
Η ανάπτυξη εμβολίου έναντι της ελικοβακτηριδιακής λοίμωξης

Σταύρος Σουγιουλτζής

Εισαγωγή

Το Ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού (*H. pylori*) είναι ίσως η συχνότερη λοίμωξη στον άνθρωπο. Υπολογίζεται ότι το 50% του παγκόσμιου πληθυσμού είναι μολυσμένο από τον μικροοργανισμό. Υπάρχουν σημαντικές διαφορές στον επιπολασμό και την επίπτωση της λοίμωξης μεταξύ των διαφόρων κρατών. Στις αναπτυσσόμενες περιοχές το ποσοστό των μολυσμένων ενηλίκων ανέρχεται στο 90%, ενώ στις αναπτυγμένες χώρες υπολογίζεται στο 40%.¹ Αυτό οφείλεται κυρίως στο γεγονός ότι το μικρόβιο μεταδίδεται ευκολότερα σε περιοχές με χαμηλό κοινωνικο-οικονομικό επίπεδο.²

Περίπου 20% των μολυσμένων ατόμων θα εμφανίσουν επιπλοκές της χρόνιας λοίμωξης, κυρίως πεπτικό έλκος. Ένα μικρότερο ποσοστό (~1%) θα εμφανίσει γαστρικό καρκίνο ή MALT λέμφωμα στομάχου.³ Δεδομένης της υψηλής συχνότητας της λοίμωξης σε παγκόσμιο επίπεδο, είναι σαφές ότι η νοσηρότητα και η θνητότητα που τη συνοδεύει είναι μεγάλη. Η αιτιολογική συσχέτιση του *H. pylori* με τα προαναφερθέντα νοσήματα έχει αλλάξει ριζικά τη θεραπευτική τους προσέγγιση αλλά και τη φυσική τους πορεία. Η τρέχουσα θεραπεία της *H. pylori* λοίμωξης περιλαμβάνει δύο αντιβιοτικά και αναστολείς της αντλίας πρωτονίων (τριπλή θεραπεία) με ποσοστό εκρίζωσης >80%. Αυτή η αγωγή, παρόλο ότι είναι αποτελεσματική και ασφαλής, είναι ακριβή και δεν προφυλάσσει από την επαναλοίμωξη. Είναι εξάλλου προφανές ότι είναι αδύνατο

να χορηγήσουμε αντιβιοτικά στο 1/2 του παγκόσμιου πληθυσμού για τον έλεγχο της λοίμωξης. Επιπροσθέτως, η χρήση των αντιβιοτικών οδηγεί σε ανθεκτικά στελέχη του ίδιου του μικροοργανισμού και συμβάλλει στην ανάπτυξη ανθεκτικών στελεχών άλλων μικροβίων. Οι λόγοι αυτοί οδήγησαν από νωρίς στην προσπάθεια ανάπτυξης εμβολίου με στόχο τον αποτελεσματικότερο, φθηνότερο και ασφαλέστερο έλεγχο της λοίμωξης και των επιπλοκών της. Είναι προφανές ότι το μεγαλύτερο όφελος από ένα εμβόλιο επιμερίζεται στις αναπτυσσόμενες χώρες, αν και η χορήγηση ενός προφυλακτικού εμβολίου θα ήταν οικονομικά συμφέρουσα στρατηγική και στον πληθυσμό των Ηνωμένων Πολιτειών.^{4,5} Ως γνωστό, ο προφυλακτικός εμβολιασμός στόχο έχει την εκρίζωση της λοίμωξης από το γενικό πληθυσμό και κλασικά χορηγείται στην παιδική ηλικία, ενώ ο θεραπευτικός τη θεραπεία της λοίμωξης σε ήδη μολυνθέντα άτομα.

Μελέτες σε πειραματόζωα

Αρχικές μελέτες σε τρωκτικά έδειξαν ότι τόσο ο προφυλακτικός⁶⁻⁸ όσο και ο θεραπευτικός εμβολιασμός⁹ είναι εφικτός. Έχουν χρησιμοποιηθεί πολλές στρατηγικές ανοσοποίησης στα πειραματόζωα, από τη χορήγηση κυτταρολύματος (lysate) του *H. pylori* και επιλεγμένων ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών (π.χ. ουρεάση, cagA, vacA, NAP) με ή χωρίς ανοσοδιεγέρτες (adjuvants) ως τη χορήγηση πρωτεϊνικών αντιγόνων του μικροοργανισμού ενσωματωμένες σε απενεργοποιημένους ιούς ή βακτήρια.^{10,11} Οι προσκολλητίνες BabA και SabA φαίνεται επίσης ότι είναι πιθανά αντιγόνα.^{12,13}

