

## **VYHLÍDKY NA VÝVOJ VAKCÍN PROTI AIDS, TBC A MALÁRII** (Prospects for Vaccines to Protect Against AIDS, Tuberculosis, and Malaria)

Letvin N.L., Bloom B.R., Hoffman S.L.  
JAMA, Vol.285, 2001, č.5., s. 606-611  
Volně přeložil a zkrátil MUDr. Plesník

**Vzhledem ke zdravotním problémům, které na celém světě vyvolávají AIDS, TBC a malárie, je nutné vyvinout vakcíny k jejich prevenci. Nové pokroky poznatků o těchto infekcích naznačují, že na ochraně proti nim se významně podílí imunita zprostředkovávaná T-lymfocyty. Slibným se proto zdá vývoj nových vakcín, které by navozovaly tento typ imunity vůči uvedeným nákazám.**

Očkování je asi tím nejúčinnějším zdravotnickým opatřením proti infekcím. V posledních 25 letech se podařilo očkováním eradikovat variolu na celém světě, eliminovat poliomyelitidu na západní polokouli a v Severní Americe i v Evropě eliminovat infekce vyvolávané *Haemophilus influenzae* typu b.

AIDS, TBC a malárie (MA) jsou mnohem větším problémem v ekonomicky slabých státech, ale výzkum a vývoj účinných vakcín vůči nim nemá dostatečnou finanční podporu. V této práci je popisován celkový dopad AIDS, TBC a MA, podán je současný přehled poznatků o možnostech mobilizace imunitního systému vůči těmto infekcím a jsou uvedeny výsledky vývoje nadějných vakcín.

### **A I D S**

Podle údajů OSN na AIDS zemřelo již ve světě 18,8 milionu lidí a 34,3 milionu je infikováno HIV. Pouze za rok 1999 se nově infikovalo HIV více než 5,4 milionu lidí. Počet sirotků jejichž rodiče zemřeli na AIDS dosáhl více než 13,2 milionu dětí. Infekce má katastrofální dopad na počty dětí, úmrtnost matek, průměrnou délku života i ekonomickou situaci celých států. V 16 zemích je HIV infikována více než desetina populace ve věku 15-49 let. V Botswaně HIV infikuje dokonce 35,8% dospělé populace a v Jižní Africe je infikováno 19,9% dospělých osob.

Antivirová terapie má při potlačování epidemie AIDS jen omezený efekt. I když potlačuje replikaci viru, ten v těle infikovaných persistuje a to i tehdy, když terapie snížila hladinu viru v krvi pod detekovatelnou hranici. Pokračující replikace HIV umožňuje vznik variant viru, rezistentních na antiretrovirové léky. Mnohem závažnější je však fakt, že náklady na zajištění léčby těmito preparáty pro miliony infikovaných je nad možnosti rozvojových zemí. Kontrola infekce HIV je ve světě možná jen pomocí účinné vakcíny.

Většina infekcí HIV vzniká po pohlavním styku. Až na vzácné výjimky jsou všichni lidé vnímaví k této nákaze. HIV způsobuje poruchu imunity několika mechanismy, ale hlavním je úbytek CD4 T-lymfocytů. Protilátky proti povrchovým glykoproteinům HIV dokážou in vitro neutralizovat virus a u některých primátů i zablokovat infekci. Ale pro extrémní proměnlivost sekvencí glykoproteinů v obalu viru působí tyto neutralizační protilátky jen vůči kmenu který vyvolal jejich tvorbu. Mimořádný zájem proto vyvolává role CD8 cytotoxických T-lymfocytů (CTL) a CD4 T-lymfocytů, uplatňujících se jak při nákaze vyvolávané HIV, tak při nálezích působených opičím SIV. Ukazuje se, že optimální vakcína by měla vést ke vzniku účinných virově specifických CTL a CD4 T-lymfocytů.

### Testování dosavadních vakcín proti HIV

Je několik způsobů přípravy vakcín vyvolávajících vysokou odpověď CD4 T-buněk a CD8 CTL. Zkoušeny byly živé, rekombinantní vakcíny, u nichž je gen kódující vybraný protein patogena vpraven do mikroba, který sice infikuje člověka, ale nevede k jeho nemoci. Rekombinovaný mikrob pak exprimuje protein patogena a imunita vůči němu může být součástí imunitní reakce na takového mikroba. Vybrané geny HIV, Mycob.tbc a malárie byly zavedeny do různých vektorů, např. poxvirů, bacila BCG, adenovirů a enterobakterií. Rekombinantní vakcíny umožňují vyvolat stejně dlouhodobou a potentní imunitu, jaká vzniká po infekci živým patogenem, ale bez projevů choroboplodnosti u očkovanec.

