

TEMA:  
INMUNIZACIONES. RESPUESTA  
INMUNE FRENTE A VACUNAS.  
TIPOS DE VACUNAS. MECANIS-  
MOS QUE PROMUEVEN Y MAN-  
TIENEN A LAS CELULAS T DE  
MEMORIA.

Dr. Librado Ortiz-Ortiz

# INMUNIZACIÓN

- Constituye el mecanismo de defensa mas efectivo contra las infecciones microbianas.

# INMUNIZACIÓN

- Activa: infección o vacunación.
- Pasiva: madre a feto, antisueros.

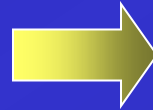
# VACUNACIÓN: HISTORIA

- Descripción de viruela: siglo IV A.C.
- Vacunación: siglo X A.C., con fluido de pústulas, o costras secas de las lesiones.

# VIRUELA



- Momias
- China/India



Cruzadas

- W Europa: fatalidad, proporción 25%
- Historia cambio:

Cortes

Louis XIV

# VACUNAS

- **Éxito en el pasado**
- **Posibilidades para el futuro**

# VACUNACIÓN: HISTORIA

- Lady Mary Wortley Montagu promovió la variolización en el Reino Unido (1718).

# Viruela



- **Variolización**  
**disminuyó mortalidad**
- **Inmunidad duradera**
  - **UK: 1700's**
  - **China 1950**
- **Pakistan/Afganistán/Etiopía**  
**1970**



# VACUNACIÓN: HISTORIA

- Edward Jenner, fue el primero en probar la inmunidad (1796). Inoculó a James Phipps con el líquido de las pústulas de la viruela bovina.

# VACUNACIÓN: HISTORIA

- Guerra Franco-Prusiana (1870-1871)
  - Epidemia de viruela
  - La armada francesa no estaba vacunada: 23,400 murieron
- - La armada alemana estaba vacunada: 278 murieron

# VIRUELA

**Vacunación: Jenner 1796**

- 1800's Vacunación de niños obligatoria
- 1930's Último caso de viruela natural en UK
- 1940's Último caso de viruela natural en US
- 1958 Programa de la WHO
- October 1977: Último caso (Somalia)



# VIRUELA

ULTIMO CASO:  
ALI MAOW  
MAALIN,  
MERKA, SOMALIA  
OCTUBRE 26, 1977



# VIRUELA



- No existe un reservorio animal
  - Inmunidad duradera
- Casos subclínicos raros
  - Un serotipo de Viruela
    - Vacuna efectiva
  - Compromiso de gobiernos

# LOUIS PASTEUR



Generación  
espontánea

# ROBERTO KOCH



POSTULADOS

KOCH

# VACUNACIÓN: HISTORIA

- Pasteur vacuno aves de corral frente al cólera y borregos en contra del ántrax, denominando a este proceso como vacunación en honor de Jenner.



# VACUNAS: HISTORIA

- Pasteur atenuó el virus de un perro con rabia, por inyección en el cerebro de conejo. La infección seriada en conejos condujo a una cepa viral que era más virulenta en el conejo, pero menos en perros (y humanos).

# VACUNACIÓN: HISTORIA

Pasteur vacunó en contra de la rabia, a Joseph Meister, quien había sido mordido por un perro rabioso.

# VACUNACIÓN: HISTORIA

- Otra de las primeras vacunas fue la del BCG, que mostró ser efectiva en la prevención de la TB miliar y meníngea.

# VACUNACIÓN: HISTORIA

- von Behring y Kitasato descubrieron los anticuerpos en 1890, y aplicaron estos conocimientos en la prevención de la difteria y el tétanos.

# VACUNACIÓN: HISTORIA

- Inicialmente, en la prevención de la difteria y el tétanos, las antitoxinas se usaban mezcladas con la toxina cruda de los sobrenadantes de cultivo.

# VACUNACIÓN: HISTORIA

- La revolución en la preparación de vacunas fue causada por el advenimiento de las técnicas de cultivo de tejidos.

# VACUNACIÓN: HISTORIA

- 1961, vacuna atenuada de POLIO (Sabin).
- 1967, vacuna de las PAPERAS.
- 1969, vacuna triple de SARAMPIÓN, PAPERAS Y RUBÉOLA.

# VACUNACIÓN: OBJETIVO

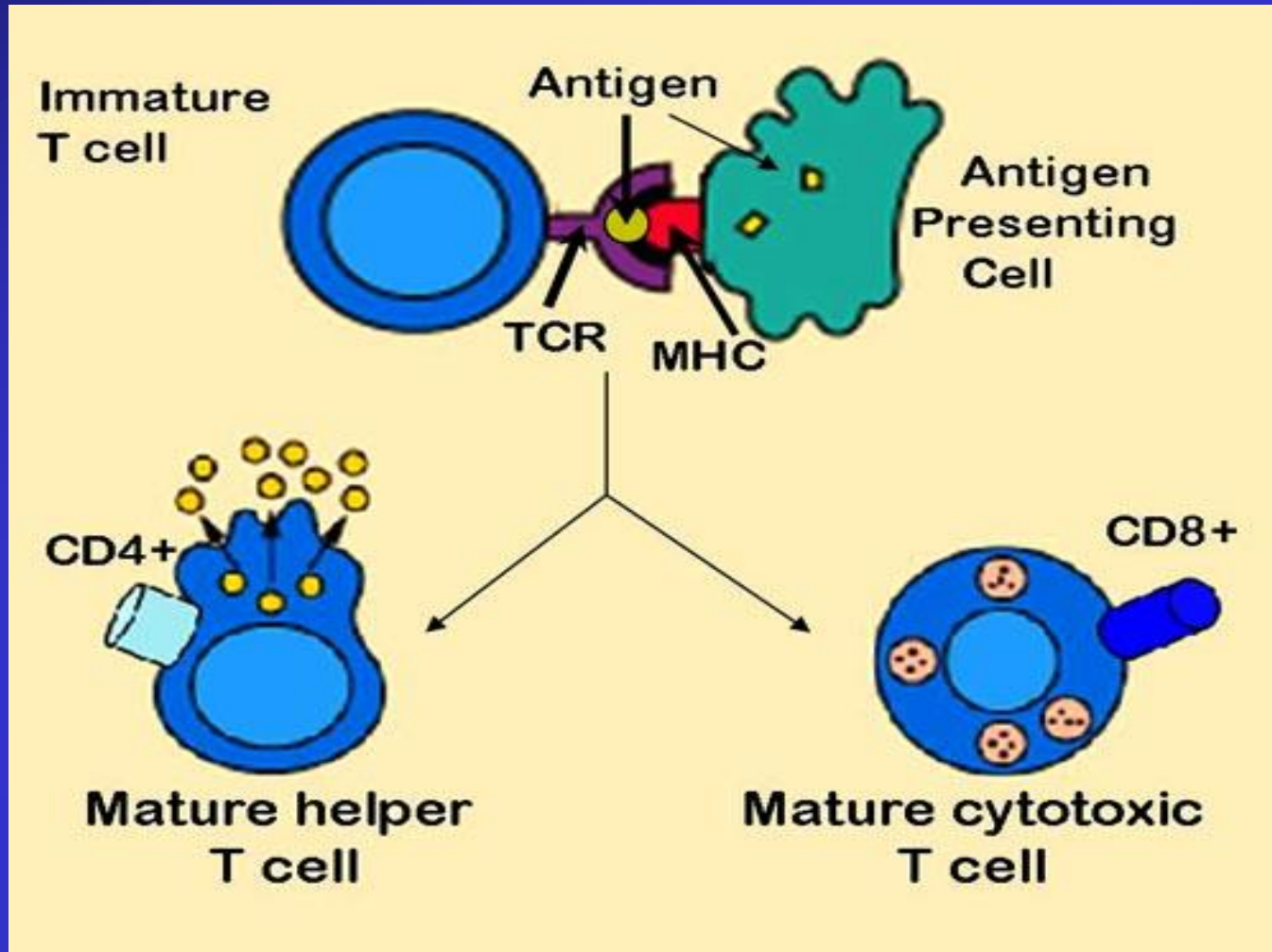
- Estimular la respuesta inmune, sin someter a una persona al riesgo de padecer la infección por el microorganismo inmunizante.



# VACUNAS: MECANISMOS

- Formación de anticuerpos
- Células T de ayuda de tipo 1 o 2
- T CD8<sup>+</sup>

# CELULAS T: PRESENTACION DE Ag



# VACUNAS: COMPOSICIÓN

- Los microorganismos poseen una gran variedad de antígenos; sin embargo, solo algunos son relevantes en protección.

# INMUNIZACIÓN

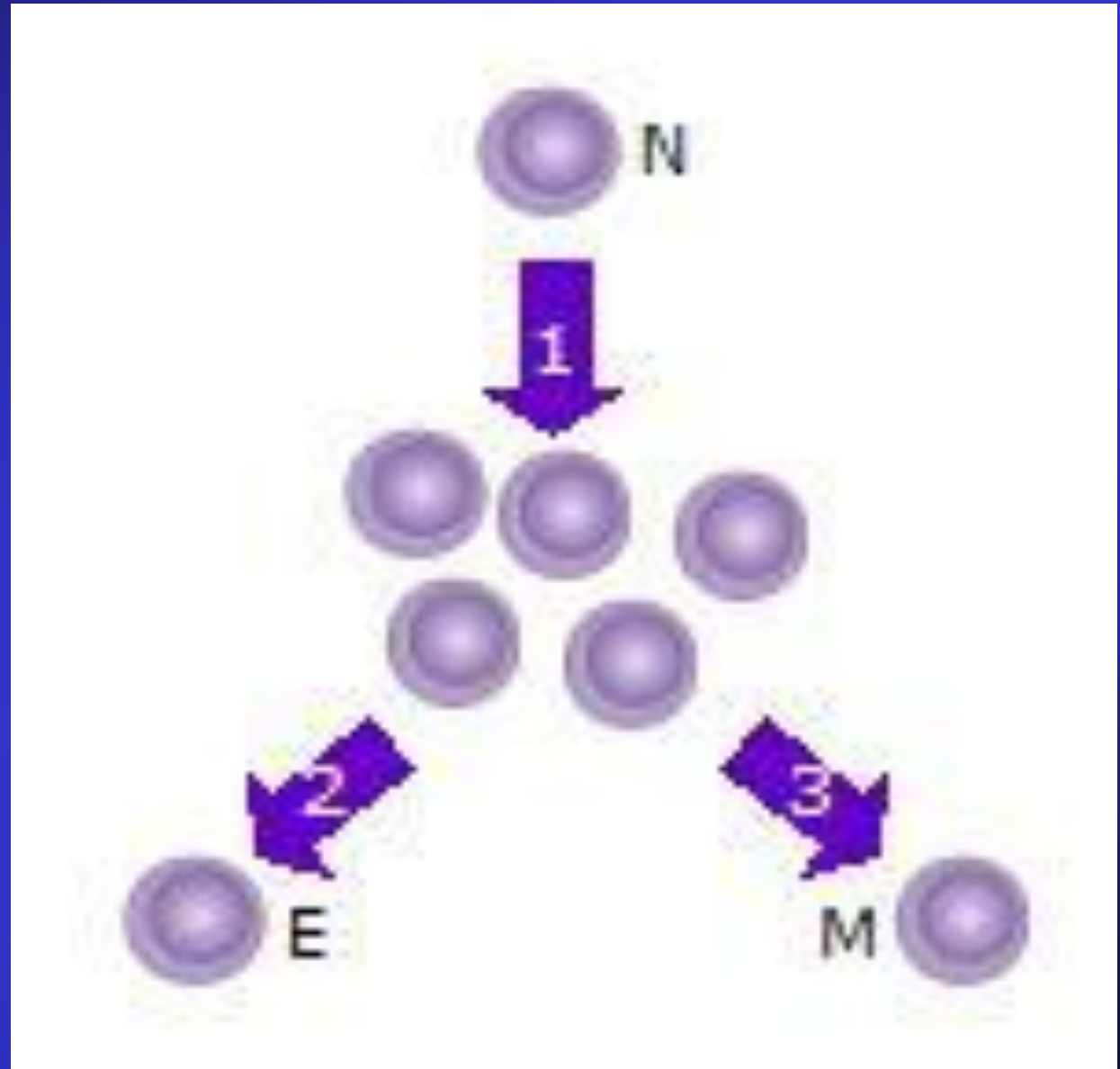
- Las CDs atrapan a los antígenos y los llevan a los ganglios linfáticos regionales, donde se los presentan a las células T inocentes.

# INMUNIZACIÓN

- Las células T  $\rightarrow$  células T efectoras y de memoria, que ayudan a las células B en GLs  $\rightarrow$  a sitios infectados, donde secretan citocinas.

# CÉLULA T: PRESENTACION DE Ag

1. Activación de la célula T por Ag
2. Diferenciación de células T a células T efectoras
3. Algunas de las células T forman células T de memoria



# INMUNIZACIÓN

- MEMORIA INMUNOLÓGICA

Esencial en la RI adquirida después de infecciones naturales o vacunación.

# MEMORIA INMUNOLÓGICA

- Células T o B de Memoria son células especializadas que son generadas en el curso de una RI primaria a un Ag extraño, y que permiten una RI rápida cuando se expone nuevamente al mismo o a un Ag estructuralmente relacionado.



# MEMORIA INMUNOLÓGICA

- Durante una RI se distinguen 4 eventos:
  - Fase de iniciación
  - Fase de expansión clonal
  - Fase de contracción
  - Generación de células T de memoria

# MEMORIA INMUNOLÓGICA: CÉLULAS B

- Son de larga vida y proliferan rápidamente en respuesta al Ag que estimulo su producción.
- Generan rápidamente una población de células plasmáticas productoras de Ac cuando se exponen nuevamente al Ag que las originó.

# MEMORIA INMUNOLÓGICA: CÉLULAS B

- Se distinguen de las células B inocentes por la expresión diferencial de marcadores de superficie (CD27, IgD-)

# Memoria inmune: Células B

Cambios que se observan en la respuesta secundaria debidos a la expansión y diferenciación clonal

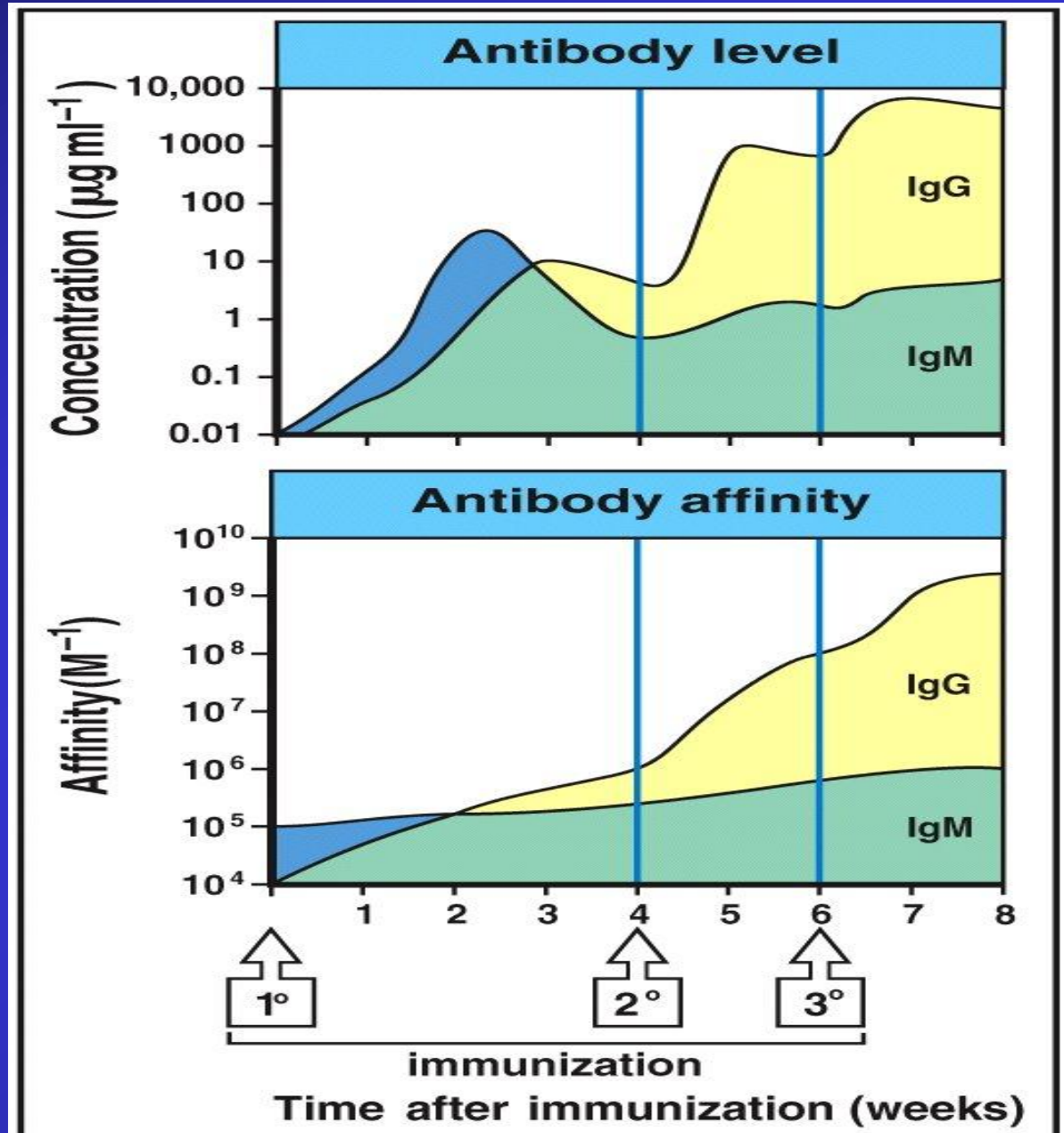


Figure 10-31 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# MEMORIA INMUNOLÓGICA: CÉLULAS T

- La inmunidad de células T se conoce como Inmunidad Celular, en la que participan dos subtipos:
  - Células T de ayuda (CD4<sup>+</sup>)
  - Células T citotóxicas (CD8<sup>+</sup>)

# Generación de células T de Memoria

El encuentro con Ag estimula a las células T inocentes a dividirse y diferenciarse en células T de memoria efectoras y de larga vida

