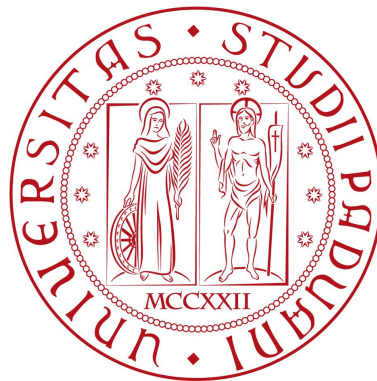


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA

Corso di Laurea in Biotecnologie



ELABORATO DI LAUREA

**L'EVOLUZIONE DEI VACCINI: IL CASO SARS-COV
E SARS-COV-2**

Tutor: prof. Regina Tavano

Dipartimento di Scienze Biomediche

Laureando: Mattia Revelin

ANNO ACCADEMICO 2021/2022

Indice

Introduzione	2
1 Coronavirus	4
1.1 Tassonomia e Filogenesi	4
1.2 Struttura	4
1.3 Genoma	6
1.4 Patogenesi	7
1.5 Risposta dell'ospite	8
2 Vaccini SARS-CoV	10
2.1 Vaccini a subunità proteica	10
2.2 Vaccini a particelle pseudovirali	11
2.3 Vaccini a DNA	11
2.4 Vaccini a vettore virale	12
2.4.1 Adenovirus	12
2.4.2 Virus vaccinico	12
2.4.3 Virus dell'Encefalite Equina Venezuelana	13
3 Vaccini SARS-CoV-2	14
3.1 Vaccini a DNA	14
3.2 Vaccini a RNA	15
3.3 Vaccini a vettore virale	16
4 Conclusioni	18
Bibliografia	20

Introduzione

Partito dalla Cina a novembre 2019, un virus, inizialmente sconosciuto causante polmoniti anomale, si è ben presto diffuso in un territorio sempre più vasto, coinvolgendo anche diversi Paesi europei, tra cui l'Italia ad inizio 2020. Il 9 gennaio 2020 il governo cinese ha ufficialmente riconosciuto che i casi anomali erano dovuti ad un virus chiamato successivamente SARS-CoV-2, appartenente alla famiglia dei coronavirus, della quale fanno parte anche SARS-CoV e MERS.

Un primo esempio di epidemia da coronavirus risale al 2003, quando ad Hong Kong ed in Cina si registrò l'esplosione di un focolaio di SARS-CoV, che si diffuse poi rapidamente in tutto il mondo, infettando circa 8000 persone in 37 paesi diversi e causando 778 decessi fino a scomparire poi nel luglio 2003.

A differenza di questo, però, SARS-CoV-2 risulta maggiormente contagioso e patogenico, portando così scienziati, industrie farmaceutiche e università da tutto il mondo a mobilitarsi tempestivamente per lo sviluppo e la produzione di possibili vaccini sicuri ed efficaci contro di esso. Questo ha avuto come effetto l'inizio, a poco più di due mesi dall'identificazione della sequenza virale di Sars-CoV-2, delle prime sperimentazioni cliniche.

Partendo da queste premesse, lo scopo di questo elaborato è quello di analizzare i vaccini sviluppati negli anni per SARS-CoV mettendoli a confronto con quelli di più recente produzione per SARS-CoV-2.

Per fare ciò, nel capitolo 1 vengono descritte le caratteristiche principali dei coronavirus, focalizzandosi su tassonomia, struttura, genoma, patogenesi e risposta dell'ospite all'infezione, cercando delle possibili differenze o somiglianze tra le due specie virali.

Analizzato ciò, nei capitoli 2 e 3 vengono elencati e descritti tutti i vaccini sviluppati, testati e in alcuni casi commercializzati rispettivamente per SARS-CoV e SARS-CoV-2. Questa panoramica mette in evidenza come per alcune tipologie di vaccini sono state utilizzate le medesime tecnologie, mentre altri sono stati realizzati tramite nuovi approcci.

Infine, il capitolo 4 conclude il confronto tra i vaccini per i due virus, illustrando differenze e analogie incontrate nei capitoli precedenti.

Capitolo 1

Coronavirus

1.1 Tassonomia e Filogenesi

I coronavirus umani (HCoV) sono dei virus facenti parte della più ampia famiglia dei coronavirus, responsabili di molteplici malattie respiratorie di varia gravità (comune raffreddore, bronchiolite, polmonite, etc. . .).

Fino ad oggi sono state scoperte sette specie appartenenti a questa famiglia in grado di infettare l'uomo. Di queste sette, quattro (HCoV-229E; HCoV-OC43; HCoV-NL63; HCoV-HKU1) causano sintomi respiratori lievi, mentre le altre tre, rispettivamente chiamate Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-CoV), Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) e Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2), sono altamente patogeni e responsabili di problemi respiratori gravi con possibile morte del paziente infetto (Kirtipal Nikhil et al., 2020).