Jinou možností navození reakce T-buněk je přímé vpravení plasmidové DNA genu, který kóduje vznik proteinu antigenu. Po i.m. nebo i.d. injekci proniká plasmidová DNA do buněk které pak exprimují proteiny zakódovaného antigenu. Proteiny jsou produkovány buňkami imunitního systému a jsou podstatou mohutné a persistující buněčné imunity. Existují ještě další a složitější postupy. Všechny se zkoumají v přípravě kandidátních vakcín proti HIV. Nemohou však být ve všech případech testovány na lidech. Slibné výsledky studií na primátech jsou pak teprve zvoleny k ověřování u lidí.

U primátů bylo například zjištěno, že očkovaná zvířata neměla po infekci detekovatelný virus v plasmě, ani u nich nedošlo k poklesu počtu CD4 T-lymfocytů. To vedlo k naději, že očkování by mohlo u lidí po jejich infekci omezit replikaci HIV. Mohlo by dojít ke zpomalení a zmírnění nemoci a k poklesu nakažlivosti. Dokud však nebudou vyvinuty vakcíny, které by navodily tvorbu neutralizačních protilátek proti širokému spektru kmenů HIV, nebude asi ani dosaženo skutečné ochrany před infekcí. Vakcíny vedoucí k mohutnější odpovědi specifických T-buněk by však mohly po infekci očkovaných osob omezit replikaci viru a zmírnit jejich projevy nemoci. K přípravě účinné vakcíny je nutná mezinárodní spolupráce. Průmyslové státy musí vytvořit předpoklady k jejímu vývoji a rozvojové země se musí podílet na tvorbě infrastruktury, která umožní testování imunogenity vakcín u lidí.

### **TUBERKULÓZA**

Každý rok je na světě 8 milionů nových onemocnění TBC, 2 miliony lidí na TBC umírá a navíc se podílí na úmrtí dalších 900 000 lidí s AIDS. Odhaduje se, že infikováno TBC je ve světě asi 16 milionů lidí při 50% úmrtnosti neléčeného onemocnění. V zemích s vysokým podílem osob současně infikovaných TBC a HIV je jejich smrtnost asi 23%. Nejčastěji dochází k onemocnění TBC v 15-25 letech, ale nákaza může také se skryté formě persitovat dlouhou dobu (i doživotně) a může být reaktivována infekcí HIV. Zatím co jen jedna z deseti osob infikovaných Myco.tbc (dle výsledku kožního tuberkulinového testu), onemocní během celého svého života, mezi imunodeficitními osobami onemocní TBC asi 8% /rok. Podle epidemiologických studií se ukazuje, že vakcína proti TBC mající být jen 50% ochranný efekt, výrazně ovlivní počet nemocných a za jedinou dekádu zachrání asi 40 milionů životů.

Zvláštní voskovitý povrch zárodků TBC je chrání před průnikem antibiotik. Vůči jednotlivým preparátům rychle vzniká resistance. Kontrolovaný, krátkodobý léčebný režim (DOTS) spočívá v podávání 3-4 preparátů během prvních dvou měsíců terapie a po další 4-7 měsíců se ještě podávají dva preparáty. Pouze u 15% pacientů ve světě je možné realizovat kompletní režim. Proto vznikají onemocnění vyvolávaná multiresistentními mykobakteriemi a jejich léčba je mimořádně obtížná a nákladná. Velká migrace lidí přispívá k šíření multiresistentních zárodků a vyvolává potřebu hledat nové možnosti prevence a terapie.

### Současné vakcíny proti TBC

BCG vakcína, obsahující atenuovaný kmen *Mycobacterium bovis*, byla připravena v roce 1908 a prvně užita k očkování lidí roku 1921. Užívá se téměř na celém světě a slouží nyní k očkování asi 104 milionů dětí. Spolehlivě chrání děti před úmrtím na diseminovanou tuberkulózu a tbc meningitidu, ale ochrana dospělých je proměnlivá. Důvody nejsou jasné, ale protože onemocnění dětí tvoří jen 10% případů TBC, nemá očkování větší vliv na výskyt TBC mezi dospělými.

