

# Basi genetiche della risposta immune alle vaccinazioni

Fabio Cardinale<sup>1</sup> (coordinatore), Marta Ciofi degli Atti<sup>2</sup> (coordinatore),  
Giorgio Bartolozzi<sup>3</sup>, Baldassarre Martire<sup>4</sup>, Viviana Moschese<sup>5</sup>, Caterina Rizzo<sup>6</sup>  
Per conto delle Commissioni "Immunologia" e "Vaccini" della SIAIP



Parole chiave: vaccinazioni, polimorfismi, immunità innata

## Abstract

Numerose evidenze di ordine sia epidemiologico che sperimentale sottolineano l'importanza della genetica nella risposta immune alle vaccinazioni. Moltissimi sono infatti i determinanti immunogenetici della risposta biologica ai vaccini e, pertanto, polimorfismi a carico di alcuni di questi geni svolgono un ruolo nel condizionare l'entità, il tipo e la durata di questa risposta. È verosimile che in un prossimo futuro si giunga allo sviluppo di vaccini sempre più efficaci e a misura di individuo.

## Introduzione

Numerose evidenze scientifiche attestano che i vaccini rappresentano uno degli strumenti di prevenzione più efficaci disponibili. Il CDC di Atlanta ha recentemente inserito l'espansione delle politiche vaccinali in tutto il mondo tra le 10 maggiori conquiste in tema di salute pubblica dell'ultimo decennio<sup>1</sup> stimando, solo negli USA, una riduzione della mortalità per malattie infettive di circa 42.000 casi e della morbilità di più di 20 milioni di casi per ogni coorte di bambini vaccinati secondo il calendario vaccinale vigente nel Nord America<sup>2</sup>.

Le basi scientifiche su cui si fondano le strategie di immunizzazione riguardano sia l'epidemiologia delle

malattie prevenibili da vaccino (*vaccine preventable diseases*, VPD) e sia i dati di immunogenicità, efficacia e sicurezza dei vaccini, valutati prima dell'autorizzazione alla vendita e dopo la loro introduzione in commercio, attraverso i dati di farmacovigilanza raccolti. Poiché le vaccinazioni rappresentano uno strumento preventivo di utilizzo globale, proposto in seguito a specifiche raccomandazioni dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), esse vengono virtualmente estese a tutta la popolazione mondiale. Pertanto, i sistemi di sorveglianza che raccolgono i dati di farmacovigilanza sulle vaccinazioni rappresentano una fonte di informazione solida e attendibile sui possibili problemi di efficacia e sicurezza di

<sup>1</sup> Struttura Complessa di Medicina e Pneumo-Allergoimmunologia Pediatrica, Azienda Ospedaliero-Universitaria "Policlinico-Giovanni XXIII", Bari; <sup>2</sup> Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma; <sup>3</sup> Ospedale Meyer, Università di Firenze; <sup>4</sup> Dipartimento di Biomedicina dell'Età Evolutiva, Azienda Ospedaliero-Universitaria "Policlinico-Giovanni XXIII", Bari; <sup>5</sup> Policlinico Tor Vergata, Università Tor Vergata, Roma; <sup>6</sup> Reparto Epidemiologia Malattie Infettive, CNESPS, ISS, Roma

Ha partecipato alla stesura del lavoro anche la Dott.ssa Maria Felicia Mastrototaro, Scuola di Specializzazione in Pediatria, Università di Bari

fabiocardinale@libero.it

Gli Autori dichiarano di non avere alcun conflitto di interesse rispetto agli argomenti trattati nell'articolo.

questi prodotti. Come accade per qualunque farmaco, nessun vaccino ha un'efficacia del 100% e tutti i vaccini possono causare reazioni avverse. Per quanto riguarda l'efficacia, è noto ad esempio come dopo la prima dose di vaccino antimorbillo, il 2-5% circa dei vaccinati non sviluppi un'adeguata risposta immune. Dopo la somministrazione della seconda dose, il 90% circa dei non rispondenti alla prima dose mostra una adeguata protezione immunologica. La somministrazione di due dosi di vaccino MPR consente quindi di ridurre la proporzione di non rispondenti all'1% dei vaccinati. La condizione di "non-responder" alla vaccinazione è d'altra parte ben documentata anche per il vaccino anti epatite B <sup>3</sup>.

Per quanto riguarda la sicurezza, un'adeguata anamnesi prevaccinale consente di identificare le precauzioni e controindicazioni alla somministrazione dei vaccini, riducendo il rischio di reazioni avverse gravi. Alcune di queste, tuttavia, non sono prevedibili in base all'anamnesi. Le reazioni anafilattiche ad esempio, sono un evento estremamente raro (< 1 caso per 1.000.000), ma sempre possibile.

Ancora oggi, gran parte del successo avuto dalla programmazione delle politiche vaccinali poggia sul paradigma "one size fits all" (in pratica lo stesso vaccino è efficace per tutti). In letteratura, comunque, sono riportati numerosi fattori in grado di influenzare la risposta immune, soprattutto anticorpale, alle vaccinazioni, tra cui l'età, il sesso, l'etnia, malattie intercorrenti, il BMI, la qualità e la quantità di antigeni presenti nel vaccino e la stessa via di somministrazione <sup>4,5</sup>. Fattori epigenetici capaci di modulare la funzionalità del sistema immune possono a loro volta svolgere un ruolo nelle risposte vaccinali, come dimostrato per i figli di fumatori <sup>6</sup>.

Tra questi, un peso sicuramente rilevante occupa la genetica della risposta immune <sup>7</sup>, in analogia con quanto accade per le infezioni. È noto ad esempio che possono esistere importanti differenze tra i due sessi per quanto concerne la risposta immunologica nei confronti dei vaccini virali, essendo generalmente riscontrabile nel sesso femminile una più robusta risposta anticorpale verso la maggior parte dei vaccini rispetto al sesso maschile <sup>8</sup>.

Si va quindi sempre più espandendo la ricerca delle basi genetiche della risposta immune delle vaccinazioni, e possibilmente anche del legame tra genetica e reattogenicità dei vaccini. Come immaginabile, il miglior esempio del peso posseduto dalla genetica nella risposta individuale alle vaccinazioni è offerto

dagli studi sui gemelli (vedi oltre). Un contributo determinante comunque alle conoscenze in questo campo è venuto dai progressi compiuti negli ultimi anni nel sequenziamento del genoma umano e nella identificazione di varianti genetiche (*Single Nucleotide Polymorphisms* o SNPs) di geni dell'immunità innata e adattativa in grado di condizionare l'entità e il tipo di risposta immune del soggetto vaccinato.

Sulla scorta di ciò, in analogia con la farmacogenetica e la farmacogenomica, è stato coniato negli ultimi anni il termine di "vaccinomics", per indicare l'insieme dei geni in grado di influenzare la risposta immune ai vaccini <sup>4,9</sup>. Numerosi sono i determinanti immunogenetici implicati nella risposta dell'individuo alle vaccinazioni e, tra questi, un ruolo di grande rilievo è svolto dal complesso maggiore di istocompatibilità (HLA), dai recettori trans-membrana dell'immunità innata, in primis i Toll-like receptors (TLRs), dai recettori per i virus e le vitamine, dalle citochine, nonché dalla cascata del complemento. Gran parte della letteratura in questo campo è frutto del lavoro dei ricercatori della Mayo Clinic dell'Università di Rochester, negli USA. In questo articolo verranno quindi presentate le evidenze ad oggi desumibili dalla letteratura scientifica su questo nuovo e intrigante aspetto della immunologia e della vaccinologia.

---

### **Basi biologiche della risposta immune alle vaccinazioni**

Obiettivo principale dei vaccini è di indurre una memoria immunologica di lunga durata che sia in grado di rispondere velocemente alle infezioni. Questo obiettivo è raggiunto attraverso l'attivazione del sistema immunitario adattativo, caratterizzato dalla capacità di riconoscere in maniera specifica e per lungo tempo gli

**Si va espandendo la ricerca nel campo della vaccinomics, che riguarda le basi genetiche della risposta immune delle vaccinazioni e il legame tra genetica e reattogenicità dei vaccini.**

antigeni. Tuttavia la risposta adattativa è a sua volta influenzata dal sistema immunitario innato, a sua volta contraddistinto dalla limitata specificità della risposta immune e dalla assenza di memoria immunologica <sup>10</sup>. L'attivazione dei recettori del sistema immunitario innato modula il "microambiente immunogenico" grazie al quale le cellule presentanti l'antigene e le cellule T CD4<sup>+</sup> influenzano la risposta adattativa.

Come riportato da Robbins e Plotkin <sup>11</sup>, la maggioranza dei vaccini attualmente utilizzati stimola la produzione di anticorpi nel siero o a livello delle superfici mucose, al fine di bloccare l'azione dei patogeni. La protezione a lungo termine richiede però la persistenza di un adeguato titolo anticorpale e/o la produzione di cellule di memoria capaci di rapida riattivazione a seguito della esposizione microbica. Nonostante il ruolo apparentemente predominante dei linfociti B, le cellule T sono essenziali nell'indurre la produzione di anticorpi ad alta affinità e la memoria immunologica <sup>12</sup>. La natura del vaccino influenza direttamente il tipo di effettori immunologici coinvolti. I polisaccaridi (PS) capsulari determinano una risposta di tipo prevalentemente B cellulare, considerata classicamente come T-indipendente, anche se numerose evidenze supportano un possibile coinvolgimento delle cellule T CD4<sup>+</sup> <sup>13</sup>. La coniugazione dei PS batterici con proteine carrier determina una risposta anticorpale T-dipendente conseguente all'attivazione delle cellule T CD4<sup>+</sup> <sup>14</sup>. La caratteristica principale di tale risposta è quella di indurre la produzione di anticorpi a elevata affinità e una memoria immunologica di lunga durata. L'induzione della risposta B e T cellulare antigene-specifica richiede l'attivazione delle cellule presentanti l'antigene (APCs), in particolare delle cellule dendritiche (DCs), mediante segnali co-stimolatori di attivazione delle cellule T naïve.

