

Covid-19 cjepiva

Klasična vakcine

- Cjepiva za ljudsku upotrebu mogu se podijeliti na:
 - **cjepiva na bazi virusih čestica** ' mogu se sastojati od inaktiviranog virusa koji više nije zarazan ili živog oslabljenog virusa. Budući da se cjelovito inaktivirani virusi ne repliciraju, adjuvanti su potrebni za poticanje imunološkog sustava. Živa oslabljena virusna cjepiva klasično se proizvode pasažiranjem u staničnoj kulturi sve dok ona ne izgube svoja patogena svojstva i nakon vakcinacije mogu izazvati blagu infekciju.
 - **cjepiva na bazi proteina** mogu se sastojati od pročišćenog proteina virusa ili stanica zaraženih virusom, rekombinantnog proteina ili virusom sličnih čestica. Čestice slične virusu sastoje se od strukturnih virusnih proteina potrebnih za stvaranje virusne čestice, ali im nedostaje virusni genom i nestrukturni proteini. Cjepiva na bazi proteina zahtijevaju dodatak adjuvansa - pomoćnog sredstva kako bi se izazvao snažan imunološki odgovor.
- U slučaju SARS-CoV-2, velike količine virusa trebale bi se uzgajati pod uvjetima biološke sigurnosti 3 (BSL3) za cjelovito inaktivirano cjepivo; potrebna su opsežna sigurnosna ispitivanja kako bi se osiguralo da su virusi oslabljeni uživo sigurni i da se ne mogu lako vratiti u divlji tip, a za cjepiva slična virusima treba istovremeno proizvesti nekoliko rekombinantnih proteina.

Klasične vs. Nove generacije cjepiva

- Cjepiva protiv virusnih vektora sastoje se od rekombinantnog virusa (to jest virusnog vektora), često oslabljenog kako bi se smanjila njegova patogenost, u kojem su geni koji kodiraju virusni antigen (1) klonirani tehnikama rekombinantne DNA i mogu biti:
 - **Replicirajući** - zarazi stanice u kojima se proizvodi antigen, ali i susjedne stanice koje mogu zaraziti nove stanice koje će također proizvesti virusne antigene
 - **Ne-replicirajući** - ulaze u stanice i proizvode antigene virusa, ali ne stvaraju se nove virusne čestice. Budući da virusna vektorska cjepiva rezultiraju endogenom proizvodnjom antigena, stimuliraju se i humoralni i stanični imunološki odgovori.
- Jedna od prednosti ovih cjepiva na bazi virusnih vektora je ta što jedna doza može biti dovoljna za zaštitu, kao u slučaju cjepiva Ervebo protiv virusa ebole (1)
- **Cjepiva nove generacije** mogu se razviti na temelju podataka o sekvenci proteina.
- Bilo koji virusni protein koji može inducirati imunološki odgovor važan za neutralizaciju virusne infekcije (to jest, antigen cjepiva), kada je poznat slijed, može se proizvesti i testirati kako bi započeo razvoj cjepiva.
 - To čini proizvodnju cjepiva vrlo prilagodljivom i ubrzava njegov razvoj, kao i u slučaju cjepiva protiv COVID-19
- Za COVID-19 nekoliko virusnih vektora, cjepiva na bazi nukleinske kiseline i stanica koje prezentiraju antigen su u pred-kliničkoj/kliničkoj fazi razvoja.

1. *Henao-Restrepo, A. M. et al. Lancet 389, 505–518 (2017).*

Cjepiva nove generacije

- Cjepiva na bazi nukleinske kiseline sastoje se od DNA ili mRNA i mogu se brzo prilagođavati kada se pojave novi virusi
 - **DNA cjepiva** sastoje se od sintetičke DNA konstrukcije koja kodira antigen cjepiva. Za učinkovito unošenje konstrukta u stanice, nakon injekcije mora uslijediti elektroporacija ili da bi DNA usla u stanicu, pakira se u drugi virus. Nakon unosa u stanice, antigen cjepiva transkribira se iz DNA, pa translatira u protein.
 - **Cjepiva temeljena na mRNA** djeluju na istom principu kao i DNA cjepiva, osim što se zaobilaze prvi koraci (nuklearna translokacija DNA konstrukcije i transkripcija u mRNA). Samoreplicirajuća RNA cjepiva vjerojatno će izazvati zaštitni imunitet upotrebom niže doze, jer se izražava više antigena cjepiva po stanici (3). Budući da mRNA nije vrlo stabilna, ti konstrukti uključuju modificirane nukleozide kako bi se spriječila razgradnja. Molekula nosača neophodna je kako bi se omogućio ulazak mRNA u stanice; najčešće se koriste nanočestice lipida.
- Cjepiva na bazi nukleinskih kiselina induciraju humoralni i stanični imunološki odgovor, ali potrebne su višestruke doze

| Prednosti | Mane |
|---|--|
| Bryo se mogu prilagoditi ya proizvodnju | Nedostatak znanja i iskustva |
| Jeftinija proizvodnja | Transport i skladištenje na niskim temperaturama |
| Izbjegnuta je faza uzgoja u jajetu | Više doza vakcine potrebno |
| Ne izaziva se infekcija | Mogućnost ugradnje u genom (DNA vakcine) |
| Brza proizvodnja u velikim količinama | Niska efikasnost |

