

Received: 2017.06.26  
Accepted: 2017.10.13  
Published: 2017.12.28

## Wakcynomika i adwersomika jako nowe kierunki wakcynologii

### Vaccinomics and adversomics as new trends in vaccinology

Anna Lutyńska<sup>1</sup>, Aleksandra Gołoś<sup>1</sup>, Ewa Augustynowicz<sup>2</sup>, Beata Orzechowska<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Zakład Biologii Medycznej, Instytut Kardiologii, Warszawa

<sup>2</sup>Zakład Badania Surowic i Szczepionek, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny, Warszawa

<sup>3</sup>Laboratorium Wirusologii, Zakład Immunologii Chorób Zakaźnych, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda PAN we Wrocławiu

#### Streszczenie

Obecnie stosowane szczepionki zostały opracowane na podstawie eksperymentalnych przedklinicznych lub klinicznych badań porównawczych. Mimo, że powszechne zastosowanie szczepionek to jedno z najważniejszych osiągnięć zdrowia publicznego, w przypadku niektórych patogenów, jak dotychczas nie udało się wybrać optymalnych antygenów, zdolnych do wywołania skutecznej odpowiedzi ochronnej.

Poszukiwanie i wykrywanie związków między sekwencją genów lub całych genomów a poziomem indukowanej odpowiedzi poszczepiennej zapoczątkowało drugi „złoty wiek” wakcynologii i rozwinięcie dwóch nowych kierunków: wakcynomiki i adwersomiki.

Wakcynomika jest połączeniem farmakogenetyki, określającej związku między polimorfizmem sekwencji pojedynczych genów a odpowiedzią poszczepienną oraz farmakogenomiki, określającej związku polimorfizmu sekwencji genomu i odpowiedzi immunologicznej indukowanej po podaniu szczepionek.

Adwersomika jest ukierunkowana na opracowanie strategii obniżającej indywidualne ryzyko rozwoju ewentualnych niepożądanych odczynów poszczepiennych za pomocą diagnozowania osób potencjalnie narażonych na ich rozwój oraz zastosowania w tych przypadkach alternatywnych szczepionek odpowiednio zmodyfikowanych.

Dotychczasowe założenia oraz osiągnięcia wakcynomiki, zapoczątkowane przez Georga Polandę, wpłynęły na opracowanie nowej strategii wyboru antygenów szczepionkowych. Polega ona na wyborze optymalnego antygeny po scharakteryzowaniu genetycznych i epigenetycznych uwarunkowań działania elementów układu immunologicznego wszystkich badanych potencjalnych antygenów szczepionkowych.

Uwzględnienie roli zmienności nie tylko patogenu, ale także gospodarza w wyborze antygenów może istotnie wpłynąć na poprawę efektywności nowo opracowywanych szczepionek oraz szczepionek obecnie stosowanych po ich odpowiedniej modyfikacji.

#### Słowa kluczowe:

wakcynomika • adwersomika • spersonalizowana wakcynologia

#### Summary

Currently used vaccines have been developed based on experimental pre-clinical and clinical trials. Although the widespread availability of vaccines is one of the greatest achievements in public health, the selection of antigens capable of inducing an effective immune response has not been successful for some pathogens to date.

Searching for and detecting a relationship between genes or whole genome sequences and

	<p>the level of immunization response has opened the second “golden age” of vaccinology and led to the development of two new branches: vaccinomics and adwersomics. Vaccinomics is a combination of pharmacogenetics, which defines the correlation between single gene polymorphism, immunization response and pharmacogenomics, which characterizes the correlation between genome sequence polymorphism and immunogenicity induced by the vaccine.</p> <p>Adwersomics is aimed at developing a strategy for reducing the risk of adverse events by diagnosing potentially high-risk individuals and using modified vaccines.</p> <p>The assumptions and achievements of vaccinomics, initiated by Georg Poland, have influenced the development of a new vaccine antigen selection strategy. This strategy consists of selecting the optimal antigen after characterizing the genetic and epigenetic determinants of the immune system components of all candidate vaccine antigens.</p> <p>Taking into account the role of variability, not only in the pathogen but also in the host in antigen, selection strategies may significantly improve the efficiency of the newly developed vaccines and vaccines currently in use after their respective modifications.</p>
<b>Słowa kluczowe:</b>	<b>vaccinomics • adwersomics • personalised vaccinology</b>
<b>GICID:</b>	01.3001.0010.7616
<b>DOI:</b>	10.5604/01.3001.0010.7616
<b>Word count:</b>	6082
<b>Tables:</b>	1
<b>Figures:</b>	3
<b>References:</b>	147

**Adres autorki:** dr hab. Anna Lutyńska, Zakład Biologii Medycznej, Instytut Kardiologii im. Prymasa Tysiąclecia Stefana Kardynała Wyszyńskiego, ul. Alpejska 42, 04-628 Warszawa; e-mail: alutynska@ikard.pl

## WSTĘP

Szczepionki stosowane u ludzi są preparatami biologicznymi, które składają się z jednego lub kilku antygenów pozyskanych z drobnoustrojów chorobotwórczych. Podanie szczepionki wywołuje w organizmie odpowiedź immunologiczną (wytworzenie przeciwciał i komórek odpornościowych), która ma chronić przed zakażeniem danym drobnoustrojem. Stosowane od kilku dekad szczepienia rutynowe zapewniają ochronę przed wieloma poważnymi chorobami.

Wybór antygenów szczepionkowych większości obecnie stosowanych atenuowanych, inaktywowanych lub podjednostkowych szczepionek jest wynikiem eksperymentalnych przedklinicznych lub klinicznych badań porównawczych. Wybrano, nie tylko doświadczalnie, szczep(y) szczepionkowy(e), sposób przygotowania antygen(ów) szczepionkowego(ych), a także optymalny skład szczepionki, drogę jej podania oraz schematy dawkowania. Niewątpliwie empiryczna strategia wyboru antygenów szczepionkowych doprowadziła do opracowania wielu skutecznych szczepionek, których zastosowanie umożliwiło m.in. eradykację ospy prawdziwej, eliminację poliomyelityd w wielu regionach świata czy też istotne obniżenie zapadalności na wiele chorób zakaźnych. Zgodnie z opinią Światowej Organizacji Zdro-

wia (WHO), powszechne zastosowanie szczepionek opracowanych eksperymentalnie to jedno z najważniejszych osiągnięć zdrowia publicznego [1].

Empiryczna strategia wyboru antygenów szczepionkowych, wyrażająca się zwrotem: „wyizolować-inaktywować/atenuować-wstrzyknąć” („isolate-inactivate/attenuate-inject”), zapoczątkowana przez Ludwika Pasteura zakładała, że szczepienie wszystkich osób danej populacji z zastosowaniem wybranego(ych) antygen(ów) może skutecznie przeciwdziałać określonym zachorowaniom w przyszłości [5,89,93]. Takie założenie wynikało z ówczesnego przekonania o identycznym ryzyku szerzenia się chorób zakaźnych oraz wysokim poziomie identyczności odpowiedzi układu immunologicznego. Pogląd ten nasunął wniosek, że podanie takiej samej zawartości antygeny szczepionkowego w pojedynczej dawce szczepionki oraz w takiej samej liczbie dawek w danym schemacie dawkowania może ochronić całą zaszczepioną populację (one dose fits all). Niestety, wiele lat badań nie potwierdziło trafności takiego założenia. W niektórych opracowanych lub powszechnie zastosowanych szczepionkach nie uzyskano działania ochronnego zabezpieczającego przed ponownym zachorowaniem u każdej zaszczepionej osoby. Ponadto w przypadkach niektórych patogenów, jak dotychczas, nie udało się wybrać antygen(ów) szczepionkowego(ych),

który(e) był(y)by zdolny(e) do wywołania skutecznej odpowiedzi ochronnej. Wiąże się to z wysokim poziomem zmienności genetycznej niektórych patogenów, ograniczającym możliwość kontroli wariantów antygenowych innych niż szczepionkowe [62,93].

Przykładami patogenów, przeciwko którym nadal nie opracowano skutecznych szczepionek z wykorzystaniem strategii empirycznej są m.in. wirusy o dużej genetycznej zmienności, tj. wirus opryszczki pospolitej - HSV (herpes simplex virus), wirus niedoboru odporności - HIV (human immunodeficiency virus), RSV (respiratory syncytial virus), czy wirus zapalenia wątroby typu C - HCV (hepatitis c virus) lub zarodziec malarii [90].

Dotychczas opracowane szczepionki przeciwko HSV były nieskuteczne w zapobieganiu objawom choroby w okresie reaktywacji HSV, ze względu na brak skutecznego wspomaganie komórkowej odpowiedzi odpornościowej [28,55]. Szczepionka przeciw HIV mogłaby być skuteczna, pod warunkiem podania przed etapem latencji, który jest stosunkowo krótki i pojawia się od kilku dni do kilku tygodni od zakażenia, a tym samym jest trudny do identyfikacji [44]. Powszechnie zastosowanie dotychczas opracowanych szczepionek przeciw RSV jest nieuzasadnione ze względu na wysoką polaryzację odpowiedzi na limfocyty Th2, co zwiększa ryzyko reinfekcji, w tym rozwoju choroby płuc. Ponadto trudności w opracowaniu skutecznych szczepionek przeciw RSV do dzisiaj wiążą się z brakiem markerów ochronnej odpowiedzi immunologicznej [10,116], występowaniem największego narażenia w czasie niedojrzałości układu immunologicznego oraz zakłóceniami powstawania efektywnej odpowiedzi poszczepiennej przez przeciwciała przenoszone biernie z mlekiem matki [62]. Trudności w opracowaniu skutecznych szczepionek przeciw HCV wiążą się natomiast z dużą genetyczną zmiennością wirusa, decydującą o braku skutecznych mechanizmów eliminujących zakażenie wariantami nieszczepionkowymi i genetycznie uwarunkowanymi predyspozycjami gospodarza [80,91].

W przypadku zarodźca malarii, naturalna odpowiedź immunologiczna powstaje dopiero po powtarzających się zarażeniach [94]. Opracowanie skutecznej szczepionki przeciw malarii komplikuje wielogatunkowy i cykliczny charakter zarażeń, wysoki poziom genetycznej i antygenowej zmienności poszczególnych gatunków zarodźca, a także wielość objawów malarii powiązana z genetycznymi uwarunkowaniami gospodarza, wiekiem oraz dynamiką transmisji [23]. Do tej pory, mimo wieloletnich badań, z wielu opracowanych szczepionek przeciw malarii, zarejestrowano jedną, tzw. RTS, S/AS01 przeznaczoną do uodporniania małych dzieci w Afryce. Mimo, że jej kliniczna skuteczność w zapobieganiu objawom malarii mieściła się w zakresie 31-56% u dzieci w wieku od 6 tyg. do 17 m.ż., Europejska Agencja Leków (European Medicines Agency, EMA) ze względu na pozytywny stosunek korzyści do ryzyka wydała pozytywną opinię dotyczącą zastosowania tej szczepionki u małych dzieci z krajów zagrożonych tą chorobą [108].

Nowa strategia opracowania skutecznych antygenów szczepionkowych zdefiniowana przez G. Polanda jako „odkryć-zweryfikować-scharakteryzować-wdrożyć” („discover-validate-characterize-deploy”) [82] i „odkryć-powielić-zweryfikować/scharakteryzować-zastosować” („discover-replicate-validate/characterize-apply”) [89], polega na wyborze najbardziej skutecznego i bezpiecznego antygeny szczepionkowego po scharakteryzowaniu genetycznego podłoża mechanizmów działania wszystkich elementów układu immunologicznego, powstających w wyniku podania potencjalnych antygenów szczepionkowych [82]. Strategia ta całkowicie zmienia punkt wyjścia opracowywania szczepionek przez odrzucenie założeń strategii empirycznej. Miejsce populacji, która dotychczas była celem tej strategii, zajmuje jednostka, czyli pojedyncza osoba, a więc strategia jest ukierunkowana na personalizację produktu jakim jest szczepionka.

