizujące mogą wchodzić w interakcje z innymi składnikami układu odpornościowego, np. z dopełniaczem, komórkami NK (*natural killers*), makrofagami i neutrofilami [15]. Klirens wirusa jest wspomagany przez wspomniane odpowiedzi efektorowe, jednak w rzadkich przypadkach przeciwciała specyficzne dla patogenu mogą promować patologię, powodując zjawisko znane jako wzmocnienie zależne od przeciwciał ADE (*antibody-dependent enhancement*). Wspomaganie reakcją ADE wychwytu wirusa COVID-19 przez makrofagi powodowało podwyższoną produkcję TNF- $\alpha$  i IL-6. Reakcję ADE u myszy zakażonych SARS-CoV powiązано ze zmniejszonym poziomem przeciwzapalnych cytokin IL-10 i TGF $\beta$  oraz zwiększonym poziomem prozapalnych chemokin CCL2 i CCL3. Ponadto immunizacja Naczelnych szczepionką zmodyfikowanego wirusa krowianki Ankara (MVA) z pełnej długości białkiem S pochodzącym z wirusa SARS-CoV promowała aktywację makrofagów pęcherzyków płucnych, co prowadziło do ostrego urazu płuc [15]. Ogólnie w najnowszych badaniach odpowiedzi przeciwciał u pacjentów z COVID-19 powiązано wyższe miana anty-N IgM i IgG

we wszystkich punktach czasowych z gorszymi rokowaniami choroby po wystąpieniu objawów.

Ponadto, wyższe miana przeciwciał anty-S i anty-N IgG i IgM korelują z gorszymi stanami klinicznymi i starszym wiekiem, co sugeruje potencjalnie szkodliwe działanie przeciwciał w niektórych przypadkach u pacjentów [15].

Jednak u 70% pacjentów, którzy wyzdrowieli po łagodnym przebiegu choroby COVID-19, występują długo wykrywalne neutralizujące przeciwciała przeciwwirusowe. Liczba udokumentowanych reinfekcji w różnych krajach jest stosunkowo niewielka; częściowo wynika to z wymogów metodologicznych (Tab. 3).

Utrzymywanie się długotrwałej odporności przeciw wirusowi COVID-19 i jego nowym zmutowanym szczepom jest wciąż niewiadomą, a głównym powodem jest brak danych. Argumenty za i przeciw - są zrównoważone (Tab. IV), potrzebny jest odpowiedni czas dla uzyskania odpowiedzi, po zebraniu odpowiednio obszernej danych epidemiologicznych dotyczących zakażeń wśród osób zaszczepionych.

Tabela 3. Liczba przypadków potwierdzonych\* reinfekcji wirusowych SARS-2/CoV w różnych krajach (grudzień 2020 r.)

Kraj	Liczba przypadków reinfekcji SARS-2/CoV
Korea Południowa, Hongkong	24
Holandia	50
Brazylia	95
Szwecja	150
Meksyk	285
Katar	243

\*Dla potwierdzenia reinfekcji pacjent musi mieć dwa razy dodatni wynik testu łańcuchowej reakcji polimerazy (RT-PCR), z co najmniej jednym miesiącem bez objawów.

Tabela 4. Czy szczepienie anty-COVID wywoła długotrwałą odporność? Hipotetyczne za- i wątpliwości

Długotrwała odporność	Wątpliwości
Reinfekcje COVID-19 u ozdrowieńców zdarzają się bardzo rzadko	Niskopatogenne 4 koronawirusy wywołujące przeziębienie u człowieka powodują reinfekcje średnio co 12 miesięcy
Reinfekcje u ozdrowieńców tylko wyjątkowo mogą mieć ciężki przebieg	Wykazano, że COVID-19 może utrzymywać się w jelitach człowieka przez wiele miesięcy

Według chińskich obserwacji, jeśli przebieg choroby był lekki - przeciwciała mogą być skuteczne	Przeciwciała mogą znacznie osłabnąć w ciągu kilku miesięcy - szczególnie u pacjentów z mniej ciężką postacią choroby
Przeciwciała neutralizujące, a także komórki pamięci B i limfocyty T wydają się być względnie stabilne przez co najmniej 6 miesięcy	Niewłaściwa odpowiedź immunologiczna na pierwszą infekcję może zaostrzyć drugą
Jak dotąd nie ma dowodów u ponownie zakażonych pacjentów, które sugerowałyby że w COVID-19 występuje nasiloną chorobą	W niektórych innych chorobach pierwsza infekcja wyzwała nieskuteczne, nieobjętne przeciwciała i limfocyty T utrudniające skuteczniejszą odpowiedź za drugim razem.

