

Современные технологии иммунопрофилактики. ДНК-вакцины

Доцент кафедры
молекулярной биологии и генетики
к.м.н. Замарина Т.В.

ВАКЦИНЫ – антигенные препараты или их аналоги для создания искусственного активного иммунитета с целью профилактики и лечения инфекционных и некоторых неинфекционных заболеваний

ОСНОВОПОЛОЖНИКИ ВАКЦИНОЛОГИИ



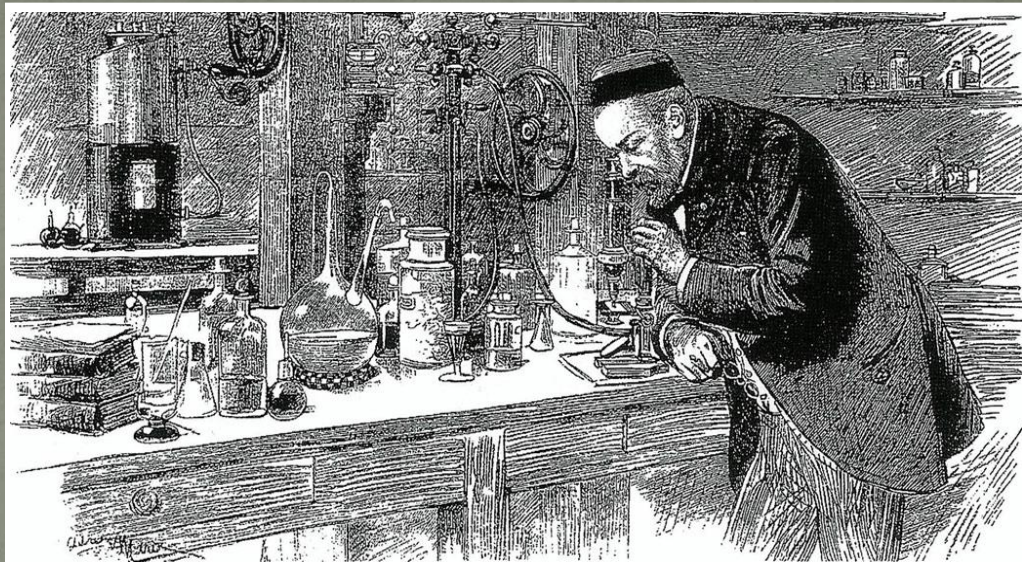
Эдвард Дженнер
(1749-1823)



ОСНОВОПОЛОЖНИКИ ВАКЦИНОЛОГИИ



Луи Пастер
(1822-1895)





The Cow-Pock — or — the Wonderful Effects of the New Inoculation! — Pub. June 10. 1802. by H. Humphrey, 15, Cornhill Street.
Side — the Publications of the Anti-Vaccination Society.

Wellcome Images

[James Gillray](#) (1756–1815)