Imunitní mechanismus poskytující ochranu před TBC není objasněn. Většina nepřímých nálezů naznačuje rozhodující úlohu buněčné imunity v ochraně, zatímco protilátky mají jen malý význam. V pokusech na myších se ukázalo, že podstatou imunity jsou lymfocyty a aktivace makrofágů. Podílí se na ní asi také cytotoxické T-lymfocyty.

### Kandidátní vakcíny

V pokusech na zvířatech bylo testováno více jak 100 ověřovaných vakcín. Po dokončení sekvencování genomu *Myco. tuberculosis*, genomu BCG a nepatogenních mykobakterií, se určitě objeví další možnosti složení vakcín. Pravděpodobné jsou zejména tyto typy vakcín:

**Subjednotkové**, skládající se z bílkovinných, lipidických a dalších antigenů mykobakterií v různém zastoupení a poměru. Měly by být specifické, bezpečné a účinné. Nevýhodou je jejich omezené přetrvávání v těle a druh i trvání jimi navozené imunitní reakce.

**DNA vakcíny**, které kódují několik antigenů *Myco. tbc*, vedou k imunitě u myší. Jejich předností je poměrně jednoduchá a levná příprava a skutečnost, že navozují dlouhotrvající buněčnou imunitu. Jejich imunogenitu lze zvyšovat přidávkem adjuvancií a změnou složení DNA. Zatím nebyla ověřena jejich bezpečnost a trvání imunity.

**Vakcíny využívající mikrobiální vektory**. Jako vektory byly zatím zkoušeny některé salmonely a virus vakcínie, exprimující antigeny mykobakterií. Prvně uvedené jsou schopny navodit imunitu sliznic, ostatní indukují vznik cytotoxických T-lymfocytů.

Ve vývoji jsou **živé atenuované mykobakteriální vakcíny** využívající i nepatogenní druhy mykobakterií a geneticky upravená BCG vakcína, exprimující imunitně dominantní antigeny *Myco. tuberculosis*. V jedné studii z Anglie bylo zjištěno, že ochrana po vakcíně obsahující *Mycobacterium microti* byla stejná jako po BCG i když tuberkulínový test byl pozitivní jen u malé části očkovaných. Vyvíjejí se také vakcíny s geneticky atenuovanými kmeny *M. tbc*, majícími pozměněné geny pro persistenci a virulenci. Jejich předností je obsah širšího spektra antigenů, ale nebyla dosud ověřena jejich neškodnost pro imunodeficitní osoby.

### Připravované studie

V podstatě se připravují čtyři typy studií, majících ověřit jejich bezpečnost a imunogenitu u lidí:

1. Preinfekční vakcinace u kojenců s vysokým rizikem nákazy, která může přejít v diseminované onemocnění nebo v bazilární meningitidu. Kojenci budou očkováni krátce po porodu a po 3-5 let bude sledován vliv imunizace na prevenci nákazy, akutního onemocnění nebo persistenci nákazy. Spolehlivě se však neví, zda imunita vůči onemocnění kojenců přetrvá i do mladistvého a dospělého věku.
2. Postinfekční imunizace se týká tuberkulin-pozitivních, zdravých osob, žijících v oblastech s vysokým podílem reaktivace nákazy (více jak 3% za rok). Pokles reaktivací bude sledován po 3-5 let. Není jasné, zda výsledky získané u přirozeně infikovaných osob budou shodné s ochranou neočkovaných.

3. Prospektivní studie u vnímavých osob. Zkušenosti ze studií s BCG ukazují, že tento postup bude vyžadovat velké soubory osob, které budou sledovány 15 až 20 let. Získané výsledky však budou nejcennější.
4. Studie do nichž bude zařazena celá, epidemiologicky definovaná a očkovaná populace. U přirozeně infikovaných, tuberkulín pozitivních osob, bude hodnocena ochrana během 3-5 let. U vnímavých bude hodnoceno delší období.

## MALÁRIE

V průběhu posledních 25 let neklesla v rozvojových zemích úmrtnost hospitalizovaných dětí na malárii. V řadě zemí je malárie častějším onemocněním, než tomu bylo před 25 lety. Každý rok dochází na světě asi ke 300 – 500 milionům nových infekcí malárií a k 1 – 3 milionům úmrtím na ni. Zatím není žádná očkovací látka proti této nemoci a je jen málo nadějí, že by se v příštích 5 letech podařilo vyvinout účinnou vakcínu proti původcům malárie lidí.