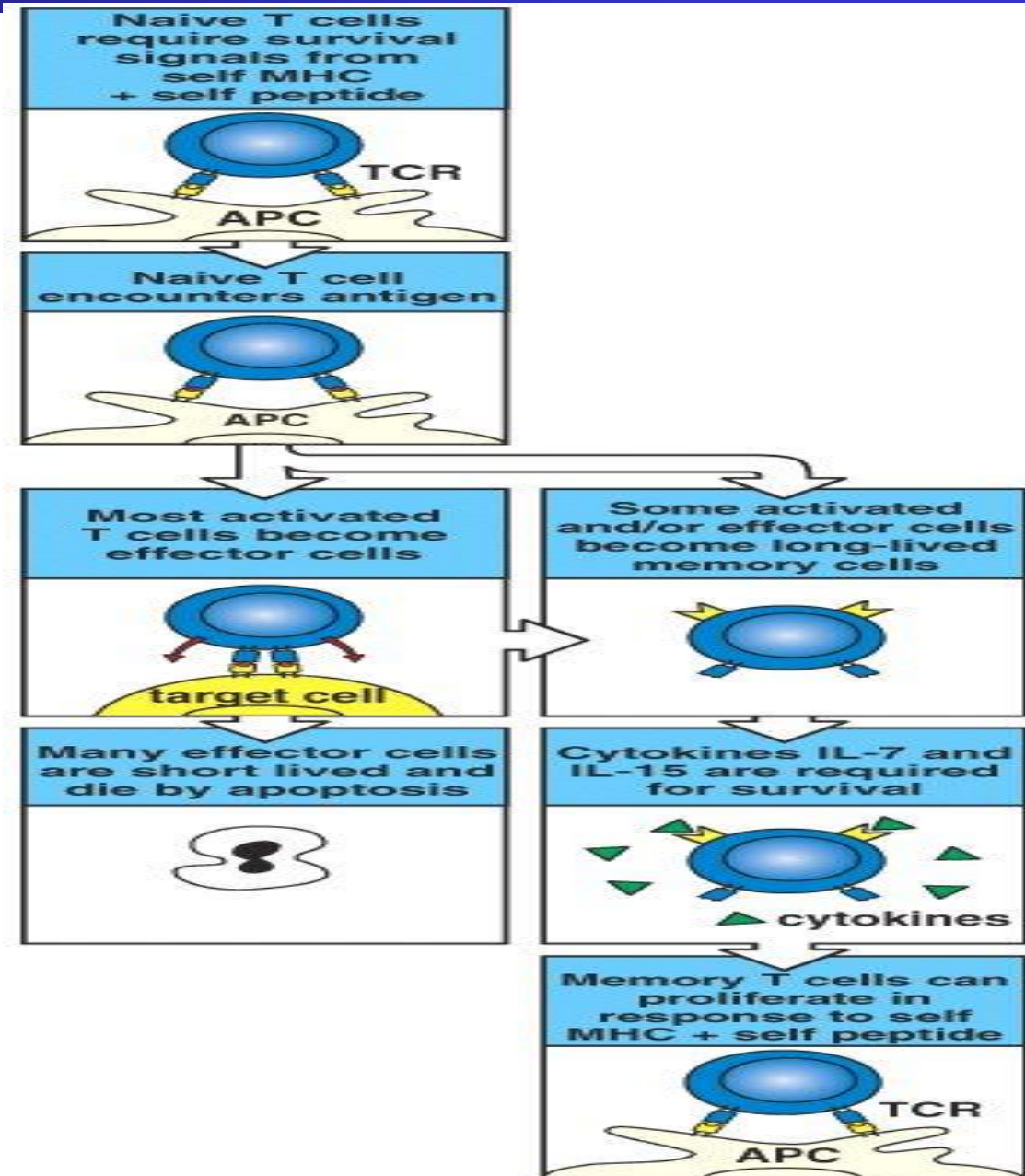


Figure 10-34 Immunobiology, 6

# Generación de Células T de Memoria

Activación de células T inocentes

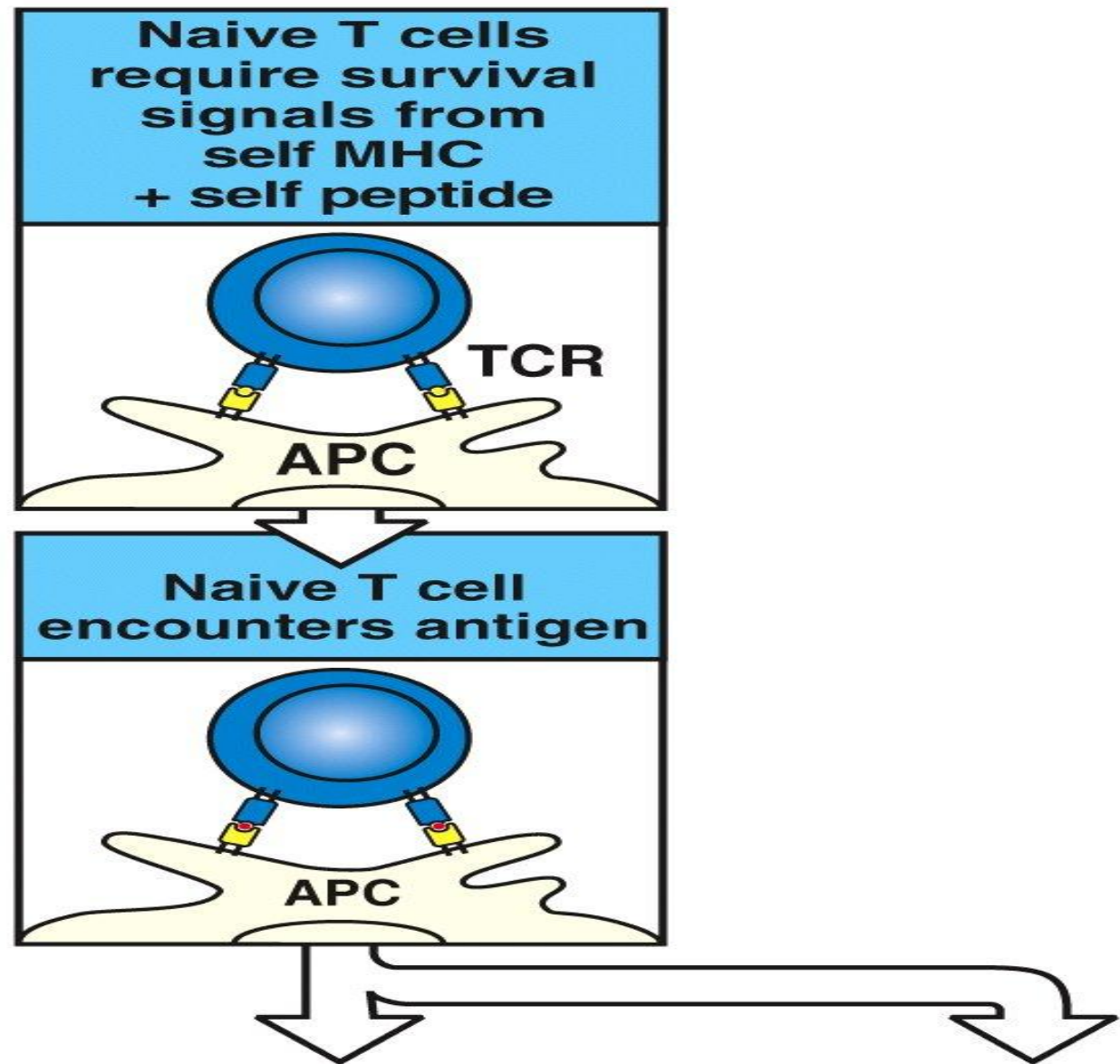


Figure 10-34 part 1 of 3 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science)

# Generación de Células T de Memoria

Las células T activadas se transforman en células T efectoras de vida corta que mueren por apoptosis y en células de memoria de larga vida

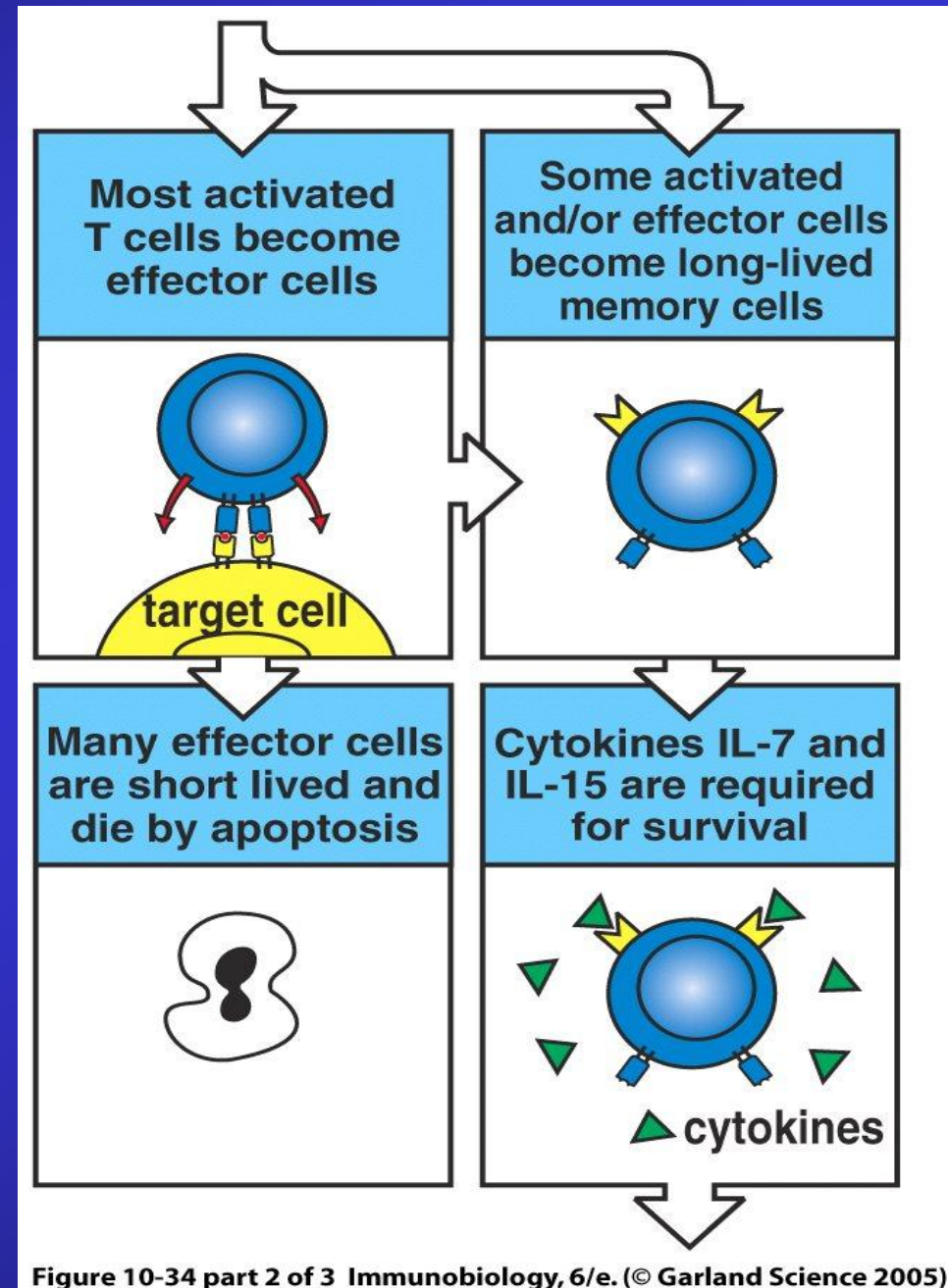


Figure 10-34 part 2 of 3 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)



## Generación de Células T de Memoria

Las células T de memoria pueden proliferar en respuesta a complejos formados por el MHC y péptidos propios

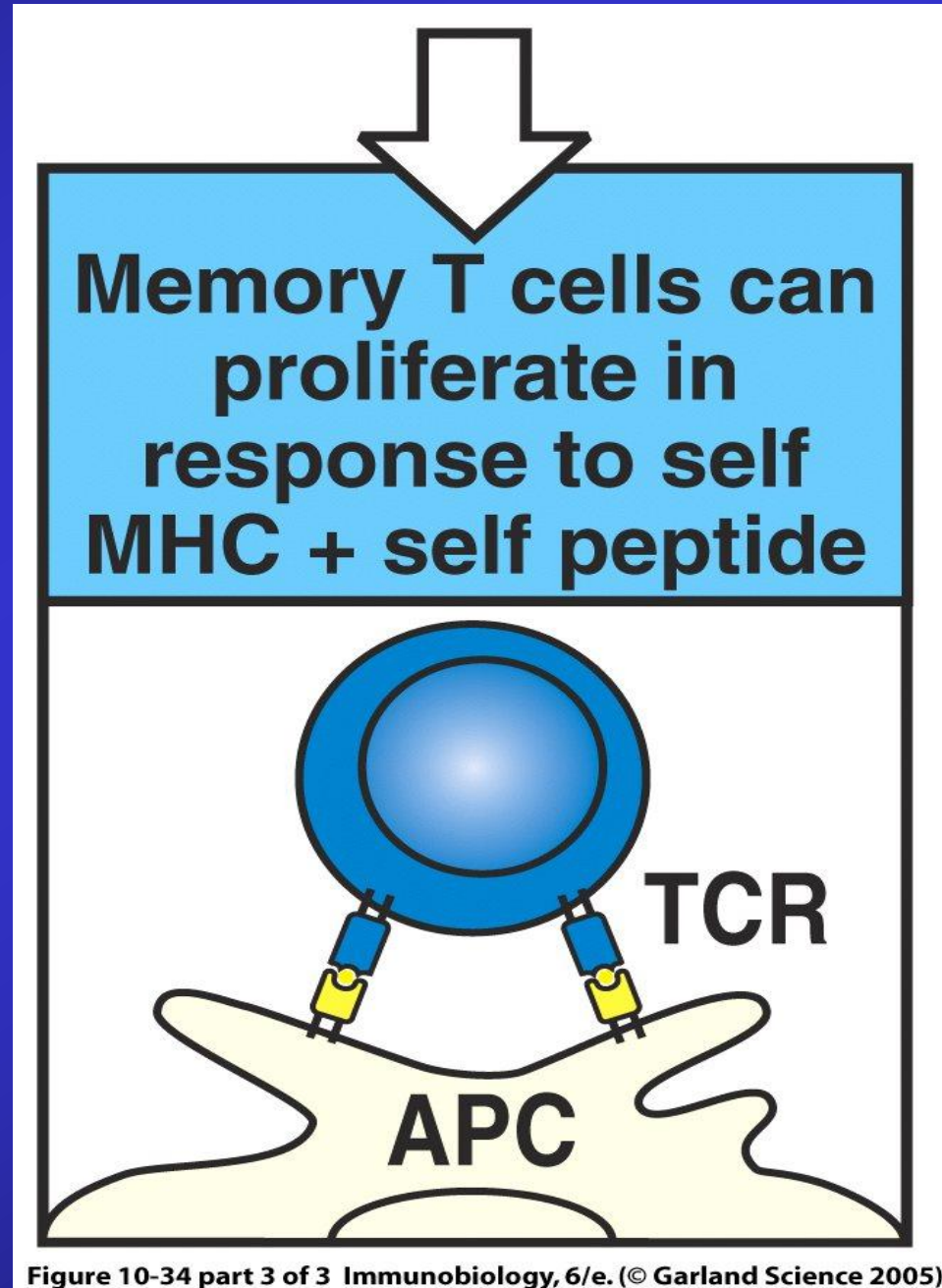


Figure 10-34 part 3 of 3 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# MEMORIA INMUNOLÓGICA: CÉLULAS T

- CD8+ Ag específicas expanden en:
  - T centrales de memoria o Tcm, expresan receptores de arraigo hacia GLs (CD62L, CCR7)
  - T efectoras de memoria o Tem, se localizan en sitios efectores (integrinas  $\beta 1$  y  $\beta 2$ , CCR1, CCR3 y CCR5)(CD62-,CCR7-)

# MEMORIA INMUNOLÓGICA

- Después de la re-exposición a un Ag las células Tcm presentan una mayor capacidad para expanderse, y en algunos modelos son más eficientes en conferir protección.

# MEMORIA INMUNOLÓGICA

- Células Tem, predominan en tejido periférico y sitios de inflamación.
- Exhiben una función efectora rápida

# VACUNAS

- Las vacunas actualmente en uso inducen respuestas de anticuerpo, capaces de proteger por largo tiempo contra virus líticos como el de influenza y viruela.

# VACUNAS

- Vacunas contra patógenos crónicos que requieren de IMC para controlar la infección, no se encuentran disponibles o no son eficaces.

# VACUNAS

- Para lograr una vacuna exitosa es necesario conocer por donde penetra el virus:
  - Mucosas del tracto respiratorio y GI
  - Mucosas seguido de difusión sanguínea y/o neuronas, hacia órganos blanco
  - A través de jeringas o piquetes de insecto, seguido de difusión a órganos blanco.

# VACUNAS

- Es necesario conocer:
  - Ags virales que inducen Ac neutralizante
  - Ags de la superficie celular que inducen Ac neutralizante
  - El sitio de replicación del virus



# VACUNAS: PROBLEMAS

- Virus diferentes pueden causar enfermedades similares
- Cambios antigénicos
- Un gran número de reservorios animales
- Integración del ADN viral
- Transmisión célula:célula vía sincitial
- Recombinación y mutación del virus atenuado

# ENFERMEDADES PREVISIBLES POR VACUNACIÓN

Difteria.....	1921: 206,939 ...	1992: 4
Sarampión.....	1941: 894,134 .....	..... 2,237
Paperas .....	1968: 152,209 ...	..... 2,572
Pertussis .....	1934: 265,269 .....	..... 4,083
Polio (paralítica)...	1952: 21,269 .....	..... 4
Rubéola.....	1969: 57,686 .....	..... 160
Tétanos .....	1923: 1,560 .....	..... 45
H. influenzae .....	1984: 20,000 .....	..... 1,412
Hepatitis B .....	1985: 26,611 .....	..... 16,126

# VACUNAS: CLASIFICACIÓN

- -Gérmenes muertos
- Gérmenes atenuados
- Antitoxinas
- Subunidades
- Vectores
- Ácidos nucleicos
- Comestibles

# VACUNAS: Gérmenes muertos

- Son preparaciones del virus patogénico (tipo silvestre) infeccioso, que se ha vuelto no patogénico, usualmente por tratamiento químico, como formalina que entrecruza las proteínas virales.

# VACUNAS: Gérmenes muertos

- Requieren refuerzo, debido a que el germen no se multiplica (Polio, Hepatitis A, Influenza, Tífica).