Przełomem w rozwoju nowych kierunków wakcynologii okazała się możliwość wykorzystania wyników sekwencjonowania DNA oraz zaawansowanych technik analitycznych, dając podstawy do opracowania szczepionek najnowszej generacji: potencjalne antygeny szczepionkowe są wybierane na podstawie bioinformatycznej analizy genomów, bez użycia metod doświadczalnych (*in silico*) [4]. Zamiast całych komórek, jako materiał wyjściowy do identyfikacji potencjalnych nowych antygenów, zastosowano genomowe sekwencje wirusowych, bakteryjnych czy pasożytniczych patogenów [4,56]. Nową strategię określono jako „odwrotna wakcynologia”, co już w nazwie sygnalizuje różnicę w podejściu do wyboru antygenów szczepionkowych. Obecnie w EMA prowadzona jest procedura rejestracji pierwszej tego typu szczepionki, tj. szczepionki przeciw *Neisseria meningitidis*, zawierającej mieszaninę wybranych *in silico*, pięciu antygenów: fHBP (GNA1870), NadA, GNA2132, GNA1030 i GNA2091 [77].

Analizy z zakresu biologii systemowej (systems biology) łączą immunogenetykę, immunogenomikę, profilowanie immunologiczne, badania funkcjonalne polimorfizmu pojedynczego nukleotydu (single nucleotide polymorphisms; SNP) i inne w celu przewidywania odpowiedzi immunologicznej indukowanej przez szczepionki. Poland mówi nawet o „przewidywalnej wakcynologii” [82].

Na obecnym etapie wiedzy istnieją dowody potwierdzające, że genetyczny polimorfizm zidentyfikowany wśród ludzi może w sposób istotny wpływać na metabolizm wielu przyjmowanych leków oraz działanie produktów leczniczych immunologicznych, tj. szczepionek [90]. Ogromna liczba genów zaangażowanych w rozwój efektywnej odpowiedzi immunologicznej, które kodują ponad  $10^{12}$  produktów (np. przeciwciał czy receptorów) oraz haplotypów ludzkich antygenów leukocytarnych (human leukocyte antigens, HLA), kodujących ponad  $10^{13}$  swoistych produktów istotnych w procesowaniu antygenów, decydują o podłożu i zakresie międzyosob-

nicznych różnic oraz poziomie powstającej odpowiedzi immunologicznej [82]. Uwzględnienie roli genetycznej zmienności jako podstawy międzyosobniczych różnic w podejściu do wyboru antygenów, może wpłynąć na poprawę efektywności zarówno obecnie stosowanych, zoptymalizowanych, jak i nowo opracowywanych szczepionek. Dostęp do wyników sekwencjonowania genów i genomów oraz możliwość wykonania analiz z wykorzystaniem zaawansowanych narzędzi bioinformatycznych, może w najbliższych latach doprowadzić do pokonania barier, dotychczas uniemożliwiających określenie skutecznych antygenów szczepionkowych HSV, HIV czy HCV. Dostępne wyniki badań potwierdzają, że międzyosobnicze różnice w sposób rzeczywisty wpływają na efektywność powszechnie stosowanych szczepień przeciw odrze, śwince, różyczce, grypie, ospie wietrznej, wzw A i B lub pneumokokom [33].

### WAKCYNOMIKA I ADWERSOMIKA JAKO NOWE DZIEDZINY WAKCYNOLOGII

Poszukiwanie i wykrywanie związków między sekwencją genów lub całych genomów, a poziomem indukowanej odpowiedzi poszczepiennej zapoczątkowało drugi „złoty wiek” wakcynologii [96].

Nowa dziedzina wakcynologii, tj. wakcynomika, to połączenie farmakogenetyki, określającej związki między polimorfizmem sekwencji pojedynczych genów i odpowiedzią poszczepienną oraz farmakogenomiki, określającej związki polimorfizmu sekwencji genomu i odpowiedzi immunologicznej indukowanej po podaniu szczepionek. Powstanie tej dziedziny nauki wiąże się z dostępem do wyników badań Human Genome Project i International HapMap Project, obejmujących m.in. mapowanie zmienności genów, szczególnie SNP oraz nierównowagi sprzężeń [13,46,57].

Zgodnie z założeniami wakcynomiki, wybór antygeny szczepionkowego powinien się rozpocząć od badań ukierunkowanych na potwierdzenie możliwości indukcji optymalnej odpowiedzi immunologicznej (maksymalna immunogenność przy minimalnym ryzyku braku skuteczności szczepionki lub wystąpienia działań niepożądanych) u osób o odmiennych genotypach. Wyniki dostępnych badań wskazują na możliwość wyróżnienia osób, u których uwarunkowania genetyczne uniemożliwiają uzyskanie takiej odpowiedzi z zastosowaniem konwencjonalnie opracowanych szczepionek. Wakcynomika ma na celu optymalizację sposobu wyboru antygenów na potrzeby indukcji ochronnej odpowiedzi poszczepiennej u każdej zaszczepionej osoby, niezależnie od podłoża genetycznego, które w przypadku szczepionek opracowanych konwencjonalnie może u pewnych osób (o określonych genotypach) warunkować ich małą skuteczność [84].

Adwersomika jako druga, nowa dziedzina wakcynologii, jest ukierunkowana na opracowanie strategii obniżającej indywidualne ryzyko rozwoju ewentualnych

niepożądanych odczynów poszczepiennych za pomocą diagnozowania osób potencjalnie narażonych na ich rozwój oraz zastosowania w tych przypadkach szczepionek odpowiednio zmodyfikowanych lub nowo opracowanych. Rozwój adwersomiki wiąże się z koniecznością przeprowadzenia szeroko zakrojonych analiz korelacji fenotypów – czyli analiz profili odpowiedzi immunologicznej osób, u których wystąpiły niepożądane odczyny poszczepienne oraz odpowiadających im genotypów, w celu określenia przyczynowego wpływu genetycznej zmienności na potencjalną odczynowość poszczepienną [85].

Obecnie dominującymi kierunkami badań z zakresu wakcynomiki i adwersomiki są:

- Identyfikacja uwarunkowanej genetycznie indywidualnej podatności na określoną chorobę zakaźną, obejmująca ocenę wpływu stopnia genetycznego zróżnicowania badanej populacji (tj. identyfikacji typów i liczby polimorfizmów genów odpowiedzialnych za rozwój odpowiedzi immunologicznej) na zakres parametrów indukowanej odpowiedzi immunologicznej;
- Identyfikacja polimorficznych markerów genetycznych związanych z optymalną i suboptymalną indukcją odpowiedzi immunologicznej, czyli ocena wpływu polimorfizmu genów związanych z rozwojem głównych parametrów odpowiedzi immunologicznej po podaniu dostępnych szczepionek;
- Identyfikacja polimorficznych markerów genetycznych powiązanych z podwyższonym ryzykiem rozwoju niepożądanych odczynów po szczepieniu;
- Opracowanie szczepionek zawierających odpowiednio dobrane antygeny i adiuwanty w celu wywołania zoptymalizowanej odpowiedzi ochronnej w stosunku do dotychczas stosowanych szczepionek oraz opracowanie nowego typu szczepionek, tzw. szczepionek spersonalizowanych.

Wakcynomikę oraz adwersomikę łączy spersonalizowane podejście do szczepień przez rozwój ukierunkowanego sposobu opracowywania nowych szczepionek, włącznie z rozwojem alternatywnych dróg podawania oraz zastosowania nowych adiuwantów. Punktem wyjścia spersonalizowanego opracowywania szczepionek jest odwrócona wakcynologia, w której zaawansowane analizy sekwencji genomów pozwalają na pełną charakterystykę antygenów patogenu i wyeliminowanie tych, które wykazują homologię z genami występującymi u człowieka, a następnie wykonanie badań immunogenności wytypowanych antygenów w celu wyróżnienia optymalnych antygenów szczepionkowych [34,102]. Następnym etapem badań jest identyfikacja antygenów, które są rozpoznawane przez komórki układu immunologicznego, umożliwiającą indukcję optymalnej odpowiedzi odpornościowej. Tego rodzaju badania doprowadziły m.in. do opracowania rekombinowanych białek zawierających 9 różnych epitopów rozpoznawanych przez komórki Th, umożliwiających uzyskanie lepszej odpowiedzi odpornościowej niż osiągnięta przez dotychczas stosowaną szczepionkę przeciw *Haemophilus influenzae* typu b (Hib) [25].

## PODSTAWY GENETYCZNYCH UWARUNKOWAŃ ZMIENNOŚCI ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ

Mechanizmy obronne organizmu gospodarza odgrywają ważną rolę podczas wystąpienia choroby zakaźnej. Skuteczność działania mechanizmów odpowiedzi immunologicznej wyraża się rozpoznaniem i związaniem antygeny na komórkach docelowych, jego procesowaniem i prezentacją, wydzielaniem cytokin, wytwarzaniem przeciwciał, chemokin i pobudzeniem działania komórek efektorowych powodujących eliminację zakażenia. Aktywacja lub hamowanie szlaków genów odpowiedzialnych za rozwój odpowiedzi immunologicznej porównano do swoistej dla danego antygeny(ów) interaktywnej sieci [87]. Opracowana przez Polandę i wsp. teoria sieci odpowiedzi immunologicznej (immune response network theory) [82], zakłada że odpowiedź poszczepienna jest teoretycznie przewidywalna, przede wszystkim, jako skutek synergistycznych lub antagonistycznych oddziaływań ukierunkowanych przez aktywowane lub hamowane geny kodujące czynniki aktywacji/supresji odpowiedzi immunologicznej [86,87]. Ocena początkowych etapów odpowiedzi immunologicznej pozwala zidentyfikować:

- ligandy konieczne do związania komórki lub jej inwazji,
- receptory odpowiedzi wrodzonej,
- szlaki skutecznej wrodzonej ochronnej odpowiedzi immunologicznej oraz szlaki odpowiedzi zakłóconej oddziaływaniami antygenów drobnoustroju,
- epitopy patogenu rozpoznawane przez komórki T cytotoksyczne i komórki B oraz sposób współdziałania komórek B i T odpowiedzialnych za humoralną i komórkową odpowiedź odpornościową.

Przeprowadzenie analizy *in silico* potencjalnie indukowanych mechanizmów odpowiedzi wrodzonej pozwala na wybór adiuwanta zdolnego do stymulacji właściwych receptorów i szlaków, które skutecznie eliminują zakażenie, możliwie najkorzystniejsze do zastosowania strategii atenuacji drobnoustroju oraz właściwą selekcję epitopów szczepionek. Analizy *in silico* polimorfizmu genów HLA mogą doprowadzić do wyeliminowania ryzyka wyboru takiego antygeny, który byłby zdolny do supresji określonych szlaków odpowiedzi immunologicznej po podaniu szczepionki przeciw odrze, śwince i różyczce (measles – mumps – rubella, MMR) [45,83].

