

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.

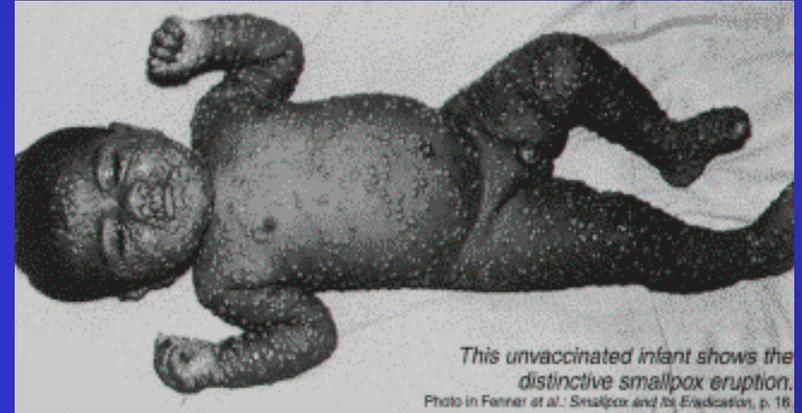
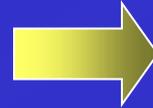
VACUNACIÓN: HISTORIA

- 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

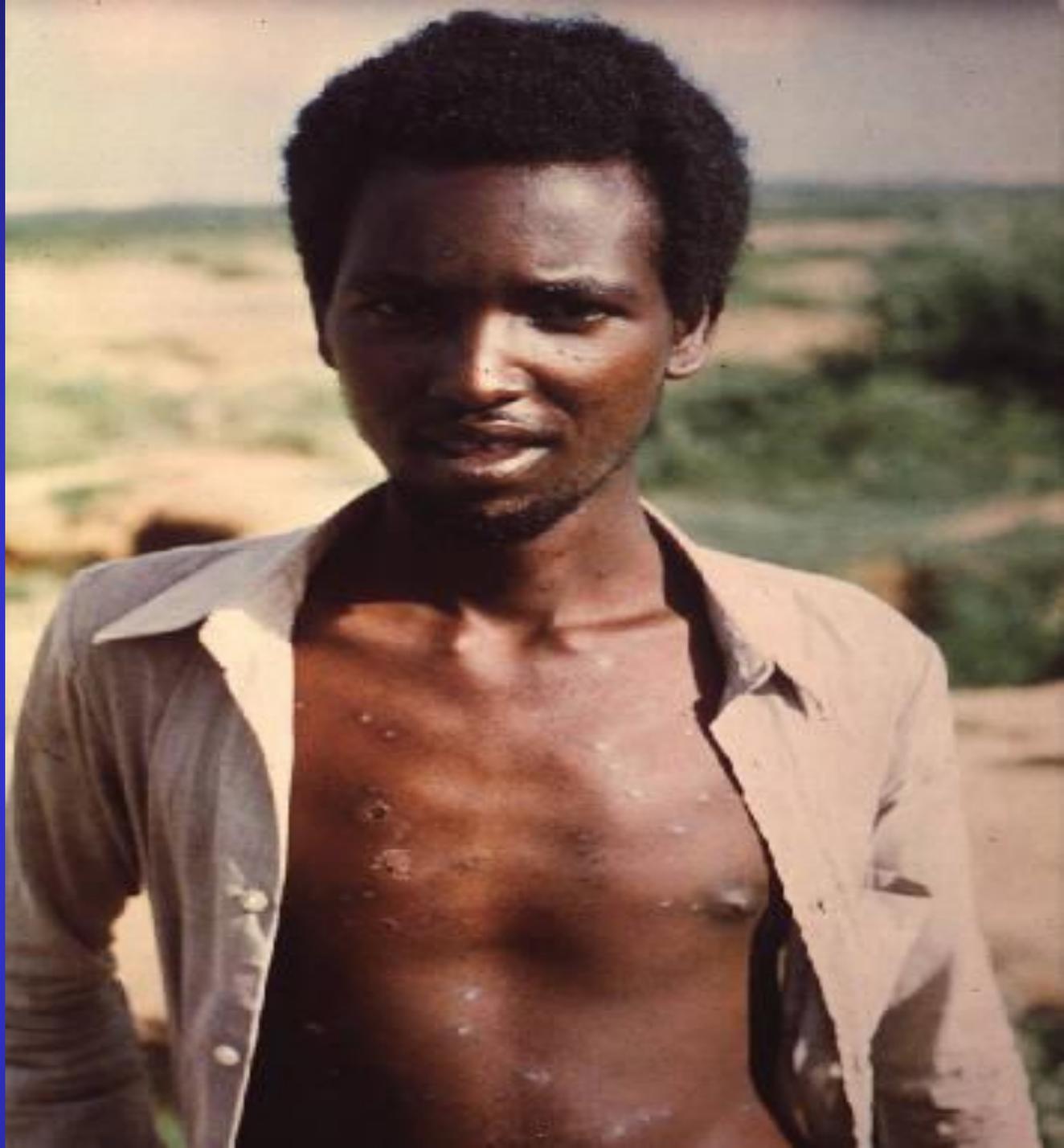
Vacunación: Jenner 1796

- 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.

