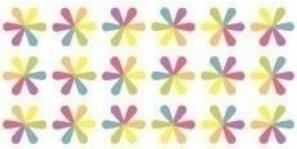


Razvoj novih cepiv na osnovi DNA in RNA proti virusu SARS- CoV-2

Prof.dr. Borut Štrukelj, mag.farm

Fakulteta za farmacijo Univerze v Ljubljani



6. konferenca učiteljev/-ic naravoslovnih predmetov – NAK 2021

IZZIVI AVTENTIČNOSTI V NARAVOSLOVNEM IZOBRAŽEVANJU



REPUBLIKA SLOVENIJA
MINISTRSTVO ZA IZOBRAŽEVANJE,
ZNANOST IN ŠPORT



Preprečevanje nalezljivih bolezni

- Črne koze (smallpox) → 500.000 smrti na leto (Evropa, 18. stoletje)
- Opažanja:
 - Posamezniki, ki so preboleli **in preživeli** črne koze ob naslednji izpostavitvi ne zbolijo
 - Posamezniki, ki zbolijo za boleznijo kravjih koz (*Variola vaccinia*) so imuni na virus črnih koz (*Poxvirus hominis*)
- **Edward A. Jenner** (“oče imunologije”): **1798** – uvede pojem **vakcina**
 - Z virusom kravjih koz okuži **sina svojega vrtnarja**, ki je posledično postal imun na virus črnih koz
 - Prvo uspešno cepivo



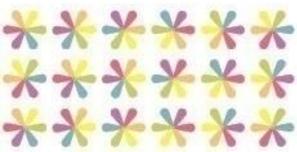
VRSTE CEPIV:

- **Živa oslabiljena (atenuirana):**
 - *posebno gojenje (in selekcija)*
 - *gensko spremenjene (delecije virulenčnih genov)*
- **“Mrtva” (inaktivirana):**
 - *obdelava s toploto in/ali kemikalijami (formaldehid, β -propiolakton)*
- **Cepiva iz očiščenih delov mikroorganizmov**
 - *površinski antigeni (glikoproteini, polisaharidi)*
 - *Toksoidi (inaktivirani bakterijski toksini)*
- **Konjugirana cepiva**
 - *površinski antigen povezan s proteinskim nosilcem*

Rekombinantna cepiva

rekombinantni beljakovinski antigen plus adjuvans

RNA/DNA cepiva-trenutno edina na voljo v EU



Leto 1972, Jugoslavija: Novi Pazar-Beograd....



