ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΙΑΤΡΙΚΟ ΤΜΗΜΑ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
«ΒΑΣΙΚΕΣ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ (ΒΒΕ)»
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ (ΜΔΕ)

Εργαστηριακή Επιτήρηση SARS-CoV-2

ΜΟΥΛΟΠΟΥΛΟΥ ΠΑΝΑΓΙΩΤΑ

Επιβλέπων Καθηγητής ΑΓΓΕΛΙΔΗΣ ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΣ

Ιωάννινα 2022

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΙΑΤΡΙΚΟ ΤΜΗΜΑ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
«ΒΑΣΙΚΕΣ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ (ΒΒΕ)»
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ (ΜΔΕ)

Εργαστηριακή Επιτήρηση SARS-CoV-2

ΜΟΥΛΟΠΟΥΛΟΥ ΠΑΝΑΓΙΩΤΑ

Επιβλέπων Καθηγητής ΑΓΓΕΛΙΔΗΣ ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΣ

Ιωάννινα 2022

«Η έγκριση της Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης από το Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνωμών του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)».

Μεταπτυχιακός φοιτητής: Μουλοπούλου Παναγιώτα

Εργαστηριακή Επιτήρηση SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 Laboratory Surveillance

Επιβλέπων Καθηγητής:

Αγγελίδης Χαράλαμπος

Ημερομηνία παρουσίασης: 10/12/2022

Εξεταστική Επιτροπή:

Αγγελίδης Χαράλαμπος

Βεζυράκη Πατρώνα

Σύρου Μαρίκα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε έπειτα από την στήριξη και συμβολή της Καθηγήτριας Φυσιολογίας κας Βεζυράκη Πατρας, του τμήματος Ιατρικης Ιωαννίνων και του Καθηγητή Βιολογίας κου Αγγελίδη Χαράλαμπου, του τμήματος Ιατρικης Ιωαννίνων. Θα ήθελα να τους ευχαριστήσω θερμά για την εμπιστοσύνη και την πολύτιμη βοήθεια τους. Τέλος, την αφιερώνω στην μητέρα μου η οποία θα ένιωθε υπερήφανη για την πρόοδο μου.

ΜΟΥΛΟΠΟΥΛΟΥ ΠΑΝΑΓΙΩΤΑ 2022

Πίνακας περιεχομένων

1. Γενικό μέρος

Η ανοσολογία αναφέρεται στη μελέτη των φυσιολογικών αμυντικών μηχανισμών δια των οποίων ο οργανισμός (ξενιστής) καταστρέφει η εξουδετερώνει τα ξένα σώματα που εισβάλλουν στο σώμα είτε πρόκειται για ζώσα είτε για μη ζώσα ύλη. Οι ανοσολογικοί μηχανισμοί άμυνας ή ανοσία μπορούν να διαιρεθούν σε δύο κατηγορίες: τους μη ειδικούς και τους ειδικούς μηχανισμούς άμυνας που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους.

Οι μη ειδικοί ανοσολογικοί μηχανισμοί άμυνας ονομάζονται επίσης φυσική ανοσία και προστατεύουν απέναντι στις ξένες ουσίες ή κύτταρα που εισβάλλουν στον οργανισμό χωρίς να αναγνωρίζουν την ειδική τους ταυτότητα.

Οι ειδικοί ανοσολογικοί μηχανισμοί άμυνας που ονομάζονται επίσης και επίκτητη ανοσία εξαρτώνται από την ειδική αναγνώριση, από τα λεμφοκύτταρα, της ουσίας ή του κυττάρου έναντι του οποίου θα οργανωθεί η επίθεση του ανοσοποιητικού συστήματος.

Πριν όμως αναλύσουμε τα κύτταρα που μετέχουν στους ανοσολογικούς μηχανισμούς ας αναφερθούμε στους μικροοργανισμούς που επάγουν την απόκριση του ανοσοποιητικού και πιο συγκεκριμένα τους ιούς στους οποίους ανήκει και ο SARS-CoV-2-19. Οι ιοί ουσιαστικά είναι νουκλεϊκά οξέα που περιβάλλονται από ένα πρωτεϊνικό περίβλημα. Δε διαθέτουν, σε αντίθεση με τα βακτήρια, ενζυμικό εξοπλισμό για τον μεταβολισμό τους, ούτε ριβοσώματα που είναι απαραίτητα για την πρωτεϊνοσύνθεση. Έτσι, δεν μπορούν να πολλαπλασιαστούν από μόνοι τους και χρησιμοποιούν τους βιοχημικούς μηχανισμούς του κυττάρου ξενιστή. Το ιϊκό νουκλεϊκό οξύ κατευθύνει το κύτταρο του ξενιστή όχι μόνο να συνθέσει τις πρωτεΐνες που απαιτούνται για τον πολλαπλασιασμό του, αλλά επίσης να παρέχει τα απαραίτητα νουκλεοτίδια και τις ενεργειακές πηγές. Τα αποτελέσματα της εγκατάστασης και του πολλαπλασιασμού του ιού μέσα στο κύτταρο εξαρτώνται από τον τύπο του ιού [42].

1.1.Κύτταρα που διαμεσολαβούν στους αμυντικούς μηχανισμούς

Τα πιο πολυάριθμα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος είναι οι διάφοροι τύποι των λευκών αιμοσφαιρίων του αίματος (λευκοκύτταρα), ουδετερόφιλα, βασεόφιλα, ηωσινόφιλα, μονοκύτταρα και λεμφοκύτταρα. Τα λεμφοκύτταρα διακρίνονται σε Β, ΝΚ κύτταρα που ωριμάζουν στο μυελό των οστών και Τ λεμφοκύτταρα που παράγονται απο τον θύμο αδένα και ενεργοποιούνται στα περιφερικά λεμφικά όργανα. Τα Β λεμφοκύτταρα ξεκινούν τις ανοσολογικές αποκρίσεις που διαμεσολαβούνται από αντισώματα συνδέοντας ειδικά αντιγόνα στους υποδοχείς της μεμβράνης των Β, υποδοχείς που είναι ανοσοσφαιρίνες. Παρουσιάζουν αντιγόνα στα βοηθητικά Τ και κατά την ενεργοποίησή τους μετατρέπονται σε πλασματοκύτταρα τα οποία εκκρίνουν αντισώματα. Τα πλασματοκύτταρα δεν αποτελούν στην πραγματικότητα ξεχωριστή κυτταρική σειρά αλλά διαφοροποιούνται τα Β λεμφοκύτταρα κατά τη διάρκεια απαντήσεων του ανοσοποιητικού συστήματος, συνήθως δε βρίσκονται στο αίμα αλλά και στους ιστούς όπου διαφοροποιήθηκαν από τα μητρικά τους λεμφοκύτταρα. Η πιο σημαντική λειτουργία των πλασματοκυττάρων είναι η σύνθεση και η έκκριση αντισωμάτων. Τα Κυτταροτοξικά Τ λεμφοκύτταρα (CD8 κύτταρα) συνδέονται με αντιγόνα στην κυτταροπλασματική μεμβράνη των μολυσμένων κυττάρων και άμεσα τα καταστρέφουν. Τα βοηθητικά Τ λεμφοκύτταρα (CD4 κύτταρα) εκκρίνουν κυτταροκίνες που βοηθούν στην ενεργοποίηση των Β λεμφοκυττάρων, των ΝΚ, των κυτταροτοξικών Τ και των μακροφάγων. Συνδέονται

άμεσα και μη ειδικώς με κύτταρα που έχουν προσβληθεί ιούς και λειτουργούν ως φονικά κύτταρα. Οι κυτταροκίνες αποτελούν πρωτεϊνικά μηνύματα που ρυθμίζουν την κυτταρική ανάπτυξη του ξενιστή και λειτουργούν τόσο στους ειδικούς όσο και στους μη ειδικούς αμυντικούς μηχανισμούς.
Τα παραγόμενα από τα πλασματοκύτταρα αντισώματα είναι πρωτεΐνες που διοχετεύονται σε όλο το σώμα για να συναντήσουν αντιγόνα όμοια με αυτά που προκάλεσαν την παραγωγή τους. Οι διαμεσολαβούμενες από αντσώματα αποκρίσεις ονομάζονται χυμικές ανοσολογικές αποκρίσεις και ο προσδιορισμός χυμικός υποδηλώνει την επικοινωνία μέσω διαλυτών χημικών μηνυμάτων [42].

1.2.Φάσεις της ανοσολογικής αντίδρασης

Στην ειδική ανοσία, μετά από έκθεση σε κάποιον εξωγενή παράγοντα που έχει ιδιότητες αντιγόνου, η ανοσολογική αντίδραση μπορεί να διακριθεί σε τρεις φάσεις:
i. Την επαγωγική φάση, όπου γίνεται ένα είδος εξέτασης του αντιγόνου κατά την οποία τα μακροφάγα το περιεργάζονται. Στη συνέχεια γίνεται η παρουσίασή του στα λεμφοκύτταρα από τα λεγόμενα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (συνήθως μακροφάγα)
ii. Τη φάση ενεργοποίησης, όπου γίνεται η ενεργοποίηση των λεμφοκυττάρων (διέγερση και πολλαπλασιασμός) έτσι ώστε να διαμορφωθούν τα κύτταρα που θα αναλάβουν την ειδική δράση
iii. Την εκτελεστική φάση, η οποία χαρακτηρίζεται από την παραγωγή των προϊόντων της ανοσολογικής αντίδρασης, που είναι τα αντισώματα ή τα ευαισθητοποιημένα Τ-λεμφοκύτταρα, προκειμένου να στραφούν εναντίων του αντιγόνου [1].

1.3.Χαρακτηριστικά της ειδικής ανοσίας

Η ειδική ανοσία έχει τέσσερα κύρια χαρακτηριστικά:
1. Ικανότητα αναγνώρισης του εισβολέα: το ανοσολογικό σύστημα είναι σε θέση να ξεχωρίζει αν κάποια ουσία με την οποία έρχεται σε επαφή δε μοιάζει, από πλευράς δομής, με τα συστατικά του ίδιου του οργανισμού και την αναγνωρίζει ως «ξένη».
2. Ειδικότητα: η αντίδραση του ανοσολογικού συστήματος είναι τέτοια ώστε να στρέφεται ειδικά εναντίων του παράγοντα που προκάλεσε την ανοσολογική αντίδραση.
3. Ποικιλομορφία: στην ειδική ανοσία υπάρχει μια ποικιλία κυττάρων και ουσιών που συμμετέχουν στην αντιμετώπιση του αντιγόνου.
4. Μνήμη: είναι η ικανότητα των κυττάρων του ανοσολογικού συστήματος να διατηρούν την ‘’ανάμνηση’’ ενός αντιγόνου με το οποίο έχουν έρθει σε επαφή κατά το παρελθόν, με αποτέλεσμα την ικανότητα του συστήματος να εμφανίζει εντονότερη και ταχύτερη αντίδραση σε περίπτωση νέας επαφής με το αντιγόνο [1].

2. Εισαγωγή

Ο νέος κοροναϊός 2 του σοβαρού οξέος αναπνευστικού συνδρόμου, SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2), που προκαλεί τη νόσο COVID-19 (coronavirus disease 2019), αναδύθηκε τον Δεκέμβριο του 2019 στην πόλη Γουχάν της Κίνας και γρήγορα εξαπλώθηκε παγκόσμια εξαιτίας της υψηλής μεταδοτικότητας και παθογένειας του [2]. Πιο συγκεκριμένα, ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά όταν μια ομάδα ασθενών ανέφερε συμπτώματα πνευμονίας άγνωστης αιτιολογίας σε τοπικές Κινεζικές Υγειονομικές Υπηρεσίες στην πόλη Γουχάν, της επαρχίας Χουμπέι, στις αρχές Δεκεμβρίου 2019 [3].

Ο SARS-CoV-2 συνδυάζει σοβαρή παθογένεια με υψηλή μολυσματικότητα. Η μολυσματικότητα του ενισχύεται από το γεγονός ότι τα ασυμπτωματικά και τα προ-συμπτωματικά άτομα μπορούν να μεταδώσουν τον ιό, σε αντίθεση με τους SARS-CoV-1 και MERS-CoV, που μεταδόθηκαν από συμπτωματικούς ασθενείς μόνο και συνεπώς μπορούσαν να περιοριστούν πιο αποτελεσματικά [4].

Ο νέος αυτός κοροναϊός που αρχικά έλαβε την ονομασία 2019-nCoV (2019-novel coronavirus), τελικά ονομάστηκε SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) στις 11 Φεβρουαρίου 2020, όπως ανακοινώθηκε από την Ομάδα Μελέτης Coronavirus Study Group (CSG) της Διεθνούς Επιτροπής Ταξινόμησης των Ιών, σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές ονοματοδοσίας του ΠΟΥ για το 2015 [3].

Ο ζωονοσολογικός SARS-CoV-2 πιστεύεται ότι προήλθε από μολυσμένες νυχτερίδες. Συγκεκριμένα, η συνολική αλληλουχία γονιδιώματος του SARS-CoV-2 είναι κατά 96,2% πανομοιότυπη με αυτή του κοροναϊού της νυχτερίδας που ονομάζεται BatCoV RaTG13. Ωστόσο, η original πηγή του νέου αυτού κοροναϊού είναι ακόμα ασαφής [3].

Στις 30 Ιανουαρίου 2020, ο ΠΟΥ κήρυξε την νόσο COVID-19, κατάσταση έκτακτης ανάγκης για τη δημόσια υγεία διεθνούς ενδιαφέροντος, ενώ την χαρακτήρισε ως παγκόσμια πανδημία στις 11 Μαρτίου 2020 [2], [5].

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO) η ασθένεια είχε μολύνει περισσότερους από 9 εκατομμύρια ανθρώπους σε 216 χώρες και περιοχές μέχρι τις 23 Ιουνίου 2020, με ενδείξεις συνεχιζόμενης τοπικής μετάδοσης [2]. Δεδομένης της ραγδαίας εξάπλωσης της πανδημίας και των σχετικών τεράστιων παγκόσμιων ανθρώπινων και οικονομικών απωλειών, υπήρχε επείγουσα ανάγκη να αναπτυχθούν τόσο νέα θεραπευτικά όσο και προφυλακτικά μέτρα για τον περιορισμό του SARS-CoV-2 [2].

Τα εμβόλια αντιπροσωπεύουν μια από τις πιο επιτυχημένες και οικονομικά αποδοτικές παρεμβάσεις στον τομέα της υγείας στην ανθρώπινη ιστορία [2].

Ήταν συνεπώς επείγον να σχεδιαστούν και να αναπτυχθούν ασφαλή και αποτελεσματικά εμβόλια προκειμένου να αποτραπεί η περαιτέρω εξάπλωση της COVID-19 και να εδραιωθεί ανοσία αγέλης προερχόμενη από εμβολιασμό [2].

Η επιτακτική ανάγκη για ασφαλή και αποτελεσματικά εμβόλια κατά της COVID-19 επιτάχυνε την ανάπτυξη ενός αριθμού υποψηφίων εμβολίων, μερικά από τα οποία προχώρησαν γρήγορα σε κλινικές δοκιμές φάσης I/II. Σε παγκόσμιο επίπεδο, ακαδημαϊκοί συνεργάτες συνεργάστηκαν με κατασκευαστές εμβολίων για να εκμεταλλευτούν έναν αριθμό διαφορετικών, καινοτόμων αλλά και καθιερωμένων, πλατφορμών ανάπτυξης και κατασκευής εμβολίων στο σχεδιασμό των εμβολίων κατά της COVID-19, με πρωτοφανή ρυθμό [2].

Η ανάπτυξη μετασχηματιστικών πλατφορμών τεχνολογίας εμβολίων τις τελευταίες δεκαετίες έχει διευρύνει το πεδίο εφαρμογής και έχει μειώσει το χρόνο από την αναγνώριση του παθογόνου, έως την αποτελεσματική χρήση υποψηφίων εμβολίων για κλινικές δοκιμές. Η γνώση που έχει δημιουργηθεί μέσω των προσπαθειών ανάπτυξης εμβολίων για στενά συνδεδεμένα στελέχη του κοροναϊού, π.χ. SARS και MERS, χρησιμοποιήθηκε για να κατευθύνει τις προσπάθειες ανάπτυξης εμβολίων κατά της COVID-19 [2]. Επί του παρόντος δεν υπάρχει διαθέσιμο εμβόλιο ενάντια σε αυτές τις δύο ιογενείς απειλές. Ωστόσο, πολλά υποψήφια εμβόλια κατά του SARS-CoV-1 έχουν αναπτυχθεί με βάση τα VLPs, το DNA, τις πρωτεΐνες και τους ιούς (αδρανοποιημένοι, ζωντανοί εξασθενημένοι, ανασυνδυασμένοι φορείς). Ενώ η πλειονότητα χαρακτηρίστηκε προκλινικά, μόνο μερικά δοκιμάστηκαν σε κλινικές μελέτες φάσης 1. Κατά του MERS-CoV, έχουν αναπτυχθεί εμβόλια με βάση τον αδρανοποιημένο ιό, το DNA και την πρωτεΐνη, δημιουργώντας προκλινικά δεδομένα και αποτελέσματα δοκιμών φάσης 1. Και για τις δύο ασθένειες, μεγαλύτερες μελέτες για να καθοριστεί εάν τα εμβόλια θα μπορούσαν να προστατεύσουν από φυσική μόλυνση δεν έχουν πραγματοποιηθεί [4].

Μέχρι τα μέσα του 2020 υπήρχαν περισσότερα από 165 υποψήφια εμβόλια που αναπτύσσονταν, με τα 33 να βρίσκονται σε διάφορα στάδια κλινικών δοκιμών [5].

Για τον SARS-CoV-2 δοκιμάστηκαν τόσο οι καθιερωμένες πλατφόρμες τεχνολογίας ανάπτυξης εμβολίων όπως αδρανοποιημένων ιών και ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών, που έχουν χρησιμοποιηθεί για εμβόλια ενάντια διαφόρων μολυσματικών ασθενειών, όπως η γρίπη (για παράδειγμα εμβόλια από Novavax, Sinovac, Sanofi και GSK) όσο και οι νεότερες mRNA τεχνολογίες πλατφόρμας εμβολίων που δεν είχαν αδειοδοτηθεί ακόμη για χρήση σε ανθρώπους, ωστόσο αμέσως μετά την απομόνωση και τον προσδιορισμό της αλληλουχίας του SARS-CoV-2 τον Ιανουάριο του 2020, η όλη διαδικασία ξεκινώντας από το σχεδιασμό αντιγόνου έως την έγκριση από το U.S. Food and Drug Administration (FDA) για δοκιμή στον άνθρωπο (IND review) και την κλινική δοκιμή διήρκεσε το καταπληκτικό χρονικό διάστημα των 63 ημερών, κάτι που είναι πρωτοφανές σε ολόκληρη την ιστορία της εμβολιολογίας. Τέλος, εμβόλια που βασίζονται σε αδενοϊούς (όπως αυτά από το Πανεπιστήμιο της

Οξφόρδης και το CanSino) που δοκιμάζονταν ήδη ως υποψήφια για το εμβόλιο MERS, η προσαρμογή τους στον SARS-CoV-2 αποδείχθηκε γρήγορη και αποτελεσματική [5].

3. Ιστορία των εμβολίων

Η θεωρία των μικροβίων για την πρόκληση των νόσων διέλυσε μύθους, δεισιδαιμονίες και ημι-επιστημονικές θεωρίες που ίσχυαν για αιώνες. Παράλληλα με την πρόοδο της έννοιας της μετάδοσης των λοιμωδών νοσημάτων, οι έρευνες στράφηκαν και προς την ικανότητα του ατόμου να αντιστέκεται στη μόλυνση. Από την αρχαιότητα ήταν ήδη γνωστό ότι τα άτομα που είχαν προσβληθεί από κάποια ασθένεια και επέζησαν, σπανίως προσβάλλονταν πάλι από την ίδια νόσο.

Στα τέλη του 18ου αιώνα, ο Edward Jenner, αγροτικός γιατρός στο Gloucestershire (Βρετανία), αποφάσισε να διερευνήσει ορισμένες παρατηρήσεις σχετικά με την ευλογιά. Συγκεκριμένα, οι κοπέλες που άρμεγαν τις αγελάδες κολλούσαν συχνά από μολυσμένα ζώα μια νόσο που ονόμαζαν «δαμαλίτιδα» που προκαλούσε την εμφάνιση φλύκταινων στα δάκτυλα ή στο σώμα. Ο κόσμος είχε παρατηρήσει ότι τα κορίτσια που προσβάλλονταν από αυτή την ελαφρά νόσο δεν πάθαιναν ευλογιά μετά από έκθεση τους σε αυτή.

Το 1779, ο Jenner πήρε υλικό από το έλκος μιας κοπέλας που είχε δαμαλίτιδα, της Sarah Nelmes και το ενοφθάλμισε στο βραχίονα ενός αγοριού, του James Philips. Κατά τη διάρκεια αυτού του πειράματος το αγόρι εκτέθηκε στη συνέχεια σε ένα περιστατικό ευλογιάς και δεν εμφάνισε τη νόσο. Το πείραμα έγινε και σε άλλα άτομα με την ίδια επιτυχία. Έτσι διαδόθηκε ευρέως αυτή η μορφή του πρωτόγονου εμβολιασμού. Παρά την προφανή ιστορική σημασία, η ανακάλυψη του Jenner δεν γνώρισε γενική αποδοχή στην εποχή της και το γεγονός ότι το υλικό από τις φλύκταινες μεταφερόταν από βραχίονα σε βραχίονα χωρίς αντισηψία, είχε ως αποτέλεσμα συχνές επιπλοκές.

Μετά από έναν αιώνα περίπου, σημειώθηκε μια ακόμη μεγάλη πρόοδος στον τομέα της προφύλαξης του ξενιστού από τη νόσο. Ο Louis Pasteur, που είχε αναπτύξει τεχνικές ανοσοποίησης των ζώων κατά του άνθρακα, θέλησε να ασχοληθεί με τη λύσσα, μια ασθένεια του σκύλου με μεγάλη θνητότητα. Υποστηρίζοντας ότι ο αιτιολογικός παράγοντας της λύσσας υπάρχει στο σάλιο και στο νευρικό σύστημα των προσβεβλημένων ζώων και ότι το σάλιο αποτελεί το υλικό μετάδοσης της νόσου σε μελέτες του ενοφθάλμιζε σε υγιή ζώα υλικό από ζώα που έπασχαν (το οποίο υλικό είχε εξασθενήσει με ξήρανση) και τα προφύλασσε από τη νόσο.

Τον Ιούλιο του 1885 ο Louis Pasteur εφάρμοσε ένα πρόγραμμα ανοσοποίησης, διάρκειας 10 ημερών σε ένα εννιάχρονο αγόρι από την Αλσατία, τον Joseph Meister που είχε δεχτεί επίθεση και 14 δαγκώματα από ένα «τρελό» σκυλί και αντιμετώπιζε σχεδόν σίγουρο θάνατο. Μετά το πρόγραμμα ανοσοποίησης το παιδί επέζησε και ο

Pasteur έγραψε στη σύζυγο του ότι «…πρόκειται ίσως για ένα από τα σπουδαιότερα ιατρικά γεγονότα του αιώνα». Αυτή ήταν η αυγή μιας νέας εποχής στην προληπτική ιατρική [6].

4. Επιδημιολογία του SARS-CoV-2

Και οι 99 ασθενείς με επιβεβαιωμένη λοίμωξη από τον ιό SARS-CoV-2 μελετήθηκαν στο Νοσοκομείο Wuhan Jinyintan, από την 1η Ιανουαρίου έως τις 20 Ιανουαρίου 2020 και το 49% από αυτούς βρέθηκε ότι είχαν κάποια μορφή προηγούμενης έκθεσης στη αγορά θαλασσινών Huanan Seafood Wholesale Market όπου πωλούνταν ζωντανά ζώα. Ο πλήρης προσδιορισμός της αλληλουχίας του γονιδιώματος του SARS-CoV-2 ανακοινώθηκε στο πρώιμο στάδιο της επιδημίας, αποκαλύπτοντας ότι είναι 96,2% πανομοιότυπος με έναν κοροναϊό της νυχτερίδας σε επίπεδο ολόκληρου του γονιδιώματος και ανήκει στο είδος του SARS-CoV. Σύμφωνα με μια δοκιμή που πραγματοποιήθηκε από τους Phan et al. η αλληλουχία νουκλεοτιδίων του SARS-CoV-2 συγκρίθηκε με άλλους τύπους ήδη γνωστών κοροναϊών χρησιμοποιώντας ανάλυση αλληλουχίας ανά ζεύγος (pair-wise sequence analysis) και τα αποτελέσματα των δοκιμών κατέδειξαν 88% ομοιότητα νουκλεοτιδίων με τον SARS κορωναϊό της νυχτερίδας, που ήταν και ο περισσότερο παρόμοιος με τον SARS-CoV-2, σε σύγκριση με τους υπόλοιπους γνωστούς ζωονοσογόνους κοροναϊούς με λιγότερο από 50% ομοιότητα νουκλεοτιδίων. Αν και δεν είναι οριστικό, αυτό υποδηλώνει ότι η χονδρική αγορά θαλασσινών Huanan ήταν δυνητικά στενά συνδεδεμένη με την πηγή του ιού, υποδηλώνοντας ότι οι νυχτερίδες ήταν η κύρια δεξαμενή για τον SARS-CoV-2 [3].

Ο SARS-CoV-2, όπως και οι SARS-CoV και MERS-CoV που ταξινομούνται στην ίδια υποοικογένεια "Coronavirinae", είναι ζωονοσογόνοι, εμφανίζοντας την ικανότητα μεταφοράς από ένα ζώο σε έναν άνθρωπο ξενιστή. Αυτή η ιδιότητα καθώς και το μεγάλο χρονικό διάστημα που περνούν οι άνθρωποι και τα ζώα σε στενή επαφή, επιτρέπουν στον ιό να εξαπλωθεί σε διαφορετικούς ξενιστές με γρήγορο ρυθμό, με αποτέλεσμα παγκόσμια ή περιφερειακή έξαρση κρουσμάτων [3].

Η επιδημία του SARS-CoV εμφανίστηκε το 2002-2003 με την μοσχογαλή να έχει τον ρόλο του ενδιάμεσου ξενιστού στη μετάδοση του ιού στους ανθρώπους ξενιστές, ενώ οι αραβικές καμήλες έπαιξαν το ρόλο του ενδιάμεσου ξενιστού μεταδίδοντας τον ιό στους ανθρώπους κατά τη διάρκεια της επιδημίας MERS-CoV το 2012. Ο SARS-CoV είχε παράγοντα ανάπτυξης 2–5, ενώ ο MERS-CoV είχε παράγοντα ανάπτυξης μικρότερο από 1. Ο ενδιάμεσος ξενιστής του SARS-CoV-2 που μετέδωσε τον ιό στους ανθρώπους παραμένει ακόμη ασαφής λόγω της παρουσίας πολλών ειδών ζώων στη χονδρική αγορά θαλασσινών Huanan [3].

Η φυλογενετική ανάλυση του SARS-CoV-2 αποκάλυψε ότι η γονιδιακή αλληλουχία του είναι 89% πανομοιότυπη με αυτή του SARS-like κοροναϊού της νυχτερίδας ZXC21 (bat-SL-CoVZXC21, αρ. πρόσβασης MG772934.1) και ZC45 (MG772933.1) και 82% πανομοιότυπο με αυτό του SARS-CoV Tor2 (JX163927), υποδηλώνοντας ότι ο SARS-CoV-2 ανήκει επίσης στη lineage B του betacoronavirus, αλλά έχει πιο κοντινή ομολογία με τον bat-SL-CoVZC45 και το bat-SL-CoVZXC21 από τον SARS-CoV. Η δομική ανάλυση της πρωτεΐνης ακίδας (S) αυτού του νέου ιού έδειξε ότι η πρωτεΐνη S συνδέεται μόνο ασθενώς με τον υποδοχέα του μετατρεπτικού ενζύμου 2 της αγγειοτενσίνης στα ανθρώπινα κύτταρα (ACE2), ενώ ο ανθρώπινος SARS-CoV εμφανίζει ισχυρή σύνδεση με τον υποδοχέα. Παρόλα αυτά, η δεσμευτική ισχύς μεταξύ SARS-CoV-2 και ACE2 εξακολουθεί να είναι πολύ υψηλότερη από το κατώφλι που απαιτείται για τη μόλυνση από τον ιό. Αν και αυτό είναι σημαντικό για την εμφάνιση της δυνατότητας μετάδοσης από άνθρωπο σε άνθρωπο, δείχνει επίσης ότι η δέσμευση με τον υποδοχέα ACE2 μπορεί να μην είναι ο μόνος παράγοντας που επηρεάζει την μετάδοση του ιού [3].

5. Σημασία των εμβολίων

Οι εμβολιασμοί αποτελούν βασική στρατηγική της πρωτογενούς πρόληψης. Η πρωτογενής πρόληψη αναφέρεται σε προληπτικά μέτρα που λαμβάνονται ώστε το άτομο να μην έλθει όσο το δυνατόν σε επαφή με νοσογόνους παράγοντες ή να έχει ήδη αμυντικό μηχανισμό έναντι αυτών. Δηλαδή να τροποποιηθούν παράγοντες στο περιβάλλον, να αλλάξει η ανοσιακή κατάσταση του ατόμου ή να εκπαιδευτούν τα άτομα ώστε να αποκτήσουν «υγιεινή» συμπεριφορά όσον αφορά το κάπνισμα, το αλκόολ, τη σεξουαλική συμπεριφορά, τη σωματική άσκηση κ.α (αγωγή υγείας) ώστε η νόσος να μην μπορεί να αναπτυχθεί.

Οι μεγαλύτερες επιτυχίες της Δημόσιας Υγείας όσον αφορά τα λοιμώδη νοσήματα οφείλονται στην πρωτογενή πρόληψη και λιγότερο στα θεραπευτικά μέτρα.

Τα εμβόλια προστατεύουν τα άτομα από δυνητική ανάπτυξη της αντίστοιχης λοίμωξης και μειώνουν τη διασπορά της στην κοινότητα με το μηχανισμό της συλλογικής ανοσίας.

Πιο συγκεκριμένα, με τα εμβόλια ενισχύεται η άμυνα του οργανισμού με την παραγωγή ειδικών αντισωμάτων και εξουδετερώνεται ο τυχόν λοιμογόνος παράγοντας που προσβάλλει το άτομο. Οι εμβολιασμοί έχουν συμβάλλει σε σημαντικό ποσοστό στην πρόληψη των νόσων [6].

Τα εμβόλια δρουν προετοιμάζοντας το ανοσοποιητικό σύστημα του ανθρώπου (τη φυσική άμυνα του οργανισμού) να αναγνωρίζει μια συγκεκριμένη ασθένεια και να προστατεύεται από αυτήν [7].

Η υπεροχή της πρόληψης σε σχέση με τη θεραπεία θεωρείται δεδομένη. Παγκόσμια και σε πληθυσμιακό επίπεδο κάθε φορά που σημειώθηκε θεαματική πτώση της θνησιμότητας ήταν αποτέλεσμα της εφαρμογής κυρίως προληπτικών και όχι θεραπευτικών μέτρων (π.χ. εξυγίανση του περιβάλλοντος, βελτίωση διατροφής, εμβόλια) [6].

Σύμφωνα με τον ΠΟΥ, τα παγκόσμια προγράμματα εμβολιασμού σώζουν έως και 2-3 εκατομμύρια ζωές κάθε χρόνο, ενεργοποιώντας το ανοσοποιητικό σύστημα για την προστασία του ξενιστού από πιθανά παθογόνα, τα οποία διαφορετικά θα προκαλούσαν σημαντικά την παγκόσμια υγεία και οικονομία [2].

Εκτός από την παροχή ατομικής προστασίας, τα προγράμματα εμβολιασμού στοχεύουν επίσης στη λεγόμενη ανοσία πληθυσμού ή αγέλης, δηλαδή στην ανοσοποίηση μεγάλου ποσοστού του πληθυσμού για την προστασία των μη εμβολιασμένων και ανοσοκατεσταλμένων ατόμων μειώνοντας το ποσοστό των ευάλωτων ξενιστών σε επίπεδο χαμηλότερο από το όριο μετάδοσης [2]. Η αποκαλούμενη «ανοσία αγέλης» επιτυγχάνεται όταν ένα κρίσιμο ποσοστό του πληθυσμού έχει αποκτήσει ανοσία, αφήνοντας στον ιό μόνο περιορισμένες τοπικές πιθανότητες να κυκλοφορήσει. Αυτό μπορεί να συμβαίνει όταν >90% των ατόμων έχουν ανοσία. Ωστόσο, η ευρεία ανοσοποίηση είναι ήδη πολύ χρήσιμη από τη στιγμή που «μόνο» περίπου το 60-70% έχει αποκτήσει ανοσία, επειδή σχετικά απλά μέτρα κατά της εξάπλωσης του ιού θα είναι επαρκή για τον περιορισμό του ιού [4].

Για παράδειγμα, μια παγκόσμια κάλυψη ανοσοποίησης άνω του 80% κατά του ιού της ευλογιάς έχει μειώσει τα ποσοστά μετάδοσης σε μη μολυσμένα άτομα σε τόσο χαμηλά επίπεδα που ο ιός έχει εξαλειφθεί. Για την ιλαρά, το 91-94% ενός πληθυσμού πρέπει να εμβολιαστεί για να επιτευχθεί ανοσία της αγέλης και να αποφευχθούν νέα κρούσματα ιλαράς. Ομοίως, ένα όριο (threshold) 80-85% είναι τώρα ο στόχος για την παγκόσμια εκρίζωση του ιού της πολιομυελίτιδας. Αυτά τα παραδείγματα επεξηγούν καλά ότι το κατώφλι για την επαγόμενη από εμβολιασμό ανοσία της αγέλης είναι ειδικό για κάθε παθογόνο. Μια τιμή κατωφλίου περίπου 67% εκτιμάται ότι είναι επαρκής για την επίτευξη ανοσίας της αγέλης έναντι του SARS-CoV-2, με την προϋπόθεση ότι ο βασικός αναπαραγωγικός αριθμός (R0) του ιού είναι τρία, δηλαδή ένα μολυσμένο άτομο μολύνει τρία νέα άτομα. Με βάση αυτή την εκτίμηση, απαιτούνται περίπου 5,3 δισεκατομμύρια δόσεις εμβολίου για ένα εμβόλιο μίας δόσης ή πιθανώς 12–16 δισεκατομμύρια σε περίπτωση εμβολίου πολλαπλών δόσεων. Ως εκ τούτου, είναι σαφές ότι η πρόκληση ανοσίας της αγέλης μέσω μαζικού εμβολιασμού θα ήταν ένα απίστευτα ισχυρό εργαλείο για τον περιορισμό της πανδημίας COVID-19, αλλά επίσης αντιπροσωπεύει και μια τεράστια πρόκληση [2].

Αν και απαιτούνται τουλάχιστον 1-2 χρόνια για να διατεθούν αποτελεσματικά εμβόλια παγκοσμίως, ο εμβολιασμός μπορεί να εξακολουθεί να είναι η πιο γρήγορη και οικονομική στρατηγική για την επίτευξη ευρείας ανοσολογικής προστασίας [4].