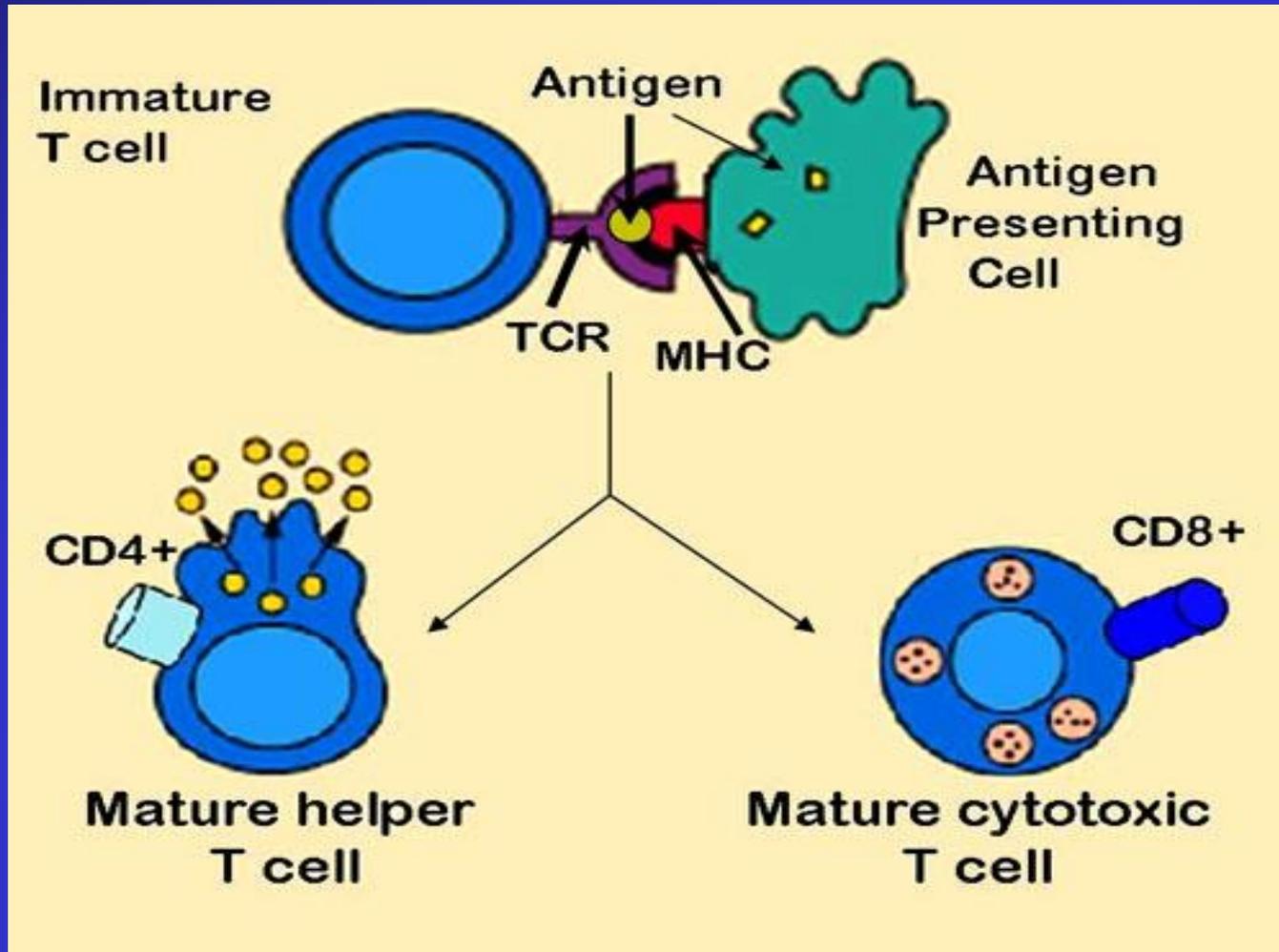
VACUNACIÓN: OBJETIVO

- 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⁺

CELULAS T: PRESENTACION DE Ag



VACUNAS: COMPOSICIÓN

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

INMUNIZACIÓN

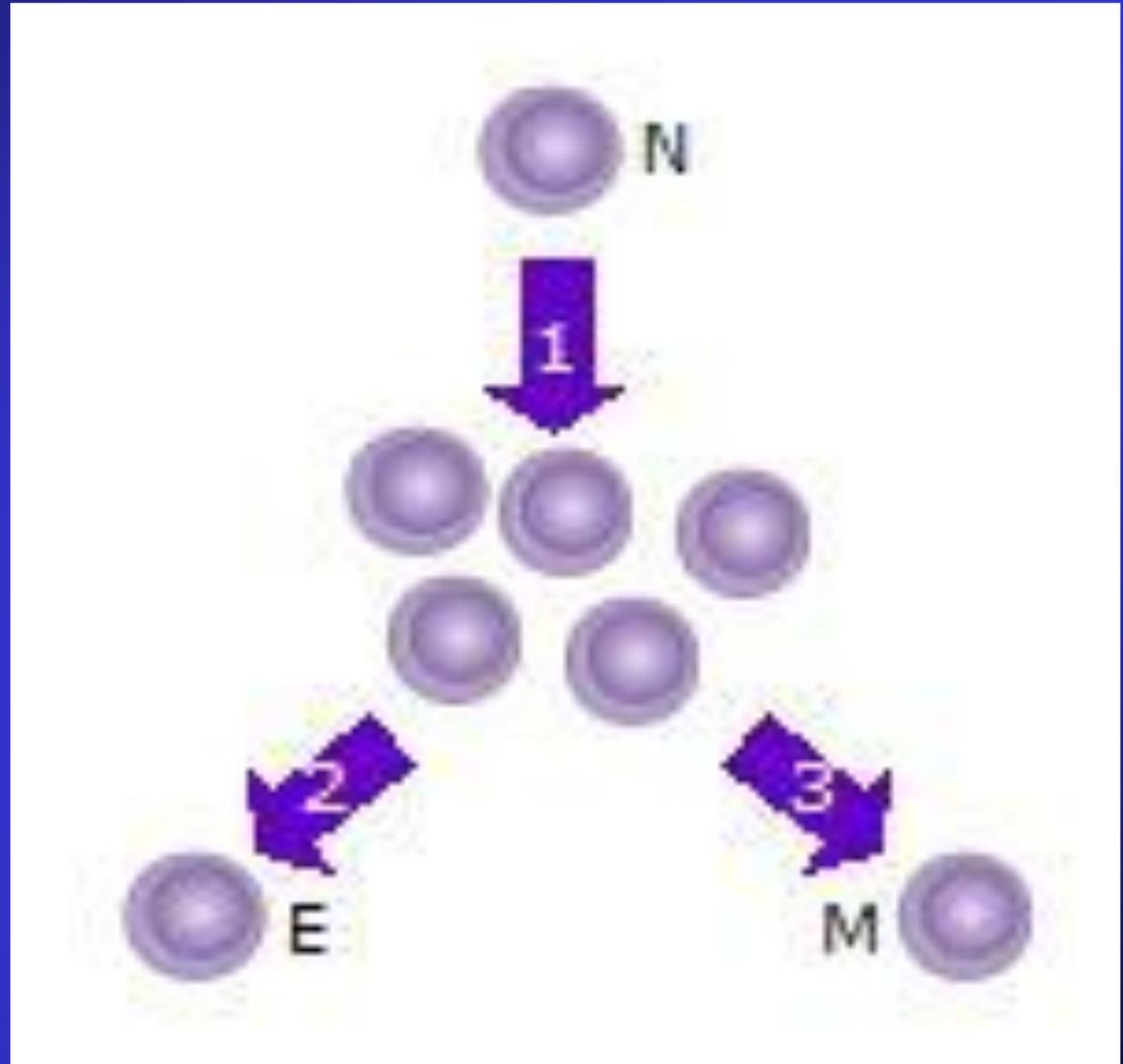
- Las CDs atrapan a los antígenos y los llevan a los ganglios linfáticos regionales, donde se los presentan a las células T inocentes.