## Niepożądane efekty uboczne szczepionki mRNA

Wielokrotnie powtarzaniem argumentem przemawiającym na korzyść szczepionek mRNA jest ich brak konieczności transportu do jądra komórkowego i przejścia przez etap transkrypcji. Inaczej mówiąc, wyklucza się możliwość niepożądanego transferu informacji genetycznej szczepionek mRNA do materiału DNA jądra komórkowego.

Szczepionki RNA zostały uznane za ogólnie bezpieczne dla ludzi, chociaż obawy przed ich niezamierzonymi działaniami niepożądanymi są aktualne.

Jak wynika z badań klinicznych, notowano przypadki lokalnych i/lub ogólnoustrojowych niepożądanych skutków ubocznych dla niektórych szczepionek mRNA [2]. Teoretycznie tkankowe receptory rozpoznawania wzorców PRR (*patterns recognition receptors*) są w stanie wykryć jedno- i dwuniciowe cząsteczki RNA, a następnie może dojść do indukcji odpowiedzi interferonu typu 1 (IFN-1), powodując niepożądaną odpowiedź odporności wrodzonej i stan zapalny. Co więcej, indukcja IFN-1 może promować początek autoimmunizacji.

Dalsze obawy dotyczą działania zewnątrzkomórkowego mRNA, mogącego potencjalnie zmieniać komórki śródbłonna i uszkadzać naczynia krwionośne, powodując istotne problemy zdrowotne, w tym obrzęki i patologiczne tworzenie się skrzepliny [2]. Dodatkowo należy rozważyć ryzyko rozwinięcia zależnej od (istniejących już) przeciwciał przeciwwirusowych we wspomnianej reakcji wzmocnienia ADE. Możliwe jest zależne od ADE zaostrzenie objawów, które ogólnie nazywamy łagodną wirusową manifestacją objawów grypopodobnych

w większości zakażeń SARS-CoV-2. Udział reakcji ADE wykazano w reinfekcjach wirusa dengi: osoby, które wyzdrowiały z zakażenia danym serotypem dengi, mimo że są odporne na ten serotyp, były do 80 razy bardziej narażone na ciężkie lub nawet śmiertelne komplikacje po wtórnym zakażeniu innym serotypem dengi. Chociaż mechanizm ADE nie jest do końca poznany, uważa się, że niskie miana niektórych przeciwciał powstałych w następstwie infekcji pierwotnej, podczas reinfekcji mogą ułatwiać wychwyty kolejnej odmiany wirusa przez makrofagi i komórki dendrytyczne DC (*dendritic cells*).

Również krążące w krwi przeciwciała wytworzone w odpowiedzi na pierwotną infekcję np. niskopatogennym koronawirusem, o niższym powinowactwie do epitopów SARS-CoV-2, mogą zwiększyć ryzyko ADE. Być może z tego powodu niektóre osoby zakażone wirusem COVID-19 na początku doświadczają łagodnych objawów choroby, które mogą prowadzić do zagrażającej życiu choroby układu oddechowego. Jednak zakażenie makrofagów i komórek dendrytycznych wirusem COVID-19 jest problematyczne, przeciwnie do ciężkich zakażeń i wyższej śmiertelności w przypadku koronawirusa MERS. Podobnie jak MERS, również wirus dengi jest zdolny do replikacji w makrofagach i komórkach dendrytycznych, a reakcja ADE może mieć swój udział w ciężkim przebiegu choroby w przypadku tych wirusów [2].