6. Χαρακτηριστικά του SARS-COV-2 - Γονιδίωμα και ιόσωμα

Ο κοροναϊός, ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά τη δεκαετία του 1960, είναι ένα είδος θετικής πολικότητας RNA ιού με φάκελο που ταξινομείται στην τάξη των Nidovirales, στην οικογένεια Coronaviridae και στην υποοικογένεια Coronavirinae [3]. Οι κοροναϊοί μπορούν να μολύνουν τα κύτταρα ορισμένων σπονδυλωτών ξενιστών και χαρακτηρίζονται από τις ακίδες που προεξέχουν από την επιφάνεια τους. Η υποοικογένεια Coronavirinae μπορεί να χωριστεί σε τέσσερα κύρια γένη, Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus και Deltacoronavirus [3]. Τα δύο πρώτα γένη μολύνουν συνήθως θηλαστικά, ενώ τα δύο τελευταία μολύνουν κυρίως πτηνά [2].Το γένος Betacoronavirus μπορεί να χωριστεί περαιτέρω σε τέσσερις σειρές (lineages) A, B, C και D [3]. Ο SARS-CoV-2 που είναι ένα πρόσφατα αναγνωρισμένο μέλος της οικογένειας των κοροναϊών ταξινομείται στο υπογένος Sarbecovirus, lineage B, του γένους Betacoronavirus [3],[8].
Άλλα μέλη του γένους Betacoronavirus είναι ο SARS-CoV και ο MERS-CoV. Όλοι οι CoVs είναι θετικοί μονόκλωνοι RNA ιοί με φάκελο και έχουν σχετικά μεγάλα γονιδιώματα RNA που κυμαίνονται από 26 έως 32 κιλοβάσεις (kb). Το γονιδίωμα του SARS-CoV-2 περιέχει μια 5′ cap δομή και μια 3’ poly(A) ουρά, επιτρέποντάς του να χρησιμεύει ως αγγελιοφόρο RNA (mRNA) και συνεπώς μπορεί να μεταφραστεί αμέσως στο κύτταρο ξενιστού για τη σύνθεση των πολυπρωτεϊνών του, οι οποίες είναι απαραίτητες για τον πολλαπλασιασμό του. Τα ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης (ORFs) 1a/b αποτελούν τα δύο τρίτα του γονιδιώματος του ιού (~20 kb) και κωδικοποιούν τις πολυπρωτεΐνες του ιού οι οποίες είναι απαραίτητες για τον πολλαπλασιασμό του. Οι πολυπρωτεΐνες αυτές περιλαμβάνουν τις 1-16 μη δομικές πρωτεΐνες (nsps 1-16), οι οποίες είναι υπεύθυνες για (i) ιική αντιγραφή, (ii) RNA-εξαρτώμενη RNA πολυμεράση δραστηριότητα, (iii) δραστικότητα ελικάσης και (iv) συναρμολόγηση των δομών αναπαραγωγής του ιού [2]. Η πλειοψηφία του υπόλοιπου ενός τρίτου του γονιδιώματος κωδικοποιεί δομικές και βοηθητικές πρωτεΐνες [2]. Πιο συγκεκριμένα το γονιδίωμα του SARS-CoV-2 κωδικοποιεί 4 κύριες δομικές πρτεΐνες (ακίδας (S), φακέλου (E), μεμβράνης (M) και νουκλεοκαψιδίου (N)) καθώς και 6 accessory πρωτεΐνες (3a, 6, 7a, 7b, 8, 9b) [8].
Το 5’ άκρο του γονιδιώματος περιέχει μια αλληλουχία οδηγό και μια αμετάφραστη περιοχή untranslated region (UTR), συμπεριλαμβανομένων των δομών που απαιτούνται για την αντιγραφή και τη μεταγραφή του RNA. Το 3’ UTR κωδικοποιεί επίσης τις δομές RNA που απαιτούνται για αντιγραφή και σύνθεση ιϊκού RNA. Η γονιδιωματική αλληλουχία του CoV είναι 5’-leader-UTR-ρεπλικάση-S-E-M-N-3’-UTR-poly(A) ουρά με βοηθητικά γονίδια που παρεμβάλλονται μεταξύ των δομικών πρωτεϊνών στο 3’ άκρο του γονιδιώματος. Είναι ενδιαφέρον ότι τα βοηθητικά γονίδια που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες ORF3b, ORF6 και N είναι ανταγωνιστές

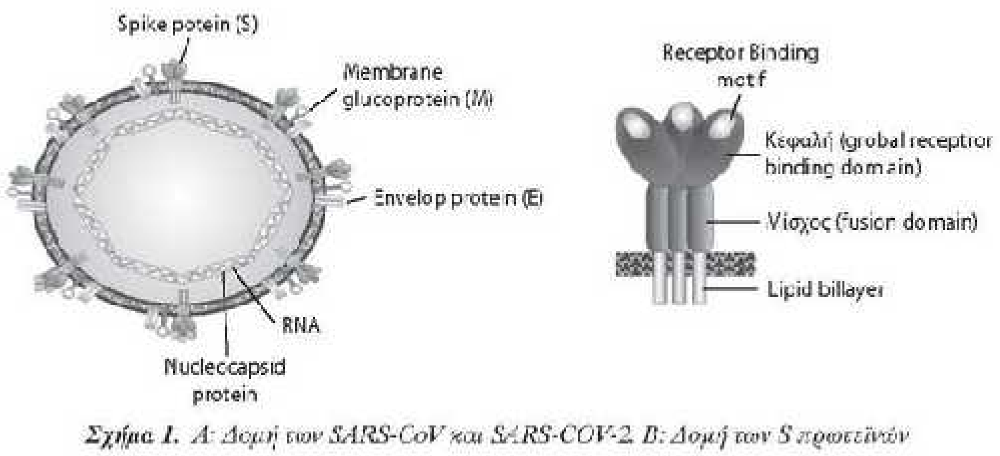
ιντερφερόνης (IFN), που δρουν στο τύπου Ι IFN μονοπάτι, είτε αναστέλλοντας τη μεταγραφή είτε δρώντας στους τελεστικούς μηχανισμούς, και ρυθμίζουν την έμφυτη ανοσοαπόκριση του ξενιστού [2].

Όπως και άλλοι κοροναϊοί, τα ιοσωμάτια SARS-CoV-2 έχουν σφαιρικό σχήμα με διάμετρο 65–125 nm και τα πιο εμφανή χαρακτηριστικά τους περιλαμβάνουν τις προεξοχές αιχμών των S πρωτεϊνών από την επιφάνεια τους που δίνουν στον ιό την ομοιότητα ενός στέμματος και στις οποίες οφείλουν και το όνομα τους [2],[4]. Οι πρωτεΐνες Ν συγκρατούν το γονιδίωμα του RNA και μαζί οι πρωτεΐνες S, E και M αποτελούν τον ιικό φάκελο [2].

Η πρωτεΐνη S αντιπροσωπεύει το κλειδί στο ιοσωμάτιο καθώς μελέτες έδειξαν ότι, η προσκόλληση του SARS-COV-2 στα κύτταρα του ξενιστού λαμβάνει χώρα μέσω της δέσμευσης "κλειδώματος" της S πρωτεΐνης στο μετατρεπτικό ένζυμο 2 της αγγειοτενσίνης (ACE-2), που χρησιμεύει ως υποδοχέας του ιού στα κύτταρα του ξενιστού [2],[4].

Συνεπώς, η S πρωτεΐνη είναι η μοναδική πρωτεΐνη του ιού που αλληλεπιδρά με τα κύτταρα του ξενιστού [4]. Η δομή της είναι η ακόλουθη.

Οι S (spike) πρωτεΐνες αποτελούνται από τρεις τομές. Ο τελευταίος τομέας είναι αυτός που έχει ακτινοειδή κατανομή στην επιφάνεια του φακέλου και δίνει τη χαρακτηριστική μορφή κορώνας (στέμματος) στον ιό. Ο μακρύς αυτός «εξωφακελικός» τομέας των S πρωτεϊνών είναι υπεύθυνος για την προσκόλληση στον υποδοχέα του κυττάρου και την είσοδο του ιού στο κύτταρο του ξενιστού και έχει χαρακτηριστική δομή. Αποτελείται: 1) από ένα τριμερή μίσχο (S2) ο οποίος, κατά τη διαδικασία εισόδου του ιού στο κύτταρο, συντήκεται με την κυτταρική μεμβράνη του κυττάρου του ξενιστού, και 2) από τρεις κεφαλές (S1) που εκπορεύονται από το μίσχο αυτό [9]. Η υπομονάδα S1 έχει την περιοχή δέσμευσης RBD που δεσμεύεται με τον ανθρώπινο υποδοχέα ACE2 και συνδέει σωματίδια του ιού στη μεμβράνη του κυττάρου ξενιστού, ξεκινώντας τη διαδικασία μόλυνσης. Η υπομονάδα S2 περιέχει ένα πεπτίδιο σύντηξης που βοηθά στη σύντηξη των μεμβρανών του ιού και του κυττάρου ξενιστού κατά τη διαδικασία εισόδου του ιού στο κύτταρο ξενιστού [10]. Οι S πρωτεΐνες του ιού είναι τύπου 1 πρωτεΐνες σύντηξης, δηλαδή είναι πρωτεΐνες που δεν απαιτούν τη συνεργασία με άλλες πρωτεΐνες επιφανείας του ιού για σύντηξη με την κυτταρική μεμβράνη του ξενιστού, γιατί περιέχουν τόσο την υποομάδα δέσμευσης με τον υποδοχέα όσο και την υποομάδα σύντηξης με την μεμβράνη του κυττάρου του ξενιστού [9].



Εικόνα 1 A. Δομή των SARS-CoV και SARS-CoV-2. B.Δομή των S πρωτεϊνών [9]

Λόγω της ευρείας διαθεσιμότητας, της μεγάλης γενετικής ποικιλότητας και του συχνού ανασυνδυασμού των ειδών του κοροναϊού, σε συνδυασμό με τον αυξημένο χρόνο που περνούν οι άνθρωποι παρουσία ζώων, οι κοροναϊοί είναι περιστασιακά σε θέση να μεταλλάσσονται για να μολύνουν ανθρώπους ξενιστές [3].

7. Στόχος εμβολίων έναντι του SARS-COV-2

Για την επιλογή του κατάλληλου αντιγόνου στα εμβόλια έχει σημασία η κατανόηση της στρατηγικής που ακολουθεί ο ιός για την είσοδο του στα κύτταρα του ξενιστού. Όπως έχει ήδη αναφερθεί η προσκόλληση του SARS-COV-2 στα κύτταρα του ξενιστού λαμβάνει χώρα μέσω της δέσμευσης της S πρωτεΐνης στο μετατρεπτικό ένζυμο 2 της αγγειοτενσίνης (ACE-2). Στη συνέχεια, το έναυσμα της διαδικασίας εισόδου του ιού στο κύτταρο του ξενιστού δίνεται από τις πρωτεάσες του κυττάρου ξενιστού, την furin και τις serine proteases TMPRSS2 και TMPRSS4, επιτρέποντας τη σύντηξη ιικών και κυτταρικών μεμβρανών και την επακόλουθη είσοδο του ιϊκού RNA στο κύτταρο ξενιστού [4].

Το μετατρεπτικό ένζυμο 2 της αγγειοτενσίνης (Angiotensin Converting Enzyme 2-ACE2) αποδείχθηκε ο καθοριστικός παράγων για την προσβολή των κυττάρων του οργανισμού από τον κορωναϊό SARS-CoV-2 [9].

Η S πρωτεΐνη είναι η πρωτεΐνη που αποκλίνει περισσότερο μεταξύ διαφορετικών κορωναϊών, κυρίως στον τομέα σύνδεσης του ιού με τον υποδοχέα του (RBD) [4].

Συνεπώς, ο πρωταρχικός ανοσοποιητικός μηχανισμός αποφυγής μόλυνσης είναι μέσω του αποκλεισμού της προσκόλλησης του ιού στο ACE2. Ως εκ τούτου, η παραγωγή ενός εμβολίου που προκαλεί αντισώματα κατά της RBD είναι η στρατηγική που χρησιμοποιείται από την πλειοψηφία των υποψηφίων εμβολίων COVID-19. Αποδείχθηκε ότι το RBD είναι γλυκοζυλιωμένο και μεθυλιωμένο. Γενικά, τέτοιες χημικές μετατροπές είναι δύσκολο να αναπαραχθούν σε εμβόλια, πράγμα που σημαίνει ότι τα εμβόλια μπορεί να εμφανίζουν (ελαφρώς) διαφορετικούς επιτόπους από τον ιό. Κατά συνέπεια, τα αντισώματα που επάγονται από τα εμβόλια μπορεί δυνητικά να συνδέονται και με διαφορετικά αντιγόνα λόγω ύπαρξης παρόμοιου αντιγονικού επιτόπου (cross-reaction) και να μην είναι προστατευτικά. Είναι ενδιαφέρον ωστόσο, ότι η θέση αλληλεπίδρασης του υποδοχέα receptor interaction site (RIS) που συνδέεται άμεσα με το ACE2 δεν είναι γλυκοζυλιωμένη, υποδεικνύοντας ότι αυτό το RIS μπορεί δυνητικά να είναι ιδανικό υποψήφιο εμβόλιο [4].

Η δεύτερη πιο συχνή επιλογή κατάλληλου αντιγόνου στα εμβόλια είναι η χρήση ολόκληρης της υπομονάδας S1. Άλλοι κατασκευαστές εμβολίων χρησιμοποιούν την πλήρους μήκους πρωτεΐνη S ή/και το πεπτίδιο σύντηξης (FP), το οποίο αποτελεί μέρος της μονάδας S2 και συντήκεται με την κυτταρική μεμβράνη και επομένως έχει επίσης εξουδετερωτικούς επιτόπους. Ωστόσο, ο N-τερματικός τομέας (NTD) της πρωτεΐνης S καθώς επίσης και οι πρωτεΐνες της μεμβράνης (M), του περιβλήματος (E) και του νουκλεοκαψιδίου(N) δεν επιλέγονται από τα τρέχοντα υποψήφια εμβόλια λόγω του κινδύνου πρόκλησης αντισωμάτων ενίσχυσης της νόσου [4].

Αυτό που είναι επίσης σημαντικό είναι η μορφή που θα έχουν τα αντιγόνα των εμβολίων. Μπορούν αυτά (τα αντιγόνα) να χρησιμοποιηθούν στη μορφή πρωτεϊνών ή πεπτιδίων. Για παράδειγμα μελέτη έδειξε ότι η S1-Fc fusion protein του SARS-COV-2 οδήγησε άμεσα στην επαγωγή εξουδετερωτικών αντισωμάτων σε πρωτεύοντα πλην του ανθρώπου. Επίσης, οι πρωτεΐνες και τα πεπτίδια μπορεί να καταστούν πιο ανοσογόνα αν κατά την σύνθεση τους συνδυαστούν με ισχυρά ανοσοενισχυτικά. Μια άλλη στρατηγική είναι η εμφάνιση των αντιγόνων σε VLPs, τα οποία είναι συχνά εξαιρετικά ανοσογόνα ή ακόμα να εισαχθεί το RBD σε ϊικούς φορείς ή DNA ή RNA. Η επαγωγή των εξουδετερωτικών αντισωμάτων είναι ευκολότερο να επιτευχθεί με την πλήρη πρωτεΐνη S, σε σχέση με μια πρωτεΐνη ή ένα πεπτίδιο που εκφράζεται και εμφανίζεται μεμονωμένα στο σημείο της έγχυσης του εμβολίου. Ωστόσο, ο εμβολιασμός με την πρωτεΐνη S μπορεί να προκαλέσει και μη επιθυμητά αντισώματα, επιπλέον των εξουδετερωτικών που στρέφονται κατά της RBD. Επομένως, υπό τον όρο ότι κάποιος καταφέρει να κατασκευάσει ένα εμβόλιο που εμφανίζει την RBD ή ακόμη και μόνο το RIS στην κατάλληλη διαμόρφωση, το RBD ή το RIS μπορεί να είναι προτιμότερο από την ολόκληρη πρωτεΐνη S [4].

Ο πιο προφανής ισότυπος (τάξη) που προκαλείται από ένα εμβόλιο COVID-19 είναι το αντίσωμα IgG και κατά προτίμηση οι πιο προστατευτικές τάξεις αντισωμάτων IgG1 και IgG3. Ωστόσο, τα αντισώματα IgA μπορεί επίσης να είναι σημαντικά για τη μείωση της μόλυνσης στον βλεννογόνο και στα επιθηλιακά κύτταρα στην αναπνευστική οδό, καθώς και στα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα οποία μπορεί να

στοχοποιηθούν ευρέως από τον ιό. Η χρήση ενός ανοσοενισχυτικού που πυροδοτεί την παραγωγή IgA μπορεί να είναι μια σημαντική παράμετρος. Οι υποδοχείς ligands TLR7/8 και TLR9 είναι μια καλή επιλογή καθώς προάγουν δυναμικά τις αποκρίσεις IgA [4].
Αν και η επαγωγή εξουδετερωτικών αντισωμάτων (nAbs) έναντι των πρωτεϊνών S αντιπροσωπεύει τον κύριο στόχο για την πλειονότητα των υποψηφίων εμβολίων, θα πρέπει επίσης να λαμβάνονται υπόψη και οι προοπτικές αξιοποίησης των αποκρίσεων των T και B κυττάρων για τον εμβολιασμό κατά της COVID-19, επειδή αυτές οι αποκρίσεις έχει βρεθεί ότι είναι επίμονες και προστατευτικές στα ζωικά μοντέλα [2].

8. Συμπτώματα COVID-19

Στις περισσότερες περιπτώσεις τα συμπτώματα της COVID-19 είναι ήπια και περιλαμβάνουν πυρετό, βήχα και δύσπνοια. Ωστόσο, σε ορισμένες περιπτώσεις η ασθένεια εξελίσσεται σε σοβαρή πνευμονία και ανεπάρκεια πολλαπλών οργάνων, κυρίως σε ηλικιωμένους και ασθενείς με άλλες υποκείμενες ασθένειες ή καταστάσεις και έχει ποσοστό θνησιμότητας περίπου 3,7% [2].

9. Μέθοδοι ανίχνευσης

9.1.RT-PCR

Η μέθοδος εκλογής για την ανίχνευση του SARS-CoV-2 και τη διάγνωση της νόσου COVID-19 είναι η RT-PCR (αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο)-μοριακός έλεγχος. Οι δοκιμασίες RT-PCR ανιχνεύουν συνδυασμούς γονιδίων του ιού, είτε των δομικών πρωτεϊνών (νουκλεοκαψιδίου ή φακέλου) είτε του RNA του ιού. Το όριο ανίχνευσης των περισσότερων δοκιμασιών είναι 100 αντίγραφα ιού/mL ή περισσότερα. Το ιικό φορτίο είναι μεγαλύτερο τις 5-6 πρώτες ημέρες της νόσου και συνεχίζει να ανιχνεύεται με μικρότερο φορτίο και τη δεύτερη εβδομάδα της νόσου. Το καταλληλότερο δείγμα για RT-PCR είναι το ρινοφαρυγγικό επίχρισμα. [11]. Παρά την αυξημένη ευαισθησία της μεθόδου, η αρνητική PCR δεν μπορεί να αποκλείσει την νόσο σε υψηλής υποψίας ασθενείς. Ο χρόνος συλλογής του δείγματος, η προέλευση, η ποιότητα και η μέθοδος δειγματοληψίας επηρεάζουν την ακρίβεια του αποτελέσματος. Για το λόγο αυτό, επί ισχυρής υποψίας λοίμωξης COVID-19 συνιστάται επανάληψη ένα 24ωρο μετά. Τέλος, συνιστάται λήψη βρογχοκυψελιδικού εκπλύματος σε ασθενείς με πολλαπλά αρνητικά ρινοφαρυγγικά δείγματα και ισχυρή υποψία, με χαρακτηριστικά σοβαρής ή προοδευτικής νόσου. Οι περισσότεροι ασθενείς με μέτρια νόσο αρνητικοποιούνται στις 10 ημέρες μετά την έναρξη των συμπτωμάτων, ενώ οι ασθενείς με σοβαρή νόσο παραμένουν θετικοί κατά μέσο όρο 20 ημέρες από την έναρξη των συμπτωμάτων. Τέλος, ασθενείς που έχουν αναρρώσει από COVID-19 παρατηρήθηκε ότι μπορεί να έχουν θετική PCR ως και μήνες μετά τη διάγνωση, ως εξήγηση σε αυτό πιθανολογείται η ανίχνευση από τη μοριακή μέθοδο ιχνών, υπολειμμάτων του ιού [33].

9.2.Rapid Ag

Με την μέθοδο της ταχείας ανίχνευσης του αντιγόνου του ιού SARS-CoV-2 (Rapid Ag COVID-19 test) ανιχνεύεται η παρουσία ιικής πρωτεΐνης (αντιγόνου) του ιού σε δείγματα από το ανώτερο αναπνευστικό. Αν το αντιγόνο-στόχος βρίσκεται σε επαρκή ποσότητα στο δείγμα, θα συνδεθεί στο ειδικό αντιγόνο που βρίσκεται πάνω στην ταινία της πλαστικής κασέτας και θα γίνει ορατό ως γραμμή (ανάλογα με το κιτ) εντός 15 με 30 λεπτών [33].

10.Έλεγχος αντισωμάτων

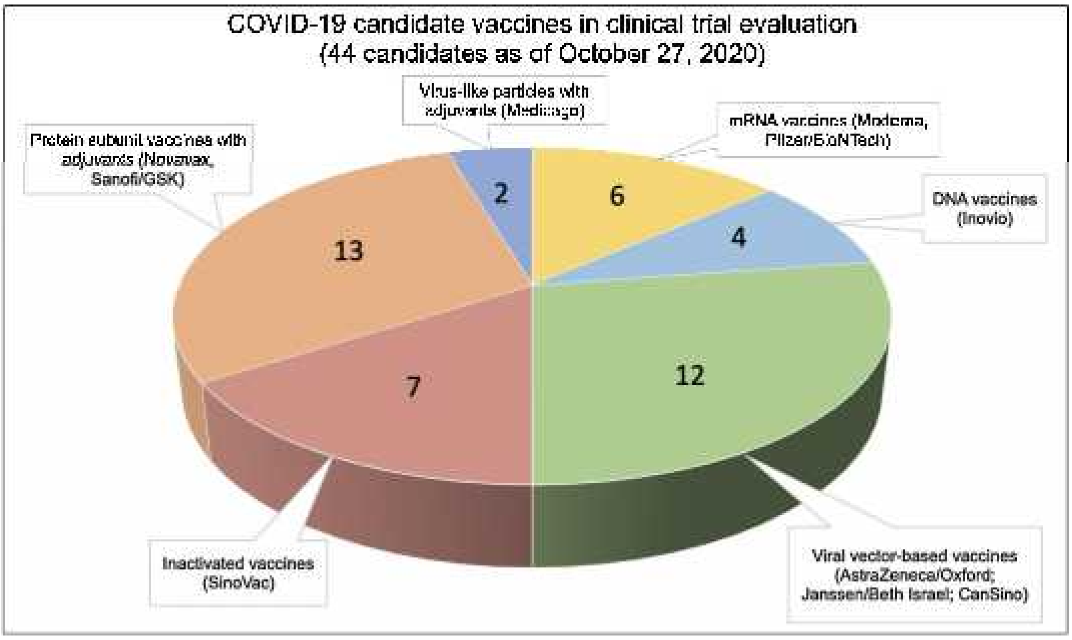
Τα αντισώματα που παράγονται μετά από τη λοίμωξη από COVID-19 ανιχνεύονται από τα ορολογικά τεστ. Η παραγωγή αντισωμάτων (χυμική ανοσία) έναντι του COVID-19 έχει δείξει ότι ξεκινά περίπου μία εβδομάδα μετά την έναρξη των συμπτωμάτων. Τα IgM αντισώματα παράγονται λίγο νωρίτερα από τα IgG και διατηρούνται για περίπου 6 εβδομάδες, ενώ τα IgG αντισώματα φαίνεται να διατηρούνται για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, χωρίς αυτό να μπορεί να προσδιοριστεί ακριβώς. Τα διάφορα κιτ ανοσοδοκιμασιών που κυκλοφορούν διαφέρουν ως προς την τάξη των αντισωμάτων που ανιχνεύουν (IgM: ανοσοσφαιρίνη M-δείκτης πρόσφατης έκθεσης στο αντιγόνοπρόσφατης λοίμωξης, IgG: ανοσοσφαιρίνη G-διατηρούνται για καιρό μετά την έκθεση στο αντιγόνο-κύριες ανοσοσφαιρίνες της δευτερογενούς απόκρισης, IgA: ανοσοσφαιρίνη A- κύριες ανοσοσφαιρίνες των βλεννογόνων του αναπνευστικού και γαστρεντερικού συστήματος). Ο προσδιορισμός των αντισωμάτων πραγματοποιείται με δύο τεχνικές: την μέθοδο ELISA (ανοσοπροσροφητικό προσδιορισμός) και την CLIA (ανοσοδοκιμασία χημειοφωταύγειας) . Παρουσιάζουν διαφορές τα κιτ ως προς την ευαισθησία και ειδικότητα τους. Εκείνα που χρησιμοποιούν ELISA φαίνεται να είναι περισσότερο ευαίσθητα, δηλαδή ανιχνεύουν με μεγαλύτερη ακρίβεια τα πραγματικά θετικά δείγματα και προτιμώνται για την αξιολόγηση της νόσου και της πορείας σε συμπτωματικούς ασθενείς, ενώ τα κιτ χημειοφωταύγειας φαίνεται να είναι πιο ειδικά-υπάρχουν λιγότερα ψευδώς θετικά αποτελέσματα και προτιμώνται ως μέθοδος ανίχνευσης (screening) ασυμπτωματικών ασθενών. Ωστόσο όποια ανοσοδοκιμασία και αν χρησιμοποιηθεί φαίνεται ότι η ευαισθησία όλων των μεθόδων αυξάνεται όταν τα δείγματα ληφθούν μετά την 15η ημέρα από την έναρξη των συμπτωμάτων [12]. Επίσης, τα διαθέσιμα κιτ ανιχνεύουν αντισώματα έναντι της πρωτεΐνης S (ακίδα) ή έναντι της περιοχή πρόσδεσης του υποδοχέα της γλυκοπρωτεΐνης της ακίδας RBD ή έναντι της πρωτεΐνης N (νουκλεοκαψίδιο) συνδυαστικά ή ξεχωριστά. Τόσο η μέτρηση των αντισωμάτων anti-SARS-CoV-2 έναντι της πρωτεΐνης S όσο και έναντι της πρωτεΐνης N, έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως κατά τη διάρκεια της πανδημίας για την διάγνωση συμπτωματικών ασθενών που καθυστέρησαν να ελεγχθούν και είχαν αρνητική PCR και την αναγνώριση ασθενών που ανάρρωσαν και είχαν αντισωματική απάντηση και οι οποίοι μπορούν να γίνουν δωρητές πλάσματος για τη θεραπεία νοσηλευόμενων από covid-19. Επιπρόσθετα, ο έλεγχος αντισωμάτων μπορεί να χρησιμοποιηθεί για επιδημιολογικές μελέτες επιτήρησης της νόσου, για την καλύτερη μέτρηση του επιπολασμού και της επίπτωσης της νόσου, καθώς πολύ ασθενείς παραμένουν ασυμπτωματικοί με αποτέλεσμα να υποεκτιμώνται οι δείκτες αυτοί. Τέλος, η μέτρηση των αντισωμάτων μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την επιβεβαίωση της αντισωματικής απάντησης και της προστασίας μετά τον εμβολιασμό έναντι του COVID-19. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, τα αντισώματα έναντι της πρωτεΐνης N θεωρούνται πιο ευαίσθητα καθώς παράγονται έναντι αυτής της πρωτεΐνης που υπάρχει σε μεγαλύτερη αφθονία στον ιό, ενώ τα αντισώματα S είναι πιο ειδικά, καθώς η RBD-S είναι ειδική πρωτεΐνη πρόσδεσης του ξενιστή και έχει συσχετιστεί με τη βαρύτητα της νόσου[12]. Το test αντισωμάτων δεν ενδείκνυται για τη διάγνωση της οξείας COVID-19 λοίμωξης. Οι ασθενείς με συμπτωματική νόσο, συνήθως παράγουν αντισώματα μετά τη 10η ημέρα από την έναρξη των συμπτωμάτων. Καθώς επίσης αντισώματα μπορεί να μην ανιχνεύονται-παράγονται σε ανοσοκατεσταλμένους ή ηλικιωμένους ασθενείς μετά από νόσηση από COVID-19. Η παρουσία αντισωμάτων δεν εγγυάται ανοσία, είναι ακόμα άγνωστο πόσο καιρό διατηρούνται στον οργανισμό και δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητό κατά πόσον ο τίτλος ή το είδος των αντισωμάτων καθορίζει την εξουδετερωτική τους ικανότητα και την προστασία από επαναλοίμωξη.

Αν και δεν επιβεβαιώνουν την παρουσία ενεργού ιού, τα τεστ αντισωμάτων έχουν μερικά εντυπωσιακά πλεονεκτήματα σε σύγκριση με τα μοριακά τεστ και τα τεστ αντιγόνου. Αυτά περιλαμβάνουν ένα πολύ μεγαλύτερο παράθυρο ανίχνευσης, ευκολία και ασφάλεια του χειριστή στη συλλογή αίματος και όχι αναπνευστικών δειγμάτων, σταθερότητα ανθρώπινων αντισωμάτων σε σύγκριση με ιικό RNA κατά τη διαδικασία συλλογής, προετοιμασίας, μεταφοράς και αποθήκευσης δειγμάτων. Επιπρόσθετα, παρουσιάζεται πιο ομοιόμορφη κατανομή αντισωμάτων στο αίμα από ότι το ϊκό φορτίο στο ρινοφαρυγγικό επίχρισμα. Δείγματα αναπνευστικού συχνά δίνουν ψευδή αποτελέσματα λόγω των διαφορετικών παραμέτρων. Τα αντισώματα μπορούν επίσης να ανιχνευθούν επιτυχώς στο σάλιο εκτός από το αίμα και τέλος, αυτές οι εξετάσεις δεν απαιτούν εργαστήρια BSL-2, γεγονός πολύ σημαντικό για την ευρεία εφαρμογή τους.

Τόσο τα εξουδετερωτικά όσο και τα δεσμευτικά αντισώματα μπορούν να στοχευθούν για ανίχνευση. Τα πρώτα συνδέονται με ένα συγκεκριμένο τμήμα ενός παθογόνου και έχουν παρατηρηθεί σε εργαστηριακό περιβάλλον ότι μειώνουν τη μόλυνση των κυττάρων από τον ιό SARS-CoV-2. Τα τελευταία, δεσμευτικά ή μη εξουδετερωτικά αντισώματα, όπως οι ανοσοσφαιρίνες (Ig), συνδέονται ειδικά με τα παθογόνα, αλλά δεν παρεμβαίνουν στη μολυσματικότητα τους. Τα δεσμευτικά αντισώματα σηματοδοτούν την παρουσία ενός παθογόνου στο σώμα, ενώ τα εξουδετερωτικά αντισώματα εμποδίζουν την είσοδο ενός παθογόνου στο κύτταρο. Το IgM θεωρείται δείκτης λοίμωξης πρώιμου σταδίου, ενώ το IgG είναι ένας δείκτης τρέχουσας ή προηγούμενης λοίμωξης. Τα IgA και IgM μπορούν να επιμείνουν στο σώμα για περίπου 2 μήνες ενώ η IgG μπορεί να διαρκέσει περισσότερο από 3 μήνες. Αν και ορισμένα άτομα διατήρησαν την εξουδετέρωση με τίτλους αντισωμάτων >1000 σε >60 DPSO, άλλοι είχαν ανιχνεύσιμους τίτλους εξουδετερωτικών αντισωμάτων μόνο για ένα σχετικά σύντομο χρονικό διάστημα (λιγότερο από 40 DPSO) [12].

11. Παγκόσμιος αγώνας ταχύτητας (warp speed) για την ανάπτυξη εμβολίου COVID-19

Ο σχεδιασμός και η παραγωγή ενός αποτελεσματικού εμβολίου είναι ο καλύτερος δυνατός τρόπος για να μειωθεί το φορτίο και η διάδοση της ασθένειας [8].
Η ανάπτυξη εμβολίων ξεκίνησε με πολύ επιταχυνόμενους ρυθμούς, ήδη λίγο μετά την έναρξη της επιδημίας SARS-CoV-2 [4]. Πολλές μεγάλες φαρμακευτικές και βιοτεχνολογικές εταιρείες αφιέρωσαν πολύ χρόνο και χρήμα προσπαθώντας να ελέγξουν και να καταπολεμήσουν την νόσο COVID-19, με αποτέλεσμα πολλά εμβόλια να είναι διαθέσιμα πολύ πιο σύντομα από ότι είχε προγραμματιστεί [8].
Μέχρι τις 27 Οκτωβρίου 2020 αναπτύσσονταν περισσότερα από 187 εμβόλια, με αρκετά από τα οποία μάλιστα, 44 υποψήφια εμβόλια, να βρίσκονται σε διάφορα στάδια κλινικών δοκιμών [ΕΙΚΟΝΑ 2] [5].



ΕΙΚΟΝΑ 2: Κατηγοριοποίηση των υποψηφίων εμβολίων κατά της COVID-19 που βρίσκονται στο στάδιο των κλινικών δοκιμών [5]

Ο CEPI (Συνασπισμός για Καινοτομίες Επιδημιολογικής Ετοιμότητας) ως ειδικός στην ανάπτυξη εμβολίων σε περιπτώσεις επιδημιών οργάνωσε μια παγκόσμια επιτροπή διαβούλευσης, δίνοντας μεγάλη σημασία στην κατασκευή και τη χρηματοδότηση των εμβολίων κατά της COVID-19, σε συνεργασία με την GAVI και την Παγκόσμια Τράπεζα. Η γνώση που είχε αποκτηθεί από προηγούμενες εξάρσεις κρουσμάτων οφειλόμενων σε κορωναϊούς, παρείχε μια ευνοϊκή επιστημονική βάση για το σχεδιασμό του εμβολίου, βοηθώντας για παράδειγμα στον εντοπισμό δυνητικά προστατευτικών επιτόπων, των αχίλλειων πτερνών του ιού [4].

Ωστόσο, το γεγονός ότι ο SARS-CoV-1 εξαλείφθηκε αυθόρμητα από τον ανθρώπινο πληθυσμό και ο MERS-CoV ελεγχόταν σε μεγάλο βαθμό χωρίς την ανάγκη μεγάλης κλίμακας φαρμακευτικών παρεμβάσεων, οδήγησε σε δραστική μείωση της χρηματοδότησης της έρευνας κατά την τελευταία δεκαετία, περιορίζοντας σοβαρά την περαιτέρω έρευνα και ανάπτυξη εμβολίων. Ως εκ τούτου, υπήρχε μόνο περιορισμένη εμπειρία στον εμβολιασμό κατά του κορωναϊού και πριν την πανδημία COVID-19, δεν είχε εγκριθεί ακόμα κανένα εμβόλιο [4].

Ο στόχος στην κατασκευή των εμβολίων, λαμβάνοντας υπόψη τον επείγοντα χαρακτήρα του να υπάρχουν διαθέσιμα εμβόλια για δισεκατομμύρια ανθρώπους, ήταν πρωτίστως ο σχεδιασμός εμβολίων που να μπορούν να παραχθούν σε τεράστιες ποσότητες και για τα οποία η τεχνογνωσία και οι εγκαταστάσεις παραγωγής να είναι διαθέσιμες ή να μπορούν να κατασκευαστούν γρήγορα [4].

Επιπρόσθετα, απαιτήθηκε ριζική επανεξέταση των διαδικασιών ανάπτυξης και κατασκευής εμβολίων, προκειμένου να υπάρξει άμεση απόκριση στην πανδημία COVID-19 [2].

Αν και τα εμβόλια παρέχουν μια δυνατότητα προστασίας έναντι της ασθένειας COVID-19, οι παραλλαγές του ιού μπορούν να αποτελέσουν μια μεγάλη πρόκληση για αυτά. Έχουν συμβεί ορισμένες αλλαγές των βασικών αμινοξέων στην πρωτεΐνη S. Μέχρι σήμερα, δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία που να δείχνουν ότι αυτές οι παραλλαγές του ιού έχουν ξεφύγει εντελώς από τα εμβόλια [8].