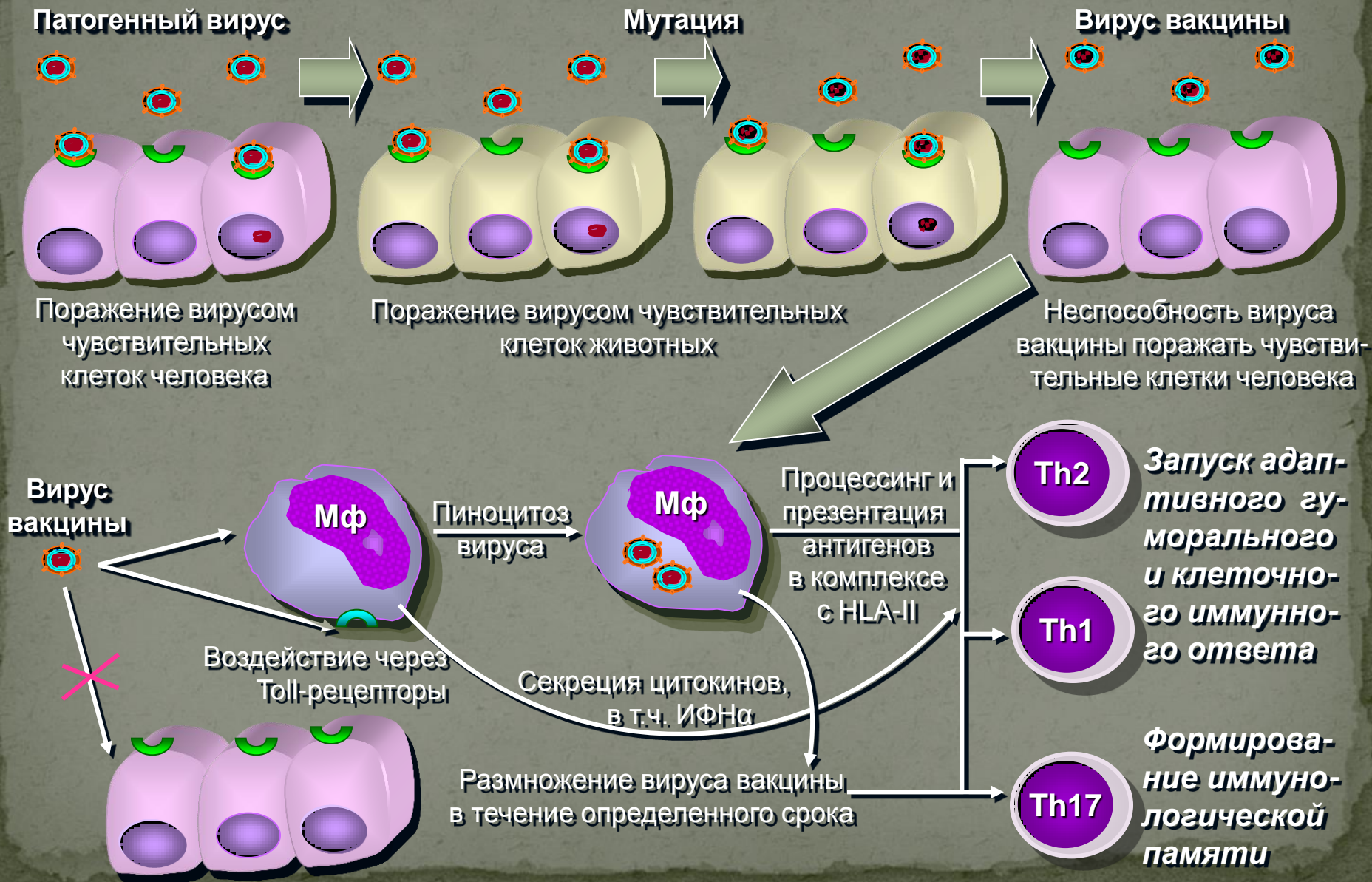
ВИДЫ ВАКЦИН



ЖИВЫЕ ВАКЦИНЫ: ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

- Живые вакцины изготавливают на основе ослабленных (аттенуированных) штаммов микроорганизма со стойко закрепленной авирулентностью (безвредностью)
- Вакцинный штамм после введения размножается в организме привитого и вызывает вакцинальный инфекционный процесс, которому большинства привитых протекает без выраженных клинических симптомов и приводит к формированию стойкого иммунитета
- Вакцинация производится, как правило, однократно только с профилактической целью
- У иммунокомпроментированных лиц живые вакцины могут проявлять реактогенность
- **Недостатки живых вакцин:** возврат патогенности, остаточная вирулентность, неполная инаktivация, часто содержат микробы-загрязнители (контаминанты), требуют специальных условий хранения и, как правило, парентерального введения
- Примеры: вакцины против краснухи (Рудивакс), кори (Рувакс), полиомиелита (Полио Сэбин Веро), туберкулеза (БЦЖ), паротита (Имовакс Орейон).

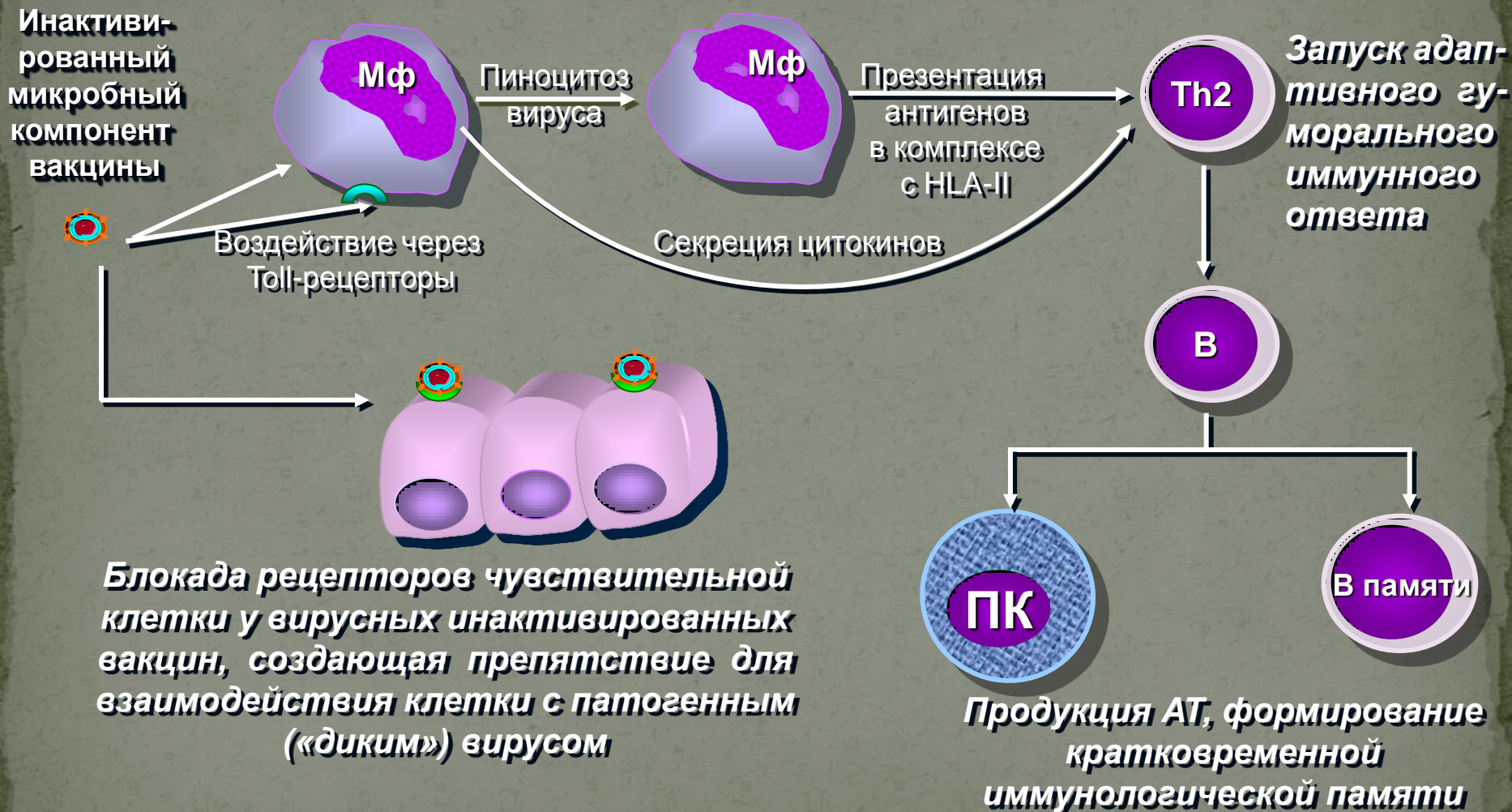
ЖИВЫЕ ВАКЦИНЫ: СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ И ИММУННЫЙ ОТВЕТ