INMUNIZACIÓN

- Las células T → células T efectoras y de memoria, que ayudan a las células B en GLs → 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

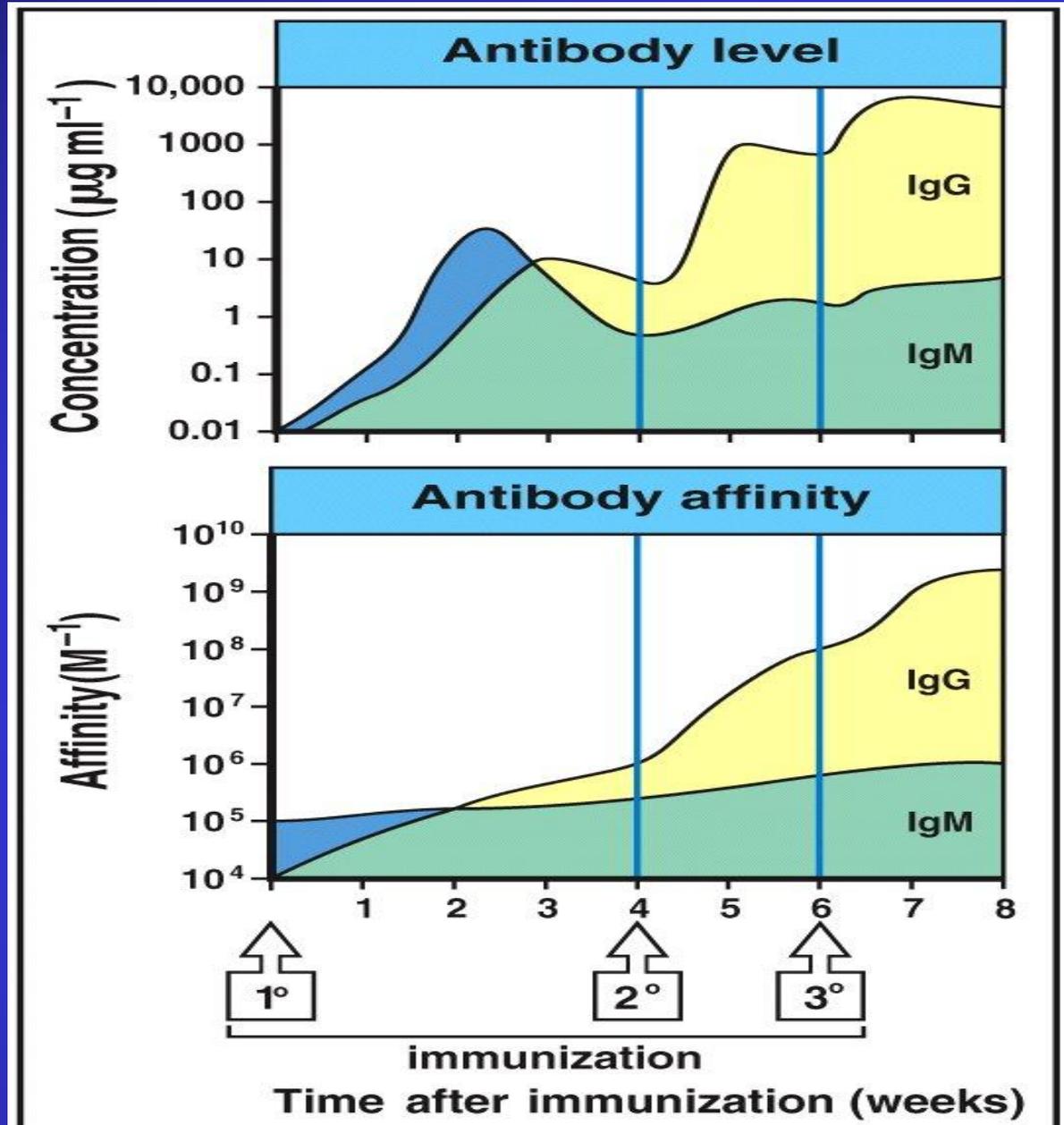


Figure 10-31 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

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⁺)
 - Células T citotóxicas (CD8⁺)