12.Παραλλαγές αυξημένου κινδύνου (VOC)

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η εμφάνιση των μεταλλάξεων του ιού στην προσπάθεια του να επιβιώσει και να εξαπλωθεί ακόμα περισσότερο μέσα στον πληθυσμό (variants of concern-VOC) θέτει μεγάλες προκλήσεις για την αποτελεσματικότητα των υπαρχόντων εμβολίων. Ο ΠΟΥ έχει ορίσει πέντε VOCs, συμπεριλαμβανομένων των Alpha, Beta, Gamma, Delta και Omicron, μεταξύ των οποίων οι παραλλαγές Alpha και Delta είχαν ισχυρή μεταδοτική δραστηριότητα, ενώ για τις παραλλαγές Beta και Gamma αποκτήθηκε ισχυρή ανοσολογική ικανότητα αποφυγής. Ωστόσο, η παραλλαγή Omicron απέκτησε υψηλή μεταδοτικότητα και μπορεί να αποφύγει τα περισσότερα εμβόλια κατά του COVID-19 . Η κατανόηση της σχέσης μεταξύ των μεταλλάξεων και των παθογόνων χαρακτηριστικών (όπως η μολυσματικότητα και η ικανότητα διαφυγής του ανοσοποιητικού) είναι χρήσιμη για την καλύτερη ανάλυση της αποτελεσματικότητας των εμβολίων και τη σωστή προσαρμογή της στρατηγικής εμβολιασμού. Εδώ, η προέλευση αυτών των VOCs έχει αναθεωρηθεί συστηματικά και απεικονίζεται η επίδραση των μεταλλάξεων στα παθογόνα χαρακτηριστικά (Εικ.7). Επιπλέον, συζητήθηκε η αποτελεσματικότητα των εγκεκριμένων εμβολίων στην παραλλαγή Omicron, δεδομένου ότι η παραλλαγή Omicron έχει προκαλέσει λοιμώξεις μεγάλης κλίμακας παγκοσμίως και έχει προκαλέσει ανησυχίες τόσο στον πληθυσμό όσο και στην επιστημονική κοινότητα [33].

12.1. Άλφα

Η B.1.1.7 είναι η πρώτη παραλλαγή που κυκλοφόρησε παγκοσμίως, η οποία εντοπίστηκε για πρώτη φορά στα νοτιοανατολικά του Ηνωμένου Βασιλείου τον Σεπτέμβριο του 2020 και έγινε η κυρίαρχη παραλλαγή στο Ηνωμένο Βασίλειο για τους επόμενους 3 μήνες. Στις 18 Δεκεμβρίου 2020, το B.1.1.7 χαρακτηρίστηκε ως Παραλλαγή Ανησυχίας (VOC) και ονομάστηκε Alpha από τον ΠΟΥ. Σε σύγκριση με άλλες παραλλαγές εκείνη την περίοδο, η παραλλαγή Alpha είχε ισχυρότερη ικανότητα μετάδοσης, με υψηλότερο αριθμό αναπαραγωγής στον πληθυσμό. Είναι ενδιαφέρον ότι η γενεαλογία της παραλλαγής περιείχε αρχικά τρεις υποομάδες, αλλά η παραλλαγή με Del69/70 στην πρωτεΐνη S τελικά κατέλαβε την επικρατούσα τάση και το 96,6% όλων των ανιχνευόμενων αλληλουχιών της παραλλαγής Άλφα περιείχαν την συγκεκριμένη μετάλλαξη η οποία έδειξε την ύπαρξη επιλεκτικού πλεονεκτήματος στη μετάδοση του SARS-CoV-2.[12] Εκτός από το Del69/70, άλλες μεταλλάξεις (όπως Το D614G σε κάθε VOC και το E484K σε Beta και Gamma) απέδειξαν επίσης το επιλεκτικό πλεονέκτημα. Οι παραλλαγές με τις δεδομένες μεταλλάξεις απέκτησαν ισχυρότερη μολυσματικότητα, πρόσδωσαν αντοχή στον ιό και η ικανότητα διαφυγής του ανοσοποιητικού του ανθρώπου τον κατέστησαν ικανό να επιβιώσει και να εξαπλωθεί στην κοινότητα προκαλώντας σημαντική αύξηση εισαγωγών στα νοσοκομεία αλλά και θανάτων.[34]

Η ανάλυση αυτών των μεταλλάξεων με το εκλεκτικό πλεονέκτημα βοήθησε περαιτέρω στην κατανόηση των παθογόνων χαρακτηριστικών αυτών των παραλλαγών, όπως η μολυσματικότητα, η μεταδοτική ικανότητα και η ικανότητα διαφυγής του ανοσοποιητικού. Εκτός από το Del69/70, υπάρχουν οκτώ μεταλλάξεις στην πρωτεΐνη S της παραλλαγής Άλφα: Del144 (περιέχεται στο 95% όλων των ανιχνευόμενων αλληλουχιών παραλλαγών Άλφα), N501Y (97,6%), A570D (99,2%), D614G (99,3%)), P681H (99%), T716I (98,7%), S982A (98,8%) και D1118H (99,2%). Μεταξύ αυτών των μεταλλάξεων, οι Del69/70 και Del144 μπορούν να μειώσουν σημαντικά την εξουδετέρωση των στοχευόμενων αντισωμάτων NTD,105 επειδή οι περισσότεροι από τους ανοσολογικούς επιτόπους των αντισωμάτων NTD εντοπίζονται στους βρόχους N3 (υπολείμματα 141-156) και N5 (υπολείμματα 246-260), ενώ Το Del144 μπορεί να αλλάξει τον βρόχο N3 και να προκαλέσει την ανοσολογική διαφυγή τέτοιων αντισωμάτων. Το Del69/70 μπορεί να ενισχύσει τη μολυσματικότητα. Η χαρακτηριστική μετάλλαξη N501Y μπορεί να αυξήσει σημαντικά τη σύνδεση της πρωτεΐνης S στον ACE2 και να ενισχύσει περαιτέρω τη μολυσματικότητα. Επιπλέον, το N501Y συσχετίστηκε επίσης με την ανοσολογική διαφυγή, στην οποία εντοπίστηκε ο επίτοπος των αντισωμάτων κατηγορίας A. Αυτή η μετάλλαξη εμφανίστηκε επίσης σε άλλες παραλλαγές όπως το Beta, το Gamma και το Omicron. Όχι μόνο οι VOC, αλλά σχεδόν όλες οι κυκλοφορούσες παραλλαγές είχαν επίσης μετάλλαξη D614G. Σύμφωνα με τους Plante JA et al. διαπιστώθηκε ότι το D614G μπορεί να αλλάξει τη φυσική κατάσταση του ιού και να ενισχύσει την αναπαραγωγή του SARS-CoV-2 στους πνεύμονες. Ωστόσο, το D614G μείωσε την ικανότητα διαφυγής του ιού και βελτιώθηκε η ευαισθησία στα εξουδετερωτικά αντισώματα.[34],[35]. Οι παραπάνω μελέτες υποδεικνύουν ότι αυτή η μετάλλαξη ήταν απαραίτητη για τη διατήρηση της επιβίωσης του SARS-CoV-2. Η μετάλλαξη P681H κοντά στη θέση διάσπασης της φουρίνης ενίσχυσε την διάσπαση των υπομονάδων S1 και S2 και αύξησε την είσοδο της παραλλαγής Άλφα [36].

12.2. Βήτα.(Beta)

Το B.1.351 (γνωστό και ως 501Y.V2) εντοπίστηκε για πρώτη φορά στη Νότια Αφρική τον Μάιο του 2020 και εμφανίστηκε για πρώτη φορά μετά το πρώτο κύμα επιδημίας στον κόλπο Nelson Mandela. Αυτή η παραλλαγή είχε διαφορετικά χαρακτηριστικά από τις κυρίαρχες παραλλαγές B.1.154, B.1.1.56 και C.1 που εμφανίστηκαν στο πρώτο κύμα της πανδημίας και εξαπλώθηκε γρήγορα στις επαρχίες Eastern Cape, Western Cape και KwaZulu-Natal μέσα σε λίγες μόνο εβδομάδες , προκαλώντας το δεύτερο κύμα επιδημίας στη Νότια Αφρική (Οκτώβριος 2020).[34] Στις 18 Δεκεμβρίου 2020, το B.1.351 χαρακτηρίστηκε ως VOC από τον ΠΟΥ και ονομάστηκε Beta. Παρόμοια με την παραλλαγή Άλφα, η γενεαλογία B.1.351 περιελάμβανε επίσης τρεις υπότυπους 501Y.V2-1/-2/-3, και 501.Y.V2-1 το οποίο κατείχε κυρίαρχη θέση, στη συνέχεια στο 501Y.V2-2 εμφανίστηκαν πρόσθετες μεταλλάξεις αμινοξέων στις θέσεις 18 και 417 του γονιδιώματος και τελικά εμφανίστηκε μετάλλαξη Del241/243 στην 501Y.V2-3.136. Μεταξύ όλων των ανιχνευόμενων αλληλουχιών VOC Beta, το 89,6 και το 93% είχαν μεταλλάξεις K417N και Del241/243, υποδεικνύοντας ότι η υποομάδα 501Y ήταν η κυρίαρχη του VOC Beta .

Υπήρχαν εννέα μεταλλάξεις στην πρωτεΐνη S της παραλλαγής βήτα: L18F (βρέθηκε σε 43,6% αναφερόμενες παραλλαγές Βήτα), D80A (97,1%), D215G (94,6%), Del241/243 (89,6%), K417N (93%), E484K (86,5%), N501Y (87%), D614G (97,8%) και A701V (96,4%) . Οι γλυκάνες των θέσεων αμινοξέων 17, 174, 122 και 149 στην περιοχή NTD συνδυασμένες σε επτά στοχευμένους επιτόπους αντισωμάτων NTD137 και L18F παρεμβαίνουν στη σύνδεση μεταξύ των αντισωμάτων και το υπόλειμμα 17 επηρεάζει την εξουδετέρωση του αντισώματος. Το Del241/243 χαρτογραφείται στην ίδια επιφάνεια με το Del144 στην παραλλαγή Άλφα που μπορεί επίσης να παρεμβαίνει στην εξουδετέρωση των αντισωμάτων. Επιπλέον, αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι οι μεταλλάξεις K717N και E484K (καθώς και η K417T στην παραλλαγή Gamma και η E484A στην παραλλαγή Omicron) συμβάλλουν και οι δύο στην ανοσολογική διαφυγή έναντι των αντισωμάτων της ομάδας A-D *και μαζί με την K417N μπορούν ταυτόχρονα να ενισχύσουν τη μολυσματικότητα.

Συνολικά, οι μεταλλάξεις L18F, Del241/243, K417N, E484K και N501Y συνέβαλαν στην ικανότητα διαφυγής του ανοσοποιητικού των VOC Beta, ενώ τα K417N, N501Y και D614G ενίσχυσαν την ιογενή λοίμωξη. Επομένως, σε σύγκριση με την παραλλαγή Άλφα, η παραλλαγή Βήτα είχε χαμηλότερη μεταδοτικότητα, αλλά πολύ ισχυρή ικανότητα διαφυγής του ανοσοποιητικού και μείωσε την αποτελεσματικότητα εξουδετέρωσης των εγκεκριμένων από τον ΠΟΥ εμβολίων κατά περισσότερες από 10 φορές [36].

12.3. Γάμμα

Το P.1 εντοπίστηκε για πρώτη φορά στη Βραζιλία τον Νοέμβριο του 2020 και προκάλεσε το δεύτερο κύμα της επιδημίας σε αυτή τη χώρα, προκαλώντας περισσότερο από το 76% μόλυνση του πληθυσμού και ο μέσος αριθμός των καθημερινά επιβεβαιωμένων ασθενών με COVID-19 στο Μανάους αυξήθηκε κατά 180 από την 1η έως την 19η Ιανουαρίου, που ήταν περίπου 30 φορές από τη μέση αύξηση των κρουσμάτων τον Δεκέμβριο. Στις 11 Ιανουαρίου 2021, το P.1 χαρακτηρίστηκε ως VOC από τον ΠΟΥ και ονομάστηκε Gamma.

Υπήρχαν 12 μεταλλάξεις στην πρωτεΐνη S της παραλλαγής γάμμα: L18F (βρέθηκε σε 97,9% αναφερόμενα στελέχη P.1), T20N (97,9%), P26S (97,6%), D138Y (95,5%), R190S (93,6%), K417T (95,5%), E484K (95,2%), N501Y (95,3%), D614G (99%), H655Y (98,5%), T1027I (97,2%), V1176F (98,1%) (https://outbreak.info). Δεδομένου ότι οι περισσότερες από τις μεταλλάξεις που μας ενδιαφέρουν όπως K417T, E484K, N501Y και D614G έχουν εισαχθεί στις παραλλαγές Alpha και Beta που αναφέρονται παραπάνω, δεν θα επαναληφθούν εδώ.

Μεταξύ αυτών των μεταλλάξεων, τα L18F, K417T, E484K και N501Y συμβάλλουν στην ενίσχυση της ικανότητας διαφυγής του ανοσοποιητικού, ενώ τα K417T, N501Y και D614G μπορούν να ενισχύσουν την ιογενή λοίμωξη. Ως εκ τούτου, το VOC Gamma έδειξε παρόμοια ικανότητα ανοσολογικής διαφυγής με το VOC Beta, αλλά μικρότερη από την παραλλαγή Beta, η οποία μπορεί να προκαλείται από μεταλλάξεις εκτός της περιοχής RBD και η μολυσματικότητα και των δύο παραλλαγών Beta και Gamma ήταν μικρότερη από αυτήν της παραλλαγής Alpha [36].

12.4. Δέλτα (Delta)

Το B.1.617.2 εντοπίστηκε για πρώτη φορά στη Μαχαράστρα της Ινδίας, τον Οκτώβριο του 2020 και εξαπλώθηκε γρήγορα σε λίγους μήνες λόγω της χαλάρωσης των μέτρων πρόληψης και ελέγχου για τον COVID-19, προκαλώντας το θάνατο περισσότερων από 400.000 ανθρώπων. Στις 11 Μαΐου 2021, αυτή η παραλλαγή χαρακτηρίστηκε ως VOC από τον ΠΟΥ και ονομάστηκε Delta. Το VOC Delta ήταν μια παραλλαγή που μεταδόθηκε παγκόσμια μετά την VOC Alpha και εντοπίστηκε σε τουλάχιστον 169 χώρες.

Υπήρχαν δέκα μεταλλάξεις στην πρωτεΐνη S της παραλλαγής Delta: T19R (βρέθηκε σε 98,3% αναφερθέντα στελέχη δέλτα), T95I (38,3%), G142D (66,1%), E156G (92,1%), Del157/158 (92,2%), L452R (96,9%), T478K (97,2%), D614G (99,3%), P681R (99,2%), D950N (95,3%). Τα G142D και E156G βρίσκονται στον βρόχο N3, τον οποίο τα αντισώματα NTD θα μπορούσαν να στοχεύσουν, επομένως μπορεί να επηρεάσει τη δραστηριότητα εξουδετέρωσης των αντισωμάτων NTD. Το Del157/158 χαρτογραφείται στην ίδια επιφάνεια με το Del144 στην παραλλαγή Alpha και το Del241/243 στην παραλλαγή Beta, αντίστοιχα, που μπορεί να επηρεάσουν την εξουδετέρωση των αντισωμάτων της ομάδας A-B, ενισχύοντας την ικανότητα διαφυγής του ανοσοποιητικού της παραλλαγής Delta(129), η L452R σχετίζεται με υψηλότερη μολυσματικότητα. Η μετάλλαξη P681R ενίσχυσε τη μολυσματικότητα του ιού και βελτίωσε περαιτέρω την φυσική κατάστασή του σε σύγκριση με την P681H, γεγονός που εξηγεί την υψηλότερη μεταδοτικότητα της παραλλαγής Delta σε σχέση με την Alpha.[36],[37].

Αν και οι μεταλλάξεις όπως οι L452R, T478K δεν έχουν αναφερθεί στις προηγούμενες παραλλαγές Alpha, Beta και Gamma, αυτές οι μεταλλάξεις έδωσαν στο VOC Delta ισχυρότερη ικανότητα μετάδοσης (με αριθμό αναπαραγωγής 3,2–8, μέσος όρος 5) και ικανότητα διαφυγής του ανοσοποιητικού μεγαλύτερη από ότι παρατηρήθηκε στην Alpha, γεγονός που έκανε την παραλλαγή Delta να γίνει γρήγορα κυρίαρχη και να μειώσει την αποτελεσματικότητα των εγκεκριμένων εμβολίων.

12.5. Ομικρον (Omicron)

Τον Νοέμβριο του 2021, το B.1.1.529 εμφανίστηκε σε πολλές χώρες. Δεδομένου ότι η πρωτεΐνη S αυτής της παραλλαγής περιέχει περισσότερες από 30 θέσεις μετάλλαξης και πολλές από αυτές συμπίπτουν με τις μεταλλάξεις της πρωτεΐνης S προηγούμενων VOCs, η B.1.1.529 χαρακτηρίστηκε ως VOC από τον ΠΟΥ στις 26 Νοεμβρίου 2021 και ονομάστηκε Omicron. Αν και η παραλλαγή Omicron έχει περισσότερες μεταλλάξεις, η σοβαρότητα του ασθενούς που είχε μολυνθεί με Omicron ήταν μικρότερη από την Delta. Μετά τη μόλυνση με την παραλλαγή Omicron, τα χάμστερ δεν είχαν προοδευτική απώλεια βάρους παρόμοια με εκείνη μετά τη μόλυνση με Άλφα/Βήτα/Δέλτα και ο αριθμός των αντιγράφων του ιού στους πνεύμονες ήταν μικρότερος, υποδεικνύοντας ότι το Omicron έχει μικρότερη επίδραση στην κατώτερη αναπνευστική οδό . Με την αξιολόγηση της μόλυνσης από το Omicron σε διαφορετικά κύτταρα, οι Thomas P. Peacock et al. διαπίστωσαν ότι ο βαθμός μόλυνσης της Omicron στο Calu-3 (μια κυτταρική σειρά του πνεύμονα, της οποίας η έκφραση TMPRSS2 είναι φυσιολογική, αλλά η έλλειψη έκφρασης CTSL, που εμποδίζει την οδό εισόδου του ιού στο πυρηνικό ενδοσώμα) είναι ασθενέστερος από ότι στην Delta, υποδεικνύοντας ότι η είσοδος της Omicron εξαρτάται περισσότερο από την οδό ενδοκυττάρωσης που προκαλείται από το πυρηνικό ενδοσώμα αντί της οδού σύντηξης της μεμβράνης που εμπλέκεται στο TMPRSS2 και το TMPRSS2 που κατανέμεται κυρίως στα επιθηλιακά κύτταρα του ανθρώπινου πνεύμονα. Επομένως, η

Omicron έχει χαμηλότερη μολυσματικότητα στους πνεύμονες και προκαλεί ήπια συμπτώματα, προκαλώντας κυρίως λοίμωξη του ανώτερου αναπνευστικού.[38]

Η πρωτεΐνη S της παραλλαγής Omicron περιέχει 31 μεταλλάξεις: A67V, Del69/70, T95I, G142D, Del143/145, N211I, Del212-212, G339D, S371L, S373P, S375F, K477N, G149N, G417N, G149N, G143 , Q498R, N501Y, Y505H, T547K, D614G, H655Y, N679K, P681H, N764K, D796Y, N856K, Q954H, N969K και L981F. O Cao Y και οι συνεργάτες του ανέλυσαν συστηματικά την επίδραση αυτών των μεταλλάξεων στην ανοσολογική διαφυγή. Μεταξύ αυτών, οι μεταλλάξεις 477/493/496/498/501/505 επηρέασαν τη δραστηριότητα εξουδετέρωσης των αντισωμάτων της ομάδας A, οι μεταλλάξεις 477/478/484 επηρέασαν τη δραστηριότητα εξουδετέρωσης των αντισωμάτων της ομάδας B, ενώ η εξουδετερωτική δραστηριότητα της ομάδας C/D/E. Τα αντισώματα επηρεάστηκαν από μεταλλάξεις 484, 440/446 και 346/440, αντίστοιχα, τα αντισώματα της ομάδας F διαταράσσονται από μεταλλάξεις 373/375.

Αν και οι μεταλλάξεις Del69/70, K417N, N501Y, D614G και P681H μπορούν να ενισχύσουν την ιογενή λοίμωξη (με αριθμό αναπαραγωγής 2,6–4,0) και οι Del143/145, K417N, T478K, E484A και N501Y σχετίζονται με το ανοσοποιητικό η μόλυνση της παραλλαγής Omicron έχει μικρότερη επίδραση στον πνεύμονα και είναι απίθανο να προκαλέσει σοβαρές ασθένειες σε σύγκριση με το VOC Delta.[39] Επιπλέον, ο ορός πολλών εμβολίων σχεδόν έχασε το αποτέλεσμα εξουδετέρωσης στην παραλλαγή Omicron, υποδεικνύοντας ότι θα πρέπει να εξεταστούν νέες στρατηγικές (όπως ο ενισχυτικός εμβολιασμός, ο διαδοχικός εμβολιασμός και η ανάπτυξη νέων πλατφορμών όπως το εμβόλιο νανοσωματιδίων).

Οι Pajon et al. και Nemet et al. αξιολόγησαν την ενισχυμένη προστασία της τρίτης δόσης του mRNA-1273 και του BNT162b2 έναντι της παραλλαγής Omicron, αντίστοιχα. Η ενισχυμένη ανοσοαπόκριση είναι ακόμη περιορισμένη. Μια ισραηλινή μελέτη έδειξε ότι η τέταρτη δόση του εμβολίου BNT162b2 ή mRNA-1273 εξακολουθεί να μην μπορεί να αποτρέψει τη μόλυνση από το Omicron. Επιπλέον, ο Wang J και οι συνεργάτες του αξιολόγησαν την προστασία του τέταρτου BBIBP-CorV έναντι της παραλλαγής Omicron. Αν και ο πρόσθετος εμβολιασμός ανακάλεσε επιτυχώς την απόκριση των κυττάρων μνήμης τον 6ο μήνα μετά την τρίτη δόση, η παραγωγή αντισωμάτων που στόχευαν την περιοχή RBD κατεστάλη λόγω της ενισχυμένης ανοσοποιητικής πίεσης και μειώθηκαν τα επιθυμητά επίπεδα [40].

13.Εμβολιασμός και αντισώματα κατά του SARS-CoV-2

Γενικά, η προστασία από ιογενείς λοιμώξεις επιτυγχάνεται κυρίως με εξουδετερωτικά αντισώματα του ιού, μια αρχή που ισχύει για τη συντριπτική πλειονότητα των ιογενών λοιμώξεων στις οποίες οι άνθρωποι αποκτούν ισχυρή ανοσολογική προστασία, λόγω μόλυνσης ή εμβολιασμού. Είναι επείγον συνεπώς να αναπτυχθούν εμβόλια που στοχεύουν στην επαγωγή προστατευτικών ανοσολογικών αποκρίσεων, κυρίως μέσω εξουδετερωτικών αντισωμάτων ειδικών για τον SARS-CoV-2 [4].
Αυτό φάνηκε και σε πρώιμες μελέτες υποψηφίων εμβολίων SARS-CoV-2 σε μοντέλο μακάκου rhesus, όπου παρατηρήθηκε μια αυξανόμενη ποσότητα εξουδετερωτικών αντισωμάτων έναντι της πρωτεΐνης S, μεσολαβώντας στην κυτταρική δέσμευση με αποτέλεσμα η πρόκληση αποκρίσεων εξουδετερωτικών αντισωμάτων (NAbs) να είναι απαραίτητη για τα εμβόλια με την υψηλότερη αποτελεσματικότητα. Ωστόσο, τα μη NAbs έχει αναφερθεί ότι διαδραματίζουν επίσης κρίσιμο ρόλο στην προστασία έναντι του SARS-CoV-2 μέσω των λειτουργιών της Fc περιοχής τους, δηλαδή φαγοκυττάρωσης, κυτταρικής κυτταροτοξικότητας και ενεργοποίησης φυσικών φονικών κυττάρων που εξαρτώνται από αντισώματα [8].
Τα αντισώματα που συνδέονται στην περιοχή RBD είναι πιθανόν εξουδετερωτικά, καθώς εμποδίζουν την πρόσδεση του ιού στον υποδοχέα του (ACE2), στην επιφάνεια των κυττάρων του ξενιστή. Τα περισσότερα αντισώματα που συνδέονται σε άλλα τμήματα της πρωτεΐνης ακιδας S καθώς και τα αντισώματα που συνδέονται στις πρωτεΐνες του φακέλου ή της μεμβράνης του SARS-CoV-2 μπορεί να μην εξουδετερώσουν τον ιό [4] . Για αυτό το λόγο οι περισσότερες μελέτες μετρούν τους τίτλους anti-RBD και anti-S στους ορούς ανοσοποιημένων ασθενών ή ζώων [5].
Γενικά είναι πιο δύσκολο να προκληθούν μακροπρόθεσμες αποκρίσεις Τ κυττάρων μέσω του εμβολιασμού. Και αυτό γιατί για την επαγωγή ισχυρών αποκρίσεων Τ κυττάρων συνήθως απαιτείται μικροβιακή αντιγραφή in vivo, κάτι που δεν μπορεί να συμβεί, αφού τα περισσότερα εμβόλια είναι είτε εξασθενημένα παθογόνα ή πιο συχνά νεκρά/συνθετικά εμβόλια που δεν αναπαράγονται in vivo. Ως εκ τούτου, είναι ιδιαίτερα δύσκολο να προκληθούν ανθεκτικά CD8 Τ κύτταρα με τις διαθέσιμες επί του παρόντος τεχνολογίες εμβολίων. Ωστόσο αυτό δεν είναι σημαντικό πρόβλημα στον εμβολιασμό, καθώς τα CD8 Τ κύτταρα δεν είναι εξειδικευμένα για την πρόληψη λοιμώξεων, αλλά είναι μάλλον σημαντικά όταν μολυνθούν τα κύτταρα του ξενιστή, συνεπώς έχουν σημασία μόνο σε άτομα με εγκατεστημένη μόλυνση. Η επαγωγή CD4 Τ κυττάρων επίσης δεν αποτελεί περιορισμό στον εμβολιασμό, πιθανόν επειδή μικρός αριθμός αυτών των κυττάρων είναι ήδη επαρκής για την υποστήριξη της παραγωγής αντισωμάτων. Ωστόσο, ο εμβολιασμός μπορεί να αποτύχει λόγω μη απόκρισης των CD4 Τ κυττάρων. Επειδή τα CD4 δρουν σαν βοηθητικά Τ κύτταρα μια έξυπνη προσέγγιση είναι η συμπλήρωση εμβολίων με την εισαγωγή μικροβιακών αντιγόνων στα οποία οι περισσότεροι άνθρωποι είναι ήδη ανοσοποιημένοι. Η επακόλουθη

ανοσολογική απόκριση θα είναι ισχυρότερη επειδή η ενίσχυση των προηγουμένως ενεργοποιημένων και εδραιωμένων κυττάρων CD4 T είναι πιο αποτελεσματική σε σχέση με το αρχικό έναυσμα ενεργοποίησης αυτών [4].

Δεν συνιστάται ο εμβολιασμός για αποκρίσεις Τ-λεμφοκυττάρων χωρίς επίσης να επάγονται αποτελεσματικά εξουδετερωτικά αντισώματα, επειδή τα τελευταία είναι πιθανώς οι κρίσιμοι βασικοί φορείς και επίσης επειδή τα Τ κύτταρα, ιδιαίτερα τα CD8 T κύτταρα, μπορούν να προκαλέσουν εκτεταμένη βλάβη των ιστών μέσω της κυτταροτοξικότητάς τους κατά των μολυσμένων κυττάρων, η οποία είναι πιθανώς αυξημένη απουσία αντισωμάτων που εξουδετερώνουν τους ιούς στον εξωκυτταρικό χώρο [4].

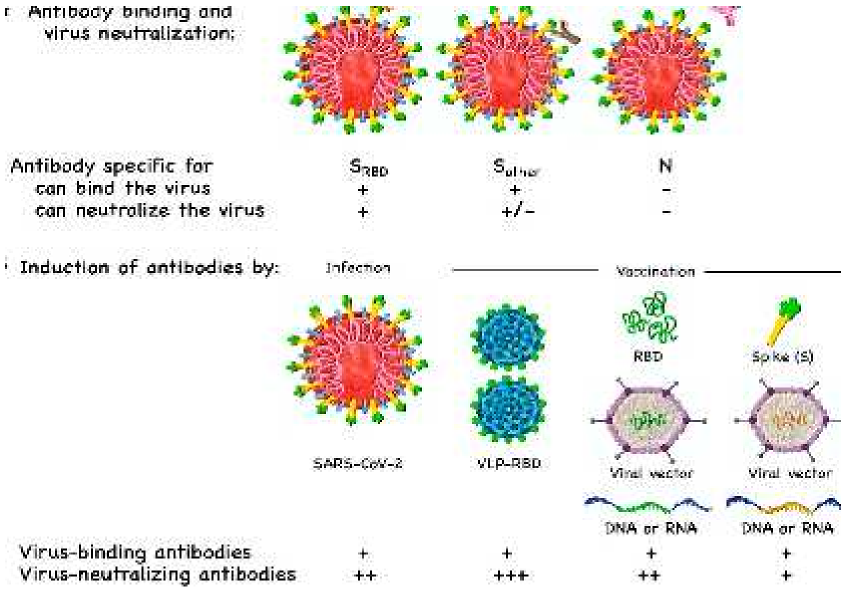
Για την πρόληψη της νόσου μέσω του εμβολιασμού τα Τ κύτταρα μόνα τους είναι πιθανώς λιγότερο αποτελεσματικά σε σχέση με τα εξουδετερωτικά αντισώματα. Τα εμβόλια είναι επιτυχή επειδή επάγουν αντισώματα που εξουδετερώνουν τα ϊικά σωματίδια στον εξωκυτταρικό χώρο, αμέσως μετά την είσοδο στο σώμα και πριν οι ιοί μολύνουν τα κύτταρα του ξενιστή. Είναι σημαντικό ότι τα CD4 βοηθητικά Τ κύτταρα βοηθούν επίσης τα Β κύτταρα να παράγουν αντισώματα. Ως εκ τούτου, τα εμβόλια θα πρέπει να επάγουν ταυτόχρονα και Β κύτταρα και Τ κύτταρα [4].

Η παρουσίαση των αντιγόνων προς τα Τ-κύτταρα θα πρέπει να γίνει από μόρια HLA (Ανθρώπινα Λευκοκυτταρικά Αντιγόνα) στην επιφάνεια των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων και των κυττάρων που έχουν μολυνθεί. Τα μόρια HLA διαφέρουν στους περισσότερους ανθρώπους, καθώς παρουσιάζουν έντονο γενετικό πολυμορφισμό και επομένως η αναγνώριση του ιού από τα Τ κύτταρα βασίζεται σε μια πολύ μεγάλη ποικιλία συμπλεγμάτων αντιγονικού πεπτιδίου/HLA. Έτσι, κάθε άτομο έχει τα δικά του Τ κύτταρα που είναι ειδικά για εκείνα τα αντιγονικά πεπτίδια που συνδέονται με τα δικά του μόρια HLA [4].

Τα εμβόλια που περιέχουν μικρά αντιγονικά πεπτίδια ή μίνι-γονίδια δεν θα είναι αποτελεσματικά για τους περισσότερους ανθρώπους, δηλαδή για εκείνους των οποίων τα μόρια HLA δεν μπορούν να παρουσιάσουν τα αντίστοιχα αντιγονικά πεπτίδια. Αντίθετα, ο εμβολιασμός με μακρά πεπτίδια ή ιικές πρωτεΐνες πλήρους μήκους ή αντίστοιχο DNA/RNA είναι δυνητικά χρήσιμος για πολλά ή όλα τα άτομα [4].

Ο SARS-CoV-2 είναι γνωστό ότι μεταλλάσσεται, ενέχοντας τον κίνδυνο τα υπάρχοντα εξουδετερωτικά αντισώματα να χάσουν την προστατευτική τους δύναμη. Ωστόσο, οι κοροναϊοί έχουν ικανότητα διόρθωσης (proofreading RNA) και επίσης επικρατεί η άποψη ότι τα μέλη αυτής της οικογένειας ιών εξαρτώνται από σχετικά υψηλό βαθμό γενετικής σταθερότητας. Πράγματι, οι κοινές μεταλλάξεις της πρωτεΐνης S του SARS-CoV-2 είναι απίθανο να επηρεάσουν τους επιτόπους αντισωμάτων.

Έτσι τα αντισώματα μπορεί να διατηρήσουν την προστατευτική τους ισχύ για αρκετό χρονικό διάστημα ώστε να δικαιολογούν τις προσεγγίσεις εμβολίων [4].



Εικόνα 3: Διαφορετικά είδη αντισωμάτων και επαγωγή αντισωμάτων στην μόλυνση και τον εμβολιασμό.

Τα αντισώματα που είναι ειδικά για τις επιφανειακές πρωτεΐνες του ιού, μπορούν να δεσμευτούν στον SARS-CoV-2. Τα αντισώματα που συνδέονται στην περιοχή δέσμευσης του υποδοχέα της πρωτεΐνης S (RBD) είναι πιθανόν και εξουδετερωτικά καθώς μπορούν να εμποδίσουν την δέσμευση και την επερχόμενη μόλυνση από τον ιό. Τα περισσότερα αντισώματα που συνδέονται σε άλλα τμήματα της πρωτεΐνης ακιδας S, μπορεί να μην είναι εξουδετερωτικά. Τα αντισώματα (ροζ χρώμα) που είναι ειδικά για τις πρωτεΐνες του νουκλεοκαψιδίου(N) δεν έχουν δυνατότητα σύνδεσης σε ζωντανούς ιούς. Τόσο η μόλυνση, όσο και ο εμβολιασμός μπορούν να επάγουν δεσμευτικά αντισώματα. Τα VLP-RBD εμβόλια έχουν μεγάλη πιθανότητα να επάγουν εξουδετερωτικά αντισώματα, υπό την προϋπόθεση ότι εμφανίζουν την περιοχή RBD (πράσινο) με επαναλαμβανόμενο και επομένως εξαιρετικά ανοσογονικό τρόπο [4].

14.Πλατφόρμες τεχνολογίας εμβολίων

Τις τελευταίες δεκαετίες, έχει αναπτυχθεί ένα ευρύ φάσμα νέων πλατφορμών τεχνολογίας για την ανάπτυξη εμβολίων, χάρη στην πρόοδο κυρίως στη μοριακή βιολογία και την εμβολιολογία και περιλαμβάνει τεχνολογίες ζώντων εξασθενημένων ή αδρανοποιημένων ιών, συνθετικών πεπτιδικών αντιγόνων, ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών, μη αναδιπλασιαζόμενων και αναδιπλασιαζόμενων ιικών φορέων, νανοσωματιδίων της κατηγορίας των virus-like particles (VLPs), συζυγών πολυσακχαρίτη-πρωτεΐνης και νουκλεϊκών οξέων (DNA και RNA). Τα υπάρχοντα

εμβόλια κατά των μολυσματικών ασθενειών που διατίθενται στο εμπόριο βασίζονται σε πολλές από αυτές τις τεχνολογίες πλατφόρμας [2].
Στο πλαίσιο αυτό περισσότερα από 320 εργαστήρια σε όλο τον κόσμο ανέπτυξαν εμβόλια με στόχο την ενεργοποίηση εξουδετερωτικών αντισωμάτων κατά του ιού SARS-CoV-2. Κατά τη διάρκεια της πανδημίας COVID-19, ο τομέας γνώρισε τεράστια επιτάχυνση, που τροφοδοτήθηκε από διεθνείς συνεργασίες, σημαντικές επενδύσεις του δημόσιου και ιδιωτικού τομέα και στενές συνδέσεις με τις κανονιστικές αρχές. Με την εξαίρεση λίγων εμβολίων όπου χρησιμοποιήθηκε αδρανοποιημένος ιός, τα υπόλοιπα εμβόλια κατασκευάστηκαν από συνθετικά γονίδια που κωδικοποιούν την παραγωγή της πλήρους μήκους πρωτεΐνη ακίδας ή την περιοχή της δέσμευσης του υποδοχέα (RBD). Στις περισσότερες περιπτώσεις, η πρωτεΐνη-ακίδα είχε κατασκευαστεί τροποποιημένη με δύο υποκαταστάσεις (μεταλλάξεις) προλίνης οι οποίες είχαν αποδειχθεί ότι σταθεροποιούν την πρωτεΐνη-ακίδα σε διαμόρφωση προ της σύντηξης [13].
Οι επιστήμονες ανέπτυξαν επίσης συγκεκριμένα ζωϊκά μοντέλα όπως διαγονιδιακά ποντίκια, χάμστερ και πρωτεύοντα πλην του ανθρώπου που εκφράζουν το ανθρώπινο ACE2 (hACE2) για να αξιολογήσουν την αποτελεσματικότητα των εμβολίων σε σχέση με την προστασία κατά της COVID-19 σε προκλινικές μελέτες. Άλλο κατάλληλο ζωικό μοντέλο περιλαμβάνει την ενδορινική μεταφορά ενός ιϊκού φορέα που κωδικοποιεί το hACE2 σε άγριου τύπου ζώα πριν από την ιϊκή δοκιμασία [10].
Οι πλατφόρμας τεχνολογίες που χρησιμοποιήθηκαν με τα αντίστοιχα υποψήφια εμβόλια ανασκοπούνται στην συνέχεια.