Infatti, le DCs esprimono una serie di recettori che riconoscono sequenze antigeniche proprie dei patogeni, che non sono presenti negli antigeni del self e che vengono immediatamente riconosciuti come estranei. Attraverso tali recettori, tra i quali giocano un ruolo fondamentale i Toll-like receptors (TLRs), le cellule dell'ospite vengono attivate <sup>12</sup> e inducono così la maturazione delle DCs che migrano attraverso le vie linfatiche di drenaggio. In assenza di tali segnali le DCs restano immature e le cellule T naïve che vengono a contatto con esse non si differenziano in cellule effettrici, ma diventano cellule T CD4<sup>+</sup> regolatorie che garantiscono la tolleranza immunologica <sup>12</sup>. I vaccini a virus vivi attenuati attivano efficacemen-

te il sistema immunitario innato grazie al riconoscimento di strutture molecolari antigeniche associate ai patogeni, note come PAMPs (*Pathogen Associated Molecular Patterns*, v. oltre), da parte dei *Pattern Recognition Receptors* (PRRs), cioè i recettori dell'immunità innata dell'ospite. Dopo la somministrazione, i vaccini vivi vengono a essere disseminati all'interno della rete vascolare e raggiungono i tessuti periferici in maniera molto simile a quanto avviene durante l'infezione naturale. Pertanto le DCs vengono attivate in più siti dell'organismo e migrano nei rispettivi linfonodi di drenaggio dando origine a molteplici foci di attivazione delle cellule B e T; il che spiega la loro elevata immunogenicità e la scarsa importanza del sito di somministrazione del vaccino <sup>12</sup>. Al contrario, nei vaccini a virus uccisi, che pur contengono i PRRs, l'assenza della replicazione microbica rende l'attivazione indotta dalla vaccinazione più limitata, sia nel tempo che nello spazio, e strettamente dipendente dai componenti del sistema innato localizzati a livello del sito di iniezione, che per questo motivo diventa fondamentale. La risposta immunitaria primitiva ai vaccini a virus ucciso può essere considerata quindi essenzialmente focale e unilaterale <sup>12</sup> e richiede la presenza di adiuvanti che promuovono il reclutamento delle APCs nel sito di vaccinazione aumentando il rilascio dell'antigene alle APCs o attivando le stesse al fine di produrre citochine e segnali di attivazione per le cellule T <sup>15</sup>. Le cellule B sono attivate all'interno dei linfonodi raggiunti dagli antigeni del vaccino per diffusione e/o in associazione alle DCs mature. Gli antigeni proteici attivano sia le cellule B che le cellule T, e inducono la differenziazione delle cellule B in plasmacellule o cellule B della memoria all'interno di strutture specifiche rappresentate dai centri germinativi (CG). Gli antigeni PS che determinano una risposta di tipo T-indipendente, non portano alla formazione del CG ma inducono una risposta anticorpale più debole e di breve durata che non genera quindi una memoria <sup>12</sup>. Nella risposta del CG, al contrario, la cellula B, dopo aver ricevuto segnali di attivazione e di sopravvivenza sia dalle DC follicolari che dalle cellule T *helper* (Th), va incontro a una espansione clonale, proliferando massivamente e dando inizio ai fenomeni di ricombinazione di classe e maturazione di affinità, con conseguente produzione di anticorpi a elevata capacità di legare l'antigene. L'interazione tra le cellule B, le DCs follicolari e le cellule Th porta alla selezione dei linfociti B con più elevata affinità per l'antigene che si differenziano in plasmacellule produttrici di Ig ad alta affinità o cellule

B di memoria (Bmem). Lo sviluppo del CG richiede circa 2 settimane; pertanto gli anticorpi IgG a elevata affinità compaiono in circolo solo 10-14 giorni dopo l'immunizzazione. La reazione del CG termina dopo 3-6 settimane <sup>16</sup>.

Gli antigeni PS batterici rilasciati nel sito di inoculo raggiungono attraverso il circolo sanguigno la zona marginale splenica e linfonodale, un'area ricca di macrofagi in grado di esibire un set unico di recettori scavenger. Qui i PS batterici legano le cellule B della zona marginale che si attivano nei foci extrafollicolari <sup>17</sup>. Nelle settimane successive le cellule B si differenziano in plasmacellule, con conseguente produzione di Ig ad affinità intermedia che mostrano alcune mutazioni somatiche nella loro regione variabile <sup>18</sup>. Si ritiene che l'immunizzazione con antigeni PS possa attivare le cellule Bmem che sono state precedentemente a contatto con degli antigeni cross-reagenti con i polisaccaridi batterici che hanno determinato una risposta di centro germinativo <sup>19</sup>. Una possibile alternativa è che le cellule B mem CD27<sup>+</sup> IgM<sup>+</sup> IgD<sup>+</sup> che compaiono nel sangue in risposta alla immunizzazione con antigeni polisaccaridici possano ricircolare nella zona marginale splenica dove potrebbero andare incontro al riarrangiamento e alla mutazione delle Ig in assenza della interazione con le cellule T. Questa ipotesi concorda con il fatto che i vaccini polisaccaridici sono scarsamente immunogeni nei bambini con meno di 2 anni di età, prima della maturazione della zona marginale splenica <sup>20</sup>.

Le plasmacellule antigene-specifiche che si sviluppano in seguito alla vaccinazione hanno una breve emivita; per questo motivo il titolo anticorpale declina con il tempo. Tuttavia alcune plasmacellule che si differenziano all'interno dei CG acquisiscono la capacità di migrare all'interno di nicchie contenute nel midollo osseo dove sono in grado di sopravvivere, grazie a specifiche cellule stromali, e di produrre anticorpi per lungo tempo <sup>21</sup>. La natura del vaccino gioca un ruolo cruciale: solo i vaccini vivi attenuati producono una risposta anticorpale che dura per decenni anche in assenza di ulteriori esposizioni all'antigene e di riattivazione della memoria immunologica. Questo potrebbe riflettere la persistenza in vivo degli antigeni virali che continuamente stimolano la risposta delle cellule B, anche se altri meccanismi possono essere implicati <sup>12</sup>. La dose antigenica è un altro importante determinante della risposta delle cellule B di memoria. Al momento del *priming* una elevata concentrazione di antigene favorisce l'induzione delle plasmacellule; al contrario,

basse dosi portano prevalentemente alla creazione della memoria immunologica e pertanto, una bassa concentrazione di antigene è preferita quando non è richiesta una rapida protezione <sup>22</sup>. Titoli residui di anticorpi anti-vaccino presenti al momento del *booster* influenzano direttamente la risposta alla vaccinazione. Di regola la risposta secondaria ai vaccini vivi attenuati è limitata a causa della presenza degli anticorpi neutralizzanti che limitano la carica virale prima della proliferazione in vivo. Anche la risposta ai vaccini a virus ucciso è influenzata negativamente dalla concentrazione anticorpale residua. Questi anticorpi infatti portano alla formazione di immunocomplessi che limitano la disponibilità antigenica per il legame con le cellule B. Le cellule B di memoria sopravvivono per lungo tempo anche in assenza della riesposizione all'antigene <sup>12</sup>.

La risposta delle cellule T è di breve durata e la maggior parte delle cellule T effettrici (> 90%) muore per apoptosi in pochi giorni. Per questo motivo la memoria immunologica è essenziale per l'efficacia del vaccino. Le cellule T della memoria possono persistere per lungo tempo anche in assenza dell'esposizione all'antigene <sup>12</sup>. La quantità delle cellule T memoria dipende dalla iniziale espansione delle cellule T. Questa dipende dalla quantità di antigene presente durante l'immunizzazione primaria <sup>23</sup>. Per questo motivo i vaccini uccisi o a subunità, non contenendo sufficienti quantità di antigene, necessitano degli adiuvanti o di dosi *booster* <sup>12</sup>. Sono stati individuati due tipi di cellule T di memoria in base al fenotipo e alla loro funzione. Le cellule T effettrici della memoria (Tem) circolano attraverso gli organi non linfoidi alla ricerca della presenza di specifici peptidi microbici. Queste cellule posseggono una elevata attività citotossica nei confronti delle cellule infettate. Al contrario, le cellule T della memoria centrale (Tcm) si trovano preferenzialmente negli organi linfoidi della milza, posseggono un limitato potere citotossico, ma una elevata capacità proliferativa. Il loro ruolo è quello di riconoscere le cellule dendritiche attivate e di andare incontro a una massiva proliferazione per produrre una elevata quantità di cellule effettrici <sup>24</sup>. La persistenza dell'antigene controlla la proporzione delle cellule Tcm e delle Tem: le Tem diventano predominanti quando vi è persistenza dell'antigene, come nelle infezioni croniche <sup>25</sup>. Attraverso il supporto di citochine come la IL-15 e la IL-17 le cellule T della memoria possono persistere per lungo tempo anche in assenza dell'antigene <sup>26</sup>.

## Principali determinanti immunogenetici della risposta immune alle vaccinazioni: HLA, citochine, TLRs

La variabilità della risposta immune dell'ospite è garantita dall'elevatissimo numero di geni implicati (si stima che i geni coinvolti nella risposta immune innata e adattativa codifichino per più di  $10^{12}$  molecole tra cui immunoglobuline, citochine, lo stesso TCR, ecc.) e dalla estrema diversità degli aplotipi HLA ( $> 10^{13}$ ). Il sistema immunitario riconosce i patogeni e genera una risposta di difesa ben coordinata a seguito del riconoscimento di agenti microbici e strutture molecolari del *non self*. A sua volta questa capacità di riconoscimento dipende dalla abilità delle APCs (ovvero cellule dendritiche, macrofagi, monociti e linfociti B) di legarlo e presentare i peptidi nel contesto di specifiche molecole geneticamente determinate. A livello delle APCs, infatti, l'antigene fagocitato viene sottoposto a degradazione enzimatica all'interno degli endosomi, all'interno dei quali vengono espresse anche le molecole di HLA di classe II. A livello degli endosomi viene a formarsi un complesso molecolare HLA di classe II - peptide che viene successivamente espresso sul-

La natura del vaccino influenza il tipo di effettori immunologici coinvolti: i polisaccaridi (PS) capsulari determinano una risposta di tipo prevalentemente B cellulare, considerata classicamente come T-indipendente; la coniugazione dei PS batterici con proteine *carrier* determina una risposta anticorpale T-dipendente conseguente all'attivazione delle cellule T CD4<sup>+</sup>.

la superficie cellulare, venendo riconosciuto solo da cellule T CD4<sup>+</sup> in grado di esprimere il TCR specifico per quel determinato peptide. Tuttavia, questo processo (primo segnale) da solo non è sufficiente per attivare e far proliferare il linfocita T; perché questo accada è essenziale che al primo segnale si accompagnino altri segnali di attivazione (secondo segnale), determinati da molecole con funzione co-stimolatoria (quali il CD28, CD40L, CD40 e altre) favorevoli l'attivazione della cellula CD4<sup>+</sup>. Grazie al secondo segnale, infatti, vengono attivati quei meccanismi che determinano l'attivazione, la proliferazione e la produzione di citochine da parte dei linfociti T che rappresenta il passaggio indispensabile per l'induzione di una risposta anticorpale protettiva.