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

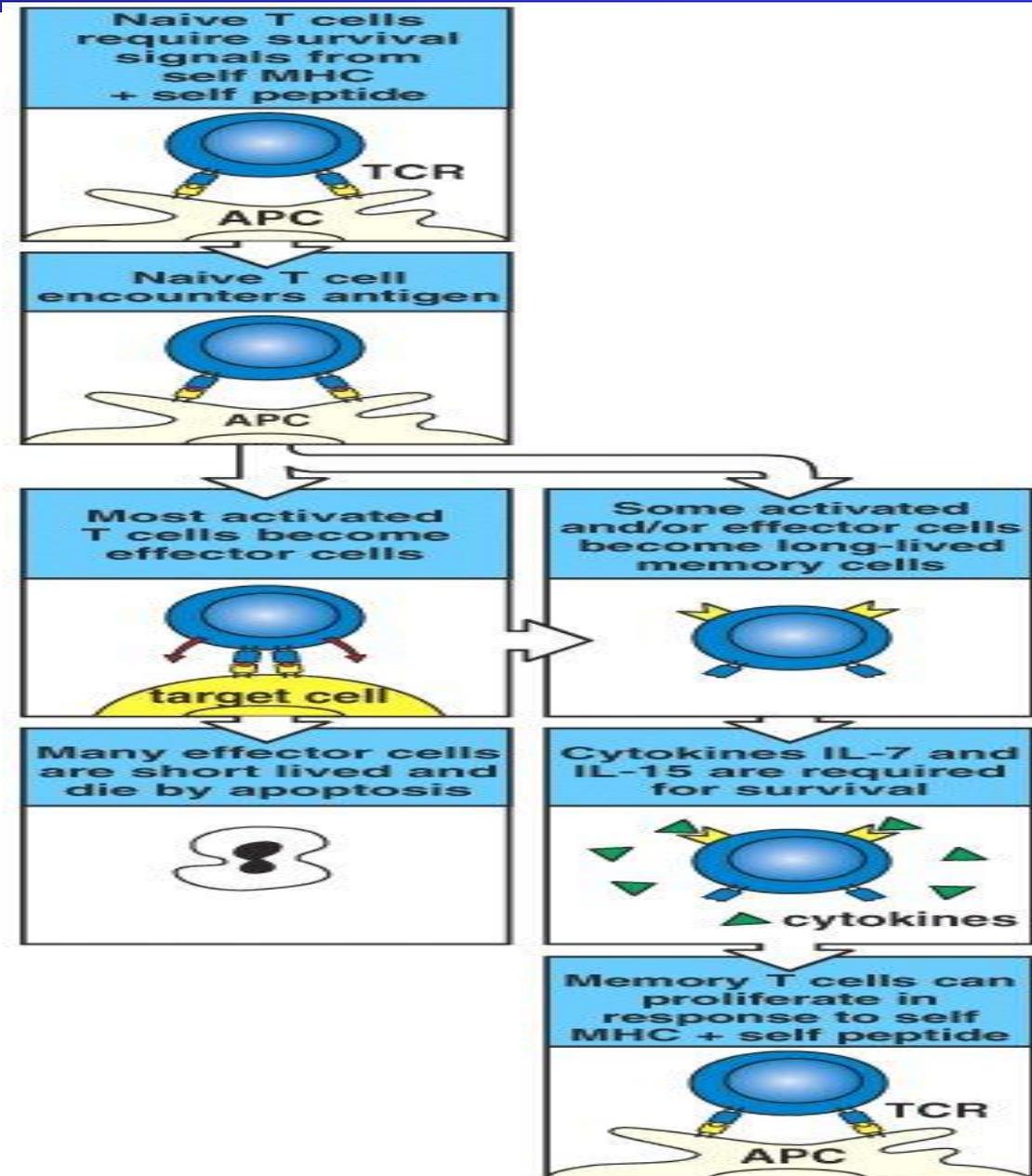


Figure 10-34 Immunobiology, 6

Generación de Células T de Memoria

Activación de células T inocentes

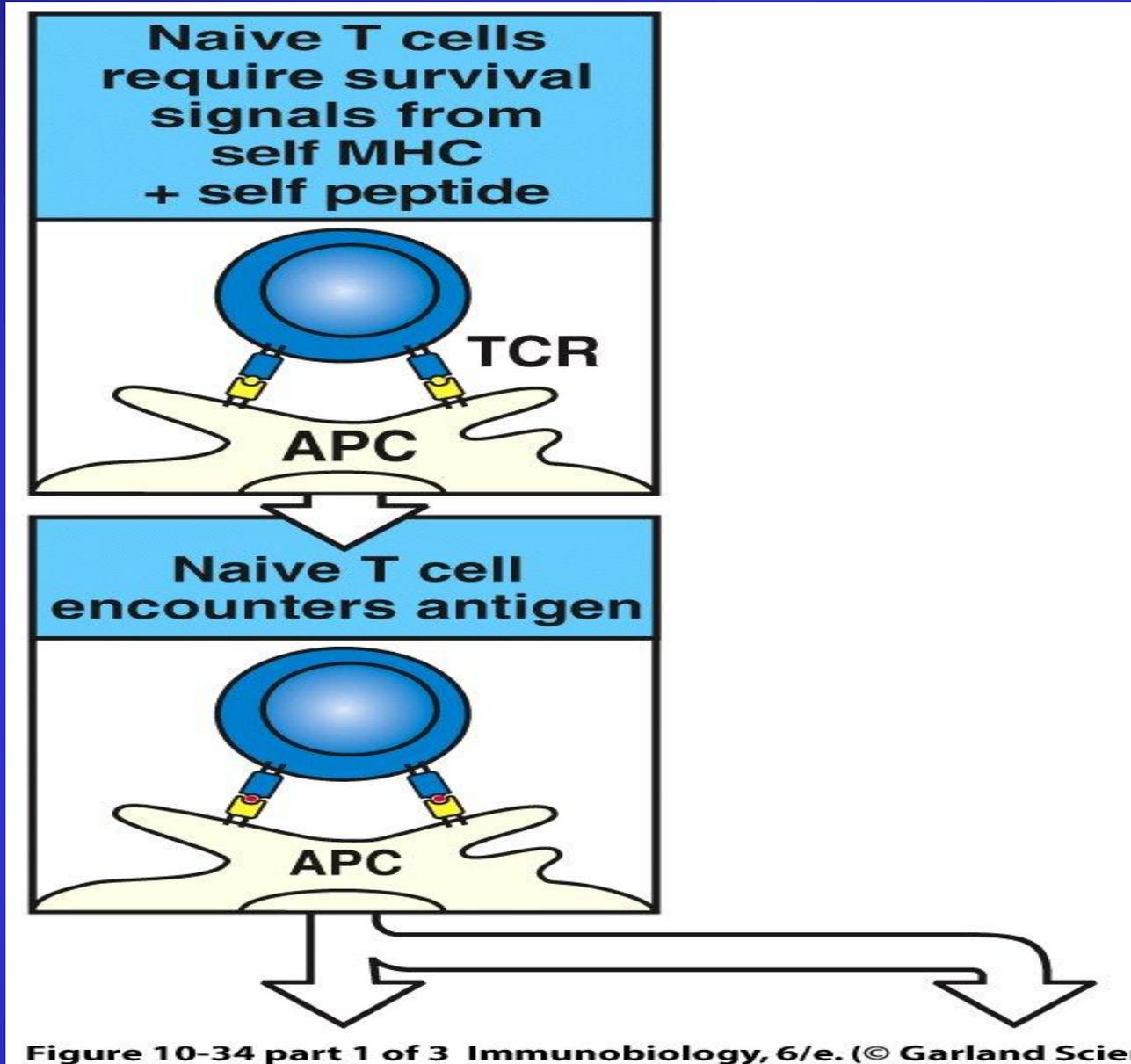


Figure 10-34 part 1 of 3 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science)