14.1. Τεχνολογία mRNA

Το αγγελιοφόρο RNA (messenger RNA,mRNA) που φέρει τις οδηγίες για την σύνθεση των πρωτεϊνών, παίζει θεμελιώδη ρόλο στη βιολογία, επιτρέποντας την ταχεία μετάφραση της επιθυμητής πρωτεΐνης στα κύτταρα. Τα φάρμακα mRNA χρησιμοποιούν φυσικές φυσιολογικές διεργασίες για να εκφράσουν τις απαιτούμενες πρωτεΐνες για την πρόληψη ή τη θεραπεία ασθενειών. Ο μηχανισμός των φαρμάκων mRNA καθιστά δυνατή τη θεραπεία μιας σειράς ασθενειών, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που επί του παρόντος δεν αντιμετωπίζονται [14].
Κατά παρόμοιο τρόπο, τα εμβόλια mRNA περιέχουν επιλεγμένα γονίδια του ιού με τη μορφή mRNA το οποίο προσλαμβάνεται από τα κύτταρα του ξενιστή και μεταφράζεται, στο κυτταρόπλασμα στα αντιγόνα που κωδικοποιεί (ιϊκές πρωτεΐνες), επάγοντας έτσι μια ανοσιακή απόκριση [2], [5]. Πριν την πανδημία COVID-19 δεν υπήρχαν αδειοδοτημένα εμβόλια για τον άνθρωπο που να χρησιμοποιούσαν αυτή την πλατφόρμα [5].
Τα υποψήφια εμβόλια που χρησιμοποίησαν αυτή την τεχνολογία είναι:

- Το εμβόλιο mRNA-1273, που ως φαρμακευτικό προϊόν έχει την ονομασία Spikevax, και αναπτύχθηκε από την φαρμακευτική εταιρεία Moderna και το Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας των ΗΠΑ (NIH), είναι το πρώτο υποψήφιο εμβόλιο στις ΗΠΑ που μπήκε σε κλινική δοκιμή Φάσης Ι τον Μάρτιο του 2020, μόλις 42 ημέρες μετά τον προσδιορισμό της αλληλουχίας του πλήρους γονιδιώματος του ιού SARS-CoV-2 (αναγνωριστικό ClinicalTrials.gov NCT04283461) [2],[4],[15].

Το mRNA-1273 είναι ένα νέο με βάση το mRNA εμβόλιο, το οποίο περιέχει elasomeran, ενσωματωμένο σε λιπιδικά νανοσωματίδια. Το elasomeran είναι ένα μονόκλωνο αγγελιαφόρο RNA (mRNA) με καλύπτρα στο 5’ άκρο, παραγόμενο με χρήση ελεύθερης κυττάρων in vitro μεταγραφής από τα αντίστοιχα πρότυπα DNA, που κωδικοποιούν την ιική πρωτεΐνη-ακίδα (S) του SARS-CoV-2, τροποποιημένη για τη σταθεροποίηση της πρωτεΐνης S σε διαμόρφωση προ της σύντηξης. Η τεχνολογία των λιπιδικών νανοσωματιδίων (LNPs) έχει αποδειχθεί προηγουμένως ότι προκαλεί ισχυρές ανοσολογικές αποκρίσεις και προστασία έναντι ενός αριθμού διαφορετικών παθογόνων παραγόντων σε προκλινικές μελέτες. Επιπλέον, η τεχνολογία των LNPs εγκρίθηκε το 2018 για την μεταφορά της patisiran, της δραστικής ουσίας του φαρμάκου Onpattro, που είναι ένα «μικρό παρεμβαλλόμενο RNA» (siRNA) το οποίο αναστέλλει την έκφραση της τρανσθυρετίνης από τα ηπατικά κύτταρα σε ασθενείς με κληρονομική αμυλοείδωση από τρανσθυρετίνη (hATTR) (Onpattro Alnylam Pharmaceuticals, Cambridge, MA, ΗΠΑ), [2],[15],[16].

Μηχανισμός δράσης

Μετά από την ενδομυϊκή ένεση του εμβολίου, τα κύτταρα στη θέση ένεσης και οι παροχετευμένοι λεμφαδένες προσλαμβάνουν το λιπιδικό νανοσωματίδιο, χορηγώντας αποτελεσματικά την αλληλουχία mRNA στα κύτταρα, προκειμένου να μεταφραστεί σε ιική πρωτεΐνη. Το χορηγούμενο mRNA δεν εισέρχεται στον πυρήνα του κυττάρου ούτε αλληλεπιδρά με το γονιδίωμα, δεν αναπαράγεται και εκφράζεται παροδικά, κυρίως από τα δενδριτικά κύτταρα και τα μακροφάγα υποκαψικών κόλπων. Η εκπεφρασμένη, δεσμευμένη στη μεμβράνη πρωτεΐνη-ακίδα του SARS-CoV-2 αναγνωρίζεται κατόπιν από τα ανοσοκύτταρα ως ξένο αντιγόνο. Αυτό εκλύει αποκρίσεις τόσο Τ-κυττάρων όσο και Β-κυττάρων, ώστε να παραχθούν εξουδετερωτικά αντισώματα, τα οποία μπορεί να συμβάλλουν στην προστασία έναντι της νόσου COVID-19 [15].

- Το εμβόλιο της BioNTech (Mainz, Γερμανία), το οποίο αναπτύχθηκε από κοινού με την Pfizer, με την ονομασία BNT162b2, βασίζεται στην εκτεταμένη εμπειρία της BioNTech στην ανάπτυξη θεραπειών, ιδιαίτερα κατά του καρκίνου, με βάση το mRNA [2],[8].

Το εμβόλιο αυτό που ως φαρμακευτικό προϊόν έχει την ονομασία Comirnaty, είναι ένα εμβόλιο mRNA (τροποποιημένων νουκλεοσιδίων) που περιέχει τοζιναμεράνη (μονόκλωνο αγγελιοφόρο RNA (mRNA) με καλύπτρα στο 5’ άκρο) ενσωματωμένο σε λιπιδικά νανοσωματίδια και κωδικοποιεί την ιική πρωτεΐνη-ακίδα (S) του SARS-CoV-2 [17].

Μηχανισμός δράσης

Το αγγελιοφόρο RNA τροποποιημένων νουκλεοσιδίων μορφοποιείται σε λιπιδικά νανοσωματίδια, τα οποία επιτρέπουν την είσοδο του μη πολλαπλασιαζόμενου RNA στα κύτταρα-ξενιστές καθοδηγώντας την παροδική έκφραση του αντιγόνου S του SARS-CoV-2. Το mRNA κωδικοποιεί την πλήρους μήκους μεμβρανική πρωτεΐνη S με δύο σημειακές μεταλλάξεις εντός της κεντρικής έλικας. Η μετάλλαξη αυτών των δύο αμινοξέων σε προλίνη κλειδώνει την S στη διαμόρφωση προσύντηξης, η οποία είναι μια αντιγονικά προτιμώμενη διαμόρφωση [17]. Τα λιπιδικά νανοσωματίδια προστατεύουν το RNA από την αποδόμηση και του επιτρέπουν να μεταφερθεί στα κύτταρα του ξενιστή μετά την ενδομυϊκή ένεση [18]. Μόλις εισαχθεί στα κύτταρα ξενιστού, το mRNA μεταφράζεται στην πρωτεΐνη S του ιού SARS-CoV-2, που εκφράζεται στην επιφάνεια των κυττάρων ξενιστού και αυτή η παροδική έκφραση του αντιγόνου ακίδας προκαλεί απαντήσεις εξουδετερωτικών αντισωμάτων και κυτταρικής ανοσίας, οι οποίες μπορεί να συνεισφέρουν στην προστασία έναντι της COVID-19 [17],[18].

Το BNT162b2 στις 2 Δεκεμβρίου 2020 έλαβε μια προσωρινή άδεια επείγουσας χρήσης (EUA) στο Ηνωμένο Βασίλειο και ακολούθως μια σειρά εγκρίσεων ή εξουσιοδοτήσεων για χρήση έκτακτης ανάγκης στο Μπαχρέιν, τον Καναδά, το Μεξικό, τη Σαουδική Αραβία και τις ΗΠΑ. Αμέσως μετά, το BNT162b2 έλαβε υπό όρους άδεια κυκλοφορίας στην Ελβετία (19 Δεκεμβρίου 2020) και στην ΕΕ (21 Δεκεμβρίου 2020) για ενεργητική ανοσοποίηση ατόμων ηλικίας 16 ετών και άνω. Είναι το πρώτο εμβόλιο κατά της COVID-19 που έλαβε άδεια επείγουσας χρήσης από τον WHO [18].

- Η CureVac (Tübingen, Γερμανία) εκμεταλλεύτηκε την αποκλειστική RNAoptimizer® τεχνολογία πλατφόρμας για την ανάπτυξη ενός νέου υποψηφίου εμβολίου COVID-19, γνωστού ως CVnCoV [2],[8].
- Η BIOCAD (Αγία Πετρούπολη, Ρωσία) σχεδίασε ένα εμβόλιο mRNA κατά του SARS-COV-2 με βάση την προηγούμενη εμπειρία της με εμβόλια κατά του καρκίνου που βασίζονται σε mRNA [2].
- Το υποψήφιο εμβόλιο mRNA για την COVID-19 που αναπτύχθηκε από κοινού από το Κινεζικό Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (Πεκίνο, Κίνα), την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Tongji (Σαγκάη, Κίνα) και την Stemirna Therapeutics (Σαγκάη, Κίνα) βασίστηκε στη σύνθεση mRNA και στην βασισμένη στην νανοτεχνολογία πλατφόρμα μεταφοράς LPP της Stemirna [2]. Η LPP πλατφόρμα είναι μια δομή πυρήνα-κελύφους, με mRNA αναμεμειγμένο με πολυμερή ως πυρήνα και λιπίδια ως κέλυφος. Σε σύγκριση με τις παραδοσιακές πλατφόρμες λιπιδικών νανοσωματιδίων (LNP), το σωματίδιο LPP προστατεύει καλύτερα το mRNA και είναι σε θέση να απελευθερώνει το mRNA σταδιακά καθώς τα πολυμερή

αποικοδομούνται. Επίσης, η πλατφόρμα LPP μπορεί να ενεργοποιήσει καλύτερα την ανοσολογική απόκριση εξαιτίας της εξαιρετικής εκλεκτικότητάς της στα δενδριτικά κύτταρα, η παρουσίαση του αντιγόνου από τα οποία είναι απαραίτητη για την διέγερση των Τ κυττάρων [14].

- Το Πανεπιστήμιο Fudan (Fudan, Κίνα), σε συνεργασία με το Πανεπιστήμιο Shanghai JiaoTong (Σαγκάη, Κίνα) και το RNACure Biopharma (Σαγκάη, Κίνα), ακολούθησε δύο διαφορετικές στρατηγικές για την ανάπτυξη εμβολίων mRNA κατά της COVID-19. Η πρώτη στρατηγική περιλάμβανε ένα mRNA που κωδικοποιεί το RBD της πρωτεΐνης S για να επάγει nAbs, ενώ η δεύτερη στρατηγική περιλάμβανε ένα mRNA που καθοδηγεί τον ξενιστή να παράγει VLPs [2].
- Το Imperial College του Λονδίνου (Λονδίνο, Ηνωμένο Βασίλειο) ανέπτυξε ένα εμβόλιο mRNA κατά της COVID-19 που βασίζεται σε προηγούμενη εργασία με αυτοενισχυόμενο RNA ενσωματωμένο σε λιπιδικό νανοσωματίδιο (LNP), το οποίο έχει αποδειχθεί προηγουμένως ότι επάγει αντισώματα κατά του HIV-1 Env gp140 [2].
- Η Arcturus Therapeutics (Σαν Ντιέγκο, Καλιφόρνια, ΗΠΑ) σε συνεργασία με το Εθνικό Πανεπιστήμιο Duke της Σιγκαπούρης (Σιγκαπούρη) ανέπτυξε ένα υποψήφιο εμβόλιο χρησιμοποιώντας την τεχνολογική του πλατφόρμα STARRTM (self-transcribing and replicating RNA) που συνδυάζει αυτοαναπαραγόμενο RNA με το σύστημα μεταφοράς νανοσωματιδίων LUNAR® σε μια ενιαία λύση για in situ έκφραση πρωτεϊνών SARS-CoV-2 που επάγουν μια αντι-ιική ανοσολογική απόκριση [2].
- Η eTheRNA Immunotherapies (Niel, Βέλγιο) ανέπτυξε ένα νέο εμβόλιο χρησιμοποιώντας την αποκλειστική τεχνολογική πλατφόρμα TriMix. Η πλατφόρμα TriMix περιλαμβάνει τρεις διαφορετικές πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από mRNAs (caTLR4, CD40L και CD70) και ενεργοποιούν τα δενδριτικά κύτταρα (DCs) για να προκαλέσουν ισχυρές αποκρίσεις κυττάρων CD4+ και CD8 T+. Η πλατφόρμα αυτή αποδείχθηκε ότι επάγει ανοσολογικές αποκρίσεις σε προκλινικές και κλινικές μελέτες ενός mRNA -βασιζόμενου εμβολίου κατά του μελανώματος [2].
- Η Sanofi Pasteur και η Translate Bio (Lexington, MA, ΗΠΑ) συνεργάστηκαν για να αναπτύξουν ένα νέο εμβόλιο mRNA βασισμένο στην αποκλειστική mRNA θεραπευτική πλατφόρμα (MRTTM) της Translate Bio. Αυτή η πλατφόρμα περιλάμβανε το σχεδιασμό των επιθυμητών αλληλουχιών mRNA και στη συνέχεια την ενσωμάτωση τους σε συστήματα μεταφοράς και έχει αποδειχθεί ότι επάγει θεραπευτικά αντισώματα έναντι του υποδοχέα του ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα τύπου 2 όγκων σε εξανθρωπισμένα ποντίκια [2].
- Η Centro Nacional de Biotecnología (Μαδρίτη, Ισπανία) ανέπτυξε ένα υποψήφιο εμβόλιο mRNA κατά της COVID-19 που βασίζεται στον εξαιρετικά εξασθενημένο φορέα του ιού ευλογιάς MVA που εκφράζει την πρωτεΐνη S, που έχει δοκιμαστεί στο παρελθόν ως φορέας υποψηφίων εμβολίων κατά των ιών Ζίκα και Έμπολα [2].

- Η Daiichi Sankyo (Τόκιο, Ιαπωνία) ανέπτυξε ένα εμβόλιο mRNA που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη S χρησιμοποιώντας τη νέα τεχνολογία τους μεταφοράς νουκλεϊκού οξέος που βασίζεται σε LNPs και τα προστατευτικά αποτελέσματα του εμβολίου θα επαληθευτούν σε ζωϊκά μοντέλα σε συνεργασία με το Πανεπιστήμιο του Τόκιο (Τόκιο, Ιαπωνία) [2].

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: Παραδείγματα υποψηφίων εμβολίων RNA κατά της COVID-19 σε προκλινικό στάδιο [2]

Πλατφόρμα τεχνολογίας για την ανάπτυξη εμβολίου	**RNA**			
Υποψήφιο εμβόλιο/ Πληροφορίες	**Κατασκευαστής**	**Στάδιο**	**Δοκιμή/περιοχή**	**Link**
RNAoptimizer® technology	CureVac	Clinical testing in June 2020	Tubingen, Germany	CureVac
Mrna	BIOCAD	Animal testing in April 2020	St. Petersburg, Russia	BIOCAD
Lipid nanoparticle (LNP)-encapsulated mRNA	China CDC/Tongji University/Stemirna Therapeutics	Clinical testing in April 2020	Beijing, China	Xinhuanet.com
LNP-encapsulated mRNA cocktail encoding VLP and LNP-encapsulated mRNA encoding RBD	Fudan University, Shanghai JiaoTong University, and RNACure Biopharma	Animal testing ongoing	Shanghai, China	Fudan University
LNP-encapsulated saRNA	Imperial College London	Clinical testing in June 2020	UK	Imperial College London
LNP-encapsulated saRNA	Arcturus Therapeutics/Duke-National University of Singapore	Animal testing ongoing	San Diego, USA; Singapore	Arcturus Therapeutics

mRNA for intranasal delivery	eTheRNA Immunotherapies/EpiVax/ Nexelis, REPROCELL/Centre for the Evaluation of Vaccination	Clinical testing in early 2021	Niel, Belgium	eTheRNA
mRNA	Sanofi Pasteur/Translate Bio	Animal testing planned	Lyon, France; Lexington, MA, United States	Sanofi Pasteur
Replication defective SARS-CoV-2 derived RNAs	Centro Nacional Biotecnología (CNB-CSIC)	Advancing preclinical candidate	Madrid, Spain	CNB-CSIC
LNP-encapsulated mRNA	University of Tokyo/Daiichi-Sankyo	Advancing preclinical candidate	Tokyo, Japan	Daiichi-Sankyo

ΠΙΝΑΚΑΣ 2: Υποψήφια εμβόλια RNA κατά της COVID-19 σε κλινικές δοκιμές [2]

Τίτλος μελέτης	**Εμβόλιο**	**Sponsor**	**Περιοχή**	**Κατάσταση**	**Φάση**	**Πρωταρχικό αποτέλεσμα**	**Αναγνωριστικό μελέτης**
Safety and Immunogenicity Study of 2019-nCoV Vaccine (mRNA-1273) to Prevent SARS-CoV-2 Infection; Dose-Confirmation Study to Evaluate the Safety, Reactogenicity, and Immunogenicity of mRNA-1273 COVID-19 Vaccine in Adults Aged 18 Years and Older	mRNA-1273	National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID)/Moderna Therapeutics	Washington, USA	Recruiting	I; II	Relevant safety outcomes (12 months follow up); Adverse events (28 days post-vaccination); SARS-CoV-2-specific binding antibody (through 1 year after the final dose)	NCT04283461; NCT04405076

Study to Describe the Safety, Tolerability,Immunogenicity, and Potential Efficacy of RNA Vaccine Candidates Against COVID-19 in Healthy Adults; A Trial Investigating the Safety and Effects of Four BNT162 Vaccines Against COVID-2019 in Healthy Adults	BNT162 (BNT162 a1, BNT162 b1, BNT162 b2) (Prime/ Boost), BNT162 c2 (Single Dose)	BioNTech RNA Pharmaceuticals GmbH and Pfizer	Mainz, Germany; Berlin, Germany	Recruiting; Recruiting	I/II	Solicited local reactions at the injection; Solicited systemic reactions (up to 7 ± 1 day after each immunization); Treatment-emergent adverse event (up to 21 ± 2 day after prime immunization and 28 ± 4 days after boost immunization)	NCT04368728; NCT04380701

14.2. Τεχνολογία DNA

Η έρευνα των Wolff et al. αποτέλεσε ορόσημο στη χρήση του DNA στην ανάπτυξη εμβολίων, καθώς ήταν οι πρώτοι που έδειξαν ότι η χορήγηση πλασμιδιακού DNA που δεν συνδέεται με κάποιο φορέα (naked plasmid DNA) ενδομυϊκώς σε ποντίκια είχε ως αποτέλεσμα την τοπική έκφραση του διαγονιδίου [10].

Τα εμβόλια DNA αποτελούν το μέσο μεταφοράς DNA, που μπορεί να είναι βακτηριακό πλασμίδιο ή μικρό κυκλικό μόριο DNA (minicircle DNA) ή γραμμικές, ομοιοπολικά κλειστές ελάχιστου μεγέθους κατασκευές έκφρασης γονιδίων, όπως είναι η μινιμαλιστική, ανοσολογικά καθορισμένη γονιδιακή έκφραση (minimalistic, immunologically defined gene expression (MIDGE)) και το Doggybone DNA που περιέχει τουλάχιστον μια κασέτα που κωδικοποιεί το αντιγόνο-στόχο και το οποίο θα εκφραστεί σε ευκαρυωτικά κύτταρα (π.χ. μυϊκά κύτταρα). Minicircle DNA, MIDGE και Doggybone είναι κατασκευές DNA που αποτελούνται από την/τις κασέτα/ες έκφρασης γονιδίου χωρίς το πρωταρχικό τμήμα του πλασμιδίου (bacterial backbone of plasmids). Έχει αποδειχτεί ότι το bacterial backbone μπορεί να μειώσει την έκφραση γονιδίων στα κύτταρα θηλαστικών [10].

Το πλασμίδιο DNA παράγεται μέσω γενετικά τροποποιημένων κυττάρων. Μετά την επώαση, τα βακτηριακά κύτταρα συλλέγονται και λύονται με χημικές, φυσικές ή μηχανικές μεθόδους. Στη συνέχεια, χρησιμοποιούνται τεχνικές για τον καθαρισμό του πλασμιδιακού DNA [10].

Αρκετά εμβόλια DNA έχουν άδεια για κτηνιατρική χρήση σε μεγάλα ζώα, όπως άλογα καθώς και μικρά ζώα, όπως κοτόπουλα, αλλά κανένα εμβόλιο DNA δεν ήταν αδειοδοτημένο για τον άνθρωπο πριν από την πανδημία COVID-19 [5],[10].

Αυτός ο τύπος εμβολίου περιέχει επιλεγμένο/α γονίδιο/α του ιού με τη μορφή DNA. Κατά την έγχυση, το DNA προσλαμβάνεται, μεταγράφεται και το mRNA μεταφράζεται στα ριβοσώματα, επάγοντας μια προστατευτική ανοσοαπόκριση προς το αντιγόνο [5]. Ένα από τα μεγαλύτερα πλεονεκτήματα αυτού του τύπου εμβολίου είναι η ασφάλεια και η επεκτασιμότητα για μαζική παραγωγή. Τα ιϊκά εμβόλια που βασίζονται στο DNA έχει αποδειχθεί ότι προκαλούν ισχυρές ανοσιακές αποκρίσεις σε ζωϊκά μοντέλα, ειδικά σε ποντίκια [2].

Ωστόσο, το γενετικό υλικό ενός εμβολίου DNA πρέπει πρώτα να εισέλθει στον πυρήνα για επακόλουθη μεταγραφή των γονιδίων. Η αποτελεσματική μεταφορά του DNA στον πυρήνα του κυττάρου είναι ένα σημαντικό εμπόδιο για την έκφραση των διαγονιδίων στα εμβόλια DNA, ειδικά για μιτωτικά ανενεργά κύτταρα, όπως είναι τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APCs) και χρησιμοποιούνται συγκεκριμένες στρατηγικές για να βελτιώσουν την μετακίνηση του εξωγενούς DNA στον πυρήνα, όπως είναι η χρήση μιας αλληλουχίας σινιάλου, της NLS (Nuclear Localization Signal) [10].

Πιο συγκεκριμένα, υπάρχουν πολλές φυσικές και χημικές μέθοδοι για την αύξηση της αποτελεσματικότητας της μεταφοράς DNA στα κύτταρα τόσο in vitro όσο και in vivo και για την αύξηση της ανοσογονικότητάς του όταν χρησιμοποιείται ως εμβόλιο. Στη φυσική μέθοδο μεταφοράς, ένεση δια εκτόξευσης (jet-injection), συνήθως χρησιμοποιείται συμπιεσμένο αέριο CO_2 για να δημιουργηθεί ένα υψηλής πίεσης ρεύμα φαρμάκων, όπως είναι το εμβόλιο DNA που μπορεί να διεισδύσει στο δέρμα και να προκαλέσει υψηλότερη κυτταρική ανοσία και αποκρίσεις αντισωμάτων στους ανθρώπους σε σύγκριση με τη συμβατική σύριγγα και την χορήγηση εμβολίου με βελόνα. Στην μεταφορά με γονιδιακό όπλο (gene gun) (επίσης φυσική μέθοδος μεταφοράς), χρησιμοποιείται ένα βιολογικό σύστημα που μπορεί να ωθήσει μικροσωματίδια επικαλυμμένα με DNA (π.χ. σωματίδια χρυσού επικαλυμμένα με

DNA) απευθείας στο δέρμα. Ένα από τα πλεονεκτήματα αυτής της μεθόδου είναι ότι χρειάζονται μικρότερες ποσότητες DNA για να προκληθεί ανοσοαπόκριση σε σύγκριση με τη συμβατική ένεση. Στη μεταφορά με βάση τη συστοιχία μικροβελόνων (microneedle array) (επίσης φυσική μέθοδος μεταφοράς), πάνω από 1000 μικροβελόνες (συνήθως μήκους 100–1000 μm) χρησιμοποιούνται για την έγχυση φαρμάκων όπως το εμβόλιο DNA με άμεση και ελεγχόμενη οδό προς τα υποκείμενα βιώσιμα στρώματα του δέρματος. Η ηλεκτροδιάτρηση (electroporation) είναι μια άλλη φυσική μέθοδος για την μεταφορά DNA που χρησιμοποιεί ηλεκτρικούς παλμούς για τη δημιουργία παροδικών πόρων στην κυτταρική μεμβράνη, αυξάνοντας έτσι την πρόσληψη DNA. Ο αυξανόμενος αριθμός κλινικών δοκιμών σε ανθρώπους και τα αντίστοιχα αποτελέσματα έδειξαν τις ισχυρές δυνατότητες της ηλεκτροδιάτρησης για τον εμβολιασμό DNA, ο οποίος συνδυάζει την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια [10].

Επιπρόσθετα των φυσικών μεθόδων γονιδιακής μεταφοράς, λιποσώματα, ιοσώματα (virosomes) και άλλα συνθετικά και φυσικά μικροσωματίδια και νανοσωματίδια μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη χορήγηση εμβολίου DNA (χημικά συστήματα μεταφοράς). Τέτοια μικρο- και νανο-σωματίδια προστατεύουν το DNA από την αποδόμηση του από τις νουκλεάσες στο σώμα και επίσης αυξάνουν την κυτταρική πρόσληψη των εμβολίων DNA μέσω της ενδοκυττάρωσης, βελτιώνοντας έτσι την ανοσογονικότητα των εμβολίων DNA [10]. Διάφοροι τύποι φυσικών και συνθετικών νανοσωματιδίων μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μεταφορά εμβολίου DNA και την προστασία του από την αποδόμηση[10].

Τα εμβόλια DNA είναι σταθερά και για αυτό συνήθως χορηγούνται in naked form. Αλλά απαιτείται ποσότητα χιλιοστογραμμαρίων να εγχυθεί στον άνθρωπο για να προκληθούν ισχυρές ανοσολογικές αποκρίσεις. Αυτό αποτελεί εμπόδιο στην βιομηχανική παραγωγή εμβολίων DNA, καθώς η παραγωγή αυτής της ποσότητας DNA είναι ακριβή. Οι φυσικές μέθοδοι μεταφοράς όπως η ηλεκτροδιάτρηση, η ένεση δια εκτόξευσης και το γονιδιακό όπλο μπορούν να μειώσουν την ποσότητα του DNA που απαιτείται για την ανοσοποίηση και να αυξήσουν την αποτελεσματικότητα της μεταφοράς. Ωστόσο, απαιτούνται εξειδικευμένες συσκευές για την ηλεκτροδιάτρηση in vivo, την ένεση δια εκτόξευσης και την χρήση γονιδιακού όπλου για την μεταφορά των εμβολίων DNA στην έρευνα και στο νοσοκομειακό περιβάλλον [10].

Στην ανάπτυξη εμβολίων κατά της COVID-19, οι φυσικές μέθοδοι είναι οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες για την μεταφορά των DNA εμβολίων στην απαιτούμενη ενδοκυτταρική θέση (πυρήνας), με την ηλεκτροδιάτρηση και την ένεση δια εκτόξευσης να υπερτερούν τόσο στις προκλινικές όσο και στις κλινικές δοκιμές των εμβολίων DNA για την COVID-19 [10].

Η οδός χορήγησης του εμβολίου DNA είναι μια άλλη σημαντική παράμετρος, που μπορεί να επηρεάσει την ανοσογονικότητά του. Διάφορες οδοί χορήγησης όπως η ενδομυϊκή (IM), η ενδοδερμική (ID), η υποδόρια (SC), η ενδοφλέβια (IV), η ενδοναδική (intranodal) και η ενδορινική οδός έχουν χρησιμοποιηθεί για να προκληθεί μια επιθυμητή ανοσοαπόκριση μετά τον εμβολιασμό DNA. Στην πρώτη μελέτη εμβολίων DNA, το εμβόλιο χορηγήθηκε σε ποντίκια μέσω της ενδομυϊκής οδού. Ωστόσο, μεταγενέστερες μελέτες έδειξαν ότι η ενδοδερμική οδός μπορεί να αυξήσει την έκφραση και την ανοσογονικότητα των εμβολίων DNA σε ποντικούς, σε σύγκριση με την ενδομυϊκή οδό. Η ανοσοποίηση του δέρματος με εμβόλια DNA, παρέχει DNA για έκφραση αντιγόνου σε διάφορους τύπους κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των κυττάρων Langerhans, των δενδριτικών κυττάρων και των κερατινοκυττάρων, τα οποία βρίσκονται στην επιδερμίδα και τις υποστιβάδες του χορίου, τις δύο κύριες περιοχές του δέρματος. Μετά την ωρίμανση, τα δερματικά δενδριτικά κύτταρα και τα κύτταρα Langerhans μπορούν να μεταναστεύσουν σε τοπικούς λεμφαδένες και να παρουσιάσουν αντιγόνα στα Τ κύτταρα, ξεκινώντας έτσι μια ποικιλία ανοσοαποκρίσεων. Επιπλέον, η υποδόρια έγχυση του DNA υπό υψηλή πίεση έχει αναφερθεί ότι προκαλεί μεγαλύτερες ανοσολογικές αποκρίσεις σε ποντίκια από ότι μέσω της ενδομυϊκής (IM) οδού. Η ανοσοποίηση του βλεννογόνου με εμβόλια DNA μέσω στοματικής ή ρινικής χορήγησης είναι μια άλλη οδός χορήγησης για εμβόλια DNA που δημιουργεί βλεννογονικές καθώς και συστημικές ανοσολογικές αποκρίσεις. Η ενδομυϊκή (IM) και η ενδοδερμική (ID) οδός είναι οι κύριες οδοί χορήγησης τόσο στις προκλινικές όσο και στις κλινικές δοκιμές των εμβολίων DNA για την COVID-19 [10].

Επίσης, για την έκφραση των γονιδίων στα ανθρώπινα κύτταρα χρησιμοποιούνται υποκινητές, κυρίως από ιούς (viral promoters), όπως είναι ο υποκινητής του ανθρώπινου κυτταρομεγαλοϊού (CMV) που λειτουργεί (είναι ενεργός) σε όλα τα κύτταρα. Ωστόσο, οι υποκινητές των ιών είναι συχνά ανενεργοί στα ευκαρυωτικά κύτταρα λόγω υπερμεθυλίωσης. Για μακροχρόνια έκφραση διαγονιδίων σε ανθρώπινα κύτταρα, χρησιμοποιούνται ευκαρυωτικοί ή ευκαρυωτικοί/ιικοί υβριδικοί υποκινητές, οι οποίοι παραμένουν ενεργοί για μεγάλο χρονικό διάστημα [10].

Αν και τα πλασμίδια DNA μπορούν να ενσωματωθούν στο γονιδίωμα των κυττάρων-ξενιστών, το επίπεδο ενσωμάτωσης είναι σχετικά χαμηλό. Συνεπώς πιστεύεται ότι το ρίσκο διεισδυτικών μεταλλάξεων (insertional mutations) που μπορούν να συμβούν σε ένα κύτταρο από την ενσωμάτωση των πλασμιδιακών DNA στο γονιδίωμα του κυττάρου μετά την έγχυση είναι αμελητέα και η ενσωμάτωση γίνεται συνήθως με ρυθμούς μικρότερους από τη συχνότητα των τυχαίων μεταλλάξεων. Ωστόσο τα γραμμικά πλασμίδια έχουν αυξημένη πιθανότητα ενσωμάτωσης στο χρωμόσωμα. Για αυτό τον λόγο ο FDA εξέδωσε κατευθυντήριες οδηγίες για τα εμβόλια DNA για να διασφαλίσει ότι η συχνότητα ενσωμάτωσης του πλασμιδίου θα είναι χαμηλότερη από τον ρυθμό τυχαίας μετάλλαξης. Με βάση αυτές τις οδηγίες, μπορούμε να παρακολουθούμε τη βιοκατανομή των πλασμιδίων σε ιστούς εμβολιασμένων ζώων με ευαίσθητες δοκιμές q-PCR. Δεδομένου ότι τα ελεύθερα πλασμίδια παραμένουν σταθερά στο κύτταρο ξενιστού για μήνες, το ερώτημα εάν η παρατεταμένη έκφραση αντιγόνου από εμβόλια DNA μπορεί να οδηγήσει σε ανοχή απαιτεί περαιτέρω έρευνα [10].

Μετά την χορήγηση του εμβολίου DNA στη θέση εμβολιασμού χρησιμοποιώντας μία από τις πολλές μεθόδους μεταφοράς, το πλασμίδιο μετατοπίζεται στον πυρήνα των διαμολυσθέντων αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων (APCs) ή σωματικών κυττάρων και αρχίζει η μεταγραφή, ακολουθούμενη από παραγωγή πρωτεΐνης στο κυτταρόπλασμα και σχηματισμό ξένων αντιγόνων. Αφού εκφραστούν σε APCs και σωματικά κύτταρα, τα αντιγόνα προσλαμβάνονται από τα APCs και μεταβάλλονται σε μικρά πεπτίδια που μπορούν να παρουσιαστούν από μόρια του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC) τάξης I ή II που ενεργοποιούν τα CD8 κυτταροτοξικά T λεμφοκύτταρα (CTLs) και CD4+ T βοηθητικά κύτταρα (Th), αντίστοιχα. Επιπλέον, τα B λεμφοκύτταρα προσλαμβάνουν αντιγόνα που απελευθερώνονται από διαμολυσθέντα σωματικά κύτταρα, όπως τα μυοκύτταρα και τα κερατινοκύτταρα, τα οποία ενεργοποιούν τη χυμική ανοσία [10].

Η πλατφόρμα τεχνολογίας εμβολίων DNA δεν ήταν διαθέσιμη για ανθρώπινη χρήση πριν την νόσο COVID-19. Ωστόσο, στον αγώνα εμβολίων για την αντιμετώπιση της πανδημίας COVID-19, τα εμβόλια DNA ήταν πολύ υποσχόμενα. Τα εμβόλια DNA μπορούν να σχεδιαστούν και να παραχθούν εντός ημερών από τη λήψη της αλληλουχίας γονιδιώματος του παθογόνου [10].