ИНАКТИВИРОВАННЫЕ ВАКЦИНЫ: ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

- Инактивированные (убитые) вакцины представляют собой бактерии или вирусы, инактивированные химическим (формалин, спирт, фенол) или физическим (тепло, радиация, ультрафиолетовое облучение) воздействием, либо содержат компоненты клеточной стенки или др. частей возбудителя
- **Положительные стороны:** корпускулярные убитые вакцины легче дозировать, лучше очищать, они длительно хранятся и менее чувствительны к температурным колебаниям, возможно применение не только для профилактики, но и для лечения
- **Отрицательные стороны:** вакцина может содержать до 99 % балласта и поэтому реактогенна, она нередко содержит агент, используемый для инактивации микробных клеток (фенол и др.), микробный штамм не приживляется, поэтому вакцинация проводится в 2 или 3 приема (бустерные иммунизации), требует частых ревакцинаций (АКДС)
- Иммунный ответ на инактивированную вакцину **качественно** отличается от такового на живую вакцину
- Примеры: коклюшная (как компонент АКДС и Тетракок), антирабическая, лептоспирозная, гриппозные цельновирионные, вакцины против энцефалита, против гепатита А (Аваксим), инактивированная полиовакцина (Имовакс Полио или как компонент вакцины Тетракок)

ИНАКТИВИРОВАННЫЕ ВАКЦИНЫ: ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУННОГО ОТВЕТА



АНАТОКСИНЫ

Анатоксины — препараты, полученные из бактериальных экзотоксинов, полностью лишённые токсических свойств, но сохранившие антигенные и иммуногенные свойства

Нативные анатоксины (по Рамону)

Культивирование бактерий, продуцирующих экзотоксины, в жидкой питательной среде. Фильтрация через бактериальные фильтры для удаления микробных тел. Инкубирование с 0,3—0,4% раствором формалина в термостате при 37—40°C в течение 3—4 недель. Высокое содержание компонентов питательной среды, которые являются балластными и могут способствовать развитию нежелательных реакций организма.

Адсорбированные анатоксины

Для очищения нативных анатоксинов они подвергаются обработке различными физическими и химическими методами (ионообменная хроматография, кислотное осаждение и др.), в результате которых получается концентрированный препарат, который адсорбируется на адьювантах. Активность анатоксина определяется в реакции флоккуляции и выражается в единицах флоккуляции, или в реакции связывания анатоксинов и выражается в единицах связывания (ЕС).

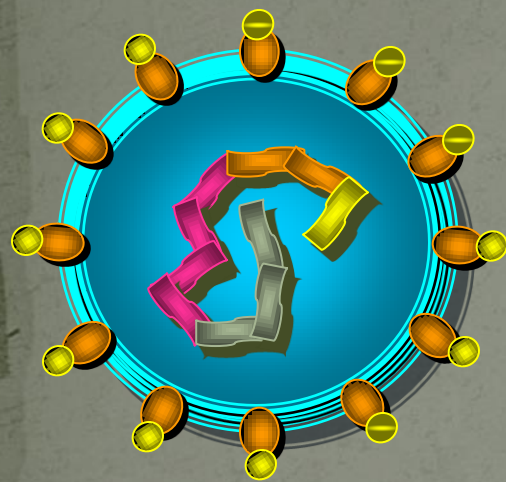
ПРИМЕРЫ: Анатоксины применяются для профилактики и, реже, лечения токсинемических инфекций (дифтерии, газовой гангрены, ботулизма, столбняка, холеры и некоторых заболеваний, вызванных стафилококками)

