

VACCINI: IERI, OGGI, DOMANI

di Clara Balsano

La vaccinazione deve essere considerata uno dei più grossi successi della medicina. Dalla sua nascita, nel 1796 con Edward Jenner, ai nostri giorni i progressi sono e continuano ad essere stupefacenti. L'applicazione, anche in questo campo, delle nuove tecniche di biologia molecolare ha permesso di guardare con fiducia al futuro, anche se nuove minacce sono sempre in agguato: minacce (come l'uso incongruo degli antibiotici) causate spesso dall'uomo stesso. E' di fondamentale importanza sottolineare che i vaccini, in un futuro molto vicino, verranno utilizzati non solo per la prevenzione ma anche a scopo terapeutico, cosa che allargherà notevolmente lo spettro di interesse legato alla vaccinazione.

In questa rassegna verrà considerata la vaccinazione non solo come esempio di grandi conquiste del passato, ma anche come mezzo per nuove conquiste future.

Uno dei più importanti successi ottenuti, negli ultimi secoli, dalla Medicina è sicuramente la vaccinazione, intesa come prevenzione delle patologie infettive.

La scienza che studia vaccini e la stessa immunologia devono la loro nascita ad Edward Jenner; questo nel 1796 dimostrò, per la prima volta, che era possibile prevenire l'infezione vaiolosa da poxvirus variolae inoculando il pus delle pustole vacciniche dei mandriani nel braccio di un bambino e dal braccio di quest'ultimo a quello di un altro bambino: a questa pratica venne dato per la prima volta il nome di "vaccinazione".

Nel 1971 vi fu un notevole incremento nell'uso dei vaccini, in tutto il mondo, grazie alla creazione dell'"*Expanded Program for Immunization*" da parte del *World Health Organization* (WHO), seguito poi negli anni '90 dal "*Global Program for Vaccines*" (GPV) e dal "*Children's Vaccine Initiative*" (CVI). Per merito di questi programmi ogni anno si salvano più di tre milioni di vite nel mondo.

Lo sviluppo di vaccini ha utilizzato vari tipi di tecnologie che vanno dal vecchio approccio basato sulla modifica dell'agente patogeno, tanto da renderlo innocuo, alle tecniche d'avanguardia basate sulla manipolazione genica; lo scopo di ogni vaccino è quello di indurre una risposta protettiva da parte del sistema immune tale che l'organismo sia in grado di prevenire l'infezione o almeno di limitarne gli effetti patogeni.

Gli enormi risultati ottenuti dallo sviluppo e dall'evoluzione dei vaccini nel ventesimo secolo è dimostrata dai benefici sia economici che sociali ottenuti nel mondo intero; infatti attualmente nelle nazioni ad alto sviluppo, grazie ai vaccini, alcune malattie come il morbillo, la parotite epidemica e la rosolia sono diventate patologie poco diffuse e di scarso significato, e daranno sicuramente lo stesso contributo anche il vaccino per la varicella e l'*Haemophilus influenzae* tipo b che, se pur di rado, nel secondo semestre di vita, può essere causa di endocarditi e meningiti.

Esiste già un'enorme varietà di vaccini, ma sono in corso ampie e costose ricerche atte a sviluppare vaccini a scopo terapeutico o vaccini contro lo sviluppo di neoplasie.

I "vaccini attenuati", a cui abbiamo già accennato parlando del vaccino per il vaiolo, sono sicuramente i più diffusi; fanno parte di questa categoria una serie di vaccini di largo impiego quali: il vaccino per il morbillo, la rosolia, la varicella, la parotite epidemica, il virus della poliomelite ed ancora il vaccino per il colera (fine 1800 Louis Pasteur) ed infine il vaccino attenuato di Calmette-Guerin per la tubercolosi somministrato per la prima volta nel 1921.

Attualmente i vaccini attenuati vengono prodotti sfruttando tecniche di biologia molecolare, che producono mutazioni specifiche o delezioni del gene che codifica, per esempio, per una

proteina virale indispensabile per la replicazione virale o per il suo tropismo.

Recentemente due gruppi, quello di Burton & Moore e di Heilman & Baltimore, hanno vaccinato un gruppo di scimmie con ceppi dello *Simian Immunodeficiency Virus* (SIV)¹, in cui era stato alterato o deletato il gene *nef*, indispensabile per la replicazione virale, queste scimmie venivano così protette da inoculi successivi con SIV o SHIV. L'effetto immunogeno e protettivo di questo vaccino si è visto però essere inversamente proporzionale all'attenuazione ottenuta sulla virulenza dell'agente patogeno. La piaga del nostro secolo, fra le malattie infettive, è sicuramente la Sindrome dell'Immunodeficienza Acquisita: la diatriba sulla creazione di un vaccino attenuato per l'infezione da HIV è alimentata dal fatto che sia o meno etico, corretto e sufficientemente sicuro per l'uomo utilizzare in questo modo un virus così pericoloso per l'uomo stesso.