6. konferenca učiteljev/-ic naravoslovnih predmetov – NAK 2021

IZZIVI AVTENTIČNOSTI V NARAVOSLOVNEM IZOBRAŽEVANJU



Zavod
Republika
Slovenija
za šolstvo



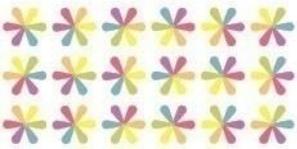
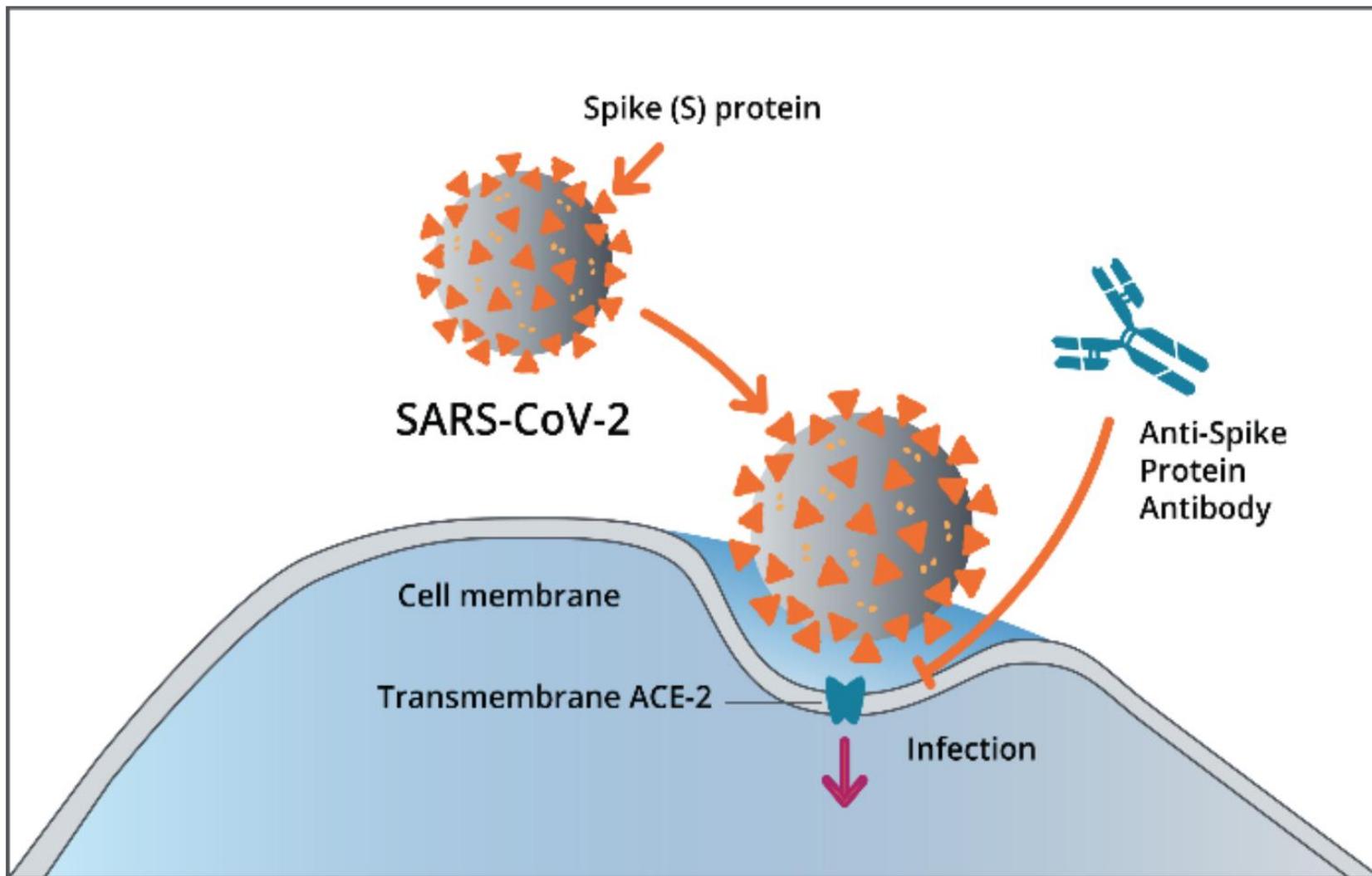
REPUBLIKA SLOVENIJA
MINISTRSTVO ZA IZOBRAŽEVANJE,
ZNANOST IN ŠPORT



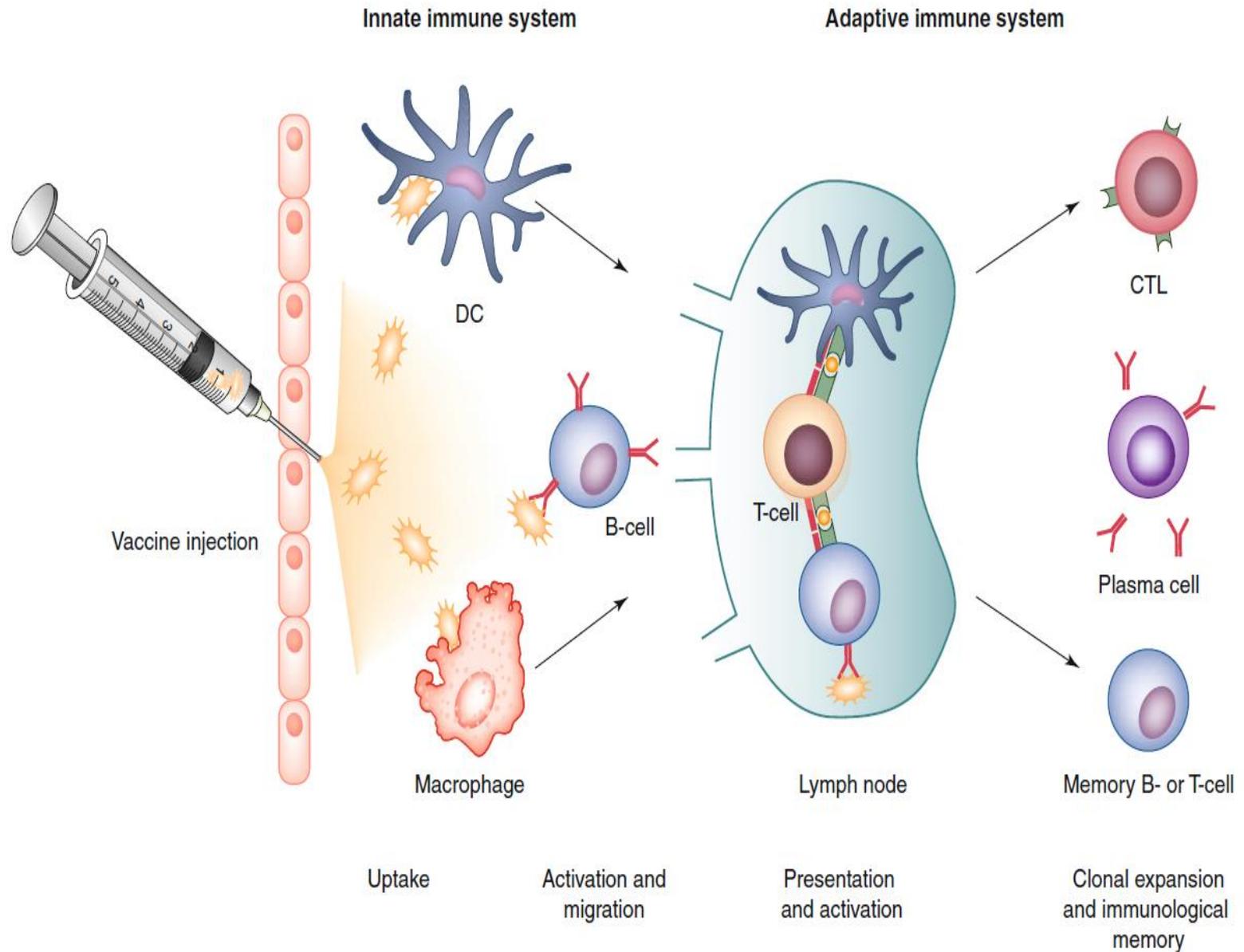
Obvezno cepljenje (vojska!), v 14. dnevih so precepili vso Jugoslavijo