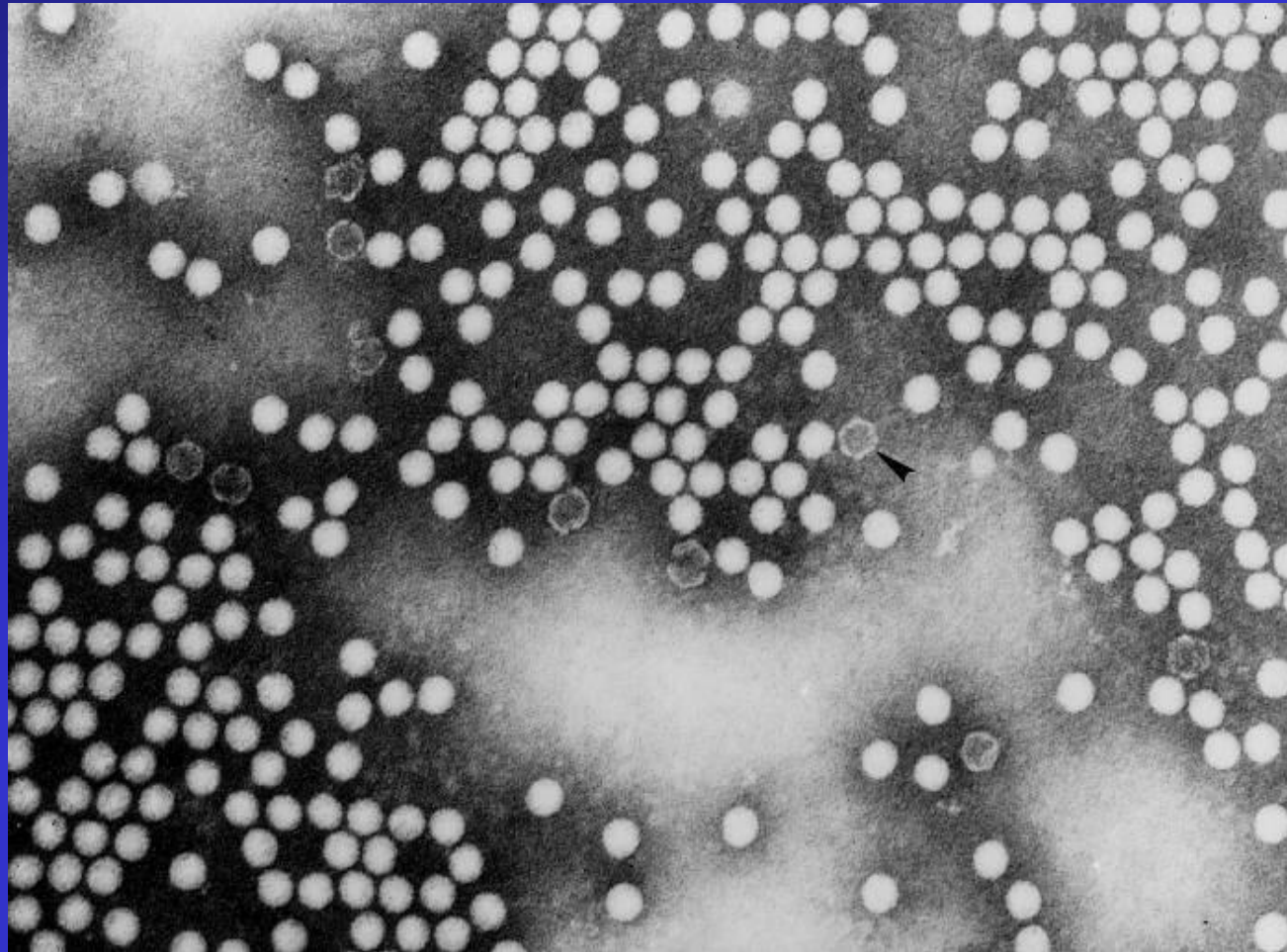
# VACUNAS: Gérmenes muertos, ventajas

- Proporciona suficiente inmunidad humoral si se dan refuerzos
- No se presentan mutaciones o reversiones
- Se pueden usar en pacientes inmunodeficientes

# VACUNAS: Gérmenes muertos, desventajas

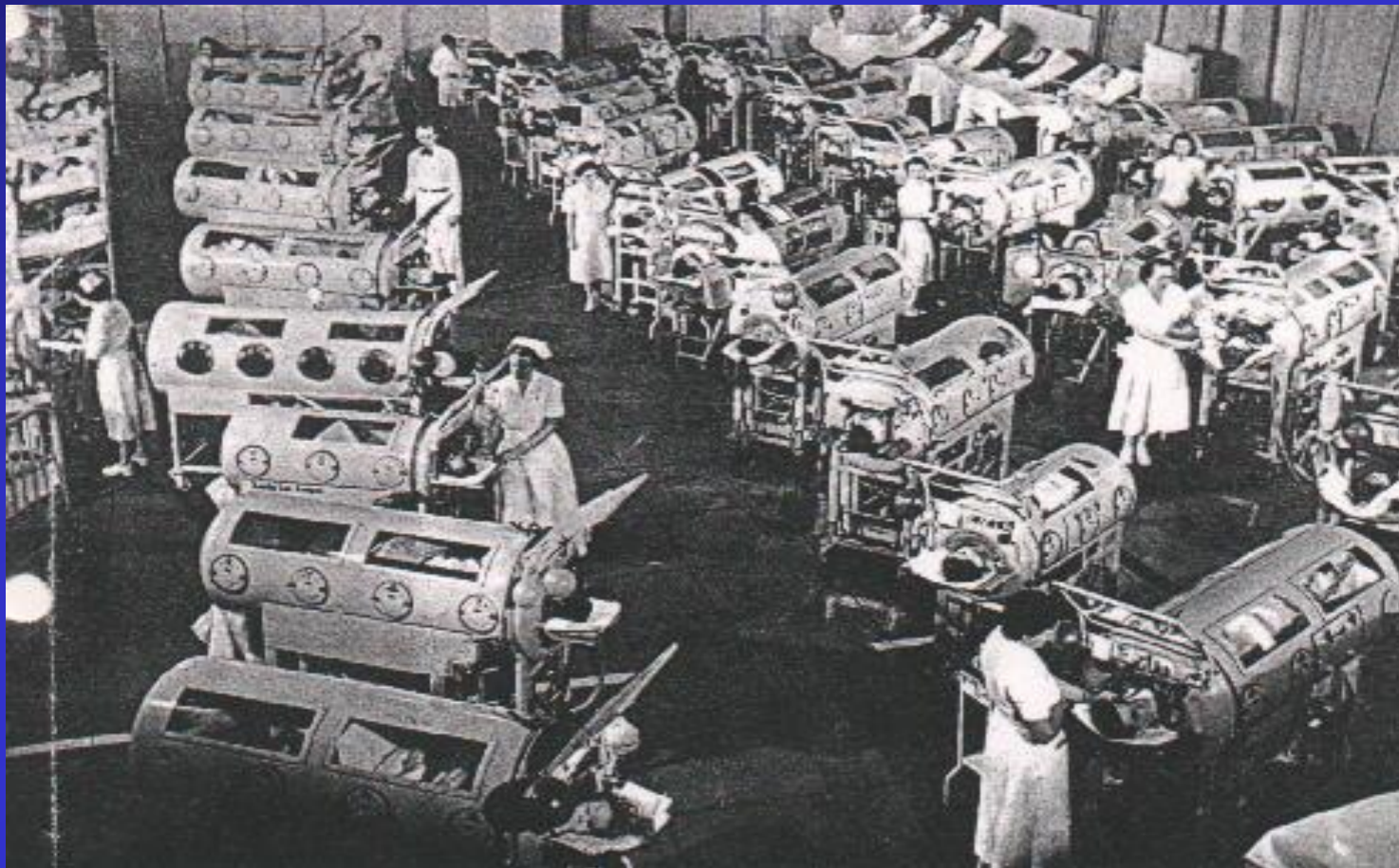
- Muchas vacunas no elevan la inmunidad
- Se requieren refuerzos
- No se observa inmunidad local
- Costo elevado

# VIRUS DE LA POLIOMIELITIS

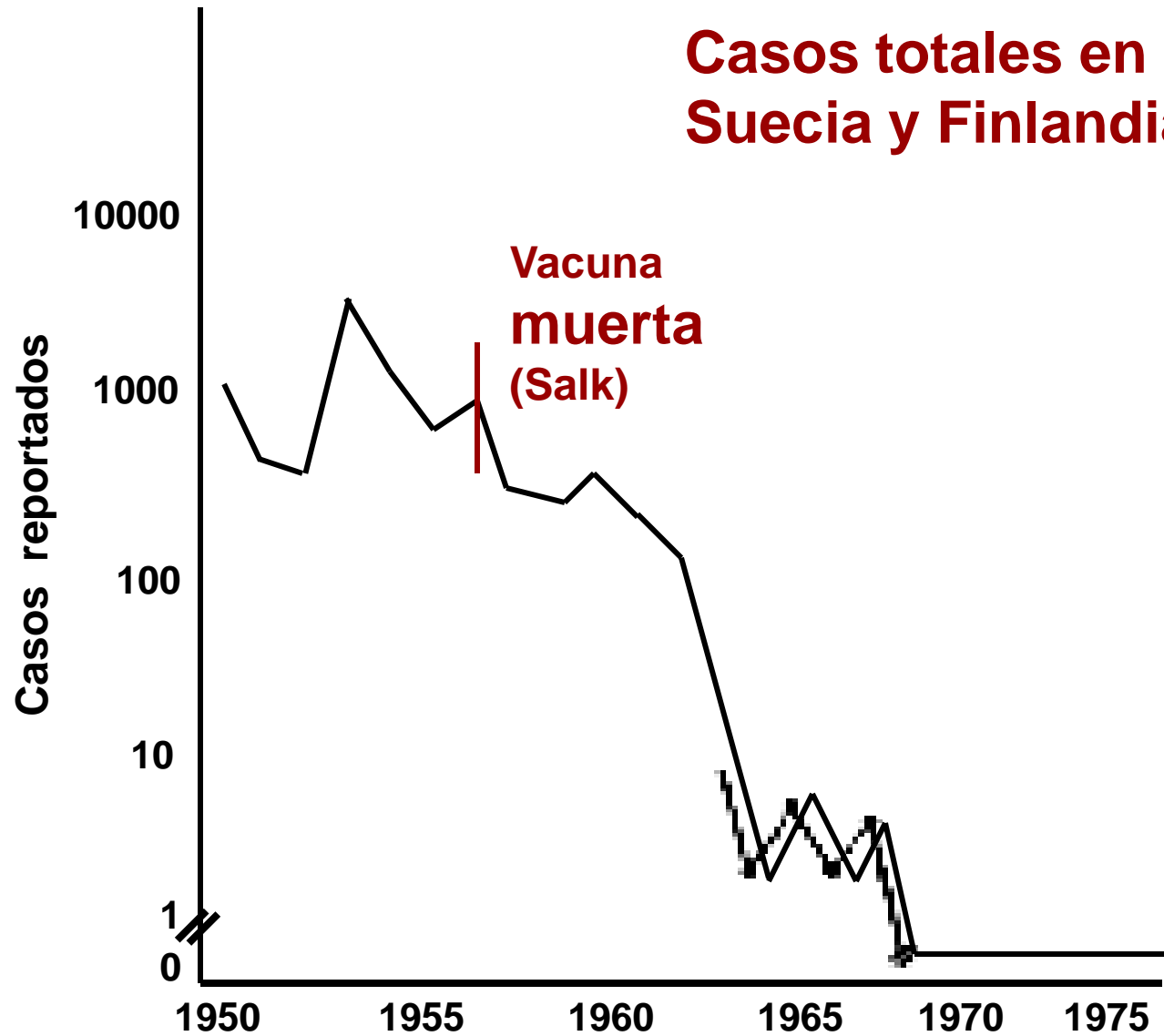




# NIÑOS CON POLIOMIELITIS



## Casos totales en Suecia y Finlandia



# VACUNAS

- Gérmenes atenuados:
  - Eficacia de  $\approx 90\%$ , ya que el organismo se multiplica y crea un estímulo antigénico similar al de una infección.

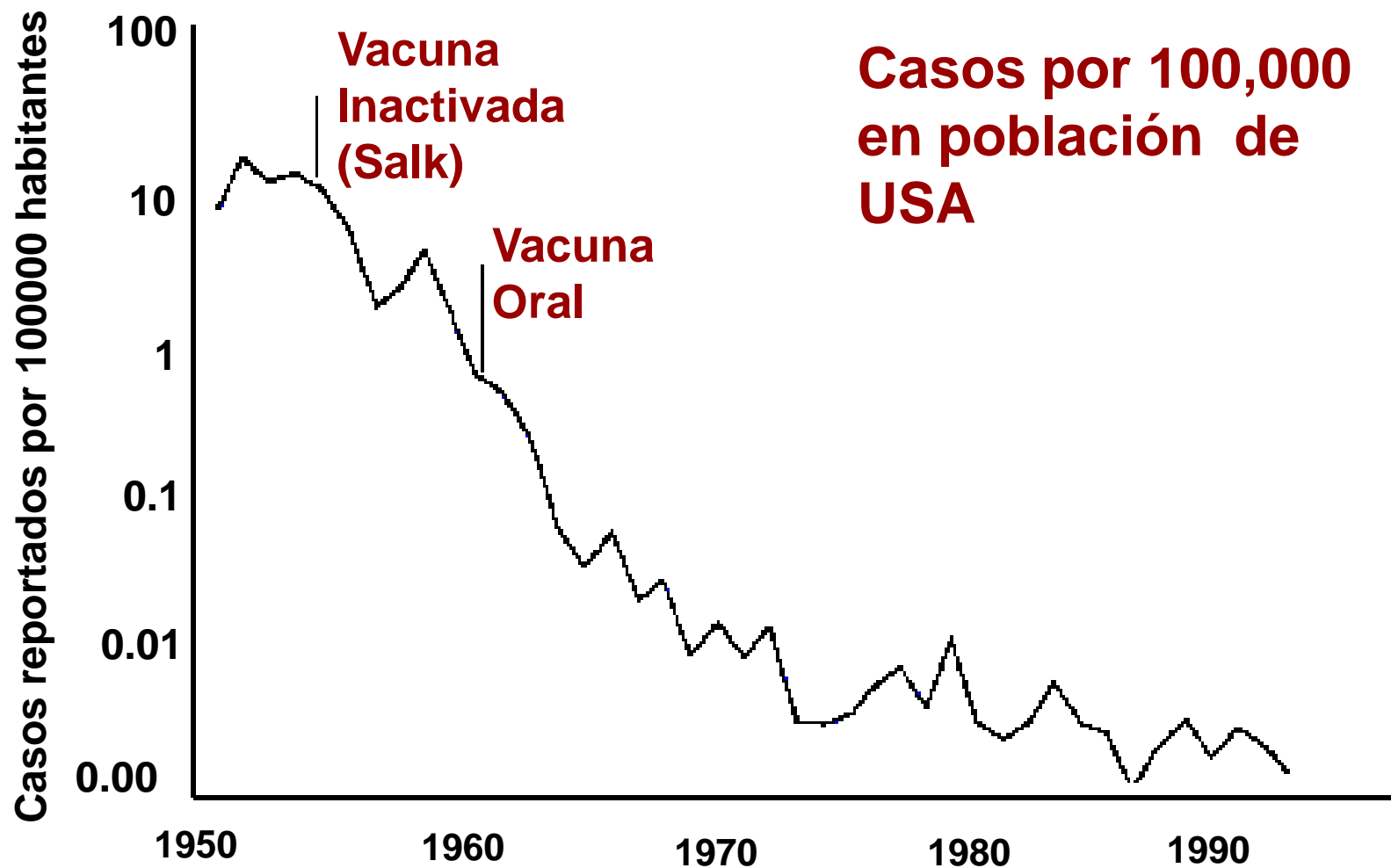
# VACUNAS: Gérmenes atenuados

## ventajas

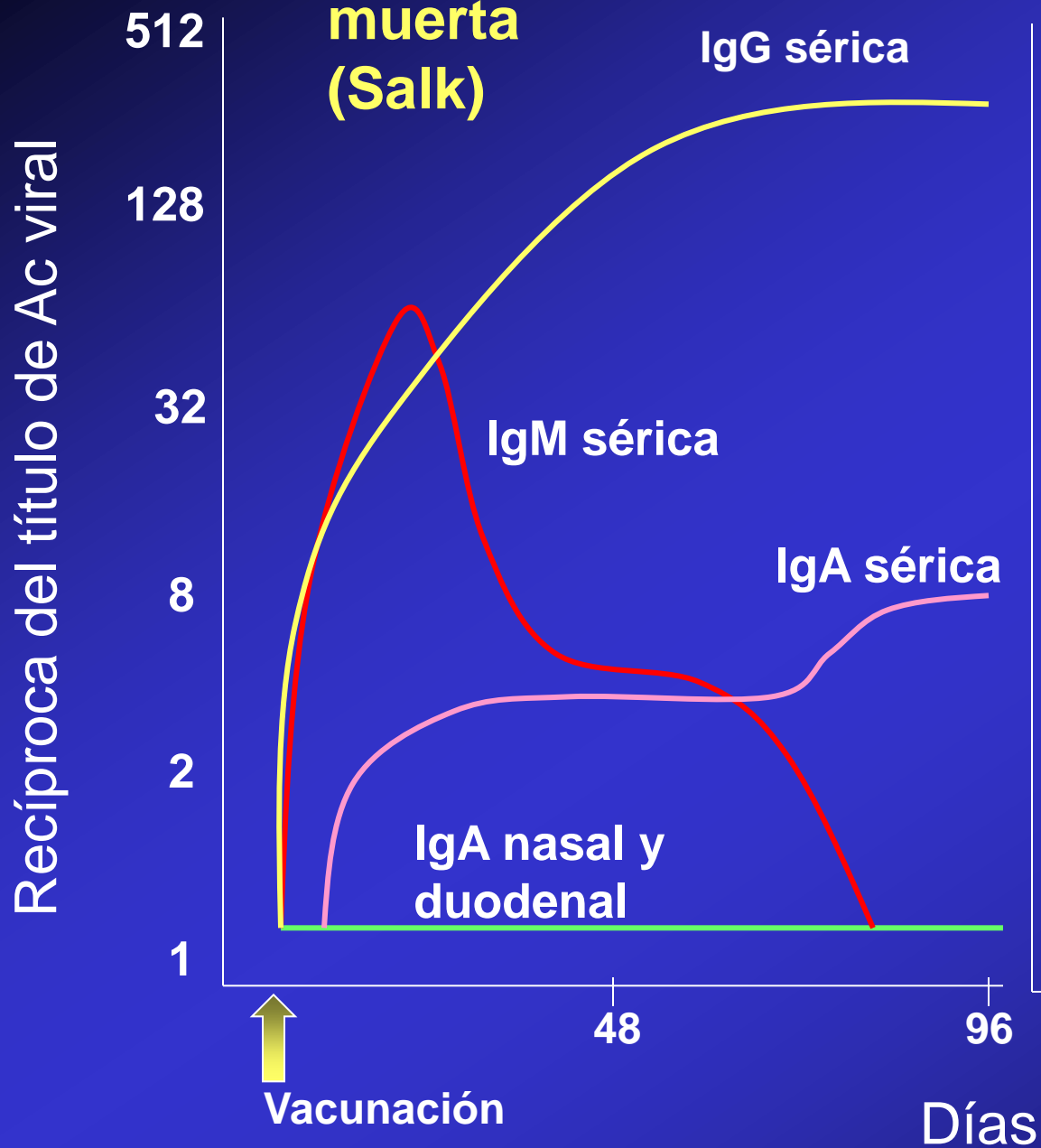
- Activa todas las fases del SI
- Eleva RI a todos los Ags protectores
- Inmunidad más durable; reactividad cruzada
- Bajo costo
- Inmunidad rápida
- Puede causar la eliminación del virus silvestre en la comunidad