Δεδομένου ότι το *H. pylori* είναι μικρόβιο του γαστρικού βλεννογόνου έχουν δοκιμαστεί και η βλεννογονική (από το στόμα, τη μύτη, το ορθό) και η παρεντερική (ενδομυϊκή, υποδόρια) οδός χορήγησης των αντιγόνων με επιτυχία. Θα πρέπει να τονιστεί όμως ότι, παρόλα τα θετικά αποτελέσματα των πειραμάτων αυτών σε διάφορα μοντέλα και με διαφορετικές στρατηγικές, δεν έχει ακόμα αποσαφηνισθεί ο μηχανισμός που προστατεύει τα εμβολιαζόμενα ζώα. Όπως γίνεται εύκολα αντιληπτό η αποσαφήνιση του μηχανισμού προστασίας είναι το πιο σημαντικό βήμα για την ορθολογική εξέλιξη του εμβολίου.

Ανοσολογική απάντηση στην *H. pylori* λοίμωξη

Είναι γνωστό ότι η *H. pylori* λοίμωξη στον άνθρωπο, παρόλη την έντονη ανοσολογική αντίδραση του βλεννογόνου, μεταπίπτει σε χρονιότητα και επιμένει δια βίου. Φαίνεται λοιπόν ότι το ανοσολογικό σύστημα είναι ανεπαρκές για την αντιμετώπιση του μικροοργανισμού και αυτό πιθανόν οφείλεται αφενός στη μεγάλη ποικιλομορφία των στελεχών του *H. pylori*, το οποίο μεταλλάσσεται με ταχείς ρυθμούς¹⁴ και αφετέρου σε παράγοντες του μικροβίου (VacA, αργινάση)¹⁵⁻¹⁷ που εξασθενούν την ανοσολογική απόκριση, αναστέλλοντας κυρίως την ενεργοποίηση και τον πολλαπλασιασμό των T λεμφοκυττάρων.

Είναι γενικά αποδεκτό και έχει δειχθεί πειραματικά¹⁸ ότι τα CD4 (T βοηθητικά λεμφοκύτταρα) είναι απαραίτητα για την προστασία του γαστρικού βλεννογόνου, ενώ τα CD8 (T κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα) και τα αντισώματα μάλλον έχουν υποδεέστερο ρόλο. Αυτό επιβεβαιώνεται και από πειράματα που δείχνουν ότι η χορήγηση *H. pylori* – ειδικών CD4 T λεμφοκυττάρων σε επίμυες ασκεί προστατευτική δράση έναντι της λοίμωξης.^{19,20} Πολλές από τις στρατηγικές εμβολιασμού που έχουν δοκιμαστεί ως σήμερα διεγείρουν την παραγωγή αντισωμάτων έναντι των χορηγούμενων αντιγόνων και προσελκύουν ειδικά αντι-*H. pylori* CD4 T λεμφοκύτταρα στο γαστρικό βλεννογόνο των πειραματοζώων. Παρόλα αυτά, η παρεχόμενη προστασία κρίνεται ελλιπής και η έρευνα για άλλους παράγοντες που συνεισφέρουν στην προστασία του γαστρικού βλεννογόνου συνεχίζεται.

Πρόσφατες μελέτες αναδεικνύουν το ρόλο των ρυθμιστικών T λεμφοκυττάρων (Tregs) που διεγείρονται από την *H. pylori* λοίμωξη και εξασθενούν την ανοσολογική αντίδραση²¹ και το ρόλο των μαστοκυττάρων τα οποία φαίνεται ότι συμμετέχουν στους προστατευτικούς μηχανισμούς μέσω των κυτταροκινών που εκκρίνουν.²²