Najbolj izpostavljen antigen pri SARS-CoV-2 je **S-protein**



Kaj se zgodi po vstopu antigena v organizem?



Razvojna pot cepiv

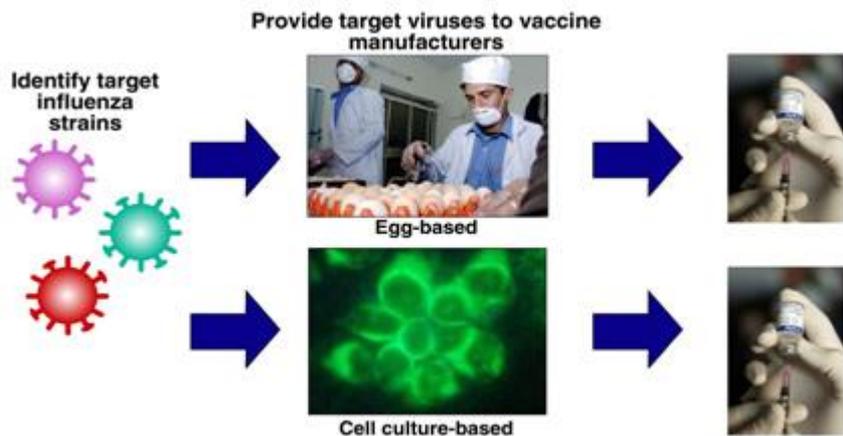
-Ne glede na vrsto cepiva, je pot razvoja cepiv natančno določena po smernicah ICH, WHO, EMA, FDA). Faze razvoja so:

- Izbira vrste cepiva in optimizacija laboratorijske faze ter kasneje proizvodnje
- Predklinična testiranja, ki zajemajo določanje imunogenosti in toksičnosti
- Klinična testiranja varnosti in učinkovitosti (Faze I-III)
- Registracijski postopek
- Izdelava, kontrola kakovosti in spremljanje vseh učinkov skozi daljše obdobje



Pridobivanje cepiv

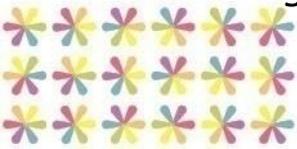
- **UČINKOVINA:** → antigen (virus, bakterija, rekombinantni protein, **DNA, mRNA**)



- **adjuvansi** → snovi, ki okrepijo imunski odgovor na vnesen antigen
 - Al- soli (*Al-K-sulfat, Al-hidroksid*), *skvalen*, ...
- **konzervansi:** *2-fenoksietanol, tiomersal* (ga opuščajo, v SLO ga ni)
- **stabilizatorji:** *sladkorji, albumini, želatina...*
- **antioksidanti:** *askorbinska kislina*
- **soli:** *izotoničnost, evhidričnost*
- **voda za injekcije**

- **CEPIVA NE VSEBUJEJO!**

- , *nanočipov, rakavih celic,*
- *reprogramiranih genomskih sistemov*
- *drog...*



6. konferenca učiteljev/-ic naravoslovnih predmetov – NAK 2021

IZZIVI AVTENTIČNOSTI V NARAVOSLOVNEM IZOBRAŽEVANJU



Gojenje virusov na oplojenih kokošjih jajcih



6. konferenca učiteljev/-ic naravoslovnih predmetov – NAK 2021

IZIZIVI AVTENTIČNOSTI V NARAVOSLOVNEM IZOBRAŽEVANJU



REPUBLIKA SLOVENIJA
MINISTRSTVO ZA IZOBRAŽEVANJE,
ZNANOST IN ŠPORT



Gojitev virusov v sesalskih celičnih kulturah (He-La, HEK-293)



© Novartis Vaccines



6. konferenca učiteljev/-ic naravoslovnih predmetov – NAK 2021

IZZIVI AVTENTIČNOSTI V NARAVOSLOVNEM IZOBRAŽEVANJU



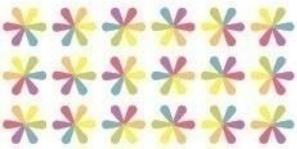
REPUBLIKA SLOVENIJA
MINISTRSTVO ZA IZOBRAŽEVANJE,
ZNANOST IN ŠPORT



So cepiva učinkovita?