Wiedza o międzyosobniczej zmienności na poziomie układu immunologicznego pozwala określić:

- siłę wiązania, sposób procesowania i ekspresji poszczególnych peptydów,
- zakres prezentowanych peptydów (restrykcja genetyczna),
- wzory sekrecji (cytokiny),
- zakres powstających produktów i poziom transkrypcji podstawowych genów (cząsteczki sygnałowe),
- siłę wiązania antygenów przez receptory toll-podobne (Toll-like receptors, TLR),
- powinowactwo przeciwciał,
- modyfikacje epigenetyczne i inne cechy [45,83].

Znaczna część międzyosobniczej zmienności sekwencji DNA dotyczy różnic pojedynczych nukleotydów. Szacuje się, że polimorfizm SNP występuje średnio z częstością 1/1000 nukleotydów, co powoduje, że około 1,42 mln SNP, w tym w 60000 regionach kodujących, pozostaje zmiennie rozproszonych w genomach poszczególnych ludzi [12,99]. Szczególną rolę przypisuje się SNP, które zmieniając sekwencje aminokwasów w obszarach regulatorowych, bezpośrednio wpływają na strukturę i funkcję białek [14]. Poza polimorfizmem SNP, polimorfizm całych genów lub genomów wpływa na rozwój poszczepiennej odporności humoralnej zarówno na poziomie osobniczym jak i populacyjnym [84].

Wśród wielu czynników modulujących rozwój odpowiedzi poszczepiennej, istotną rolę odgrywa polimorfizm genów kodujących białka głównego układu zgodności tkankowej HLA, wpływający przez sposób prezentacji antygenów [105] oraz profil ekspresji genów kodujących cytokiny lub TLR [20]. Zmienność odpowiedzi poszczepiennej zależy także od uwarunkowań genetycznych związanych z płcią, rasą oraz niegenetycznych, związanych np. z wiekiem, dawką podanej szczepionki, sposobem przechowywania szczepionek, BMI (body mass index), paleniem papierosów i innych [82]. Na podanie szczepionek przeważnie lepiej odpowiadają kobiety. Dostępne wyniki badań potwierdziły, że wyższe poziomy przeciwciał przeciw różyczce i śwince wykrywano w surowicach kobiet w porównaniu do mężczyzn, co nie wiązało się z nasileniem odpowiedzi komórkowej czy proliferacji [60,71]. Badania przeprowadzone przez Blacka i wsp. w latach 70 ub. w. wykazały, że u Indian z dorzecza Amazonki po szczepieniu przeciw odrze występowały bardziej nasilone reakcje w porównaniu do rasy kaukaskiej – sugerując możliwość wpływu uwarunkowania genetycznego [6].

## WPEŁYW POLIMORFIZMU GENÓW NA ROZWÓJ ZAKAŻEŃ

Badania spokrewnionych członków rodzin, którzy zachorowali na odrę potwierdziły, że skuteczność nieswoistej odpowiedzi immunologicznej jest uzależniona od polimorfizmu genów kodujących:

- antygeny HLA klasy I i II [106];
- cytokiny i ich receptory [33];
- receptory obecne na docelowych komórkach wirusa, tj. cząsteczkę sygnałową aktywacji limfocytów SLAM (signaling lymphocyte-activation molecule) CDw150 oraz błonowy kofaktor białkowy CD46 [68,101].

Polimorfizm SNP w genie kodującym SLAM (np. rs164288, rs3796504, rs11265452) i CD46 (np. rs11118580, rs2724384) powiązano ze zmiennym poziomem wytwarzania przeciwciał przeciw odrze, np. obecność rs3796504 i rs164288 wiązała się z obniżeniem, a rs12076998 ze wzrostem miana wzbudzanych przeciwciał w porównaniu do genotypu dzikiego [22]. Natomiast obecność rs2724384 w genie kodującym CD46 oraz rs164288 i rs11265452 w genie kodującym SLAM powiązano nie tylko z obniżeniem odpowiedzi humoralnej, ale

także komórkowej wyrażonej poziomami cytokin: IFN- $\alpha$ , IL-6, -10 oraz TNF- $\alpha$  [68]. Badania wykazują także wpływ polimorfizmu SNP w genie kodującym DC-SIGN (dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3 grabbing nonintegrin) na wytwarzanie cytokin w odpowiedzi na zakażenie wirusem odry [11].

Inny przykład wpływu międzyosobniczej zmienności na powstającą odpowiedź immunologiczną dotyczy zwiększonego ryzyka rozwoju zakażenia wirusem brodawczaka ludzkiego (human papillomavirus, HPV) typu 16, predysponującego do rozwoju raka szyjki macicy u kobiet - nosicielek określonych wariantów alleli HLA [17,27]. Dostępne badania wskazują, że nosicielki określonych wariantów HLA charakteryzują się zróżnicowaną ekspresją genów kodujących białka transportowe, zaangażowane w przetwarzanie i prezentację antygenów, tj. TAP1 i TAP2 (transporter associated with antigen processing), podjednostki proteasomu LPM2 i LPM7 oraz tapasyne (TAP-associated glycoprotein) [17,27]. Podobnie polimorfizm genu kodującego IL-10 wpływał na zróżnicowaną eliminację zakażenia HPV typami wysokiego ryzyka u kobiet z niedoborami odporności oraz ze zróżnicowanym stopniem immunosupresji limfocytów T CD4 w przebiegu zakażenia HIV-1 [103]. Polimorfizm genów kodujących HLA lub cytokiny może zatem, przez regulację odpowiedzi gospodarza, wpływać na transformujące właściwości onkogennych typów HPV, wyrażając się dziedziczną wrażliwością lub odpornością na zakażenie [27].

## **POLIMORFIZM GENÓW A ZMIENNOŚĆ ODPOWIEDZI POSZCZEPIENNEJ**

### **Polimorfizm genów układu HLA**

Kompleks genów HLA zawiera najbardziej polimorficzne geny ludzkiego genomu; dotychczas opisano ponad 1000 wariantów alleli genów klasy I w loci A, B i C [45]. Allele białek HLA klasy I A, B i C wiążą i prezentują peptydy limfocytom T CD8+, a allele białek klasy II: DR, DQ i DP – limfocytom T CD4+. Polimorfizm, występując preferencyjnie w funkcjonalnych domenach cząsteczek HLA, wpływa bezpośrednio na selekcję i wiązanie epitopów oraz ich prezentację [36,45]. Nieefektywna prezentacja peptydów, z powodu polimorfizmu, może spowodować obniżenie aktywacji innych komórek i ich funkcji wytwarzania cytokin lub przeciwciał przez limfocyty B. Polimorfizm HLA może zatem istotnie wpływać na genetycznie uwarunkowaną podatność na choroby zakaźne i zmienność odpowiedzi immunologicznej po podaniu szczepionek [8,45].

Przykładem wpływu zmienności są obserwowane różnice w odpowiedzi immunologicznej po szczepieniu przeciw wzv B. Szczepionka przeciw wzv B, zawierająca rekombinowany antygen HBsAg, indukuje powstanie przeciwciał neutralizujących u około 95% osób zaszczepionych w schemacie 3-dawkowym [86]. Istniejący zatem problem braku lub słabej odpowiedzi poszczepiennej u pacjentów np. z niedoborami

odporności lub pacjentów dializowanych próbuje się przezwyciężyć przez podawanie dodatkowych dawek szczepionki [81].

Brak lub obniżoną odpowiedź przeciwciał po szczepieniu przeciw wzv B stwierdza się częściej wśród nosicieli wariantów alleli HLA-DRB1\*03, HLA-DRB1\*07 i DQB1\*03 [88,115]. Badania odpowiedzi limfocytów T po szczepieniu przeciw wzv B wśród jednojajowych i dwujajowych bliźniąt, wykazały, że u nosicieli wariantów alleli DRB1, wcześniej powiązanych z nieskutecznością szczepienia, tj. DRB1\*031 i DRB1\*0701, dochodziło do pełnej prezentacji białek HbsAg [51]. Może to wstępnie potwierdzać, że związek nieskutecznej odpowiedzi poszczepiennej przeciw wzv B u nosicieli wariantów HLA-DRB1 nie wynikał z różnic wiązania peptydów lub zakłóceń odpowiedzi Th1/Th2, lecz raczej z defektu komórek T pomocniczych oraz komórek prezentujących antygen (antigen presenting cells, APC) [51]. Inne badania wykazały, że różnice w osiągniętych poziomach przeciwciał u ponad 60% bliźniąt szczepionych przeciw wzv B były uwarunkowane genetycznie, przy czym u niemal połowy z nich wynikały z polimorfizmu genów kodujących antygeny HLA [37], a u pozostałej części wiązały się ze zmiennością genów kodujących C4a, IL-1 $\beta$ , -2, -4 i -12B [115]. Z tych względów wielokrotne podawanie zwiększonych dawek antygeny może wywołać częściową lub pełną serokonwersję u osób z tym haplotypem, potwierdzając celowość obecnie stosowanego dawkowania u chorych dializowanych, nieodpowiadających na szczepienie. Przypuszcza się, że osoby, które nie odpowiadają na szczepionkę przeciw wzv B mogą być bardziej narażone na przewlekłe zakażenie [111,112]. Opracowanie nowych szczepionek przeciw wzv B zawierających mieszaninę odpowiednio wybranych peptydów mogłoby usunąć ograniczenia konwencjonalnych szczepionek przeciw wzv B [18,84]. Wybrane peptydy powinny docelowo zawierać epitopy zidentyfikowane u nosicieli wzv B, wykazujących brak lub słabą serokonwersję po szczepieniu, wspomagane przez adiuwanty w postaci cytokin (np. GM-CSF) [47,52]. Alternatywnym sposobem pobudzenia odpowiedzi odpornościowej przeciw wzv B jest ominięcie defektu genetycznego kodowanego przez zidentyfikowany typ polimorfizmu i ukierunkowanie odpowiedzi ochronnej na optymalny szlak. Dotychczas zastosowanie oligonukleotydu CpG zamiast związków glinu jako adiuwanta szczepionki przeciw wzv B, umożliwiło lepszą aktywację odpowiedzi nieswoistej dzięki zoptymalizowanej stymulacji receptora TLR9 [15]. Badania wskazują, że za brak optymalnej odpowiedzi poszczepiennej mogą być także odpowiedzialne cząsteczki mikroRNA (nukleotydowe niekodujące RNA), które przez wpływ na potranskrypcyjną regulację ekspresji genów kodujących komórki układu odpornościowego, biorą udział w modulacji odpowiedzi immunologicznej [24].

Innym przykładem wpływu polimorfizmu HLA na obniżoną odpowiedź swoistych przeciwciał klasy po podaniu szczepionki przeciw odrze, śwince i różyczce jest

nosicielstwo wariantów alleli HLA A\*29-Cw16-B\*44 oraz HLA I: B44 i B58 [72,75]. Obniżona odpowiedź humoralna i komórkowa po podaniu szczepionki MMR jest uzależniona od polimorfizmu antygenów HLA klasy I i II, proporcjonalnie do stopnia homozygotyczności [33,70,71,75,88]. Badania bliźniąt szczepionych pierwszą dawką szczepionki przeciw odrze wskazywały, że efektywność odpowiedzi poszczepiennej jest dziedziczna w 89% [109]. Niemniej jednak, po podaniu drugiej dawki szczepionki, wcześniej obserwowany wpływ alleli HLA klasy I i II nie był tak jednoznaczny poza I: B\*4403 [83], potwierdzając że niekorzystny wpływ homozygotyczności HLA po podaniu pierwszej dawki może być zniesiony po podaniu drugiej dawki [70,106]. W dwóch niezależnie badanych grupach zdrowych dzieci nosicielstwo alleli HLA B\*3503, DQA1\*0201, DQB1\*0303, DQB1\*0602 i DRB1\*0701 oraz super typu B7 powiązано z wyższymi poziomami neutralizujących przeciwciał przeciw odrze, a obecność alleli B\*0801 i DRB1\*0301, C\*0802 i DPA1\*0202 oraz DRB1\*1303 ze zmiennością poziomu wydzielanych cytokin, odpowiednio IFN- $\gamma$ , IL-2 oraz IL-10 [76].