W celu ograniczenia możliwości wystąpienia ADE przeciwko SARS-CoV-2 rozważane są takie projekty szczepionek, które zapobiegają generowaniu i utrzymywaniu się przeciwciał innych niż te, które są skierowane przeciw nukleokapsydowi wirusa. W tej strategii preferowane są np. epitopy domeny molekularnego dokowania wirusa RBD, w porównaniu do konwencjonalnych szczepionek zawierających cały wirus.

Wczesny materiał dowodowy (przed masowymi szczepieniami) dotyczący szczepionki mRNA anty-COVID-19 firmy Pfizer/BioNTech uzyskano przede wszystkim z dużego, randomizowanego badania klinicznego II/III fazy z podwójną ślepą, z kontrolowanymi badaniami placebo. Badania objęły >43 000 uczestników (mediana wieku = 52 lata, zakres = 16–91 lat). Wykorzystano dane od uczestników, z medianą wynoszącą 2 miesiące obserwacji. Wykazano, że szczepionka Pfizer/BioNTech COVID-19 była skuteczna w 95,0% (95% przedział ufności = 90,3%–97,6%) w zapobieganiu objawowym zakażeniom COVID-19, potwierdzonym laboratoryjnie u osób bez dowodów wcześniejszej infekcji wirusowej SARS-CoV-2. Notowano wysoką skuteczność

szczepienia ( $\geq 92\%$ ) we wszystkich kategoriach wieku, płci, rasy i pochodzenia etnicznego oraz wśród osób z podstawowymi schorzeniami, jak również wśród uczestników z dowodami wcześniejszej infekcji SARS-CoV-2. Mimo że liczba obserwowanych hospitalizacji i zgonów była niska, dostępne dane wskazywały na mniejsze ryzyko wystąpienia ciężkiego przebiegu choroby wirusowej COVID-19 wśród osób zaszczepionych, w porównaniu z placebo [4].

Według stanu na 23 grudnia 2020 r. W Stanach Zjednoczonych podano 1.893.360 pierwszych dawek szczepionki Pfizer/BioNTech COVID-19 i zgłoszono 4393 (0,2%) zdarzeń niepożądanych po otrzymaniu szczepionki Pfizer/BioNTech COVID-19 do systemu zgłaszania zdarzeń niepożądanych dotyczących szczepionek (VAERS). Wśród nich 175 opisów przypadków wskazano do dalszej analizy jako możliwe przypadki ciężkiej reakcji alergicznej, w tym anafilaksji [5]. W 21 przypadkach stwierdzono anafilaksję (wskaźnik 11,1 na milion podanych dawek), w tym 17 osób z udokumentowaną historią alergii lub reakcji alergicznych, z których siedem miało historię anafilaksji. Mediana czasu od podania szczepionki do wystąpienia objawów wynosiła 13 minut (zakres = 2–150 minut). Spośród 20 osób, dla których dostępne były dalsze informacje, wszystkie wyzdrowiały lub zostały wypisane do domu. Z pozostałych opisów przypadków, które nie były anafilaksją, 86 oceniono jako nieanafilakcyjne reakcje alergiczne, a 61 uznano za niealergiczne zdarzenia niepożądane [5].

## Podsumowanie

**C**elem szczepienia jest zainicjowanie pierwotnej odpowiedzi immunologicznej ustroju poprzez wprowadzenie antygenów (lub ich części) danego patogenu, w zmienionej lub osłabionej postaci.

W warunkach realnej infekcji, po wygranej batalii z wirusem w organizmie ginie około 90% komórek specyficznych dla wirusa (biorących udział jego zwalczaniu), pozostaje około 10% długożyjących komórek pamięci immunologicznej [1].

Skuteczność szczepionki przeciwwirusowej zależy od tego, czy rozwinię się pamięć immunologiczna bez naturalnej infekcji. Skuteczność szczepionki jest przede wszystkim zapewniona dzięki indukcji syntezy przeciwciał swoistych dla antygenów wirusowych.