Obolevnost in smrtnost zaradi nalezljivih bolezni na letni ravni v ZDA

	Obdobje pred cepljenjem (1930-1960)		Obdobje po cepljenju (2004-2006)	
	Oboleli	Umrli	Oboleli	Umrli
<i>Bolezen</i>				
<i>Davica</i>	21 053	1822	0	0
<i>Ošpice</i>	530 217	440	55	0
<i>Otroška paraliza</i>	16 316	1879	0	0
<i>Oslovski kašelj</i>	200 752	4034	15 632	27
<i>Tetanus</i>	580	472	41	4
<i>Vodene koze</i>	4 085 120	105	48 445	19
<i>Hepatitis A</i> <i>(cepivo uvedeno leta 1995)</i>	117 333	137	3579	18



So cepiva varna?

Vsa cepiva imajo neželene učinke!

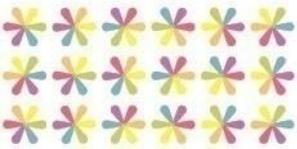
- **Lokalni (NI NEŽELEN UČINEK)**
 - *rdečina, bolečina, oteklina na mestu cepljenja*
- **Sistemiški**
 - *povišana telesna temperatura,*
 - *pojav blage oblike bolezni, sinkopa (omedlevica)*
- **Alergične reakcije**
 - *urtikarija, anafilaktični šok (1/1.000.000 cepljenj)*

Slovenija (2012)

578.318 odmerkov cepiv – 374 prijav neželenih učinkov (0,06%, 1/1500 ljudi)

- *Samo lokalni – 99 primerov (26,5%)*
- *Sistemiški (+lokalni) – 275 primerov (73,5%)*
 - *Utrujenost, glavobol, povišana temperatura (211)*
 - *Encefalopatija (1)*
 - *Krči po telesu (9)*
 - *Težja alergijska reakcija (0)*

Amoksicilin: neželeni učinki 1/10-100 ljudi!!!