### Polimorfizm genów kodujących cytokiny

Cytokiny odgrywają decydującą rolę w rozwoju wrodzonej i nabytej odpowiedzi immunologicznej [65]. Polimorfizm pojedynczych nukleotydów w genach kodujących cytokiny i ich receptory wpływa na regulację wytwarzania i aktywność cytokin, co może mieć znaczenie w rozwoju poszczepiennej odpowiedzi immunologicznej. Nosicielstwo określonych SNP w genach kodujących IL-2 i IL-4 lub insercji/delecji w genie kodującym IL-12B, oprócz polimorfizmu allelu HLA-DRB1\*07, powiązано z brakiem optymalnej odpowiedzi poszczepiennej przeciw wzw B [115]. Wpływ polimorfizmu genów kodujących cytokiny na odpowiedź immunologiczną po szczepieniu przeciw wzw B, pneumokokom (szczepionka 7-walentna, skoniugowana PCV7), błonicy, tężcowi i krztuścowi (DTaP) wykazano także u zdrowych niemowląt. Poziom swoistych przeciwciał przeciw HbsAg po szczepieniu był wyższy w przypadku nosicielstwa genotypu GA (rs1800629) w genie kodującym TNF i genotypu AA (rs3212227) w genie receptora IL-12B. Obecność allelu A w genie kodującym IL-10 (rs1800896) u nosicieli szczepionych przeciw błonicy oraz obecność genotypu AA w genie kodującym IL-4Ra (rs1805010) u nosicieli szczepionych przeciw tężcowi, powiązано z indukcją wyższego poziomu przeciwciał. U osób o genotypie TT, w genach kodujących IL-10 (rs1800871) i IL-13 (rs1800925) szczepionych PCV7, stwierdzono niższe poziomy przeciwciał wobec serotypów szczepionkowych PnPS6B i PnPS14 [118]. Istotny statystycznie związek między obecnością wielu SNP umiejscowionych w genach kodujących IL-18 i IL-18R1 i poziomem swoistych przeciwciał wykazano u osób szczepionych przeciw ospie prawdziwej. Obecność haplotypu AGGGCA w odróżnieniu od GAAAAG w genie kodującym IL-18R1 powiązано z niższym poziomem przeciwciał neutralizujących [32]. Badania przeprowadzone w populacji białej

i afroamerykańskiej wykazały wiele powiązań między obecnością SNPs w genach kodujących różne cytokiny oraz ich receptory a poziomem wydzielanych, swoistych cytokin, takich jak IFN- $\alpha$ , IL-12p40, IL-1 $\beta$ , IL-2, i TNF- $\alpha$  w odpowiedzi na szczepienie przeciw ospie prawdziwej [67].

Nosicielstwo określonych SNP (szczególnie rs3212227) w genach kodujących receptory IL-12B1 i IL-12B2 oraz promotory IL-10 i IL-12 (rs1800890 i rs2069762) powiązано z obniżoną proliferacją komórek i osiąganym mianem przeciwciał przeciw odrze uzyskiwanych po szczepieniu MMR [19,33,71]. Wyniki badań pozwoliły na identyfikację 48 SNPs wpływających na skuteczność odpowiedzi przeciw odrze w postaci wydzielanych przeciwciał i IFN- $\gamma$  [33].

### Polimorfizm genów kodujących TLR

Receptory TLR odrywają ważną rolę w regulacji odpowiedzi immunologicznej, ponieważ wiązanie ligandów drobnoustrojów może zmieniać aktywność limfocytów T [29]. Genetyczna zmienność w genach kodujących receptory TLR, która odgrywa istotną rolę w rozpoznawaniu m.in. wirusa odry, może zatem istotnie wpływać na odpowiedź poszczepienną. Szczepienie przeciw odrze z zastosowaniem szczepu Edmonston doprowadziło do skutecznej ekspresji TLR3 ludzkich komórek dendrytycznych, a tym samym zwiększonego wydzielania IFN- $\gamma$  i uzyskania optymalnej odpowiedzi ochronnej [110]. Wyniki badań potwierdzają, że poziom ekspresji TLR3 pod wpływem szczepionkowego wirusa odry może być istotnym wskaźnikiem w identyfikacji osób wykazujących wrodzoną odporność na zakażenie. Jednak szczepieni nosiciele heterozygotycznych wariantów SNP rs3775291 oraz rs5743305 genu kodującego TLR3 charakteryzowali się stosunkowo niską odpowiedzią przeciwciał i proliferacją limfocytów [22]. Dlatego uważa się, że swoiste SNP zidentyfikowane w regionach kodujących i regulatorowych tych genów mogą negatywnie wpływać na wiązanie czynników transkrypcyjnych, ekspresję genów i ich funkcje przez zmiany stabilności cząsteczek RNA, uniemożliwiając tym samym skuteczne wydzielanie cytokin [45]. Wyniki badań wskazują także na korelację między odpowiedzią humoralną i komórkową przeciw odrze, a genetycznym polimorfizmem SNP w regionach kodujących receptory TLR (TLR 2, 3, 4, 6, 7, 8) [69]. Badania umożliwiające pełną identyfikację polimorfizmu genów kodujących receptory TLR i jego wpływu na wzbudzaną odpowiedź immunologiczną mogą ułatwić opracowanie nowych antygenów szczepionkowych (np. zawierających plazmid z wbudowanym genem kodującym określoną cytokinę). Takie antygeny mogą zapewnić optymalne wydzielanie i dostarczanie cytokin do tych miejsc, gdzie ich wytwarzanie z udziałem konwencjonalnych antygenów szczepionkowych jest na obecnym etapie niemożliwe, pozwalając tym samym na odtworzenie korzystnej równowagi Th1/Th2 [35,78]. Poprawę skuteczności odpowiedzi poszczepiennej można osiągnąć także przez zastosowanie adiuwanta w postaci dinukleotydu CpG lub

monofosforu lipidu A, które mogą aktywować receptory odpowiednio, TLR9 lub TLR4 [58].

### Polimorfizm genów kodujących składniki dopełniacza

Działanie układu dopełniacza, organizacja samej struktury węzłów chłonnych oraz dojrzewanie i różnicowanie limfocytów B w sposób decydujący wpływają na rozwój wrodzonej i nabytej odpowiedzi immunologicznej, tolerancję na podany antygen, odpowiedź zapalną lub odpowiedź komórek T i B [9]. Receptory składników dopełniacza obecne na powierzchni większości komórek są regulatorami jego aktywacji [98]. Niedobory białek C4, C2 lub C3 mogą obniżyć odpowiedź przeciwciał na zakażenia bakteryjne, np. niedobory składników C4b i C3b, mogą negatywnie decydować o przebiegu zakażeń wywołanych przez *Neisseria meningitidis* i *N. gonorrhoeae* [54]. Mimo że dotychczas wykazano, że polimorfizm genów kodujących składniki dopełniacza odgrywa podstawową rolę w indukcji odpowiedzi ochronnej przeciw wirusom grypy czy różyczki, molekularne podstawy tego mechanizmu nie zostały wyjaśnione [50]. Polimorfizm genów kodujących składniki dopełniacza (np. gen kodujący składnik C3b ma 34 dotychczas zidentyfikowane warianty) wskazuje na zasadność prowadzenia dalszych badań w tym kierunku [3].

### SPERSONALIZOWANA WAKCYNOLOGIA JAKO NOWA STRATEGIA PRZYGOTOWYWANIA ANTYGENU SZCZEPIONKOWEGO

Postęp technologiczny w dziedzinie immunologii, genetyki, biologii molekularnej oraz bioinformatyki umożliwił zapoczątkowanie nowego, tj. spersonalizowanego podejścia do opracowywania produktów leczniczych immunologicznych (w tym szczepionek) i sposobu ich dawkowania. Nowe podejście zakłada ocenę wpływu genetycznie uwarunkowanej międzyosobniczej zmienności odpowiedzi immunologicznej przez badania stopnia i zakresu polimorfizmu genów, powiązań wpływu wielu genów, komplementacji i dziedziczonych modyfikacji epigenetycznych z udziałem wyskospecjalistycznych technologii bioinformatyki z udziałem przesiewowych badań genetycznych [90].

Spersonalizowanie szczepień, określane również indywidualizacją szczepień, łączy się z opracowaniem nowej strategii wyboru i przygotowania antygeny szczepionkowego w celu ograniczenia do minimum genetycznie uwarunkowanych zdarzeń nieskuteczności szczepień lub niepożądanych odczynów poszczepiennych u osób narażonych na ryzyko rozwoju poważnej choroby lub powikłań [84]. Szczepionki spersonalizowane określane są produktem niszowym, przeznaczonym dla osób, u których jest możliwa identyfikacja wysokiego ryzyka wystąpienia poważnych komplikacji po szczepieniu lub tych osób, u których po podaniu szczepionek konwencjonalnych jest brak lub obniżona odpowiedź poszczepienna. Dotychczasowe wyniki badań nad opracowaniem szczepionek przeciwnowotworowych wydają się przesądzać, że zastosowanie szczepionek spersonalizowanych na

potrzeby immunoprofilaktyki pozostaje jedynie kwestią czasu [39,84]. W przypadku szczepionek przeciw chorobom zakaźnym trudna może być akceptacja nowego podejścia do szczepień oraz koszty. Koncepcja spersonalizowanych szczepionek pozostaje w „konflikcie” z obowiązującym modelem opracowywania oraz stosowania powszechnych szczepień. Natomiast diagnostyka profilu genetycznego osoby przed wykonaniem szczepienia, poza niewątpliwymi korzyściami, wiąże się z koniecznością rozwiązań kwestii etycznych oraz wzrostem nakładów finansowych, w tym organizacji oraz kwalifikacji do szczepień.

Opracowanie spersonalizowanych szczepionek wiąże się z wyszukiwaniem w bazach sekwencji lub genotypów swoistych naturalnie procesowanych peptydów określonego drobnoustroju, wykonaniem analiz ich rozpoznawania, a następnie przeprowadzeniem syntezy peptydów, które będą prezentowane przez różne warianty alleli HLA i rozpoznawane przez receptory komórek T i B. Stopień zaawansowania badań wskazuje, że pierwszą szczepionką spersonalizowaną, w której substancją czynną będą peptydy zdolne do związania wielu wariantów alleli HLA, mogą być szczepionki przeciw odrze, śwince i różyczce. Prace nad ich opracowaniem mają przede wszystkim na celu ominięcie niekorzystnego wpływu wiązania antygenów konwencjonalnej szczepionki MMR u nosicieli haplotypów HLA A\*29-Cw16-B\*44 oraz HLA I: B44 i B58 [72,75]. Istotnym powodem jej opracowania jest konieczność wyeliminowania ograniczeń stosowania, tj. m.in. możliwego braku odpowiedzi na szczepienie w okresie noworodkowym i niemowlęcym ze względu na neutralizujące działanie na antygeny szczepionkowe matczynych przeciwciał lub braku możliwości stosowania szczepionek żywych u osób z niedoborami odporności.