La regione HLA, situata sul braccio corto del cromosoma 6, rappresenta la regione maggiormente variabile del genoma umano e contiene circa 200 geni, molti dei quali coinvolti nella presentazione degli antigeni. I geni HLA svolgono un ruolo fondamentale nel determinare la risposta immunitaria delle cellule T agli antigeni<sup>27</sup>. Le molecole di classe I, classicamente responsabili della presentazione degli antigeni alle cellule T CD8<sup>+</sup>, sono codificate dai geni ubicati a livello dei loci HLA di tipo A, B e C, i quali permettono la induzione e il mantenimento della risposta effettrice cellulo-mediata. Le molecole di classe II, invece, consentono la presentazione dei peptidi esogeni alle cellule T CD4<sup>+</sup>, vengono codificate dai loci HLA-DR, -DQ e -DP e stimolano le risposte anticorpali. I loci HLA risultano estremamente polimorfi: ciò permette una presentazione efficace e il riconoscimento di un repertorio incredibilmente ampio di antigeni estranei. Comunque essi non sono i soli determinanti della variabilità della risposta immunitaria ai vaccini che, secondo la "Immune Response Network Theory", è in realtà il risultato cumulativo della espressione di molteplici geni dell'ospite e della loro interazione ed è, in via del tutto teorica, prevedibile<sup>28</sup>.

La produzione delle citochine dalle cellule T è a sua volta essenziale per la regolazione dell'immunità cellulare e anticorpale ai vaccini. I linfociti CD4<sup>+</sup> sono convenzionalmente suddivisi in almeno tre grandi sottopopolazioni: le cellule Th1, che favoriscono l'immunità cellulare attraverso la produzione di specifiche citochine (INF- $\gamma$ , IL-2, IL-6 e TNF- $\alpha$ ), le cellule Th2, che producono le citochine necessarie per lo sviluppo della immunità anticorpale (IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 e IL-13) e le cellule Th17, produttrici di citochine come la IL-17 essenziali per l'attivazione del neutrofilo e lo svilup-

po delle risposte immuni nei confronti dei patogeni extracellulari e dei miceti. Vista l'importanza delle citochine e dei loro recettori nel guidare la risposta immunitaria, i polimorfismi nei geni codificanti per tali proteine sono stati ampiamente oggetto di studio ed è stato osservato che influenzano in maniera significativa la risposta alle vaccinazioni e la suscettibilità allo sviluppo delle patologie infettive.

Inoltre, i vaccini composti da virus vivi, come avviene nel corso dell'infezione naturale, si legano a specifici recettori dell'immunità innata presenti sulla superficie cellulare o all'interno della cellula stessa, sia nel citosol che nel compartimento endosomico. Polimorfismi nei geni di questi recettori possono quindi comprensibilmente contribuire ulteriormente alla grande variabilità individuale nella risposta alle vaccinazioni. I TLRs rappresentano una famiglia di recettori composta da circa una dozzina di molecole, costituite da eterodimeri variamente combinati tra di loro, e presenti tanto sulla membrana delle cellule nucleate quanto nel compartimento endosomico delle stesse cellule. Ogni TLR presenta una specificità di legame con determinati PAMPs, rappresentate da strutture molecolari proprie degli agenti microbici (come il peptidoglicano, i beta-glucani, i lipoarabinomannani, l'RNA o il DNA virale, etc.) e non rappresentate sulle cellule eucariote. Essi, analogamente ad altri recettori presenti nel citosol delle cellule (es. i *NOD-like receptors*), giocano un ruolo essenziale nel riconoscimento da parte del sistema immune innato dei patogeni e nel guidare la risposta immune adattativa ed è quindi immaginabile che varianti genetiche di questi recettori possano svolgere un ruolo nel condizionare l'entità e il tipo della risposta immune anche verso i vaccini <sup>29</sup>.

### **Ruolo dei fattori genetici nella risposta immune alle vaccinazioni: le evidenze offerte dai twin studies**

Gli studi su popolazioni di gemelli offrono una opportunità unica per valutare il ruolo dei determinanti genetici nella variabilità della risposta immune alle vaccinazioni, in quanto consentono di discriminare tra fattori ambientali e fattori genetici e di quantificare il contributo della "ereditabilità" nella risposta immune, definita come il rapporto tra varianza genetica e varianza totale. Modelli di studio basati su coppie di gemelli mono- o dizigoti, di sesso diverso, o di gemelli cresciuti in ambienti diversi, offrono inoltre la possibilità di valutare l'impatto dei determinan-

**La regione HLA, situata sul braccio corto del cromosoma 6, contiene circa 200 geni, molti dei quali svolgono un ruolo fondamentale nel determinare la risposta immunitaria delle cellule T agli antigeni.**

ti ambientali in termini di esposizione antigenica. In uno studio condotto da Tan et al. <sup>30</sup> su 120 coppie di gemelli, di cui 45 monozigoti, che avevano ricevuto 1 o 2 dosi di vaccino MPR (Morbilli, Parotite e Rosolia), veniva calcolato che la varianza del livello di anticorpi vaccinali dovuta presumibilmente a fattori genetici era di 0,49 per il morbillo, 0,54 per la parotite e 0,13 per la rosolia, con una ereditabilità rispettivamente del 88,5% per il morbillo, e del 39% e 46% per la parotite e la rosolia. Questi dati indicano che la risposta immune al morbillo è in gran parte geneticamente determinata, più di quanto lo sia quella per gli altri due virus. Gli stessi autori hanno successivamente effettuato una revisione sistematica degli studi condotti su coorti di gemelli, aventi come oggetto il ruolo dei fattori genetici e ambientali sulla variabilità della risposta immune alle vaccinazioni, gli eventi avversi e le complicazioni vaccinali <sup>31</sup>. Tre in particolare erano studi in cross-over randomizzati in doppio cieco e controllati con placebo: il primo condotto da Hohler et al. <sup>32</sup> su 202 coppie di gemelli mono- e dizigoti vaccinati per l'epatite B ha dimostrato una significativa correlazione della risposta immune anti HBsAg con il sesso femminile, la dizigosità e l'allele per il locus HLA-DRB1, individuando una ereditabilità della risposta anti-epatite B di 0.61. Gli stessi autori hanno poi dimostrato che soggetti con il polimorfismo ACC (-1082, -819 e -592) del promoter dell'IL-10 avevano un titolo anti-HBsAg doppio rispetto ai soggetti senza questo aplotipo, con una influenza genetica del 27% sulla risposta anticorpale. Lo stesso polimorfismo risultava invece influenzare negativamente la risposta all'epatite A <sup>33</sup>. In un'altra coorte di 207 coppie di gemelli reclutati nel Gambia, è stata osservata una elevata ereditarietà della risposta anticorpale verso il vaccino per l'epatite B

(77%), per la polio orale (60%), per la difterite (49%) e per il tetano (44%). Analogamente, significativi livelli di ereditarietà furono dimostrati per la risposta citochinica IFN- $\gamma$ - e IL-13-mediata verso i vaccini per tetano, pertosse e BCG (39-65%)<sup>34</sup>. Questi dati indicano che altri geni, anche al di fuori del sistema HLA, esercitano un forte controllo sulla risposta B-cellulare ai vaccini durante i primi mesi di vita. In un studio successivo di follow-up sulla stessa coorte<sup>35</sup>, è stata poi analizzata la risposta al tetano, al morbillo e agli antigeni ambientali (valutati come livelli di IgG totali), all'età di 5 e 12 mesi, comparando coppie di gemelli monozigoti e dizigoti. I livelli della risposta anticorpale all'antigene morbillare risultarono più alti nei gemelli monozigoti all'età di 12 mesi, con una ereditabilità del 62%, mentre non furono rilevati significativi determinanti genetici nella risposta al tetano e agli antigeni ambientali. Inoltre il titolo di anticorpi anti-tossoidi tetanico ad alta avidità e l'indice di avidità anticorpale, non differiva in maniera significativa nei due gruppi di gemelli mono- e dizigoti. Questi dati sembrano suggerire un controllo genetico soprattutto sulla fase precoce della risposta anticorpale, mentre i determinanti ambientali influenzerebbero prevalentemente la persistenza e l'avidità della risposta immune ai vaccini.

## Fattori genetici coinvolti nella risposta immune alle vaccinazioni

### Vaccinazione anti-Morbillo Parotite Rosolia

Diversi studi di vaccinomica hanno esplorato la relazione tra genetica e risposta immune alla vaccinazione Morbillo Parotite Rosolia (MPR)<sup>6</sup>. La risposta immune umorale e cellulare indotta dalla vaccinazione con virus vivi attenuati, come il vaccino MPR, rappresenta un processo complesso e articolato in più passaggi. Il virus vaccinale attenuato deve per prima cosa venir riconosciuto dai suoi recettori cellulari (SLAM e CD46), e attivare i TLRs o altri sensori intracellulari della cellula infettata che innescano la risposta immune innata e preparano quella adattiva (anticorpale e cellulare). Dopo la presentazione degli antigeni da parte delle molecole HLA, si assiste all'attivazione dei geni che codificano per le citochine e i loro recettori, con conseguente produzione di specifici set di citochine con funzione di messaggeri intracellulari per stimolare le risposte immuni Th1 e Th2. Variazioni individuali in ognuno dei geni coinvolti in questo processo è probabile che abbia un effetto sulla risposta immune alla