Οι διαδικασίες παραγωγής DNA πλασμιδίου επιτρέπουν την κλιμακούμενη παραγωγή εμβολίων DNA, καθιστώντας τα ιδανικά για τον γρήγορο έλεγχο των νεοεμφανιζόμενων παθογόνων, τα οποία παρακάμπτουν τα προβλήματα των συμβατικών εμβολίων που παράγονται σε αυγά ή σε βιοαντιδραστήρες ευκαρυωτικών κυτταροκαλλιεργειών [10].

Αρκετές προκλινικές μελέτες και κλινικές δοκιμές έχουν δείξει την ανοσογονικότητα των εμβολίων DNA κατά του SARS-CoV-2. Προκλινικά πειράματα έδειξαν ότι τα εμβόλια DNA μπορούν να προκαλέσουν τόσο χυμικές όσο και κυτταρικές ανοσοαποκρίσεις σε ζωικά μοντέλα [10]. Η πρωτεΐνη ακίδα (S) του SARS-CoV-2 είναι το κύριο αντιγόνο που χρησιμοποιείται σε προκλινικές και κλινικές δοκιμές εμβολίων DNA για την COVID-19 [10].

Διαφορετικές μορφές της πρωτεΐνης S, συμπεριλαμβανομένης της πλήρους μήκους πρωτεΐνης S (είτε άγριου τύπου, είτε μιας έκδοσης σταθεροποιημένης έγχυσης), RBD, υπομονάδα S1 και υπομονάδα S2 χρησιμοποιήθηκαν σε προκλινικές και κλινικές δοκιμές εμβολίων DNA για την νόσο COVID-19. Η πρωτεΐνη νουκλεοκαψιδίου (N) είναι ένα άλλο αντιγόνο που χρησιμοποιήθηκε σε ένα υποψήφιο εμβόλιο DNA SARS-CoV-2 που ονομάζεται GX-19N, μαζί με την πρωτεΐνη S. Η πρωτεΐνη N προστατεύει το γονιδίωμα του ιού και εμπλέκεται επίσης στην απελευθέρωση ϊικών σωματιδίων από τα μολυσμένα κύτταρα [10].

Αρκετά DNA υποψήφια εμβόλια ελέγχθηκαν προκλινικά και αρκετά προχώρησαν σε κλινικές δοκιμές φάσης I, II και III.

- Η Zydus Cadila (Αχμενταμπάντ, Ινδία) ανέπτυξε ένα εμβόλιο DNA (ZyCoV-D) που προκαλεί ανοσιακή απόκριση έναντι της πρωτεΐνης S του SARS-CoV-2 και βασίζεται σε μια εγχώρια ανεπτυγμένη τεχνολογία μεταφοράς πλασμιδιακού DNA. Αυτό το εμβόλιο είναι το πρώτο εμβόλιο DNA κατά της COVID-19 που έλαβε άδεια για χρήση έκτακτης ανάγκης από την ρυθμιστική αρχή φαρμάκων της Ινδίας [10].
- Η Evvivax (Ρώμη, Ιταλία) συνεργάστηκε με την Applied DNA Sciences (Stony Brook, NY, ΗΠΑ) και την Takis Biotech (Ρώμη, Ιταλία) για την ανάπτυξη τεσσάρων υποψηφίων εμβολίων που βασίζονται σε γραμμικό DNA. Το Evvivax χρησιμοποιεί ϊκούς ή πλασμιδιακούς φορείς DNA για την in vivo μεταφορά μιας κασέτας έκφρασης που φέρει την κωδικοποιητική περιοχή του γονιδίου στόχου σε συνδυασμό με την τεχνολογία ηλεκτρομεταφοράς (electro-gene-transfer) από την Takis Biotech (ετερόλογος εμβολιασμός κατά της νόσου COVID-19, που αφορά είτε στο αρχικό εμβολιαστικό σχήμα, είτε στην ενισχυτική δόση) [2].
- Η AnGes Inc. (Οσάκα, Ιαπωνία) από τον Μάρτιο του 2020 σε συνεργασία με το Πανεπιστήμιο της Οσάκα ανέπτυξε ένα υποψήφιο εμβόλιο κατά της COVID-19 που χρησιμοποιεί την μέθοδο του πλασμιδιακού DNA. Η AnGes βασίζεται στην εμπειρία της από την πρακτική εφαρμογή της χορήγησης πλασμιδίου, στο πρώτο φάρμακο γονιδιακής θεραπείας που έλαβε έγκριση στην Ιαπωνία, τον Μάρτιο του 2019, για την θεραπεία της ισχαιμίας των κάτω άκρων. Η AnGes χρησιμοποιεί επίσης την τεχνογνωσία που διαθέτει στην έρευνα και ανάπτυξη εμβολίων DNA, όπως το εμβόλιο DNA κατά της υπέρτασης, στην έρευνα και ανάπτυξη του οποίου έχει προχωρήσει, το οποίο έχει μεγαλύτερη διάρκεια μείωσης της αρτηριακής πίεσης σε σύγκριση με τα υπάρχοντα φάρμακα [2],[19].
- Η Cobra Biologics (Newcastle, UK) και το Karolinska Institute (Στοκχόλμη, Σουηδία) ανέπτυξαν ένα υποψήφιο εμβόλιο DNA, το οποίο βασίζεται στην τεχνολογία ORT® (Operator-Repressor Titration) της Cobra για την παραγωγή πλασμιδιακού DNA χωρίς αντιβιοτικά, γονίδια ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά ή οποιουσδήποτε άλλους επιλέξιμους γονιδιακούς δείκτες (marker genes).
- Η Immunomic Therapeutics (Rockville, MD, ΗΠΑ) συνεργάστηκε με την EpiVax και τη PharmaJet (Golden, CO, USA) για την ανάπτυξη ενός εμβολίου DNA, που χορηγείται ενδοδερμικά χρησιμοποιώντας ένα σύστημα ένεσης χωρίς βελόνα, αντίθετα με τις άλλες στρατηγικές εμβολίων που όλες περιλαμβάνουν χορήγηση DNA με συμβατική ενδομυϊκή ανοσοποίηση. Αυτή η συνεργασία θα συνδυάσει πλατφόρμες τεχνολογίας και από τις τρεις εταιρείες: την πλατφόρμα UNiversal Intracellular Targeted Expression (UNITE) της Immunomic (Rockville, MD, ΗΠΑ), το εργαλείο πρόβλεψης in silico επιτόπων που αναγνωρίζουν τα Τ-λεμφοκύτταρα της EpiVax και το σύστημα έγχυσης χωρίς βελόνα Tropis® της PharmaJet. Η πλατφόρμα UNITE της Immunomic περιλαμβάνει τη συγχώνευση παθογόνων αντιγόνων με την μεμβρανική πρωτεΐνη που σχετίζεται με λυσοσώματα, η οποία είναι μια ενδογενής πρωτεΐνη στον άνθρωπο, για ενισχυμένη MHC-II επεξεργασία και διασταυρούμενη

παρουσίαση MHC-I και επακόλουθη επαγωγή Th1 και CD8+ αποκρίσεων T κυττάρων [2].

- Ερευνητές στο Πανεπιστήμιο του Waterloo (Waterloo, ON, Καναδάς) ανέπτυξαν ένα εμβόλιο με βάση το DNA που χορηγείται χρησιμοποιώντας ρινικό σπρέι. Συγκεκριμένα, χρησιμοποίησαν ένα σύστημα βακτηριοφάγου λ για τη μεταφορά DNA σε κύτταρα στόχους, τα οποία παράγουν SARS-CoV-2 νανοσωματίδια VLPs που διεγείρουν μια ανοσιακή απόκριση [2].
- Το bacTRL-Spike που αναπτύχθηκε από την Symvivo Corporation (Burnaby, Καναδάς) βασίστηκε στην bacTRL πλατφόρμα τεχνολογίας, η οποία είναι μια πλατφόρμα γενετικά τροποποιημένων ζώντων κυττάρων προβιοτικών βακτηρίων για την μεταφορά των γονιδίων. Κάθε από του στόματος δόση του bacTRL-Spike περιέχει ζωντανό Bifidobacterium longum, το οποίο έχει κατασκευαστεί γενετικά για να μεταφέρει πλασμίδια που περιέχουν συνθετικό DNA που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη S του SARS-CoV-2 [2].
- Το INO-4800 που αναπτύχθηκε από την Inovio Pharmaceuticals (Πενσυλβάνια, ΗΠΑ) περιλαμβάνει ενδοδερμική μεταφορά του πλασμιδίου pGX9501 που κωδικοποιεί την πλήρους μήκους πρωτεϊνη S του SARS-CoV-2 απευθείας στα κύτταρα, χρησιμοποιώντας της INOVIO την αποκλειστική φορητή συσκευή που ονομάζεται CELLECTRA® 2000. Η αρχή λειτουργίας της CELLECTRA® 2000 είναι να χρησιμοποιεί ένα σύντομο ηλεκτρικό παλμό για να ανοίξει αναστρέψιμα μικρούς πόρους στην κυτταρική μεμβράνη για να επιτρέψει την είσοδο στο πλασμίδιο [2], [10].

ΠΙΝΑΚΑΣ 3: Παραδείγματα υποψηφίων εμβολίων DNA κατά της COVID-19 σε προκλινικό στάδιο [2]

Πλατφόρμα τεχνολογίας για την ανάπτυξη εμβολίου	**DNA**			
Υποψήφιο εμβόλιο/ Πληροφορίες	**Κατασκευαστής**	**Στάδιο**	**Δοκιμή/περιοχή**	**Link**
DNA plasmid vaccine (electroporation)	Zydus Cadila	Advancing preclinical candidate	Ahmedabad, India	Zydus Cadila
Four linear DNA-based vaccine candidates	Takis/Applied DNA Sciences/Evvivax	Preclinical testing in Autumn 2020	Stony Brook, USA; Rome, Italy	Evvivax
DNA	Osaka University/AnGes/Takara Bio	Animal testing in April 2020	Tokyo, Japan	AnGes

DNA with electroporation	Karolinska Institute/Cobra Biologics	Advancing preclinical candidate	Staffordshire, UK; Stockholm, Sweden	Cobra Biologics
Plasmid DNA, needle-free Delivery	Immunomic Therapeutics, Inc./EpiVax, Inc./PharmaJet, Inc.	Animal testing ongoing	Rockville, MD, USA; Providence, RI, USA; Golden, CL, USA	Immunomix
DNA, nasal delivery	University of Waterloo	Advancing preclinical candidate	Waterloo, ON, Canada	University of Waterloo

ΠΙΝΑΚΑΣ 4: Επισκόπηση κλινικών δοκιμών εμβολίων DNA κατά της COVID-19 με βάση την έκθεση του ΠΟΥ: draft landscape and tracker of COVID-19 candidate vaccines – 4 May 2021 [10]

Είδος εμβολίου (όνομα εμβολίου)/περιγραφή	**Κατασκευαστής**	**Συμμετέχοντες (n)**	**Δόση/οδός**	**κλινική φάση, συμπέρασμα**	**Αρ. καταχώρησης κλινικής δοκιμής**
Πλασμίδιο DNA (INO-4800)/ ένα pGX9501 πλασμίδιο που κωδικοποιεί την πλήρους μήκους πρωτεΐνη S	Inovio Pharmaceuticals / International Vaccine Institute	40 υγιείς ενήλικες (18-50 ετών)	2× (1 or 2 mg) on day 0 and day 28/ID injection followed by EP using the CELLECTRA ® 2000 device	I – (INO-4800 was safe and immunogenic in all of the vaccinated subjects. The vaccine elicited either or both humoral or cellular immune responses)	NCT04336410
Πλασμίδιο DNA	Inovio	160 υγιείς	2× (1 or 2	I/II	NCT04447781

(INO-4800)	Pharmaceuticals / International Vaccine Institute	ενήλικες (19 ετών και άνω)	mg) /ID injection followed by EP using the CELLECTRA ® 2000 device		
Πλασμίδιο DNA (INO-4800)	Inovio Pharmaceuticals / International Vaccine Institute	640 υγιείς ενήλικες (18-60 ετών) και μεγαλύτεροι (60-85 ετών)	2× (ID + EP)	II	ChiCTR2000040146
Πλασμίδιο DNA (INO-4800)	Inovio Pharmaceuticals / International Vaccine Institute	6578 υγιείς ενήλικες (18 ετών και άνω)	1× ή 2× (1 mg) on day 0 and day 28 /ID injection followed by EP using the CELLECTRA ® 2000 device	II/III	NCT04642638
Plasmid DNA (AG0301-COVID19)/a Plasmid DNA + adjuvant	AnGes + Takara Bio + Osaka University	30 υγιείς ενήλικες (20 ετών και άνω)	2× (1 or 2 mg)/IM	I/II	NCT04463472
Plasmid DNA (AG0301-COVID19)	AnGes + Takara Bio + Osaka University	500 υγιείς ενήλικες (18 ετών και άνω)	2× 2 mg/IM	II/III	NCT04655625
Plasmid DNA (AG0301-COVID19)/a	AnGes + Takara Bio + Osaka University	30 υγιείς ενήλικες (20 ετών και	2× or 3× 2 mg/IM	I/II	NCT04527081

Plasmid DNA + adjuvant		άνω)			
Plasmid DNA (nCov Vaccine/ZyCOV-D)	Zydus Cadila	1048 (18-55 ετών στην φάση I, ≥12 ετών στην φάση II)	3× (1 or 2 mg)/ID injection by needle or PharmaJet®	I/II	CTRI/2020/07/026352
Plasmid DNA (nCov Vaccine/ZyCOV-D)	Zydus Cadila	150 υγιείς εθελοντές (18-60 ετών)	2× (3 mg)/ID injection by PharmaJet®	I/II	CTRI/2021/03/032051
Plasmid DNA (Covigenix VAX-001)/DNA vaccines + proteo-lipid vehicle formulation	Entos Pharmaceuticals Inc.	72 υγιείς ενήλικες (18-84 ετών)	2× IM on day 0 and day 14	I	NCT04591184
Plasmid DNA (CORVax 12)/encoding SARS-CoV-2 S protein with or without the combination of IL-12p70 plasmid	Providence Health & Services	36 υγιείς ενήλικες (18 ετών και άνω)	2× ID followed by EP on day 0 and day 28	I	NCT04627675
Plasmid DNA (GLS-5310)	GeneOne Life Science, Inc.	345 υγιείς ενήλικες (19-65 ετών)	2× (0.6 or 1.2 mg)/ID on day 0 + 56 or day 0 + 84	I/II	NCT04673149

DNA (GX-19)/DNA vaccine encoding SARS-CoV-2 S protein	Genexine Consortium	210 υγιείς ενήλικες (18-50 ετών)	2× IM injection via EP or PharmaJet®	I/II	NCT04445389
DNA (GX-19N)/DNA vaccine encoding SARS-CoV-2 S protein antigen including the Nucleocapsid protein (NP) antigen	Genexine Consortium	170 υγιείς ενήλικες (18-55 ετών)	2× IM injection via EP	I/II	NCT04715997
DNA (COVIGEN)	University of Sydney, Bionet Co., Ltd Technovalia	150 υγιείς ενήλικες (18-75 ετών)	2× (IM or ID)	I	NCT04742842
Plasmid DNA (COVID-eVax)/DNA vaccine encoding SARS-CoV-2 S protein	Takis + Rottapharm Biotech	160 υγιείς ενήλικες (18-65 ετών)	2× (0.5, 1 or 2 mg) IM injection via EP	I/II	NCT04788459

14.3. Εμβόλια υπομονάδας (πρωτεϊνικά εμβόλια)

Τα εμβόλια αυτά περιέχουν υποομάδες, τεμαχίδια του ιού και βασίζονται σε συνθετικό(α) πεπτίδιο(α) ή ανασυνδυασμένη(ες) πρωτεΐνη(ες) του παθογόνου στόχου [2]. Τα αντιγόνα πρωτεΐνης παράγονται μέσω συστημάτων έκφρασης ζύμης ή βακουλοϊού και εγχέονται συνήθως μαζί με ένα ανοσοενισχυτικό. Τα τρέχοντα αδειοδοτημένα εμβόλια αυτής της πλατφόρμας τεχνολογίας είναι: ενάντια στον HPV (Human Papillomavirus), ενάντια στον HBV (Hepatitis B Virus) και ενάντια της γρίπης [5]. Σε αντίθεση με τους αδρανοποιημένους ιούς, τους ζώντες εξασθενημένους ιούς και τα εμβόλια που μεταφέρονται από ιούς, τα εμβόλια υποομάδας περιέχουν μόνο συγκεκριμένα ιϊκά αντιγονικά τεμαχίδια και δεν περιλαμβάνουν καθόλου πρόσθετα τμήματα των παθογόνων ιών. Επομένως, αυτή η προσέγγιση εξαλείφει τις ανησυχίες της ατελούς ιϊκής αδρανοποίησης, της ανάκτησης της λοιμογόνου δράσης και της προϋπάρχουσας ανοσίας κατά του φορέα. Ως εκ τούτου, τα εμβόλια υποομάδας γενικά θεωρούνται πολύ ασφαλή [2]. Επιπλέον, τα εμβόλια υποομάδας μπορούν να στοχεύουν ειδικά σε καλά χαρακτηρισμένα εξουδετερωτικά αντιγονικά επίτοπα και, σε συνδυασμό με ανοσοενισχυτικά, να βελτιώσουν την ανοσογονικότητα ή/και την αποτελεσματικότητα. Επειδή η πρωτεΐνη S του SARS-CoV-2 παίζει ζωτικό ρόλο στη δέσμευση στον υποδοχέα και στη σύντηξη της μεμβράνης, τα εμβόλια που στοχεύουν την πρωτεΐνη S προτείνεται να είναι ικανά να επάγουν αντισώματα που μπορούν να εξουδετερώσουν τη μόλυνση από τον ιό εμποδίζοντας τη σύνδεση και τη σύντηξη του ιού. Ως εκ τούτου, η πρωτεΐνη S αποτελεί το κύριο αντιγόνο-στόχο για τα υποψήφια εμβόλια υποομάδας SARS-CoV-2. Ωστόσο, εκτός από την πλήρους μήκους πρωτεΐνη S και τα αντιγονικά της τεμαχίδια, η υποομάδα S1, NTD, RBD και η υποομάδα S2 μπορεί επίσης να είναι σημαντικοί στόχοι αντιγόνου για την ανάπτυξη εμβολίων υποομάδας [2].

Τα υποψήφια εμβόλια που χρησιμοποιήσαν αυτή την πλατφόρμα τεχνολογίας είναι τα ακόλουθα:

- Οι Sanofi Pasteur (Λυών, Γαλλία) και GlaxoSmithKline (GSK, Λονδίνο, UK) ανέπτυξαν ένα υποψήφιο εμβόλιο υπομονάδας COVID-19, όπου η Sanofi συνεισέφερε με ένα αντιγόνο S-πρωτεΐνης, το οποίο βασίζεται στην τεχνολογία ανασυνδυασμένου DNA, χρησιμοποιώντας μια πλατφόρμα έκφρασης βακουλοϊού. Χρησιμοποιώντας αυτή την πλατφόρμα, η Sanofi έχει αδειοδοτήσει ένα ανασυνδυασμένο εμβόλιο γρίπης στις ΗΠΑ. Η GSK συνέβαλλε με μια τεχνολογία πανδημικού ανοσοενισχυτικού που βασίζεται στο Adjuvant System 03 (AS03) που αποτελείται από σκουαλένιο, dl-a-τοκοφερόλη και πολυσορβικό 80. Η GSK δοκίμασε επίσης το ανοσοενισχυτικό της σε συνεργασία με την Clover Biopharmaceuticals, το University of Queensland (Brisbane, Αυστραλία) και την Xiamen Innovax Biotech (Xiamen, Κίνα) [2].
- Χρησιμοποιώντας την κατοχυρωμένη με δίπλωμα ευρεσιτεχνίας τεχνολογία Trimer-Tag©, η Clover Biopharmaceuticals ανέπτυξε ένα υποψήφιο εμβόλιο υπομονάδας SARS-CoV-2, το SCB-2019 που περιέχει την S-Trimer που μοιάζει με την εγγενή τριμερή ιική ακίδα [2].
- Ερευνητές στο Πανεπιστήμιο του Κουίνσλαντ χρησιμοποίησαν την κατοχυρωμένη με δίπλωμα ευρεσιτεχνίας τεχνολογία μοριακού σφιγκτήρα, η οποία περιλαμβάνει τη σύνθεση μιας πρωτεΐνης και στη συνέχεια τη σύσφιξή της σε κύτταρα μολυσμένα από ιούς, όπως είχε γίνει προηγουμένως έναντι των φλαβοϊών. Η πρωτεΐνη S που σταθεροποιήθηκε με μοριακό σφιγκτήρα συνδυάστηκε με ανοσοενισχυτικά GSK [2].
- Το COVID-19 XWG-03 είναι ένα προκλινικό υποψήφιο εμβόλιο που αναπτύχθηκε από το Πανεπιστήμιο Xiamen (Xiamen, Κίνα) και την Xiamen Innovax Biotech χρησιμοποιώντας το GSK ανοσοενισχυτικό AS04 (μονοφωσφορυλικό λιπίδιο A και υδροξείδιο του αργιλίου). Το COVID-19 XWG-03 βασίζεται σε μια σειρά από

αναδιαταγμένες (κολοβωμένες) πρωτεΐνες S, σε συνδυασμό με AS04. Η Xiamen Innovax Biotech έχει αναπτύξει στο παρελθόν παρόμοια παραγόμενα από την Escherichia coli πρωτεϊνικά εμβόλια κατά του HPV και της ηπατίτιδας Ε σε ανθρώπους [2].

- Το Ινστιτούτο Ερευνών του Στρατού Walter Reed (Silver Spring, MD, ΗΠΑ) στόχευσε επίσης την πρωτεΐνη S και έχει αποδείξει στο παρελθόν την αποτελεσματικότητα ενός MERS-CoV S1 πρωτεϊνικού εμβολίου υπομονάδας σε ποντίκια και NHPs, καθώς και σε καμήλες και αλπάκας.
- Το EpiVax (Providence, RI, ΗΠΑ) σε συνεργασία με το University of Georgia (Athens, GA, USA) εκμεταλλεύτηκε την αποκλειστική εργαλειοθήκη iVAX που περιλαμβάνει a suite αλγορίθμων ανοσοπληροφορικής για την ταξινόμηση υποψήφιων αντιγόνων, επιλέγοντας ανοσογόνα και διατηρημένα Τ κυττάρων επίτοπα [2].
- Ο Οργανισμός Εμβολίων και Λοιμωδών Νοσημάτων—Διεθνές Κέντρο Εμβολίων (VIDO-InterVac, Πανεπιστήμιο του Saskatchewan, Saskatoon, Καναδάς) ανέπτυξε ένα εμβόλιο υπομονάδας πρωτεΐνης S με βάση την προηγούμενη εμπειρία του με τη δοκιμή ενός MERS-CoV υποψηφίου εμβολίου σε NHPs [2].
- Το Εθνικό Ινστιτούτο Λοιμωδών Νοσημάτων (Τόκιο, Ιαπωνία) στόχευσε στην ανάπτυξη ενός νέου εμβολίου συνδυάζοντας ένα άγνωστο ανοσοενισχυτικό και ένα αντιγόνο χρησιμοποιώντας σύνθεση ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης, όπως είχε προηγουμένως αποδειχθεί κατά του ιού της γρίπης H5N1 [2].
- Το PittCoVacc είναι ένα υποψήφιο εμβόλιο υπομονάδας από το Πανεπιστήμιο του Πίτσμπουργκ (Pittsburgh, PA, ΗΠΑ) που βασίζεται σε ενσωματωμένη σε διάταξη μικροβελόνων (MNA) SARS-CoV-2 S1 πρωτεΐνη, η οποία πρόσφατα βρέθηκε ότι προκαλεί ισχυρές αντιγονο - ειδικές αποκρίσεις αντισωμάτων για έως και 2 εβδομάδες σε ποντίκια. Αυτή η πλατφόρμα MNA δοκιμάζεται επί του παρόντος σε κλινικές δοκιμές κατά του δερματικού λεμφώματος Τ-κυττάρων (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02192021) [2].
- Το υποψήφιο εμβόλιο COVID-19 της Heat Biologics (Morrisville, NC, Η.Π.Α.) βασίζεται στην πλατφόρμα των συνοδών (chaperone) πρωτεϊνών θερμικού σοκ και συγκεκριμένα της gp96 και έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί προστασία έναντι του ιού ανοσοανεπάρκειας του πιθήκου (SIV) στα NHPs [2].
- Οι ερευνητές εμβολίων στο Baylor College of Medicine και στο Texas Children's Hospital (Χιούστον, Τέξας, ΗΠΑ) χρησιμοποίησαν την εμπειρία τους από την ανάπτυξη ενός αντιγόνου ενός SARS εμβολίου που αποτελείται από την RBD της S πρωτεΐνης του SARS-CoV, για να αναπτύξουν ένα παρόμοιο εμβόλιο κατά του SARS-CoV- 2 [2].

Εκτός από τα εμβόλια που βασίζονται σε ολόκληρη πρωτεΐνη, αρκετοί κατασκευαστές εμβολίων ερεύνησαν πεπτιδικά αντιγόνα ως υποψήφια εμβόλια κατά της νόσου COVID-19 [2]. Έτσι,

- Ο IMV Inc. (Κεμπέκ Québec, Καναδάς) ανέπτυξε ένα υποψήφιο εμβόλιο που βασίζεται στην τεχνολογία μεταφοράς DPX και ενσωματώνει πεπτίδια που στοχεύουν τους επίτοπους της πρωτεΐνης S του SARS-Cov-2, του οποίου η αποτελεσματικότητα έχει δειχθεί προηγουμένως για τον αναπνευστικό συγκυτιακό ιό (RSV) και τον άνθρακα [2].
- Η Vaxil Bio Therapeutics (Τορόντο, Οντάριο, Καναδάς) χρησιμοποιεί την αποκλειστική βιοπληροφορική προσέγγιση VaxHitTM για τον εντοπισμό περιοχών των πεπτιδίων σινιάλων (signal peptide domains) των πρωτεϊνών του SARS-CoV-2, όπως φαίνεται για το αντιγόνο που σχετίζεται με όγκους mucin 1 σε ποντίκια και σε ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα [2].
- Το FlowVax COVID-19 είναι ένα ανοσοενισχυτικό, θερμοσταθερό και βιοαποδομήσιμο μικροσφαιρικού πεπτιδίου εμβόλιο από τη Flow Pharma (Palo Alto, CA, USA) που στοχεύει το νουκλεοκαψίδιο του SARS-CoV-2 [2]. Η Flow Pharma έχει αναπτύξει και δοκιμάσει ένα υποψήφιο εμβόλιο για τον ιό Ζίκα που προκαλεί αποκρίσεις κυτταροτοξικών Τ κυττάρων (CTL) σε ποντίκια [2].
- Η Generex Biotechnology (Τορόντο, Καναδάς) χρησιμοποιεί τα υπολογιστικά εργαλεία της EpiVax για την πρόβλεψη επιτόπων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη δημιουργία εμβολίων COVID-19 που βασίζονται σε πεπτίδια χρησιμοποιώντας την πατενταρισμένη τεχνολογία NuGenerex Immuno-Oncology Ii-Key (NGIO). Η τεχνολογία NGIO έχει χρησιμοποιηθεί για την ανάπτυξη υποψηφίων εμβολίων που βασίζονται σε πεπτίδια, τα οποία έχουν δοκιμαστεί έναντι ενός μοντέλου καρκίνου HPV16+ σε ποντίκια και καρκίνου του προστάτη σε ανθρώπους [2].
- Το University of Saskatchewan's VIDO-InterVac ανέπτυξε ένα υποψήφιο εμβόλιο COVID-19 που βασίζεται σε πεπτίδιο, μικροσφαιρικό-ανοσοενισχυτικό, χρησιμοποιώντας μια πλατφόρμα συνδυασμού ανοσοενισχυτικού (TriAdj) που αποτελείται από έναν αγωνιστή υποδοχέων Toll-like (TLR agonist) (είτε πολυϊνοσινικό-πολυκυτιδυλικό οξύ είτε CpG ολιγοδεοξυνουκλεοτίδια), ένα πεπτίδιο της άμυνας του ξενιστού και πολυφωσφαζένιο. Το TriAdj έχει χρησιμοποιηθεί για τη δημιουργία προστατευτικής ανοσίας που προκαλείται από εμβόλια έναντι πολλών μολυσματικών ασθενειών σε ζώα και ανθρώπους [2].
- Το Κρατικό Πανεπιστήμιο του Κολοράντο ανέπτυξε ένα νέο από του στόματος χορηγούμενο υποψήφιο εμβόλιο COVID-19, χρησιμοποιώντας ανασυνδυασμένο στέλεχος Lactobacillus acidophilus που εκφράζει την ιική πρωτεΐνη S. Αυτή η πλατφόρμα έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί αποκρίσεις Th1 και Th17 έναντι των επιτόπων HIV-1 σε ποντικούς μετά από χορήγηση από το στόμα [2].
- Η ExpreS2ion Biotechnology (Hørsholm, Δανία), το Adaptvac (Hørsholm, Δανία) και το Πανεπιστήμιο της Κοπεγχάγης εφάρμοσαν ένα σύστημα έκφρασης σταθερής κυτταρικής σειράς Drosophila melanogaster Schneider 2 που εκφράζει VLPs για να δημιουργήσει ένα νέο υποψήφιο εμβόλιο, όπως είχε χρησιμοποιηθεί προηγουμένως για την ελονοσία σε κλινικές δοκιμές σε ανθρώπους. Χρησιμοποιούν

αυτή την τεχνολογία σύζευξης διασπασμένων πρωτεϊνών για να δημιουργήσουν σταθερά σύμπλοκα με ανάμειξη αντιγόνου και συστατικών VLP. Η τεχνολογία αυτή έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί ευρέως nAbs ειδικά για τη V3 γλυκάνη του HIV-1 σε ποντίκια και μακάκους και έχει χρησιμοποιηθεί για την ανάπτυξη συνδυαστικού εμβολίου κατά του HPV και της ελονοσίας του πλακούντα [2].

- Το iBio (Newark, DE, ΗΠΑ) σε συνεργασία με την CC-Pharming (Πεκίνο, Κίνα) εργάστηκε για το iBIO-200, το οποίο είναι ένα υποψήφιο εμβόλιο για την COVID-19 που βασίζεται στην παραγωγή πρωτεΐνης με την μεσολάβηση του Agrobacterium σε φυτά καπνού (Nicotiana benthamiana) και έχει χρησιμοποιηθεί για την παροχή ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών σε κύτταρα θηλαστικών και για τη δημιουργία ισχυρών ειδικών αποκρίσεων nAb σε ζώα [2].
- Η Novavax (Gaithersburg, MD, ΗΠΑ) με την υποστήριξη του CEPI, ανέπτυξε το υποψήφιο εμβόλιο υπομονάδας κατά της νόσου COVID-19 που παρασκευάζεται χρησιμοποιώντας την αποκλειστική πλατφόρμα τεχνολογίας ανασυνδυασμένης Sf9/baculovirus για τη δημιουργία αντιγόνων πρωτεΐνης S, όπως έγινε προηγουμένως για ένα υποψήφιο εμβόλιο RSV [2]. Το εμβόλιο αυτό με την ονομασία φαρμακευτικού προϊόντος Nuvaxovid, περιέχει πρωτεΐνη ακίδας του SARS-CoV-2 που παράγεται με τεχνολογία ανασυνδυασμένου DNA χρησιμοποιώντας σύστημα έκφρασης βακτροϊού σε κυτταρική σειρά εντόμου που προέρχεται από Sf9 κύτταρα του είδους Spodoptera frugiperda και είναι ενισχυμένο με Matrix-M [20].

Μηχανισμός δράσης

Το Nuvaxovid αποτελείται από κεκαθαρμένη, πλήρους μήκους ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη ακίδας (S) SARS-CoV-2 που σταθεροποιείται στη διαμόρφωσή της προ της σύντηξης. Η προσθήκη του ανοσοενισχυτικού Matrix-M με βάση τη σαπωνίνη διευκολύνει την ενεργοποίηση των κυττάρων του εγγενούς ανοσοποιητικού συστήματος, γεγονός που ενισχύει το μέγεθος της ειδικής ανοσολογικής απόκρισης της πρωτεΐνης S. Τα δύο συστατικά του εμβολίου προκαλούν ανοσολογικές αποκρίσεις Β- και Τ- κυττάρων στην πρωτεΐνη S, συμπεριλαμβανομένων των εξουδετερωτικών αντισωμάτων, τα οποία μπορεί να συμβάλλουν στην προστασία κατά της νόσου COVID-19 [20].

Το Novavax είναι το πρώτο πρωτεϊνικό εμβόλιο που έχει εγκριθεί για χρήση στην ΕΕ [7].

