

## mRNA vakcíny – budúcnosť (nielen) vakcinológie

Infoletter 14

### Úvod

- Pandémia COVID-19 bola spojená s excesívnym nárastom počtu úmrtí na všetky príčiny. Tieto počty sú porovnávané s predpandemickými hodnotami, čím odhaľujú skutočný dopad vírusu SARS-CoV2 na úmrtnosť bez ohľadu na počet diagnostikovaných infekcií.
- V Európskej únii bola zaznamenaná najvyššia odchýlka od priemerného počtu úmrtí v novembri 2020, kedy vakcína ešte nebola dostupná. V porovnaní s rokmi 2016-2019 sa počet úmrtí zvýšil o 40 %. Na Slovensku došlo v januári 2021 k zvýšeniu o hrozivých 75 % .
- Európa i Slovensko začali s masovým očkovaním mRNA vakcínami v januári 2021. Už na jeseň sa podarilo v EÚ k 31.10.2021 kompletne zaočkovať 65 % populácie, bohužiaľ, na Slovensku to nebola ani polovica (45 %).
- V novembri 2021 začala nadmerná úmrtnosť v EÚ klesať a medziročne sa znížila z + 40 % na + 24 %. Na Slovensku bola v rovnakom období stále o 73 % vyššia. Počet zaočkovaných proti SARS-CoV-2 vírusu sa v krajinách EÚ nakoniec ustálil na 73 %, pričom Slovensko s 51% zaočkovanosťou zostalo na chvoste Európy spolu s Bulharskom či Rumunskom. Nadmerné úmrtia sa normalizovali až v lete 2024, ale koncom roka 2024 v EÚ opäť stúpili.
- Podľa údajov WHO bolo k decembru 2024 vo svete aplikovaných 13,64 miliárd dávok vakcín proti COVID-19, pričom primárnu sériu absolvovalo 67 % svetovej populácie a 32 % dostalo aspoň jeden booster. V EÚ predstavovali mRNA vakcíny viac ako 90 % zo všetkých podaných vakcín.
- Epidemiologické analýzy potvrdili, že vakcíny zabránili až 60 % úmrtí (59 – 63 %) na COVID-19. V prípade Európy ide o 1,6 milióna zachránených ľudských životov. Ak by sme zobrali do úvahy všetky nadmerné úmrtia, počet zachránených môže byť aj 10x vyšší.
- Dňa 2.10.2023 sa Katalin Karikó a Drew Weissman stali laureátmi Nobelovej ceny za rok 2023 v oblasti fyziológie a medicíny za „ich objavy týkajúce sa modifikácií nukleozidových báz, ktoré umožnili vývoj účinných mRNA vakcín proti COVID-19“.

### Úspech mRNA vakcín

- Rýchla dostupnosť mRNA vakcín zastihla laickú i odbornú (lekársku) verejnosť nepripravenú. O výskume mRNA vakcín, ktorý prebiehal od 90. rokov minulého storočia, vedeli len špecialisti venujúci sa problematike očkovania. Vakcíny na báze DNA už boli pritom schválené a úspešne používané v prevencii a liečbe infekcií vírusmi Zika či Ebola a pracuje sa aj na ďalších patogénoch, vrátane chrípky.
- RNA a DNA vakcíny boli vyvíjané s ohľadom na niektoré limitácie „klasických“ vakcín. K najvýznamnejším obmedzeniam patrí dĺžka výrobného cyklu, potreba živých bunkových kultúr, práca so živým patogénom či potreba adjuvans.
- Okrem technologických výhod, majú RNA/DNA vakcíny aj dôležité imunologické vlastnosti. Viac pripomínajú prirodzenú infekciu a stimulujú nielen protilátkovú ale aj bunkovú imunitu. To sa prejavilo vo vysokej efektívnosti vakcín.
- K úspechu mRNA vakcín prispela aj ich bezpečnosť. Miliardy podaných dávok mRNA vakcín boli pod enormným dohľadom v rámci procesu podmienennej autorizácie. Boli vytvorené rozsiahle databázy na hlásenie akýchkoľvek účinkov, ktoré boli zaznamenané v súvislosti s očkovaním. Do

verejne dostupných hlásnych systémov vstupovali lekári i laická verejnosť, pričom systém poskytuje zozbierané údaje pre ďalšie analýzy.