Όπως περιληπτικά εκτέθηκε παραπάνω (πρόσφατες ανασκοπήσεις εκθέτουν λεπτομερώς τις σημερινές μας γνώσεις^{10,23-25}), η αλληλεπίδραση του μικροβίου με το ανοσολογικό σύστημα του ανθρώπου είναι πολύπλοκη και ατελώς κατανοητή. Το γεγονός αυτό δυσκολεύει την εύρεση της κατάλληλης στρατηγικής ώστε να επιτευχθεί το μέγιστο της προστασίας του βλεννογόνου σε ενδεχόμενη μόλυνση από το *H. pylori*. Τα κύρια προβλήματα που πρέπει να επιλυθούν είναι η επιλογή του κατάλληλου αντιγόνου ή συνδυασμού αντιγόνων του μικροβίου, η οδός χορήγησης (βλεννογονική ή παρεντερική ή ο συνδυασμός τους), η ποσότητα του χορηγούμενου αντιγόνου (-ων) και η επιλογή του καταλληλότερου ανοσοδιεγέρτη (adjuvant). Οι ανοσοδιεγέρτες είναι ουσίες που μπορούν να ενισχύσουν ή να τροποποιήσουν την ανοσολογική απάντηση στο συγχωρηγούμενο αντιγόνο. Ανάλογα με το χρησιμοποιούμενο ανοσοδιεγέρτη μπορούμε επίσης να διεγείρουμε είτε το κυτταρικό (παραγωγή T βοηθητικών ή T κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων) ή το χυμικό (παραγωγή αντισωμάτων) σκέλος του ανοσολογικού συστήματος.^{26,27} Για παράδειγμα τα άλατα αλουμινίου (alum), που χρησιμοποιούνται σε πολλά από τα ήδη κυκλοφορούντα εμβόλια για παρεντερική χρήση, διεγείρουν κυρίως την παραγωγή αντισωμάτων. Στα πειραματικά εμβόλια που έχουν δοκιμαστεί για το *H. pylori* έχουν χρησιμοποιηθεί ως ανοσοδιεγέρτες η τοξίνη της χολέρας (CT) και η θερμοευαίσθητη τοξίνη του *E. Coli* (LT), τοξικά μόρια που μπορεί να έχουν παρενέργειες (κυρίως διάρροια) αλλά θεωρούνται «ισορροπημένοι» (balanced) ανοσοδιεγέρτες, δηλαδή διεγείρουν τόσο το κυτταρικό όσο και το χυμικό σκέλος του ανοσολογικού συστήματος.^{13,28}

Μελέτες σε ανθρώπους

Οι έως τώρα μελέτες σε ανθρώπους είναι λίγες και αφορούν κυρίως σε υγιείς εθελοντές με σκοπό τον έλεγχο της ασφάλειας και της αντιγονικότητας ερευνητικών

εμβολίων. Η πρώτη ενθαρρυντική μελέτη δημοσιεύτηκε το 1999 από τους Michetti και συν., που χορήγησαν ανασυνδυασμένη (recombinant) ουρεάση με LT σε *H. pylori* θετικούς εθελοντές και παρατήρησαν αύξηση των αντισωμάτων έναντι της ουρεάσης στον ορό και μείωση του βακτηριακού φορτίου στο γαστρικό βλεννογόνο.²⁹ Η από του στόματος χορήγηση της LT συνοδεύτηκε σε ένα ποσοστό των ασθενών, όπως ήταν αναμενόμενο, από διάρροια. Για το λόγο αυτό το ίδιο εμβόλιο χορηγήθηκε σε εντεροδιαλυτές κάψουλες και από το ορθό σε υγιείς εθελοντές με σκοπό τον έλεγχο της ασφάλειας και της αντιγονικότητας.^{28,30}

Άλλες ερευνητικές ομάδες χορήγησαν χημικά αδρανοποιημένα ολόκληρα ελικοβακτηρίδια³¹ ή ουρεάση ενσωματωμένη σε αδρανοποιημένα στελέχη σαλμονέλλας enterica (*S. enterica*)³²⁻³⁵ ως εμβόλια, με αμφίβολη όμως αποτελεσματικότητα.

Παρόλα αυτά, πρόσφατη μελέτη έδωσε ίσως τα καλύτερα αποτελέσματα έως τώρα. Οι Malfertheiner και συν.³⁶ διερεύνησαν την ασφάλεια και αποτελεσματικότητα σε υγιείς εθελοντές ενός ενδοκυτταρικού χορηγούμενου εμβολίου που αποτελείται από 3 γενετικά ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες του ελικοβακτηριδίου με γνωστή λοιμογόνο ικανότητα (VacA, CagA & HP-NAP) και άλατα αλουμινίου (Alum). Το παραπάνω εμβόλιο αποδείχθηκε ασφαλές ενώ σε 86% των εμβολιασθέντων προκάλεσε χυμική και κυτταρική ανοσοαπόκριση και στα 3 χορηγηθέντα αντιγόνα.

Όλες οι παραπάνω μελέτες δείχνουν ότι η ανάπτυξη εμβολίου έναντι του *H. pylori* δεν είναι ανέφικτος στόχος, αφού με διάφορους τρόπους μπορούμε να προκαλέσουμε αντι-*H. pylori* ανοσολογική απόκριση. Αναδεικνύουν επίσης τις δυσκολίες που έχουν τέτοιες μελέτες όταν πραγματοποιούνται σε ανθρώπους.