# VACUNAS: Gérmenes atenuados desventajas

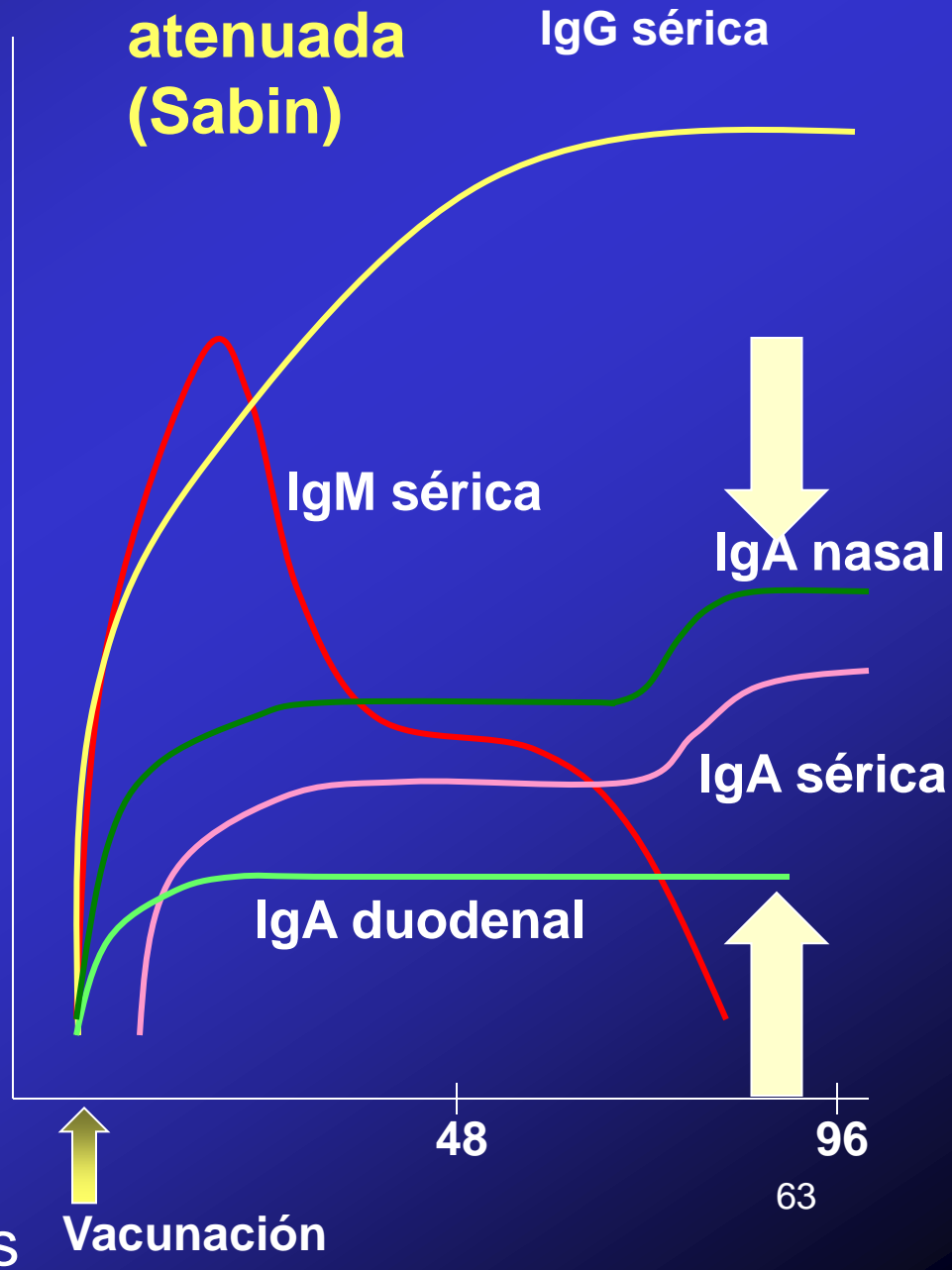
- Mutación: reversión a virulencia
- Se extiende a contactos de vacunados que no quieren ser vacunados
- La vacuna que se difunde puede mutar
- Problemas en pacientes inmunodeficientes



## Vacuna muerta (Salk)



## Vacuna atenuada (Sabin)



# ANTITOXINAS

- La toxina tetánica y diftérica se inactivan con formaldehído.
- La enterotoxina de *Escherichia coli*, genéticamente privada de su toxicidad ha mostrado eficacia.



# VACUNAS: SUBUNIDADES

- Componentes purificados del virus o bacteria:
  - Hib o PRP; polisacárido de la cápsula-proteína.
  - Tetanospasmina
  - Pertussis acelular
  - HBsAg
  - Toxoides

# VACUNAS: SUBUNIDADES

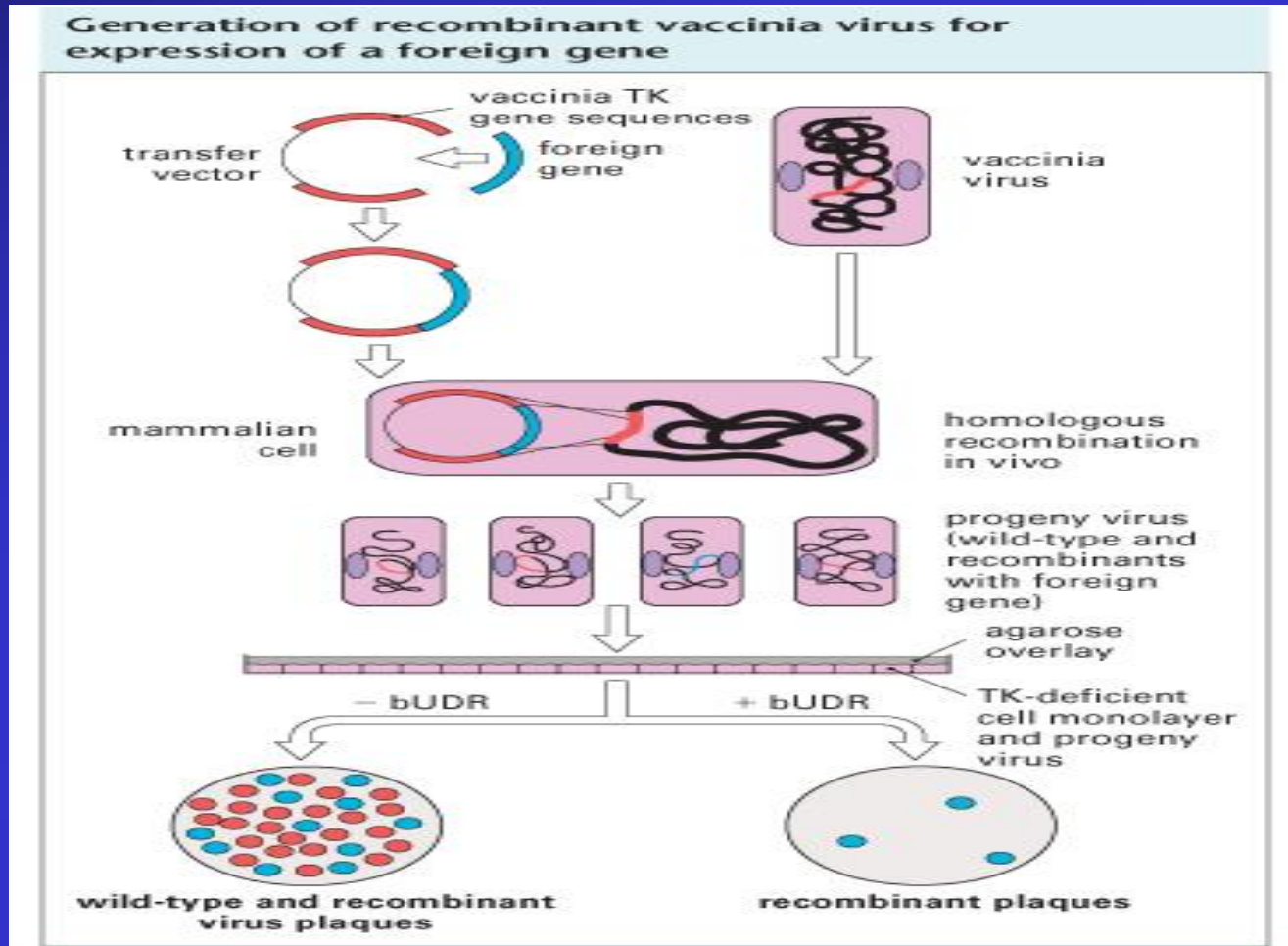
- La vacuna meningocócica contiene polisacáridos de cuatro serotipos
- La vacuna antineumocócica contiene polisacáridos de 23 tipos

# VACUNAS RECOMBINANTES

Un microorganismo inofensivo actúa como vector de genes de antígenos de patógenos.

El genoma del virus de la vaccinia permite introducir varios genes de antígenos.

# VACUNA RECOMBINANTE



# VACUNAS RECOMBINANTES

- Ratones sin timo que reciben una vacuna recombinante que expresa además la IL-2, resuelven la infección viral rápidamente.

# VACUNA RECOMBINANTE

- Inmunización con virus de la vaccinia, cepa Ankara, que porta los genes para env/gag/pol del SIV, protege macacos en contra del reto por el SIV.

# VACUNA RECOMBINANTE

- Monos inmunizados con el virus de la influenza, cepa Ankara, que expresa el antígeno tumoral *lacZ*, se retaron con un número letal de células tumorales. Los animales no presentaron metástasis tumoral.

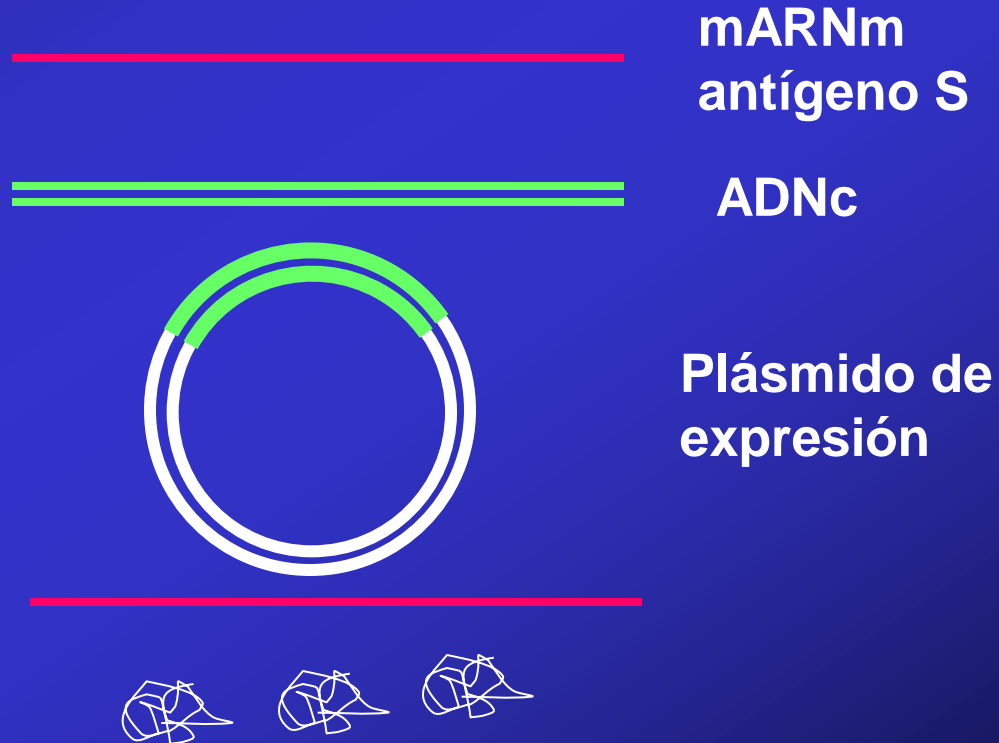
# VACUNAS CON ÁCIDOS NUCLEICOS

- Vacunas constituidas por piezas circulares pequeñas de ADN bacteriano, es decir, plásmidos, que han sido diseñados genéticamente para producir una o dos proteínas específicas de un microorganismo.



# VACUNAS CON ADN

- ADN Recombinante
- Un solo gen (subunidad)



# VACUNAS CON ADN

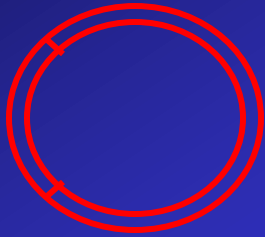
- Se han denominado la Tercera Generación de Vacunas
- Ventajas: inducen respuesta de células T citotóxicas protectoras, así como células Th e inmunidad humoral

# VACUNAS CON ADN

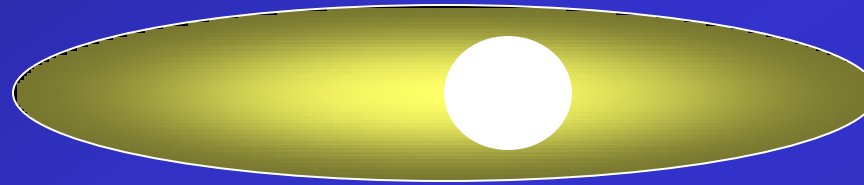
- Se inyectan directamente en el músculo por medio de una “pistola genética” que usa gas presurizado.
- Inducen inmunidad celular y humoral duradera en animales de experimentación.

# Vacunas de ADN

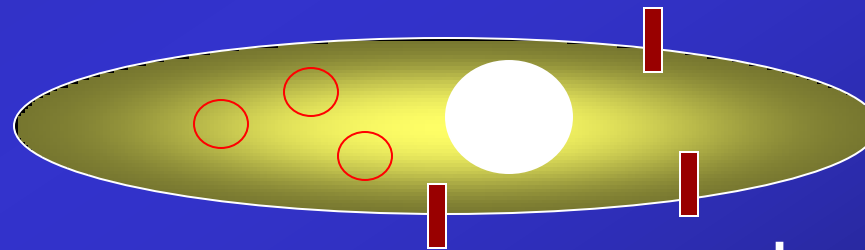
Gen del  
antigen



plásmido



Célula muscular



La célula muscular  
expresa la proteína –  
formación de Ac

Respuesta de CTL

# VACUNA DE ADN

- El ADN inoculado i.m. penetra el citoplasma y después el núcleo del miocito, pero no se integra al genoma.
- El blanco del ADN son las células dendríticas y las musculares.
- No se puede descartar una integración al azar.

# VACUNA DE ADN

- Los mioblastos transfieren el Ag a las CPAs de tal forma que les permite ser procesados por la vía del MHC de clase I y II, generando CTLs e inmunidad humoral.
- Las CDs que han captado al Ag migran hacia los GLs.

# VACUNAS DE ADN

- La persistencia del Ag obvia la necesidad de inyecciones de refuerzo.
- Con pequeñas cantidades de ADN (nanogramos) se logra un excelente compromiso de los CTLs.

# VACUNAS CON ADN

- ADN de la influenza aviaria, es inyectado en la capa epidérmica de la piel, donde entra a las células de la red inmune, creando inmunidad y facilitando la prevención de la enfermedad.