ΠΙΝΑΚΑΣ 5: Παραδείγματα υποψήφιων εμβολίων πρωτεϊνικής υπομονάδας κατά της COVID-19 σε προκλινικό στάδιο [2]

Πλατφόρμα τεχνολογίας για την ανάπτυξη εμβολίου	**πρωτεϊνικής υπομονάδας**			
Υποψήφιο εμβόλιο/ Πληροφορίες	**Κατασκευαστής**	**Στάδιο**	**Δοκιμή/περιοχή**	**Link**

Recombinant vaccine of SARS-CoV-2 S protein expressed in baculovirus system + pandemic adjuvant system (squalene, dl-a-tocopherol and polysorbate 80)	Sanofi Pasteur/GSK/Biomedical Advanced Research and Development Authority (BARDA)	Advancing preclinical candidate; clinical trial to begin between March and August 2021	Lyon, France; Brentford, UK; Washington, DC, USA	Sanofi Pasteur
Molecular clamp-stabilized S protein	University of Queensland/GSK/CSIRO/ Viroclinics Xplore	Clinical testing in July, 2020	Queensland, Australia; Brentford, UK; Canberra, Australia; Rotterdam, The Netherlands	GSK University of Queensland
COVID-19 XWG-03: truncated S protein	GSK/Xiamen Innovax Biotech Co., Ltd./Xiamen University	Advancing preclinical candidate	Brentford, UK; Xiamen, Fujian, China	GSK
S protein	AJ Vaccines	Advancing preclinical candidate	Copenhagen, Denmark	AJVaccines
S protein	Walter Reed Army Institute of Research (WRAIR)/U Army Medical Institute of Infectious Diseases	Ongoing animal testing	Maryland, United States	WRAIR
S protein	EpiVax/University of Georgia	Advancing preclinical candidate	Providence, RI, USA; Athens, GA, USA	EpiVax
S protein	VIDO-InterVac, University of Saskatchewan	Ongoing animal testing	Saskatoon, SK, Canada	VIDO-InterVac
Adjuvanted S protein	National Institute of Infectious Disease	Advancing preclinical candidate	Tokyo, Japan	Japanese Agency for Medical Research and Development
PittCoVacc: Microneedle arrays S1 subunit	University of Pittsburgh	Clinical testing in Summer, 2020	Pittsburgh, PA, USA	University of Pittsburgh
Recombinant protein, nanoparticles (based on S-protein and other epitopes)	Saint-Petersburg scientific research institute of vaccines and serums	Clinical testing in 2021	Saint-Petersburg, Russia	WHO
Heat shock protein gp-96 backbone for multiple antigens	Heat Biologics/University of Miami	Advancing preclinical candidate	Morrisville, NC, USA; Miami, FL, USA	Heat Biologics
Receptor-binding domain (RBD) protein	Baylor College of Medicine/Texas Children's Hospital	Advancing preclinical candidate	Houston, TX, USA	Baylor College of Medicine
Adjuvanted RBD protein	Biological E Ltd.	Advancing preclinical	Hyderabad, India	WHO

		candidate		
DPX-COVID-19: Oil-based formulation with peptides epitopes of S protein	IMV Inc.	Clinical testing in Summer 2020	Québec, Canada	IMV
Human signal peptide domain complexed with undisclosed SARS-CoV-2 protein(s) as vaccine	Vaxil Bio Therapeutics	Advancing preclinical candidate (identified by *in silico* analysis)	Ness Ziona, Israel	Vaxi Bio Therapeutics
FlowVax COVID-19: Peptide, dry powder for injection or nasal spray	Flow Pharma Inc.	NHP testing in April 2020	East Palo Alto, CA, USA	Flow Pharma
Ii-Key hybrid peptide	Generex/EpiVax	Clinical testing in June, 2020	Toronto, Canada; Providence, RI, USA	EpiVax
Adjuvanted microsphere Peptide	University of Saskatchewan	Ongoing animal testing	Saskatoon, SK, Canada	University of Saskatchewan
Synthetic long peptide vaccine candidate for S and M proteins	OncoGen	Advancing preclinical candidate	Timisoara, Romania	OncoGen
Recombinant *Lactobacillus acidophilus* expressing S protein	Colorado State University	Advancing preclinical candidate	Fort Collins, CO, USA	Colorado State University
Drosophila S2 insect cell expression system virus-like particles (VLPs) (Split-protein conjugation system)	ExpreS2ion/Adaptvac/ University of Copenhagen	Clinical testing in April, 2021	Hørsholm, Denmark; Netherlands	ExpreS2ion/Adaptvac
IBIO-200: Subunit protein (Virus-Like Particle), plant Produced	iBio/CC-Pharming	Ongoing animal testing	Bryan, TX, USA; Beijing, China	iBio
VLP-recombinant protein administered with an adjuvant	Osaka University/BIKEN/NIBIOHN	Advancing preclinical candidate	Osaka, Japan	WHO

ΠΙΝΑΚΑΣ 6: Παραδείγματα υποψήφιων εμβολίων πρωτεϊνικής υπομονάδας κατά της COVID-19 σε κλινικές δοκιμές [2]

Τίτλος μελέτης	Εμβόλιο	Sponsor	Περιοχή	Κατάσταση	Φάση	Πρωταρχικό αποτέλεσμα	Αναγνωριστικό μελέτης
SCB-2019 as COVID-19 Vaccine	SCB-2019 with or without AS03 or CpG 1018 + Alum	Clover Biopharmaceuticals AUS Pty Ltd.	Australia	Not yet recruiting	I	Solicited adverse events (7 days after the first or second vaccination); Antibody Titers (Day 1 to Day 184)	NCT04405908
A clinical study for effectiveness and safety evaluation for recombinant chimeric COVID-19 epitope DC vaccine in the treatment of novel coronavirus pneumonia	Recombinant chimeric COVID-19 epitope DC vaccine	Shenzhen Third People's Hospital	Guangdong, China	Recruiting	I/II	I/II Duration of disease; Antipyretic rate; Severe Rate	ChiCTR2000030750
Evaluation of the Safety and Immunogenicity of a SARS-CoV-2 rS (COVID-19) Nanoparticle Vaccine With/Without Matrix-M Adjuvant	SARS-CoV-2 rS and Matrix-M Adjuvant	Novavax	Victoria and Queensland, Australia	Not yet recruiting	I	Solicited adverse events (28 days); Serum IgG antibody levels specific for the SARS-CoV-2 rS protein antigen(s) (35 days)	NCT04368988

14.4. Εμβόλια ιικών φορέων (viral vectors)

Στην τεχνολογία αυτή των εμβολίων χρησιμοποιούνται ασφαλείς ιοί (π.χ. αδενοϊοί) για να μεταφέρουν αντιγόνο του SARS-CoV-2 στα DNA κύτταρα του ξενιστού, όπου θα ακολουθήσει η μεταγραφή του. Οι ιοί λειτουργούν επίσης ως ένα ανοσοενισχυτικό (adjuvant). Τρέχων αδειοδοτημένο εμβόλιο που χρησιμοποιεί αυτή την πλατφόρμα τεχνολογίας είναι το εμβόλιο κατά του ιού Έμπολα (VSV vector) [5]. Μια μεγάλη ποικιλία αντιγραφούμενων και μη αντιγραφούμενων φορέων ιών είναι διαθέσιμη. Οι αδενοϊοί και οι ιοί της ευλογιάς αντιπροσωπεύουν χαρακτηριστικά παραδείγματα ικών φορέων, των οποίων είναι διαθέσιμες τόσο αντιγραφούμενες όσο και μη αντιγραφούμενες μορφές. Οι φορείς (vectors) που σχεδιάζονται κυρίως ως αντιγραφούμενοι-ελαττωματικοί ή μη αντιγραφούμενοι περιλαμβάνουν αδενοϊούς, αλφαϊούς και ιούς έρπητα, ενώ οι αντιγραφούμενοι φορείς περιλαμβάνουν τον ιό της ιλαράς, τον ιό της φυσαλιδώδους στοματίτιδας, τον ιό της πολιομυελίτιδας και τον ιό του κίτρινου πυρετού [2].

14.5. Μη-αντιγραφούμενος ικός φορέας

- Η Janssen (Johnson & Johnson, Leiden, Ολλανδία) χρησιμοποίησε την τεχνολογία AdVac® (που βασίζεται στον αδενοϊό τύπου 26) μόνη της ή σε συνδυασμό με την τεχνολογία MVA-BN® που βασίζεται σε έναν Modified Vaccinia Ankara (MVA) ιό από τη Bavarian Nordic A/S (Hellerup, Δανία) ως βασική προσέγγιση ανοσοποίησης κατά της COVID-19. Ο αδενοϊός 26 έχει αποδειχθεί ότι μεσολαβεί στην προστασία έναντι του ιού ανοσοανεπάρκειας πιθήκου SIV στα NHPs και στην ανοσογονικότητα έναντι του ιού Έμπολα σε κλινικές δοκιμές φάσης I [2]. Το εμβόλιο που παρασκευάστηκε τελικά με την ονομασία JCOVDEN περιέχει έναν ανασυνδυασμένο, μη ικανό για αντιγραφή φορέα ανθρώπινου αδενοϊού τύπου 26 που κωδικοποιεί την πλήρους μήκους γλυκοπρωτεΐνη-ακίδα S του SARS-CoV-2, που παράγεται στην κυτταρική σειρά PER.C6 TetR μέσω τεχνολογίας ανασυνδυασμένου DNA [21].

Μηχανισμός δράσης

Μετά τη χορήγηση η γλυκοπρωτεΐνη-ακίδα S του SARS-CoV-2 εκφράζεται παροδικά, ενεργοποιώντας τόσο εξουδετερωτικά όσο και άλλα λειτουργικά ειδικά αντισώματα, καθώς και κυτταρικές ανοσολογικές ανταποκρίσεις ενάντια στο αντιγόνο S που μπορούν να συμβάλλουν στην προστασία έναντι της COVID-19 [21].

- Η Vaxart (Νότιο Σαν Φρανσίσκο, Καλιφόρνια, ΗΠΑ) ξεκίνησε ένα έργο για την ανάπτυξη ενός εμβολίου για την νόσο COVID-19 που βασίζεται στην πλατφόρμα VAASTTM, που περιέχει έναν φορέα αδενοϊού 5 και ένα ανοσοενισχυτικό TLR3 και έχει σχεδιαστεί ως δισκία εμβολίου με εντερική επικάλυψη που απελευθερώνουν τον φορέα στο λεπτό έντερο για στοχευμένη ανοσιακή ενεργοποίηση, όπως έχει δειχθεί προηγουμένως για ένα από του στόματος υποψήφιο εμβόλιο γρίπης [2].

- Η Imophoron's (Bristol, UK) σε συνεργασία με το Πανεπιστήμιο του Bristol (Bristol, UK) χρησιμοποιεί την πλατφόρμα εμβολίου ADDomer, η οποία είναι ένα προερχόμενο από αδενοϊό πολυμερές βασισμένο σε πρωτεΐνη αυτοσυναρμολογούμενο νανοσωματίδιο scaffold, σχεδιασμένο για να διευκολύνει την plug-and-play display πολλαπλών ανοσογόνων επιτόπων από παθογόνα και έχει δοκιμαστεί έναντι της Chikungunya μόλυνσης [2].

- Η ReiThera (Ρώμη, Ιταλία), η LEUKOCARE (Μόναχο, Γερμανία) και η Univercells (Βρυξέλλες, Βέλγιο) ανέπτυξαν ένα υποψήφιο εμβόλιο που βασίζεται στον αδενοϊκό φορέα του πιθήκου ReiThera με ισχυρή ανοσοαπόκριση και την πλατφόρμα βιοκατασκευής NevoLineTM της Univercells.
- Η τεχνολογία πλατφόρμας MVA της GeoVax (Ατλάντα, GE, ΗΠΑ) έχει το πλεονέκτημα ότι είναι ένας ζωντανός ικανός για αναπαραγωγή φορέας σε κύτταρα πτηνών, αλλά ανεπαρκής αναπαραγωγής σε κύτταρα θηλαστικών κατά τον εμβολιασμό, και βρέθηκε ότι προστατεύει από τον ιό του πυρετού Lassa σε ποντίκια και τον ιό Έμπολα στα NHPs [2].
- Το DZIF ανέπτυξε επίσης ένα υποψήφιο εμβόλιο για την COVID-19 που βασίζεται στο MVA ως ιικό φορέα για την πρωτεΐνη S του SARS-CoV-2 που έχει αποδειχθεί προηγουμένως ότι είναι αποτελεσματικός έναντι της μόλυνσης MERS σε ποντίκια και καμήλες [2].
- Η Medicago (Ουψάλα Uppsala, Σουηδία) χρησιμοποιεί την VLPs πρωτεΐνη SARS-CoV-2 που παράγεται στον καπνό (Nicotiana Benthamiana) για να δημιουργήσει κυτταρική και χυμική ανοσία, όπως είχε αποδειχθεί προηγουμένως κατά της γρίπης σε κλινικές δοκιμές [2].
- Το University of Georgia (Athens, GA, USA) σε συνεργασία με το University of Iowa (Iowa city, IA, USA) ανέπτυξε ένα υποψήφιο εμβόλιο χρησιμοποιώντας έναν φορέα ιού παραγρίπης 5 που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη S του SARS-CoV-2. Χρησιμοποιώντας αυτόν τον φορέα, έχει αναπτυχθεί ένα παρόμοιο εμβόλιο κατά του MERS-CoV, το οποίο ήταν προστατευτικό σε ποντίκια [2].
- Η πρώτη κλινική δοκιμή κατά της COVID-19 ξεκίνησε στις 15 Φεβρουαρίου 2020 από το Shenzhen Geno-Immune Medical Institute στην Κίνα, με το εμβόλιο Covid-19 aAPC που χρησιμοποιεί δενδριτικά κύτταρα (αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APCs)) γενετικά τροποποιημένα με lentiviral vector για την έκφραση επιλεγμένων συντηρημένων επικρατειών δομικών πρωτεινών και πρωτεάσης του SARS-CoV-2 (NCT04299724).

Μια δεύτερη δοκιμή επίσης από το Shenzhen Geno-Immune Medical Institute στην Κίνα έγινε με ένα παρόμοιο εμβόλιο, το LV-SMENP-DC, με το οποίο εγχέονται επιπρόσθετα ειδικά Τ κύτταρα (κυτταροτοξικά Τ κύτταρα) στις 24/3/2020 (NCT04276896) [2],[4]. Αυτά τα δύο εμβόλια εξετάστηκαν θεραπευτικά σε ασθενείς με CoVID-19 [4].

- Το εμβόλιο του Πανεπιστήμιο της Οξφόρδης και της AstraZeneca ChAdOx1, που κατασκευάστηκε από την Advent Srl (Pomezia, Ιταλία), είναι το πρώτο εμβόλιο ιικού φορέα κατά της νόσου COVID-19 [2],[4],[8]. Αποτελείται από έναν εξασθενημένο φορέα αδενοϊού χιμπατζή με ανεπάρκεια αντιγραφής που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη S του SARS-CoV-2. Ο ιικός φορέας ChAdOx1 έχει αποδειχτεί ότι εξάγει nAbs και κυτταρικές ανοσολογικές αποκρίσεις σε ποντίκια έναντι του ανθρώπινου MERS-CoV [2],[22]. Παράγεται σε γενετικά τροποποιημένα εμβρυϊκά νεφρικά κύτταρα ανθρώπου (HEK) 293, μέσω τεχνολογίας ανασυνδυασμένου DNA. Μετά τη χορήγηση, η πρωτεΐνη S του SARS-CoV-2 εκφράζεται τοπικά, προκαλώντας την παραγωγή εξουδετερωτικών αντισωμάτων και κυτταρικών ανοσοαποκρίσεων [22].

- Ένα άλλο εμβόλιο έχει αναπτυχθεί από την CanSino Biologics (Hubei, Κίνα) (Convidecia) και βασίζεται σε έναν μη-αντιγραφούμενο ανασυνδυασμένο φορέα ανθρώπινου αδενοϊού τύπου 5 (AdHu5). Μετά την έγχυση του εμβολίου, ο ανασυνδυασμένος αδενοϊός μεταφέρει το γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη ακίδα (S) του SARS-CoV-2 μέσα στα κύτταρα του ξενιστού, όπου το γονίδιο χρησιμοποιείται για την έκφραση του αντιγόνου της πρωτεΐνης ακίδας (S) προκαλώντας έτσι μια ανοσιακή απόκριση [8].
- Ένα άλλο εμβόλιο είναι επίσης το Sputnik V (Gamaleya), που βασίζεται σε δυο αδενοϊούς (αδενοϊό τύπου 5 και τύπου 26). Κατά την έγχυση του εμβολίου, το γονίδιο από τον αδενοϊό που προκαλεί την COVID-19 εκριζώνεται και αντικαθίσταται με έναν φορέα που έχει ένα γονίδιο που παράγει την πρωτεΐνη S του SARS-COV-2, προκαλώντας έτσι την παραγωγή αντισωμάτων. Το ανοσοποιητικό σύστημα μπορεί να ενισχυθεί με την έγχυση ενός δεύτερου φορέα αδενοϊού 21 ημέρες μετά, παρέχοντας έτσι μακροχρόνια ανοσία [8].

ΠΙΝΑΚΑΣ 7: Παραδείγματα υποψηφίων εμβολίων μη-αντιγραφούμενου ιικού φορέα κατά της COVID-19 σε προκλινικό στάδιο [2]

Πλατφόρμα τεχνολογίας για την ανάπτυξη εμβολίου	**Μη-αντιγραφούμενος ιικός φορέας**			
Υποψήφιο εμβόλιο/ Πληροφορίες	**Κατασκευαστής**	**Στάδιο**	**Δοκιμή/περιοχή**	**Link**
Ad26 (alone or with MVA boost)	Janssen Pharmaceutical Companies (Johnson & Johnson)/BARDA	Clinical testing in September 2020	New Jersey, USA	Johnson & Johnson
Modified Vaccinia Ankara encoded virus-like particles (MVA-VLP)	GeoVax/BravoVax	Ongoing animal testing	Atlanta, GA, United States; Wuhan, China	GeoVax
MVA-S encoded	DZIF—German Center for Infection Research	Animal testing in mice in Summer 2020	Brunswick, Germany	DZIF
AdCOVID: Adenovirus-based NasoVAX expressing SARS2-CoV S protein; nasal spray	Altimmune	Clinical testing in quarter three of 2020	Maryland, USA	Altimmune

Ad5 S (GREVAX™ platform)	Greffex	Animal testing ongoing	Houston, USA	Greffex
SARS-CoV-2 protein VLP produced in tobacco	Medicago Inc.	Clinical testing in Summer 2020	Quebec, Canada	Medicago
Oral recombinant vaccine through adenovirus type 5 vector (Ad5)	Vaxart Inc.	Preclinical; Phase I in second half of 2020	San Francisco, USA	Vaxart
Adenovirus VLPs expressing SARS2-CoV S protein	Imophoron/University of Bristol	Animal testing planned	Bristol, UK	Imophoron
Adenovirus vector expressing SARS2-CoV S protein	ReiThera/LEUKOCARE/ Univercells	Clinical testing in Summer 2020	Rome, Italy; Munich, Germany; Brussels, Belgium	ReiThera
Parainfluenza virus 5 expressing S protein	University of Georgia/University of Iowa	Animal testing ongoing	Athens, GA, USA; Iowa City, IA, USA	University of Georgia

ΠΙΝΑΚΑΣ 8: Παραδείγματα υποψηφίων εμβολίων μη-αντιγραφούμενου ιικού φορέα κατά της COVID-19 σε κλινικές δοκιμές [2]

Τίτλος μελέτης	**Εμβόλιο**	**Sponsor**	**Περιοχή**	**Κατάσταση**	**Φάση**	**Πρωταρχικό αποτέλεσμα**	**Αναγνωριστικό μελέτης**
Immunity and Safety of Covid-19 Synthetic Minigene Vaccine	LV-SMENP-DC vaccine and antigen-specific CTLs	Shenzhen Geno-Immune Medical Institute	Guangdong, China	Recruiting	I/II	Clinical improvement based on a 7-point scale (28 days after randomization); Lower Murray lung injury score (7 days after randomization)	NCT04276896
Safety and Immunity of Covid-19 aAPC Vaccine	Pathogen-specific aAPC	Shenzhen Geno-Immune Medical Institute	Guangdong, China	Recruiting	I	Frequency of vaccine events; Frequency of serious vaccine events; Proportion of subjects with positive T cell response	NCT04299724
A Study of a Candidate COVID-19 Vaccine (COV001) and	ChAdOx1 nCoV-19	University of Oxford/Advent Srl	UK	Not yet recruiting	I/II and II/III	Efficacy, safety, and immunogenicity (6 months); Efficacy and safety (6	NCT04324606 and NCT04400838

Investigating a Vaccine Against COVID-19						months)	
A Phase I Clinical Trial in 18-60 Adults (APICTH); A Phase II Clinical Trial to Evaluate the Recombinant Vaccine for COVID-19 (Adenovirus Vector) (CTII-nCoV); Phase I/II Clinical Trial of Recombinant Novel Coronavirus Vaccine (Adenovirus Type 5 Vector) in Canada	Recombinant Novel Coronavirus Vaccine (Adenovirus Type 5 Vector)	CanSino Biologics Inc./Institute of Biotechnology, China	Hubei, China; Halifax, Canada	Recruiting/Active, not recruiting; Not yet Recruiting	I/II	Adverse reactions 0–7 days post-vaccination. Adverse reactions (0–14 days post-vaccination); IgG and neutralizing antibodies (28 days post-vaccination); Adverse reactions (0–6 and 0–28 days and 6 months after post-vaccination)	NCT04313127/ ChiCTR2000030906; NCT04341389; NCT04398147

14.6. Αντιγραφούμενος ιικός φορέας

Ο ιός της ιλαράς, ο ιός της γρίπης, ο ιός της φυσαλιδώδους στοματίτιδας και ο ιός της ευλογιάς των αλόγων χρησιμοποιήθηκαν ως αντιγραφούμενοι ιικοί φορείς για την ανάπτυξη νέων υποψηφίων εμβολίων για την νόσο COVID-19.
Έτσι, το Ινστιτούτο Παστέρ (Παρίσι, Γαλλία) εκμεταλλεύτηκε την τεχνολογία εμβολίου ιικού φορέα κατά της ιλαράς και ανέπτυξε υποψήφια εμβόλια κατά του chikungunya και του MERS με βάση αυτή την τεχνολογία.
- Η Tonix Pharmaceuticals (New York, NY, USA) σε συνεργασία με την Southern Research (Birmingham, Alabama, USA) ανέπτυξε τον TNX-1800, ο οποίος είναι ένας ζωντανός τροποποιημένος ιός της ευλογιάς των αλόγων που έχει σχεδιαστεί για να εκφράζει την πρωτεΐνη S του SARS-CoV-2 και βασίζεται στα εμβόλια βιοάμυνας της Tonix κατά της ευλογιάς και της ευλογιάς των πιθήκων.

- Η International AIDS Vaccine Initiative (IAVI, Νέα Υόρκη, NY, ΗΠΑ) εκμεταλλεύεται έναν φορέα ανασυνδυασμένου ιού φυσαλιδώδους στοματίτιδας (rVSV) κατά της COVID-19 και έχει αποδείξει την αποτελεσματικότητα των εμβολίων με φορέα rVSV κατά του SIV σε NHPs και του ιού Έμπολα στον άνθρωπο.
Η CEPI συνεργάζεται με το Πανεπιστήμιο του Χονγκ Κονγκ (Χονγκ Κονγκ, Κίνα) για να αναπτύξει ένα υποψήφιο εμβόλιο για την COVID-19 που βασίζεται σε μια πλατφόρμα εμβολίου ζωντανής-εξασθενημένης γρίπης.
- Το Πανεπιστήμιο του Wisconsin–Madison (Madison, WI, ΗΠΑ) και οι εταιρείες εμβολίων FluGen (Madison, WI, ΗΠΑ) και Bharat Biotech (Hyderabad, Ινδία) ξεκίνησαν την ανάπτυξη και τη δοκιμή του υποψήφιου εμβολίου CoroFlu που βασίζεται στη ραχοκοκαλιά του υποψήφιου εμβολίου της γρίπης της FluGen γνωστού ως M2SR, το οποίο είναι μια αυτοπεριοριζόμενη έκδοση του ιού της γρίπης στον οποίο εισάγονται αλληλουχίες γονιδίων του SARS-CoV-2 για να προκληθεί πρόσθετη ανοσία έναντι του κοροναϊού [2].
Αν και πολλά υποψήφια εμβόλια κατά της νόσου COVID-19 βασίστηκαν σε ιικούς φορείς, αρκετά μειονεκτήματα σχετίζονται με τη χρήση ιικών φορέων για τη μεταφορά γενετικού υλικού στα κύτταρα. Πρώτον, ο ίδιος ο ιικός φορέας μπορεί να προκαλέσει μια ανοσολογική απόκριση στο σώμα. Δεύτερον, εάν ένα εμβόλιο αποτύχει κατά τη διάρκεια της κλινικής δοκιμής, ο ίδιος ιικός φορέας δεν μπορεί να επαναχρησιμοποιηθεί στον ασθενή επειδή μπορεί να προκαλέσει ανοσοαπόκριση. Τρίτον, η προϋπάρχουσα ανοσία έναντι του ιικού φορέα μπορεί να καταστήσει ένα εμβόλιο αναποτελεσματικό. Πιθανά προβλήματα με ιικούς φορείς, π.χ. χαμηλή διαγονιδιακή έκφραση και γενετική τοξικότητα, μπορούν να ξεπεραστούν χρησιμοποιώντας υβριδικούς ιικούς φορείς [2].

ΠΙΝΑΚΑΣ 9: Παραδείγματα υποψηφίων εμβολίων αντιγραφούμενου ιικού φορέα κατά της COVID-19 σε προκλινικό στάδιο [2]

Πλατφόρμα τεχνολογίας για την ανάπτυξη εμβολίου	**Αντιγραφούμενος ιικός φορέας**			
Υποψήφιο εμβόλιο/ Πληροφορίες	**Κατασκευαστής**	**Στάδιο**	**Δοκιμή/περιοχή**	**Link**
Measles vector	Institute Pasteur/Themis/University of Pittsburg Center for Vaccine Research	Animal testing planned	Paris, France; Vienna, Austria; Pittsburgh, PA, USA	Themis
TNX-1800: Horsepox vector expressing S protein	Tonix Pharma/Southern Research	Animal testing planned	Birmingham, AL, USA; New York, USA	Tonix Pharma
Vesicular stomatitis virus (VSV) vector expressing S protein	International AIDS Vaccine Initiative (IAVI)/Batavia Biosciences	Animal testing ongoing	New York, USA; Leiden, The Netherlands	IAVI

Influenza vector expressing RBD	University of Hong Kong	Clinical testing in July 2020	Hong Kong	University of Hong Kong
CoroFlu: Influenza virus expressing S protein	University of Wisconsin Madison/ FluGen/Bharat Biotech	Clinical testing in Fall 2020	Madison, WI, United States; Hyderabad, India	University of Wisconsin Madison

14.7. Εμβόλια από αδρανοποιημένους μικροοργανισμούς (inactivated vaccines)

Τα αδρανοποιημένα εμβόλια αποτελούν τη βάση της εμβολιολογίας εδώ και δεκαετίες. Οι μέθοδοι για την παραγωγή τέτοιων υποψηφίων εμβολίων περιλαμβάνουν τη χρήση χημικών ουσιών, όπως η βήτα-προπιολακτόνη, η αιθυλενιμίνη, η φορμαλίνη καθώς και φυσικές μεθόδους όπως είναι η γ-ακτινοβολία, η υψηλής ενέργειας υπεριώδης ακτινοβολία (UVC) και η αδρανοποίηση μέσω θερμότητας. Όλες αυτές οι μέθοδοι έχουν ως αποτέλεσμα κυρίως την χημική τροποποίηση της δομής των πρωτεϊνών και των νουκλεϊκών οξέων των παθογόνων μικροοργανισμών, καθιστώντας τους έτσι ανίκανους να μολύνουν τα κύτταρα στόχους ή να αναπαραχθούν in vivo. Το κλειδί της επιτυχίας αυτής της πλατφόρμας τεχνολογίας έγκειται στην επίτευξη εκείνων των μεταβολών που απαιτούνται για την αδρανοποίηση του ιού, διατηρώντας ταυτόχρονα τους επίτοπους του αντιγόνου που απαιτούνται για την ενεργοποίηση μιας ανοσιακής απάντησης όταν χορηγούνται σε έναν ξενιστή [23].

Τα αδρανοποιημένα εμβόλια λοιπόν κατά της COVID-19 περιέχουν ολόκληρα στελέχη του SARS-CoV-2, αδρανοποιημένα στο εργαστήριο ώστε οι ιικές πρωτεΐνες να έχουν αλλάξουν μεν χωρική διαμόρφωση, αλλά να διατηρούν την χημική τους σύνθεση και τις ανοσογονικές τους ιδιότητες. Έτσι, ο αδρανοποιημένος ιός έχει χάσει την ικανότητα του να προκαλεί την νόσο, αλλά όταν το ανοσοποιητικό σύστημα έρθει σε επαφή μαζί του, αντιδρά αναπτύσσοντας φυσική άμυνα κατά της λοίμωξης από τη νόσο COVID-19 [7],[24].

Οι αδρανοποιημένοι (νεκρωμένοι) ιοί που εγχέονται ως ανοσογόνο, μπορούν να συνδυαστούν με ανοσοενισχυτικές ουσίες αν είναι απαραίτητο [5]. Τρέχοντα αδειοδοτημένα εμβόλια που χρησιμοποιούν αυτή την πλατφόρμα τεχνολογίας είναι έναντι της πολιομυελίτιδας, του τύφου, της χολέρας, της πανώλης, του κοκκύτη, της γρίπης και της Ηπατίτιδας Α [2],[5].

Έτσι με αυτή την τεχνολογία σε προκλινικές μελέτες είχαμε ένα αδρανοποιημένο με φορμαλίνη υποψήφιο εμβόλιο κατά της COVID-19 που αναπτύχθηκε από το Πανεπιστήμιο της Οσάκα της Ιαπωνίας, παρόμοιο με το προηγούμενο εμβόλιο

αδρανοποιημένου με φορμαλίνη ιού του Δυτικού Νείλου, το οποίο βρέθηκε ότι είναι προστατευτικό στα ποντίκια και ανοσογονικό στα NHPs [2].
Επίσης, ερευνητές στο Πολιτειακό Πανεπιστήμιο του Κολοράντο (Fort Collins, CO, ΗΠΑ) ανέπτυξαν ένα εμβόλιο αδρανοποιημένου ιού για την COVID-19, με την ονομασία SolaVAX, το οποίο βασίζεται σε μια υπάρχουσα πλατφόρμα τεχνολογίας για την αδρανοποίηση παθογόνων σε προϊόντα αίματος, για την πρόληψη ασθενειών που μεταδίδονται με μετάγγιση. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιεί μια φωτοχημική ουσία (ριβοφλαβίνη ή βιταμίνη B2) σε συνδυασμό με υπεριώδη ακτινοβολία στις περιοχές μήκους κύματος UVA και UVB, για να επιτύχει στοχευμένη βλάβη του νουκλεϊκού οξέος με αποτέλεσμα την αδρανοποίηση του ιού, διατηρώντας όμως την ακεραιότητα των πρωτεϊνών και των ιικών αντιγόνων. Αυτή η στρατηγική έχει αποδειχθεί αποτελεσματική για την απενεργοποίηση του MERS-CoV [2],[23].
Επίσης, η Sinovac Biotech (Πεκίνο, Κίνα) σε συνεργασία με την Dynavax (Emeryville, CA, USA) αξιολόγησε τον συνδυασμό του χημικά αδρανοποιημένου υποψηφίου εμβολίου κατά της COVID-19 της Sinovac, με το προηγμένο ανοσοενισχυτικό CpG 1018 της Dynavax. Η Sinovac δοκίμασε επίσης τα χημικά αδρανοποιημένα ολόκληρα σωματίδια του ιού SARS-CoV-2 (PiCoVacc) που αναπτύχθηκαν σε κύτταρα πιθήκου VERO και ανοσοενισχυτικό alum σε κλινικές δοκιμές φάσης I/II. Το PiCoVacc προκάλεσε εξουδετερωτικά αντισώματα ειδικά για τον SARS-CoV-2 σε ποντίκια, αρουραίους και NHPs και παρείχε πλήρη προστασία σε NHP κατά του SARS-CoV-2 [2].
Χρησιμοποιώντας την ίδια τεχνολογία πλατφόρμας, τα υποψήφια εμβόλια κατά της γρίπης και του SARS αποδείχθηκαν ασφαλή και ανοσογονικά σε κλινικές δοκιμές φάσης I. Το Ινστιτούτο Βιολογικών Προϊόντων της Γουχάν (Γουχάν, Κίνα) και το Ινστιτούτο Βιολογικών Προϊόντων του Πεκίνου (Πεκίνο, Κίνα) δοκίμασαν τα υποψήφια εμβόλια τους, τα οποία έχουν παρασκευαστεί αναπτύσσοντας τον SARS-CoV-2 στην κυτταρική σειρά πιθήκων VERO και έχουν αδρανοποιηθεί με χημικές ουσίες [2].
Το εμβόλιο valneva είναι επίσης ένα εμβόλιο αδρανοποιημένου ιού SARS-CoV-2, που παράγεται σε κύτταρα Vero και ενδείκνυται για την ενεργητική ανοσοποίηση για την πρόληψη της COVID-19. Η διαδικασία παρασκευής του εμβολίου καθιστά τον ιό ανίκανο να αναπαραχθεί και παρέχει άθικτες πρωτεΐνες ακίδας στην επιφάνεια του ιού. Στο εμβόλιο έχουν προστεθεί επίσης ανοσοενισχυτικά για να αυξηθεί το μέγεθος της ανοσιακής απόκρισης. Μετά την χορήγηση το εμβόλιο επάγει αντισώματα εξουδετέρωσης καθώς και κυτταρικές ανοσοαποκρίσεις κατά της ακίδας και άλλων επιφανειακών πρωτεΐνών του SARS-CoV-2. Το εμβόλιο αυτό έλαβε την πρώτη έγκριση του για χρήση στην ΕΕ στις 24 Ιουνίου 2022 [25].
Η ανάπτυξη συμβατικών αδρανοποιημένων εμβολίων απαιτεί την καλλιέργεια υψηλών τίτλων μολυσματικού ιού, η οποία στην περίπτωση του SARS-CoV-2 πρέπει να λάβει χώρα σε εγκαταστάσεις επιπέδου βιοασφάλειας 3, κάτι που αποτελεί μείζον

θέμα ασφάλειας. Επιπλέον, η ατελής αδρανοποίηση του ιού αποτελεί πιθανό κίνδυνο για τους εργαζόμενους στην παραγωγή εμβολίων και μπορεί επίσης να προκαλέσει κρούσματα σε εμβολιασμένους πληθυσμούς και να προκαλέσει επιβλαβείς ανοσολογικές ή φλεγμονώδεις αποκρίσεις [2].

ΠΙΝΑΚΑΣ 10: Παραδείγματα υποψηφίων αδρανοποιημένων εμβολίων κατά της COVID-19 σε προκλινικό στάδιο [2]

Πλατφόρμα τεχνολογίας για την ανάπτυξη εμβολίου	**Αδρανοποιημένα εμβόλια**			
Υποψήφιο εμβόλιο/ Πληροφορίες	**Κατασκευαστής**	**Στάδιο**	**Δοκιμή/περιοχή**	**Link**
Formalin-inactivated	Osaka University/BIKEN/National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition (NIBIOHN)	Animal testing planned	Osaka, Japan	WHO
SolaVAX: Chemically inactivated	Colorado State University	Animal testing ongoing	Fort Collins, CO, USA	Colorado State University
Inactivated vaccine + CpG 1018 adjuvant	Sinovac/Dynavax	Animal testing planned	Emeryville, CA, USA; Beijing, China	Dynavax

ΠΙΝΑΚΑΣ 11: Παραδείγματα υποψηφίων αδρανοποιημένων εμβολίων κατά της COVID-19 σε κλινικές δοκιμές [2]

Τίτλος μελέτης	**Εμβόλιο**	**Sponsor**	**Περιοχή**	**Κατάσταση**	**Φάση**	**Πρωταρχικό αποτέλεσμα**	**Αναγνωριστικό μελέτης**
Safety and Immunogenicity Study of 2019-nCoV Vaccine (Inactivated) for Prophylaxis SARS CoV-2 Infection (COVID-19); Safety and Immunogenicity Study of Inactivated	Inactivated SARS-CoV-2	Sinovac Biotech Co., Ltd.	Jiangsu, China; Hebei, China	Recruiting; Not yet recruiting	I/II	Safety indexes of adverse reactions; Immunogenicity indexes of neutralizing-antibody seroconversion rates (up to 28 days after the whole schedule vaccination) Seroconversion rates of	NCT04352608; NCT04383574

Vaccine for Prevention of SARS-CoV-2 Infection (COVID-19)						neutralizing antibody (30th day after the 2nd dose)	
A randomized, double-blind, placebo parallel-controlled phase I/II clinical trial for inactivated Novel Coronavirus Pneumonia vaccine (Vero cells)	Inactivated	Wuhan Institute of Biological Products Co., Ltd.	Wuhan, Hubei, China	Not yet recruiting	I/II	Incidence of adverse reactions/events (up to 7 days); Four-fold growth rate and antibody level, and cellular immunity (up to 90, 180, and 360 days)	ChiCTR2000031809
A phase I/II clinical trial for inactivated novel coronavirus (2019-CoV) vaccine (Vero cells)	Inactivated	Beijing Institute of Biological Products Co., Ltd.	Beijing, China	Recruiting	I/II	Incidence of adverse reactions/events (up to 7 days); Four-fold growth rate and antibody level (up to 28 days); Cellular immunity (Up to 28, 180, and 360 days)	ChiCTR2000032459

14.8. Εμβόλια από ζωντανούς-εξασθενημένους μικροοργανισμούς (Live Attenuated vaccines)

Στην τεχνολογία αυτή χρησιμοποιείται μια εξασθενημένη μορφή του ιού για να προκαλέσει μια ισχυρή αντιϊκή ανοσολογική απόκριση [5]. Και αυτή η τεχνολογία εμβολίων είναι μια συμβατική τεχνολογία η οποία αξιοποιείται για τουλάχιστον τέσσερις νέους υποψήφιους εμβολίου κατά της COVID-19. Ζωντανά εξασθενημένα εμβόλια κατά πολλών ιών έχουν κυκλοφορήσει στο εμπόριο, συμπεριλαμβανομένου του ιού της γρίπης, του ροταϊού, του ιού της πολιομυελίτιδας, του ιού του κίτρινου πυρετού και του ιού της ιλαράς. Ένα ζωντανό εξασθενημένο εμβόλιο έχει πολλά πλεονεκτήματα, συμπεριλαμβανομένης της πρόκλησης ανοσοαπόκρισης έναντι πολλών διαφορετικών αντιγόνων του ιού και της δυνατότητας κλιμάκωσης για μαζική παραγωγή [2].