Συμπέρασμα

Η εξελίξη ενός εμβολίου έναντι της ελικοβακτηριδιακής λοίμωξης είναι δόκιμος και επιθυμητός στόχος με πολλά πιθανά οφέλη. Αποδείχθηκε όμως ότι δεν είναι εύκολα εφικτός. Ο κύριος λόγος είναι ότι το *H. pylori* συμβιώνει επί αιώνες με τον άνθρωπο και έχει μάθει να χειραγωγεί το ανοσολογικό του σύστημα. Η συνεχιζόμενη έρευνα φιλοδοξεί να αποσαφηνίσει τους μηχανισμούς που ενέχονται στην προστασία του βλεννογόνου έναντι της λοίμωξης με απώτερο σκοπό την επιλογή της κατάλληλης στρατηγικής ενεργητικής ανοσοποίησης.

Η ενθαρρυντική μελέτη των Malfertheiner και συν.³⁶ έδειξε ότι η παρεντερική χορήγηση των αντιγόνων του ελικοβακτηριδίου και alum είναι επιτυχής στην πρόκληση ανοσιακής απόκρισης. Απομένει να μελετηθεί η αποτελεσματικότητα του συγκεκριμένου ή παρόμοιου εμβολίου στην πρόληψη και θεραπεία της λοίμωξης στον άνθρωπο.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Perez-Perez GI, Rothenbacher D, Brenner H. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2004;9(Suppl 1):1-6.
2. Malaty HM, Graham DY. Importance of childhood socioeconomic status on the current prevalence of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1994;35:742-745.
3. Ernst PB, Gold BD. The disease spectrum of *Helicobacter pylori*: the immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer. *Annu Rev Microbiol* 2000;54:615-640.
4. Rupnow MF, Owens DK, Shachter R, Parsonnet J. *Helicobacter pylori* vaccine development and use: a cost-effectiveness analysis using the Institute of Medicine Methodology. *Helicobacter* 1999;4:272-280.
5. Rupnow MF, Chang AH, Shachter RD, Owens DK, Parsonnet J. Cost-effectiveness of a potential prophylactic *Helicobacter pylori* vaccine in the United States. *J Infect Dis* 2009;200:1311-1317.
6. Cortesy-Theulaz I, Porta N, Glauser M, et al. Oral immunization with *Helicobacter pylori* urease B subunit as a treatment against *Helicobacter* infection in mice. *Gastroenterology* 1995;109:115-121.
7. Crabtree JE. Eradication of chronic *Helicobacter pylori* infection by therapeutic vaccination. *Gut* 1998;43:7-8.
8. Michetti P, Cortesy-Theulaz I, Davin C, et al. Immunization of BALB/c mice against *Helicobacter felis* infection with *Helicobacter pylori* urease. *Gastroenterology* 1994;107:1002-1011.
9. Garhart CA, Nedrud JG, Heinzel FP, Sigmund NE, Czinn SJ. Vaccine-induced protection against *Helicobacter pylori* in mice lacking both antibodies and interleukin-4. *Infect Immun* 2003;71:3628-3633.
10. Aebischer T, Schmitt A, Walduck AK, Meyer TF. *Helicobacter pylori* vaccine development: facing the challenge. *Int J Med Microbiol* 2005;295:343-353.
11. Kabir S. The current status of *Helicobacter pylori* vaccines: a review. *Helicobacter* 2007;12:89-102.
12. Ilver D, Arnqvist A, Ogren J, et al. *Helicobacter pylori* adhesin binding fucosylated histo-blood group antigens revealed by retagging. *Science* 1998;279:373-377.
13. Svennerholm AM, Lundgren A. Progress in vaccine development against *Helicobacter pylori*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2007;50:146-156.
14. Suerbaum S, Achtman M. *Helicobacter pylori*: recombination, population structure and human migrations. *Int J Med Microbiol* 2004;294:133-139.
15. Gebert B, Fischer W, Weiss E, Hoffmann R, Haas R. *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin inhibits T lymphocyte activation. *Science* 2003;301:1099-1102.
16. Algood HM, Torres VJ, Unutmaz D, Cover TL. Resistance of primary murine CD4+ T cells to *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin. *Infect Immun* 2007;75:334-341.
17. Oswald-Richter K, Torres VJ, Sundrud MS, VanCompernelle SE, Cover TL, Unutmaz D. *Helicobacter pylori* VacA toxin inhibits human immunodeficiency virus infection of primary human T cells. *J Virol* 2006;80:11767-11775.