vaccinazione. Studi sui gemelli dimostrano il peso della genetica nella risposta immune al vaccino MPR, in particolare l'anti-morbillo<sup>30</sup>. Per quanto riguarda l'associazione con l'HLA, alcuni studi hanno dimostrato un'associazione tra specifici aplotipi di geni HLA di classe I e II e variazioni dei titoli anticorpali dopo la somministrazione della prima dose di vaccino anti-morbillo<sup>36-38</sup>. In particolare, gli alleli di classe II *DRB1\*03*, *DQA1\*0201* e di classe I *B8*, *B13* and *B44* sono risultati associati con livelli inferiori di anticorpi antimorbillo in bambini sani in età scolare. In generale, la diversificazione in eterozigosi nell'ambito dei geni dell'HLA sembra generare risposte immuni più efficienti nei confronti dei patogeni e, molto probabilmente, anche nei confronti dei vaccini<sup>39</sup>. In caso di omozigosi, è stato dimostrato ad esempio che la mancanza di variabilità degli alleli HLA è associata con diminuiti livelli di anticorpi anti-morbillo dopo dose singola, con un rischio di mancata risposta immune alla vaccinazione che aumenta all'aumentare dell'omozigosi. Infatti, bambini omozigoti per almeno un locus HLA sembrano avere una probabilità circa doppia di risultare sieronegativi rispetto agli eterozigoti, mentre bambini omozigoti per  $\geq 4$  loci avrebbero una probabilità fino a 4-5,5 volte maggiore. Il ruolo del complesso HLA è stato esplorato anche per quanto riguarda l'immunogenicità indotta da due dosi di MPR. Infatti, dopo somministrazione di due dosi di vaccino, l'omozigosi per specifici loci HLA o l'omozigosi globale non è risultata associata a una minore risposta immune in termini di produzione di alcune citochine implicate nella risposta verso il morbillo quali IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-4, IL-10 e IL-12p40<sup>40</sup>. Tale risultato suggerisce che una eventuale limitazione genetica possa essere superata da dosi ripetute o più elevate di vaccino. Gli aplotipi con la più forte evidenza di associazione con una minore risposta anticorpale, dopo somministrazione di due dosi, sono risultati essere *DRB1\*07-DQB1\*02-DPB1\*02* e *DRB1\*07-DQB1\*03-DPB1\*04*. Gli aplotipi *A\*26-Cw\*12-B\*38* sono invece risultati significativamente associati con una elevata risposta umorale (livelli anticorpali) e cellulosa-mediata (proliferazione linfocitaria) verso la componente anti-parotite<sup>40</sup>. I supertipi *B44* and *B58* erano fortemente associati con ridotti livelli anticorpali al morbillo, mentre il più comune supertipo *B7* era associato con una risposta anticorpale al morbillo più elevata. Per il vaccino contro la parotite, è stato evidenziato che l'allele *HLA-DQB1\*0303* era associato con titoli anticorpali specifici più bassi; dopo vaccino

MPR, il supertipo B62 suggeriva invece un'associazione con una più elevata linfoproliferazione specifica per la parotite <sup>41 42</sup>. Inoltre, gli alleli DRB1, DQA1 e DQB1 erano associati con variazioni significative nelle risposte immuni linfoproliferative al vaccino anti-parotite <sup>41</sup>. È stato anche dimostrato che gli alleli HLA-A (\*2402 e \*6801) erano associati con minori livelli secretivi di IFN- $\gamma$  indotto dal vaccino in risposta agli antigeni della rosolia <sup>43</sup>. Gli alleli di classe I HLA-A (\*0101, \*3101), HLA-C (\*0303, \*0501), classe II HLA-DRB1 (\*0301, \*1501) e HLA-DQB1 (\*0201, \*0303 e \*0602) erano invece significativamente associati con variazioni nella secrezione di IFN- $\gamma$  indotta *in vitro* dal virus del morbillo <sup>44 45</sup>. Gli studi sopracitati hanno quindi evidenziato che le risposte immuni umorali (anticorpi) e cellulari (linfoproliferazione e secrezione di citochine) al vaccino MPR sono influenzate da polimorfismi dei geni HLA.

È possibile che altri geni coinvolti nella risposta immune o altri geni al momento non ancora noti influenzino l'immunità al vaccino MPR, in maniera ancora più importante rispetto al complesso HLA. Vi sono infatti dati che mostrano come specifici polimorfismi (SNPs) a carico dei geni per la IL-10 e IL-12RB2 siano associati con ridotte risposte anticorpali e cellulomediata verso il vaccino antimorbillo, mentre specifici SNPs nel gene dell'IL-2 sarebbero associati con risposte anticorpali e cellulomediata amplificate <sup>46</sup>. Sono state riscontrate anche associazioni significative tra i polimorfismi del gene IL-4R e i livelli di IL-4 morbillo-specifiche (alleli maggiori per quattro SNPs erano associati con minori livelli di IL-4) <sup>47</sup>, indicando che i polimorfismi dei geni che codificano per le citochine e i loro recettori possono costituire un fattore importante nello sviluppo dell'immunità nei confronti del vaccino per questo virus.

Altri lavori hanno dimostrato il ruolo esercitato dai geni codificanti per i recettori del virus del morbillo, SLAM e CD46 <sup>48</sup>. A questo riguardo, è stato osservato che un'aumentata rappresentazione di alleli minori rs3796504 and rs164288 nel gene SLAM si associa a livelli significativamente ridotti di anticorpi specifici per morbillo. In particolare, il SNP rs3796504 sarebbe causa della modifica di un aminoacido, tale probabilmente da comportare una diversa conformazione del recettore, rendendolo inadatto al legame con l'emoagglutinina del virus. Invece, la presenza di uno specifico allele [allele minore C per il SNP intronico (rs11118580)] nel gene CD46 è risultata associarsi a una diminuzione dei livelli anticorpali.

## Vaccinazione anti-influenzale

I virus dell'influenza sono classificati in tipo A, B e C sulla base dell'antigenicità delle proteine del core. I virus dell'influenza A sono ulteriormente suddivisi in sottotipi a seconda degli antigeni di superficie emogglutinina (HA) e neuroamminidasi (NA). Tali antigeni (HA ed NA) codificano per glicoproteine espresse sulla doppia membrana lipidica che riveste il capsido proteico, a sua volta avvolgente il core virale, contenente l'RNA a filamento singolo. Inoltre, la membrana lipidica dei virus influenzali di tipo A contiene alcune molecole di una piccola proteina di membrana chiamata M2.

Per quanto riguarda la risposta immune verso il virus dell'influenza, la presenza di anticorpi circolanti diretti verso le glicoproteine di superficie HA ed NA sembra sufficiente per proteggere l'ospite nei confronti tanto dell'infezione quanto della malattia influenzale <sup>49</sup>. L'importanza della risposta immune mediata dai linfociti T citotossici è meno chiara, sebbene essa sembri contribuire a ridurre la severità dell'infezione, determinando una importante diminuzione dei tassi di morbilità e mortalità <sup>50-52</sup>. Studi compiuti su casistiche di soggetti deceduti per infezione da virus influenzale negli ultimi 100 anni negli USA hanno comunque evidenziato l'importanza della genetica nel predisporre a forme più severe di influenza stagionale e pandemica <sup>53 54</sup>. Inoltre, recentemente, è stata ipotizzata la presenza di differenze nella risposta immune all'influenza tra maschi e femmine che provocherebbe nelle donne una maggiore attività del *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells* (NF- $\kappa$ B) e delle citochine, chemochine e del TNF- $\alpha$  rispetto agli uomini, causando una maggiore predisposizione delle donne a forme di malattia influenzale più severa <sup>55</sup>. Tutto questo è ulteriormente confermato dalla maggiore risposta anticorpale nelle donne rispetto agli uomini nella risposta immune al vaccino antinfluenzale stagionale <sup>56 57</sup>. I meccanismi che mediano le differenze di genere nella risposta anticorpale al vaccino antinfluenzale non sono ancora completamente noti e non sono stati sufficientemente investigati <sup>55</sup>.

In generale, la risposta immune indotta dalla somministrazione del vaccino anti-influenzale, anche nei soggetti sani, sembra essere estremamente eterogenea. Tuttavia, nonostante la grande mole di studi disponibili in letteratura pochi studi hanno focalizzato l'attenzione sulla genetica della risposta immune all'influenza o alla vaccinazione antinfluenzale <sup>58</sup>. Alcuni lavori hanno dimostrato l'importanza dei geni

dell'HLA nella risposta immune al vaccino anti-influenzale trivalente a subunità. Una maggiore frequenza di HLA-DRB1\*0701 e una ridotta frequenza di HLA-DQB1\*0603-9/14 è stata trovata in soggetti *non-responders* a questo tipo di vaccino rispetto al gruppo di controllo caratterizzato da soggetti responsivi al vaccino <sup>59</sup>. Lo stesso studio ha evidenziato una maggiore frequenza dell'allele HLA-DQB1\*0303 (che è parte dell'aplotipo HLA-DRB1\*07-) tra i *non-responders* alla vaccinazione antinfluenzale, dati questi di particolare rilevanza perché potrebbero aiutare a identificare i soggetti che non sono protetti dalle attuali strategie vaccinali <sup>60</sup>. È stata anche valutata l'associazione fra polimorfismi dell'HLA e sierconversione (test di inibizione dell'emoagglutinina, HI) anticorpale specifica H1 per il vaccino antinfluenzale in soggetti sani di età compresa fra 18 e 40 anni. Alcuni loci HLA-A, B e C sono risultati associati con la presenza di variazioni nel titolo anticorpale rilevato dopo la vaccinazione antinfluenzale. Tuttavia i risultati ottenuti vanno considerati con cautela a causa della mancanza di significatività statistica <sup>59</sup>. Gli stessi autori hanno esplorato la risposta immune verso la componente antigenica H3 del vaccino antinfluenzale trivalente a subunità, rilevata tramite HI, non rilevando un'associazione tra i loci HLA-A, B e C e risposta immune. Anche in questo caso, comunque, la scarsa numerosità del campione e la mancanza di potere statistico per identificare l'associazione tra titolo anticorpale e presenza di polimorfismi genetici non ha permesso di confermare tale ipotesi. Dati preliminari suggerirebbero un'associazione anche tra SNPs di geni codificanti per alcune citochine e loro recettori e sierconversione verso la componente H1 del vaccino antinfluenzale, mostrando una certa tendenza a una risposta dose-allele mediata. Nello stesso studio è stata dimostrata una associazione statisticamente significativa fra presenza di SNPs nelle citochine e risposta umorale alla componente H3 del vaccino <sup>59</sup>.