1.2 Struttura

I coronavirus umani sono virus caratterizzati da un singolo filamento positivo di RNA, avvolto da un envelope formato da un doppio strato fosfolipidico. Presentano una forma sferica o pleomorfica di dimensioni comprese tra gli 80 ed i 120 nm.

Generalmente, gli HCoV sono formati da cinque proteine: spike (S), di membrana (M), envelope (E), nucleocapsidica (N) e l'emoagglutinina (HA). Di queste, S, M ed E sono proteine inserite all'interno dell'envelope virale, mentre, N protegge il genoma virale localizzato nel nucleo della particella (Kirtipal Nikhil et al., 2020).

La proteina spike è una proteina di fusione trimerica di classe I, formata da due subunità principali (S1 e S2), coinvolta nell'interazione con il recettore cellulare attraverso il dominio S1, noto anche come RBD. È quindi responsabile dell'entrata del virus all'interno della cellula guidando, pertanto, la specificità d'ospite e tissutale del virus. L'RBD è anche la struttura che permette la distinzione tra le diverse specie di coronavirus in quanto possiede una grande variabilità. (Du Lanying et al., 2009). A tal proposito, il processo di fusione dell'envelope virale con la membrana della cellula ospite viene attivato dal legame del dominio S1 con il recettore cellulare con conseguente scissione e liberazione del dominio S2 da parte di una proteasi cellulare. In questo modo, esso è in grado di interagire con la membrana cellulare permettendo l'ingresso del virus nella cellula (Kirtipal Nikhil et al., 2020).

Nel caso di SARS-CoV e SARS-CoV-2, questo ruolo di recettore sembra essere svolto dall'enzima di conversione dell'angiotensina 2 (ACE2), ampiamente distribuito sui monociti e macrofagi alveolari e sulle cellule epiteliali di trachea, bronchi, alveoli e ghiandole sierose bronchiali (Du Lanying et al.,).

La proteina di matrice, presente nella struttura del virione in quantità maggiori rispetto alla proteina dell'envelope, è fondamentale per orchestrare l'assemblaggio ed il raggiungimento della forma virale matura.

Allo stesso modo, la proteina strutturale E contribuisce alla secrezione delle particelle virali mature dalle cellule infettate e inibisce la risposta cellulare allo stress, causando i principali effetti patologici legati all'infezione (Kirtipal Nikhil et al., 2020)

Infine, la proteina N è essenziale per l'impacchettamento dell'RNA durante l'assemblaggio delle particelle virali e per stabilizzare l'RNA a polarità positiva (Kirtipal Nikhil et al., 2020).

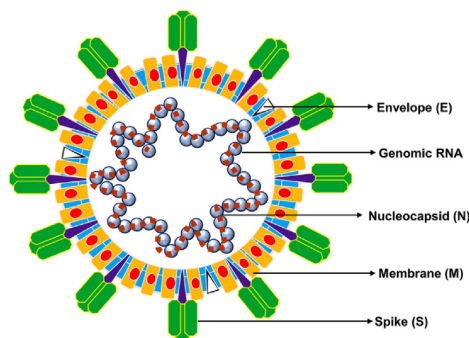


Figura 1.1: Struttura tipica CoV con varie proteine strutturali e RNA genomico (da Kirtipal Nikhil et al., 2020)

1.3 Genoma

I coronavirus umani, SARS-CoV e SARS-CoV-2 compresi, contengono un genoma ad RNA a singolo filamento positivo non segmentato lungo tra le 26.2 e le 31.7 kb dotato di un cap all'estremità 5' e di un sito di poliadenilazione all'estremità 3'. L'organizzazione del genoma è la seguente: 5'UTR - replicasi/transcrittasi - spike(S) - envelope(E) - membrana(M) - nucleocapside(N) - 3'UTR - coda di poli A (Kirtipal Nikhil et al., 2020).

Le regioni untranslated UTR presenti alle estremità 5' e 3' sono coinvolte nei collegamenti inter- ed intramolecolari, essenziali per le interazioni RNA-RNA e per il legame delle particelle con le proteine cellulari e virali.

L'RNA virale include 6 ORFs (open reading frames). Due di queste, ORF1a e ORF1b, sono presenti sovrapposte a livello della regione 5' terminale andando ad occupare tre quarti della lunghezza dell'intero genoma e codificando proteine coinvolte nel processo replicativo. Ciò avviene grazie alla traduzione di una singola poliproteina (pp), successivamente processata da una proteasi virale (main protease) e da una o due papain-like protease. Il risultato è l'espressione di 16 proteine non strutturali (NSPs), coinvolte nella replicazione del genoma virale e nella sintesi degli mRNA subgenomici (Kirtipal Nikhil et al., 2020).