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

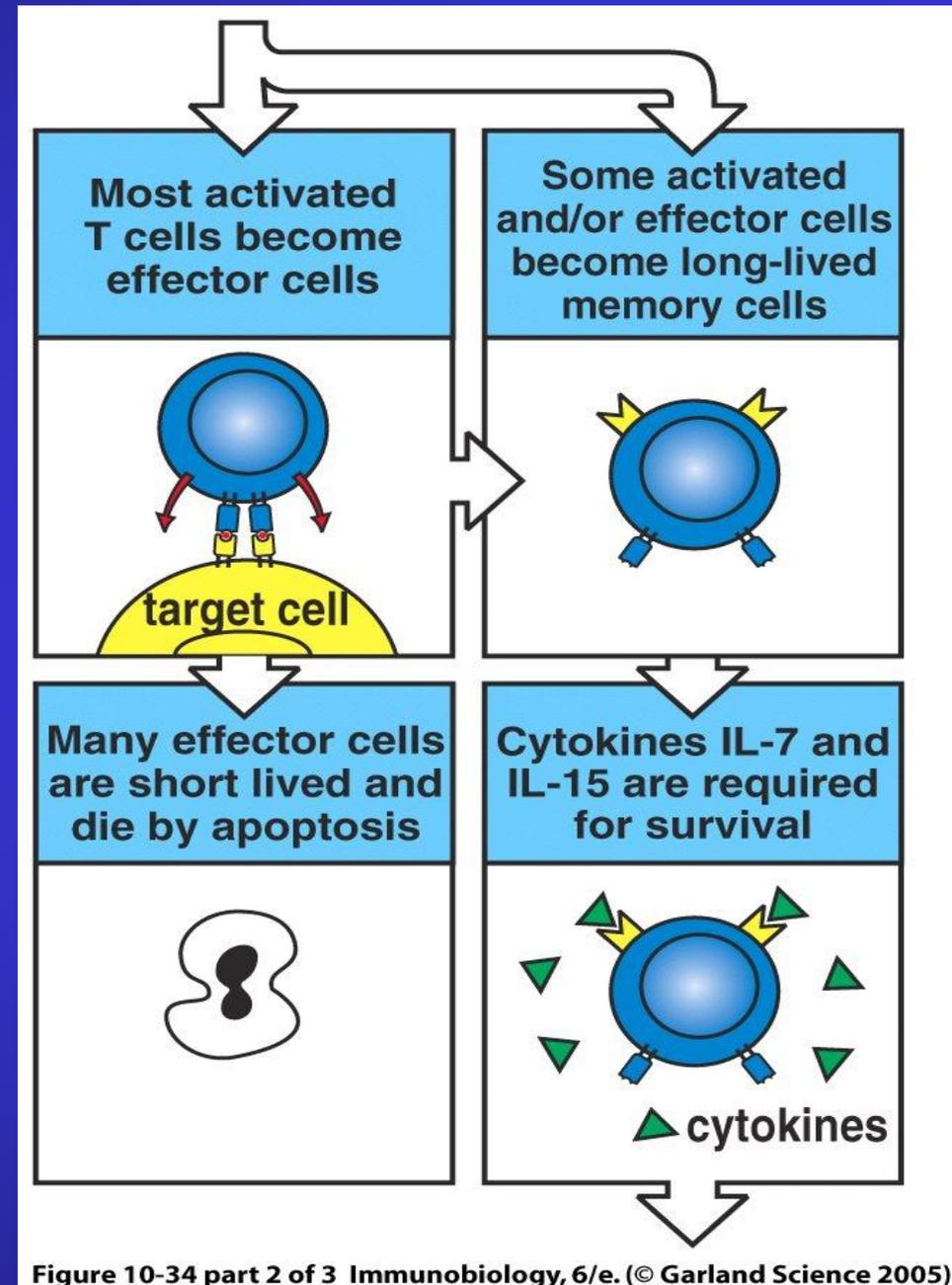


Figure 10-34 part 2 of 3 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Generación de Células T de Memoria

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

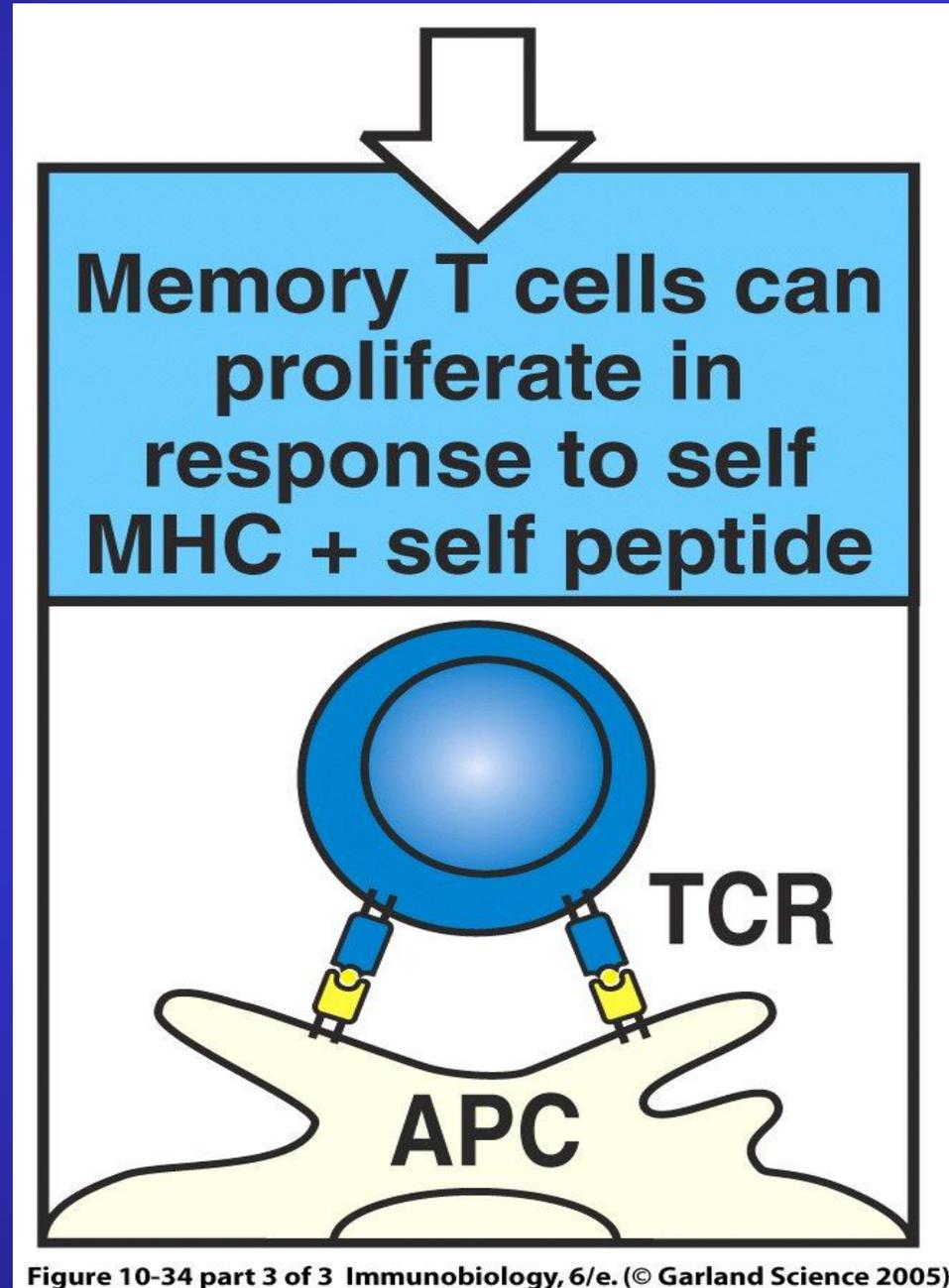


Figure 10-34 part 3 of 3 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

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 expandirse, 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).