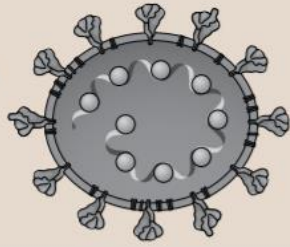
Cjepiva nove generacije

- Stanice koje predstavljaju antigen bitna su komponenta u odgovoru imunološkog sustava na cjepivo.
- Pakiranje stanica koje prezentiraju antigen peptidima koji bi se inače stvorili cijepljenjem zaobilazi prve korake nakon cijepjenja.
- Dendritične stanice se uzimaju od pacijenta, umnožavaju se i manipuliraju kako bi se prezentirao željeni antigen te se transplantiraju natrag pacijentu.
 - Izrazito skupi postupak i
 - Dugotrajan.
- Međutim, razvijaju se umjetne stanice koje prezentiraju antigen, gdje se imortaliyirane stanice transduciraju lentivirusima kako bi učinkovito oponašale stanice koje prezentiraju antigen, kao što je slučaj za COVID-19 / aAPC tipom vakcina.
- U tijeku je kliničko ispitivanje razvoja univerzalnog cjepiva
- Inovativni minigeni Covid-19 konstruirani na temelju više virusnih gena, koristeći učinkoviti lentivirusni vektorski sustav (NHP/TYF) za ekspresiju virusnih proteina i imuno-modulacijske gene za modificiranje stanica koje predstavljaju umjetni antigen (aAPC) i za aktiviranje T stanica. U ovoj kliničkoj studiji istražiti će se sigurnost i imunološka reaktivnost ovog aAPC cjepiva. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04299724 by Shenzhen Geno-Immune Medical Institute

Classical platforms

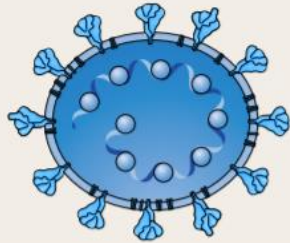
Whole-inactivated virus

Example: Polio vaccine
COVID-19:
PiCoVacc in phase 1
clinical trials



Live-attenuated virus

Example: MMR vaccine
COVID-19:
in preclinical stage



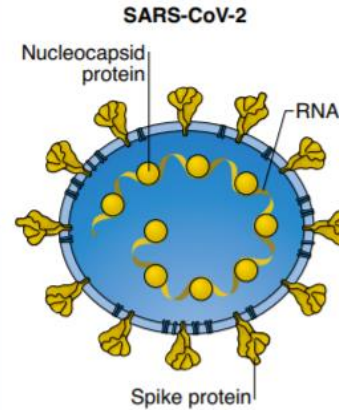
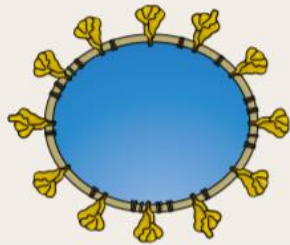
Protein subunit

Example: Seasonal
influenza vaccine
COVID-19:
NVX-CoV2373 in
phase 1/2 clinical trials



Virus-like particle

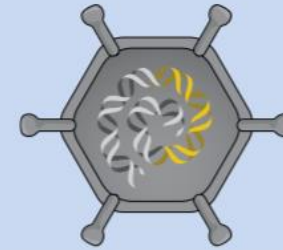
Example: Human
papillomavirus vaccine
COVID-19:
in preclinical stage



Next-generation platforms

Viral vector

Example:
VSV-Ebola vaccine
COVID-19:
AZD1222, Ad5-nCoV
in phase 1/2/3 clinical trials



DNA

Example:
Not currently licensed
COVID-19:
INO-4800 in phase 1
clinical trials



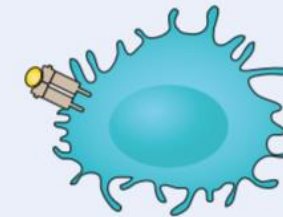
RNA

Example:
Not currently licensed
COVID-19:
mRNA-1273, BNT162
in phase 1/2 clinical trials