Jakość przeciwciał, tzn. powinowactwo i specyficzność są czynnikami decydującymi o ich skuteczności. Idealnie szczepionki powinny wyzwolić odpowiedź komórek B i T.

Z dotychczasowych doświadczeń z szczepionkami mRNA wynika, że ten typ szczepionek gwarantuje trwałość przeciwciał szczepionkowych i utrzymanie komórek pamięci immunologicznej zdolnych do szybkiej reaktywacji. Szczepionki mRNA, w których znajduje się syntetyczny mRNA, są wstrzyknięte i szybko przetłumaczone na białko przez komórki biorcy.

Szczepionki mRNA to innowacyjna klasa szczepionek nowej generacji, które **nie wprowadzają bezpośrednio antygenów danego patogenu, lecz dostarczają informacji genetycznej o tym antygenie**. Leczenie oparte na mRNA jest uważane za bezpieczne, ponieważ wprowadzone mRNA ulega przejściowej ekspresji, jest szybko metabolizowane i nie integruje się z DNA biorcy.

Modyfikacja mRNA 1-metylopseudourydyną skutkuje dłużej trwającą odpowiedzią przeciwciał. Przed szybką degradacją mRNA szczepionkę chroni dostarczanie jej w ciekłych nanocząsteczkach [13, 16].

Dodatkowym atutem tej technologii jest zdolność do szybkiego wyprodukowania dużych ilości szczepionki i szybką dystrybucję szczepionki na cały świat, co jest niezwykle cenne w dobie pandemii COVID-19. Możliwe jest szczepienie na świecie milionów osób tygodniowo.

Produkcja pojedynczej dawki szczepionki Ad-wektorowej Oxford/AstraZeneca kosztuje około 3 USD, produkcja szczepionki mRNA kosztuje około 20 USD [13].

Wśród wad wymienia się nieodłączną niestabilność mRNA, chociaż częściowo przewyższoną wprowadzeniem technologii ciekłych nanocząstek lipidowych jako nośników. Szczepionkę Pfizer/BioNTech należy przechowywać w temp.  $-80^{\circ}\text{C}$ , a szczepionkę Moderna można przechowywać w lodówce przez krótki okres i dłużej w temp.  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Informacja podana w listopadzie 2020 r. przez firmy Pfizer/ BioNTech, Moderna i Oxford/ Astra Zeneca o ponad 90% skuteczności ich szczepionek anty-COVID-19 przyczyniła się do wydania zgody w trybie wyjątkowym na stosowanie szczepionek mRNA. Utrzymanie pamięci immunologicznej i działania mechanizmów obronnych w wyniku inwazji wirusa są istotne w perspektywie długoterminowej ochrony organizmu człowieka. Istotna jest również ochrona przed nowymi szczepami wirusa COVID-19, powstającymi w wyniku szybkich mutacji. Przykładem jest brytyjski mutant B.1.1.7, co do którego istnieje realne podwyższone ryzyko zakażenia i wiąże się ze zwiększonym ryzykiem zgonu w porównaniu z zakażeniem znanym wcześniej wirusem COVID-19 [17]. Najnowsze dowody sugerują, że szczepionki wywołują nie tylko określone efekty w obronie przeciw infekcji, ale także

korzystne niespecyficzne efekty przeciwko niespokrewnionym patogenom.