Allo stesso tempo, a livello della regione genomica 3' terminale, sono codificate le quattro principali proteine strutturali S, E, M e N (Kirtipal Nikhil et al., 2020). Tra queste, vi sono da 1 a 8 geni codificanti proteine accessorie, diverse in relazione al ceppo virale, implicanti l'evasione dal sistema immunitario dell'ospite e il conseguente aumento del titolo virale.

Per quanto riguarda il caso particolare dei SARS coronavirus, il genoma di SARS-CoV traduce per 8 proteine accessorie (3a, 3b, 6, 7a, 7b, 8a, 8b e 9b), mentre, quello di SARS-CoV-2 traduce per almeno 6 o 9 proteine accessorie (3, 6, 7a, 7b, 8, 9b, 10b, 13, 14) (Kirtipal Nikhil et al., 2020). Questa, assieme alla differente posizione del codone d'inizio di ORF1ab, che in SARS-CoV-2 si trova nella regione 251-21541, mentre in SARS-CoV è presente a livello della regione 265-21486, rappresenta una delle differenze tra le due tipologie di coronavirus.

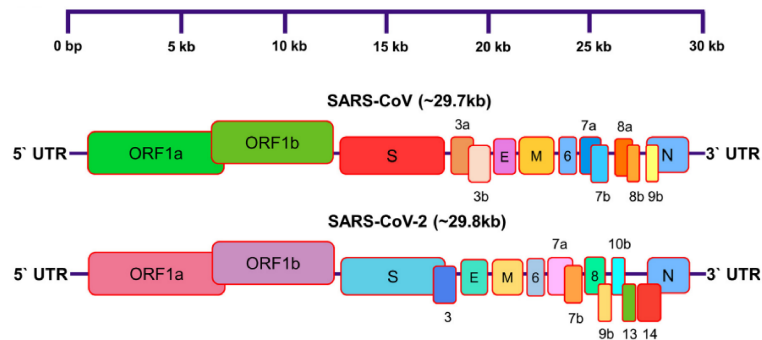


Figura 1.2: Rappresentazione schematica dell'organizzazione genomica di SARS-CoV e SARS-CoV-2 (da Kirtipal Nikhil et al., 2020)

1.4 Patogenesi

La patogenesi dei numerosi coronavirus è simile ma presenta delle differenze dovute alle diversità dei vari virus appartenenti alla famiglia.

Per quanto riguarda SARS-CoV e SARS-CoV-2, appartenendo entrambi alla stessa specie di coronavirus (β -coronavirus), essi hanno un decorso clinico pressochè identico. I pazienti infetti, dopo un periodo di incubazione, che può variare dai 2 agli 11 giorni, possono sviluppare una serie di sintomi quali febbre, mialgia, tosse secca e malessere generale nei casi più lievi, mentre, in quelli più gravi possono sopraggiungere dispnea, diarrea e problemi respiratori, i quali, nel peggiore dei casi, possono portare alla morte del soggetto (Su Shuo et al., 2016).

Una delle principali cause di questi sintomi è senz'altro la caratteristica della proteina S di SARS-CoV e SARS-CoV-2 di utilizzare il recettore ACE2 presente sulle cellule dell'albero respiratorio per l'ingresso all'interno della cellula, come mostra la figura 1.3. (Du Lanying et al., 2009) La spike, una volta dentro, inibisce l'espressione del recettore e ne provoca il distacco. Questo processo porta successivamente ad un'eccessiva produzione di angiotensina II da parte dell'enzima correlato ACE con conseguente aumento della permeabilità vascolare polmonare (Kirtipal Nikhil et al., 2020).

Altra possibile causa è la sproporzionata produzione di citochine e chemochine pro-infiammatorie da parte dell'organismo in seguito all'infezione virale che finisce per provocare la cosiddetta sindrome da distress respiratorio acuto

(ARDS) (Kirtipal Nikhil et al., 2020). Questa si sviluppa in seguito alla distruzione, da parte del sistema immunitario, delle cellule epiteliali respiratorie con conseguente insufficienza e morte di più organi.

Nel loro complesso, quindi, questi processi di immunopatogenesi vanno a contribuire sulla severità clinica delle infezioni da SARS-CoV e SARS-CoV-2.

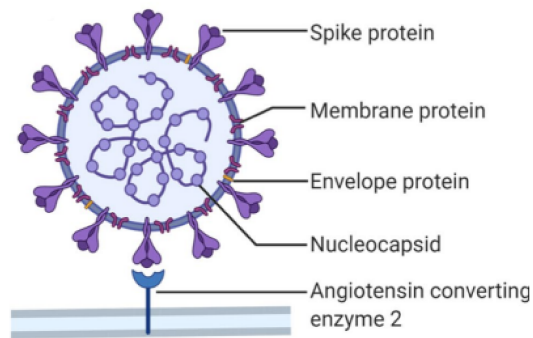


Figura 1.3: Rappresentazione schematica dell'attacco degli HCoV (da Li Yen-Der et al., 2020)

1.5 Risposta dell'ospite

Nel corpo umano, durante le prime fasi delle infezioni virali, la produzione di interferone I (IFN-I) o interferone α/β svolge un principale ruolo antivirale.