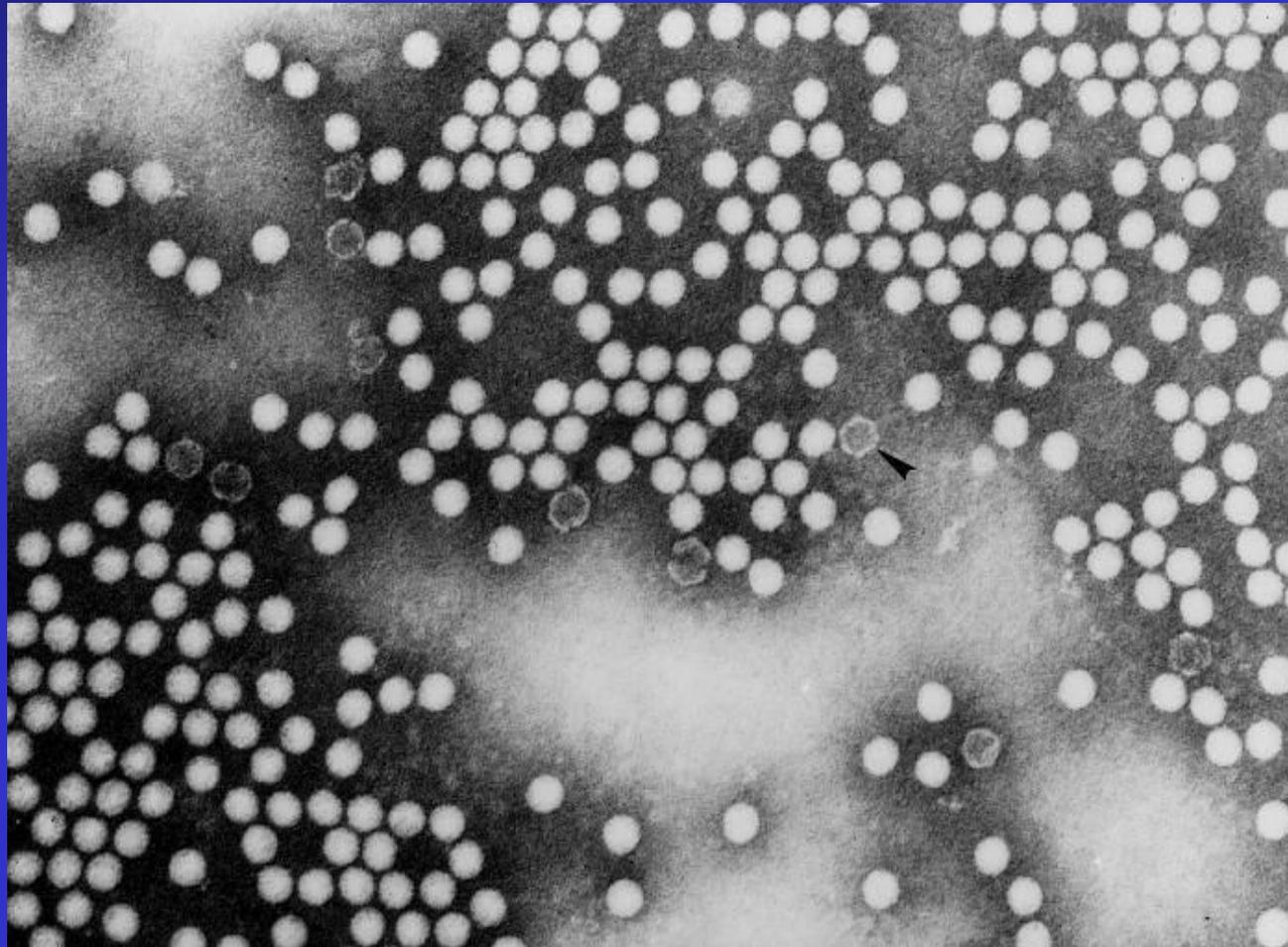
VACUNAS: Gérmenes muertos, ventajas

- 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

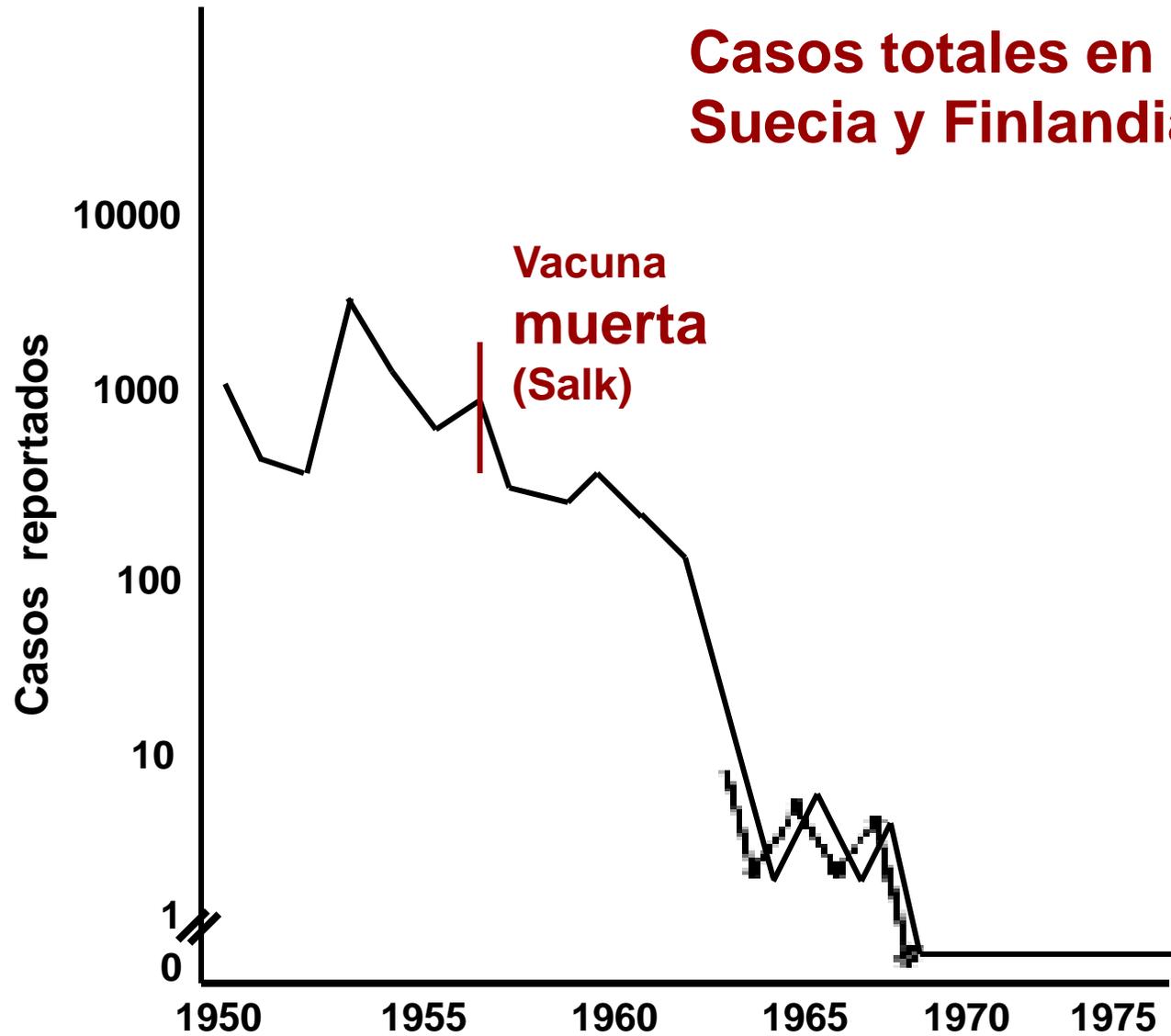
VIRUS DE LA POLIOMIELITIS



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.