### Vaccinazione anti-epatite B

L'infezione da virus dell'epatite B rappresenta un problema di rilevanza mondiale che la globalizzazione e i flussi migratori hanno acuito in maniera significativa: oltre 2 miliardi di persone sono infette dal virus e di questi più di 350 milioni diventano portatori cronici. Ogni anno più di mezzo milione di persone contrae una infezione acuta o cronica da HBV e questa può, in molti casi, progredire in cirrosi epatica e carcinoma

## Studi compiuti su casistiche di soggetti deceduti per infezione da virus influenzale hanno evidenziato l'importanza della genetica nel predisporre a forme più severe di influenza stagionale e pandemica.

epato-cellulare. La vaccinazione rappresenta un efficace strumento di prevenzione dell'infezione, e programmi di vaccinazione di massa sono stati adottati da oltre 150 paesi in tutto il mondo, prima fra tutti l'Italia. Tuttavia la risposta immune al vaccino presenta una enorme variabilità interindividuale, e circa il 5-10% dei soggetti adulti sani vaccinati non produce livelli anticorpali protettivi <sup>61</sup>.

Per quanto riguarda l'HLA, i dati più consistenti riguardano gli alleli 1, 11 e 15 del DRB1 che correlano con alti livelli di anticorpi anti-HBsAg, mentre gli alleli HLA DR3, DR4 e DR7 sono stati associati a una mancata risposta protettiva <sup>62-64</sup>. Tuttavia, come dimostrato dagli studi sui gemelli, gran parte della ereditabilità della risposta immune al vaccino anti-epatite B nell'infanzia è determinata da geni non appartenenti al sistema HLA.

In uno studio condotto su un'ampia popolazione di bambini del Gambia vaccinata per HBV, analizzando 715 SNPs di 133 geni candidati al di fuori dei loci HLA, è stata dimostrata una significativa associazione tra picco di anticorpi anti-HBsAg e un singolo polimorfismo R719T del gene ITGAL <sup>65</sup>. Questo gene sembra regolare i processi di adesione tra granulociti ed endotelio, l'attività T citotossica, e il killing anticorpo-dipendente. Gli stessi autori hanno poi identificato una stretta correlazione tra livelli di anticorpi anti-HBsAg e aplotipi di ben 5 geni: due molecole costimolatorie (CD44 e CD58); una proteina (il CDC42) implicata nella trasmissione di segnali intracellulari implicati nei processi di migrazione, endocitosi e regolazione del ciclo cellulare; infine il recettore per la IL-1 (IL1R1) e la IL-19, a loro volta coinvolti in molteplici meccanismi della risposta infiammatoria <sup>66</sup>.

Altri lavori hanno dimostrato un'associazione tra varianti polimorfiche del gene IL-1B e del promotore del

## Gran parte della ereditabilità della risposta immune al vaccino anti-epatite B nell'infanzia è determinata da geni non appartenenti al sistema HLA.

gene della IL-10 e livelli più alti di anticorpi anti-HBsAg e risposta proliferativa T cellulare dopo vaccinazione con HBV<sup>33,67</sup>. Anche il gene FOXP1, codificante per un fattore di trascrizione coinvolto nello sviluppo delle cellule B mature, sembra correlare positivamente con una risposta protettiva verso l'HBV<sup>68</sup>.

Per quanto riguarda i TLRs, un recente studio cinese ha analizzato la frequenza di 53 SNPs all'interno di 21 geni candidati in una popolazione di 46 soggetti responders e 24 non responders alla vaccinazione anti-epatite B. Il lavoro ha dimostrato l'esistenza di una correlazione tra polimorfismi del TLR2, oltre che dei geni di alcune citochine e loro recettori (rs3804100, rs2243248, rs1805015, e rs1295686, rispettivamente, nei geni di TLR2, IL-4, IL-4RA e IL-13), e immunizzazione dopo vaccinazione anti-HBV<sup>69</sup>. Nello stesso lavoro gli autori osservavano un'associazione tra presenza di alcuni SNPs (rs1143633 e rs1143627) del gene IL-1B e status di *non responder* alla vaccinazione.

### Altre vaccinazioni

Molto meno è noto riguardo ai fattori che regolano la risposta immune nei confronti di altri vaccini. Per quanto riguarda i vaccini polisaccaridici è noto ad esempio che gli indiani nord-americani e le popolazioni indigene dell'Alaska elaborano risposte anticorpali difettive nei confronti dell'*Haemophilus influenzae* di tipo b e dello pneumococco<sup>70,71</sup>. Studi di poco successivi hanno dimostrato il ruolo nelle risposte anticorpali specifiche verso antigeni microbici di specifici allotipi genetici (Km e Gm) delle immunoglobuline<sup>72</sup>. Analogamente, studi compiuti su popolazioni europee, risalenti già agli anni '90, avevano dimostrato una stretta correlazione tipo-specifica tra gemelli monozigoti nelle risposte anticorpali IgG e IgG2-mediate nei confronti del polisaccaride pneumococcico<sup>73</sup>.

Invece, per quanto concerne antigeni proteici come quelli dei tossoidi vaccinali, uno studio su gemelli monozigoti di etnia africana ha riportato una significativa ereditarietà, non HLA correlata, nei titoli anticorpali e nella produzione di alcune citochine (IFN- $\gamma$  e IL-13) nei confronti non solo dell'epatite B e del virus polio orale, ma anche del tetano e della difterite<sup>34</sup>. Al contrario, geni mappanti entro i loci HLA di classi II risulterebbero implicati nella risposta al BCG<sup>34</sup>. Un altro studio compiuto negli USA su 141 bambini sani vaccinati secondo le normali schedule nordamericane ha dimostrato una significativa correlazione tra polimorfismi del gene dell'IL-10 e dell'IL-4R $\alpha$  e titoli anticorpali, rispettivamente, anti-difterite e anti-tetano (74). Nello stesso lavoro gli autori osservavano che gli stessi SNPs dell'IL-4R $\alpha$  erano associati con le risposte anticorpali nei confronti del vaccino pneumococcico coniugato (PCV7). Inoltre, i titoli anticorpali verso il PCV7 erano a loro volta influenzati anche da SNPs a carico di geni della IL-10, IL-12 e IL-13.

Per quanto riguarda la vaccinazione anti-pertosse, alcuni autori hanno osservato, in un'ampia popolazione di bambini vaccinati con il vaccino cellulare, una significativa correlazione tra titolo IgG anti-tossina della *B. Pertussis* e diversi SNPs a carico del complesso CD14/TLR4 e altre molecole implicate nel *signalling* a valle di questi recettori, tra cui, in particolare, TOLLIP<sup>75</sup>.

Un peso determinante sembra avere la genetica anche per la risposta immune nei confronti della vaccinazione per il vaiolo e la febbre gialla<sup>6,76</sup>. Come è noto, l'eradicazione del vaiolo in tutto il mondo risale agli anni '80 e successivamente alla sua certificazione la vaccinazione è stata sospesa. In assenza di rischio di infezione, infatti, la vaccinazione non offre vantaggi superiori rispetto al possibile rischio di eventi avversi. Tuttavia, il potenziale utilizzo di questi virus come strumento di bioterrorismo e la presenza di ampie fasce di popolazione prive al giorno d'oggi di copertura vaccinale, hanno rinnovato negli ultimi anni l'interesse verso questo vaccino e i fattori che ne regolano la risposta da parte del sistema immune. Il gruppo della Mayo Clinic ha quindi dimostrato una associazione tra SNPs a carico del gene della IL-18 o del suo recettore e livelli anticorpali post-vaccinali verso questo virus in individui di razza caucasica o africana<sup>77</sup>. Studi dello stesso team di ricercatori hanno osservato in coorti di giovani adulti una stretta correlazione tra risposte anticorpali verso il virus del vaiolo ed entità della risposta citochinica di tipo Th-1 (IL-2, IFN- $\gamma$ , ma anche

Per la vaccinazione anti-pertosse, alcuni autori hanno osservato una significativa correlazione tra titolo IgG anti-tossina della *B. Pertussis* e diversi SNPs a carico del complesso CD14/TLR4 e altre molecole implicate nel *signalling* a valle di questi recettori, tra cui, in particolare, TOLLIP.

IL-1, TNF- $\alpha$  e IL-12) verso lo stesso virus, lasciando ipotizzare che varianti genetiche in grado di modulare la quantità di citochine prodotte possano modificare la risposta immune verso il vaccino<sup>78</sup>. Ricerche anche di altri gruppi hanno indicato in una molecola implicata nel *signalling* intracellulare da parte delle vitamine A e D, nota come RXRA (*Retinoid X Receptor  $\alpha$* ), un altro gene in grado di modulare le risposte anticorpali verso il virus del vaiolo<sup>79</sup>.

#### **Ulteriori prospettive. Il possibile ruolo della genetica nelle reazioni avverse ai vaccini: la "adversomica"**

È ben noto come la percezione dei benefici delle vaccinazioni sia indebolita proprio dai successi raggiunti dalle politiche vaccinali. Si dice infatti spesso che i vaccini sono le principali vittime dei loro successi. Infatti, con il diminuire della frequenza delle malattie prevenute, si perde la percezione della loro pericolosità. Contemporaneamente, aumentano in alcune fasce di popolazione i dubbi sulla sicurezza dei vaccini, e quindi sul loro rapporto rischio/beneficio<sup>80</sup>. La prevenzione delle reazioni avverse gravi a vaccino è ad oggi basata sull'anamnesi pre-vaccinale, mirata a identificare condizioni di aumentato rischio in cui le vaccinazioni sono controindicate. Un esempio di maggior rischio, geneticamente determinato, di insorgenza di reazioni avverse ad alcune vaccinazioni è rappresentato dalla agammaglobulinemia X-linked (XLA), patologia genetica che comporta un deficit del-