- V krajinách EÚ bolo zdokumentovaných takmer 1.000.000 individuálnych prípadov nežiaducich účinkov v súvislosti s očkovaním, z nich 69 % bolo žien a 65% bolo nahlásených nezdravotníkmi.
- K najčastejším hláseniam, ktoré boli klasifikované ako závažné, patrila neúčinnosť očkovania (zlyhanie vakcíny - 6,8 %, COVID-19 – 8,8 % a neúčinnosť liečiva – 1,8 %). Nasledovala bolesť hlavy (3,6 %), únava (3,3 %), pyrexia (3,0%), dýchavica (2,0 %), nauzea (1,9 %), myalgie (1,8 %), synkopa (1,8 %), kŕče (1,7 %), bolestivosť v mieste vpichu (1,6 %), triaška (1,5 %), bolesti na hrudníku (1,4 %), malátnosť (1,2 %) atď.
- Funkčnosť hlásneho systému dokladuje odhalenie nežiaducich účinkov s nízkym výskytom. Na úrovni 1-2/100.000 dávok bol zistený výskyt myokarditíd mladých mužov či atypické trombózy a ešte nižší bol výskyt anafylaxie < 5/1.000.000. K dnešnému dňu sa nepotvrdila žiadna kauzálna väzba s akýmkoľvek typom nádorového ochorenia.
- Vysoká účinnosť a nízke riziko nežiaducich účinkov viedla k plnohodnotnej autorizácii vakcín.

### **Výroba a kontrola mRNA vakcín**

- Milióny pacientov na svete si už viac ako 40 rokov denne injekčne aplikuje lieky vyrobené biotechnologickými postupmi. Patria k nim napríklad inzulíny. Tieto liečivá môžu obsahovať stopové množstvá technologickej plazmidovej DNA. Liečba sa podáva niekoľkokrát denne počas dlhého obdobia a doposiaľ nebola preukázaná jej rizikovosť.
- mRNA vakcíny sú tiež syntetizované na základe DNA plazmidového templátu v bezbunkovom produkčnom systéme. Po vytvorení mRNA je DNA plazmid rozštiepený enzýmom DNáza I. Nasleduje lýza proteínázou K s viacstupňovou purifikáciou a ultrafiltráciou.
- Kritériá kvality vyžadujú, aby v každej dávke vakcíny bolo menej ako 10 ng DNA na 30.000 ng RNA. Tieto limity určili všetky významné medzinárodné regulačné agentúry, vrátane WHO, EMA či FDA a sú považované za bezpečné.
- Počas výroby vakcín sa testuje množstvo zvyškovej technologickej DNA. Výrobný protokol každej šarže je poskytnutý regulačným orgánom. Uvoľnená vakcína musí splniť všetky požiadavky regulátora na koncentráciu zvyškového obsahu DNA.

### **Tzv. „plazmid-gate“**

- Napriek viacstupňovej kontrole sa v poslednom roku objavilo niekoľko prác poukazujúcich na nadmerný obsah DNA v mRNA vakcínach.
- V snahe zreprodukovat' tieto výsledky na iných pracoviskách boli odhalené vážne metodologické nedostatky. Príkladom je použitie fluorometrickej metodiky na stanovenie zvyškovej DNA. Táto metóda je pri kontrole kvality výroby mRNA vakcín nevhodná, pretože pri vysokom nadbytku mRNA (vo vakcíne je pomer RNA:DNA > 1000:1) vedie k falošnému nadhodnoteniu množstva DNA.
- Ďalším interferujúcim faktorom sú lipidové nanočastice, v ktorých sa RNA vo vakcínach nachádza. Autori analýz dezintegrovali častice detergentami a inými fyzikálno-chemickými metódami, čím zmenili štruktúru a zloženie produktu. Nie je jasné, aký vplyv majú tieto metódy na výsledky analýz pri veľmi nízkych koncentráciách DNA (ng/ml). Už dlhšiu dobu je napríklad známe, že veľkosť fragmentov DNA ovplyvňuje výsledky qPCR kvantifikácie.
- V prácach sa vyskytli aj „neštandardné“ postupy, ktoré sú v rozpore s princípmi vedeckého skúmania. Napríklad, ak testované vakcíny „pochádzajú z neznámeho zdroja a boli autorom doručené anonymne v poštovej obálke“.
- Validácia analýz zvyškového obsahu technologickej DNA je komplikovaná aj preto, že iba niektoré práce boli prihlásené do riadneho publikačného a recenzného procesu.
- Oponentúra je neodmysliteľnou súčasťou výskumu, pretože umožňuje v predpublikačnej fáze odstrániť metodologické nedostatky a zvýšiť kvalitu a dôveryhodnosť výsledkov.
- Napriek uvedeným limitáciám sa v nadväznosti na vyššie uvedené práce začali objavovať tvrdenia o integrácii zvyškov technologickej DNA až do genómu príjemcov vakcín. Paradoxné pritom je, že

už v roku 2021 bolo známe, že za istých podmienok sa do genómu môže integrovať samotný pôvodca COVID-19 - vírus SARS-CoV-2.

- Počas evolúcie dochádza k horizontálnemu transferu génov medzi hosťiteľom a patogénom a práve vírusy v ňom zohrávajú dôležitú úlohu.
- mRNA vakcína ani jej súčasti nevstupujú do bunkového jadra. Proces syntézy proteínu prebieha na ribozómoch v cytoplazme. Bunka má ochranné procesy, ktoré ju chránia pred cudzorodou nukleovou kyselinou. Patria sem regulačno-transportná funkcia jadrových pórov, enzýmové komplexy rozkladajúce nukleové kyseliny či existencia receptorov zachytávajúcich DNA a aktivujúcich imunitný systém.
- Kapacita týchto systémov je veľká, pretože len v potravinách prijíma človek denne gramové množstvá rastlinnej, živočíšnej, ale aj mikrobiálnej DNA.