Příprava vakcíny proti malárii je mnohem obtížnější než proti virům či bakteriím, neboť stavba plasmodií je mnohem komplikovanější. Mají asi 6000 genů a několik vývojových stádií, v nichž je vždy exprimována řada odlišných antigenů. Protilátky proti bílkovině sporozoitů (stádium přenášené komáry) nerozeznávají hlavní povrchový protein erytrocytárního stádia – merozoitů. Osoba může být infikována více než 5 různými kmeny *Plasmodium falciparum*, Každý z proteinů exprimovaných na povrchu infikovaných erytrocytů, který má významnou patogenetickou úlohu, může mít 50-100 antigenně odlišných variant. Vytvořené specifické protilátky se proto neuplatní.

Uvažuje se o několika typech vakcín proti malárii. Jeden pro neimunní turisty, který by je chránil před infekcí erytrocytů a tím i proti všem klinickým projevům nemoci. Jiný typ vakcíny pro děti v Africe, který by omezoval replikaci erytrocytárního stádia bez prevence nákazy a ročně tak zabraňoval 1-3 milionům úmrtí na malárii. Zájem je také o vývoj vakcíny proti sexuálnímu stádiu reprodukce plasmodií, který by sice jedince nechránil, ale omezoval by šíření infekce v populaci a tak snižoval ztráty vyvolané malárií.

Imunizace dobrovolníků, provedená poštipáním více než tisícem infikovaných a ozářených anofelů, vedla k jejich 95% ochraně proti experimentálnímu vystavení mnoha různým kmenům *P. falciparum*. Vakcína vyrobená z ozářených sporozoitů by mohla být ideálním typem vakcíny, ale je zbytečná. Děti do věku 8-10 let, žijící v endemických oblastech malárie, se infikují a prožijí horečnaté onemocnění, ale průběh malárie u nich nikdy není těžký. Získají imunitu, která nezabrání jejich infekci, ale omezuje patologické i klinické projevy nákazy. Pro ně je zapotřebí vakcíny, která bude potlačovat replikaci erytrocytárního stádia plasmodií. Přirozeně získaná imunita u osob žijících v malarických oblastech spočívá v buněčné imunitě, založené na CD8 T-lymfocytech a doplněné protilátkami, které reagují na bílkoviny plasmodií, exprimované na povrchu merozoitů, nebo infikovaných erytrocytů (dále viz tabulka).

## ZÁVĚRY

AIDS, TBC a malárii vyvolávají původci, lišící se v mnoha ohledech. Přesto každý z nich navozuje velkou obrannou reakci a proto každé z těchto infekcí se může předcházet očkováním. Hlavní úlohu v jejich kontrole může mít buněčná imunita. Některé nové typy vakcín, které vyvolávají trvalejší reakci buněčné imunity, se zdají být vhodné k potlačování uvedených nákaz. Ty jsou velkým zdravotním problémem zejména v rozvojových zemích, které musí k jejich zvládnutí zajistit nezbytnou zdravotnickou infrastrukturu. Současný pokrok poznatků signalizuje, že v během několika dekád budou potřebné vakcíny k dispozici.

**Vakcíny proti AIDS, TBC a malárii: směry výzkumu a jejich očekávané dopady**

<b>Hlavní směry výzkumu</b>	<b>Očekávaný dopad</b>
<b>A I D S:</b> Vývoj subjednotkové vakcíny, která vyvolá neutralizační protilátky proti obalu různých kmenů HIV	Stane se vakcínou, která podnítl vysokou hladinu anti-HIV
Objev způsobu jak prodloužit trvání specifické buněčné imunity	Umožní vznik dlouhotrvající imunity proti HIV
Zorganizovat v rozvojových zemích infrastrukturu k ověřování účinnosti kandidátních HIV vakcín	Testování stále dokonalejších vakcín
<b>TUBERKULÓZA</b>	
Objasnit mechanismy nezbytné a dostatečně účinné k prevenci nemoci	Objev korelátů imunity zjednoduší a zkrátí období testování a povede k získání podkladů k výběru nejlepší kandidátní vakcíny pro studie na lidech
Stanovit antigeny a způsoby jejich aplikace k prevenci nákazy	Příprava vakcíny, která zabrání infekci očkovance <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Poznat podstatu latence či celoživotní persistence <i>Mycob. tuberculosis</i> ,	Umožní přípravu vakcín k prevenci latentní či persistující infekce i k reaktivaci infekce
<b>MALÁRIE</b>	
Vývoj metod aplikace směsi 5-15 dnes známých imunogenních proteinů	Získání vakcín snižujících úmrtnost na malárii u dětí v Africe o více než 30% v prvním roce testu
Vývoj nové generace vakcín, založené na nových imunogenech, objevených při sekvencování genomu plasmodií	Existence vakcín proti několika stádiím vývoje plasmodií, které podstatně sníží úmrtnost dětí v Africe (50% a víc) a ochrání víc jak 90% vnímavých turistů po více než 6 měsíců
Pomocí dat ze sekvencování lidského a malarického genomu lépe poznat podstatu ochrany před malárií a identifikovat osoby ohrožené těžkým průběhem malárie	Existence testů, které prokáží ochranou imunitu a ukážou, kdo má a kdo nemusí být očkovan