#### Piśmiennictwo:

- Mellet J, Pepper M.S. (2021). A COVID-19 vaccine: Big strides come with big challenges. *Vaccines* 9: 39. doi: 10.3390/vaccines9010039.
- Pushparajah D., Jimenez S., Wong, S., et al. 2021. Advances in gene-based vaccine platforms to address the COVID-19 pandemic. *Adv Drug Delivery Rev.*doi: 10.1016/j.addr.2021.01.003
- Kramps T., Elbers K. 2017. Introduction to RNA vaccines. In: *RNA Vaccines: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology* vol. 1499, Springer Science + Business Media New York. doi: 10.1007/978-1-4939-6481-9\_1.
- Wolff J.A., Malone R.W., Williams, P., et al., 1990. Direct gene transfer into mouse muscle in vivo. *Science* 247, 1465–1468
- Geall A.J., Verma A., Otten G. R., et al., 2012. Nonviral delivery of self-amplifying RNA vaccines. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109(36): 14604–14609.
- Oliver S.E., Gargano J.W., Marin M., et al., 2020. The Advisory Committee on Immunization Practices' interim recommendation for use of Pfizer-BioNTech COVID-19 vaccine — United States, December 2020. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)* 69: 1922 – 1924.
- CDC COVID-19 Response Team 2021. Allergic reactions including anaphylaxis after receipt of the first dose of Pfizer-BioNTech COVID-19 vaccine — United States, December 14–23, 2020. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)* 70(2):46–51.
- Mallapaty S. 2021. Are COVID vaccination programmes working? Scientists seek first clues. *Nature News* 21 January 2021.
- Hague A., Pant A.B. 2020. Efforts at COVID-19 vaccine development: Challenges and successes. *Vaccines* 8: 739. doi: 10.3390/vaccines80407390.
- Karpiński T.M., Ożarowski M., 2, Agnieszka Seremak-Mrozikiewicz A., et al. 2021. The 2020 race towards SARS-CoV-2 specific vaccines. *Theranostics* 2021; 11(4): 1690–1702. doi: 10.7150/thno.53691.
- Suzuki Y.J., Gychka G.Y. 2021. SARS-CoV-2 spike protein elicits cel signaling in human host cells: implications for possible consequences of COVID-19 vaccines. *Vaccines* 9: 36. doi: 10.3390/vaccines9010036.
- Kaur S. P., Gupta V. 2020. COVID-19 vaccine: A comprehensive status report. *Virus Res.* 288: 198114. doi: 10.1016/j.virusres.2020.198114.
- Prus B.M. 2021. Current state of the first COVID-19 vaccines. *Vaccines* 9: 30. doi: 10.3390/vaccines9010030.
- Secchi M., Bazzigaluppi E., Brigatti C., et al. 2020. COVID-19 survival associates with the immunoglobulin response to the SARS-CoV-2 spike receptor. *J Clin Invest.* 130: 6366–6378. doi: 10.1172/JCI142804.
- Iwasaki A., Yang Y. 2020. The potential danger of suboptimal antibody responses in COVID-19. *Nature Rev. Immunol.* doi: 10.1038/s41577-020-0321-6.
- Park K.S., Sun X., Aikins M.E., Moon J.J. 2021. Non-viral COVID-19 vaccine delivery systems. *Adv Drug Delivery Rev.* 169: 137-151. doi:10.1016/j.addr.2020.12.008.
- Public Health England, 2020. Variant Of Concern 202012/01: Technical Briefing 2. Investigation of novel SARS-CoV-2 variant. [online] Available at: <https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\_data/file/949639/Technical\_Briefing\_VOC202012-2\_Briefing\_2\_FINAL.pdf>.

**Uwaga:** stanowisko przedstawione w niniejszym artykule nie powinno zostać odebrane ani cytowane jako stanowisko oficjalne lub wygłoszone w imieniu URPL, WM i PB

*Oświadczam, że powyższy artykuł nie był wcześniej publikowany (pod tym samym tytułem lub innym tytułem; nie stanowi również części innej publikacji) w innym wydawnictwie oraz na innym polu medialnym; niniejsze opracowanie nie zawiera treści uzyskanych w sposób niezgodny z obowiązującymi przepisami.*

prof. K. L. Krzystyniak

*\*Fragmenty tez referatów wygłoszonych przez autora, na XV Konferencji Naukowej (online) „Nowości w cukrzycy” Warszawa, 08–09 stycznia 2021 r. oraz Konferencji (online) firmy Ascensia Diabetes Care Kraków, 26 stycznia 2021 r.*

Prof. K.L. Krzystyniak jest autorem książki „Koronawirus: COVID19/MERS/SARS – epidemiologia, leczenie, profilaktyka” Wydawnictwo Medyk, Warszawa 2020 (I edycja: kwiecień 2020; II edycja: wrzesień 2020).