Odpowiedni dobór peptydów w składzie szczepionki powinien indukować odpowiedź immunologiczną wśród wszystkich nosicieli polimorficznych wariantów genów [20,72,73,74,119]. Dotychczas zidentyfikowano 13 immunogennych peptydów wirusa odrzy, które mogą być zastosowane jako antygeny szczepionki spersonalizowanej w celu ominięcia ograniczeń dotychczas wykrytego polimorfizmu genów HLA [43,66,74]. Optymalne określenie liczby oraz składu antygenów szczepionkowych wymaga oceny częstości występowania określonych wariantów alleli HLA w populacji w odniesieniu do ich zdolności rozpoznawania wytypowanych peptydów [7,24,73]. Określenie pełnego repertuaru alleli genów HLA występujących w populacji i ocena ich efektywności w indukcji odpowiedzi immunologicznej przez wybrane mieszaniny peptydów może pozwolić na opracowanie kilku szczepionek skutecznych swoiście dla poszczególnych subpopulacji [33,66].

Skład wybranych peptydów powinien zapewniać indukcję odpowiedzi immunologicznej niezależnej, czyli niewymagającej aktywacji receptorów, których polimorfizm w szczepionkach konwencjonalnych negatywnie wpływa na jej poziom (np. receptor SLAM w przypadku



wirusa odrzy). Jak wskazują dotychczasowe badania, odpowiedź na szczepienie przeciw odrze jest dziedziczna w 90%, a polimorfizm w identyfikowanych genach kodujących czynniki odpowiedzi immunologicznej znacząco wpływa na odpowiedź organizmu wywołaną przez szczepionkę przeciw odrze [82]. Zidentyfikowano 13 nowych naturalnie i niezależnie od uwarunkowań genetycznych procesowanych peptydów wirusa odrzy klasy II HLA - DRB1\*0301 [43,74], 116 naturalnie i powszechnie procesowanych peptydów wirusa krowianki klasy I HLA (A\*0201, B\*1501, C\*03) [41,42], a także 17 peptydów ptasiej grypy H5N1 klasy I HLA A\*0201 [82].

Innym kierunkiem badań, w poszukiwaniu poprawy skuteczności szczepień przeciw odrze są badania związane z wyjaśnieniem wpływu polimorfizmu genu kodującego TLR3 na obniżoną odpowiedź humoralną i komórkową po podaniu szczepionki [21].

Odpowiedź po podaniu szczepionki może, zgodnie ze stanem aktualnej wiedzy, być profilowana oraz przewidywalna. Wyróżnienie markerów odpowiedzi immunologicznej, które decydują o powstającej odpowiedzi poszczepiennej może być ważnym elementem spersonalizowanej wakcynologii. Wiemy, że na podstawie profili markerów C1QB i EIF2AK4 oraz TNFRS17 można przewidzieć działania komórek T CD8+ oraz indukcję przeciwciał neutralizujących po podaniu szczepionki przeciw żółtej febrze [92], a poziom ekspresji kinazy CAM-KIV już w 3 dni po podaniu trójwalentnej szczepionki przeciw grypie pozwala ocenić jej skuteczność [63].

Oczywiście rozwój szczepionki spersonalizowanej wiąże się z pytaniem co jest bardziej opłacalne i efektywne: (i) przygotowanie szczepionki spersonalizowanej dla zidentyfikowanych grup docelowych, np. osób otyłych w przypadku szczepień przeciw wzw B czy populacji rdzennych mieszkańców Ameryki Północnej w przypadku szczepień przeciw wzw B lub przeciw *H. influenzae* typu b [100,104] czy (ii) opracowanie nowych szczepionki, np. w postaci mieszanin peptydów (peptide cocktails) z adiuwantami, indukujących oczekiwaną optymalną odpowiedź immunologiczną u różnych pod względem genetycznym osób [117]. Zakładając, że opracowanie i rejestracja szczepionki spersonalizowanej do podawania określonym grupom jest obecnie ze względów finansowych i prawnych niemożliwa, bardziej realnym rozwiązaniem pozostaje opracowanie nowych szczepionki skutecznych u osób o różnym podłożu genetycznym. Z tą ostatnią możliwością wiąże się konieczność wykonania badań przesiewowych, które pozwolą zidentyfikować osoby z grup ryzyka, którym docelowo w miejsce szczepionki konwencjonalnej powinna zostać podana szczepionka zmodyfikowana lub w przyszłości spersonalizowana.

#### **ADWERSOMIKA JAKO BADANIA GENETYCZNYCH UWARUNKOWAŃ POWSTAWANIA NOP**

Zakres reakcji na podanie szczepionki w populacji jest zawsze w pewnym stopniu zróżnicowany, podobnie jak

odpowiedź immunologiczna indukowana szczepieniem. Obecnie brak jeszcze narzędzi diagnostycznych, które umożliwiłyby rutynowe przewidywanie odpowiedzi immunologicznej osoby szczepionej. Niemniej już dzisiaj istnieją wiarygodne przesłanki wskazujące na możliwość zidentyfikowania markerów diagnostycznych w celu podejmowania decyzji o kwalifikacji do szczepień [16,95].

Niepożądane odczyny poszczepienne (NOP) to niepożądane objawy chorobowe, pozostające w związku czasowym z wykonaniem szczepieniem ochronnym, które mogą zostać zakwalifikowane jako ciężkie, poważne lub łagodne odczyny poszczepienne. NOP mogą być wynikiem indywidualnej reakcji organizmu po podaniu dawki szczepionki, błędem wykonania szczepionki, jej podania lub też zjawisk niezależnych bezpośrednio od szczepienia. Wyniki klinicznych badań bezpieczeństwa żywej szczepionki przeciw ospie prawdziwej, wskazują na najczęstsze występowanie NOP wśród dotychczas zarejestrowanych szczepionek. Zgony osób zaszczepionych przeciw ospie prawdziwej notowano z częstością 1-2/100 tys., a oszacowane ryzyko rozwoju zapalenia mięśnia sercowego na 1/14 000 [2,31]. Badania wskazują, że wśród zaszczepionych na ospę prawdziwą żołnierzy Stanów Zjednoczonych, u 13-15% osób stwierdzono gorączkę, a zapalenie mięśnia sercowego występowało z częstością 1/12 819 [31]. Analiza podstaw nadmiernej odczynowości po podaniu szczepionki wskazuje na rolę zmian w stężeniach cytokin szlaków Th1/Th2 [97]. Zaobserwowano, że indukcja profilu cytokin, tj. G-CSF, monokiny indukowanej IFN- $\gamma$  (CXCL9), wewnątrzkomórkowej cząsteczki 1 adhezji, eotaksyny i tkankowego inhibitora metaloproteiny-2 u osób o wysokim ryzyku narażenia prowadziła do rozwoju NOP po szczepieniu [59]. Przypuszczano, że wyjaśnienie uwarunkowań genetycznych częstszego powstawania zapalenia mięśnia sercowego wymaga badań nad wpływem polimorfizmu genów kodujących IL-1 i IL-18, ponieważ pewne haplotypy w genach kodujących IL-1, IL-4, IL-18 dotychczas wpływały na podwyższenie ryzyka wystąpienia gorączki lub drgawek gorączkowych po podaniu szczepionki MMR oraz szczepionki przeciw ospie [2,31,107,113]. W dwóch niezależnych badaniach klinicznych wykazano, że obecność pojedynczego SNP w genie kodującym reduktazę metylenotetrahydrofolianu oraz dwóch SNP w genie kodującym czynnik 1 regulujący wytwarzanie interferonu może wskazywać na zwiększone ryzyko wystąpienia uogólnionych odczynów po szczepieniu przeciw ospie prawdziwej [95]. Niedawno potwierdzono, że zmienność nabytej odpowiedzi humoralnej i komórkowej po podaniu szczepionki przeciw ospie prawdziwej w grupie ponad 1000 zdrowych osób dorosłych była uzależniona nie tylko od obecności określonych SNP w genach kodujących IL-1, -4 i -18, ale także SNP w genach kodujących IL-12A, IL-10RA i IL-4R (powiązanych z niskim poziomem wytwarzania IFN- $\gamma$ ) oraz od nosicielstwa swoistych alleli HLA [78,86]. Podobne problemy dotyczą immunogenności oraz odczynowości zarejestrowanych podjednostkowych szczepionki przeciw wąglikowi, przygotowywanych

z nadszycy hodowli atenuowanego szczepu *Bacillus anthracis*. Szczepionki te zostały zarejestrowane głównie w oparciu o badania wykonane u zwierząt ze względu na sporadyczny charakter tych zakażeń u ludzi. Powinny być dostępne w razie konieczności, przy czym ich odczynowość u ludzi pozostaje niedoszacowana i budzi duże obawy [38]. W tym przypadku opracowanie szczepionki spersonalizowanej, zdolnej do omińnięcia barier związanych z brakiem lub nadmierną odpowiedzią u osób zaszczepionych – nosicieli określonych genotypów HLA może być jedyną nadzieją.

Wyniki dotyczące powiązań NOP i uwarunkowań genetycznych wśród osób szczepionych przeciw ospie prawdziwej wskazują na potrzebę poszukiwań roli polimorfizmu genetycznego w powstawaniu poważnych działań niepożądanych po podaniu innych silnie odczynowych szczepionek, tj. przeciw wąglikowi, żółtej gorączce, ptasiej grypie czy też możliwościach poszukiwania takich uwarunkowań dla zespołu Guillaina-Barrégo [30,31,48]. Dane na temat bezpieczeństwa szczepionki pandemicznej przeciw grypie H1N1 wskazywały na zwiększone ryzyko problemów neurologicznych. Przypuszcza się, że z rozwojem narkolepsji wiąże się nosicielstwo HLA DQB1\*06:02, a ze stwardnieniem rozsianym HLA DRB1\*15:01 [26,114]. Obecnie podkreślana jest konieczność podjęcia planowanych badań o odpowiednio dobranych punktach końcowych, w celu realnego oszacowania oceny ryzyka rozwoju ciężkich NOP, które zagrażają życiu i mogą prowadzić do upośledzenia fizycznego lub umysłowego, a nawet śmierci.

### ROLA BADAŃ BLIŹNIĄT

Badania polimorfizmu genów związanych z rozwojem odpowiedzi poszczepiennej z udziałem bliźniąt mogą wykluczyć wpływ wielu innych czynników na poziom indukowanych przeciwciał i odpowiedź komórkową. Udział bliźniąt pozwala wykluczyć wpływ obecności oraz poziomu przeciwciał matczynych, sposobu przechowywania szczepionek i wykonania samego szczepienia, niezidentyfikowanych w chwili szczepienia procesów chorobowych, diety oraz czynników genetycznych np. związanych z rasą. Bliźnięta, wychowujące się razem są narażone na niemal takie same czynniki, które mogą wpłynąć na poziom indukowanej odpowiedzi poszczepiennej np. na choroby zakaźne; najczęściej szczepione są w tym samym czasie, taką samą serią szczepionki przechowywanej w taki sam sposób; poddawane są badaniom w tym samym wieku, posiadają to samo rodzeństwo i środowisko rodzinne. Identyfikacja warunków zewnętrznych czyni je idealnym modelem do badań wpływu czynników środowiskowych wobec zidentyfikowanych uwarunkowań genetycznych – bliźniąt jednojajowych oraz dwujajowych. Różnice w indukowanej odpowiedzi poszczepiennej u bliźniąt jednojajowych mogą być pomocne w wykrywaniu wpływu różnego narażenia środowiskowego i szansy jego zmiany, a u bliźniąt dwujajowych mogą wynikać z różnego stopnia narażenia środowiskowego,

szansy jego zmiany i różnic genetycznych. Badania tego typu dotychczas wykonano w celu oszacowania udziału czynników genetycznych i środowiskowych w narażeniu na różne choroby zakaźne [40,49,53,109]. Wysoki stopień dziedziczności (77%) odpowiedzi indukowanych przeciwciał IgG po podaniu szczepionki przeciw wzv B wykazano w grupie 207 5-miesięcznych bliźniąt z Gambii [64]. Podobny poziom odpowiedzi przeciwciał po podaniu szczepionek przeciw poliomyelitis, tężcowi i błonicy wykazano odpowiednio u 60, 44 i 49% bliźniąt. Znaczący wpływ podłoża genetycznego bliźniąt (39-65%) wykazano w poziomie indukowanych IFN- $\gamma$  i IL-13 po podaniu szczepionek przeciw tężcowi, krztuścowi oraz szczepionki BCG [64]. Inne badania wykonane w grupie 147 jednojajowych i 43 dwujajowych bliźniąt wykazało dziedziczny (około 51%) poziom odpowiedzi przeciwciał IgG przeciw Hib [53]. Dziedzicznie uwarunkowany poziom przeciwciał przeciw odrze, śwince i różyczce wykazano, odpowiednio u 88,5, 38,5 i 45,7% badanych 100 par bliźniąt szczepionych szczepionką MMR [70,71,106,109].