# VACUNAS CON ADN

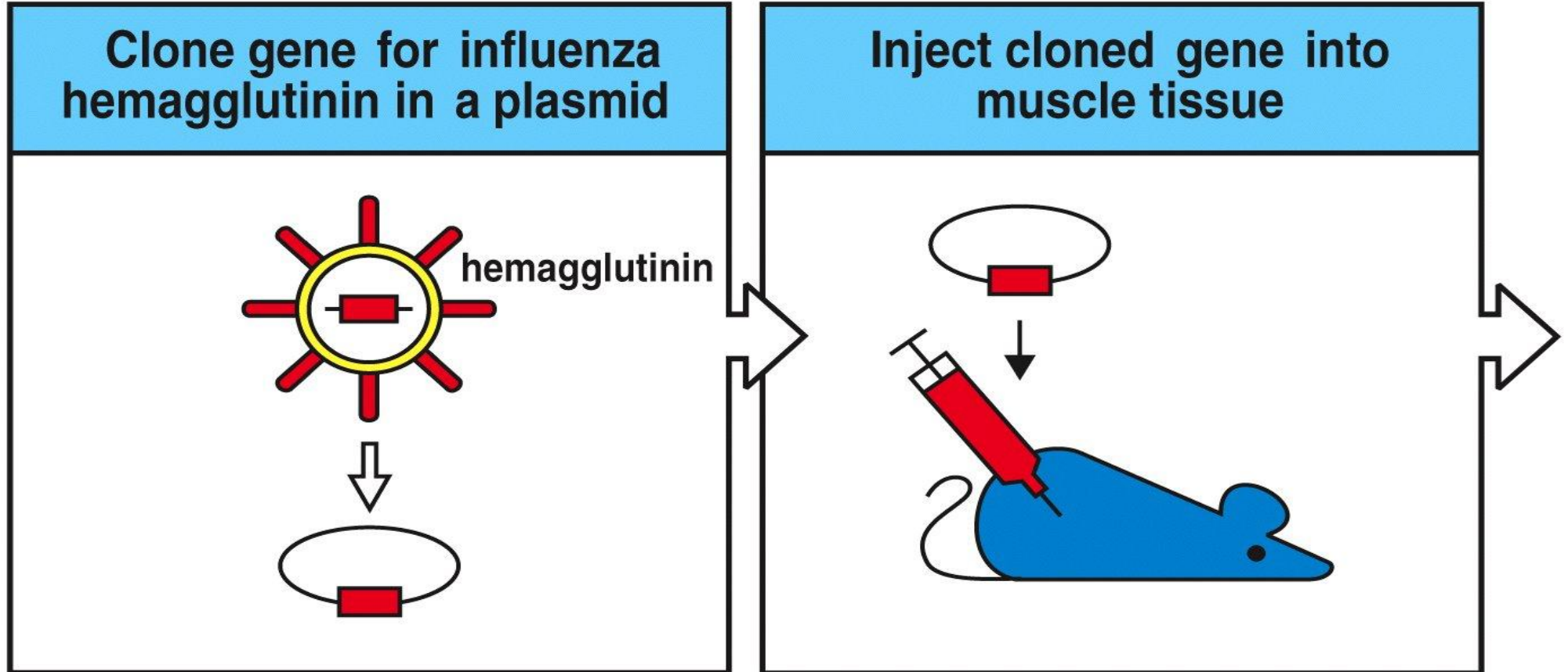


Figure 14-28 part 1 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# VACUNAS CON ADN

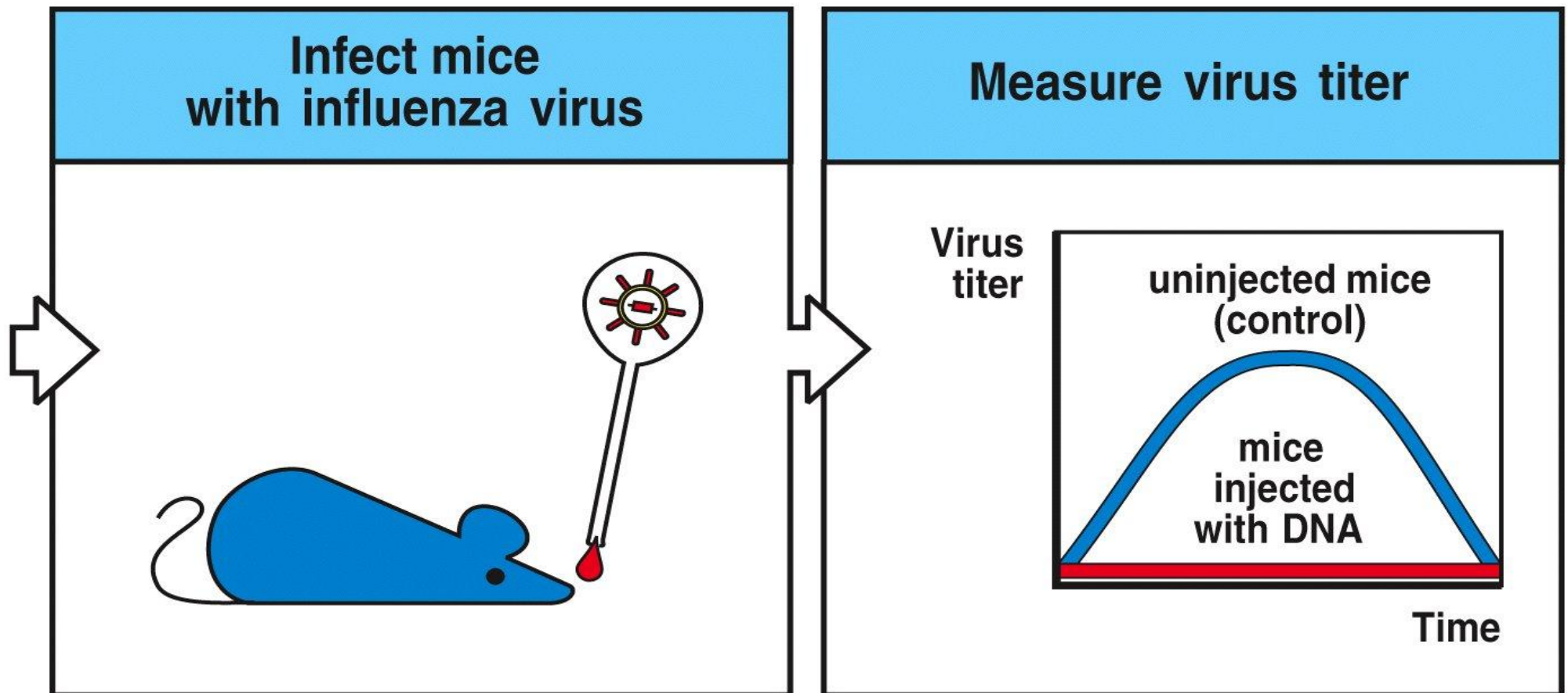


Figure 14-28 part 2 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# VACUNAS DE ADN

- Monos Rhesus vacunados con ADN de la cubierta y gag-pol-nef del VIH-1, responden formando CTLs y anticuerpos que protegen a monos en contra del desafío con el VIH-1 patógeno.

# VACUNAS DE ADN

- En este tipo de vacunas se han incluido citocinas y moléculas coestimuladoras que modulan y aumentan la RI. Se han usado CD80, citocinas Th1 y Th2 proinflamatorias, entre otras.

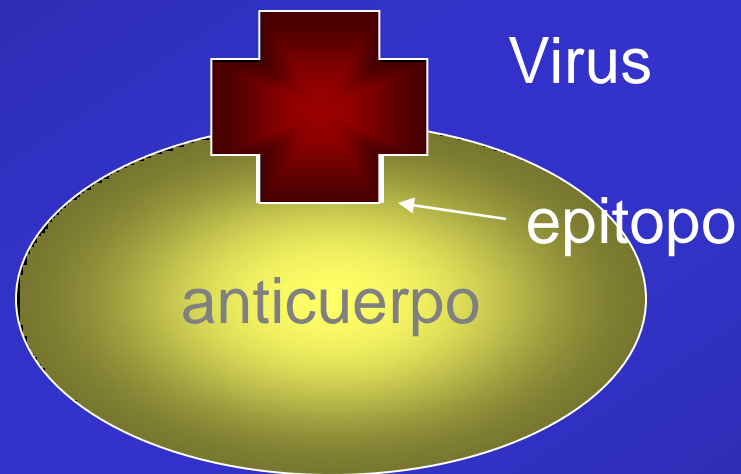
# VACUNAS DE ADN

- No han tenido la aplicación esperada, ya que existen posibilidades de carcinogénesis, autoinmunidad al ADN, y tolerancia hacia el antígeno involucrado.

# VACUNA ANTI-IDIOTIPO

- Idiotipo es el epítopo propio de una molécula perteneciente a un clon en particular.
    - forma parte o está muy próximo al lugar de reconocimiento del Ag.
    - situado en la porción variable Fab.
- En otras palabras es el paratopo.

# VACUNA ANTI-IDIOTIPO



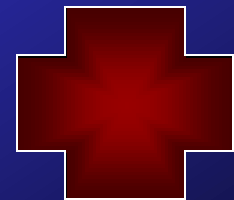
**Anticuerpo  
con epitopo  
en sitio de  
enlace**

# Vacuna Anti-idiotipo cont.



**Hacer Ac contra el Id del Ac**

**Anticuerpo anti-idiotipo mimetiza al epitopo**





# Anticuerpo anti-idiotipo cont.

## Usar Ac anti-idiotipo como vacuna inyectable

Anticuerpo anti-idiotipo

Usar como vacuna

Anticuerpo Anti-anti-idiotipo

Enlaza y neutraliza el virus

Anticuerpo Anti-anti-idiotipo

Anticuerpo Anti-anti-idiotipo

Ac contra

Ac anti-idiotipo

# VACUNAS COMESTIBLES

- El proceso implica la clonación del gen o los genes de interés a partir del germen patógeno.
- Su introducción en otro organismo o transformación, donde pueda expresarse para su posterior purificación y administración en humanos.

# VACUNAS COMESTIBLES

- Las plantas transgénicas representan una alternativa eficaz y económica para la producción de vacunas.
- Se ha demostrado que tienen una gran capacidad para producir anticuerpos, que son utilizados en el diagnóstico y tratamiento de varias enfermedades.

# VACUNAS COMESTIBLES

- Las plantas de tabaco, papa, alfalfa, soya, y arroz han sido transformadas para producir grandes cantidades de anticuerpos

# VACUNAS COMESTIBLES

- La generación de plantas transgénicas productoras de la proteína recombinante, evita la purificación e inyección de la mencionada sustancia.
- La ingesta oral de la planta transgénica permite la absorción intestinal y la posterior estimulación del SI del individuo.

# VACUNAS COMESTIBLES

Aumentan la posibilidad de adquirir inmunidad en mucosas contra agentes infecciosos que invaden al organismo a través de una superficie mucosa.

# VACUNAS COMESTIBLES: Problemas por resolver

- Proteínas pueden ser rápidamente degradadas en el tracto digestivo.
- Dosis puede ser difícil de controlar.
- Los antígenos administrados por vía oral generalmente inducen tolerancia en lugar de inmunidad.

# VACUNAS COMESTIBLES

- La bioencapsulación de la subunidad B de la toxina lábil de *Escherichia coli* en maíz transgénico, indujo una RI fuerte en animales de laboratorio.



# VACUNAS COMESTIBLES

- Se han expresado en plantas transgénicas de:
- Papa, la subunidad B de la toxina del cólera.
- Tabaco, la proteína de superficie del VHB, y del virus de Norwalk.
- Tomate, la glicoproteína del virus de la rabia.

# VACUNAS COMESTIBLES

- Las vacunas genéticamente modificadas poseen potenciales impactos ecológicos y ambientales.
- La ingeniería genética no controla que el vector transgénico se coloque en un sitio específico del genoma del organismo huésped.

# ADYUVANTES

- Son sustancias y formulaciones que tienen la capacidad de aumentar la RI a un antígeno.

# ADYUVANTES

- Precipitación de antígenos solubles
- Complejos inmunoestimulantes o ISCOMS
- Liposomas
- Virosoomas

# ADYUVANTES

- Sales de aluminio: fosfato e hidróxido; actúan:
  - Formación de un depósito con liberación lenta del Ag
  - Partículas más fácilmente fagocitadas
  - Estimulación directa del SI con liberación de citocinas
  - Desestabilización de la estructura proteica

# ADYUVANTES: ISCOMs

- Partículas submicrosomales de saponina, colesterol, fosfolípido e inmunógeno (proteína).
- Capacidad de inducir una RI fuerte.
- Promueven la RI de anticuerpos y células T, que incluye la secreción de citocinas y activación de CTLs.

# ADYUVANTES: ISCOMs

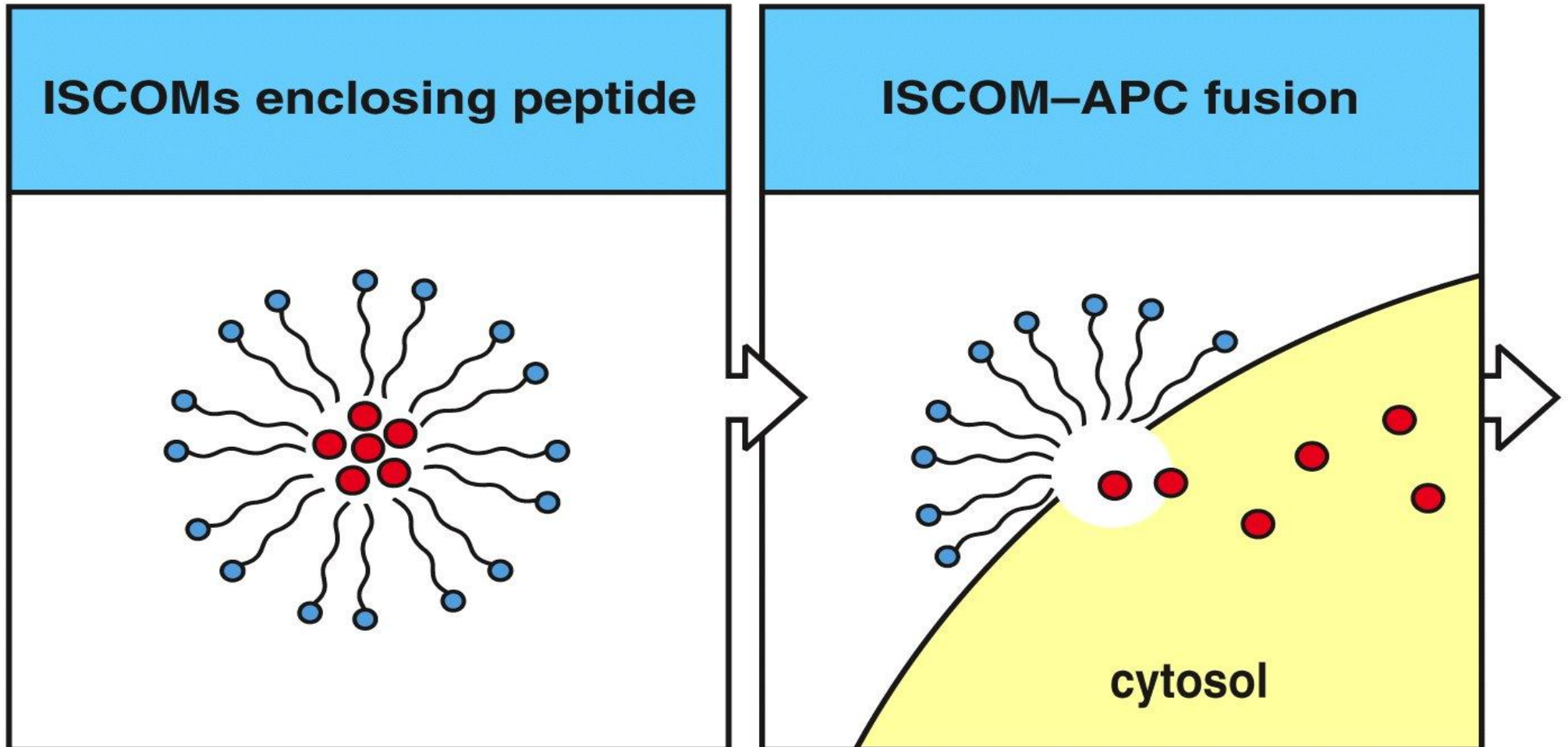
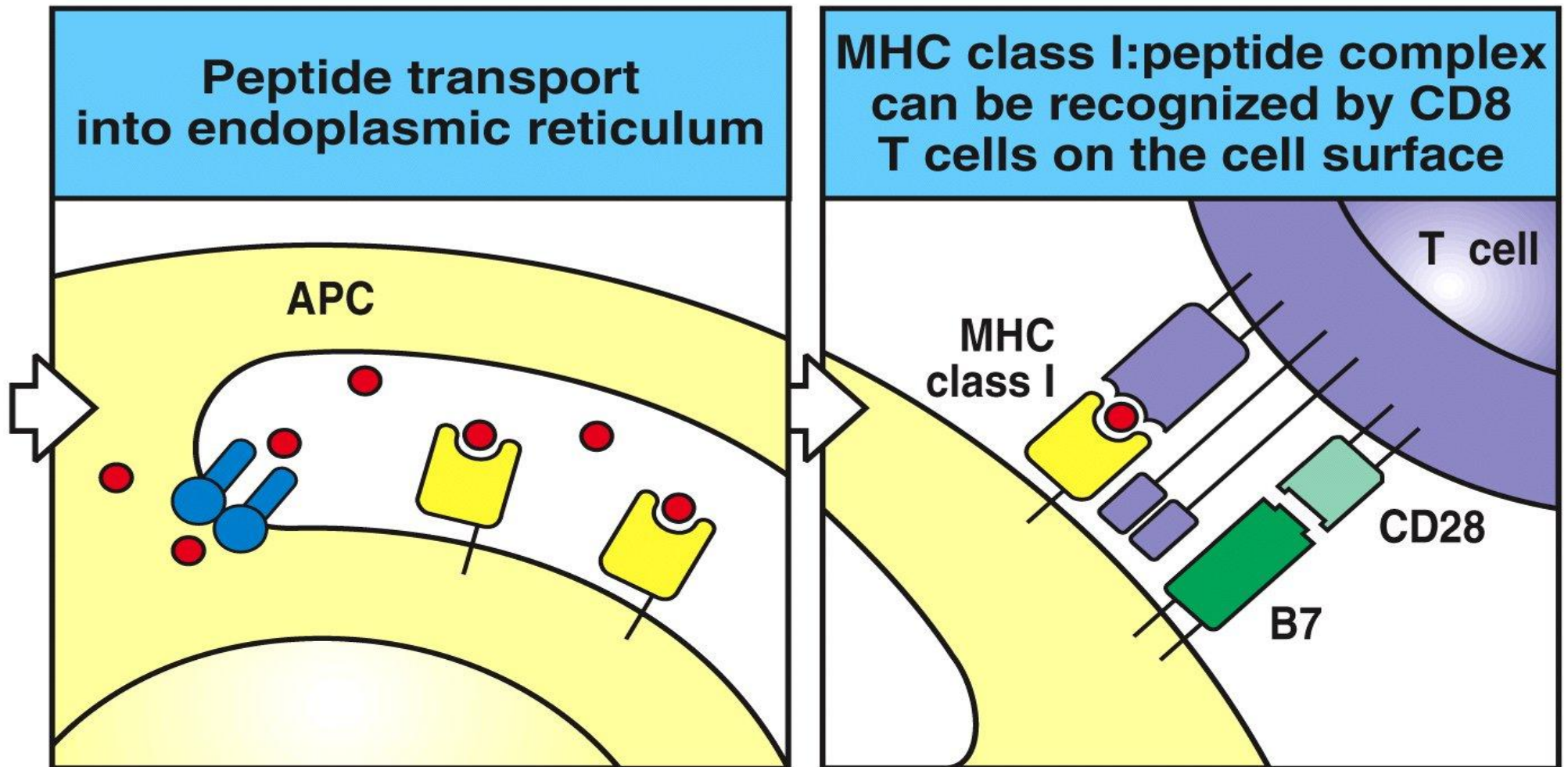


Figure 14-27 part 1 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# ADYUVANTES: ISCOMs





# ADYUVANTES: ISCOMs

- Actúan sobre APCs, favoreciendo la captación y presentación de antígeno.
- Aumentan la expresión de MHC de clase I sobre APC, y el blanco de los antígenos hacia los GLs.
- Activan Th a secretar citocinas de tipo Th1: IL-2, IFN $\gamma$

# ADYUVANTES: ISCOMs

- Con niveles reducidos de Ag inducen formación elevada de anticuerpos, IMC, estimulación de células Th1, Th2 y CTLs.
- Actualmente, se usan en vacunas veterinarias contra la influenza equina.