6. konferenca učiteljev/-ic naravoslovnih predmetov – NAK 2021

IZZIVI AVTENTIČNOSTI V NARAVOSLOVNEM IZOBRAŽEVANJU



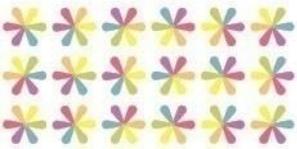
REPUBLIKA SLOVENIJA
MINISTRSTVO ZA IZOBRAŽEVANJE,
ZNANOST IN ŠPORT



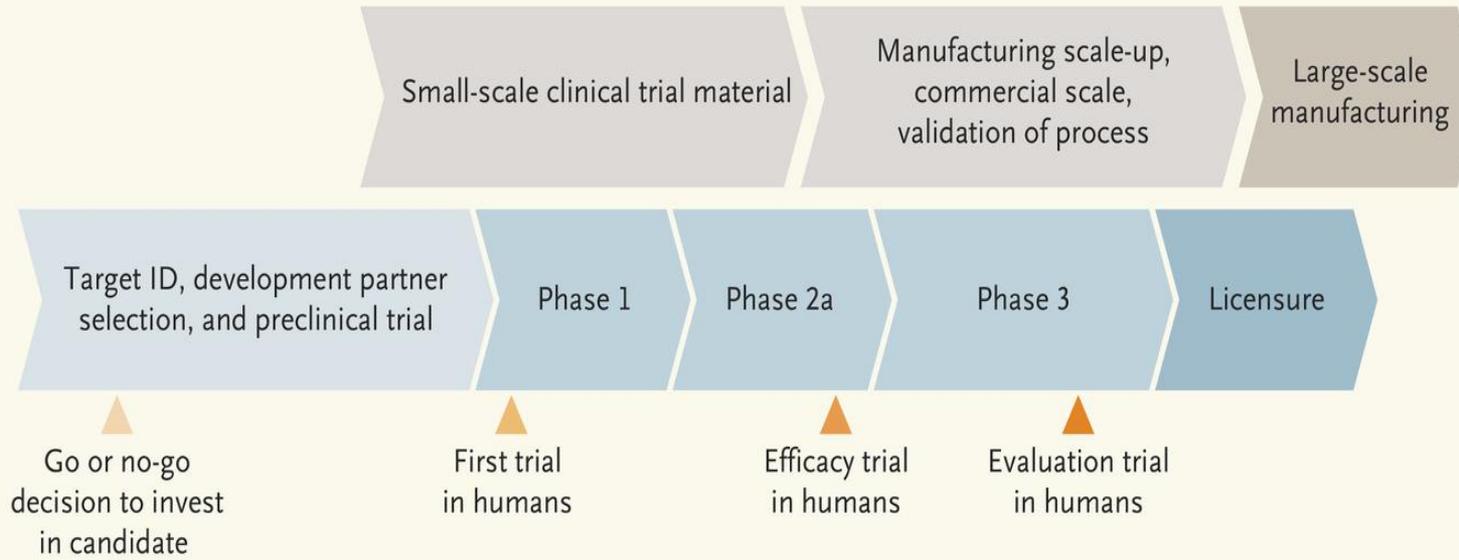
Razvoj cepiv pri pandemijah

1. Pandemijo razglasi WHO!
2. Že pred razglasitvijo farmacevtske družbe/konzorciji začnejo z aktivnostmi na osnovi izkušenj, kalkulacij in ocene velikosti serij!
3. Farmacevtske družbe podajo odločitev (**finančni vložek, kapacitete**)
4. Družbe zaprosijo za dodatno finančno pomoč in regulatorne oblasti (EMA, FDA) za skrajšan postopek odobritve (**iz 210 dni na 70 dni**)
5. V fazi II že vključijo povečanje zmogljivosti (tudi do 50X) za proizvodnjo
6. Dovoljeno je združevati klinične faze : I/II, II/III

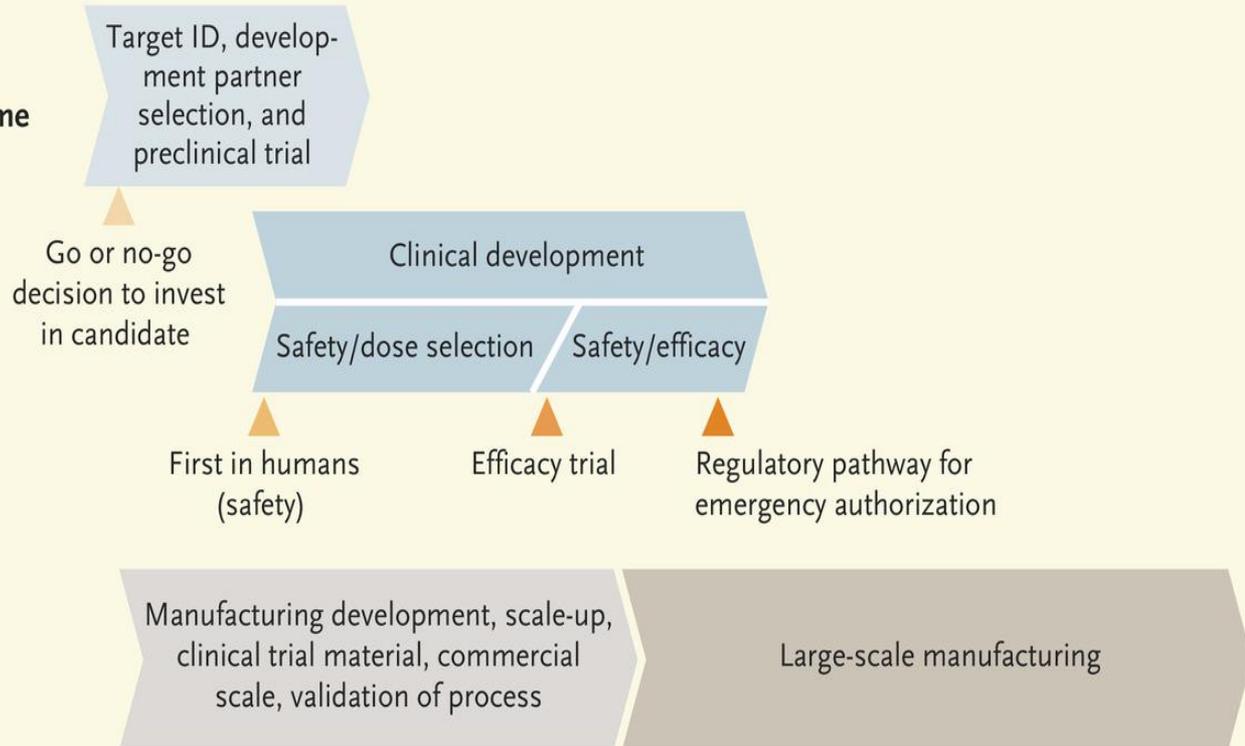
KAJ ČE V FAZI II/III ZAČNE KROŽITI RAZLIČICA VIRUSA Z MUTIRANIM ANTIGENOM? (V primeru SARS-CoV-2 verjetno mutiranim „spike“ proteinom)?