Antigen-presenting cells

Example:
Not currently licensed
COVID-19:
LV-SMENP-DC,
COVID-19/aAPC
in phase 1/2 clinical trials



van Riel, Debby ; de Wit, Emmie. Nature materials, 2020-08, Vol.19 (8), p.810-812

There is a worldwide effort to develop an effective vaccine against SARS-CoV-2 and, as of late August 2020, there are 30 vaccines in clinical trials with over 200 in various stages of development

Trenutno najnaprednija cjepiva za Covid-19:

- RNA cjepiva:
 - Pfizer/BioNTech
 - Cjepivo Moderna
- Virusno vektorsko cjepivo:
 - Cjepivo Oxford/AstraZeneca

RNA cjepiva – cjepiva Pfizer/BioNTech i Moderne

- RNA cjepiva pružaju fleksibilnost u dizajnu i izražavanju antigena cjepiva koji mogu oponašati strukturu i ekspresiju antigena tijekom infekcije.
- Za ovo cjepivo RNA
 - je potrebna za sintezu proteina, ali se ne integrira u genom,
 - je privremeno izražena,
 - RNA se metabolizira i eliminira prirodnim mehanizmima,
 - smatra se sigurnom (4-7).
- U kliničkim ispitivanjima pokazalo se da su profilaktička cjepiva na bazi RNA i terapijska sredstva s RNA sigurna i da se dobro podnose.
- Cijepljenje RNA cjepivima izaziva snažan urođeni imunološki odgovor
- RNA cjepiva mogu se modificirati uključivanjem 1-metilpseudouridina, koji smanjuje urođeni imunološki odgovor na stranu RNA i povećava translaciju mRNA in vivo.
- BNT162b1 (Pfizer/BioNTech) RNA trenutno u kliničkoj fazi istraživanja uključuje 1-metilpseudouridin modificiranu mRNA i kodira domenu koja veže receptor SARS-CoV-2, ključnu za vezanje antitijela koja neutraliziraju virus ili BNT162b2, koji kodira cijeli receptor SARS-CoV-2.
 - Bol na mjestu injekcije bila je česta nuspojava, a nakon druge doze, česte sistemske reakcije uključuju umor, glavobolju, osjećaj hladnoće, bolove u mišićima i zglobovima. Mulligan MJ i sur. medRxiv. (2020.)
- Cjepiva Moderne je u 3 fazi kliničkog istraživanja, ispituje reakciju mRNA cjepiva, mRNA-1273, koje kodira stabilizirani prefuzni protein SARS-CoV-2 (S-2P)
 - Nuspojave su pretežno blage ili umjerene težine, a najčešće uključuju umor, hladnoću, glavobolju, bol u mišićima i bol na mjestu injekcije. Jackson LA et al. N Engl J Med. (2020)

4. Alberer, M. et al. Lancet 390, 1511–1520 (2017).

5. Feldman, R. A. et al. Vaccine 37, 3326–3334 (2019).

6. Kranz, L. M. et al. Nature 534, 396–401 (2016).

7. Şahin, U. et al. Nature 547, 222–226 (2017).

Virusno vektorsko cjepivo - Oxford/AstraZeneca

- Oxfordsko cjepivo izrađeno je od adenovirusa koji uzrokuje prehladu i izolirano iz stolice čimpanza te modificirano tako da se više ne replicira u stanicama.
- Nakon vakcinacije, ljudske stanice proizvode spiralni protein SARS-CoV-2 - glavnu metu imunološkog sustava u koronavirusima.
- Utvrđeno je da je cjepivo koje su razvili na Sveučilištu u Oxfordu u Velikoj Britaniji i farmaceutska tvrtka AstraZeneca u prosjeku učinkovito 70% u preliminarnoj analizi podataka ispitivanja faze III
- Cjepivo je stabilno na +4°C, za razliku od cjepiva Pfizer i BioNTech, koja se moraju čuvati na -70 °
- Odgovor s visokim neutralizirajućim antitijelima (NAb) utvrđen je u 91% sudionika u različitim testovima nakon prve doze. Svi sudionici nakon druge doze imali su visok odgovor na NAb, što potvrđuje potrebu booster dojom (dvije doze) za povećanje odgovora na NAb. Folegatti PM, i sur. Lanceta. (2020) 396: 467–78
- Odgovor T-stanica, uočen kod svih sudionika, s najvećom količinom 14. dana, ali ostaje na viokoj razini do 56. dana. Međutim, istraživači nakon druge doze nisu primjetili porast odgovora T-Stanica kod pacijenata.