la risposta immune, che quindi controindica la somministrazione di vaccini vivi attenuati, quali l'antipolio orale. A parte le sindromi da immunodeficit primitivo, non sono ad oggi note altre condizioni geneticamente determinate che costituiscono un determinante di reazioni avverse a vaccino<sup>81</sup>. Esistono tuttavia iniziali evidenze del ruolo svolto da fattori di ordine genetico nel condizionare la probabilità di sviluppare reazioni indesiderate alle vaccinazioni<sup>82</sup>. Ad esempio, alcuni eventi avversi potenzialmente causati da vaccini contenenti virus vivi attenuati, possono essere legati alla intrinseca attività replicativa del virus e, pertanto, alla suscettibilità di per sé dell'individuo alle infezioni<sup>83</sup>. A questo proposito è documentato che individui appartenenti ad alcune etnie, come gli Amerindi, presentano una particolare frequenza e intensità di reazioni febbrili (> 40°C) dopo vaccinazione anti-morbillo<sup>84</sup>. È possibile che l'entità e la frequenza di simili reazioni sia da ascrivere a polimorfismi di citochine della fase acuta<sup>6 85</sup>, in analogia con quanto dimostrato per il vaccino del vaiolo (vedi oltre). Nelle due settimane successive alla prima vaccinazione antimorbillo, il 5%-15% dei vaccinati presenta febbre > 39,4°C<sup>86</sup>. Una parte minore di questi sviluppa anche una convulsione febbrile. In particolare, l'incidenza di convulsioni febbrili nelle due settimane seguenti la prima vaccinazione MPR è pari a 1,56/1.000 vaccinati<sup>87</sup>. La probabilità di avere convulsioni febbrili nelle due settimane dopo la vaccinazione MPR è circa 4 volte maggiore nei fratelli di bambini con anamnesi di convulsioni febbrili (3,97/1.000) e circa 20 volte superiore nei bambini con una storia personale di convulsioni febbrili (19,47/1.000)<sup>87</sup>. Poiché la suscettibilità alle convulsioni febbrili è a sua volta geneticamente determinata<sup>88</sup> e, tra i geni di suscettibilità, figurano anche quelli codificanti per citochine della fase acuta<sup>89</sup>, è plausibile che anche la probabilità di sviluppare convulsioni febbrili dopo vaccinazione MPR sia condizionata dagli stessi geni di suscettibilità<sup>80</sup>. Per quanto riguarda la trombocitopenia, si stima un rischio di 1 caso ogni 40.000 vaccinati entro due mesi dalla prima dose di MPR, rispetto a circa 1 caso ogni 3.000 pazienti con morbillo. È stato d'altra parte recentemente documentato come il 76% dei casi di trombocitopenia idiopatica autoimmune (ITP) nei bambini tra 12 e 23 mesi di età sia temporalmente correlato con la vaccinazione MPR<sup>90</sup>. L'identificazione di un'associazione genetica tra MPR e ITP sarebbe quindi molto importante per mettere a punto eventuali strategie preventive o nuovi vaccini<sup>82</sup>.

Il vaccino più studiato per quanto riguarda il possibile ruolo della genetica nell'insorgenza di effetti collaterali è quello contro il vaiolo <sup>81 83 91</sup>. Per questo vaccino, si stima una probabilità di complicanze severe intorno a 1/14.000, la più frequente delle quali è la miopericardite. Alcuni lavori hanno dimostrato un'associazione tra frequenza di reazioni avverse al vaccino per il vaiolo e risposta immunitaria dell'ospite. I ricercatori della Vanderbilt University statunitense hanno dimostrato una maggior frequenza di reazioni febbrili, linfadenopatia e rash generalizzato dopo vaccinazione anti-vaiolosa in individui che presentavano aumentati livelli ematici di alcune citochine (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-5 e IL-10) dopo la somministrazione del vaccino <sup>92</sup>. Lo stesso gruppo, in un lavoro successivo, dimostrava un'associazione tra reazioni sistemiche al vaccino e livelli post-vaccinali di G-CSF, *stem cell factor*, CXCL9, *intercellular adhesion molecule-1*, eotassina e inibitore tissutale delle metalloproteinasi-2 <sup>93</sup>. Un altro team di ricercatori ha invece dimostrato un'associazione tra eventi febbrili dopo vaccinazione per il vaiolo e specifici aplotipi dei geni codificanti per la IL-1, IL-18 e IL-4 <sup>92</sup>. Uno studio ancora successivo ha dimostrato, in due popolazioni indipendenti di volontari vaccinati per il vaiolo, un'associazione significativa tra reazioni locali o sistemiche al vaccino e polimorfismi del gene della metilen-tetraidrofolicoreduccasi (MTHFR), un enzima implicato nelle reazioni a svariati agenti farmacologici, e dell'*interferon regulator factor 1* (IRF1) <sup>94</sup>. Pertanto, la probabilità di sviluppare reazioni febbrili sistemiche dopo vaccinazione per il vaiolo sembra correlata con l'entità e il pattern di citochine e altri fattori solubili prodotti dai fibroblasti e dalle cellule immunocompetenti del ricevente, a sua volta geneticamente determinata.

Per quanto riguarda il vaccino per la febbre gialla, è stato invece documentato un caso di malattia viscerotropica associato a prolungata viremia, successiva a vaccinazione, in un paziente con un polimorfismo a carico del recettore per le chemochine, il CCR5, e del suo ligando, il RANTES <sup>96</sup>.

Un discorso a parte merita il rapporto tra reazioni da ipersensibilità ai vaccini e atopia. Studi compiuti da autori Giapponesi hanno dimostrato ad esempio una significativa correlazione tra risposte IgE-mediate alla gelatina, un comune stabilizzante presente in alcuni vaccini, e specifici aplotipi HLA <sup>97 98</sup>. Ad oggi, peraltro, non esistono dimostrazioni di una maggiore incidenza di reazioni avverse alle vaccinazioni nella popolazione degli atopici in generale. È stata invece

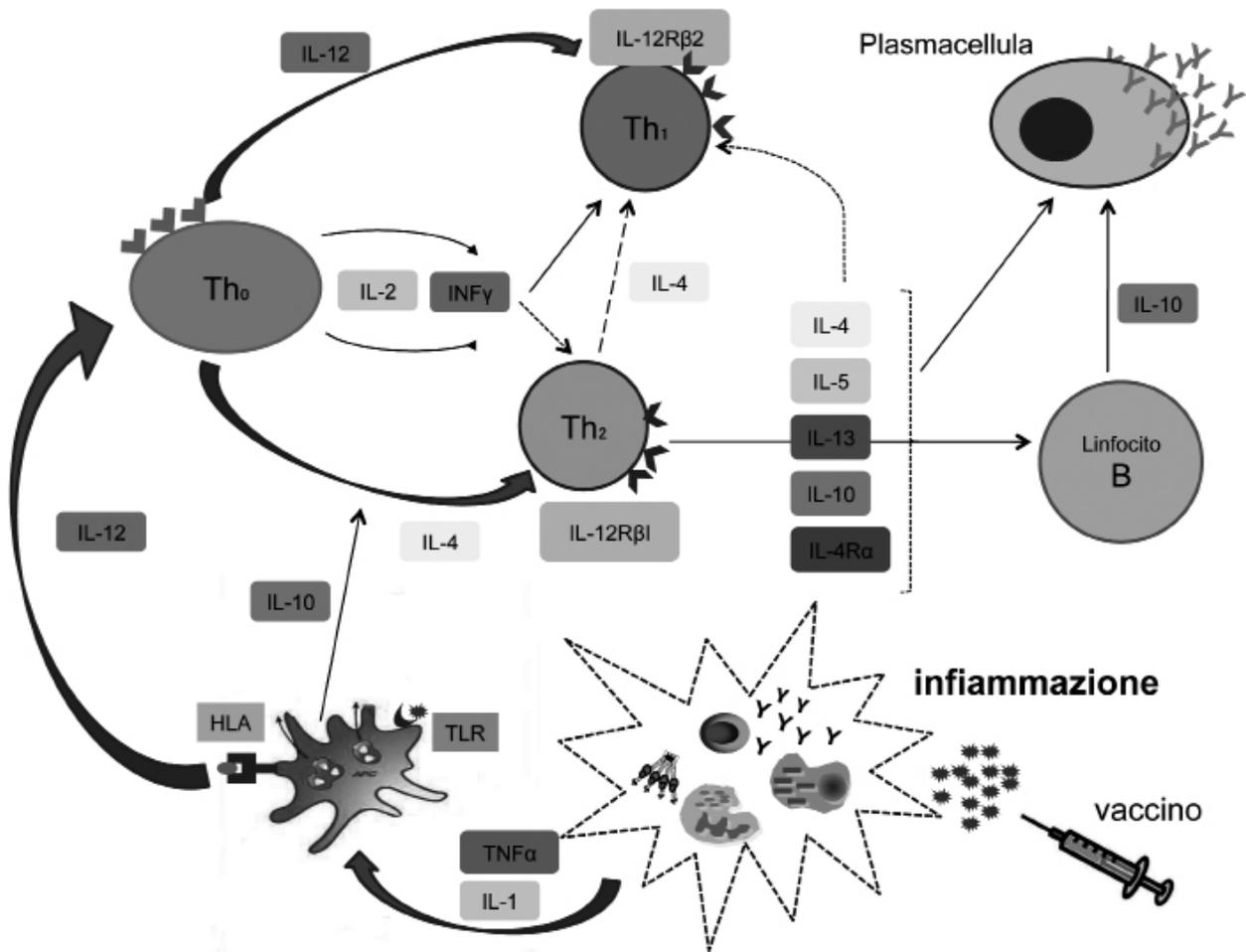
**A parte le sindromi da immunodeficit primitivo, non sono ad oggi note altre condizioni geneticamente determinate che costituiscono un determinante di reazioni avverse a vaccino, ma vi sono iniziali evidenze del ruolo svolto da fattori genetici nel condizionare la probabilità di reazioni indesiderate alle vaccinazioni.**

riportata una maggior frequenza di reazioni locali accentuate (diametro > 50 mm) dopo vaccinazione con una dose booster di DTP acellulare (DTPa) in bambini che avevano precedentemente ricevuto il ciclo di base con DTPa, ed erano caratterizzati da un pattern di risposta anticorpale di tipo Th-2 verso gli antigeni vaccinali <sup>99</sup>.

---

## Conclusioni

Lo studio del ruolo della genetica della risposta immune alle vaccinazioni offre prospettive stimolanti sia al miglioramento delle conoscenze riguardo le basi biologiche della protezione indotta dai vaccini, che all'avvio di percorsi sempre più personalizzati nel campo della prevenzione delle malattie infettive <sup>100</sup>. È possibile che in futuro le migliori conoscenze sulla genetica della risposta alle vaccinazioni possano condurre in casi selezionati ad approcci individuali, basati ad esempio su schedule vaccinali con alte dosi o su nuovi vaccini. È anche verosimile che ciò possa condurre in un prossimo futuro a ottenere significativi risparmi in termini di risorse economiche investite nelle politiche vaccinali, grazie alla identificazione di individui geneticamente *non-responder* o *low-responder* e all'adozione di protocolli e strumenti sempre più disegnati sul singolo individuo <sup>101 102</sup>.



**Fig. 1.** Rappresentazione schematica dei principali determinanti della risposta immune alle vaccinazioni e dei geni potenzialmente implicati.