### ROZWÓJ WAKCYNOMIKI W PRZYSZŁOŚCI

Dotąd polimorfizm genów HLA oraz innych genów kodujących poszczególne elementy odpowiedzi immunologicznej powiązано ze zmiennością odpowiedzi poszczepiennej w genetycznie zróżnicowanych populacjach. Identyfikacja zmienności w regulatorowych obszarach genów w połączeniu z analizą potencjalnych biomarkerów transkrypcyjnych oraz identyfikacją epigenetycznych zmian dziedzicznych w profilach ekspresji, przy braku modyfikacji DNA genów kodujących poszczególne czynniki odpowiedzi immunologicznej, pozwoli na wytypowanie potencjalnych nowych składników szczepionek [61]. Ocena wpływu polimorfizmu genetycznego na odpowiedź immunologiczną wymaga rzetelnego planowania i krytycznej oceny wyników badań z użyciem odpowiednio reprezentatywnej informacji genetycznej (mała liczba badanych genów może być traktowana jako badanie pilotowe) [8,90]. Wykrycie określonego powiązania SNP czy allelu z obniżoną odpowiedzią poszczepienną nie zwalnia od wykonania badań powtórnych oraz walidacji, szczególnie jeżeli związek wykryto w grupie etnicznej czy rasy [33]. Niezbędna jest organizacja dobrze zaplanowanych badań z uwzględnieniem kosztów i konieczności publicznego udostępniania baz danych i biobanków.

Przyszłość wakcynomiki jest ukierunkowana na wakcynologię spersonalizowaną. Na decyzję o potrzebie zaszczepienia pacjenta będzie miała wpływ jego genetyczna podatność na daną chorobę, w odniesieniu do działania ochronnego po podaniu dawki szczepionki i ewentualnego ryzyka wystąpienia niepożądanych odczynów poszczepiennych.

### PODSUMOWANIE

Dostępność zaawansowanych technologii sekwencjonowania nowej generacji, możliwości wykonywania analiz

genomu, transkryptomu oraz zmian epigenetycznych miały znaczny wpływ na dzisiejszą medycynę. Wyniki badań zmienności genomów chorobotwórczych drobnoustrojów oraz poznanie genomów ludzi za pomocą tych technologii wpłynęły na zmianę podejścia do wakcynologii. Obecnie dziedzina ta przyczynia się do opracowywania nowych antygenów szczepionkowych przeciw patogenom, dla których wybór antygenów na podstawie przedklinicznych i klinicznych badań porównawczych, zawiódł. Dostępne wyniki badań wskazują, że wybór i sposób przygotowania nowych antygenów szczepionkowych w przyszłości będzie się opierał z jednej strony na zaawansowanej analizie pangenu drobnoustroju,

a z drugiej na ocenie zdolności wyróżnionych antygenów do wzbudzenia ochronnej odpowiedzi poszczepiennej z uwzględnieniem zmienności międzyosobniczej u ludzi. Wakcynologia wkraczając w swój drugi „złoty wiek” niewątpliwie pozwoli na identyfikację wpływu genetycznych uwarunkowań w powstawaniu skutecznej odpowiedzi immunologicznej po podaniu szczepionek oraz genetycznej podatności na powstawanie niepożądanych odczynów poszczepiennych. Dalszy rozwój tych zaawansowanych badań umożliwi opracowanie dokładnych metod przewidywania prawdopodobieństwa kompleksowych reakcji układu immunologicznego na podanie szczepionek.

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Andre F.E., Booy R., Bock H.L., Clemens J., Datta S.K., John T.J., Lee B.W., Lolekha S., Peltola H., Ruff T.A., Santosham M., Schmitt H.J.: Vaccination greatly reduces disease, disability, death and inequity worldwide. *Bull. World Health Organ.*, 2008; 86: 140-146
- [2] Arness M.K., Eckart R.E., Love S.S., Atwood J.E., Wells T.S., Engler R.J., Collins L.C., Ludwig S.L., Riddle J.R., Grabenstein J.D., Tornberg D.N.: Myopericarditis following smallpox vaccination. *Am. J. Epidemiol.*, 2004; 160: 642-651
- [3] Awdeh Z.L., Alper C.A.: Inherited polymorphism of human C4 as revealed by desialylation. *Immunobiology*, 1980; 158: 35-41
- [4] Bambini S., Rappuoli R.: The use of genomics in microbial vaccine development. *Drug. Discov. Today*, 2009; 14: 252-260
- [5] Barbosa T., Barral-Netto M.: Challenges in the research and development of new human vaccines. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 2013; 46: 103-108
- [6] Black F.L., Hierholzer W., Woodall J.P., Pinheiro F.: Intensified reactions to measles vaccine in unexposed populations of american Indians. *J. Infect. Dis.*, 1971; 124: 306-317
- [7] Bui H.H., Peters B., Assarsson E., Mbwaike I., Sette A.: Ab and T cell epitopes of influenza A virus, knowledge and opportunities. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 246-251
- [8] Burgner D., Jamieson S.E., Blackwell J.M.: Genetic susceptibility to infectious diseases: big is beautiful, but will bigger be even better? *Lancet Infect. Dis.*, 2006; 6: 653-663
- [9] Carroll M.C.: The complement system in regulation of adaptive immunity. *Nat. Immunol.*, 2004; 5: 981-986
- [10] Chang J.: Current progress on development of respiratory syncytial virus vaccine. *BMB Rep.*, 2011; 44: 232-237
- [11] Clifford H.D., Richmond P., Khoo S.K., Zhang G., Yerkovich S.T., Le Souëf P.N., Hayden C.M.: SLAM and DC-SIGN measles receptor polymorphisms and their impact on antibody and cytokine responses to measles vaccine. *Vaccine*, 2011; 29: 5407-5413
- [12] Collins A., Lonjou C., Morton N.E.: Genetic epidemiology of single-nucleotide polymorphisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999; 96: 15173-15177
- [13] Collins F.S.: Shattuck lecture-medical and societal consequences of the Human Genome Project. *N. Engl. J. Med.*, 1999; 341: 28-37
- [14] Collins F.S., McKusick V.A.: Implications of the Human Genome Project for medical science. *JAMA*, 2001; 285: 540-544
- [15] Cooper C.L., Davis H.L., Morris M.L., Efler S.M., Adhami M.A., Krieg A.M., Cameron D.W., Heathcote J.: CPG 7909, an immunostimulatory TLR9 agonist oligodeoxynucleotide, as adjuvant to Engerix-B HBV vaccine in healthy adults: a double-blind phase I/II study. *J. Clin. Immunol.*, 2004; 24: 693-701
- [16] Crowe J.E. Jr.: Genetic predisposition for adverse events after vaccination. *J. Infect. Dis.*, 2007; 196: 176-177
- [17] Deshpande A., Wheeler C.M., Hunt W.C., Peyton C.L., White P.S., Valdez Y.E., Nolan J.P.: Variation in HLA class I antigen-processing genes and susceptibility to human papillomavirus type 16-associated cervical cancer. *J. Infect. Dis.*, 2008; 197: 371-381
- [18] Desombere I., Willems A., Leroux-Roels G.: Response to hepatitis B vaccine: multiple HLA genes are involved. *Tissue Antigens*, 1998; 51: 593-604
- [19] Dhiman N., Ovsyannikova I.G., Cunningham J.M., Vierkant R.A., Kennedy R.B., Pankratz V.S., Poland G.A., Jacobson R.M.: Associations between measles vaccine immunity and single-nucleotide polymorphisms in cytokine and cytokine receptor genes. *J. Infect. Dis.*, 2007; 195: 21-29
- [20] Dhiman N., Ovsyannikova I.G., Vierkant R.A., Pankratz V.S., Jacobson R.M., Poland G.A.: Associations between cytokine/cytokine receptor single nucleotide polymorphisms and humoral immunity to measles, mumps and rubella in a Somali population. *Tissue Antigens* 2008; 72: 211-220
- [21] Dhiman N., Ovsyannikova I.G., Vierkant R.A., Ryan J.E., Pankratz V.S., Jacobson R.M., Poland G.A.: Associations between SNPs in toll-like receptors and related intracellular signaling molecules and immune responses to measles vaccine: preliminary results. *Vaccine*, 2008; 26: 1731-1736
- [22] Dhiman N., Poland G.A., Cunningham J.M., Jacobson R.M., Ovsyannikova I.G., Vierkant R.A., Wu Y., Pankratz V.S.: Variations in measles vaccine-specific humoral immunity by polymorphisms in SLAM and CD46 measles virus receptors. *J. Allergy. Clin. Immunol.*, 2007; 120: 666-672
- [23] Dobaño C., Campo J.J.: Understanding protective immune mechanisms induced by malaria vaccines in the context of clinical trials. *Hum. Vaccin.*, 2009; 5: 562-565
- [24] Doolan D.L., Southwood S., Chesnut R., Appella E., Gomez E., Richards A., Higashimoto Y.I., Maewal A., Sidney J., Gramzinski R.A., Mason C., Koech D., Hoffman S.L., Sette A.: HLA-DR-promiscuous T cell epitopes from *Plasmodium falciparum* pre-erythrocytic-stage antigens restricted by multiple HLA class II alleles. *J. Immunol.*, 2000; 165: 1123-1137
- [25] Falugi F., Petracca R., Mariani M., Luzzi E., Mancianti S., Carinci