# ADYUVANTES: ISCOMS

- Se han utilizado con:
  - Virus: VHS-1, CMV, EBV, hepatitis B, rabia e influenza.
  - Bacterias: *Neisseria gonorrhoeae*, *Escherichia coli*, *Brucella abortus*.
  - Parásitos: *Toxoplasma gondii*, *Plasmodium falciparum*, *Leishmania major*.

# ADYUVANTES: LIPOSOMAS

- Vesículas esféricas extremadamente pequeñas compuestas principalmente de fosfolípidos organizados en bicapas.
- Se utilizan para transportar los principios activos de una manera lo más selectiva posible.

# ADYUVANTES:LIPOSOMAS

- El Ag se puede incorporar dentro del liposoma (hidrofílico) o en la bicapa liposomal (lipofílico).
- Aumenta la eficacia y prolonga el efecto, debido a una mejor adsorción, penetración y difusión.

# ADYUVANTES: LIPOSOMAS

- Se han usado en vacunas, para acarrear péptidos, proteínas, ADN.
- La preparación consiste en deshidratación e hidratación de la mezcla de liposomas y la vacuna .
- Se han usado en vacunas tumorales para estimular la RI humoral y celular.

# ADYUVANTES: VIROSOMAS

- Son vesículas formadas de una bicapa unilamelar de fosfolípidos de 150 nm.
- Esencialmente representan cubiertas del virus de la influenza vacíos, desprovistos del nucleocápsido.

# ADYUVANTES: VIROSOMAS

- No replican.
- Contienen glicoproteínas de la cubierta viral funcionales.
- El Ag se incorpora al virosoma por adsorción a su superficie, o integrado en la membrana lípidica.



# ADYUVANTES: VIROSOMAS

- Interactúan con células dendríticas y activan células T.
- Inducen una respuesta fuerte de Th1.
- Como resultado de la fusión con la membrana del endosoma, acceden a la vía de presentación del MHC clase I, favoreciendo la actividad de los CTLs.

# ADYUVANTES: VIROSOMAS

- Vacuna con el virus de Newcastle.
- Dos vacunas registradas: hepatitis A e influenza.
- Ventaja: adecuadas para infantes y personas inmunosuprimidas.

# ADYUVANTES: EMULSIONES

- Las emulsiones de agua en aceite consisten de pequeñísimas gotas de agua estabilizadas por medio de un agente surfactante, en una fase continua de aceite mineral u otro aceite, como el escualeno, donde se incorpora el antígeno soluble en agua.

# ADYUVANTES: EMULSIONES

- Forman un depósito que favorece la liberación lenta del antígeno, y la estimulación de células plasmáticas formadoras de anticuerpo, o DTH.
- Freund completo e incompleto, adyuvante 65, Lipovant y Montanide.

# ADYUVANTES: MONTANIDE

- Forma un depósito en el sitio de inoculación.
- Contiene un aceite natural metabolizable y un emulsionante (octadecanato deanhidromanitol).
- En individuos vacunados con este adyuvante , fue bien tolerado, con dolor transitorio en el sitio de inyección.

# ADYUVANTES: MONTANIDE

- Montanide se ha usado en ensayos clínicos de fase I y II, con VIH, malaria, CMV y cáncer.
- Sujetos inmunizados con el CS de *P. falciparum*, formaron anticuerpos y sus linfocitos produjeron IL-2 e IFN- $\gamma$  cuando se estimularon con el Ag.

# ADYUVANTES: 65

- Contiene el Ag en aceite de cacahuate (86%), Arlancel A (10%) como surfactante, y monoestearato de Al como estabilizador de la emulsión.
- Se debe tener cuidado, porque ciertas especies de esta planta pueden contener aflatoxina B1, compuesto con propiedades carcinogénicas.

# ADYUVANTES: DERIVADOS BACTERIANOS

- Constituyen una fuente principal de adyuvantes.
- LPS (lípid A), potente pero muy tóxico.
- MPL, Lípid A destoxificado químicamente, interactúa con TLR4 sobre macrófagos, liberando citocinas proinflamatorias (TNF; IL-2, IFN $\gamma$ ) que promueven la generación de respuestas Th1.



# ADYUVANTES:DERIVADOS BACTERIANOS

- MPL: en humanos se ha usado en vacunas contra el cáncer , enfermedades infecciosas, y alergias.
- En Canadá el MPL se aprobó en una vacuna frente al melanoma; en Europa, vacuna frente al VHB para pacientes en hemodiálisis, y en Australia una vs el VPH.

# ADYUVANTES: DERIVADOS BACTERIANOS

- ADN bacteriano: efecto inmunoestimulante debido a dinucleótidos CpG no metilados.
- Mediado por receptores TLR9 presentes en células humanas B y dendríticas; promueve liberación de citocinas inflamatorias, y orienta respuesta hacia Th1 e inducción de CTL.

# ADYUVANTES: DERIVADOS BACTERIANOS

- CpG
  - Limitaciones: síntomas de *Flu*, cefalea, por la activación del TLR9 que excita el NK- $\kappa$ B, un inductor de citocinas inflamatorias, como TNF- $\alpha$ .

# ADYUVANTES: CITOCINAS

- Citocinas: son factores solubles que no muestran especificidad alguna por el antígeno
- Producidas ante todo por leucocitos; intervienen en la regulación del SI y en los procesos inflamatorios.

# ADYUVANTES: CITOCINAS

- Actúan sobre receptores específicos de membrana y contribuyen a la activación, blastogénesis y/o diferenciación de células efectoras, regulando procesos de apoptosis, adquisición de capacidad citotóxica y la recirculación de los leucocitos.

# ADYUVANTES: CITOCINAS

- Regulan la función de las células que las producen (autocrinas).
- Responsables de la comunicación intercelular (paracrinas).
- Inducen activación de receptores específicos de membrana, proliferación y diferenciación celular, quimiotaxia, crecimiento y modulación de la secreción de Igs.

# ADYUVANTES: CITOCINAS

- Proinflamatorias: IL-1, IL-6, IL-8

IL-1: pirógeno

IL-6: pirógeno, síntesis de Igs, activación de la síntesis de proteínas de fase aguda.

IL-8: factor quimiotáctico y activador de neutrófilos.

# ADYUVANTES: CITOCINAS

- Antiinflamatorias: antagonista del RIL-1, IL4, IL-6, IL-10, IL-11, e IL-13.



# ESTIMULACIÓN DE LA MUCOSA

## IMPORTANCIA:

- La superficie de la mucosa es el principal puerto de entrada de patógenos.
- La mucosa contiene la concentración más alta de linfocitos :  $6 \times 10^{10}$  AFC en MALT versus  $2.5 \times 10^{10}$  linfocitos en órganos linfoides.

# INMUNOLOGÍA DE LAS MUCOSAS

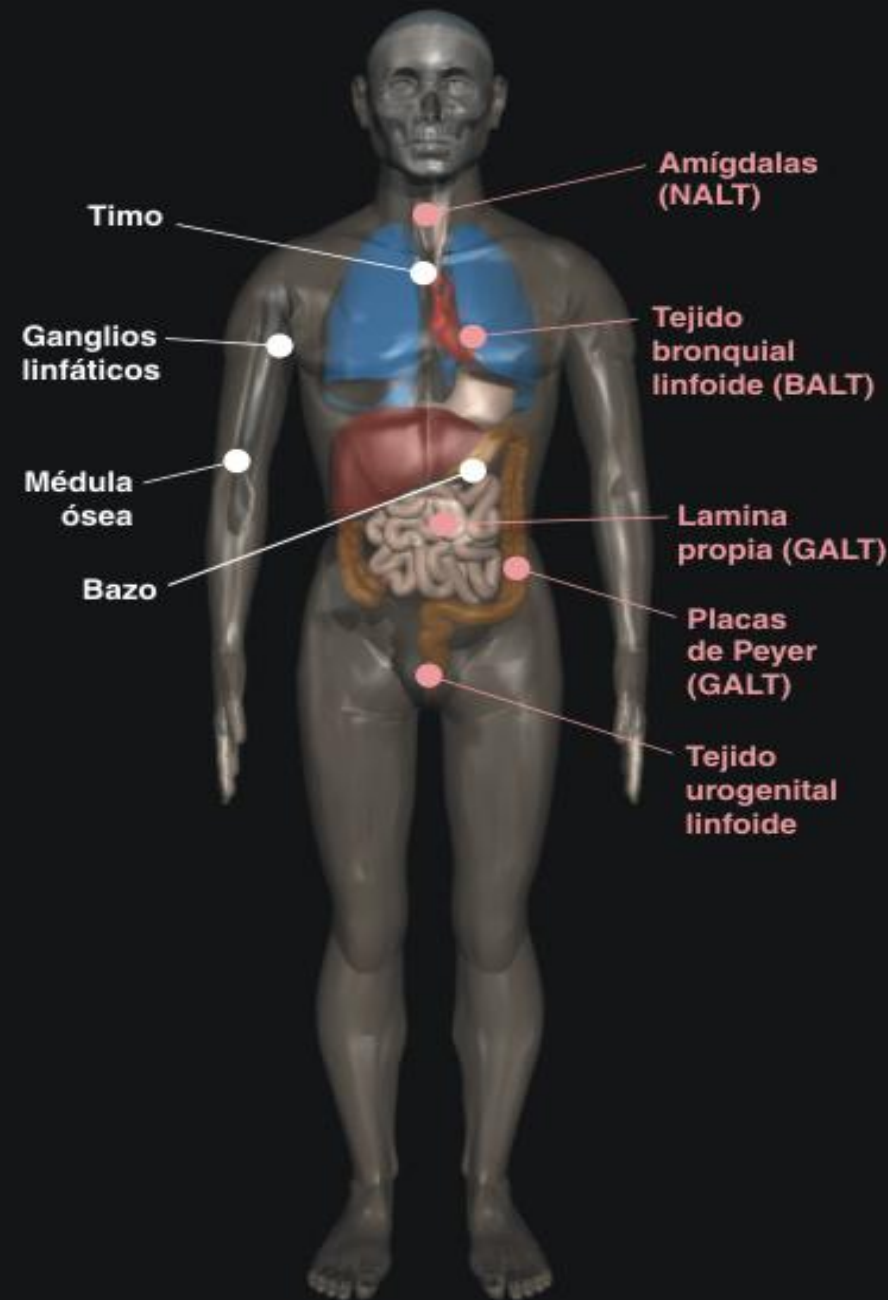
- Inmunización de la mucosa:
  - inmunidad de la mucosa
  - inmunidad sistémica
  - previene infecciones
- Inmunización sistémica:
  - no proporciona inmunidad de las mucosas
  - resuelve infección antes que la enfermedad desarrolle

# SISTEMA INMUNE DE MUCOSAS

- Red integrada de tejidos, células linfoides y constitutivas, y moléculas efectoras que protegen al huésped de infecciones en la superficie de las membranas mucosas
- Distinto del sistema inmune periférico (sistémico)
- Caracterizado por
  - producción de IgA
  - respuestas de CD4 de tipo Th1 y Th2
  - respuestas de CD8<sup>+</sup> CTL

# SISTEMA LINFOIDE

MALT: Agrupaciones de tejido linfoide no encapsulado situado en la lámina propia y áreas submucosas del tubo gastrointestinal (GALT), vías respiratorias (NALT, BALT), glándulas mamarias y tracto reproductivo



# SISTEMA INMUNE DE LAS MUCOSAS

- La característica del MALT organizado es la presencia de folículos linfoides (placas de Peyer)
- Los folículos consisten de células B inmaduras, centros germinales, y una red de células dendríticas (CDs).
- Los folículos están flanqueados por células T , CDs y vénulas endoteliales altas.

# CÉLULA M

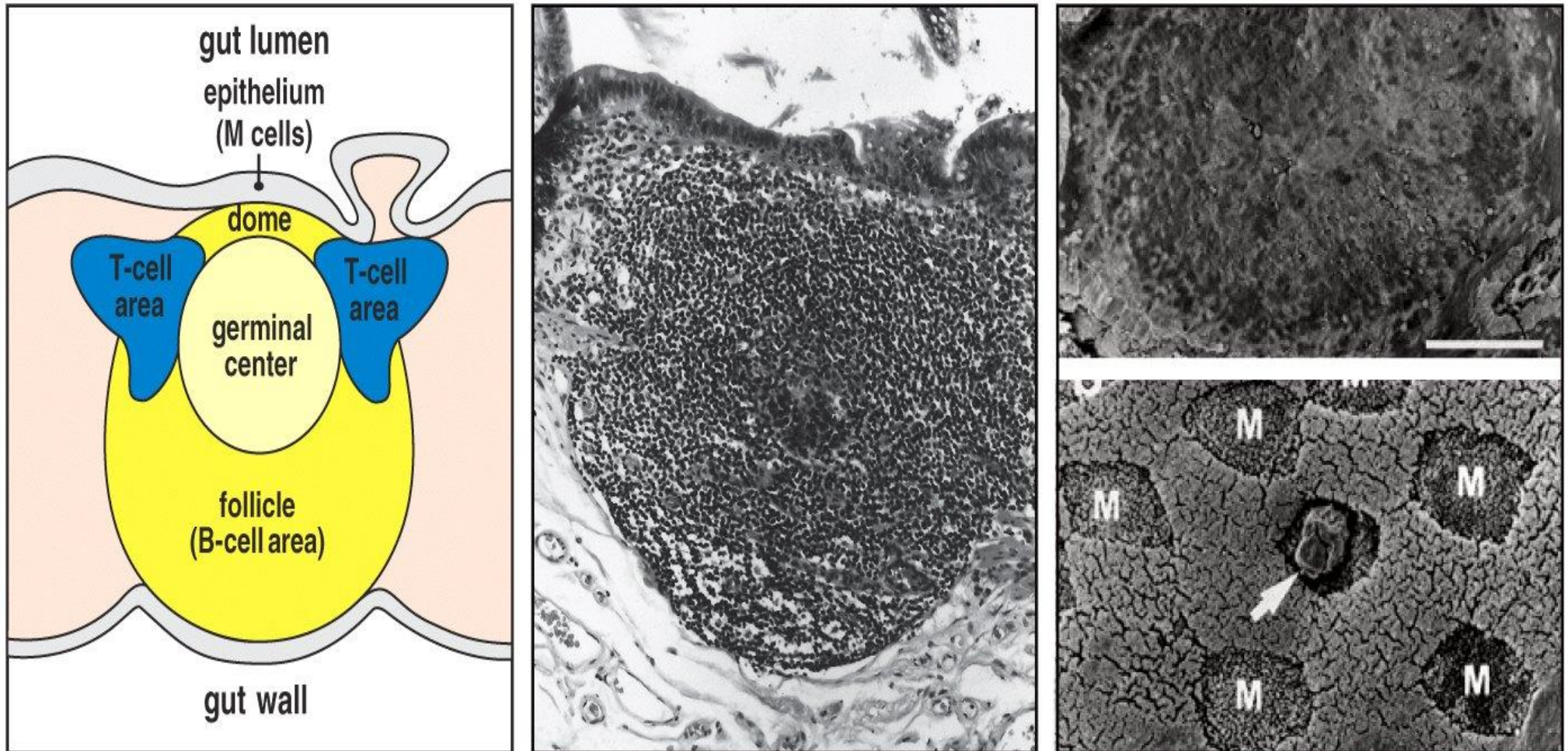
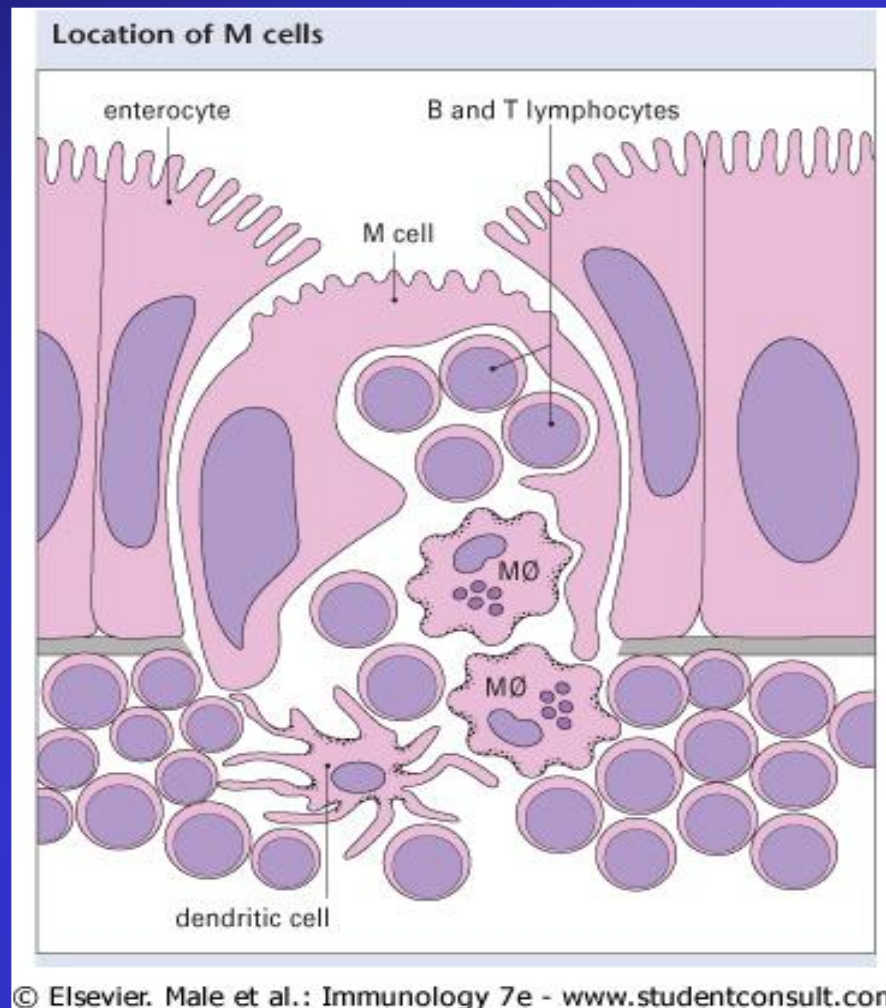
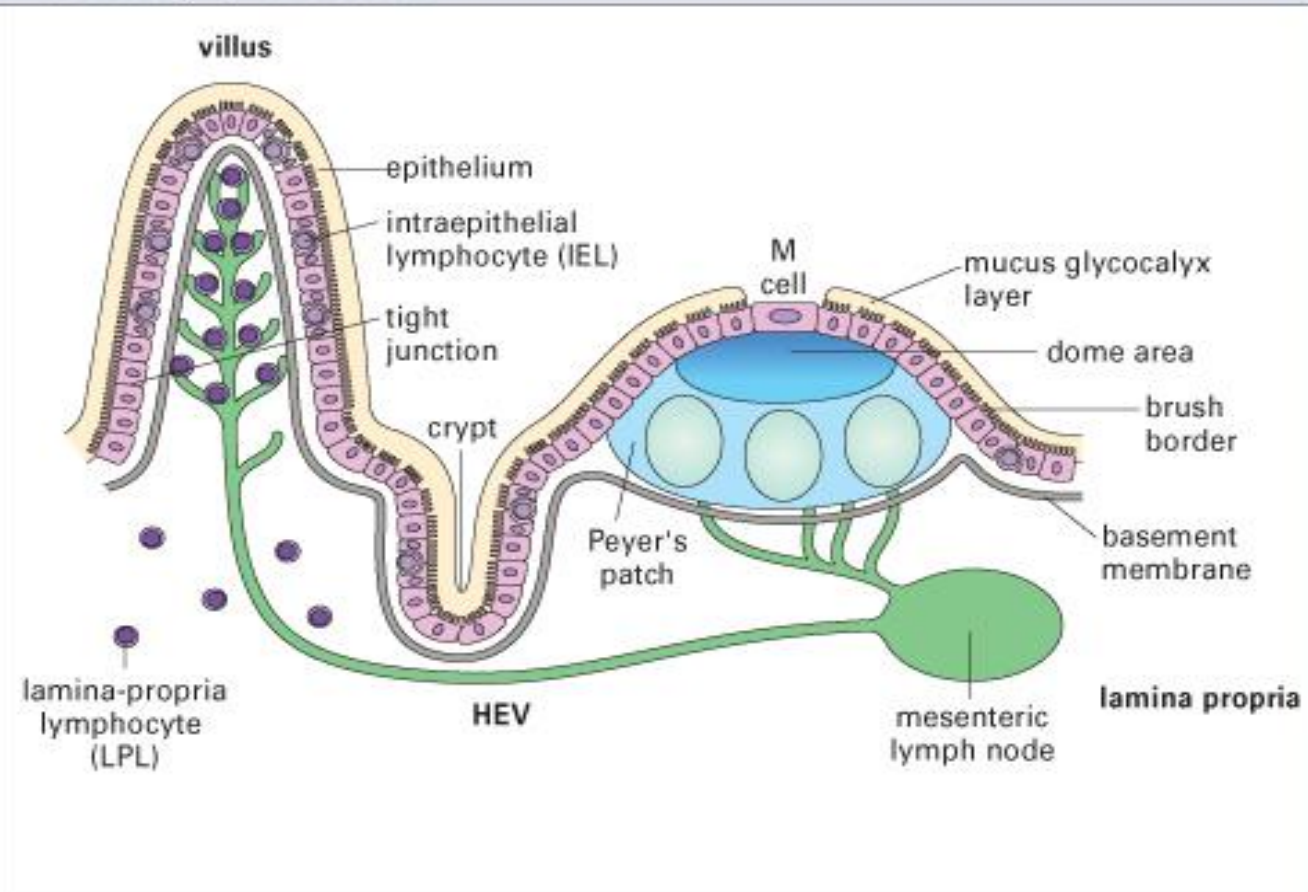