È quindi auspicabile che questo campo di ricerche trovi un crescente interesse da parte di infettivologi, microbiologi, immunologi, pediatri ed epidemiologi, nonché delle stesse aziende produttrici di vaccini, in un sinergismo di azione volto a sviluppare vaccini sempre più efficaci e, al tempo stesso, sempre più sicuri.

## Bibliografia

- 1 Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Ten great public health achievements-Worldwide, 2001-2010*. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2011;60:814-8.
- 2 Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Ten great public health achievements-United States, 2001-2010*. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2011;60:619-23.

- 3 Alper CA, Kruskal MS, Marcus-Bagley D, et al. *Genetic prediction of nonresponse to hepatitis B vaccine*. N Engl J Med 1989;321:708-12.
- 4 Poland GA, Ovsyannikova IG, Jacobson RM. *Vaccine immunogenetics: bedside to bench to population*. Vaccine 2008;26:6183-8.
- 5 Poland GA, Ovsyannikova IG, Jacobson RM. *Application of pharmacogenomics to vaccines*. Pharmacogenomics 2009;10:837-52.
- 6 Baynam G, Khoo SK, Rowe J, et al. *Parental smoking impairs vaccine responses in children with atopic genotypes*. J Allergy Clin Immunol 2007;119:366-74.
- 7 Poland GA, Ovsyannikova IG, Kennedy RB. *Vaccinomics and a new paradigm for the development of preventive vaccines against viral infections*. OMICS 2011;15:625-36.
- 8 Klein SL, Jedlicka A, Pekosz A. *The Xs and Y of immune responses to viral vaccines*. Lancet Infect Dis 2010;10:338-49.

- <sup>9</sup> Poland GA, Kennedy RB, Ovsyannikova IG. *Vaccinomics and personalized vaccinology: is science leading us toward a new path of directed vaccine development and discovery?* PLoS Pathogens 2011;7:e1002344.
- <sup>10</sup> Palm NW, Medzhitov R. *Pattern recognition receptors and control of adaptive immunity.* Immunol Rev 2009; 227:221-33.
- <sup>11</sup> Plotkin SA. *Vaccines: correlates of vaccine-induced immunity.* Clin Infect Dis 2008;47:401-8.
- <sup>12</sup> Siegrist CA. *Vaccine immunology.* In: Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA. *Vaccines, 5th ed.* China: Saunders 2008, pp. 17-36.
- <sup>13</sup> Jeurissen A, Billiau AD, Moens L, et al. *CD4<sup>+</sup> T lymphocytes expressing CD40 ligand help the IgM antibody response to soluble pneumococcal polysaccharides via an intermediate cell type.* J Immunol 2006;176:529-36.
- <sup>14</sup> Pollard AJ, Perret KP, Beverley PC. *Maintaining protection against invasive bacteria with protein-polysaccharide conjugate vaccines.* Nat Rev Immunol 2009;9:213-20.
- <sup>15</sup> McKee AS, MacLeod MKL, Kappler JW, et al. *Immune mechanism of protection: can adjuvants rise to the challenge?* BMC Biology 2010;8:37.
- <sup>16</sup> Flehmig B, Staedele H, Xueref C, et al. *Early appearance of neutralizing antibodies after vaccination with an inactivated hepatitis A vaccine.* J Infect 1997;35:37-40.
- <sup>17</sup> MacLennan IC, Toellner KM, Cunningham AF, et al. *Extrafollicular antibody responses.* Immunol Rev 2003;194:8-18.
- <sup>18</sup> Zhou J, Lottenbach KR, Berenkamp SJ, et al. *Somatic hypermutation and diverse immunoglobulin gene usage in the human antibody response to the capsular polysaccharide of Streptococcus pneumoniae type 6B.* Infect Immun 2004;72:3505-14.
- <sup>19</sup> Vinuesa CG, Sze DM, Cook MC, et al. *Recirculating and germinal center B cells differentiate into cells responsive to polysaccharide antigens.* Eur J Immunol 2003;33:297-305.
- <sup>20</sup> Weller S, Reynaud CA, Weill JC. *Vaccination against encapsulated bacteria in humans: paradoxes.* Trends Immunol 2005;26:85-89.
- <sup>21</sup> Shapiro-Shelef M, Calame K. *Regulation of plasma-cell development.* Nat Rev Immunol 2005;5:230-242.
- <sup>22</sup> Ahman H, Kayhty H, Vuorela A, et al. *Dose dependency of antibody response in infants and children to pneumococcal polysaccharides conjugated to tetanus toxoid.* Vaccine 1999;17:2726-32.
- <sup>23</sup> Wherrey EJ, Puorro KA, Porgador A, et al. *The induction of virus-specific CTL as a function of increasing epitope expression: response rise steadily until excessively high levels of epitope are attained.* J Immunol 1999;163:3735-45.
- <sup>24</sup> Huehn J, Siegmund K, Hamann A. *Migration rules: functional properties of naïve and effector/memory-like regulatory T cell subsets.* Curr Opin Immunol 2005;293:89-114.
- <sup>25</sup> Robinson HL, Amara RR. *T cell vaccines for microbial infections.* Nat Med 2005;11:S25-S32.
- <sup>26</sup> Marsden VS, Kappler JW, Marrack PC. *Homeostasis of the memory T cell pool.* Int Arch Allergy Immunol 2006;139:63-74.
- <sup>27</sup> Sinha P, Snyder JA, Kim EY, et al. *The major histocompatibility complex haplotypes dictate and the background genes fine-tune the dominant versus the cryptic response profile of a T-cell determinant within a native antigen: relevance to disease susceptibility and vaccination.* Scand J Immunol 2007;65:158-65.
- <sup>28</sup> Poland GA, Ovsyannikova IG, Jacobson RM, et al. *Heterogeneity in vaccine immune response: the role of immunogenetics and the emerging field of vaccinomics.* Clin Pharmacol Ther 2007;82:653-64.
- <sup>29</sup> Ovsyannikova IG, Poland GA. *Vaccinomics: current findings, challenges and novel approaches for vaccine development.* AAPS J 2011;13:438-44.
- <sup>30</sup> Tan P-L, Jacobson RM, Poland GA, et al. *Twin studies of immunogenicity - determining the genetic contribution to vaccine failure.* Vaccine 2001;19:2434-9.
- <sup>31</sup> Jacobson RM, Ovsyannikova IG, Targonski PV, et al. *Studies of twins in vaccinology.* Vaccine 2007;25:3160-4.
- <sup>32</sup> Hohler T, Reuss E, Evers N, et al. *Differential genetic determination of immune responsiveness to hepatitis B surface antigen and to hepatitis A virus: a vaccination study in twins.* Lancet 2002;360:991-5.
- <sup>33</sup> Hohler T, Reuss E, Freitag CM, et al. *A functional polymorphism in the IL-10 promoter influences the response after vaccination with HBsAg and hepatitis A.* Hepatology 2005;42:72-6.
- <sup>34</sup> Newport MJ, Goetghebuer T, Weiss HA, et al. *Genetic regulation of immune responses to vaccines in early life.* Genes Immun 2004;5:122-9.
- <sup>35</sup> Marchant A, Pihlgren M, Goetghebuer T, et al. *Predominant influence of environmental determinants on the persistence and avidity maturation of antibody responses to vaccines in infants.* J Infect Dis 2006;193:1598-605.
- <sup>36</sup> Poland GA, Ovsyannikova IG, Jacobson RM, et al. *Identification of an association between HLA class II alleles and low antibody levels after measles immunization.* Vaccine 2001;20:430-8.

- 37 Jacobson RM, Poland GA, Vierkant RA, et al. *The association of class I HLA alleles and antibody levels following a single dose of measles vaccine.* Hum Immunol 2003;64:103-9.
- 38 Ovsyannikova IG, Jacobson RM, Vierkant RA, et al. *Associations between human leukocyte antigen (HLA) alleles and very high levels of measles antibody following vaccination.* Vaccine 2004;22:1914-20.
- 39 Thursz MR, Thomas HC, Greenwood BM, et al. *Heterozygote advantage for HLA class-II type in hepatitis B virus infection.* Nat Genet 1997;17:11-2.
- 40 St Sauver JL, Ovsyannikova IG, Jacobson RM, et al. *Associations between human leukocyte antigen homozygosity and antibody levels to measles vaccine.* J Infect Dis 2002;185:1545-9.
- 41 Ovsyannikova IG, Dhiman N, Jacobson RM, et al. *HLA homozygosity does not adversely effects measles vaccine-induced cytokine responses.* Virology 2007;364:87-94.
- 42 Ovsyannikova IG, Jacobson RM, Dhiman N, et al. *Human leukocyte antigen and cytokine receptor gene polymorphisms associated with heterogeneous immune responses to mumps viral vaccine.* Pediatrics 2008;121:E1091-E1099.
- 43 Ovsyannikova IG, Jacobson RM, Vierkant RA, et al. *HLA supertypes and immune responses to measles-mumps-rubella viral vaccine: findings and implications for vaccine design.* Vaccine 2007;25:3090-100.
- 44 Ovsyannikova IG, Jacobson RM, Ryan JE, et al. *Relationship between HLA polymorphisms and  $\gamma$ -interferon and interleukin-10 cytokine production in healthy individuals after rubella vaccination.* Clin Vaccine Immunol 2007;14:115-22.
- 45 Ovsyannikova IG, Jacobson RM, Ryan JE, et al. *HLA class II alleles and measles virus-specific cytokine immune response following two doses of measles vaccine.* Immunogenetics 2005;56:798-07.
- 46 Ovsyannikova IG, Ryan JE, Vierkant RA, et al. *Immunologic significance of HLA class I genes in measles virus-specific IFN- $\gamma$  and IL-4 cytokine immune responses.* Immunogenetics 2005;57:828-36.
- 47 Dhiman N, Ovsyannikova IG, Cunningham JM, et al. *Associations between measles vaccine immunity and single nucleotide polymorphisms in cytokine and cytokine receptor genes.* J. Infect Dis 2007;195:21-9.
- 48 Ovsyannikova IG, Haralambieva IH, Vierkant RA, et al. *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;72:206-23.
- 49 Brydak LB, Roszkowska-Blaim M, Machala M, et al. *Antibody response to influenza immunization in two consecutive epidemic seasons in patients with renal diseases.* Vaccine 2000;18:3280-6.
- 50 Belshe RB, Gruber WC, Mendelman PM, et al. *Correlates of immune protection induced by live, attenuated, cold-adapted, trivalent, intranasal influenza virus vaccine.* J Infect Dis 2000;181:1133-7.
- 51 Hikono H, Kohlmeier JE, Ely KH, et al. *T-cell memory and recall responses to respiratory virus infections.* Immunol Rev 2006;211:119-32.
- 52 Flynn KJ, Belz GT, Altman JD, et al. *Virus-specific CD8+ T cells in primary and secondary influenza pneumonia.* Immunity 1998;8:683-91.
- 53 Mubareka S, Palese P. *Human genes and influenza.* J Infect Dis 2008;197:1-3.
- 54 Albright FS, Orlando P, Pavia AT, et al. *Evidence for a heritable predisposition to death due to influenza.* J Infect Dis 2008;197:18-24.
- 55 Klein SL, Hodgson A, Robinson DP. *Mechanisms of sex disparities in influenza pathogenesis.* Journal of Leukocyte Biology 2012;doi:10.1189/jlb.0811427
- 56 Engler RJ, Nelson MR, Klote MM, et al. *Half- vs full-dose trivalent inactivated influenza vaccine (2004-2005): age, dose, and sex effects on immune responses.* Arch Intern Med 2008;168:2405-14.
- 57 Beyer WE, Palache AM, Kerstens R, et al. *Gender differences in local and systemic reactions to inactivated influenza vaccine, established by a meta-analysis of fourteen independent studies.* Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1996;15:65-70.
- 58 Poland GA, Ovsyannikova IG, Jacobson RM. *Immunogenetics of seasonal influenza vaccine response.* Vaccine 2008;26(Suppl 4):D35-D40.
- 59 Gelder CM, Lambkin R, Hart KW, et al. *Associations between human leukocyte antigens and non-responsiveness to influenza vaccine.* J Infect Dis 2002;185:114-7.
- 60 Lambkin R, Novelli P, Oxford J, et al. *Human genetics and responses to influenza vaccination: clinical implications.* Am J Pharmacogenomics 2004;4:293-8.
- 61 Zuckerman JN. *Protective efficacy, immunotherapeutic potential, and safety of hepatitis B vaccines.* J Med Virol 2006;78:169-77.
- 62 Vidan-Jeras B, Brinovec V, Jurca B, et al. *The contribution of HLA-Class II antigens in humoral non-response and delayed response to HBsAg vaccination.* Pflugers Arch 2000;440:R188-9.
- 63 Milich DR, Leroux-Roels GG. *Immunogenetics of the response to HBsAg vaccination.* Autoimmun Rev 2003;2:248-57.