- V., Melli M.L., Finco O., Wack A., Di Tomasso A., De Magistris M.T., Costantino P., Del Giudice G., Abrignani S., Rappuoli R. i wsp.: Rationally designed strings of promiscuous CD4<sup>+</sup> T cell epitopes provide help to *Haemophilus influenzae* type b oligosaccharide: a model for new conjugate vaccines. *Eur. J. Immunol.*, 2001; 31: 3816-3824
- [26] Gilbert S.C.: Influenza vaccines and immunopathology. *Expert Rev. Vaccines*, 2012; 11: 873-875
- [27] Gostout B.S., Poland G.A., Calhoun E.S., Sohni Y.R., Giuntoli R.L., McGovern R.M., Sloan J.A., Cha S.S., Persing D.H.: TAP1, TAP2, and HLA-DR2 alleles are predictors of cervical cancer risk. *Gynecol. Oncol.*, 2003; 88: 326-332
- [28] Gottlieb S.L., Johnston C.: Future prospects for new vaccines against sexually transmitted infection. *Curr. Opin. Infect. Dis.*, 2017; 30: 77-86
- [29] Grygorowicz M.A., Kozłowska E.: Udział receptorów TLR rozpoznających wzorce molekularne organizmów patogennych w modulowaniu aktywności regulatorowych limfocytów T CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>. *Post. Mikrobiol.*, 2011; 50: 141-154
- [30] Haber P., DeStefano F., Angulo F.J., Iskander J., Shadomy S.V., Weintraub E., Chen R.T.: Guillain-Barré syndrome following influenza vaccination. *JAMA*, 2004; 292: 2478-2481
- [31] Halsell J.S., Riddle J.R., Atwood J.E., Gardner P., Shope R., Poland G.A., Gray G.C., Ostroff S., Eckart R.E., Hospenthal D.R., Gibson R.L., Grabenstein J.D., Arness M.K., Tornberg D.N., Department of Defense Smallpox Vaccination Clinical Evaluation Team: Myopericarditis following smallpox vaccination among vaccinia-naive US military personnel. *JAMA*, 2003; 289: 3283-3289
- [32] Haralambieva I.H., Ovsyannikova I.G., Dhiman N., Kennedy R.B., O'Byrne M., Pankratz V.S., Jacobson R.M., Poland G.A.: Common SNPs/haplotypes in IL18R1 and IL18 genes are associated with variations in humoral immunity to smallpox vaccination in Caucasians and African Americans. *J. Infect. Dis.*, 2011; 204: 433-441
- [33] Haralambieva I.H., Ovsyannikova I.G., Kennedy R.B., Vierkant R.A., Pankratz V.S., Jacobson R.M., Poland G.A.: Associations between single nucleotide polymorphisms and haplotypes in cytokine and cytokine receptor genes and immunity to measles vaccination. *Vaccine*, 2011; 29: 7883-7895
- [34] He Y., Rappuoli R., De Groot A.S., Chen R.T.: Emerging vaccine informatics. *J. Biomed. Biotechnol.*, 2010; 2010: 218590
- [35] Heer A.K., Shamshiev A., Donda A., Uematsu S., Akira S., Kopf M., Marsland B.J.: TLR signaling fine-tunes anti-influenza B cell responses without regulating effector T cell responses. *J. Immunol.*, 2007; 178: 2182-2191
- [36] Hemmer B., Pinilla C., Gran B., Vergelli M., Ling N., Conlon P., McFarland H.F., Houghten R., Martin R.: Contribution of individual amino acids within MHC molecule or antigenic peptide to TCR ligand potency. *J. Immunol.*, 2000; 164: 861-871
- [37] Höhler T., Reuss E., Evers N., Dietrich E., Rittner C., Freitag C.M., Vollmar J., Schneider P.M., Fimmers R.: Differential genetic determination of immune responsiveness to hepatitis B surface antigen and to hepatitis A virus: a vaccination study in twins. *Lancet*, 2002; 360: 991-995
- [38] Ingram R., Baillie L.: It's in the genes! Human genetic diversity and the response to anthrax vaccines. *Expert. Rev. Vaccines*, 2012; 11: 633-635
- [39] Itoh K., Yamada A.: Personalized peptide vaccines: a new therapeutic modality for cancer. *Cancer Sci.*, 2006; 97: 970-976
- [40] Jacobson R.M., Ovsyannikova I.G., Targonski P.V., Poland G.A.: Studies of twins in vaccinology. *Vaccine*, 2007; 25: 3160-3164
- [41] Johnson K.L., Ovsyannikova I.G., Madden B.J., Poland G.A., Muddiman D.C.: Accurate mass precursor ion data and tandem mass spectrometry identify a class I human leukocyte antigen A\*0201-presented peptide originating from vaccinia virus. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 2005; 16: 1812-1817
- [42] Johnson K.L., Ovsyannikova I.G., Mason C.J., Bergen H.R. 3rd, Poland G.A.: Discovery of naturally processed and HLA-presented class I peptides from vaccinia virus infection using mass spectrometry for vaccine development. *Vaccine*, 2009; 28: 38-47
- [43] Johnson K.L., Ovsyannikova I.G., Poland G.A., Muddiman D.C.: Identification of class II HLA-DRB1\*03-bound measles virus peptides by 2D-liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J. Proteome Res.*, 2005; 4: 2243-2249
- [44] Johnston M.I., Fauci A.S.: An HIV vaccine - challenges and prospects. *N. Engl. J. Med.*, 2008; 359: 888-890
- [45] Jin P., Wang E.: Polymorphism in clinical immunology - From HLA typing to immunogenetic profiling. *J. Transl. Med.*, 2003; 1: 8
- [46] Khoury M.J., Little J.: Human genome epidemiologic reviews: the beginning of something HuGE. *Am. J. Epidemiol.*, 2000; 151: 2-3
- [47] Kim M.J., Nafziger A.N., Harro C.D., Keyserling H.L., Ramsey K.M., Drusano G.L., Bertino J.S. Jr.: Revaccination of healthy nonresponders with hepatitis B vaccine and prediction of seroprotection response. *Vaccine*, 2003; 21: 1174-1179
- [48] Kitchener S.: Viscerotropic and neurotropic disease following vaccination with the 17D yellow fever vaccine, ARILVAX. *Vaccine*, 2004; 22: 2103-2105
- [49] Konradsen H.B., Henrichsen J., Wachmann H., Holm N.: The influence of genetic factors on the immune response as judged by pneumococcal vaccination of mono- and dizygotic Caucasian twins. *Clin. Exp. Immunol.*, 1993; 92: 532-536
- [50] Kopf M., Abel B., Gallimore A., Carroll M., Bachmann M.F.: Complement component C3 promotes T-cell priming and lung migration to control acute influenza virus infection. *Nat. Med.*, 2002; 8: 373-378
- [51] Kruger A., Adams P., Hammer J., Böcher W.O., Schneider P.M., Rittner C., Hoehler T.: Hepatitis B surface antigen presentation and HLA-DRB1\* - lessons from twins and peptide binding studies. *Clin. Exp. Immunol.*, 2005; 140: 325-332
- [52] Lee H.G., Lim J.S., Lee K.Y., Choi Y.K., Choe I.S., Chung T.W., Kim K.: Peptide-specific CTL induction in HBV-seropositive PBMC by stimulation with peptides in vitro: novel epitopes identified from chronic carriers. *Virus Res.*, 1997; 50: 185-194
- [53] Lee Y.C., Newport M.J., Goetghebuer T., Siegrist C.A., Weiss H.A., Pollard A.J., Marchant A., MRC Twin Study Group: Influence of genetic and environmental factors on the immunogenicity of Hib vaccine in Gambian twins. *Vaccine*, 2006; 24: 5335-5340
- [54] Lewis L.A., Ram S., Prasad A., Gulati S., Getzlaff S., Blom A.M., Vogel U., Rice P.A.: Defining targets for complement components C4b and C3b on the pathogenic neisseriae. *Infect. Immun.*, 2008; 76: 339-350
- [55] Lipińska A., Bieńkowska-Szewczyk K.: Nowe szczepionki przeciw herpeswirusom i wektory herpeswirusowe w terapii człowieka. *Post. Mikrobiol.*, 2010; 49: 199-207
- [56] Mahmoud A.: New vaccines: challenges of discovery. *Microb. Biotechnol.*, 2016; 9: 549-552
- [57] Manolio T.A., Brooks L.D., Collins F.S.: A HapMap harvest of insights into the genetics of common disease. *J. Clin. Invest.*, 2008; 118: 1590-1605
- [58] Mata-Haro V., Cekic C., Martin M., Chilton P.M., Casella C.R., Mitchell T.C.: The vaccine adjuvant monophosphoryl lipid A as a TRIF-biased agonist of TLR4. *Science*, 2007; 316: 1628-1632
- [59] McKinney B.A., Reif D.M., Rock M.T., Edwards K.M., Kingsmore S.F., Moore J.H., Crowe J.E. Jr.: Cytokine expression patterns associated with systemic adverse events following smallpox immunization. *J. Infect. Dis.*, 2006; 194: 444-453
- [60] Mitchell L.A., Zhang T., Tingle A.J.: Differential antibody re-

sponses to rubella virus infection in males and females. *J. Infect. Dis.*, 1992; 166: 1258-1265

[61] Mora M., Telford J.L.: Genome-based approaches to vaccine development. *J. Mol. Med.*, 2010; 88: 143-147

[62] Murata Y.: Respiratory syncytial virus vaccine development. *Clin. Lab. Med.*, 2009; 29: 725-739

[63] Nakaya H.I., Wrammert J., Lee E.K., Racioppi L., Marie-Kunze S., Haining W.N., Means A.R., Kasturi S.P., Khan N., Li G.M., McCausland M., Kanchan V., Kokko K.E., Li S., Elbein R. i wsp.: Systems biology of vaccination for seasonal influenza in humans. *Nat. Immunol.*, 2011; 12: 786-795

[64] Newport M.J., Goetghebuer T., Weiss H.A., Whittle H., Siegrist C.A., Marchant A., MRC Gambia Twin Study Group: Genetic regulation of immune responses to vaccines in early life. *Genes Immun.*, 2004; 5: 122-129

[65] Orzechowska B., Antoszków Z., Błach-Olszewska Z.: Individual differentiation of innate antiviral immunity in humans; the role of endogenous interferons and tumor necrosis factor in the immunity of leukocytes. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 2003; 51: 51-60

[66] Ota M.O., Ndhlovu Z., Oh S., Piyasirisilp S., Berzofsky J.A., Moss W.J., Griffin D.E.: Hemagglutinin protein is a primary target of the measles virus-specific HLA-A2-restricted CD8<sup>+</sup> T cell response during measles and after vaccination. *J. Infect. Dis.*, 2007; 195: 1799-1807

[67] Ovsyannikova I.G., Haralambieva I.H., Kennedy R.B., Pankratz V.S., Vierkant R.A., Jacobson R.M., Poland G.A.: Impact of cytokine and cytokine receptor gene polymorphisms on cellular immunity after smallpox vaccination. *Gene*, 2012; 510: 59-65

[68] Ovsyannikova I.G., Haralambieva I.H., Vierkant R.A., O'Byrne M.M., Jacobson R.M., Poland G.A.: The association of CD46, SLAM and CD209 cellular receptor gene SNPs with variations in measles vaccine-induced immune responses: a replication study and examination of novel polymorphisms. *Hum. Hered.*, 2011; 72: 206-223

[69] Ovsyannikova I.G., Haralambieva I.H., Vierkant R.A., Pankratz V.S., Jacobson R.M., Poland G.A.: The role of polymorphisms in Toll-like receptors and their associated intracellular signaling genes in measles vaccine immunity. *Hum. Genet.*, 2011; 130: 547-561

[70] Ovsyannikova I.G., Jacobson R.M., Dhiman N., Vierkant R.A., Pankratz V.S., Poland G.A.: HLA homozygosity does not adversely affect measles vaccine-induced cytokine responses. *Virology*, 2007; 364: 87-94

[71] Ovsyannikova I.G., Jacobson R.M., Dhiman N., Vierkant R.A., Pankratz V.S., Poland G.A.: Human leukocyte antigen and cytokine receptor gene polymorphisms associated with heterogeneous immune responses to mumps viral vaccine. *Pediatrics*, 2008; 121: 1091-1099

[72] Ovsyannikova I.G., Jacobson R.M., Vierkant R.A., Pankratz V.S., Poland G.A.: HLA supertypes and immune responses to measles-mumps-rubella viral vaccine: findings and implications for vaccine design. *Vaccine*, 2007; 25: 3090-3100

[73] Ovsyannikova I.G., Johnson K.L., Bergen H.R. 3rd, Poland G.A.: Mass spectrometry and peptide-based vaccine development. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2007; 82: 644-652