18. Ermak TH, Giannasca PJ, Nichols R, et al. Immunization of mice with urease vaccine affords protection against *Helicobacter pylori* infection in the absence of antibodies and is mediated by MHC class II-restricted responses. *J Exp Med* 1998;188:2277-2288.
19. Lucas B, Bumann D, Walduck A, et al. Adoptive transfer of CD4+ T cells specific for subunit A of *Helicobacter pylori* urease reduces *H. pylori* stomach colonization in mice in the absence of interleukin-4 (IL-4)/IL-13 receptor signaling. *Infect Immun* 2001;69:1714-1721.
20. Mohammadi M, Nedrud J, Redline R, Lycke N, Czinn SJ. Murine CD4 T-cell response to *Helicobacter* infection: TH1 cells enhance gastritis and TH2 cells reduce bacterial load. *Gastroenterology* 1997;113:1848-1857.
21. Rad R, Brenner L, Bauer S, et al. CD25+/Foxp3+ T cells regulate gastric inflammation and *Helicobacter pylori* colonization in vivo. *Gastroenterology* 2006;131:525-537.
22. Velin D, Bachmann D, Bouzourene H, Michetti P. Mast cells are critical mediators of vaccine-induced *Helicobacter* clearance in the mouse model. *Gastroenterology* 2005;129:142-155.
23. D'Elis MM, Andersen LP. Inflammation, immunity, and vaccines for *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 2009;14(Suppl 1):21-28.
24. Velin D, Michetti P. Immunology of *Helicobacter pylori* infection. *Digestion* 2006;73:116-123.
25. Wilson KT, Crabtree JE. Immunology of *Helicobacter pylori*: insights into the failure of the immune response and perspectives on vaccine studies. *Gastroenterology* 2007;133:288-308.
26. Guy B. The perfect mix: recent progress in adjuvant research. *Nat Rev Microbiol* 2007;5:505-517.
27. Hunter RL. Overview of vaccine adjuvants: present and future. *Vaccine* 2002;20(Suppl 3):S7-12.
28. Sougioultzis S, Lee CK, Alsahli M, et al. Safety and efficacy of *E coli* enterotoxin adjuvant for urease-based rectal immunization against *Helicobacter pylori*. *Vaccine* 2002;21:194-201.
29. Michetti P, Kreiss C, Kotloff KL, et al. Oral immunization with urease and *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin is safe and immunogenic in *Helicobacter pylori*-infected adults. *Gastroenterology* 1999;116:804-812.
30. Banerjee S, Medina-Fatimi A, Nichols R, et al. Safety and efficacy of low dose *Escherichia coli* enterotoxin adjuvant for urease based oral immunisation against *Helicobacter pylori* in healthy volunteers. *Gut* 2002;51:634-640.
31. Kotloff KL, Sztein MB, Wasserman SS, Losonsky GA, DiLorenzo SC, Walker RI. Safety and immunogenicity of oral inactivated whole-cell *Helicobacter pylori* vaccine with adjuvant among volunteers with or without subclinical infection. *Infect Immun* 2001;69:3581-3590.
32. Angelakopoulos H, Hohmann EL. Pilot study of phoP/phoQ-deleted *Salmonella enterica* serovar typhimurium expressing *Helicobacter pylori* urease in adult volunteers. *Infect Immun* 2000;68:2135-2141.
33. Bumann D, Metzger WG, Mansouri E, et al. Safety and immunogenicity of live recombinant *Salmonella enterica* serovar Typhi Ty21a expressing urease A and B from *Helicobacter pylori* in human volunteers. *Vaccine* 2001;20:845-852.

34. DiPetrillo MD, Tibbetts T, Kleanthous H, Killeen KP, Hohmann EL. Safety and immunogenicity of phoP/phoQ-deleted Salmonella typhi expressing *Helicobacter pylori* urease in adult volunteers. *Vaccine* 1999;18:449-459.
35. Aebischer T, Bumann D, Epple HJ, et al. Correlation of T cell response and bacterial clearance in human volunteers challenged with *Helicobacter pylori* revealed by randomised controlled vaccination with Ty21a-based Salmonella vaccines. *Gut* 2008;57:1065-1072.
36. Malfertheiner P, Schultze V, Rosenkranz B, et al. Safety and immunogenicity of an intramuscular *Helicobacter pylori* vaccine in noninfected volunteers: a phase I study. *Gastroenterology* 2008;135:787-795.