**Poznámka překladatele:**

Kdo by nechtěl za takových 5 – 15 let vidět všechny (nebo aspoň některé) předpokládané výtobytky medicíny. Mohly by ušetřit strádání a smrt mnoha lidí. Na druhé straně - bude pak pro všechny dost vody, jídla, prostoru a energie aby mohli žít nejen neohrožováni nemocemi, ale ani bojem o „lebensraum „ ? Musím říct, že stěhování lidstva na jinou planetu nevěřím a jen skutečný fantasta a bláhovec se může domnívat, že by se mohlo uskutečnit dříve, než bude Země přelidněná.

S velmi zajímavým, epidemiologickým pohledem na otázku očkování proti AIDS, jsem se setkal v Lancetu (Vol.357, 2001, č. 9259, s.860). Komentář, pracovaný M. McCarthy-em, říká že „ živá, atenuovaná vakcína proti AIDS, může snížit úmrtnost v zemích s vysokou prevalencí infekce HIV a to i kdyby sama způsobovala AIDS u jednoho ze sta očkovaných. Tatóž

vakcína v zemi s nižší prevalencí HIV však ve skutečnosti může zvýšit počet zemřelých, byť by se očkováním podařilo v dané populaci eradikovat HIV“. Tato hypotéza se opírá o práci prof. Blowera, biomatematika univerzity v Los Angeles, Kalifornie, naznačující, že ke snížení úmrtnosti v zemích prožívajících velkou epidemii HIV (např. v řadě subsaharských populací) mohou být užity vakcíny, které se však nehodí pro méně postižené populace.

Blower se spolupracovníky vypracovali matematický model, prognózující efekt živé atenuované vakcíny proti HIV ve státě Zimbabwe s odhadovanou současnou prevalencí HIV kolem 25%, a v Thajsku s prevalencí HIV asi 2%. I když živé atenuované vakcíny mohou být nebezpečné, mají často mnohem vyšší ochranný efekt, než jiné typy vakcín. Podle názoru odborníků mohou být atenuované vakcíny jediným typem vakcín účinných proti HIV.

Pomocí svého modelu testoval Blower 1000 různých, hypotetických vakcín s proměnlivou účinností a bezpečností. Nejméně účinná vakcína chránila jen 50% očkovaných, nejúčinnější bránila nákaze HIV u 95% očkovaných. Nejbezpečnější vakcína vyvolala během 25 let AIDS jen u 1 % očkovaných, zatím co nejnebezpečnější u 10 % očkovaných. Model ukázal, že hromadné očkování třeba jen tou nejméně účinnou a nejnebezpečnější vakcínou by po čase mohlo eradikovat HIV v obou výše uvedených státech. Imunizace zpomalí replikaci viru a pro snížení jeho přenosnosti mezi lidmi dojde postupně k samovolnému zániku infekce HIV.

Cena, kterou za to ale lidstvo zaplatí svými životy, bude v uvedených státech značně odlišná. V Zimbabwe by sice mohly lepší vakcíny vést k lepším výsledkům, ale i ta nejhorší vakcína bude pořád snižovat počet úmrtí na AIDS. Naopak, nebude-li v Thajsku užito kvalitnější vakcíny, počet onemocnění AIDS se očkováním ještě zvýší.

Tyto úvahy se mohou zdát předčasné, ale pevně věřím, že ti nejmladší čtenáři SMD budou stát před rozhodnutím kdy a koho očkovat jakou vakcínou.