Negli ultimi anni virus, repliconi e batteri sono stati utilizzati come vettori di proteine da usare come stimolo antigenico per lo sviluppo di una completa risposta da parte del sistema immune.

I virus come vettori di proteine immunogene sono stati utilizzati più di una volta: per esempio il vaccinia virus è stato utilizzato come "carrier" in diversi studi clinici e pre-clinici, anche se esistono almeno tre problematiche legate all'utilizzazione di questo virus:

1) la preesistenza di un'immunità verso il virus del vaiolo potrebbe far sviluppare una risposta meno efficace verso l'antigene specifico;

2) una risposta contro il carrier porterà, nel tempo, all'eliminazione del vettore;

3) si è osservata, più volte, una scarsa capacità, da parte di questo tipo di vaccinazione, nello stimolare un'adeguata risposta immunogena da parte dell'ospite.

I repliconi sono virus ad RNA capaci di sintetizzare l'antigene desiderato, al posto delle proprie proteine strutturali, incrementandone rapidamente la quantità.

I sistemi basati su vettori batterici come il bacillo di Calmette-Guerin (BCG) e la salmonella sono stati utilizzati per trasportare DNA plasmidico episomale nelle cellule per le quali il batterio abbia un tropismo specifico; il batterio viene trasformato in modo che la replicazione sia impedita, così dopo l'invasione della cellula ospite il batterio muore e la cellula inizia a sintetizzare l'antigene specifico inducendo la risposta immune.

Un altro tipo di vaccinazione è rappresentata dalle subunità vacciniche, per la creazione di questo vaccino si possono utilizzare da una parte tecniche di purificazione chimica dei componenti dell'agente patogeno fatto crescere *in vitro* (glicoproteine di superficie, come l'emoagglutinina e la neuraminidasi del virus dell'influenza), dall'altra tecniche di biologia molecolare che permettono di sintetizzare il DNA ricombinante dell'antigene voluto, un esempio è l'antigene di superficie del virus B dell'epatite. La biologia molecolare ha permesso, inoltre, di inattivare tossine con capacità antigenica (come la tossina della pertosse), o producendo proteine ricombinanti rese inattive modificando alcuni domini critici per l'attività enzimatica, o alternativamente distruggendo "il *domain*" della proteina indispensabile per il legame con il recettore cellulare (tossina difterica, tossina tetanica, tossina del colera ecc.).

Le nostre conoscenze sulla capacità delle cellule T di contribuire ad una risposta completa da parte del compartimento B si sono accresciute notevolmente negli ultimi anni, chiarendo i motivi per i quali un antigene polisaccaridico, che non causi una risposta T, non sia sempre in grado di indurre una risposta immunogenica adeguata nel bambino. Coniugando chimicamente un antigene polisaccaridico con una proteina carrier, quest'ultimo può diventare un antigene riconosciuto anche dal

¹ Responsabile della sindrome da immunodeficienza acquisita della scimmia (patologia ora conosciuta nell'uomo come AIDS)

compartimento T e quindi capace di indurre una risposta protettiva; questo metodo è stato utilizzato con successo nel caso dell'*Haemophilus influenzae* tipo b per il quale sono stati introdotti sul mercato a metà degli anni '80 una serie di vaccini di coniugazione. Attualmente gli sforzi si sono focalizzati sulla produzione di un vaccino di coniugazione per lo *Streptococcus pneumoniae* e la *Neisseria meningitidis* tipo A e C.

In questa rassegna è importante sottolineare il vantaggio che si è ottenuto nell'utilizzare vaccini somministrabili per via orale, questo è facilmente comprensibile se si pensa al 6-7 Dicembre del 1996 quando fu possibile, grazie a Jim Grant, amministratore dell'UNICEF, vaccinare 121 milioni di bambini indiani contro il virus della poliomelite, questi enormi sforzi sono realizzabili in termini di costi e facilità di somministrazione solo con i vaccini orali. La potenziale possibilità di diffondere l'uso dei vaccini somministrabili per via orale sembra essere di ancora più facile realizzazione quando si pensa alla possibilità di utilizzare cibi ricombinanti quali le patate o le banane, infatti è stato dimostrato che piante transgeniche sono in grado di far esprimere la proteina con capacità antigenica del gene introdotto nel loro genoma; nell'animale è già stata dimostrata la presenza di anticorpi nel siero e nella mucosa dopo la somministrazione, con il cibo, della proteina di fusione dell'eterotossina-labile (LT) dell'*Escherichia Coli* (*Science* 268, 714-716, 1995) o della proteina che costituisce il capsido del virus *Norwalk*.