**Traditional Paradigm —
Multiple Years**



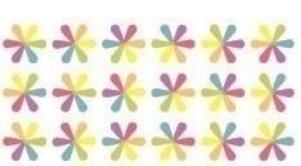
**Outbreak Paradigm —
Overlapping Phases
Shorten Development Time**



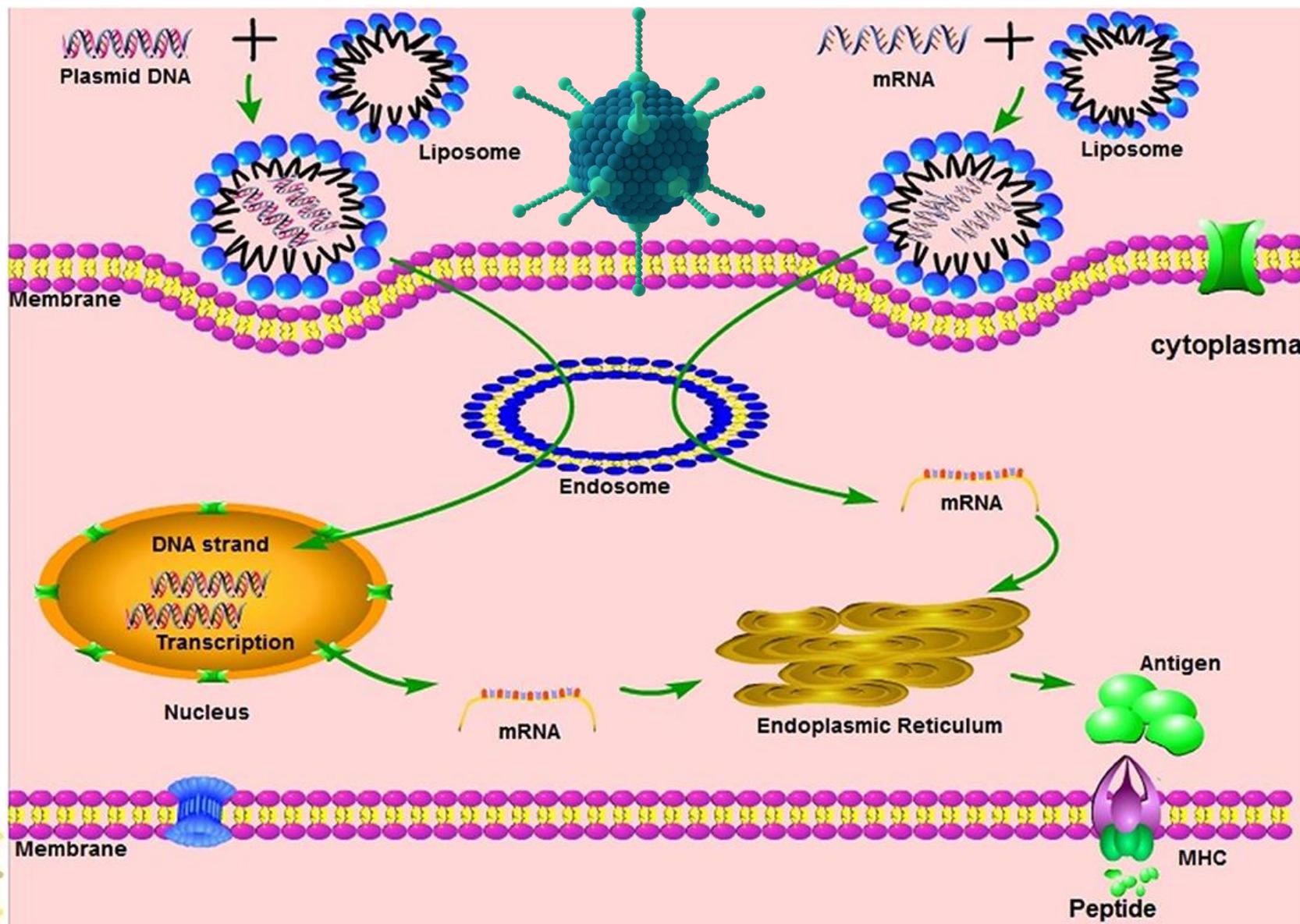
NOV PRISTOP PRI COVID-19: DNA, RNA cepiva:

Hitrost razvoja

- 1) Tehnologija se že uporablja v veterini (3 cepiva)
- 2) Tehnologija se razvija od leta 2013 (virus Ebola, Zika), nova cepiva v onkologiji (glavno delovanje BionTecha)
- 3) Izjemno veliko strokovnjakov, laboratorijev, pridobljenega znanja in finančnega vložka je vloženo v razvoj novih tehnologij
- 4) Regulatorni pristop FDA, EMA: spremljanje postopka razvoja v času faze II in III, skrajšanje časa odločive in izdaja omejenega dovoljenja do konca farmakovigilančne presoje