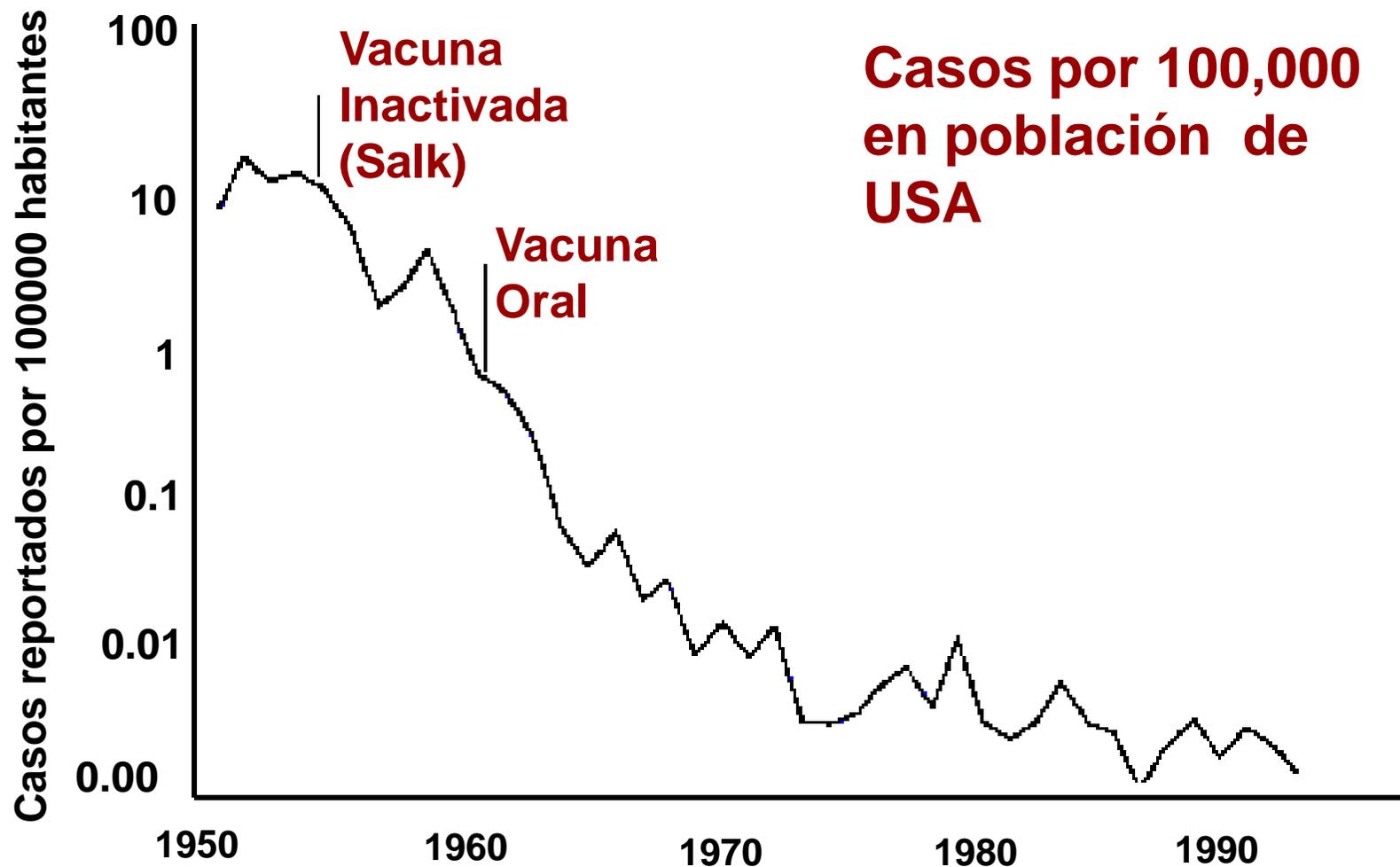
VACUNAS: Gérmenes atenuados

ventajas

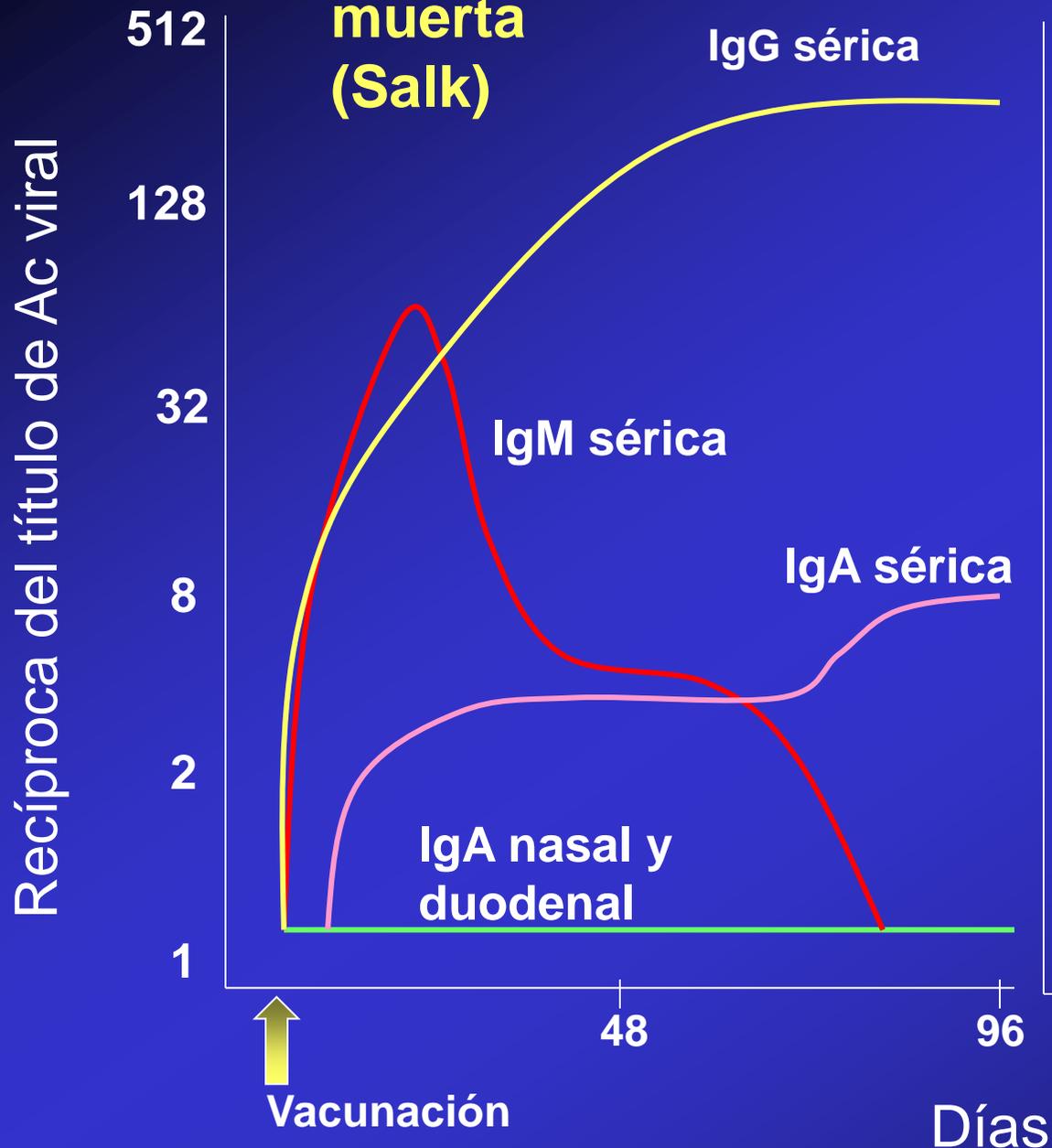
- Activa todas las fases del SI
- Eleva RI a todos los Ags protectores
- Inmunidad más durable; reactividad cruzada
- Bajo costo
- Inmunidad rápida
- Puede causar la eliminación del virus silvestre en la comunidad