ХИМИЧЕСКИЕ ВАКЦИНЫ: ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

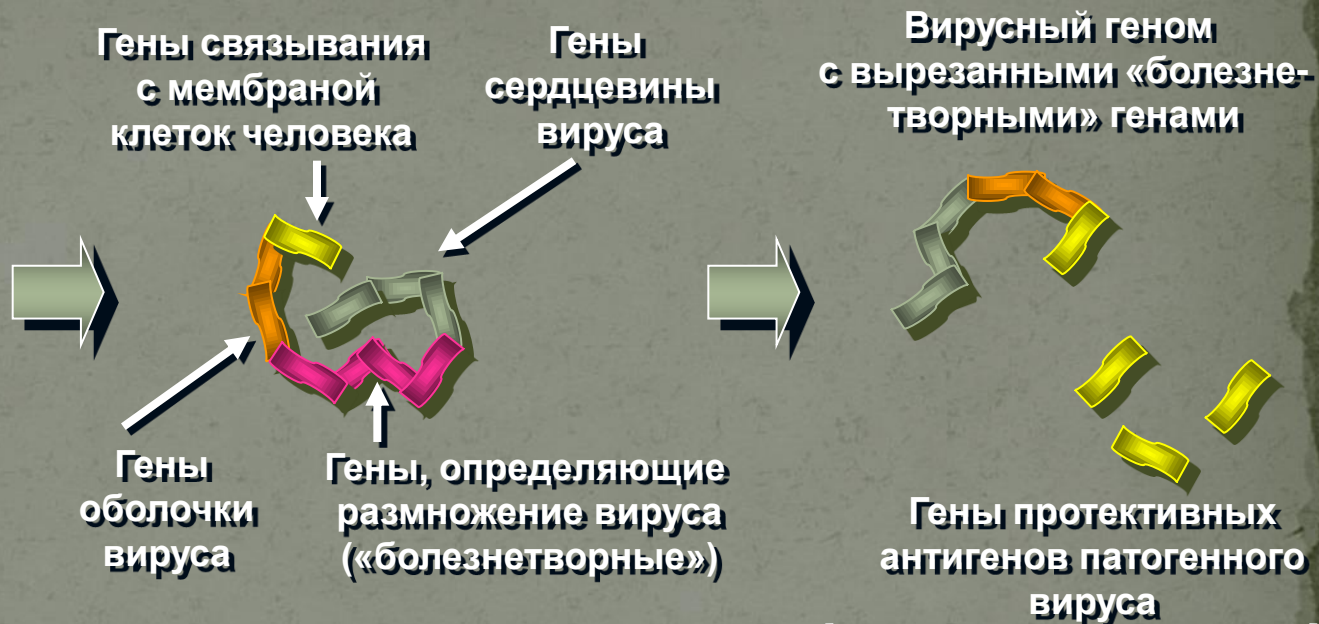
- Химические вакцины создаются из антигенных компонентов, извлеченных из микробной клетки
- Химические вакцины не содержат «балласта» и **наименее реактогенны**
- Примеры: **полисахаридные** вакцины против менингококковой инфекции групп А и С (Менинго А+С), гемофилус инфлюэнца типа b (Акт-ХИБ), пневмококковой инфекции (Пневмо 23), вакцина с Vi-антигеном брюшнотифозных бактерий (Тифим Ви), ацеллюлярные коклюшные вакцины
- Бактериальные полисахариды являются **тимуснезависимыми** антигенами, неспособными к формированию Т-клеточной иммунологической памяти (особенно у детей), в связи с чем используют их конъюгаты с белковым носителем (дифтерийным или столбнячным анатоксином в количестве, не стимулирующем выработку соответствующих антител, или с белком самого микроба, например, наружной оболочки пневмококка) – это **конъюгированные вакцины**

Примечание: конъюгированные вакцины не следует путать с препаратами ассоциированных вакцин, содержащих и анатоксины, и инактивированные вакцины в иммуногенных дозировках (например, АКДС)

ГЕНОИНЖЕНЕРНЫЕ ВАКЦИНЫ: ПРИНЦИПЫ ПОЛУЧЕНИЯ



Вирус, патогенный для человека



Встраивание генов протективного антигена

В генетический аппарат дрожжевых клеток

В генетический аппарат непатогенных для человека бактерий

В генетический аппарат непатогенных для человека вирусов

В состав «химерного» вируса

В плазмиду и далее в липосому

В геном растений, употребляемых человеком в пищу

ВИДЫ ГЕННОИНЖЕНЕРНЫХ ВАКЦИН

ГЕН ПРОТЕКТИВНОГО АНТИГЕНА

В составе генетического аппарата дрожжевых клеток

В составе генетического аппарата непатогенных для человека бактерий

В составе генетического аппарата непатогенных для человека вирусов

В составе «химерного» вируса

В составе плазмиды, введенной в липосому

В составе генома растений, употребляемых человеком в пищу

Культивирование дрожжей с накоплением в среде целевого антигена, выделение его, очистка, приготовление вакцины путем связывания с адъювантом

Введение трансформированного микроорганизма (сальмонеллы, осповакцины, вирусы птичьей оспы, аденовирусы) в организм человека, продукция ими целевого антигена в самом организме

Введение плазмиды с геном протективного антигена внутрь клеток макроорганизма с последующим синтезом этого антигена в организме (около года)

Употребление в пищу трансгенных растений, не требующих термической обработки и содержащих ген протективного антигена

РЕКОМБИНАНТНЫЕ СУБЪЕДИНИЧНЫЕ ВАКЦИНЫ

Примеры: вакцины против гепатита В, вируса папилломы человека (ВПЧ), ротавирусов

РЕКОМБИНАНТНЫЕ ВЕКТОРНЫЕ ВАКЦИНЫ

Примеры: вирус корьей оспы применен для создания вакцины против ВИЧ-инфекции; сальмонеллы использованы как носители антигенов вируса гепатита В

ДНК-ВАКЦИНЫ

Примеры: на стадии испытаний вакцины против гепатитов В и С, гриппа, лимфоцитарного хориоменингита, бешенства, ВИЧ, энцефалита, сальмонеллеза, туберкулеза, лейшманиоза, малярии

РАСТИТЕЛЬНЫЕ ВАКЦИНЫ

Примеры: «картофельные» вакцины, содержащие HBsAg, В-субъединицу холерного анатоксина, антигены патогенной кишечной палочки

ПРОБЛЕМЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГЕНОИНЖЕНЕРНЫХ ВАКЦИН

Многие рекомбинантные вакцины вызывают слабый иммунный ответ, возможно, из-за того, что в таких препаратах содержится «голый» белок и отсутствуют другие молекулярные структуры, часто необходимые для запуска иммунного ответа – отсюда потребность в веществах-усилителях (адьювантах)