Queste proteine specifiche vengono prodotte alla fine di una cascata di eventi, avente come risultato finale la sovraespressione dei geni IFN. Nello specifico, per attivare questa cascata, è necessario il riconoscimento, da parte dei recettori dell'immunità innata (PRR), di particolari componenti del virus (PAMP), come ad esempio l'mRNA virale privo di cap o l'RNA virale a doppio filamento. Per quanto riguarda il caso specifico dei coronavirus, un possibile PAMP sembra essere l'RNA a doppio filamento (dsRNA) rilevabile a livello dell'endosoma oppure a livello citoplasmatico (Kirtipal Nikhil et al., 2020). Pertanto, per dar luogo a questo riconoscimento, numerose tipologie di PRR sorvegliano regolarmente l'ambiente intracellulare ed extracellulare per individuare tempestivamente eventuali infezioni virali. Questo rilevamento innesca complesse cascate di segnalazione che inducono la produzione di IFN I e la stimolazione della trascrizione di fattori nucleari (NF- κ B), che, a loro volta, andranno ad attivare la produzione di specifiche citochine proinfiammatorie (Kirtipal Nikhil et al., 2020).

Complessivamente, questo avvia una risposta immunitaria antivirale che ha come scopo quello di limitare la replicazione nelle cellule infette e in quelle adiacenti ad esse. Tuttavia, uno studio condotto da Kikkert nel 2020 (Kirtipal Nikhil et al., 2020) ha dimostrato come la famiglia dei coronavirus sia in grado di sopprimere significativamente questa risposta immunitaria, eludendo quindi il meccanismo di rilevamento immunitario.

E' nota, infatti, la capacità di questi virus di indurre la produzione di vescicole dotate di doppia membrana e prive di PRR, all'interno delle quali possono replicare senza essere rilevati dal sistema immunitario dell'ospite (Kirtipal Nikhil et al., 2020). Facendo così, nonostante gli alti livelli di dsDNA prodotti durante il ciclo di replicazione virale, non si ha produzione di un'adeguata quantità di IFN.

La presentazione dell'antigene, inoltre, stimola una risposta immunitaria umorale e cellulare mediata da cellule B e T virus specifiche. In particolar modo, i linfociti T, CD4 e CD8 giocano un ruolo fondamentale in questa risposta andando a stimolare le cellule B alla secrezione di anticorpi specifici e, nel caso specifico delle cellule CD8, uccidendo direttamente le cellule infettate. A questo riguardo, un'analisi citofluorimetrica di un campione di sangue periferico proveniente da pazienti colpiti da SARS-CoV-2 condotta da Xu nel 2020 (Kirtipal Nikhil et al., 2020) ha evidenziato una sostanziale riduzione del numero di cellule CD4 e CD8, a dimostrazione della capacità del virus di evadere alle risposte immunitarie sviluppate dall'ospite.

Una volta attivate, però, le cellule T della memoria permangono nell'organismo per quattro anni anche in assenza degli antigeni virali, mantenendo la capacità di indurre la proliferazione dei linfociti T e la produzione di IFN- γ .

Nel loro complesso, tutte queste informazioni sono utili per la progettazione dei vaccini contro SARS-CoV e SARS-CoV-2.

Capitolo 2

Vaccini SARS-CoV

Per la cura dell'infezione da SARS-CoV sono state sviluppate e testate in modelli preclinici diverse forme di vaccini, tuttavia, solo pochi di loro sono entrati in studi clinici e nessuno è stato approvato dalla FDA (Food and Drug Administration).

Le sezioni seguenti delineano i principi di varie forme di vaccino per il SARS-CoV.

2.1 Vaccini a subunità proteica

I vaccini costituiti da subunità proteiche sono composti da frammenti antigenici virali prodotti attraverso tecniche ricombinanti proteiche.

Sono facili da produrre e relativamente sicuri, in quanto ben tollerati rispetto ai vaccini formati da virus interi o con vettori virali.

Il loro principale svantaggio è la bassa immunogenicità e pertanto, vengono aggiunte alla formulazione delle molecole immunostimolanti.