Infine gli acidi nucleici con funzione di vaccini sono essenzialmente rappresentati da plasmidi capaci di codificare antigeni patogeni. Questi plasmidi, generalmente, usano un forte promotore virale che guida l'espressione del gene di interesse nell'ospite; di solito essi sono somministrati in una soluzione salina per via intramuscolare.

I vaccini a DNA sono particolarmente interessanti per una serie di ragioni:

- 1) sono vaccini estremamente semplici;
- 2) possono generare risposte da parte dei linfociti T MHC classe I ristrette;
- 3) l'antigene prodotto subisce le modificazioni post-traduzionali e conformazionali nella cellula ospite;
- 4) è relativamente facile associare diversi immunogeni in una singola preparazione (diminuendo così il numero di vaccinazioni richieste);
- 5) lo stesso DNA sembra agire come un agente adiuvante.

Fino ad ora abbiamo parlato di vaccini a scopo prettamente profilattico, ma non si può trascurare un'area di recente sviluppo: quella dei vaccini a scopo terapeutico. Nel 1890 per la prima volta William Cooley iniziò a trattare le neoplasie con estratti batterici (tossine di Cooley) per attivare, in modo aspecifico, la risposta da parte del sistema immunitario. Cento anni dopo le nuove conoscenze sulla regolazione della risposta immunitaria hanno permesso di creare vaccini contro la cellula tumorale molto più potenti, specifici e meno tossici per i tessuti normali; diversamente dai vaccini a scopo profilattico, la cui caratteristica più importante è quella di stimolare una risposta soprattutto umorale, con i vaccini contro il cancro si cerca di ottenere una risposta antigene specifica da parte del compartimento T, questo tipo di vaccinazione deve, quindi, eliminare la tolleranza indotta o attivare una popolazione di linfociti T sfuggita all'induzione della tolleranza dovuta alla scarsa affinità per l'antigene tumorale.

Recentemente è stato dimostrato che cellule dendritiche umane stimolate *in vitro* con un RNA codificante per un antigene tumorale sono in grado di sensibilizzare le cellule T; in un recente trial clinico questo tipo di vaccinazione si è mostrato essere effettivamente efficace nel trattamento del melanoma (*Nature Med.* 4, 328-332, 1998).

Anche dal punto di vista economico l'uso dei vaccini ha portato degli enormi vantaggi; basti dire che la vaccinazione anti-morbillo, anti-parotite e anti-rosolia porta ad un risparmio, ogni anno, negli

Stati Uniti di cinque bilioni di dollari, mentre l'eradicazione della poliomelite porterà nel 2000 ad un risparmio di tre bilioni di dollari all'anno.

Il mondo nel ventunesimo secolo si troverà di fronte a vecchie e nuove minacce, dovute alle patologie infettive causate da nuovi microrganismi, che si verranno a formare a causa dell'uso frequente degli antibiotici, o dovute a contaminazioni causate da possibili guerre batteriologiche; quindi il ventunesimo

secolo avrà bisogno di contare sulle innovazioni tecnologiche sviluppatesi nel ventesimo secolo. Sicuramente i vaccini sono la soluzione meno costosa al problema delle malattie infettive, quindi l'aumento delle conoscenze, a livello molecolare, sulla risposta immune ed il miglioramento delle attuali tecniche di biologia molecolare devono essere tese allo sviluppo di nuovi approcci nello sviluppo dei vaccini del futuro.

CLARA BALSANO

Nata a Palermo il 15 maggio 1963.

Nel 1992 ha vinto il concorso a posti di Professore Universitario di Ruolo di II fascia di Medicina Interna, presso l'Università dell'Aquila.

Dal 1993 è responsabile della Cattedra di Medicina Interna presso il Corso di Laurea di Odontoiatria e Protesi Dentaria dell'Università degli Studi dell'Aquila. Sempre dal 1993 è inoltre responsabile del laboratorio e dell'ambulatorio di "Epatologia" presso il Dipartimento di Medicina Interna e Sanità Pubblica dell'Università degli Studi dell'Aquila.

Contatti:

Tel . 0862-432878

Università dell'Aquila

Fax 0862-432858

Dip. di Medicina interna e Sanità pubblica

Via Sisto 22 E

E-mail balsano.c@tiscalinet.it

67100 L'Aquila