[74] Ovsyannikova I.G., Johnson K.L., Muddiman D.C., Vierkant R.A., Poland G.A.: Identification and characterization of novel, naturally processed measles virus class II HLA-DRB1 peptides. *J. Virol.*, 2004; 78: 42-51

[75] Ovsyannikova I.G., Pankratz V.S., Vierkant R.A., Jacobson R.M., Poland G.A.: Human leukocyte antigen haplotypes in the genetic control of immune response to measles-mumps-rubella vaccine. *J. Infect. Dis.*, 2006; 193: 655-663

[76] Ovsyannikova I.G., Pankratz V.S., Vierkant R.A., Jacobson R.M., Poland G.A.: Consistency of HLA associations between two independent measles vaccine cohorts: a replication study. *Vaccine*, 2012; 30: 2146-2152

[77] Panatto D., Amicizia D., Lai P.L., Gasparini R.: Neisseria meningitidis B vaccines. *Expert Rev. Vaccines*, 2011; 10: 1337-1351

[78] Pankratz V., Poland G., Ovsyannikova I.G., Ryan J., Ryan M., Dhiman N., Kennedy R., Vierkant R.A., Jacobson R.M.: SNPs in cytokine and cytokine receptor genes are associated with the immunological heterogeneity to smallpox vaccination - preliminary results; 48th Annual ICAAC/IDSA 46th Annual Meeting; Washington, DC, USA. 25-28 Oct. 2008 (Abstract G401)

[79] Perera L.P., Waldmann T.A., Mosca J.D., Baldwin N., Berzofsky J.A., Oh S.K.: Development of smallpox vaccine candidates with integrated interleukin-15 that demonstrate superior immunogenicity, efficacy, and safety in mice. *J. Virol.*, 2007; 81: 8774-8783

[80] Pierce B.G., Keck Z.Y., Fong S.K.: Viral evasion and challenges of hepatitis C virus vaccine development. *Curr. Opin. Virol.*, 2016; 20: 55-63

[81] Poland G.A.: Hepatitis B immunization in health care workers. Dealing with vaccine nonresponse. *Am. J. Prev. Med.*, 1998; 15: 73-77

[82] Poland G.A., Kennedy R.B., Ovsyannikova I.G.: Vaccinomics and personalized vaccinology: is science leading us toward a new path of directed vaccine development and discovery? *PLoS Pathog.*, 2011; 7: e1002344

[83] Poland G.A., Ovsyannikova I.G., Jacobson R.M.: Vaccine immunogenetics: bedside to bench to population. *Vaccine*, 2008; 26: 6183-6188

[84] Poland G.A., Ovsyannikova I.G., Jacobson R.M.: Personalized vaccines: the emerging field of vaccinomics. *Expert Opin. Biol. Ther.*, 2008; 8: 1659-1667

[85] Poland G.A., Ovsyannikova I.G., Jacobson R.M.: Adversomics: the emerging field of vaccine adverse event immunogenetics. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 2009; 28: 431-432

[86] Poland G.A., Ovsyannikova I.G., Jacobson R.M.: Application of pharmacogenomics to vaccines. *Pharmacogenomics*, 2009; 10: 837-852

[87] Poland G.A., Ovsyannikova I.G., Jacobson R.M., Smith D.I.: Heterogeneity in vaccine immune response: the role of immunogenetics and the emerging field of vaccinomics. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2007; 82: 653-664

[88] Poland G.A., Ovsyannikova I.G., Jacobson R.M., Vierkant R.A., Jacobsen S.J., Pankratz V.S., Schaid D.J.: Identification of an association between HLA class II alleles and low antibody levels after measles immunization. *Vaccine*, 2001; 20: 430-438

[89] Poland G.A., Ovsyannikova I.G., Kennedy R.B., Haralambieva I.H., Jacobson R.M.: Vaccinomics and a new paradigm for the development of preventive vaccines against viral infections. *OMICS*, 2011; 15: 625-636

[90] Poland G.A., Whitaker J.A., Poland C.M., Ovsyannikova I.G., Kennedy R.B.: Vaccinology in the third milenium: scientific and social challenges. *Curr. Opin. Virol.*, 2016; 17: 116-125

[91] Prabdial-Sing N., Puren A.J., Bowyer S.M.: Sequence-based *in silico* analysis of well studied hepatitis C virus epitopes and their variants in other genotypes (particularly genotype 5a) against South African human leukocyte antigen backgrounds. *BMC Immunol.*, 2012; 13: 67

[92] Querec T.D., Akondy R.S., Lee E.K., Cao W., Nakaya H.I., Teuwen D., Pirani A., Gernert K., Deng J., Marzolf B., Kennedy K., Wu H., Bannouna S., Oluoch H., Miller J. i wsp.: Systems biology approach predicts immunogenicity of the yellow fever vaccine in humans. *Nat. Immunol.*, 2009; 10: 116-125

[93] Rappuoli R.: Bridging the knowledge gaps in vaccine design. *Nat. Biotechnol.*, 2007; 25: 1361-1366

[94] Reed Z.H., Friede M., Kienny M.P.: Malaria vaccine development: progress and challenges. *Curr. Mol. Med.*, 2006; 6: 231-245

[95] Reif D.M., McKinney B.A., Motsinger A.A., Chanock S.J., Edwards

- K.M., Rock M.T., Moore J.H., Crowe J.E.: Genetic basis for adverse events after smallpox vaccination. *J. Infect. Dis.*, 2008; 198: 16-22
- [96] Rinaudo C.D., Telford J.L., Rappuoli R., Seib K.L.: Vaccinology in the genome era. *J. Clin. Invest.*, 2009; 119: 2515-2525
- [97] Rock M.T., Yoder S.M., Talbot T.R., Edwards K.M., Crowe J.E. Jr.: Adverse events after smallpox immunizations are associated with alterations in systemic cytokine levels. *J. Infect. Dis.*, 2004; 189: 1401-1410
- [98] Roozendaal R., Carroll M.C.: Complement receptors CD21 and CD35 in humoral immunity. *Immunol. Rev.*, 2007; 219: 157-166
- [99] Sachidanandam R., Weissman D., Schmidt S.C., Kakol J.M., Stein L.D., Marth G., Sherry S., Mullikin J.C., Mortimore B.J., Willey D.L., Hunt S.E., Cole C.G., Coggill P.C.; Rice C.M., Ning Z. i wsp.: A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature*, 2001; 409: 928-933
- [100] Santosham M., Rivin B., Wolff M., Reid R., Newcomer W., Letson G.W., Almeida-Hill J., Thompson C., Siber G.R.: Prevention of Haemophilus influenzae type b infections in Apache and Navajo children. *J. Infect. Dis.*, 1992; 165: S144-S151
- [101] Schaid D.J., Haralambieva I.H., Larrabee B.R., Ovsyannikova I.G., Kennedy R.B., Poland G.A.: Heritability of vaccine-induced measles neutralizing antibody titers. *Vaccine*, 2017; 35: 1390-1394
- [102] Sette A., Rappuoli R.: Reverse vaccinology: developing vaccines in the era of genomics. *Immunity*, 2010; 33: 530-541
- [103] Shrestha S., Wang C., Aissani B., Wilson C.M., Tang J., Kaslow R.A.: Interleukin-10 gene (IL10) polymorphisms and human papillomavirus clearance among immunosuppressed adolescents. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2007; 16: 1626-1632
- [104] Siber G.R., Santosham M., Reid G.R., Thompson C., Almeida-Hill J., Morell A., deLange G., Ketcham J.K., Callahan E.H.: Impaired antibody response to Haemophilus influenzae type b polysaccharide and low IgG2 and IgG4 concentrations in Apache children. *N. Engl. J. Med.*, 1990; 323: 1387-1392
- [105] Sidney J., Southwood S., Mann D.L., Fernandez-Vina M.A., Newman M.J., Sette A.: Majority of peptides binding HLA-A\*0201 with high affinity crossreact with other A2-supertype molecules. *Hum. Immunol.*, 2001; 62: 1200-1216
- [106] St Sauver J.L., Dhiman N., Ovsyannikova I.G., Jacobson R.M., Vierkant R.A., Pankratz V.S., Jacobsen S.J., Poland G.A.: Extinction of the human leukocyte antigen homozygosity effect after two doses of the measles-mumps-rubella vaccine. *Hum. Immunol.*, 2005; 66: 788-798
- [107] Stanley S.L.Jr., Frey S.E., Taillon-Miller P., Guo J., Miller R.D., Koboldt D.C., Elashoff M., Christensen R., Saccone N.L., Belshe R.B.: The immunogenetics of smallpox vaccination. *J. Infect. Dis.*, 2007; 196: 212-219
- [108] Summary of opinion – Mosquirix. Plasmodium falciparum and hepatitis B vaccine (recombinant, adjuvanted) – 23 July 2015; EMA/CHMP/464758/2015. [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Medicine\\_for\\_use\\_outside\\_EU/2015/10/WC500194576.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Medicine_for_use_outside_EU/2015/10/WC500194576.pdf) (07.06.2017)
- [109] Tan P.L., Jacobson R.M., Poland G.A., Jacobsen S.J., Pankratz V.S.: Twin studies of immunogenicity - determining the genetic contribution to vaccine failure. *Vaccine*, 2001; 19: 2434-2439
- [110] Tanabe M., Kurita-Taniguchi M., Takeuchi K., Takeda M., Ayata M., Ogura H., Matsumoto M., Seya T.: Mechanism of up-regulation of human Toll-like receptor 3 secondary to infection of measles virus-attenuated strains. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2003; 311: 39-48
- [111] Thio C.L., Carrington M., Marti D., O'Brien S.J., Vlahov D., Nelson K.E., Astemborski J., Thomas D.L.: Class II HLA alleles and hepatitis B virus persistence in African Americans. *J. Infect. Dis.*, 1999; 179: 1004-1006
- [112] Thursz M.: Pros and cons of genetic association studies in hepatitis B. *Hepatology*, 2004; 40: 284-286
- [113] Vestergaard M., Hviid A., Madsen K.M., Wohlfahrt J., Thorsen P., Schendel D., Melbye M., Olsen J.: MMR vaccination and febrile seizures: evaluation of susceptible subgroups and long-term prognosis. *JAMA*, 2004; 292: 351-357
- [114] Vrethem M., Malmgren K., Lindh J.: A patient with both narcolepsy and multiple sclerosis in association with Pandemrix vaccination. *J. Neurol. Sci.*, 2012; 321: 89-91
- [115] Wang C., Tang J., Song W., Lobashevsky E., Wilson C.M., Kaslow R.A.: HLA and cytokine gene polymorphisms are independently associated with responses to hepatitis B vaccination. *Hepatology*, 2004; 39: 978-988
- [116] Weigl J.A.: RSV - a substantial slice of the airway disease burden and the way to a vaccine. *Paediatr. Int. Child Health*, 2012; 32: S9-S15
- [117] Yamada A., Sasada T., Noguchi M., Itoh K.: Next-generation peptide vaccines for advanced cancer. *Cancer Sci.*, 2013; 104: 15-21
- [118] Yucesoy B., Johnson V.J., Fluharty K., Kashon M.L., Slaven J.E., Wilson N.W., Weissman D.N., Biagini R.E., Germolec D.R., Luster M.I.: Influence of cytokine gene variations on immunization to childhood vaccines. *Vaccine*, 2009; 27: 6991-6997
- [119] Zilliox M.J., Moss W.J., Griffin D.E.: Gene expression changes in peripheral blood mononuclear cells during measles virus infection. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2007; 14: 918-923

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.