Lo sviluppo di questi vaccini per il SARS-CoV si è concentrato inizialmente sull'utilizzo della proteina spike (S) a lunghezza intera, focalizzandosi successivamente sul suo dominio di legame al recettore cellulare (RBD). Quest'ultimo è in grado di indurre un alto titolo di anticorpi neutralizzanti senza causare effetti patogenici rilevanti, caratteristica probabilmente dovuta all'assenza di epitopi aggiuntivi non neutralizzanti, presenti invece nei vaccini contenenti spike a lunghezza intera (Li Yen-Der et al., 2020).

Lo studio di Zhao G. et al. (Li Yen-Der et al., 2020), ha poi dimostrato che i vaccini RBD possono indurre la produzione di anticorpi specifici a lunga durata

(fino a 12 mesi). Di conseguenza, per tutti questi motivi, SARS-CoV RBD è diventato il target principale per i vaccini contro SARS-CoV.

2.2 Vaccini a particelle pseudovirali

Questa tipologia di vaccini contiene delle proteine strutturali virali autoassemblate (VLP), ovvero proteine che imitano la conformazione dei virus nativi ma che mancano del genoma virale (Li Yen-Der et al., 2020). In questo modo, portano ad una risposta immunitaria migliore e ad una maggiore sicurezza, in quanto non è necessario l'utilizzo di virus vivi o di fasi di inattivazione.

Per quanto riguarda SARS-CoV è stato dimostrato, in uno studio condotto da Lokugamage et al. (Li Yen-Der et al., 2020), che le VLP chimeriche composte dalla proteina S e dalle proteine del virus dell'epatite del topo E, M ed N, possono indurre risposte anticorpali neutralizzanti e possono ridurre il titolo virale. Tuttavia, lo studio di Tseng CT et al. (Li Yen-Der et al., 2020), utilizzando le stesse VLP chimeriche della ricerca di Lokugamage, ha mostrato che questo vaccino può portare ad immunopatologia polmonare in caso di infezione da SARS-CoV.

Tutti questi studi hanno messo in evidenza le potenzialità di questa tipologia di vaccini, mostrando però anche alcune criticità.

2.3 Vaccini a DNA

I vaccini a DNA contengono geni codificanti per componenti antigeniche virali espressi da vettori plasmidici, i quali vengono inseriti all'interno delle cellule mediante elettroporazione (Li Yen-Der et al., 2020).

Questa metodica offre una piattaforma veloce e flessibile per lo sviluppo e la produzione di vaccini. Nonostante questo, a causa della loro limitata immunogenicità, come per i vaccini a subunità proteiche, risulta necessaria l'aggiunta di adiuvanti o la somministrazione di una dose iniziale seguita da una o più dosi di richiamo.

Ci sono diversi vaccini a DNA candidati come possibili vaccini anti-SARS-CoV, ma, tra tutti, solo quello contenente i geni per l'espressione della proteina S hanno dimostrato di indurre un effetto protettivo contro l'infezione, peculiarità data dal ruolo indispensabile di questa proteina nel legame con il recettore cellulare (Li Yen-Der et al., 2020).

2.4 Vaccini a vettore virale

Questi vaccini prevedono l'utilizzo di vettori virali, ovvero di virus ricombinanti codificanti per antigeni di interesse. In sintesi, forniscono alle cellule l'antigene, imitando l'infezione naturale ed inducendo così delle forti risposte immunitarie cellulari ed umorali antigene-specifiche, permettendo così di evitare l'utilizzo di adiuvanti.

Come per i vaccini a subunità proteiche e per quelli a DNA, la maggior parte dei vaccini a vettore virale contro il coronavirus hanno come bersaglio l'antigene S.

Nello specifico, contro SARS-CoV sono stati ideati tre vaccini aventi come vettori virali tre virus differenti: adenovirus, virus vaccinico Ankara, virus dell'encefalite equina venezuelana, i quali verranno analizzati meglio di seguito (Li Yen-Der et al., 2020).

2.4.1 Adenovirus

Inizialmente, il suo potenziale utilizzo è stato analizzato in due studi di Gao et al. (Li Yen-Der et al., 2020), i quali hanno dimostrato che questo vettore, esprimente il frammento S1, può indurre anticorpi neutralizzanti nelle scimmie e nei ratti, ma nessuno dei due studi ha dimostrato prove di protezione in vivo sull'uomo.

Nonostante questo, i risultati hanno incoraggiato il successivo sviluppo di vaccini contro MERS e COVID-19.

2.4.2 Virus vaccinico

Altra tipologia di virus utilizzato come vettore virale è il virus vaccinico modificato (MVA), piattaforma vaccinale oramai consolidata per combattere le malattie infettive. Per quanto riguarda i vaccini contro SARS-CoV, uno studio condotto da Chen et al. (Li Yen-Der et al., 2020) ha dimostrato che l'MVA ricombinante esprimente la proteina SARS-CoV S stimola la produzione di anticorpi neutralizzanti nei topi, nei furetti e nelle scimmie, ma, come per il caso dell'adenovirus, non ha mostrato alcun dato riguardante la loro protezione nell'uomo. Tuttavia, altri due studi condotti da Weingartl et al. e Czub et al. (Li Yen-Der et al., 2020) hanno dimostrato che questo vaccino non fornisce un effetto protettivo nei furetti e, anzi, provoca delle risposte infiammatorie e necrosi focale a livello epatico. Pertanto, per l'utilizzo di MVA basati sul-

la proteina SARS-CoV S, bisogna tenere in considerazione i possibili effetti avversi.