Не все ясно с безопасностью ДНК-вакцин:

- необходимо исключить онкогенную опасность, так как недостаточно изучено, может ли вводимая ДНК встраиваться в геном клетки человека и вызывать риск развития рака;**
- образование антигена в организме может продолжаться длительное время (до нескольких месяцев), а это может привести к развитию различных форм иммуносупрессии и других патологических явлений;**
- чужеродная ДНК может вызвать образование анти-ДНК-антител, которые способны индуцировать различные формы аутоагрессии и иммунопатологии;**
- сам образующийся протективный антиген может обладать побочным биологическим действием**

Существует немало опасений и сомнений в отношении "съедобных растительных вакцин":

- насколько интенсивен будет иммунный ответ на пищевые продукты,**
- сохранится ли антиген в кислой среде желудка,**
- какова экспозиция для "созревания" растительных вакцин,**
- способны ли антигены переносить хранение пищевых продуктов,**
- как оптимально дозировать препарат**

ВАКЦИНЫ, ПРОИЗВОДИМЫЕ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

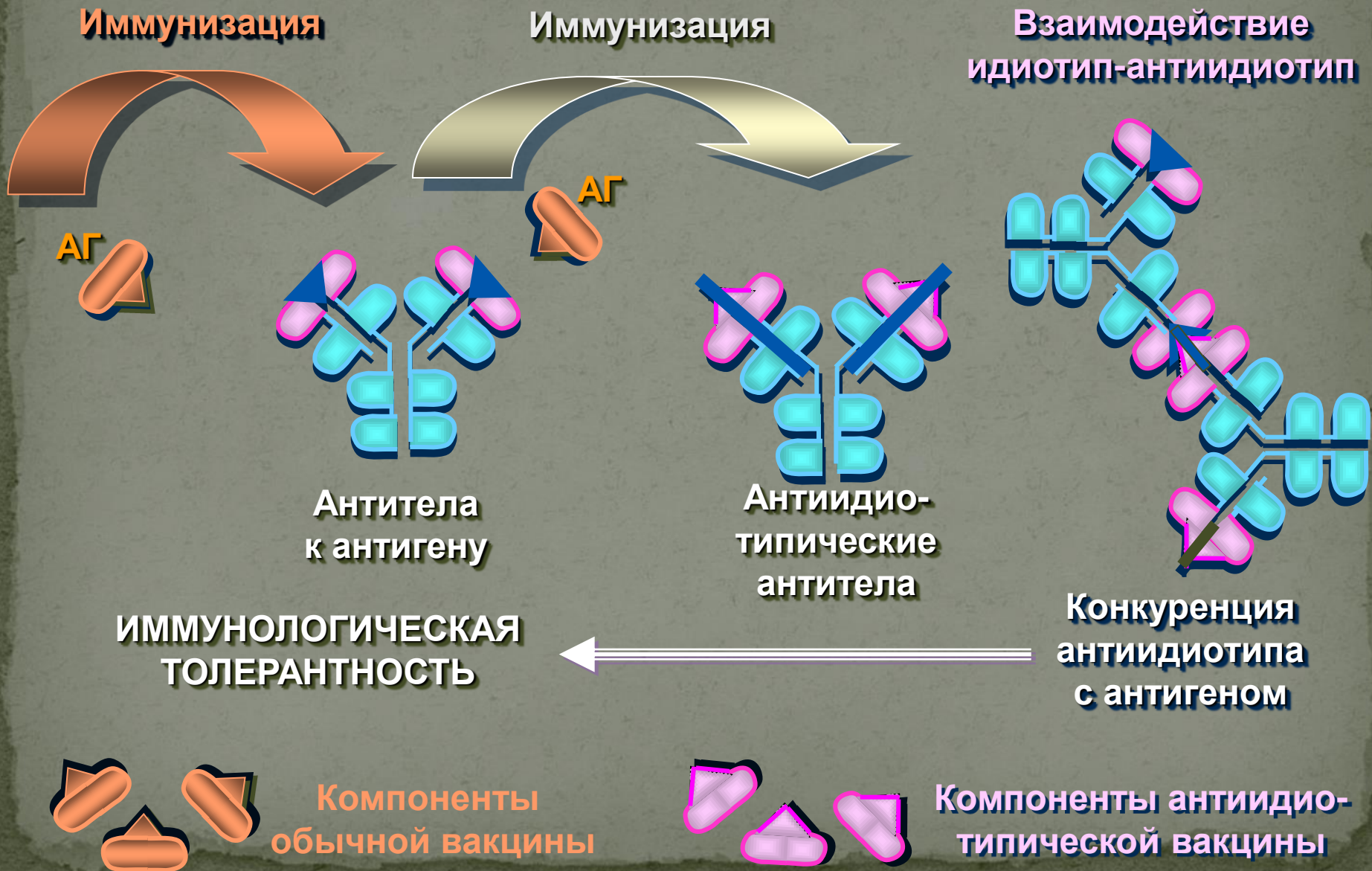
<i>Виды вакцин</i>	<i>Инфекции, для профилактики которых применяются вакцины</i>
Живые вакцины	Бруцеллез, грипп, корь, лихорадка Ку, желтая лихорадка, эпидемический паротит, полиомиелит, сибирская язва, туберкулез, сыпной тиф, туляремия, чума
Инактивированные и субъединичные вакцины	Бешенство, брюшной тиф, грипп, клещевой энцефалит, коклюш, холера, лептоспироз, гепатит А, сыпной тиф, герпес I и II типа
Химические вакцины	Менингококковая инфекция, холера, брюшной тиф
Анатоксины	Дифтерия, столбняк, гангрена, ботулизм, холера, стафилококковые и синегнойные инфекции
Рекомбинантные вакцины	Гепатит В (Эувакс В)
Вакцины с искусственным адъювантом	Гриппозная вакцина с полиоксидонием, вакцина гепатита А с полиоксидонием