Figure 1-10 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)



## Mucosal lymphoid tissue



© Elsevier. Male et al.: Immunology 7e - [www.studentconsult.com](http://www.studentconsult.com)



# RESPUESTA INMUNE DE LAS MUCOSAS

- Fase inductiva
  - Presentación de Ag a linfocitos
  - Migración de linfocitos de los sitios de inducción en la mucosa (placas de Peyer) hacia:
    - Ganglios linfáticos regionales
    - Circulación sanguínea
    - Sitios efectores en la mucosa (lámina propia)

# SISTEMA INMUNE DE LAS MUCOSAS

- Inducción inmune en un sitio de la mucosa resulta en una RI en sitios distantes de la misma.
- Inmunización de un sitio de la mucosa puede inducir una RI en todos los tejidos efectores de la mucosa.

# RESPUESTA INMUNE DE LA MUCOSA

- Fase efectora
- -producción de anticuerpos  
predominantemente IgAs  
se expresan todos los isotipos de anticuerpos
- Células T CD8 IMC (bolsa intraepitelial)
- Células T CD4 producción de citocinas  
(lámina propia)

# INMUNOLOGÍA DE LAS MUCOSAS

## *Bordetella pertussis:*

- Agente etiológico de la tos ferina.
- Enfermedad grave de la niñez.
- Coloniza la mucosa respiratoria.
  - efectos sistémicos producidos por toxinas
  - ataques severos de tos = convulsiones, cianosis, daño neurológico, muerte.

# INMUNOLOGÍA DE LAS MUCOSAS

- *Bordetella pertussis*, vacunación parenteral en humanos:
  - La inmunidad disminuye en la edad adulta temprana
  - Se detecta solamente IgG en secreciones nasales
- Infección natural/vacunación en mucosas
  - Infección natural = inmunidad por largo tiempo
  - Títulos elevados de IgG e IgA específicos en secreción nasal

# VACUNACION NASAL Y ORAL

• Vacunación	<u>Aumento máximo</u>			
	<u>Secreción</u>			
	<u>Nasal</u>		<u>Vaginal</u>	
	<u>IgA</u>	<u>IgG</u>	<u>IgA</u>	<u>IgG</u>
• Nasal	9.3	56	5.7	30
• Oral	---	6.2	4.9	20

# VACUNACION NASAL U ORAL

- CONCLUSIONES:
- La vacunación oral no genera una respuesta de IgA en secreciones nasales
- La vacunación oral y nasal generan respuestas de IgA e IgG en secreciones vaginales
- No todos los sitios de las mucosas responden igual a la inducción en un sitio distante.

# ESTRATEGIAS PARA INMUNIZACIÓN DE LAS MUCOSAS

- Adyuvantes de mucosas/sistemas de entrega a células M
  - toxina del cólera (CTB), linfotoxina de *E. coli*
  - micropartículas biodegradables
  - bacterias atenuadas y vectores virales
  - sitio de administración de antígeno



# VACUNA DPT

- Protege contra difteria, tos ferina y tétanos.
- Generalmente se administran 5 dosis entre los 2 meses y 5 años de edad.
- Inmunidad prolongada para difteria y pertussis, pero no para el tétanos, la cual debe repetirse cada 8-10 años para permanecer efectiva.

# VACUNA DPT

Efectos secundarios:

- Dolor, hinchazón y eritema en el sitio inoculado
- Fiebre, mareos, pérdida de apetito
- Convulsiones
- Colapso

# VACUNA DPaT

- Contiene: toxoide diftérico y tetánico, más 3 antígenos de la *B. pertussis* (toxoides, hemaglutinina filamentosa, y pertactina).
- Reacciones adversas son ligeras y aparecen las primeras 48 h
- Eficacia del 88%

# VACUNA vs FIEBRE TIFOIDEA

- Parenteral

  - Bacteria total: proteína y polisacárido

- - Inactivada con acetona y liofilizada (AKD)

  - Eficiencia 75-94%

- - Inactivada con fenol y calor (H-P). Eficiencia, 61-77%

  - Polisacárido Vi de la cápsula (ViCP).

  - Eficiencia, 49-87%

# VACUNA vs FIEBRE TIFOIDEA

- Oral
- Atenuada Ty21a, cápsulas ( $2-6 \times 10^9$  CFU). Eficiencia 60-77%
- Se administran 4 cápsulas cada tercer día
  - proporciona una inmunidad por ~ 5 años

# VACUNA vs *Helicobacter pylori*

- *H. pylori* infecta a 2/3 partes de la población mundial, causa úlceras, asociado con cáncer de estómago y enfermedad cardíaca.
- Helivax, vacuna total, inactivada, y multivalente para prevenir y tratar infecciones causadas por *H. pylori*. Eficacia, 100% en modelos experimentales

# VACUNA vs *H. pylori*

- Existen patentes para la elaboración de 126 vacunas:
  - Polipéptido de la flagelina
  - Ureasa
  - Antígenos bacterianos: Vac A, HSP

# VACUNA vs *Haemophilus influenzae*

- *H. influenzae* del tipo b causa neumonia, meningitis y otros padecimientos, que afectan a niños < 5 años
- Vacuna:
  - LPS de la cápsula que induce solo IgM
  - PRP, poliribosilribitol fosfato, eficaz en > 18 m
  - PRP-acarreadores proteicos buena RI.



# VACUNA vs *H. influenzae*

- Vacunas conjugadas:
  - PRP-D, con toxoide diftérico
  - PRP-T, con el toxoide tetánico
  - PRP-OMP, con la membrana externa del meningococo

# VACUNA vs *Mycobacterium tuberculosis*

- Bacteria intracelular; desafía la eficacia de la RI.
- Prevención descansa en la vacuna del BCG.
  - particularmente en TB pediátrica
  - menos confiable contra la TB pulmonar en adultos

# VACUNA vs *M. tuberculosis*

- Recombinante rBCG30, en estudio
- ADN, (DNA-HSP) con quimioterapia, acelera la desaparición de la bacteria y protege contra la reinfección. En estudio.
- Virus de la vaccinia Ankara modificado, MVA85A, en fase II.
- Subunidades: 2 proteínas recombinantes + adyuvante.
- Adenovirus recombinante, Ad35.

# VACUNA vs *Mycobacterium leprae*

- Extracto de *M. leprae* induce una DTH.
- BCG ha mostrado cierta eficacia.
- BCG+*M. leprae* muerto por calor confiere protección.
- Un Ag de 35 kDa es reconocido por > 90% de pacientes.
- Una vacuna ADN-35 estimula células T y protege contra el desafío experimental.

# VACUNAS VIRALES: HEPATITIS A

- Se conocen 4 vacunas:
  - Tres vacunas crecen el VHA en fibroblastos humanos
  - La cuarta crece al VHA en cultivos de células diploides humanas, el cual se adsorbe a vesículas de fosfolípido, enriquecidas con la HA y NA de influenza (virosona)

# VACUNA vs HEPATITIS A

- Se encuentra en el mercado una vacuna combinada del VHA inactivada y una vacuna del VHB recombinante para niños mayores de 1 año.

# VACUNA vs HEPATITIS B

- VHB causa infección hepática, que con frecuencia da lugar a enfermedad hepática crónica, con riesgo elevado de muerte por cirrosis y cáncer hepático.

# VACUNA vs HEPATITIS B

- Contiene una de las proteínas de superficie del VHB, conocido como Ag de superficie (HBsAg).
- Originalmente se preparó a partir del plasma de portadores sanos, debido a que el virus no crece en los medios habituales de laboratorio.



# VACUNA recombinante vs Hepatitis B

- El gen que codifica por el HBsAg es clonado en levaduras de *Saccharomyces cerevisiae*, y cultivado.
  - El Ag es cosechado y purificado de los cultivos de fermentación.
  - La proteína purificada se complementa con un adyuvante de aluminio.

# VACUNA vs ROTAVIRUS

- Rotavirus vivo atenuado RIX4414, de la cepa G1P
- Oral, en dos dosis (6-17 semanas de edad)
- Eficiencia 85%
- Proporciona protección contra serotipos no G1, que contienen el antígeno P

# VACUNA vs PAROTIDITIS

- Virus muerto, efecto corto.
- Virus vivo atenuado, mejores efectos, parenteral.
- Cepa Jeryl Lynn, induce la formación de Ac, que no decaen después de 3 años de la vacunación. Eficacia 94%.

# VACUNA vs SARAMPIÓN

- Virus atenuado, cepa Edmonston.
- Se administra entre 9-15 meses de edad, con un refuerzo.

# VACUNA vs RUBÉOLA

- Cepa muerta, 1963.
- Cepa atenuada Cendehill, RA 27/3.
- Los anticuerpos formados persisten por más de 10-15 años.
- Actualmente se administra como vacuna triple, junto a parotiditis y sarampión.

# VACUNA TRIPLE: parotiditis, sarampión y rubéola

- Virus atenuados, propagado en células.
- Vía s.c. el primer año de vida; se refuerza un mes después o a los 4-5 años.
- La cepa Urabe del virus de la parotiditis ha presentado trastornos neurológicos, aunque mayor eficacia, por lo que otros países usan la cepa Jeryl Lynn.

## VACUNA CUADRUPLE: parotiditis, sarampión, rubéola, varicela-Zoster

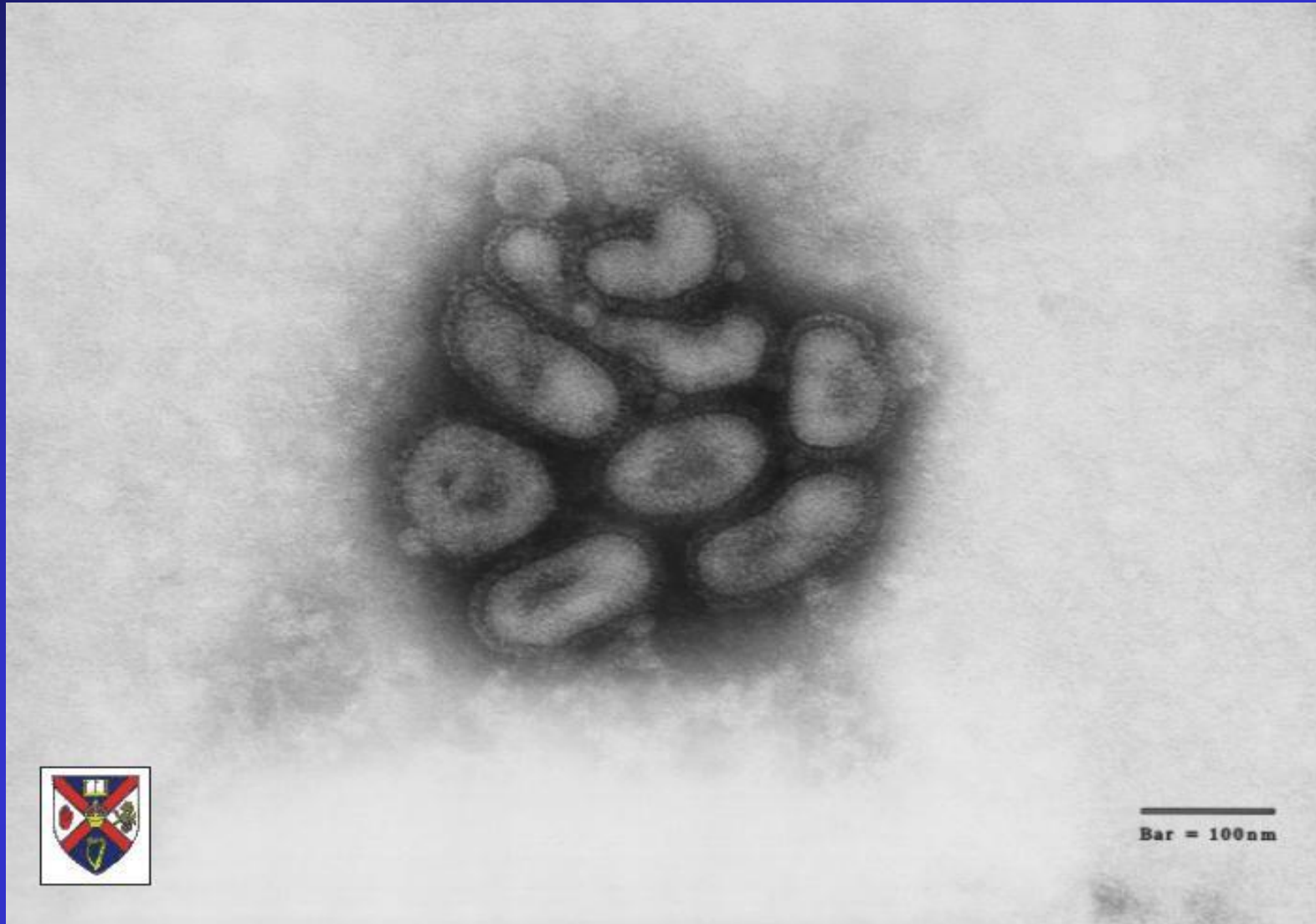
- Se aplica a  $> 1$  año, con un refuerzo a los 4-6 años
- El VVZ se prepara con la cepa OKA
- La inmunidad dura de 10-20 años

# VACUNA vs VARICELA-ZOSTER

- Virus vivo atenuado de la cepa OKA, altamente inmunogénica
- Se recomienda en niños > 1 año, con un refuerzo entre los 4-6 años
- No administrar salicilatos después de vacunación por al menos 6 semanas (síndrome de Reye –encefalopatía aguda-)