Ο μηχανισμός ανάπτυξης ενός τέτοιου εμβολίου συνίσταται στην πολλαπλή έκθεση του ιού διαδοχικά σε διαφορετικά ζώα, με αποτέλεσμα ο ιός να μεταλλάσσεται, να προσαρμόζεται στον νέο ξενιστή και ακολούθως να εξασθενεί όσον αφορά την ικανότητα του να προκαλεί νόσο στον άνθρωπο, αλλά παραμένοντας ικανός να προκαλεί ανοσολογική απάντηση σε αυτόν [24]. Μια άλλη αποτελεσματική στρατηγική εξασθένισης ενός ιού, είναι η αποβελτιστοποίηση ζεύγων κωδικονίων (codon pair deoptimization). Αυτή η στρατηγική περιλαμβάνει συνθετική επανακωδικοποίηση του γονιδιώματος του ιού, που αλλάζει τις θέσεις των κωδικονίων που κωδικοποιούν το ίδιο αμινοξύ (συνώνυμα κωδικόνια), με αποτέλεσμα κάποια ζεύγη κωδικονίων να εμφανίζονται σημαντικά λιγότερο συχνά από ότι θα αναμενόταν, με βάση την συνολική συχνότητα εμφάνισης δύο κωδικονίων που σχηματίζουν ένα συγκεκριμένο ζεύγος κωδικονίων, επιφέροντας έτσι την εξασθένηση του ιού. Το αποτέλεσμα αυτής της ανταλλαγής κωδικονίων είναι η αύξηση της συχνότητας των ζευγών κωδικονίων που υποεκπροσωπούνται στατιστικά (υποβέλτιστη) στα γονίδια του ξενιστή. Είναι σημαντικό οτι, ενώ η επανακωδικοποίηση εισάγει εκατοντάδες σημειακές μεταλλάξεις στα ιικά γονιδιώματα, η σύνθεση αμινοξέων των κωδικοποιημένων πρωτεϊνών διατηρείται. Κατά συνέπεια, οι επανακωδικοποιημένοι ιοί είναι αντιγονικά πανομοιότυποι με τους αρχικούς. Δεδομένης λοιπόν της αντιγονικής τους ταυτότητας και της ικανότητας τους για αντιγραφή, οι εξασθενημένοι ιοί μπορούν να επάγουν ανοσοαποκρίσεις που είναι παρόμοιες με εκείνες των λοιμωδών στελεχών [26].

Η Codagenix (Farmingdale, Νέα Υόρκη, ΗΠΑ) και το Serum Institute of India (Pune, Ινδία) ανέπτυξαν από κοινού ένα εμβόλιο κατά του SARS-CoV-2 που συνδυάζει τον σχεδιασμό ενός ζωντανού εξασθενημένου εμβολίου, με την τεχνολογία αιχμής της αποβελτιστοποίησης κωδικονίων. Το υποψήφιο αυτό εμβόλιο με την ονομασία CoviLiv, χορηγείται ενδορινικά και επιφέρει μια ευρεία απόκριση αντισωμάτων και Τ-κυττάρων. Ένα εμβόλιο κατά του αναπνευστικού συγκυτιακού ιού που σχεδιάστηκε με αυτήν την τεχνική έχει αποδειχθεί προηγουμένως ότι προκαλεί προστατευτική ανοσία σε NHPs [2],[27].

Το Γερμανικό Κέντρο Έρευνας Λοιμώξεων (DZIF, Braunschweig, Γερμανία) και η Zydus Cadila (Etna Biotech, Ahmedabad, Ινδία) ανέπτυξαν ένα ζωντανού εξασθενημένου ανασυνδυασμένου ιού ιλαράς (rMV) εμβόλιο κατά της COVID-19. Χρησιμοποιώντας τον rMV, η Etna Biotech έχει αποδείξει την ικανότητα ενός ζωντανού εξασθενημένου εμβολίου του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων (HPV) να προκαλεί nAbs σε NHPs, ενώ το DZIF έχει δείξει προστασία έναντι μόλυνσης από τον ιό MERS-CoV και τον ιό Zika σε ποντίκια με την χρήση αυτής της πλατφόρμας [2].

Η Indian Immunologicals (Hyderabad, Ινδία) σε συνεργασία με το Πανεπιστήμιο Griffith (Brisbane, Αυστραλία) εκμεταλλεύεται την τεχνολογία αποβελτιστοποίησης κωδικονίων για να αναπτύξει ένα ζωντανό εξασθενημένο εμβόλιο κατά της COVID-19.

Αν και τα ζωντανά εξασθενημένα εμβόλια που στοχεύουν σε ιογενείς λοιμώξεις του αναπνευστικού έχουν εγκριθεί για χρήση σε ανθρώπους, το γεγονός ότι ο ιός απεκκρίνεται στα κόπρανα ατόμων που έχουν μολυνθεί από SARS-CoV-2 προκαλεί ανησυχία ότι ένα ζωντανό εξασθενημένο SARS-CoV-2 στέλεχος εμβολίου μπορεί επίσης να απεκκρίνεται με τα κόπρανα και μπορεί να μεταδοθεί σε μη εμβολιασμένα άτομα. Ένα άλλο δυνητικό θέμα ανησυχίας είναι ο κίνδυνος ανασυνδυασμού ενός ζωντανού εξασθενημένου ιού εμβολίου με άγριου τύπου CoV [2].

ΠΙΝΑΚΑΣ 12: Παραδείγματα υποψηφίων ζωντανών εξασθενημένων εμβολίων κατά της COVID-19 σε προκλινικό στάδιο [2]

Πλατφόρμα τεχνολογίας για την ανάπτυξη εμβολίου	**Ζωντανά εξασθενημένα**			
Υποψήφιο εμβόλιο/ Πληροφορίες	**Κατασκευαστής**	**Στάδιο**	**Δοκιμή/περιοχή**	**Link**
Viral de-optimized live attenuated vaccine	Codagenix/Serum Institute of India	Animal test results from mice and primates in August 2020	Farmingdale, NY, USA	Codagenix
Attenuated measles virus	German Center for Infection Research (DZIF)	Animal testing in mice in autumn 2020	Brunswick, Germany	DZIF
Attenuated measles virus	Etna Biotech	Advancing preclinical candidate	Catania, Italy	Zydus Cadila
Codon de-optimization technology	Griffith University/Indian Immunologicals	Ongoing animal testing	Brisbane, Australia; Hyderabad, India	Indian Immunologicals

14.9. Χρησιμοποίηση υφιστάμενων εμβολίων κατά της COVID-19

Στην προσπάθεια καταπολέμησης της νόσου COVID-19, διερευνήθηκε η αποτελεσματικότητα και τρέχοντων εμβολίων. Ένα τέτοιο εμβόλιο είναι το Bacillus Calmette-Guérin (BCG), το οποίο είναι ένα ζωντανό εξασθενημένο εμβόλιο που αναπτύχθηκε κατά της φυματίωσης και έχει αναφερθεί ότι μειώνει την ευαισθησία σε λοιμώξεις της αναπνευστικής οδού μέσω του επαναπρογραμματισμού της έμφυτης ανοσίας. Επί του παρόντος, δεν υπάρχουν στοιχεία ότι το εμβόλιο BCG παρέχει προστασία έναντι της COVID-19. Ωστόσο, αρκετές κλινικές δοκιμές φάσης III και IV διερευνούν εάν το εμβόλιο BCG μπορεί να βοηθήσει στην ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος και στη μείωση του ποσοστού μόλυνσης από τον SARS-CoV-2 (αναγνωριστικό ClinicalTrials.gov NCT04327206, NCT04348370, NCT04350931, NCT04362124, NCT04369794, και EU Clinical Trials Register 2020-001591-15, 020-001678-31) ή να μειώσει τις απουσίες μεταξύ των εργαζομένων στον τομέα της υγείας που συμμετέχουν στη φροντίδα ασθενών με COVID-19 (NCT04328441 και NCT04373291). Επίσης, στην Κίνα σε κλινική δοκιμή φάσης I δοκιμάστηκε η επίδραση της εισπνοής αδρανοποιημένου Mycobacterium vaccae στην προστασία έναντι της COVID-19 (Chinese Clinical Trials Register ChiCTR2000030016) [2].

15.Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα κάθε πλατφόρμας τεχνολογίας

Κάθε πλατφόρμα τεχνολογίας έχει τα δικά της πλεονεκτήματα και προκλήσεις που σχετίζονται με την ικανότητά της να προκαλεί ισχυρές ανοσοαποκρίσεις, την παραγωγική ικανότητα και την ασφάλεια για κλινική χρήση. Στο πλαίσιο της αντιμετώπισης της πανδημίας COVID-19, όλοι οι τύποι πλατφορμών τεχνολογίας για την ανάπτυξη εμβολίων αξιολογήθηκαν, αυξάνοντας έτσι τις πιθανότητες τουλάχιστον μερικά από τα υποψήφια εμβόλια να εγκριθούν και να διατεθούν στην αγορά [2].Τα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα κάθε πλατφόρμας τεχνολογίας παραθέτονται συνοπτικά στον πίνακα που ακολουθεί.

ΠΙΝΑΚΑΣ 13: Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα πλατφορμών τεχνολογίας εμβολίων που χρησιμοποιήθηκαν κατά της COVID-19 [2]

Πλατφόρμα τεχνολογίας για την ανάπτυξη εμβολίου	**Τύπος αντιγόνου**	**Ανοσιακή απόκριση**	**Πλεονεκτήματα**	**Μειονεκτήματα**	**Χρόνος απόκρισης σε πανδημίες**
Αδρανοποιημένων μικροοργανισμών	Αδρανοποιημένο παθογόνο	Χυμική & κυτταρική	Περισσότερα από 70 χρόνια εμπειρίας Δραστικό Απλή σύνθεση	Απαιτεί εντατική εργασία Δύσκολη κατασκευή σε σύντομο χρονικό διάστημα Αυστηρός ποιοτικός έλεγχος	Χαμηλός

Ζώντων εξασθενημένων μικροοργανισμών	Εξασθενημένο παθογόνο	Χυμική & κυτταρική	Δραστικό Πολυδύναμο από τη φύση του Απλή σύνθεση Δεν απαιτεί ανοσοενισχυτικά	Απαιτεί εντατική εργασία Δύσκολη κατασκευή σε σύντομο χρονικό διάστημα Αυστηρός ποιοτικός έλεγχος Κίνδυνος μόλυνσης	Χαμηλός
Υπομονάδων/Ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης	Πρωτεΐνη	Χυμική	Μη-μολυσματικό Λιγότερες παρενέργειες	Απαιτεί εντατική εργασία Νέα διαδικασία παραγωγής και δοκιμές σταθερότητας για κάθε νέο αντιγόνο Ποιοτικός έλεγχος Απαίτηση για διατήρηση ψυχρής αλυσίδας κατά τη μεταφορά και αποθήκευση Απαιτούνται ανοσοενισχυτικά	Μέτριος
Νανοσωματίδιων της κατηγορίας των Virus-like particles (VLPs)	Πρωτεΐνη	Χυμική	Μη-μολυσματικό Δραστικό	Σταθερό Ποιοτικός έλεγχος Πιθανώς μολυσματικά Ετερογένεια Απαίτηση για διατήρηση ψυχρής αλυσίδας κατά τη μεταφορά και	Μέτριος

				αποθήκευση	
Ιικών φορέων	Νουκλεϊκό οξύ	Χυμική & κυτταρική	Δραστικό Δεν απαιτεί ανοσοενισχυτικά Τα αντιγόνα εκφράζονται εγγενώς	Ανασυνδυασμός του ιού κατά την παραγωγή Μολυσματικοί παράγοντες από τα προερχόμενα από τον άνθρωπο ή τα ζώα υλικά Προϋπάρχουσα ανοσία έναντι του φορέα	Υψηλός
DNA	Νουκλεϊκό οξύ	Χυμική & κυτταρική	Αποθήκευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος Γρήγορη, μεγάλης-κλίμακας παραγωγή Επιλογές για ανάπτυξη πολυδύναμου εμβολίου Δεν περιέχει κύτταρα Χωρίς μολυσματικούς παράγοντες Μη-μολυσματικό	Χαμηλή ανοσογονικότητα στους ανθρώπους Κίνδυνος καρκινογένεσης εξαιτίας πιθανής γενετικής ενσωμάτωσης Καθαρότητα Υψηλή συγκέντρωση	Υψηλός
mRNA	Νουκλεϊκό οξύ	Χυμική & κυτταρική	Αποθήκευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος Εύκολη, μεγάλης-κλίμακας παραγωγή Επιλογές για ανάπτυξη πολυδύναμου εμβολίου	Κλιμάκωση της σύνθεσης mRNA Σταθερότητα Απαιτεί περιβάλλον RNase-free Σχετικά υψηλότερο κόστος	Υψηλός

			Δεν περιέχει κύτταρα Χωρίς μολυσματικούς παράγοντες Μη-μολυσματικό Χωρίς κίνδυνο ενσωμάτωσης στο γονιδίωμα Χωρίς πιθανότητα εμφάνισης ανοσίας έναντι του φορέα	Κίνδυνος ανεπιθύμητων επιδράσεων Φλεγμονή	

Μια από τις πλατφόρμες με την περισσότερο γνωστή τεχνολογία για την ανάπτυξη εμβολίων κατά του ιού SARS-CoV-2 είναι των εξασθενημένων στελεχών αυτού. Ωστόσο, η μεγαλύτερη πρόκληση στην κατασκευή ενός τέτοιου ζωντανού εμβολίου σχετίζεται με την διαδικασία των μεταλλάξεων που δεν μπορούν να προβλεφθούν και τον κίνδυνο επανάκτησης των παθογόνων ιδιοτήτων από τον εξασθενημένο ιό μετά τον εμβολιασμό. Ένα ιδιαίτερα σημαντικό πλεονέκτημα αυτού του εμβολίου όμως είναι η μεγάλη διάρκεια της ανοσίας που προκαλεί, κάτι που είναι ιδιαίτερα σημαντικό για την νόσο COVID-19, επειδή οι λοιμώξεις από κορωναϊό δεν προκαλούν πάντα μακροχρόνιες αποκρίσεις ανοσίας (αντισώματα) [24].

Τα αδρανοποιημένα εμβόλια από την άλλη μεριά είναι ασφαλέστερα από τα εξασθενημένα καθώς δεν περιέχουν «ζωντανούς» ιούς που μπορούν να μεταλλαχθούν. Το μειονέκτημα αυτών όμως είναι ότι η ανοσιακή απόκριση που επιφέρουν είναι πολύ χαμηλή, κάτι που απαιτεί επαναλαμβανόμενους εμβολιασμούς ή τη χρήση ανοσοενισχυτικών και επιπλέον δεν έχει και τόση μεγάλη διάρκεια σε σχέση με τα εξασθενημένα εμβόλια [24].

Χρήση ανοσοενισχυτικών όμως απαιτούν και τα πρωτεϊνικά εμβόλια, κάτι που αποτελεί ομοίως το αδύναμο σημείο τους καθώς είναι δύσκολο να αποκτηθεί επαρκής αριθμός ιικών πρωτεϊνών για παραγωγή εμβολίου και απαιτείται η προσθήκη ανοσοενισχτικών για αύξηση της ανοσολογικής απόκρισης [24].

Όσον αφορά τα εμβόλια ιικών φορέων γενικά είναι ασφαλή, καθώς οι ιικοί φορείς δεν μπορούν να αναπαραχθούν στο σώμα και επιπλέον προκαλούν την ίδια ισχυρή ανοσία όπως και οι εξασθενημένοι ιοί, χωρίς να έχουν όμως το ρίσκο των μεταλλάξεων. Πιο συγκεκριμένα για τα εμβόλια ιικών φορέων που βασίζονται στους αδενοϊούς, το βασικό τους πλεονέκτημα είναι ο φυσικός μηχανισμός αλληλεπίδρασης αυτών των ιών με τα ανθρώπινα κύτταρα, που τους επιτρέπει να παρέχουν επαρκή μακροπρόθεσμη έκφραση του αντιγόνου, η οποία ενεργοποιεί αποτελεσματικά τόσο την έμφυτη όσο και την επίκτητη ανοσολογική απόκριση. Ωστόσο, ένα σημαντικό μειονέκτημα των αδενοϊών είναι η προϋπάρχουσα ανοσία του ανθρώπου έναντι αυτών, καθώς οι περισσότεροι αδενοϊοί είναι συνηθισμένα παθογόνα του αναπνευστικού και οι περισσότεροι άνθρωποι έχουν μολυνθεί κατά τη διάρκεια της ζωής τους, γεγονός που μπορεί να καταστήσει το εμβόλιο λιγότερο αποτελεσματικό ή να οδηγήσει σε απρόβλεπτη ανοσολογική αντίδραση [24].

Τα εμβόλια DNA όμοια με τα εμβόλια ιικών φορεών προκαλούν επίσης ισχυρή ανοσία, χωρίς να έχουν επίσης το ρίσκο των μεταλλάξεων ή της μόλυνσης του ξενιστού [24]. Άλλα πλεονεκτήματα τους είναι ότι μπορούν να παραχθούν γρήγορα και σχετικά εύκολα, είναι σχετικά σταθερά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και εύκολα μπορούν να εξοπλιστούν με μια πρόσθετη κασέτα έκφρασης που κωδικοποιεί ένα μοριακό ανοσοενισχυτικό για να προκαλέσει ισχυρότερες ανοσοαποκρίσεις. Το μειονέκτημα τους είναι ότι διαφορετικοί βιολογικοί φραγμοί, συμπεριλαμβανομένης της κυτταρικής μεμβράνης και της μεμβράνης του πυρήνα αποτελούν εμπόδια για τα εμβόλια DNA μέχρι να φτάσουν στη θέση στόχο τους που είναι ο πυρήνας. Επίσης, το γυμνό DNA (naked) μετά την χορήγηση του αποικοδομείται γρήγορα από νουκλεάσες στον βλεννογόνο, το δέρμα και το πλάσμα, και μόνο μικρές ποσότητες του εγχυόμενου DNA προσλαμβάνεται από τα κύτταρα, με αποτέλεσμα χαμηλή ανοσογονικότητα [10]. Το πρόβλημα με αυτά τα εμβόλια είναι ότι δεν έχουν κατανοηθεί ακόμα αρκετά. Μόνο ένα εμβόλιο αυτού του τύπου είχε αναπτυχθεί και χρησιμοποιηθεί έναντι του ιού Ζίκα στα άλογα [24].

Τέλος, τα εμβόλια m-RNA μπορούν να κατασκευαστούν σχετικά γρήγορα καθώς μειώνουν σημαντικά πολλά από τα στάδια στην ανάπτυξη των εμβολίων και στην θεωρία είναι η πιο ασφαλής τεχνολογία. Επιπλεόν, τα λιπιδικά νανοσωματίδια που χρησιμοποιούνται για την μεταφορά του m-RNA ταυτόχρονα μπορούν να επάγουν μια ανοσολογική απόκριση. Υποθέτεται ότι αυτή η διπλή ανοσογονική επίδραση μπορεί να προκαλέσει ανοσία νωρίτερα και να διαρκέσει περισσότερο. Το βασικό τους μειονέκτημα σχετίζεται ωστόσο με το ότι είναι ένα νέο είδος εμβολίου που δεν είναι καλά κατανοητό και δεν υπάρχει προγούμενη εμπειρία από την χρήση του [24].

16.Διαφορές στην ανοσολογική απόκριση στα διάφορα εμβόλια

Η ανοσολογική απόκριση των εμβολίων και η προστασία που παρέχουν έναντι της νόσησης ή/και της νοσηλείας που σχετίζονται με την COVID-19 έχουν αποτελέσει αντικείμενο πολλών μελετών.

Έτσι, σε μελέτη του CDC και συνεργατών του αξιολογήθηκε συγκριτικά η αποτελεσματικότητα των m-RNA εμβολίων Moderna και Pfizer-BioNTech στην πρόληψη της νοσηλείας που σχετίζεται με την COVID-19 σε δύο περιόδους (14-119 ημέρες και ≥120 ημέρες) μετά τη λήψη της δεύτερης δόσης του εμβολίου μεταξύ 1.896 βετεράνων των ΗΠΑ νοσηλευόμενων σε πέντε ιατρικά κέντρα για βετεράνους (VAMCs) κατά την περίοδο 1 Φεβρουαρίου – 30 Σεπτεμβρίου 2021. Στόχος ήταν να κατανοήσουν πώς μπορεί να αλλάξει η αποτελεσματικότητα του εμβολίου με την πάροδο του χρόνου. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι αφενός τα επίπεδα αντισωμάτων ήταν σημαντικά υψηλότερα μεταξύ των ληπτών της Moderna σε σχέση με τους λήπτες Pfizer-BioNTech σε όλες τις ηλικιακές ομάδες και τις περιόδους από τον εμβολιασμό και αφετέρου ότι τα επίπεδα αντισωμάτων μεταξύ των ληπτών και των δύο προϊόντων μειώθηκαν μεταξύ 14-119 ημερών και ≥120 ημερών από την χορήγηση της δεύτερης δόσης. Πιο συγκεκριμένα, τα επίπεδα αντισωμάτων ήταν για το χρονικό διάστημα 14-119 ημερών 89,6% (95% CI = 80.1%–94.5%) για το Moderna και 86.0% (95% CI = 77.6%–91.3%) για το Pfizer-BioNTech και για ≥120 ημέρες ήταν 86.1% (95% CI = 77.7%–91.3%) για το Moderna και 75.1% (95% CI = 64.6%–82.4%) για το Pfizer-BioNTech. Τα ευρήματα αυτής της μελέτης καταδεικνύουν τη σημασία των αναμνηστικών δόσεων για τη διατήρηση της μακροπρόθεσμης προστασίας έναντι της σοβαρής νόσου COVID-19 [28].

Στην μελέτη των Joana Barros-Martins et al [29], για τον προσδιορισμό της ανοσογονικότητας των ομόλογων και ετερόλογων ανοσολογικών σχημάτων, μελετήθηκαν 129 εμβολιασμένοι που ανήκουν στο υγειονομικό προσωπικό που είχαν λάβει ως 1η δόση εμβολίου το ChAdOx1-nCoV-19 (Vaxzevria, ChAd) χωρίς προηγούμενη λοίμωξη SARS-CoV-2, εκ των οποίων οι 32 επέλεξαν ομόλογη ενίσχυση και οι 55 επέλεξαν ετερόλογη ενίσχυση. Για σύγκριση, συμπεριλήφθηκε και μια ομάδα 46 ατόμων εμβολιασμένου υγειονομικού προσωπικού που είχαν λάβει δύο δόσεις του εμβολίου BNT162b2 (Comirnaty, BNT). Φάνηκε λοιπόν ότι τα επίπεδα αντι-SARS-CoV-2 spike IgG (anti-S IgG) ήταν σημαντικά υψηλότερα στην ομάδα ChAd/BNT λίγο μετά τον πρώτο εμβολιασμό σε σύγκριση με την ομάδα ChAd/ChAd, αλλά μειώθηκαν σημαντικά με την πάροδο του χρόνου και στις δύο ομάδες, με χαμηλότερο anti-S IgG μετά από ομόλογο εμβολιασμό.

Επίσης, στην μελέτη των GeorgM. N. Behrens et al [30], παρατηρήθηκαν τα ίδια αποτελέσματα σε δύο ομάδες επαγγελματιών υγείας χωρίς προηγούμενη λοίμωξη SARS-CoV-2, με τα επίπεδα αντι-SARS-CoV-2 spike IgG (anti-S IgG) να είναι σημαντικά υψηλότερα στην ομάδα ετερόλογου εμβολιασμού (ChAd/BNT) σε σύγκριση με την ομάδα ομόλογου εμβολιασμού (ChAd/ChAd), αλλά και να μειώνονται σημαντικά με την πάροδο του χρόνου και στις δύο ομάδες, με χαμηλότερους τίτλους anti-S IgG μετά από ομόλογο εμβολιασμό. Γενικά ο ετερόλογος εμβολιασμός με ένα εμβόλιο ιικού φορέα (ChAdOx-1) ακολουθούμενο από ένα m-RNA εμβόλιο (πχ. BNT162b2) έχει αναφερθεί ότι υπερέχει στην πρόκληση προστατευτικής ανοσίας σε σύγκριση με τον ομόλογο εμβολιασμό. Ωστόσο, μετά από 3^{ο} εμβολιασμό με BNT παρατηρήθηκαν αυξημένες αποκρίσεις anti-S IgG και στις δύο ομάδες και μάλιστα συγκρίσιμες μεταξύ τους σε τέτοιο βαθμό που μείωσαν τις προηγούμενες διαφορές μεταξύ του ετερόλογου και ομόλογου εμβολιασμού [30].

17.Γραμμή παραγωγής εμβολίων COVID-19

Η παραδοσιακή γραμμή παραγωγής εμβολίων περιλαμβάνει προκλινικό έλεγχο σε ποντίκια και πρωτεύοντα πλην του ανθρώπου, ακολουθούμενο από έλεγχο σε ανθρώπους σε κλινικές δοκιμές φάσης 1,2,3 που συνήθως απαιτεί αρκετά χρόνια, μερικές φορές μέχρι και 15 χρόνια και κοστίζει αρκετές εκατοντάδες εκατομμύρια δολάρια ανά εμβόλιο [5]. Όπως γίνεται κατανοητό αυτή η παραδοσιακή γραμμή παραγωγής δεν μπορεί να υποστηριχτεί όταν πρέπει να εκτιμηθεί μια πληθώρα υποψηφίων εμβολίων για την κάλυψη των επειγουσών αναγκών που θέτει η πανδημία και πρέπει να τροποποιηθεί. Έτσι, υπήρξαν νεότερες εξελίξεις στην εμβολιολογία που παρείχαν μια στρατηγική αναγνώρισης της αποτελεσματικότητας των εμβολίων, για τον έλεγχο πολλών COVID-19 υποψηφίων εμβολίων πριν προαχθούν στις μεγαλύτερες δοκιμές φάσης 2 και φάσης 3 [5].

Η κυβέρνηση των Ηνωμένων Πολιτειών ξεκίνησε ένα έργο, τύπου «Πρόγραμμα Μανχάταν», με την ονομασία Operation Warp Speed (OWS), με στόχο την παροχή 300 εκατομμυρίων δόσεων ενός ασφαλούς και αποτελεσματικού εμβολίου κατά της COVID-19 έως τον Ιανουάριο του 2021, ως μέρος μιας ευρύτερης στρατηγικής για την επιτάχυνση της ανάπτυξης, κατασκευής και διανομής των COVID-19 εμβολίων και άλλων αντίμετρων, όπως θεραπευτικά και διαγνωστικά μέσα [5]. Στο OWS, που ήταν μια συνεργασία μεταξύ του Υπουργείου Υγείας και Ανθρωπίνων Υπηρεσιών των ΗΠΑ και του Υπουργείου Άμυνας, έγινε μια προσπάθεια επιλογής και υποστήριξης πολλών υποψηφίων εμβολίων έναντι της COVID-19, προκειμένου να κινητοποιηθεί και να επιταχυνθεί η ανάπτυξη των εμβολίων, που τελικά προχώρησε με ρυθμό που δεν είχε προηγούμενο στην ιστορία των εμβολίων [5],[31]. Για παράδειγμα, στις 13 Ιανουαρίου 2020, δύο ημέρες αφότου οι Κινεζικές αρχές κοινοποίησαν τη γονιδιωματική αλληλουχία του ιού, επιστήμονες στη Moderna και το NIH οριστικοποίησαν την αλληλουχία για το εμβόλιο mRNA1273 και στις 16 Μαρτίου 2020 το NIH ανακοίνωσε ότι το πρώτο άτομο σε κλινική δοκιμή φάσης 1 είχε λάβει το εμβόλιο. Έτσι, χρειάστηκαν μόλις 63 ημέρες από την επιλογή της ακολουθίας, έως την κλινική δοκιμή φάσης 1. Από τις 20 Σεπτεμβρίου 2020, η κλινική δοκιμή φάσης 3 του εμβολίου mRNA1273, καθώς και άλλων οκτώ υποψηφίων εμβολίων βρισκόταν σε εξέλιξη. Η ταχεία πρόοδος από την ιδέα, στη φάση 3 των δοκιμών και η αδειοδότηση μέσα σε λίγους μήνες, ήταν άνευ προηγουμένου στην ιστορία των εμβολίων. Τι κατέστησε δυνατή την ανάπτυξη εμβολίων με τόσο γρήγορη ταχύτητα; Ένας σημαντικός παράγοντας ήταν οι νέες τεχνολογίες. Για παράδειγμα, η τεχνολογία mRNA διευκόλυνε τον γρήγορο σχεδιασμό και την σύνθεση του υποψήφιου εμβολίου, αμέσως μετά τη γνώση της γονιδιωματικής αλληλουχίας του ιού. Ωστόσο, ένας επιπλέον σημαντικός παράγοντας ήταν ότι η ομοσπονδιακή συνεργασία OWS, αλλά και οι εταιρείες κατασκευής εμβολίων, ήταν πρόθυμες να αναλάβουν το οικονομικό ρίσκο ξεκινώντας την κατασκευή των υποψηφίων εμβολίων σε βιομηχανική κλίμακα, ακόμη και πριν τα αποτελέσματα αποτελεσματικότητας και ασφάλειας των κλινικών δοκιμών φάσης 3 γίνουν γνωστά [5]. Πιο συγκεκριμένα, στο πλαίσιο της επιτάχυνσης της διαδικασίας, οι εταιρείες έκαναν παράλληλες ενέργειες όπως την έναρξη της παραγωγής των εμβολιών κατά την διάρκεια των κλινικών δοκιμών ή την ταυτόχρονη εκτέλεση διαφορετικών φάσεων κλινικών δοκιμών. Επίσης, ορισμένες εταιρείες εμβολίων βασίστηκαν σε δεδομένα από άλλα εμβόλια που χρησιμοποιούσαν την ίδια πλατφόρμα τεχνολογίας, όπου ήταν διαθέσιμα, ή διεξήγαγαν ορισμένες μελέτες σε ζώα ταυτόχρονα με τις κλινικές δοκιμές [31]. Επίσης, Ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός Φαρμάκων άρχισε να εξετάζει τα δεδομένα που προέκυπταν από τις κλινικές δοκιμές ακόμη και πριν οι εταιρείες του ζητήσουν να εγκρίνει ένα εμβόλιο [32]. Ωστόσο, όπως γίνεται σε ένα μη πανδημικό περιβάλλον, όλες οι εταιρείες εμβολίων συγκέντρωσαν αρχικά δεδομένα ασφάλειας και απόκρισης αντισωμάτων με μικρό αριθμό συμμετεχόντων πριν προχωρήσουν σε μεγάλης κλίμακας μελέτες σε ανθρώπους (π.χ. κλινικές δοκιμές φάσης 3). Σε γενικές γραμμές πάντως στην ανάπτυξη των εμβολίων έναντι της COVID-19 ακολουθήθηκαν οι παραδοσιακές πρακτικές, με ορισμένες προσαρμογές. Η FDA επίσης εξέδωσε συγκεκριμένες οδηγίες με τρόπους με τους οποίους η ανάπτυξη των εμβολίων μπορεί να επιταχυνθεί κατά τη διάρκεια της πανδημίας. Τα υποψήφια εμβόλια που είχαν επιλεγεί και υποστηρίζονταν από την Operation Warp Speed μέχρι τον Ιανουάριο 2021 ήταν τα m-RNA εμβόλια Moderna και Pfizer/BioNTech, τα μη αντιγραφούμενου ιικού φορέα Janssen και AstraZeneca και τα ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης Sanofi/GSK και Novavax. Από τις 30 Ιανουαρίου 2021, πέντε από τα έξι υποψήφια αυτά εμβόλια OWS είχαν εισέλθει σε κλινικές δοκιμές φάσης 3, δύο από τα οποία—τα εμβόλια της Moderna και Pfizer/BioNTech—έλαβαν άδεια χρήσης έκτακτης ανάγκης (EUA) από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA). Για τα εμβόλια που έλαβαν EUA, θα δημιουργηθούν πρόσθετα δεδομένα σχετικά με την αποτελεσματικότητα του

εμβολίου από την περαιτέρω παρακολούθηση των συμμετεχόντων σε κλινικές δοκιμές που είχαν ήδη ξεκινήσει πριν από την έκδοση του EUA [31].
Η ταχύτητα παραγωγής εμβολίων για την αντιμετώπιση της πανδημίας COVID-19 ξεπέρασε κατά πολύ όχι μόνο την παραδοσιακή γραμμή παραγωγής, η οποία χρειάζεται περισσότερα από 10 χρόνια, αλλά και το επιταχυνόμενο χρονικό διάστημα των 5 έτων για την παραγωγή του πρώτου εμβολίου για τον Έμπολα [10].

18.Τα εμβόλια κατά της COVID-19 στην Ευρώπη

Κάθε κατασκευαστής εμβολίου που επιθυμεί να διαθέσει ένα εμβόλιο στην αγορά της ΕΕ, θα πρέπει πρώτα να ζητήσει άδεια κυκλοφορίας για το εμβόλιο. Το αίτημα υποβάλλεται στον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (EMA), ο οποίος αξιολογεί την ασφάλεια, την αποτελεσματικότητα και την ποιότητα του εμβολίου. Εάν ο EMA δώσει θετική σύσταση, η Επιτροπή μπορεί να προχωρήσει στην έγκριση του εμβολίου στην αγορά της ΕΕ.

Ωστόσο, για την αντιμετώπιση απειλών κατά της δημόσιας υγείας, όπως ήταν η πανδημία COVID-19, η ΕΕ διαθέτει μια διαδικασία για την όσο το δυνατόν πιο άμεση διάθεση φαρμάκων, την υπό όρους άδεια κυκλοφορίας (CMA), που έχει σχεδιαστεί ειδικά για να επιτρέπει τις άδειες κυκλοφορίας το συντομότερο δυνατό, μόλις καταστούν διαθέσιμα επαρκή δεδομένα. Για την αξιολόγησή, ο EMA θα αναλάβει μια ανεξάρτητη, ενδελεχή και εμπεριστατωμένη αξιολόγηση όλων των στοιχείων που έχει υποβάλει ο κατασκευαστής του εμβολίου. Η διαδικασία περιλαμβάνει πολλούς ελέγχους και βασίζεται σε ένα σύστημα αξιολογήσεων από ομοτίμους με τη συμμετοχή πολλών εμπειρογνωμόνων με τελευταίο στάδιο την Επιτροπή Φαρμάκων για Ανθρώπινη Χρήση του EMA (με μέλη από όλα τα κράτη μέλη) η οποία εκδίδει τελικά τη σύσταση. Μια θετική σύσταση θα προκύψει μόνο όταν τα στοιχεία δείχνουν ότι τα οφέλη του εμβολιασμού είναι μεγαλύτερα από τυχόν κινδύνους από την χρήση του εμβολίου. Η Ευρωπαϊκή Επιτροπή είναι νομικά υπεύθυνη για την άδεια κυκλοφορίας. Έτσι, μετά την θετική σύσταση της Επιτροπής Φαρμάκων για Ανθρώπινη Χρήση (CHMP) του EMA, η Επιτροπή θα επαληθεύσει την ορθότητα όλων των στοιχείων που υποστηρίζουν την άδεια κυκλοφορίας. Πριν λάβει την απόφαση της, η Επιτροπή συμβουλεύεται τα κράτη μέλη που είναι υπεύθυνα για την εμπορία και τη χρήση του προϊόντος στις χώρες τους. Στην περίπτωση ειδικής πλειοψηφίας των κρατών μελών υπέρ της έγκρισης, η Επιτροπή μπορεί να προχωρήσει στην έκδοση της απόφασης της για την αδειοδότηση της κυκλοφορίας του εμβολίου στην αγορά. Ως αποτέλεσμα, το εμβόλιο μπορεί να διατεθείστην αγορά παντού στην ΕΕ και οι υπεύθυνοι ανάπτυξης εμβολίων δεν χρειάζεται να ζητήσουν περαιτέρω εξουσιοδοτήσεις από τα διάφορα κράτη μέλη της

ΕΕ. Λόγω της επείγουσας ανάγκης της πανδημίας COVID-19, ο ΕΜΑ έχει θέσει σε εφαρμογή διαδικασίες ταχείας επανεξέτασης για την αξιολόγηση των αιτήσεων στο συντομότερο δυνατό χρονικό διάστημα, διασφαλίζοντας ταυτόχρονα ισχυρές επιστημονικές γνωμοδοτήσεις. Το κλειδί για την επιτάχυνση της διαδικασίας είναι οι κυλιόμενες αξιολογήσεις (rolling reviews), επιτρέποντας στον ΕΜΑ να αξιολογεί δεδομένα για πολλά ελπιδοφόρα φάρμακα ή εμβόλια καθώς γίνονται διαθέσιμα αντί να περιμένει μέχρι να ολοκληρωθούν όλες οι δοκιμές για να ξεκινήσει τις εργασίες του. Μέσω αυτών των κυλιόμενων αξιολογήσεων, ο ΕΜΑ μπορεί να ξεκινήσει την αξιολόγηση των δεδομένων όσο η ανάπτυξη είναι ακόμη σε εξέλιξη και προτού ο κατασκευαστής του εμβολίου υποβάλει αίτημα για άδεια κυκλοφορίας. Κατά την κυλιόμενη αξιολόγηση εξετάζονται δεδομένα σχετικά με την ποιότητα του εμβολίου καθώς και αποτελέσματα από εργαστηριακές μελέτες. Ο ΕΜΑ εξετάζει επίσης τα αποτελέσματα σχετικά με την αποτελεσματικότητα του εμβολίου και τα αρχικά δεδομένα ασφάλειας που προκύπτουν από μεγάλης κλίμακας κλινικές δοκιμές μόλις αυτά γίνονται διαθέσιμα. Κατ' αυτόν τον τρόπο μειώνεται σημαντικά ο συνήθης χρόνος για την αξιολόγηση, ενώ παράλληλα διαφυλάσσονται οι αρχές της ποιότητας, της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητας.