2.4.3 Virus dell'Encefalite Equina Venezuelana

Infine, per il vaccino SARS-CoV basato sul virus dell'encefalite equina venezuelana (VEE), uno studio di Deming et al. (Li Yen-Der et al., 2020) ha riportato che le particelle replicative di VEE (VRP) esprimenti la proteina S forniscono una protezione completa a breve e a lungo termine in topi giovani e senescenti. Per migliorare l'efficacia di questo vaccino, Sheahan et al. (Li Yen-Der et al., 2020) ha sostituito una glicoproteina presente in VEE attenuata con la sua controparte wild-type, ed il risultato è stato un aumento della protezione dei topi anziani verso SARS-CoV.

Capitolo 3

Vaccini SARS-CoV-2

Rispetto a SARS e MERS, che tendevano a risolversi spontaneamente rimanendo confinate a livello regionale, l'entità modiale della pandemia COVID-19 ha reso urgente lo sviluppo di un vaccino. Questa necessità ha portato all'utilizzo di molti approcci diversi. Fra questi, quelli non convenzionali, come i vaccini a DNA o RNA e i vaccini a vettore virale, sono diventati i principali attori nella corsa allo sviluppo del vaccino per il SARS-CoV-2, poichè per essere prodotti necessitano delle sole informazioni contenute nella sequenza genomica del virus.

Nei successivi paragrafi verranno analizzate, come fatto per SARS-CoV, le principali tipologie di vaccini presenti attualmente contro il SARS-CoV-2.

3.1 Vaccini a DNA

I vaccini a DNA attualmente in fase clinica sono 4 (INO-4800 sviluppato dall'azienda Inovio, AG0301-COVID19 sviluppato dalla collaborazione tra l'università di Osaka e l'azienda Takara Bio, Zycov-d prodotto da Zydus Group ed infine GX-19N ideato da Genexine). Tra questi, il più promettente sembra essere il vaccino INO-4800, codificante per la proteina S a lunghezza intera di SARS-CoV-2 e somministrato per via intradermica attraverso un dispositivo capace di elettroporare le cellule cutanee (Li Yen-Der et al., 2020).

A conferma di ciò, uno studio ad interim (Li Yen-Der et al., 2020) ha mostrato la capacità di INO-4800 di indurre anticorpi neutralizzanti in modelli animali tra cui topi, porcellini d'india e macachi e la sua efficacia. Esso, infatti, stimola una risposta immunitaria umorale nel 94% dei volontari a seguito della somministrazione di due dosi.

3.2 Vaccini a RNA

Sebbene non ci siano stati studi sui vaccini ad RNA per SARS-CoV, dallo scoppio del COVID-19 sono già stati presentati 6 nuovi vaccini di questo tipo per SARS-CoV-2, tutti arrivati alle fasi di sperimentazione clinica.

Questa tipologia di vaccini è caratterizzata dalla presenza di RNA messenger (mRNA) codificanti per l'antigene virale, i quali possono essere tradotti dalle cellule umane per produrre proteine antigeniche atte a stimolare il sistema immunitario.

Simili ai vaccini a DNA, i vaccini ad RNA hanno il vantaggio di essere altamente adattabili a nuovi agenti patogeni e di essere in grado di ricapitolare la conformazione nativa e le modificazioni delle proteine antigeniche. Inoltre, a differenza del DNA, l'RNA non interagisce con il DNA della cellula ospite, evitando quindi i possibili rischi associati all'integrazione genomica (Li Yen-Der et al., 2020).

Inoltre, i vaccini ad RNA possono essere somministrati attraverso molteplici vie, mentre quelli a DNA devono essere somministrati tramite dispositivi speciali come, ad esempio, l'elettroporazione o la pistola genica.

Tuttavia, essi presentano anche degli svantaggi. Infatti, l'RNA esogeno può attivare una risposta immunitaria antivirale mediata dall'interferone, con conseguente stallo nella traduzione e nella fase successiva di degradazione dell'mRNA (Li Yen-Der et al., 2020).

I principali produttori di un vaccino a RNA per SARS-CoV-2 sono Moderna e BioNTech/Pfizer.