СИНТЕТИЧЕСКИЕ ВАКЦИНЫ: ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

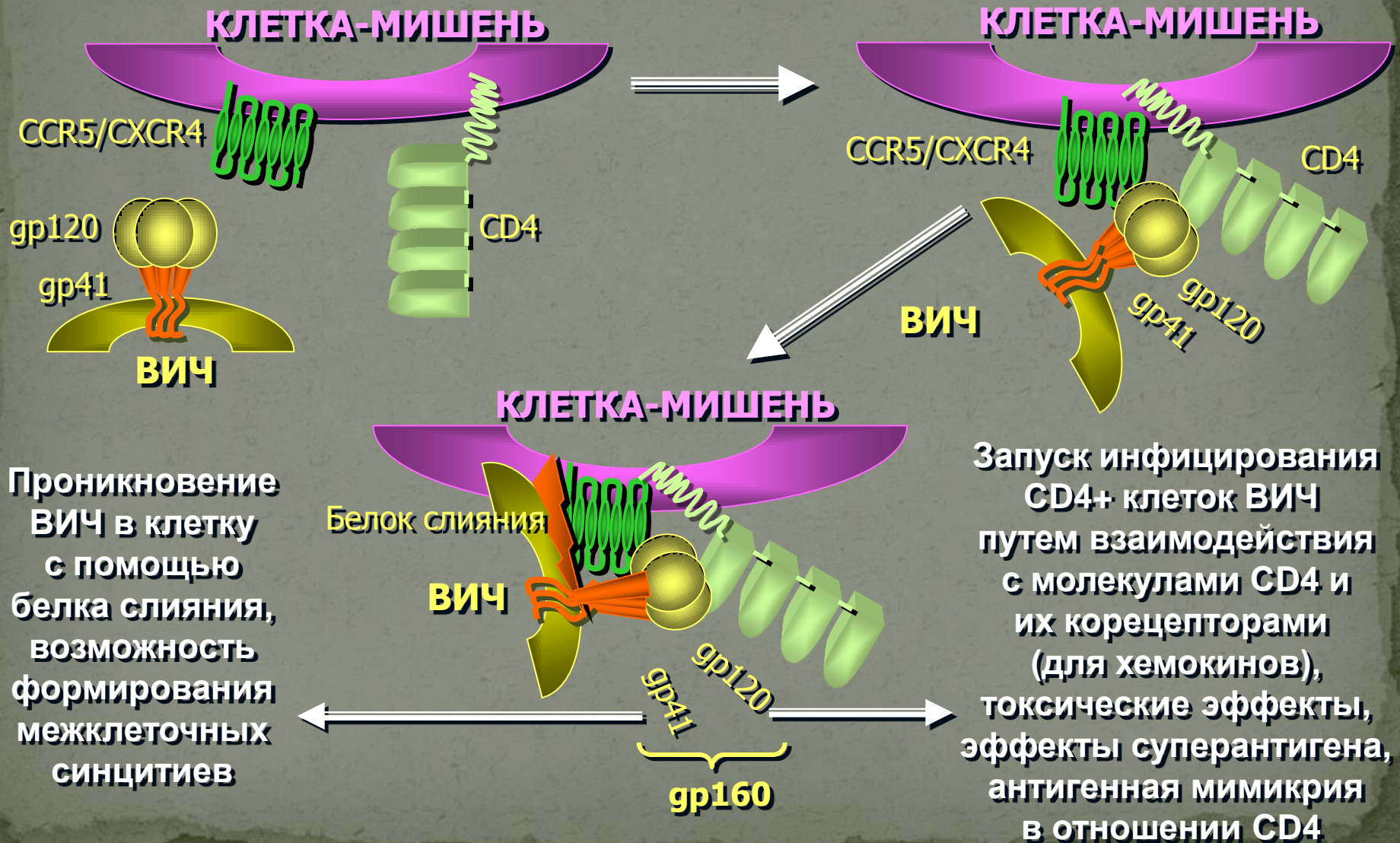
- Синтетические вакцины представляют собой синтезированные из аминокислот пептидные фрагменты, которые соответствуют аминокислотной последовательности тем структурам вирусного (бактериального) белка, которые распознаются иммунной системой и вызывают иммунный ответ
- **Положительные стороны:** у синтетических пептидов нет недостатков, характерных для живых вакцин (возврат патогенности, остаточная вирулентность, неполная инаktivация и т.п.). Синтетические вакцины обладают высокой степенью стандартности, они слабо реактогенны и безопасны
- **Отрицательные стороны:** синтетические вакцины менее эффективны, по сравнению с традиционными, т.к. дают меньшую иммуногенность, нежели нативные микробные антигены. Однако, сочетанное использование одного или двух иммуногенных белков в составе синтетической вакцины обеспечивает формирование иммунологической памяти

Примеры: экспериментальные синтетические вакцины получены против дифтерии, холеры, стрептококковой инфекции, гепатита В, гриппа, ящура, клещевого энцефалита, пневмококковой и сальмонеллезной инфекций

АНТИИДИОТИПИЧЕСКИЕ ВАКЦИНЫ: ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