Σε αυτό το πλαίσιο μια ειδική ομάδα εμπειρογνωμόνων, η «ειδική ομάδα του ΕΜΑ για την πανδημία COVID-19» συστάθηκε για την ανάπτυξη, την αδειοδότηση και την παρακολούθηση της ασφάλειας των εμβολίων κατά της COVID-19 και είναι υπεύθυνη για τη διεξοδική αξιολόγηση των επιστημονικών δεδομένων. Ως εκ τούτου, όταν θα ζητηθεί η χορήγηση άδειας κυκλοφορίας, η επίσημη αξιολόγηση μπορεί να προχωρήσει πολύ πιο γρήγορα, καθώς τα δεδομένα έχουν ήδη ελεγχθεί ενδελεχώς κατά την κυλιόμενης αξιολόγησης. Επιπλέον, ο ΕΜΑ αξιολογεί τα δεδομένα με σκοπό την έκδοση Άδειας Κυκλοφορίας υπό όρους (CMA).

Μια τέτοια εξουσιοδότηση διασφαλίζει ότι αποδεικνύεται η ασφάλεια, η αποτελεσματικότητα και η ποιότητα του εμβολίου και ότι τα οφέλη του εμβολίου υπερτερούν των κινδύνων του, ενώ ταυτόχρονα επιτρέπει στους κατασκευαστές εμβολίων να υποβάλλουν πρόσθετα δεδομένα και μετά την άδεια κυκλοφορίας (σε αντίθεση με την κανονική άδεια κυκλοφορίας όπου όλα τα δεδομένα υποβάλλονται πριν από τη χορήγηση της άδειας).

Από την άλλη μεριά η Άδεια Χρήσης Έκτακτης Ανάγκης (EUA) επιτρέπει την προσωρινή χρήση ενός φαρμάκου υπό συγκεκριμένες συνθήκες, εφόσον ισχύουν περιστάσεις έκτακτης ανάγκης. Ωστόσο, το φάρμακο παραμένει χωρίς άδεια και δεν μπορεί να διατεθεί στην αγορά, σε αντίθεση με μια υπό όρους άδεια κυκλοφορίας. Ενώ οι άδειες χρήσης έκτακτης ανάγκης επιτρέπονται βάσει της φαρμακευτικής νομοθεσίας της ΕΕ, η χρήση εμβολίου για το οποίο ένα κράτος μέλος έχει εκδώσει τέτοια άδεια περιορίζεται μόνο στο συγκεκριμένο κράτος μέλος [32].

Έτσι, η Ευρωπαϊκή Επιτροπή κατόπιν θετικής σύστασης του Ευρωπαϊκού Οργανισμού Φαρμάκων, έχει χορηγήσει την υπό όρους άδεια κυκλοφορίας, για έξι εμβόλια κατά της COVID-19:

- ***Το BioNTech/Pfizer, στις 21 Δεκεμβρίου 2020***
- ***Το Moderna, στις 6 Ιανουαρίου 2021***
- ***Το AstraZeneca, στις 29 Ιανουαρίου 2021***
- ***Το Janssen (Johnson & Johnson), 11 Μαρτίου 2021***
- ***Το Novavax, στις 20 Δεκεμβρίου 2021 και για***
- ***Το Valneva, στις 24 Ιουνίου 2022***

Επίσης τρία εμβόλια κατά της COVID-19 αποτελούν αντικείμενο κυλιόμενης αξιολόγησης από τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (EMA). Αυτά είναι:

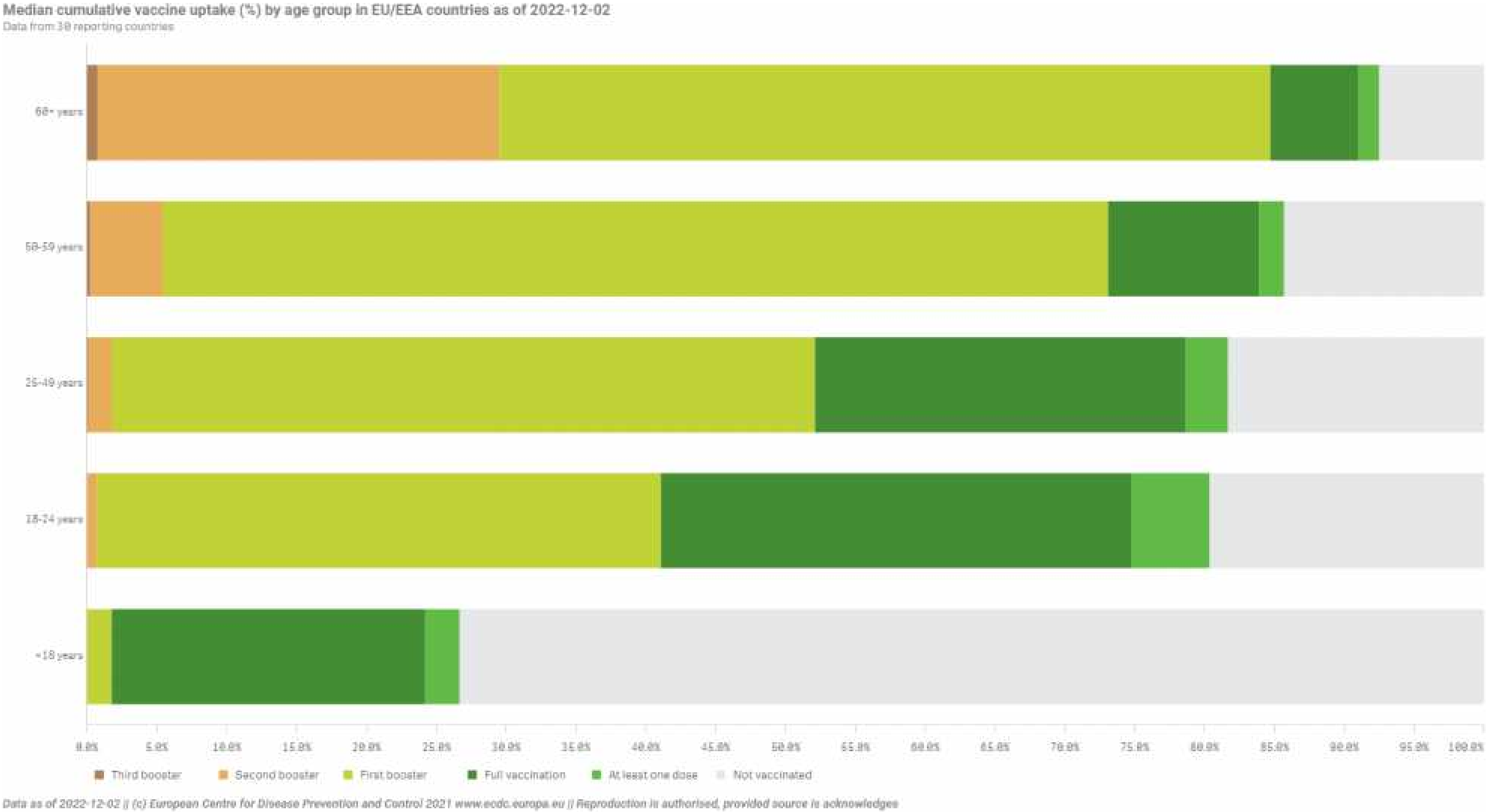
- ***το εμβόλιο ιικού φορέα Gamaleya Institute, Sputnik V***
- ***το εμβόλιο αδρανοποιημένου ιού Sinovac Life Sciences Co., Ltd και***
- ***το πρωτεϊνικό εμβόλιο, HIPRA [32].***

19.Εμβολιασμός στην Ευρώπη

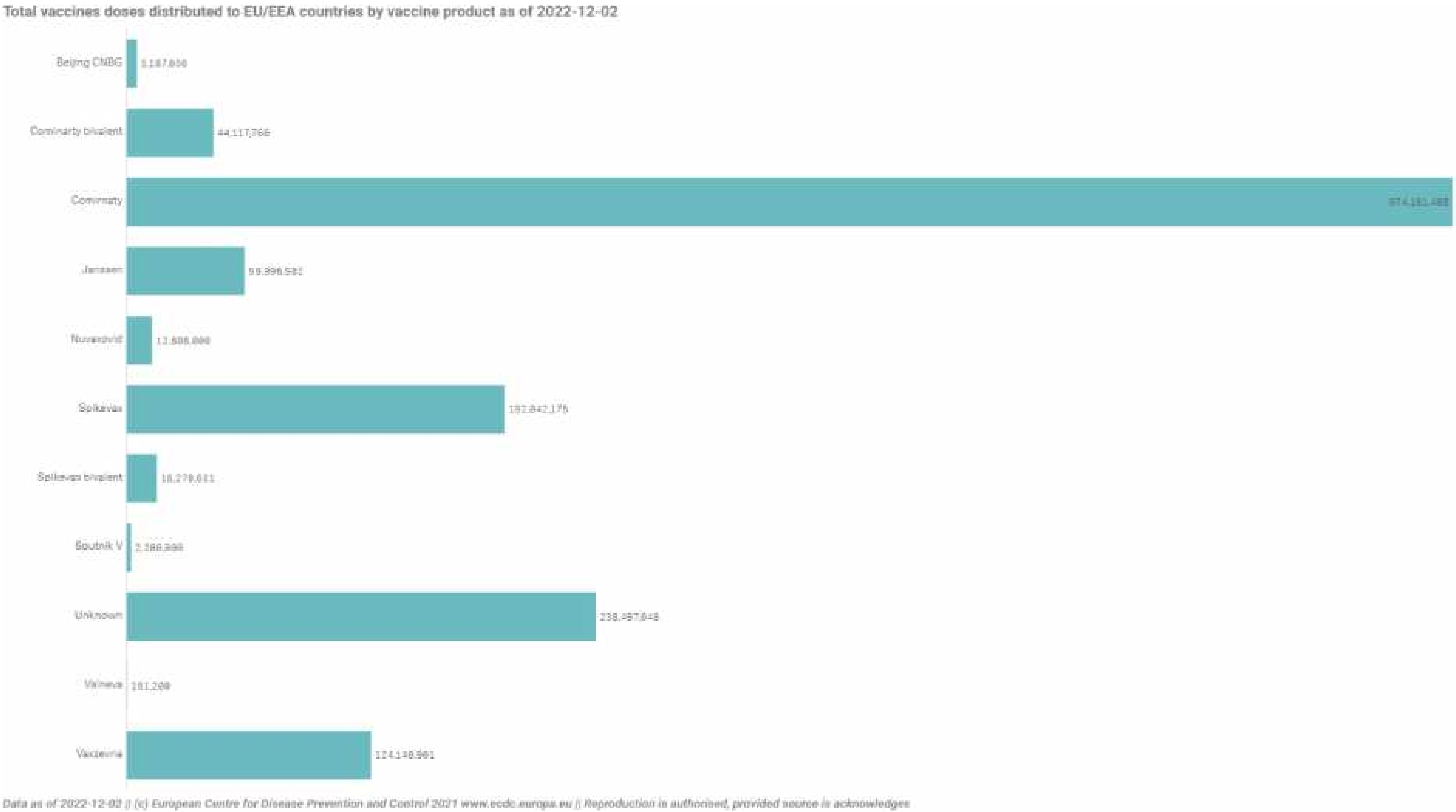
Η Ευρωπαϊκή Επιτροπή έχει εξασφαλίσει έως και 4,2 δισεκατομμύρια δόσεις εμβολίων κατά της COVID-19 μέχρι στιγμής και βρίσκονται σε εξέλιξη διαπραγματεύσεις για πρόσθετες δόσεις. Οι παραδόσεις εμβολίων στις χώρες της ΕΕ αυξάνονται σταθερά και ο εμβολιασμός επιταχύνεται. Η Επιτροπή συνεργάζεται επίσης με τη βιομηχανία για την ενίσχυση της ικανότητας παραγωγής εμβολίων [43]. Ο εμβολιασμός στην Ευρωπαϊκή Ένωση ξεκίνησε στις 27 Δεκεμβρίου 2020 και έως τον Οκτώβριο 2021 είχε εμβολιαστεί πλήρως το 75% των ενηλίκων της ΕΕ, έως τον Φεβρουάριο του 2022 το 80%, ενώ έως τον Ιούνιο του 2022 είχε εμβολιαστεί πλήρως το 86% του ενήλικου πληθυσμού της ΕΕ. Βασικός πυλώνας της στρατηγικής της ΕΕ για τα εμβόλια είναι η ταυτόχρονη πρόσβαση όλων των κρατών μελών σε όλα τα εμβόλια που εγκρίνει ο Ευρωπαΐκός Οργανισμός Φαρμάκων για χρήση στην ΕΕ. Κριτήριο του αριθμού των δόσεων των εμβολίων που θα διανεμηθούν στις χώρες της ΕΕ είναι το μέγεθος του πληθυσμού αυτών [44]. Σύμφωνα με τα στατιστικά δεδομένα εμβολιασμού κατά της COVID-19 του Ευρωπαϊκού Κέντρου Πρόληψης και Ελέγχου νοσημάτων έως τις 2/12/2022 το 72,9% του συνολικού πληθυσμού των EU/EEA χωρών έχει εμβολιαστεί πλήρως, σύμφωνα με το επίσημο εμβολιαστικό σχήμα κάθε προϊόντος εμβολίου (π.χ. 2 δόσεις για εμβόλιο 2 δόσεων καθώς και 1 δόση για εμβόλιο 1 δόσης, όπως είναι το Janssen). Το ποσοστό είναι λίγο υψηλότερο (75,3%) για το σύνολο του πληθυσμού που έχει λάβει τουλάχιστον 1 δόση εμβολίου οποιουδήποτε προϊόντος εμβολίου. Όσον αφορά τους εμβολιασμούς αναμνηστικής δόσης τα ποσοστά του συνολικού πληθυσμού που έχουν λάβει την 1^{η}, 2^{η} και 3^{η} αναμνηστική δόση είναι 54,4%, 11,8% και 0,9% αντίστοιχα. Τα αντίστοιχα ποσοστά εμβολιασμού ανά ηλικιακή ομάδα παρουσιάζονται στην Εικόνα 4. Όπως μπορούμε να παρατηρήσουμε το μεγαλύτερο ποσοστό ολοκληρωμένων εμβολιασμών του συνολικού πληθυσμού των EU/EEA χωρών παρατηρείται στην ηλικιακή ομάδα >60 ετών (91%) με το ποσοστό να φθίνει προς τις μικρότερες ηλικακές ομάδες. Πιο συγκεκριμένα, το ποσοστό ολοκληρωμένων εμβολιασμών είναι 83,6% για την ηλικιακή ομάδα 50-59 ετών, 78,6% για τις ηλικίες 25-49 ετών, 74,8% για τις ηλικίες 18-24 ετών και 24,4% για τις ηλικίες <18 ετών. Επίσης μπορούμε να παρατηρήσουμε μεγαλύτερα ποσοστά εμβολιασμού με την 1^{η} αναμνηστική δόση, με ποσοστό 84,3% για την ηλικιακή ομάδα >60 ετών, 72,3% για την ηλικιακή ομάδα 50-59 ετών και 51,7% για τα άτομα ηλικίας 25-49 ετών. Τα ποσοστά όμως εμβολιασμού για τις μεταγενέστερες αναμνηστικές δόσεις παρατηρούνται πολύ χαμηλά με μόνη ίσως εξαίρεση το ποσοστό 26% της ηλικιακής ομάδας >60 ετών που επέλεξε να κάνει και την 2^{η} αναμνηστική δόση εμβολίου. Τα ποσοστά ολοκληρωμένων εμβολιασμών στην Ελλάδα ανά ηλικιακή ομάδα ταιριάζουν απόλυτα με τα αντίστοιχα του συνολικού πληθυσμού των EU/EEA χωρών. Πιο συγκεκριμένα, στην Ελλάδα το ποσοστό ολοκληρωμένων εμβολιασμών στις ηλικιακές ομάδες >60 ετών, 50-59 ετών, 25-49 ετών, 18-24 ετών και <18 ετών είναι 89,7%, 83%, 78,2%, 72,6% και 24% αντίστοιχα. Ποσοστό 100% ολοκληρωμένων εμβολιασμών για την ηλικιακή ομάδα >60 ετών παρατηρείται στην Ισλανδία και την Ιρλανδία, ενώ η Δανία ακολουθεί με ποσοστό 99,5% και η Πορτογαλία με 99%. Το μεγαλύτερο ποσοστό ολοκληρωμένων εμβολιασμών (96,9%) παρουσιάζει η Ιρλανδία και για την ηλικιακή ομάδα 50-59 ετών, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό είναι 94,7% για την Πορτογαλία και 94,3% για την Δανία και την Νορβηγία. Για την ηλικιακή ομάδα 25-49 ετών το υψηλότερο ποσοστό ολοκληρωμένων εμβολιασμών κατέχει η Μάλτα (93%), ενώ ακολουθεί η Πορτογαλία (91,1%), η Ιρλανδία (90%) και η Γαλλία (88,9%) [45].

Ο μεγαλύτερος αριθμός δόσεων που έχουν διανεμηθεί συνολικά στις EU/EEA χώρες έως τις 2/12/2022 είναι του εμβολίου Comirnaty (674.181.408 δόσεις) (Εικόνα 5). Στην Ελλάδα ο αριθμός δόσεων του εμβολίου Comirnaty που έχουν διανεμηθεί έως τις 2/12/2022 είναι 19.834,260. Ακολουθούν το εμβόλιο vaxzevria με 4.035.800 δόσεις, το Janssen με 2.401.800 δόσεις, το spikevax με 1.767.600 δόσεις και το Nuvaxovid με 396.000 δόσεις [45].

Η ανάπτυξη και διανομή αποτελεσματικού και ασφαλούς εμβολίου κατά της COVID-19 αποτέλεσε τον ακρογωνιαίο λίθο της αντίδρασης της ΕΕ στην πανδημία COVID-19 [44].



Εικόνα 4 Ποσοστά εμβολιασμού ανά ηλικιακή ομάδα στις EU/EEA χώρες έως τις 2/12/2022 [45]



Εικονα 5 Συνολικός αριθμός δόσεων εμβολίου που διανεμήθηκαν στις EU/EEA χώρες ανά σκεύασμα εμβολίου έως τις 2/12/2022 [45]

20.Περίληψη

ΣΚΟΠΟΣ:

Η αξιολόγηση της αντισωματικής απάντησης που επάγεται μετά τον εμβολιασμό στον πληθυσμό με τις διαφορετικές τεχνολογίες εμβολίων COVID-19 έναντι του SARS-COV-2, καθώς και η διάρκεια της ανοσίας.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ:

Η παρούσα εργασία ήταν μια συστηματική ανασκόπηση και βασίζεται στην μελέτη σύγχρονης επιστημονικής αρθρογραφίας και έρευνας. Πραγματοποιήθηκαν αναζητήσεις στις μηχανές αναζήτησης PubMed και Medline την περίοδο Μαίου-Οκτωβρίου 2022. Η αναζήτηση συμπεριλάμβανε συνδυασμό των διάφορων όρων (λέξεις κλειδιά) καθώς και συνδυασμός των όρων αυτών στην ελληνική και αγγλική γλώσσα, ώστε να αναγνωριστούν και να εμφανιστούν άρθρα που θα πλησίαζαν όσο το δυνατό περισσότερο το θέμα της έρευνας.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:

Προέκυψαν 125 άρθρα. 50 από αυτά κρίθηκαν ως επιλέξιμες πηγές από τον τίτλο και την περίληψη που παρουσιάζονταν για την άντληση γενικών πληροφοριών ενώ 40 από αυτά επιλέχθηκαν για να συμπεριληφθούν στην βιβλιογραφική ανασκόπηση.

Κάθε πλατφόρμα τεχνολογίας έχει τα δικά της πλεονεκτήματα και προκλήσεις που σχετίζονται με την ικανότητά της να προκαλεί ισχυρές ανοσοαποκρίσεις, την παραγωγική ικανότητα και την ασφάλεια για κλινική χρήση. Στο πλαίσιο της αντιμετώπισης της πανδημίας COVID-19, όλοι οι τύποι πλατφορμών τεχνολογίας για την ανάπτυξη εμβολίων αξιολογήθηκαν, αυξάνοντας έτσι τις πιθανότητες τουλάχιστον μερικά από τα υποψήφια εμβόλια να εγκριθούν και να διατεθούν στην αγορά.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ:

Ο εμβολιασμός έναντι του SARS-COV-2 υπήρξε καθοριστικός για την μείωση θανάτων κατά τις διάφορες φάσεις της πανδημίας και συνέβαλε στην προάσπιση της δημόσιας υγείας. Αν και απαιτούνται τουλάχιστον 1-2 χρόνια για να διατεθούν αποτελεσματικά εμβόλια παγκοσμίως, ο εμβολιασμός μπορεί να εξακολουθεί να είναι η πιο γρήγορη και οικονομική στρατηγική για την επίτευξη ευρείας ανοσολογικής προστασίας.

21.Abstract

Aim:

The evaluation of the antibody response induced after vaccination in the population with a plenty of variant COVID-19 vaccine technologies against SARS-COV-2, and the duration of immunity.

Methods:

The present study was a literature review of the current scientific research evidence. Online searches were carried out in the PubMed and Medline search engines, in May- Ocober 2022. The search included various terms (keywords) and a combination of these terms in Greek and English to identify and display articles which would be as close as possible to the research subject.

Results:

125 articles were found. 50 of these were judged as eligible sources from the title and abstract presented to extract general information while 40 of them were selected for inclusion in the literature review. Each technology platform has its own advantages and challenges related to its ability to elicit robust immune responses, productivity, and safety for clinical use. In the context of the response to the COVID-19 pandemic, all types of technology platforms for vaccine development have been evaluated, thereby increasing the chances that at least some of the vaccine candidates will be approved and brought to market.

Conclusion:

Vaccination against SARS-COV-2 has been fundamental in reducing deaths during the various phases of the pandemic and contributed to the defense of public health. Although at least 1–2 years are required for effective vaccines to be available worldwide, vaccination may still be the fastest and most cost-effective strategy to achieve broad immune protection.

Βιβλιογραφία

[1] Καρακάση- Γαρδούνη και συν, 2003

[2] Frederiksen LSF, Zhang Y, Foged C and Thakur A (2020) The Long Road Toward COVID-19 Herd Immunity: Vaccine Platform Technologies and Mass Immunization Strategies. Front. Immunol. 11:1817.doi: 10.3389/fimmu.2020.01817

[3] Yan Y, Shin WI, Pang YX, Meng Y, Lai J, You C, Zhao H, Lester E, Wu T, Pang CH. The First 75 Days of Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) Outbreak: Recent Advances, Prevention, and Treatment. Int J Environ Res Public Health. 2020 Mar 30;17(7):2323. doi: 10.3390/ijerph17072323. PMID: 32235575; PMCID: PMC7177691.

[4] Speiser DE, Bachmann MF. COVID-19: Mechanisms of Vaccination and Immunity. Vaccines (Basel). 2020 Jul 22;8(3):404. doi: 10.3390/vaccines8030404. PMID: 32707833; PMCID: PMC7564472.

[5] Grigoryan L, Pulendran B. The immunology of SARS-CoV-2 infections and vaccines. Semin Immunol. 2020 Aug;50:101422. doi: 10.1016/j.smim.2020.101422. Epub 2020 Nov 17. PMID: 33262067; PMCID: PMC7670910.

[6] Τζένη Κουρέα – Κρεμαστινού (2007). ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ Θεωρία – Πράξη – Πολιτικές. Αθήνα

[7] https://www.consilium.europa.eu/el/policies/coronavirus/covid-19-research-and-vaccines/

[8] Alagheband Bahrami A, Azargoonjahromi A, Sadraei S, Aarabi A, Payandeh Z, Rajabibazl M. An overview of current drugs and prophylactic vaccines for coronavirus disease 2019 (COVID-19). Cell Mol Biol Lett. 2022 May 13;27(1):38. doi: 10.1186/s11658-022-00339-3. PMID: 35562685; PMCID: PMC9100302.

[9] Ελληνική Νεφρολογία 2020; 32 (3): 175 – 189 Πρωτότυπη εργασία Σύστημα ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης και Covid-19 Ν.Δ. Παπαγαλάνης, Κ.Χ. Σιαμόπουλος

[10] Shafaati M, Saidijam M, Soleimani M, Hazrati F, Mirzaei R, Amirheidari B, Tanzadehpanah H, Karampoor S, Kazemi S, Yavari B, Mahaki H, Safaei M, Rahbarizadeh F, Samadi P, Ahmadyousefi Y. A brief review on DNA vaccines in the era of COVID-19. Future Virol. 2021 Nov:10.2217/fvl-2021-0170. doi: 10.2217/fvl-2021-0170. Epub 2021 Nov 26. PMID: 34858516; PMCID: PMC8629371.

[11] 2021 Apr 6;325(13):1318-1320. doi: 10.1001/jama.2021.3199. SARS-CoV-2 Vaccines C Buddy Creech, Shannon C Walker, Robert J Samuels

[12] Published online 2020 Jun 6.doi: 10.1016/j.cell.2020.06.008 PMCID: PMC7275151 PMID: 32778225 Development of an Inactivated Vaccine Candidate, BBIBP-CorV, with Potent Protection against SARS-CoV-2 . Hui Wang, Yuntao Zhang, Baoying Huang, Wei Deng, Yaru Quan, Wenling Wang, Wenbo Xu, Yuxiu Zhao, Na Li, Jin Zhang, Hongyang Liang, Linlin Bao, Yanfeng Xu, Ling Ding, Weimin Zhou, Hong Gao, Jiangning Liu, Peihua Niu, Li Zhao, Wei Zhen, Hui Fu, Shouzhi Yu, Zhengli Zhang, Guangxue Xu, Changgui Li, Zhiyong Lou, Miao Xu, Chuan Qin, Guizhen Wu, George Fu Gao, Wenjie Tan, and Xiaoming Yang

[13] Pecetta S, Pizza M, Sala C, Andreano E, Pileri P, Troisi M, Pantano E, Manganaro N, Rappuoli R. Antibodies, epicenter of SARS-CoV-2 immunology. Cell Death Differ. 2021 Feb;28(2):821-824. doi: 10.1038/s41418-020-00711-w. Epub 2021 Jan 26. PMID: 33500559; PMCID: PMC7835663.

[14] https://www.stemirna.com/en/rd/index.aspx

[15] Ευρωπαϊκός οργανισμός φαρμάκων-Spikevax

[16] Ευρωπαϊκός οργανισμός φαρμάκων - Onpattro

[17] Ευρωπαϊκός οργανισμός φαρμάκων – comirnaty_pfizer

[18] Lamb YN. BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine: First Approval. Drugs. 2021 Mar;81(4):495-501. doi: 10.1007/s40265-021-01480-7. PMID: 33683637; PMCID: PMC7938284.

[19] https://www.anges.co.jp/en/

[20] Ευρωπαϊκός οργανισμός φαρμάκων-novavax

[21] Ευρωπαϊκός οργανισμός φαρμάκων-jcovden_janssen

[22] Ευρωπαϊκός οργανισμός φαρμάκων-vaxzevria_astrazeneca

[23] Ragan, I.K; Hartson, L.M; Dutt, T.S; Obregon-Henao, A.; Maison, R.M; Gordy, P.; Fox, A.; Karger, B.R; Cross, S.T; Kapuscinski, M.L; et al. A Whole Virion Vaccine for COVID-19 Produced via a Novel Inactivation Method and Preliminary Demonstration of Efficacy in an Animal Challenge Model. Vaccines 2021, 9, 340. https://doi.org/ 10.3390/vaccines9040340

[24] Andryukov BG, Besednova NN. Older adults: panoramic view on the COVID-19 vaccination. AIMS Public Health. 2021 May 8;8(3):388-415. doi: 10.3934/publichealth.2021030. PMID: 34395690; PMCID: PMC8334630.

[25] Ευρωπαϊκός οργανισμός φαρμάκων-valneva

[26] Groenke N, Trimpert J, Merz S, Conradie AM, Wyler E, Zhang H, Hazapis OG, Rausch S, Landthaler M, Osterrieder N, Kunec D. Mechanism of Virus Attenuation by Codon Pair Deoptimization. Cell Rep. 2020 Apr 28;31(4):107586. doi: 10.1016/j.celrep.2020.107586. PMID: 32348767.

[27] https://codagenix.com/

[28] Bajema KL, Dahl RM, Evener SL, Prill MM, Rodriguez-Barradas MC, Marconi VC, Beenhouwer DO, Holodniy M, Lucero-Obusan C, Brown ST, Tremarelli M, Epperson M, Mills L, Park SH, Rivera-Dominguez G, Morones RG, Ahmadi-Izadi G, Deovic R, Mendoza C, Jeong C, Schrag SJ, Meites E, Hall AJ, Kobayashi M, McMorrow M, Verani JR, Thornburg NJ, Surie D; SUPERNOVA COVID-19; Surveillance Group; Surveillance Platform for Enteric and Respiratory Infectious Organisms at the VA (SUPERNOVA) COVID-19 Surveillance Group. Comparative Effectiveness and Antibody Responses to Moderna and Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccines among Hospitalized Veterans - Five Veterans Affairs Medical Centers, United States, February 1-September 30, 2021. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2021 Dec 10;70(49):1700-1705. doi: 10.15585/mmwr.mm7049a2. PMID: 34882654; PMCID: PMC8659185.

[29] Barros-Martins J, Hammerschmidt SI, Cossmann A, Odak I, Stankov MV, Morillas Ramos G, Dopfer-Jablonka A, Heidemann A, Ritter C, Friedrichsen M, Schultze-Florey C, Ravens I, Willenzon S, Bubke A, Ristenpart J, Janssen A, Ssebyatika G, Bernhardt G, Münch J, Hoffmann M, Pöhlmann S, Krey T, Bošnjak B, Förster R, Behrens GMN. Immune responses against SARS-CoV-2 variants after heterologous and homologous ChAdOx1 nCoV-19/BNT162b2 vaccination. Nat Med. 2021 Sep;27(9):1525-1529. doi: 10.1038/s41591-021-01449-9. Epub 2021 Jul 14. PMID: 34262158; PMCID: PMC8440184.

[30] Behrens GMN, Barros-Martins J, Cossmann A, Ramos GM, Stankov MV, Odak I, Dopfer-Jablonka A, Hetzel L, Köhler M, Patzer G, Binz C, Ritter C, Friedrichsen M, Schultze-Florey C, Ravens I, Willenzon S, Bubke A, Ristenpart J, Janssen A, Ssebyatika G, Krähling V, Bernhardt G, Hoffmann M, Pöhlmann S, Krey T, Bošnjak B, Hammerschmidt SI, Förster R. BNT162b2-boosted immune responses six months after heterologous or homologous ChAdOx1nCoV-19/BNT162b2 vaccination against

COVID-19. Nat Commun. 2022 Aug 18;13(1):4872. doi: 10.1038/s41467-022-32527-2. PMID: 35982040; PMCID: PMC9387891.

[31] https://www.gao.gov/products/gao-21-319

[32] https://ec.europa.eu

[33] Signal Transduct Target Ther.2022; 7: 146. Published online 2022 May 3.doi:10.1038/s41392-022-00996-y. PMCID:PMC9062866 PMID:35504917. COVID-19 vaccine development: milestones, lessons and prospects. Maochen Li, Han Wang,Lili Tian, Zehan Pang, Qingkun Yang, Tianqi Huang, Junfen Fan, Lihua Song, Yigang Tong, and Huahao Fan

[34] Liu, Y. et al. Delta spike P681R mutation enhances SARS-CoV-2 fitness over Alpha variant.

[35] Starr TN, et al. Deep mutational scanning of SARS-CoV-2 receptor binding domain reveals constraints on folding and ACE2 binding. Cell. 2020;182:1295–1310.e20. doi:10.1016/j.cell.2020.08.012.

[36] Plante JA, et al. Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. Nature. 2021

[37] Not just antibodies: B cells and T cells mediate immunity to COVID-19. August 2022. Rebecca J. Cox and Karl A. BrokstadMaochen Li,Han Wang,Lili Tian,Zehan Pang,Qingkun Yang,Tianqi Huang,Junfen Fan,Lihua Song,Yigang Tong, and Huahao Fan

[38] SARS-CoV-2 mRNA vaccines induce persistent human germinal centre responses, June 2021.

Jackson S. Turner, Jane A. O'Halloran, Elizaveta Kalaidina, Wooseob Kim, Aaron J. Schmitz, Julian Q. Zhou, Tingting Lei, Mahima Thapa, Rita E. Chen, James Brett Case, Fatima Amanat, Adriana M. Rauseo, Alem Haile, Xuping Xie, Michael K. Klebert, Teresa Suessen, William D. Middleton, Pei-Yong Shi, Florian Krammer, Sharlene A. Teefey, Michael S. Diamond, Rachel M. Presti

[39] Rashedi R, Samieefar N, Masoumi N, Mohseni S, Rezaei N. COVID- 19 vaccines mix- and- match: The concept, the efficacy and the doubts. J Med Virol. 2022;94:1294- 1299. 10.1002/jmv.27463

[40] N Engl J Med. 2021 Apr 6 : NEJMc2103022. PMCID: PMC8063885. PMID: 33822491. Susceptibility of Circulating SARS-CoV-2 Variants to Neutralization. Published online 2021 Apr 6. doi: 10.1056/NEJMc2103022

[41] 2021; 12: 660019. Published online 2021 May 11. doi: 10.3389/fimmu.2021.660019 PMCID: PMC8144450 PMID: 34046033 Infection and Immune Memory: Variables in Robust Protection by Vaccines Against SARS-CoV-2 Pankaj Ahluwalia, Kumar Vaibhav, Meenakshi Ahluwalia, Ashis K. Mondal, Nikhil Sahajpal, Amyn M. Rojiani, and Ravindra Kolhe.

[42] ΓΕΛΑΔΑΣ, ΤΣΑΚΟΠΟΥΛΟΣ 8η έκδοση, 2001

[43] https://ec.europa.eu/info/live-work-travel-eu/coronavirus-response/safe-covid-19-vaccines-europeans_en

[44] https://www.consilium.europa.eu/el/policies/coronavirus/covid-19-research-and-vaccines/

[45] https://vaccinetracker.ecdc.europa.eu/public/extensions/COVID-19/vaccine-tracker.html#age-group-tab