Il primo dei due codifica per un trimero spike di prefusione stabilizzato, in cui sono stati sostituiti gli amminoacidi 986 e 987 con delle molecole di prolina per stabilizzare la proteina spike in questa sua conformazione. Oltre a questi, anche i nucleotidi dell'mRNA sono stati modificati sia per aumentarne la traduzione e l'emivita, ma anche per prevenire l'attivazione di geni associati all'interferone e quindi al conseguente sviluppo di una risposta immunitaria (Li Yen-Der et al., 2020).

Prendendo in esame il vaccino sviluppato da Moderna, uno studio di L.R. Baden et al. (Baden L.R. et al. 2021) svolto su 30420 volontari in 99 centri americani, ha mostrato come dei 15210 partecipanti appartenenti al gruppo di controllo, solo 11 hanno successivamente manifestato la malattia nella sua forma sintomatica, conferendo così al vaccino un'efficacia stimata del 94.1% (Baden L.R. et al. 2021).

Visti e considerati tutti questi risultati, si è potuto assumere che il vaccino progettato da Moderna fosse sicuro ed efficace nella prevenzione del COVID-19 sintomatico.

Il vaccino ad mRNA di BioNTech e Pfizer presentava inizialmente 4 candidati, ma di questi solamente BNT162b2 è riuscito ad arrivare all'ultima fase di sperimentazione e, successivamente a questo, ad entrare in commercio. Nello specifico questo vaccino codifica per la proteina spike a lunghezza intera.

Come fatto per Moderna, anche per Pfizer e BioNTech è stato pubblicato uno studio (Thomas S.J. et al. 2021) sul loro vaccino. Da questo è emersa un'efficacia del 95% contro SARS-CoV-2, percentuale che negli anziani raggiunge il 94%, permettendo così una protezione elevata anche nella popolazione più vulnerabile (Thomas S.J. et al. 2021).

Complessivamente questi dati hanno mostrato che BNT162b2 è un altro vaccino anti-COVID-19 ben tollerato ed efficace.

3.3 Vaccini a vettore virale

Attualmente i vaccini a base di vettori virali anti-SARS-CoV-2 in sperimentazione clinica sono 12, dei quali ben 8 prevedono l'utilizzo di adenovirus. Di questi, i principali sono AZD1222, sviluppato dall'azienda Astrazeneca in collaborazione con l'università di Oxford, e Ad26, sviluppato dall'azienda Johnson & Johnson (Li Yen-Der et al., 2020).

Il vaccino di Astrazeneca si basa su un adenovirus degli scimpanzè, modificato per permettergli di esprimere la proteina spike di SARS-CoV-2. Dallo studio eseguito a luglio 2020 (Folegatti PM et al., 2020), dalla stessa Astrazeneca, risulta che questo vaccino è in grado di suscitare una risposta anticorpale specifica contro la proteina S e di produrre un adeguato numero di anticorpi neutralizzanti in tutti i volontari a seguito della somministrazione di due dosi. A fronte di questi risultati promettenti, AZD1222 ha raggiunto la fase III in trials in UK, Brasile, Stati Uniti e India.

Questi trials, nel loro complesso, hanno dimostrato un'efficacia del 90% a seguito della somministrazione di due dosi contenenti quantità differenti di vaccino, la prima con una quantità dimezzata e la seconda intera, mentre l'efficacia scende al 62% quando entrambe le dosi sono somministrate a quantità intera (Folegatti PM et al., 2020).

Oltre a ciò, durante tutte le varie sperimentazioni non sono stati osservati effetti avversi gravi, fatta eccezione per il caso di un volontario che nel settembre 2020 ha sviluppato una mielite trasversa, bloccando temporaneamente il trial clinico in Gran Bretagna, che, in seguito ad una successiva revisione, è ripreso dimostrando, in conclusione, la sicurezza del vaccino (Li Yen-Der et al. 2020).

Capitolo 4

Conclusioni

Lo scopo di questo elaborato è stato quello di individuare eventuali analogie e differenze tra i vaccini contro il SARS-CoV e quelli per il più recente SARS-CoV-2.

Dai vari studi è emerso come entrambi i virus posseggano una biologia (struttura, genoma, ciclo vitale) molto simile (Kirtipal Nikhil et al., 2020). Grazie a questo, è stato possibile sviluppare dei potenziali vaccini per SARS-CoV-2 in tempi notevolmente ristretti (meno di un anno) se paragonati a quelli contro SARS-CoV e molti altri virus (Li Yen-Der et al., 2020). Questa velocità, oltre alla somiglianza dei due virus, è dovuta anche ad altri fattori: le ingenti risorse umane ed economiche messe a disposizione, la conduzione parallela delle varie fasi di valutazione e studio, la produzione dei vaccini parallelamente al processo di autorizzazione, l'ottimizzazione della burocrazia e, infine, la valutazione da parte delle agenzie regolatorie dei risultati ottenuti, man mano che questi venivano prodotti e non, come generalmente viene fatto, solo dopo il completamento di tutti gli studi (Filia Antonietta et al., 2021).