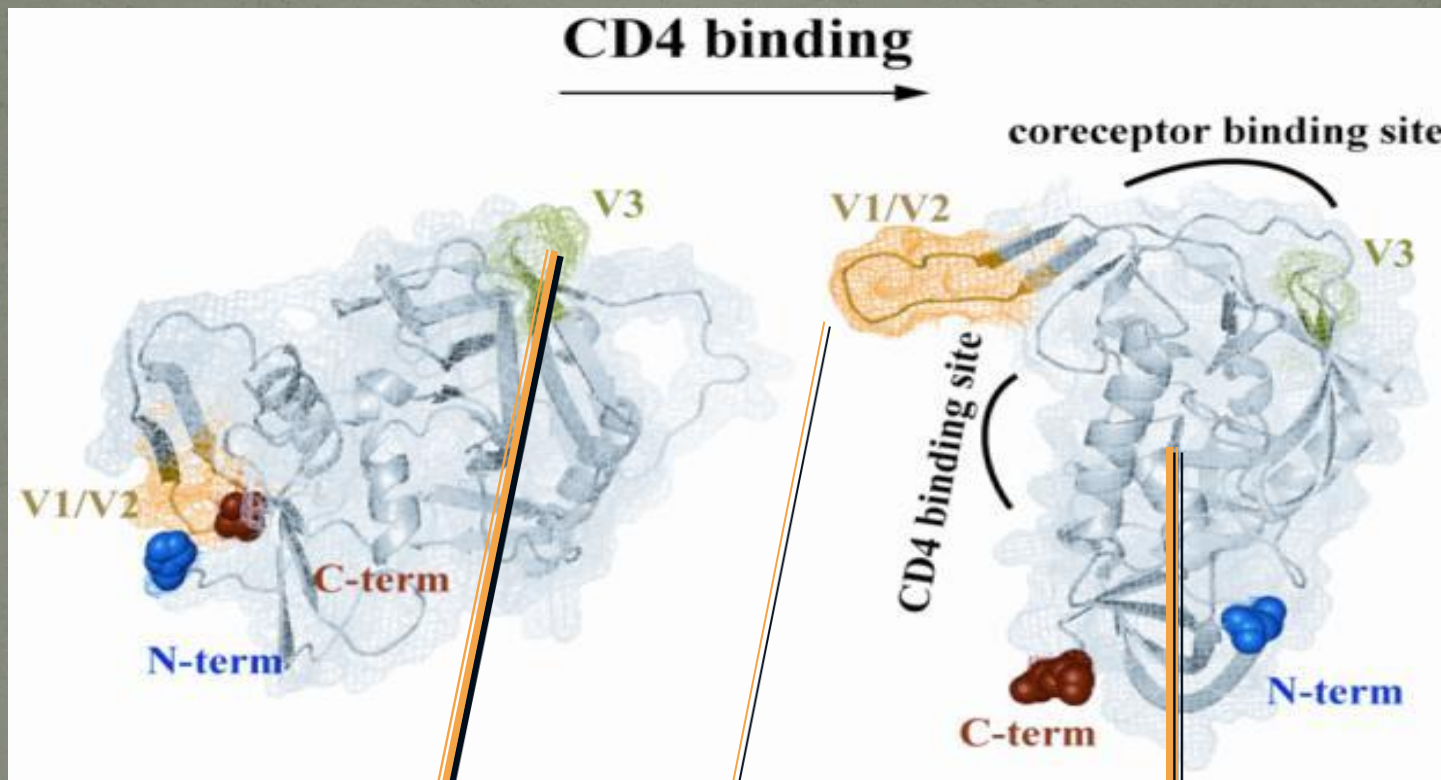


ПРОЦЕСС ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ВИЧ С РЕЦЕПТОРАМИ КЛЕТКИ-МИШЕНИ – CD4



СТРУКТУРА gp120 И КОНФИГУРАЦИОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭТОГО БЕЛКА В ПРОЦЕСС ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ВИЧ С CD4 РАЗНЫХ КЛЕТОК

До взаимодействия с CD4



После взаимодействия с CD4

Активация В-лимфоцита суперантигеном gp120

Изменчивость ВИЧ

Инфицирование Т-лимфоцита и моноцита/макрофага через gp120

НЕАНТИГЕННЫЕ ВАКЦИНЫ

Неантигенные вакцины содержат клетки организма человека в состоянии иммунизации или их отдельные компоненты, а также компоненты клеток микроорганизмов, отвечающих за образование антигенов

РИБОСОМАЛЬНЫЕ ВАКЦИНЫ

Принцип получения:

Вакцины получают в форме рибосом, имеющих в каждой клетке и продуцирующих белки в соответствии с матрицей – информационной РНК.

В состав вакцины входят рибосомы бактерий разных видов

Примеры:

Вакцины для профилактики и лечения инфекционных процессов респираторного тракта (ИРС-19, Рибомунил, бронхомунал), а также дизентерийная вакцина

ДЕНДРИТНЫЕ ВАКЦИНЫ

Принцип получения:

Из крови больного выделяют предшественники дендритных клеток и культивируют в лабораторных условиях. Одновременно из опухоли пациента выделяют белки-антигены и добавляют к дендритным клеткам. Дендритные клетки в состоянии презентации опухолевых антигенов возвращают в организм больного для более эффективной борьбы с опухолью.