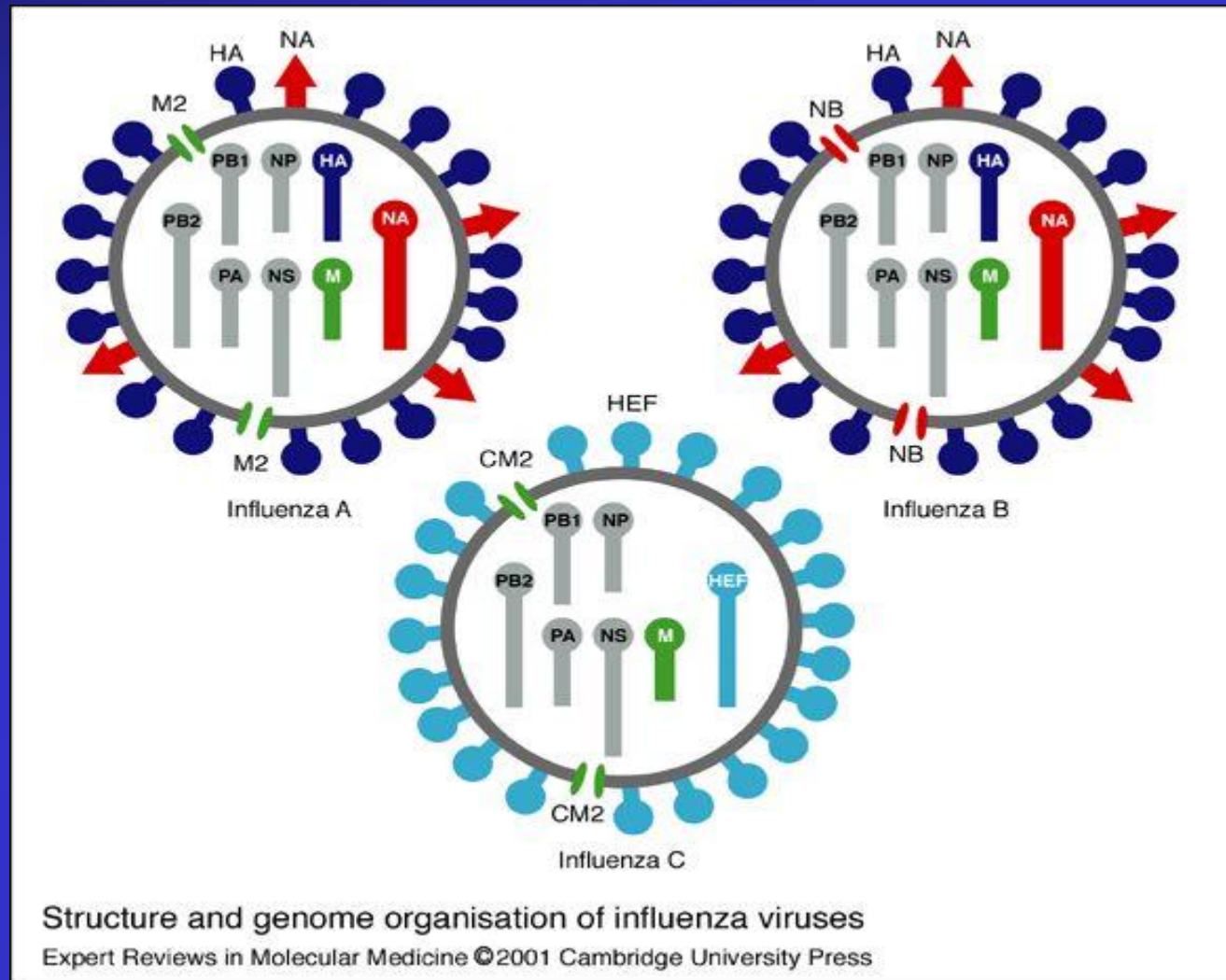
# VIRUS DE LA INFLUENZA



# VIRUS DE LA INFLUENZA

- Virus ARN constituido por 3 géneros: A, B, y C
- Influenza A se subdivide en varios serotipos; los responsables de las pandemias más relevantes:
  - H1N1, *flu* Español, 1918, y de la actual o “porcina”
  - H2N2, en Asia en 1957
  - H3N2, Hong Kong, 1968

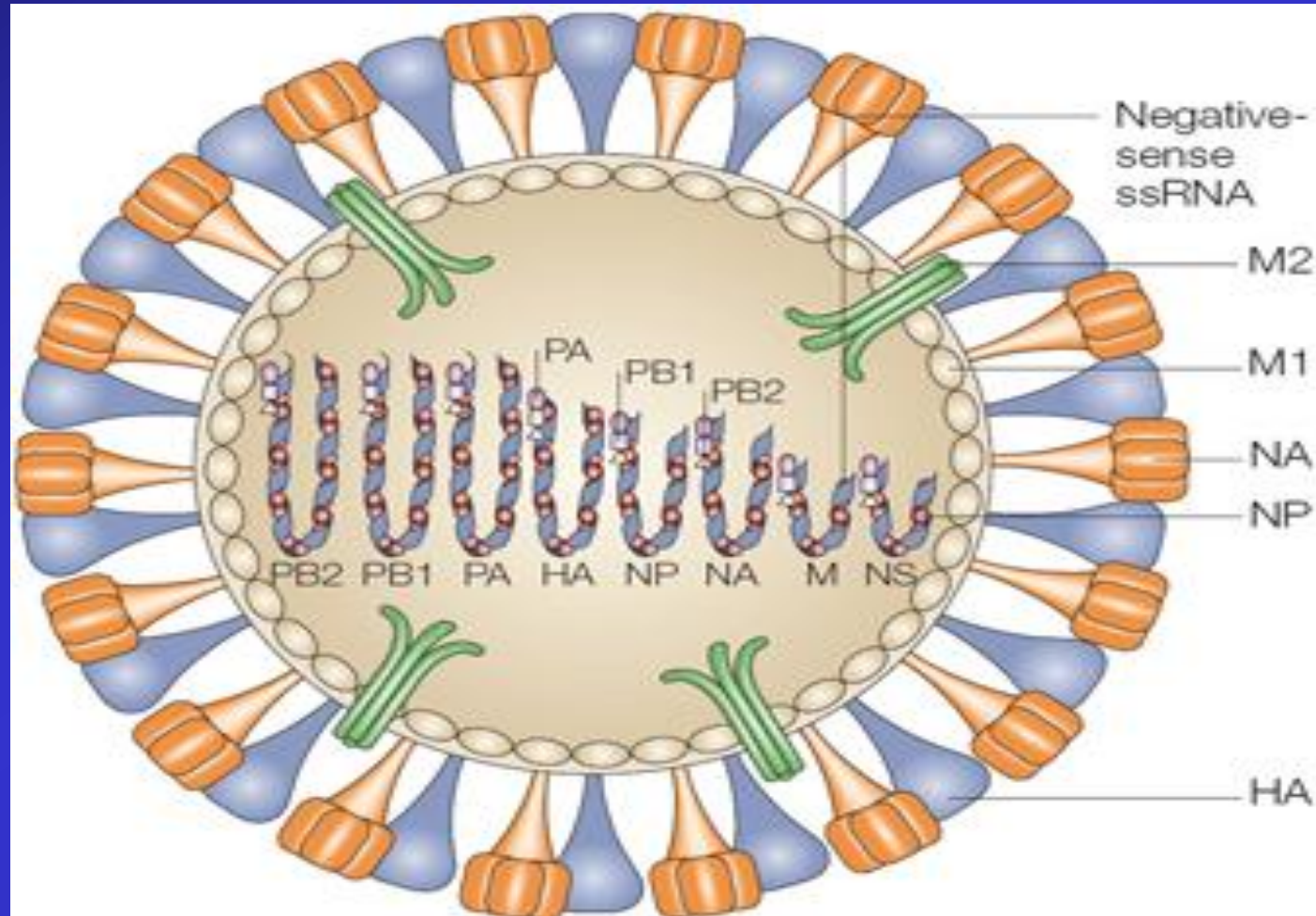
# VIRUS DE INFLUENZA: ESTRUCTURA Y ORGANIZACIÓN DEL GENOMA



# VIRUS DE LA INFLUENZA

- El virus de la influenza A tiene 8 genes que codifican 11 proteínas.
- La hemaglutinina (HA) y la neuraminidasa (NA) son dos glicoproteínas que se localizan en la parte externa del virus.

# VIRUS DE LA INFLUENZA



# VIRUS DE LA INFLUEZA: HA

- Participa en la adsorción y penetración a la célula.
- Estimula la fusión entre la membrana de la célula huésped y la envoltura viral.
- Aglutina a los eritrocitos a través de la HA1, produciendo una reacción de hemaglutinación visible.
- Induce la síntesis de Ac neutralizante.

# VIRUS DE LA INFLUENZA: NA

- Transporta al virus a través de las mucinas y destruye los receptores de la HA sobre la célula huésped infectada, permitiendo la elución de la progenie viral.
- Previene la agregación viral, protegiendo al virus de su propia HA.
- Estimula la producción de Ac inhibidores de la NA.

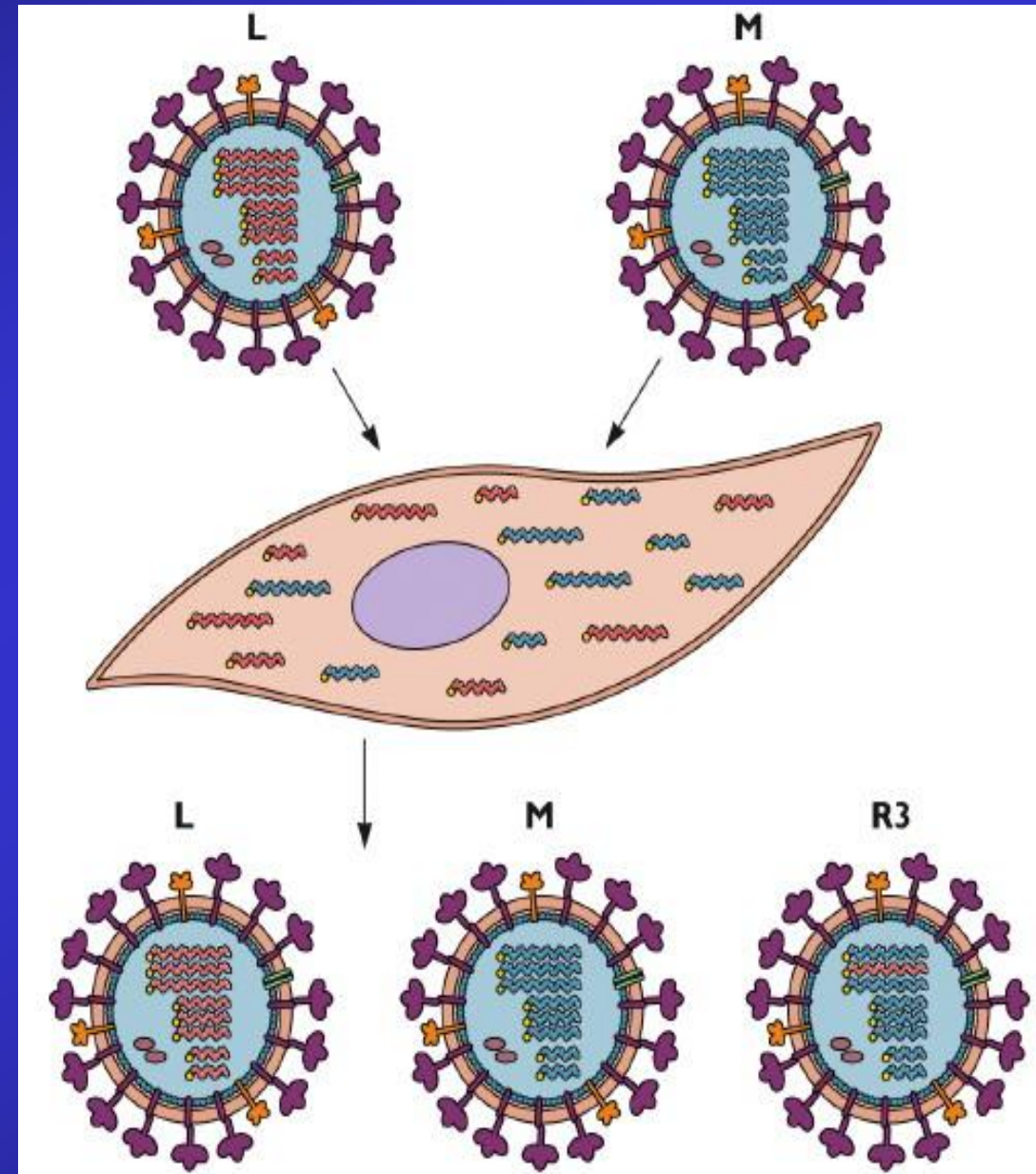
# VIRUS DE LA INFLUENZA A

- Se clasifican en subtipos basados en la respuesta de Ac hacia la HA y NA.
- Se conocen varios subtipos, 16 de HA y 9 de NA.
- En el humano solo se han encontrado:
  - H1, 2, y 3
  - N1 y 2



# VIRUS DE INFLUENZA: VARIANTES

INTERCAMBIO GENETICO ENTRE VIRUS DE DIFERENTE ESPECIE, CON REORDENAMIENTO DEL GENOMA Y GENERACION DE UN NUEVO SUBTIPO VIRAL



# VACUNA vs INFLUENZA

- El virus de la vacuna contra la influenza se cultiva en huevos. Las personas alérgicas al huevo no deben recibir esta vacuna.

# VACUNA vs INFLUENZA

- Dos tipo de vacuna:
  - Con virus muertos, se inyecta en el músculo en > 6 meses
  - Con virus atenuado, se aplica por vía nasal en > 2 años

# VACUNA vs VIH

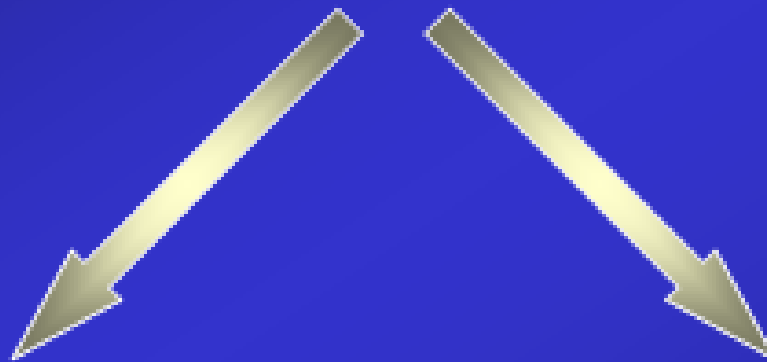
- Porque necesitamos una vacuna
- Donde se necesita más
- Que tipo de RI correlaciona con protección a la infección
- Como se puede inducir tal respuesta con una vacuna
- Que vacunas se han tratado y cuales son sus expectativas

# VACUNA vs VIH

- 5.5 m de nuevas infecciones por año
- = 15, 000 por día
- = 616 por hora
- = 10 por minuto

# HACIA UNA VACUNA anti-HIV

Que debe inducir la vacuna?



Respuesta humoral

Ac neutralizante

Mate virus libre

Respuesta celular

Mate células infectadas

Problemas de infección  
célula-célula

# HACIA UNA VACUNA ANTI-VIH

Fe en Acs neutralizantes basados en experimentos en chimpancés

VIH  Niveles elevados

**Resiste desafío subsecuente con virus inyectado I.V. !!!!**

Aunque no a través del recto o vagina

Además, los chimpancés no presentan SIDA

# HACIA UNA VACUNA anti-VIH

Los experimentos en chimpancés diseñados para el éxito

- Los animales se desafiaron con pequeñas dosis de virus cuando los niveles de anticuerpos eran elevados
- Desafío con la misma cepa viral que formó los Acs
  - Ninguna vacuna hecha con una cepa viral ha protegido chimpancés desafiados con otra cepa diferente



# HACIA UNA VACUNA anti-VIH

*En humanos la protección puede no ser llevada a cabo por anticuerpos neutralizantes*

*En monos, la capacidad de formar Acs neutralizantes no correlaciona con protección*

*IMC es la clave y también lo es en humanos*

*Gente expuesta al VIH, pero no infectada, muestra signos de IMC*

# RI EN PERSONAS EXPUESTAS SERONEGATIVAS

- Respuesta inmune celular.
- T CD4+ que pueden producir citocinas.
- LTC CD8+ específicos presentes en la sangre y superficies mucosas.
- Respuesta inmune humoral.
- Acs neutralizantes IgA en mucosas.

# OBJETIVO DE LA VACUNA vs VIH

- Inducir una RI mediada por células, tanto de LTC CD8+ y Th CD4+, que reaccionen con un diverso rango de cepas de HIV. Dirigida a Ags conservados entre grupos.
- Inducir RI en mucosas
- RI de larga duración
- Fácil de administrar y aceptable
- Sin toxicidad e inocua
- Barata

# HACIA UNA VACUNA anti-VIH: PROBLEMAS

- El virus puede esconderse en células
  - Transmisión célula-célula
  - Éticos
- No se tienen modelos en animales
  - Azúcares inmunosilenciosos
- Polimorfismo/hipervariabilidad (*DRIFT*)
- Activación de las mismas células que el virus infecta
  - Inútil si las células T4 son eliminadas
    - Barrera hematoencefálica
    - Oncogenicidad

# HACIA UNA VACUNA anti-VIH

Desde 1986: > 15 Vacunas de subunidades

Basadas en gp160/gp120

Todas inocuas

Ninguna efectiva

Niveles bajos de Acs cepa específicos que desaparecen rápidamente

Efectos efímeros de IMC

Todas preparadas con gp160/gp120 de virus inductores de sincitio

Ninguna ensayada en grupos grandes de gente de alto riesgo

# HACIA UNA VACUNA anti-VIH

**Subunidad en vector**

**Pro**

**Potente IMC**

# HACIA UNA VACUNA anti-HIV

**Humanos:**

**NEF mutante con delección**

# HACIA UNA VACUNA anti-VIH

## Problemas para todas las vacunas:

- Anticuerpo facilitador
- Vacuna puede ser inmunosupresora (anti-MHC)



# CONCLUSIONES

- La vacunación constituye la forma de generar una RI que es necesaria para la protección en contra de diversas infecciones.

# CONCLUSIONES

- EN CONSECUENCIA, ES PRECISO CONOCER COMO ACTUA UNA VACUNA, LA RI QUE INDUCE, Y TENER LA CAPACIDAD PARA MODULARLA.

# CONCLUSIONES

- Desarrollo de nuevas tecnologías que proporcionen mejores vacunas, con menos efectos colaterales.
- La biología molecular facilita la elaboración de vacunas más puras, y la inmunología nos orienta en la forma en la cual estas interactúan en el SI.

# CONCLUSIONES

- EL USO DE VACUNAS INDICA QUE ES POSIBLE NO SOLO PREVENIR, SINO TAMBIÉN ELIMINAR LAS ENFERMEDADES CAUSADAS POR AGENTES INFECCIOSOS.

# CONCLUSIONES

- PARA LOGRAR ESTOS OBJETIVOS, ES NECESARIO NO SOLAMENTE CONTAR CON UNA VACUNA EFECTIVA Y QUE EN LA BIOSFERA NO EXISTA UN ANIMAL U OTRO RESERVORIO, SINO ADEMÁS UN COMPROMISO GENUINO DE TODO EL MUNDO, EN PARTICULAR DE LOS GOBIERNOS, PARA CONSEGUIRLO.

# CONCLUSIONES

- LA VACUNACION HA SIDO UNO DE LOS SUCEOS MAS IMPORTANTES DE LA BIOLOGIA