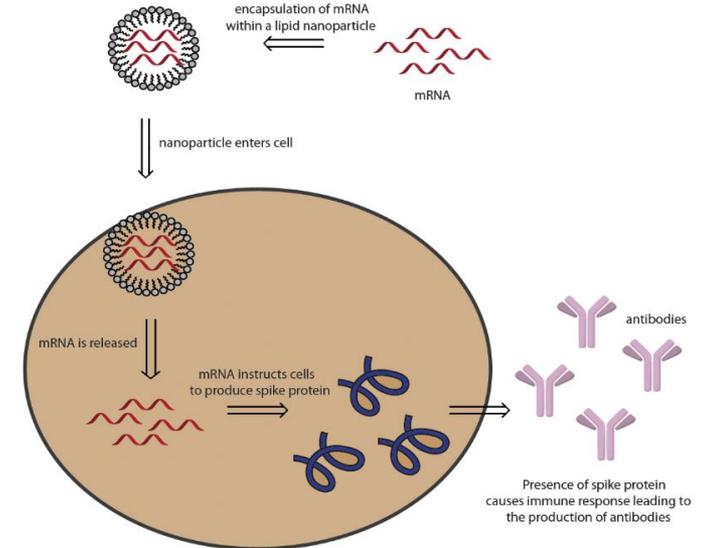
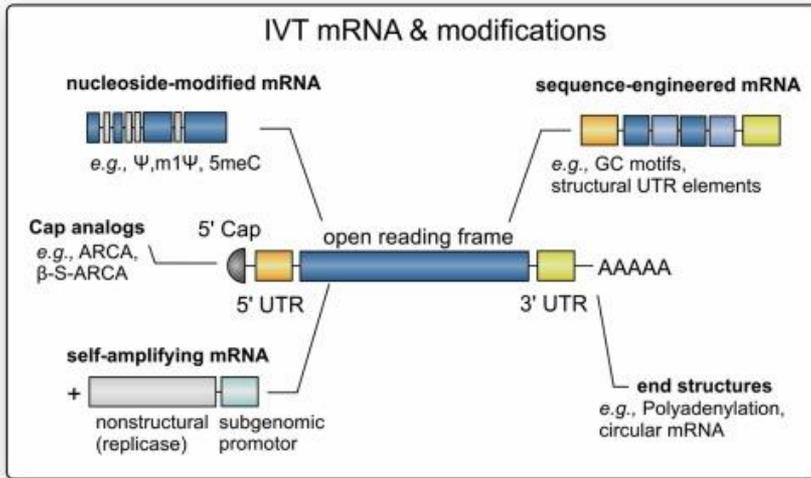
Mehanizem delovanja novih DNA in RNA cepiv



Vrsta cepiva	Razvojna osnova	Tarčni antigen	Proizvajalec	Klinična faza
Gen za virusni S-protein v APS	Gensko spremenjene APS z lentivirusnim vektorjem	S-protein, virusne proteaze	Shenzhen Geno-Immune Institute, Kitajska	Fazal/II
Gen za virusni S-protein v APS in citotoksični limfociti T	Gensko spremenjene APS z lentivirusnim vektorjem, i.v. infuzija limfocitov T	S-protein, poliproteinska proteaza	Shenzhen Geno-Immune Institute, Kitajska	Fazal/II
Rekombinantni adenovirus Ad26-nCov z genom za S-protein	Adenovirusni Ad26 vektor, i.m.	S-protein	JOHNSON&JOHNSON	odobren
Rekombinantni adenovirus AZD1222	(z delekcijo za podvojevanje) hAdOx1	S-protein	Univerza Oxford /AstraZeneca	odobren
Rekombinantni adenovirus Gam-COVID-Vac	Adenovirusni rekombinantni vektor 5 in 26, i.m.	S-protein	Gamaleya Institute, Rusija	odobren
Plazmid INO-4800	Gen za S-protein, vnos z elektroporacijo	S-protein	INOVIO Pharmaceuticals	Faza II
Plazmid in adjuvans AG0301	Gen za S-protein, i.m.	S-protein	AnGes/Univerza Osaka	Faza I/II
Plazmid GX-19	DNA, i.m.	S-protein	Genexin Inc, Južna Koreja	Faza I/II
Lipidni nanodelec z mRNA 1273	mRNA, i.m.	S-protein	Moderna Therapeutics, ZDA	odobren
Lipidni nanodelec z mRNA BNT162	mRNA, i.m.	4 virusni antigeni	BioNTech, Nemčija / Pfizer, ZDa	odobren
Lipidni nanodelec z mRNA CVnCoV	mRNA, i.m.	S-protein	CureVac, Nemčija	Faza III
Lipidni nanodelec z mRNA COVAC1	mRNA, i.m.	S-protein	Imperial College London, Anglija	Faza I/II
Protein + adjuvans NVX-CoV 2372	Proteinsko cepivo, i.m.	S-protein + Matrix adjuvans	Novavax, ZDA	Faza III
Protein + adjuvans SCB-2019	Proteinsko trimerno cepivo	S-protein, AS03, CpG, + Al adjuvans	Clover Biopharma/GSK, Avstralija	Faza I/II
SARS-CoV-2 virus PiCoVacc	Inaktiviran virus	Celoten virus + Al adjuvans	SinoVac, Kitajska	odobren
SARS-CoV-2 virus	Inaktiviran virus	Celoten virus	Kitajska akademija medicinskih znanosti	Faza I/II
SARS-CoV-2 virus	Inaktiviran virus	Celoten virus	Sinopharm, Kitajska	odobren