- <sup>64</sup> Thursz M. *MHC and the viral hepatitis*. QJM 2001;94:287-91
- <sup>65</sup> Hennig BJ, Fielding K, Broxholme J, et al. *Host genetic factors and vaccine-induced immunity to hepatitis B virus infection*. PLoS One 2008;3:e1898.
- <sup>66</sup> Ryckman KK, Fielding K, Hill AV, et al. *Host genetic factors and vaccine-induced immunity to HBV infection: haplotype analysis*. PLoS One 2010;5:e12273.
- <sup>67</sup> Yucesoy B, Sleijffers A, Kashon M, et al. *IL-1 beta gene polymorphisms influence hepatitis B vaccination*. Vaccine 2002;20:3193-6.
- <sup>68</sup> Davila S, Froeling FE, Tan A, et al. *New genetic associations detected in a host response study to hepatitis B vaccine*. Genes Immun 2010;11:232-8.
- <sup>69</sup> Chen J, Liang Z, Lu F, et al. *Toll-like receptors and cytokines/cytokine receptors polymorphisms associate with non-response to hepatitis B vaccine*. Vaccine 2011;17;29:706-11.
- <sup>70</sup> Siber GR, Santosham M, Reid GR, et al. *Impaired antibody response to Haemophilus influenzae type b polysaccharide and low IgG2 and IgG4 concentrations in Apache children*. N Engl J Med 1990;323:1387-92.
- <sup>71</sup> Ward J, Brennenan G, Letson GW, et al. *The Alaska H. Influenzae vaccine study group. Limited efficacy of a Haemophilus influenzae type b conjugate vaccine in Alaska native infants*. N Engl J Med 1990;323:1393-401.
- <sup>72</sup> Goldblatt D, Scadding GK, Lund VJ, et al. *Association of Gm allotypes with the antibody response*. J Immunol 1994;153:5316-20.
- <sup>73</sup> Konradsen HB, Henriksen J, Wachmann H, et al. *The influence of genetic factors on the immune response as judged by pneumococcal vaccination of mono- and dizygotic Caucasian twins*. Clin Exp Immunol 1993;92:532-6.
- <sup>74</sup> Yucesoy B, Johnson VJ, Fluharty K, et al. *Influence of cytokine gene variations on immunization to childhood vaccines*. Vaccine 2009;27:6991-7.
- <sup>75</sup> Kimman TG, Banus S, Reijmerink N, et al. *Association of interacting genes in the Toll-like receptor signaling pathway and the antibody response to pertussis vaccination*. PLoS One 2008;3:e3665.
- <sup>76</sup> Querec TD, Akondy RS, Lee EK, et al. *Systems biology approach predicts immunogenicity of the yellow fever vaccine in humans*. Nat Immunol 2009;10:116-25.
- <sup>77</sup> Haralambieva IH, Ovsyannikova IG, Dhiman N, et al. *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;204:433-41.
- <sup>78</sup> Umlauf BJ, Ovsyannikova IG, Haralambieva IH, et al. *Correlations between vaccinia-specific immune responses within a cohort of armed forces members*. Viral Immunol 2011;24:415-20.
- <sup>79</sup> Davis NA, Crowe JE Jr, Pajewski NM. *Surfing a genetic association interaction network to identify modulators of antibody response to smallpox vaccine*. Genes Immun 2010;11:630-6
- <sup>80</sup> Poland GA, Jacobson RM. *The age-old struggle against the antivaccinationists*. N Engl J Med 2011;364:97-9.
- <sup>81</sup> Crowe JE. *Genetic predisposition for adverse events after vaccination*. J Infect Dis 2007;196:176-7.
- <sup>82</sup> Poland GA, Ovsyannikova IG, Jacobson RM. *Personalized vaccines: the emerging field of vaccinomics*. Expert Opin Biol Ther 2008;8:1659-67.
- <sup>83</sup> Poland GA, Ovsyannikova IG, Jacobson RM. *Adversomics: the emerging field of vaccine adverse event immunogenetics*. Pediatr Infect Dis J 2009;28:431-2.
- <sup>84</sup> Black FL, Hierholzer W, Woodall JP, et al. *Intensified reactions to measles vaccine in unexposed populations of American Indians*. J Infect Dis 1971;124:306-17.
- <sup>85</sup> Stanley SL, Frey SE, Taillon-Miller P, et al. *The immunogenetics of smallpox vaccination*. J Infect Dis 2007;196:212-9.
- <sup>86</sup> Usonis V, Bakasenas V, Kaufhold A, et al. *Reactogenicity and immunogenicity of a new live attenuated combined measles, mumps and rubella vaccine in healthy children*. Pediatr Infect Dis J 1999;18:42-8.
- <sup>87</sup> Vestergaard M, Hviid A, Madsen KM, et al. *MMR vaccination and febrile seizures: evaluation of susceptible subgroups and long-term prognosis*. JAMA 2004;292:351-7.
- <sup>88</sup> Nakayama J, Arinami T. *Molecular genetics of febrile seizures*. Epilepsy Res 2006;70(Suppl. 1):S190-8.
- <sup>89</sup> Nur BG, Kahramaner Z, Duman O. *Interleukin-6 gene polymorphism in febrile seizures*. Pediatr Neurol 2012;46:36-8.
- <sup>90</sup> France EK, Glanz J, Xu S, et al. *Risk of immune thrombocytopenic purpura*. Pediatrics 2008;121:e687-e692.
- <sup>91</sup> Halsell JS, Riddle JR, Atwood JE, et al. *Myopericarditis following smallpox vaccination among vaccinia-naive US military personnel*. JAMA 2003;289:3283-9.
- <sup>92</sup> Rock MT, Yoder SM, Talbot TR, et al. *Adverse events after smallpox immunizations are associated with alterations in systemic cytokine levels*. J Infect Dis 2004;189:1401-10.
- <sup>93</sup> McKinney BA, Reif DM, Rock MT, et al. *Cytokine expression patterns associated with systemic adverse events following smallpox immunization*. J Infect Dis 2006;194:444-53.

- <sup>94</sup> Stanley SL Jr, Frey SE, Taillon-Miller P, et al. *The immunogenetics of smallpox vaccination*. J Infect Dis 2007;196:212-9.
- <sup>95</sup> Reif DM, McKinney BA, Motsinger AA, et al. *Genetic basis for adverse events after smallpox vaccination*. J Infect Dis 2008;198:1-7.
- <sup>96</sup> Pulendran B, Miller J, Querec TD, et al. *Case of yellow fever vaccine-associated viscerotropic disease with prolonged viremia, robust adaptive immune responses, and polymorphisms in CCR5 and RANTES genes*. J Infect Dis 2008;15:198:500-7.
- <sup>97</sup> Kumagai T, Yamanaka T, Wataya Y, et al. *A strong association between HLA-DR9 and gelatin allergy in the Japanese population*. Vaccine 2001;19:3273-6.
- <sup>98</sup> Sakaguchi M, Nakayama T, Kaku H, et al. *Analysis of HLA in children with gelatin allergy*. Tissue Antigens 2002;59:412-6.
- <sup>99</sup> Rowe J, Yerkowich ST, Richmond P, et al. *Th2-associated local reactions to the acellular diphtheria-tetanus-pertussis vaccine in 4- to 6-year-old children*. Infect Immun 2005;73:8130-5
- <sup>100</sup> Brady MT. *Immunization recommendations for children with metabolic disorders: more data would help*. Pediatrics 2006;118:810-3.
- <sup>101</sup> Rinaudo CD, Telford JL, Rappuoli R, et al. *Vaccinology in the genome era*. J Clin Invest 2009;119:2515-25
- <sup>102</sup> Poland GA, Kennedy RB, Ovsyannikova IG. *Vaccinomics and personalized vaccinology: is science leading us toward a new path of directed vaccine development and discovery?* PLoS Pathogens 2011;7:e1002344.