I vaccini sviluppati per i due virus presentano, allo stesso tempo, delle analogie e delle differenze. Per entrambi, infatti, sono stati progettati vaccini a DNA e a vettore virale mentre solo per SARS-CoV-2 sono stati ideati vaccini a RNA (Li Yen-Der et al., 2020). Questa rappresenta una grande differenza poiché si tratta del primo caso in assoluto in cui l'mRNA viene utilizzato per la produzione e la commercializzazione di un vaccino, novità che ha causato scetticismo e terrore da parte dell'opinione pubblica. Tuttavia, questi timori risultano infondati poiché, sebbene sia il primo caso di vaccino a RNA, la scoperta di quest'ultimo risale a più di cinquant'anni fa e l'idea di utilizzarlo a scopi terapeutici ai primi anni 2000 (Maruggi G. et al. 2019).

Di tutti i vaccini sviluppati per entrambi gli agenti patogeni, però, solamente quelli per SARS-CoV-2 sono entrati in commercio. Questo, molto probabilmente è dovuto al fatto che non si registrano casi di persone infettate da SARS-CoV dal 2004.

In conclusione, si può affermare che i vaccini prodotti per i due virus presentano delle forti somiglianze, tuttavia, grazie al progresso tecnologico e scientifico e alle differenze, seppur minime, presenti tra i due patogeni, allo stesso tempo possono essere definiti come differenti.

Bibliografia

Baden LR, El Sahly HM, Essink B, Kotloff K, Frey S, Novak R, Diemert D, Spector SA, Rouphael N, Creech CB, McGettigan J, Khetan S, Segall N, Solis J, Brosz A, Fierro C, Schwartz H, Neuzil K, Corey L, Gilbert P, Janes H, Follmann D, Marovich M, Mascola J, Polakowski L, Ledgerwood J, Graham BS, Bennett H, Pajon R, Knightly C, Leav B, Deng W, Zhou H, Han S, Ivarsson M, Miller J, Zaks T. Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *The New England Journal of Medicine*. 384(5):403-416 (2021).

Du Lanying, He Yuxian, Zhou Yusen, Liu Shuwen, Zheng Bo-Jian, Jiang Shibo. The spike protein of SARS-CoV: a target for vaccine and therapeutic development. *Nature*. 7:226-236 (2009).

Filia Antonietta, Rota Maria Cristina, D’Ancona Fortunato “Paolo”. <https://www.epicentro.iss.it/vaccini/covid-19-sviluppo-valutazione-approvazione#writers>. *Istituto Superiore di Sanità*. (2021).

Folegatti PM, Ewer KJ, Aley PK, Angus B, Becker S, Belij-Rammerstorfer S, Bellamy D, Bibi S, Bittaye M, Clutterbuck EA, Dold C, Faust SN, Finn A, Flaxman AL, Hallis B, Heath P, Jenkin D, Lazarus R, Makinson R, Minassian AM, Pollock KM, Ramasamy M, Robinson H, Snape M, Tarrant R, Voysey M, Green C, Douglas AD, Hill AVS, Lambe T, Gilbert SC, Pollard AJ, Oxford CVTG. Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial. *Lancet*. 396(10249):467–78 (2020).

Kirtipal Nikhil, Bharadwaj Shiv, Kang Sang Gu.

From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses. *Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics of Infectious Diseases*. 85:104502 (2020).

- Li Yen-Der, Chi Wei-Yu, Su Jun-Han, Ferrall Louise, Hung Chien-Fu.
Coronavirus vaccine development:from SARS and MERS to COVID-19. *Journal of Biomedical Science*. 27:104 (2020).
- Maruggi G, Zhang C, Li J, Ulmer JB, Yu D. mRNA as a Transformative Technology for Vaccine Development to Control Infectious Diseases. *Molecular Therapy*. 27(4):757-772 (2019).
- Su Shuo, Wong Gary, Shi Weifeng, Liu Jun, Lai Alexander C.K., Zhou Jiyong, Liu Wenjun, Bi Yuhai, Gao George F.
Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. *Trends in Microbiology*. 24(6):490-502 (2016).
- Thomas SJ, Moreira ED Jr, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, Perez JL, Pérez Marc G, Polack FP, Zerbini C, Bailey R, Swanson KA, Xu X, Roychoudhury S, Koury K, Bouguermouh S, Kalina WV, Cooper D, Frenck RW Jr, Hammitt LL, Türeci Ö, Nell H, Schaefer A, Ünal S, Yang Q, Liberator P, Tresnan DB, Mather S, Dormitzer PR, Şahin U, Gruber WC, Jansen KU.
Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine through 6 Months. *The New England Journal of Medicine*. 4;385(19):1761-1773 (2021).