## Záver

- Slovensko a Európa čelila v rokoch 2020 – 2024 pandémie, ktorá viedla k zvýšeniu počtu úmrtí v niektorých mesiacoch až o 75 % v porovnaní s predpandemickým obdobím.
- Vakcíny proti COVID-19 zachránili milióny ľudských životov, pričom ich prínos je priamo úmerný miere zaočkovanosti danej krajiny.
- Negatívny dopad nežiaducich účinkov spojených s očkovaním predstavuje iba zlomok zdravotných i sociálnych následkov, ktoré priniesla samotná pandémia COVID-19 pre spoločnosť.
- Preventívne i terapeutické mRNA vakcíny predstavujú biotechnologické produkty, ktorých význam a využitie v medicíne bude narastať.
- Za kvalitu liekových produktov a vakcín zodpovedajú príslušné authority, ktoré monitorujú obsah a dodržiavanie limitných hodnôt deklarovaných látok.
- Experimentálne práce, ktoré spochybňujú zloženie liečiva uvoľneného po viacstupňovej kontrole medicínskymi autoritami na riadne použitie, musia byť podrobené serióznej oponentúre, ktorá posúdi ich objektivitu a metodickú bezchybnosť.

## Literatúra:

- <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2023/press-release/> (navštívené 18.3.2025)
- [https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Excess\\_mortality\\_statistics](https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Excess_mortality_statistics) (navštívené 18.3.2025)
- <https://gap.ecdc.europa.eu/public/extensions/COVID-19/vaccine-tracker.html#uptake-tab> (navštívené 18.3.2025)
- <https://data.who.int/dashboards/covid19/vaccines?m49=001&n=c> (navštívené 18.3.2025)
- John P.A. et al. Global estimates of lives and life-years saved by COVID-19 vaccination during 2020-2024. medRxiv 2024.11.03.24316673; doi: <https://doi.org/10.1101/2024.11.03.24316673>
- Meslé, M. M. I. et al. Estimated number of lives directly saved by COVID-19 vaccination programmes in the WHO European Region from December, 2020, to March, 2023: a retrospective surveillance study. *The Lancet Respiratory Medicine* 12, 714–727 (2024).
- Lives saved by COVID-19 vaccines. *J Paediatr Child Health* 10.1111/jpc.16213 (2022) doi:10.1111/jpc.16213.
- Li Y, Li J, Dang Y, Chen Y, Tao C Adverse Events of COVID-19 Vaccines in the United States: Temporal and Spatial Analysis *JMIR Public Health Surveill* 2024;10:e51007 DOI: 10.2196/51007
- <https://wonder.cdc.gov/controller/datarequest/D8> (navštívené 18.3.2025)
- Ferreira-da-Silva, R. et al. Network analysis of adverse event patterns following immunization with mRNA COVID-19 vaccines: real-world data from the European pharmacovigilance database EudraVigilance. *Front. Med.* 12, (2025).
- <https://www.tga.gov.au/news/media-releases/addressing-misinformation-about-excessive-dna-mrna-vaccines> (navštívené 18.3.2025)
- König, B. & Kirchner, J. O. Methodological Considerations Regarding the Quantification of DNA Impurities in the COVID-19 mRNA Vaccine Comirnaty®. *Methods and Protocols* 7, 41 (2024).
- Kaiser, S. M., Kaiser, S., Reis, J. & Marschalek, R. Quantification of Objective Concentrations of DNA Impurities in Mrna Vaccines. SSRN Scholarly Paper at <https://doi.org/10.2139/ssrn.5009375> (2024).
- McKernan K. et al. Sequencing of bivalent Moderna and Pfizer mRNA vaccines reveals nanogram to microgram quantities of expression vector dsDNA per dose. [https://osf.io/preprints/osf/b9t7m\\_v1](https://osf.io/preprints/osf/b9t7m_v1) (navštívené 20.3.2025)
- Sedlackova T, Repiska G, Celec P, Szemes T, Minarik G. Fragmentation of DNA affects the accuracy of the DNA quantitation by the commonly used methods. *Biol Proced Online*. 2013 Feb 13;15(1):5. doi: 10.1186/1480-9222-15-5.
- Zhang, L. et al. Reverse-transcribed SARS-CoV-2 RNA can integrate into the genome of cultured human cells and can be expressed in patient-derived tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 118, e2105968118 (2021).
- Chen, DS., Wu, YQ., Zhang, W. et al. Horizontal gene transfer events reshape the global landscape of arm race between viruses and homo sapiens. *Sci Rep* 6, 26934 (2016). <https://doi.org/10.1038/srep2693>