Sestava mRNA cepiv



Ingredients* included in mRNA COVID-19 vaccines

Description	Pfizer-BioNTech	Moderna
mRNA	Nucleoside-modified mRNA encoding the viral spike (S) glycoprotein of SARS-CoV-2	Nucleoside-modified mRNA encoding the viral spike (S) glycoprotein of SARS-CoV-2
Lipids	2[(polyethylene glycol)-2000]-N,N-ditetradecylacetamide	Polyethylene glycol (PEG) 2000 dimyristoyl glycerol (DMG)
	1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine	1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine
	Cholesterol	Cholesterol
	(4-hydroxybutyl)azanediylbis(hexane-6,1-diyl)bis(2-hexyldecanoate)	SM-102
	Salts, sugars, buffers	Potassium chloride Monobasic potassium phosphate Sodium chloride Dibasic sodium phosphate dihydrate Sucrose

RNA in DNA cepiva

- **Indikacija**

Zaščita pred izbruhom bolezni Covid-19 (**idealna**), pred hospitalizacijo (**osnovna**), običajno 2 odmerka (J&J 1 odmerek)

- **Katerim skupinam je namenjen?**

Vsem nad 16 let (Moderna) 18 let ostali

- **Ali se lahko cepijo nosečnice, bodoče mamice, otroci ?**

Ker klinična preskušanja niso vključila nosečnic in otrok pod 16 letom, zaenkrat proizvajalci odločitev prepuščajo osebnemu zdravniku. Zaradi velike varnosti RNA cepiv priporočamo cepljenje nosečnic z RNA cepivi.

Zanositev: 2 meseca po drugem odmerku

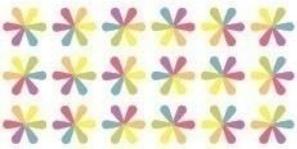
- **Ali se lahko cepijo bolniki s kroničnimi vnetnimi boleznimi?**

- DA (njim ne priporočamo konvencionalnih živih cepiv)

- **Ali se lahko cepijo bolniki, zdravljeni z imunosupresivi?**

- DA, a bo stopnja učinkovitosti mogoče nekoliko manjša

- **Ali so vektorska cepiva nevarnejša za ženske v rodnem obdobju (dolgoročni neželen učinek cepiv)?** NE (napačno povzemanje in razumevanje članka iz tuje literature)



Pojav novih podtipov virusa SARS-CoV-2

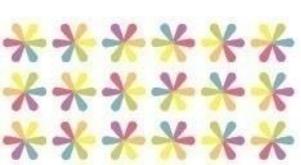
Kaj je mutacija:

- a) zamenjava ene ali več AK
- b) Delecija ene ali več AK
- c) Tiha mutacija brez sprememb AK

Virusi RNA (gripa, korona) hitreje mutirajo!

Mutacija lahko vpliva na hitrost širjenja ali resnost bolezni, lahko oslabi virus (pandemija izzveni) ali virus ojača v virulentnosti

Cepiva na osnovi RNA in DNA : različice že vsebujejo mutacije S proteina!!



ZAKLJUČKI

- Za vsako učinkovito in varno cepivo je potrebno strogo načrtovati, izvesti in upoštevati vse smernice in navodila
- Cepljenje naj bo prostovoljno, po možnosti brezplačno za uporabnika, a z veliko mero odgovornosti posameznika
- Resni neželeni učinki pri cepljenju so zelo redki (1-5/ milijon, povprečno skozi leta in vse vrste cepiv).
- Inovativni pristop in izjemno hiter razvoj cepiv proti virusu SARS-CoV-2 s popolnoma novimi, inovativnimi tehnologijami (vnos genskih konstruktov na osnovi RNA ali DNA) ne smejo biti vzrok za manjšo varnost!
- Z novimi pristopi razvijamo univerzalne platforme za hiter, učinkovit in varen razvoj cepiv proti drugim, prihajajočim novih virusnih in bakterijskih patogenov.