Примеры:

У мышей дендритные вакцины помогают предупредить повторное развитие карциномы после удаления опухоли. Испытания этих вакцин на людях с IV стадией заболевания показали их безвредность и, реже, – положительный клинический эффект

ВАКЦИНЫ ДЛЯ БОРЬБЫ С НЕИНФЕКЦИОННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

За последние годы методами генной инженерии разработаны вакцины:

- Для терапии – против *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, провоцирующей астму и атеросклероз *Chlamydia pneumoniae*
- Для терапии и хирургии: завершено доклиническое изучение вакцины из цельных клеток *Helicobacter pylori* для профилактики язвы желудка и двенадцатиперстной кишки
- Для стоматологии – против бактерии *Porphyromonas gingivalis*, вызывающей воспаление десен

Полным ходом идет разработка препаратов для иммунопрофилактики и иммуно-терапии онкологических заболеваний. В опухоль можно вводить разные гены в составе ДНК-вакцин: те, что кодируют раковые антигены, гены цитокинов и иммуномодуляторов, гены «уничтожения» клетки. Все эти гены можно использовать одновременно, организуя массированную атаку вакцинами разных видов

Есть надежда, что в XXI веке вакцины помогут снизить заболеваемость диабетом, миокардитом, атеросклерозом и другими «неинфекционными» болезнями. В перспективе — создание средств иммунологической защиты от наркозависимости и курения, конструирование вакцин для лечения и предупреждения аллергии, аутоиммунных заболеваний

ВОЗМОЖНЫЕ МАЛОИЗУЧЕННЫЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ВАКЦИНАЦИИ

Вакцинация детей в США против паротита проявила нечаянный «побочный» эффект: резко снизилась заболеваемость эндокардитом. Обследование подтвердило, что большинство больных, страдающих этим тяжелым заболеванием, приводящим к порокам сердца, в раннем детстве перенесли паротит

При инфицировании человека ретровирусами, реовирусами, цитомегаловирусом и вирусом Эпштейна—Барр, происходит формирование антител, которые атакуют клетки поджелудочной железы, что может привести к развитию инсулинозависимого диабета. Ожидает ли человека тот же эффект при вакцинации этими вирусами?

У 10–20% пациентов с синдромом врожденной краснухи, то есть у детей, матери которых переболели краснухой в последнем триместре беременности, развиваются нарушения углеводного обмена, не связанные с прямым действием возбудителя. Наблюдаются ли эти явления при вакцинации против краснухи?

ВАКЦИНАЦИЯ – одно из величайших достижений человечества в области медицины и сохранения здоровья человека в глобальном масштабе. Перспективы развития вакцинологии безграничны, но им сопутствует огромное число как прикладных, так и фундаментальных проблем.

Осложнения прививок, причины:

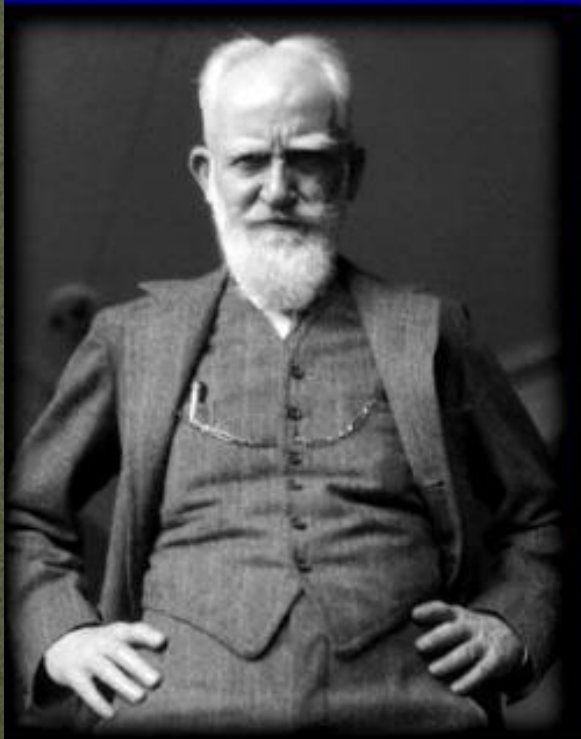
- Побочные реакции при проведении плановых прививок в настоящее время достаточно редки. Различают общие и местные осложнения.
- К местным осложнениям относят реакции в месте введения вакцины — покраснение, нагноение, лимфаденит;
- Общие осложнения: аллергические реакции, повышение температуры тела, появление симптомов инфекционного заболевания.



Противники Вакцин

“...И Вы дадите ваше нежное, беззащитное дитя доктору чтобы он взял эту, соскобленную вместе с грязью, с вымени коровы, дрянь, и втёр в ранку на коже вашего ребенка?...”

-George Bernard Shaw –
1929 Smallpox Vaccine



вирусолог Г. П. Червонская



- автор статьи «Ну подумаешь укол», в газете «Комсомольская правда» от 15 сентября 1988 г.,
- Именно ее «разоблачительными» публикациями в прессе определялся 1 й этап антипрививочного движения .
- нарастание числа отказов от вакцинации спровоцировало эпидемию дифтерии, унесшую более 4 тысяч жизней
- что привело ко 2-му этапу антипрививочного движения – его спаду.

Последствия отказа от прививок

- Противники профилактических прививок должны знать о том, что последствия инфекций могут оказаться гораздо серьезнее, чем обычные «детские» болезни.

Так, осложнением кори может быть *инсулинозависимый сахарный диабет*, а после краснухи может развиваться *энцефалит* (воспаление головного мозга). В 30% случаях полиомиелит заканчивается остаточными *параличами с атрофией мышц*, приводя к инвалидности.





СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!