Zaključci

- Cjepiva bi trebala biti **sigurna** i **djelotvorna** i ne bi smjela inducirati pojačanu bolest nakon naknadne infekcije, bilo pojačanom respiratornom bolešću povezanu vakcinacijom ili pojačanim djelovanjem ovisnim o antitijelima, kao što je u prošlosti primijećeno kod određenih cjepiva protiv SARS-CoV na životinjskim modelima (4)
- Kako bi se spriječila teška bolest nakon infekcije, cijepljenje bi trebalo rezultirati ili (a) potpunim ukidanjem ili značajnim smanjenjem prijenosa unutar populacije indukcijom imuniteta „stada” ili (b) prevencijom teške bolesti kod svih cijepljenih osoba.
- Jednokratno cjepivo stabilno na +4 °C pridonijelo bi lakšem procijepljivanju velikog broja ljudi na globalnoj razini.
- Poželjnije je cjepivo koje bi izazvalo dugotrajni imunitet, ali godišnje cijepljenje kao cjepivo protiv gripa je također izvedivo.
- Za izazivanje imuniteta stada SARS-CoV-2 virusa zahtijevao bi cijepljenje ~ 67% populacije (5), što je prosjek i trebalo bi uključivati osjetljive skupine.
- Posljednjih godina povećava se broj antivaksera u mnogim zemljama, a nedavno je istraživanje pokazalo da 26% francuske populacije neće uzimati cjepivo protiv SARS-CoV-2 (6).

4. *Graham, B. S. Science 368, 945–946 (2020).*

5. *Randolph, H. E. & Barreiro, L. B. Immunity 52, 737–741 (2020)*

6. *Coconel Group Lancet Infect. Dis. 20, 769–770 (2020)*

Rizične populacije

- Dvije važne rizične skupine za razvoj teških simptoma uzrokovanih COVID19, su starije osobe (> 65 godina) i pretila osobe (indeks tjelesne mase > 40) koje su ranije su bile povezane sa smanjenom učinkovitošću klasičnih cjepiva nakon vakcinacije.
- Ostale rizične skupine su pacijenti na kemoterapiji, imunokompromitirani pacijenti, pacijenti koji su podvrgnuti zračenju. Raylog je imunosupresije imunološkog sustava zbog koje se možda organizam neće moći boriti protiv neželjenih virusa.
 - mnogi pacijenti s rakom nose rizik od infekcija zbog same maligne bolesti (npr. leukemije) i zbog terapije usmjerene na rak.
- S obzirom na podmaklu dob, popratne bolesti i imunološku disfunkciju, bolesnici s kroničnom limfocitnom leukemijom (CLL) mogu biti u posebno visokom riziku od infekcije i loših ishoda povezanih s koronavirusom (COVID-19), a bolesnici s CLL i s COVID-19 imaju višu stopu smrtnosti od ostale zdrave populacije. Mato AR. i sur. Krv (2020) 136 (10): 1134–1143
- Hoće li nova cjepiva imati povećanu imunogenost u tim rizičnim skupinama u usporedbi s klasičnim pristupima cijepjenju, još će se utvrditi

Trenutno novosti u razvoju vakcina protiv COVID-19

- Ujedinjeno Kraljevstvo postalo je prva država koja je odobrila cjepivo COVID-19 koje je testirano u velikom kliničkom ispitivanju. Dana 2. prosinca, britanski regulatori dali su odobrenje za uporabu cjepivu Pfizer i BioNTecha, samo sedam mjeseci nakon početka kliničkih ispitivanja.
- Britanski zdravstveni radnici, kao i osoblje i štíćenici, mogli bi dobiti prve doze prije Božića 2020. godine.
- Kina i Rusija su već odobrile cjepiva, i to prije završetka istraživanja na ljudima.
- Očekuje se da će regulatorni organi u Sjedinjenim Američkim Državama i u Europi donijeti svoje odluke sljedećih tjedana.
- Glavna ispitivanja cjepiva do danas su obuhvatila desetke tisuća ljudi, ali njihovi zaključci o učinkovitosti izvode se iz infekcija u manje od 200 ljudi.
- Nitko od kandidata za cjepivo nije dokazao da je u potpunosti sprečena infekcija ili da će cijepljenje dovesti do smanjenja širenja bolesti u populaciji.
- Postoji vjerojatnost da bi oni ljudi koji su cijepljeni mogli ostati osjetljivi na asimptomatsku infekciju - te mogu tu infekciju prenijeti drugima!
- "U najgorem slučaju, ljudi će se šetati okolo i osjećati se dobro, ali posvuda širiti virus", kaže virolog Stephen Griffin sa Sveučilišta Leeds u Velikoj Britaniji.