VACUNAS: Gérmenes atenuados desventajas

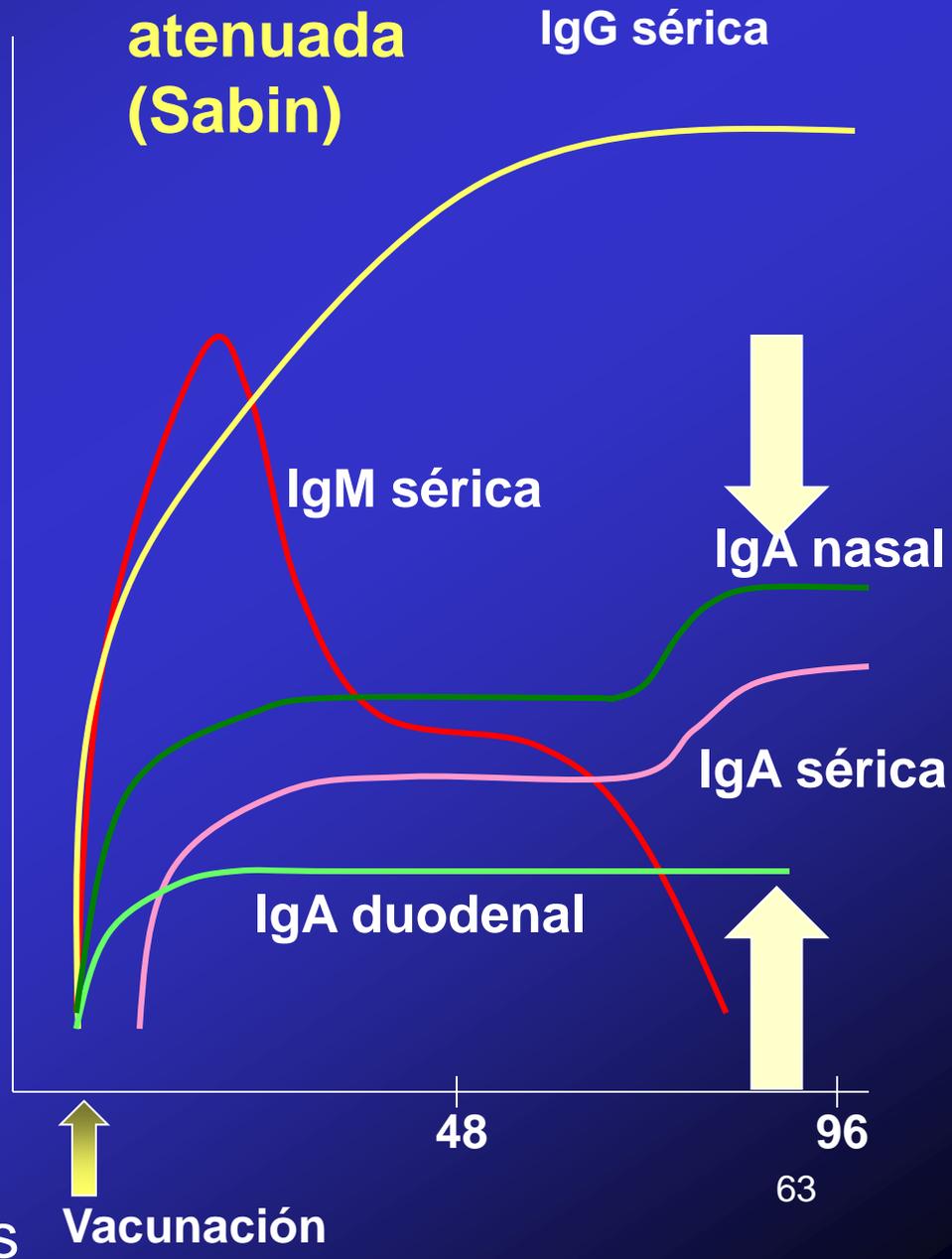
- Mutación: reversión a virulencia
- Se extiende a contactos de vacunados que no quieren ser vacunados
- La vacuna que se difunde puede mutar
- Problemas en pacientes inmunodeficientes



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

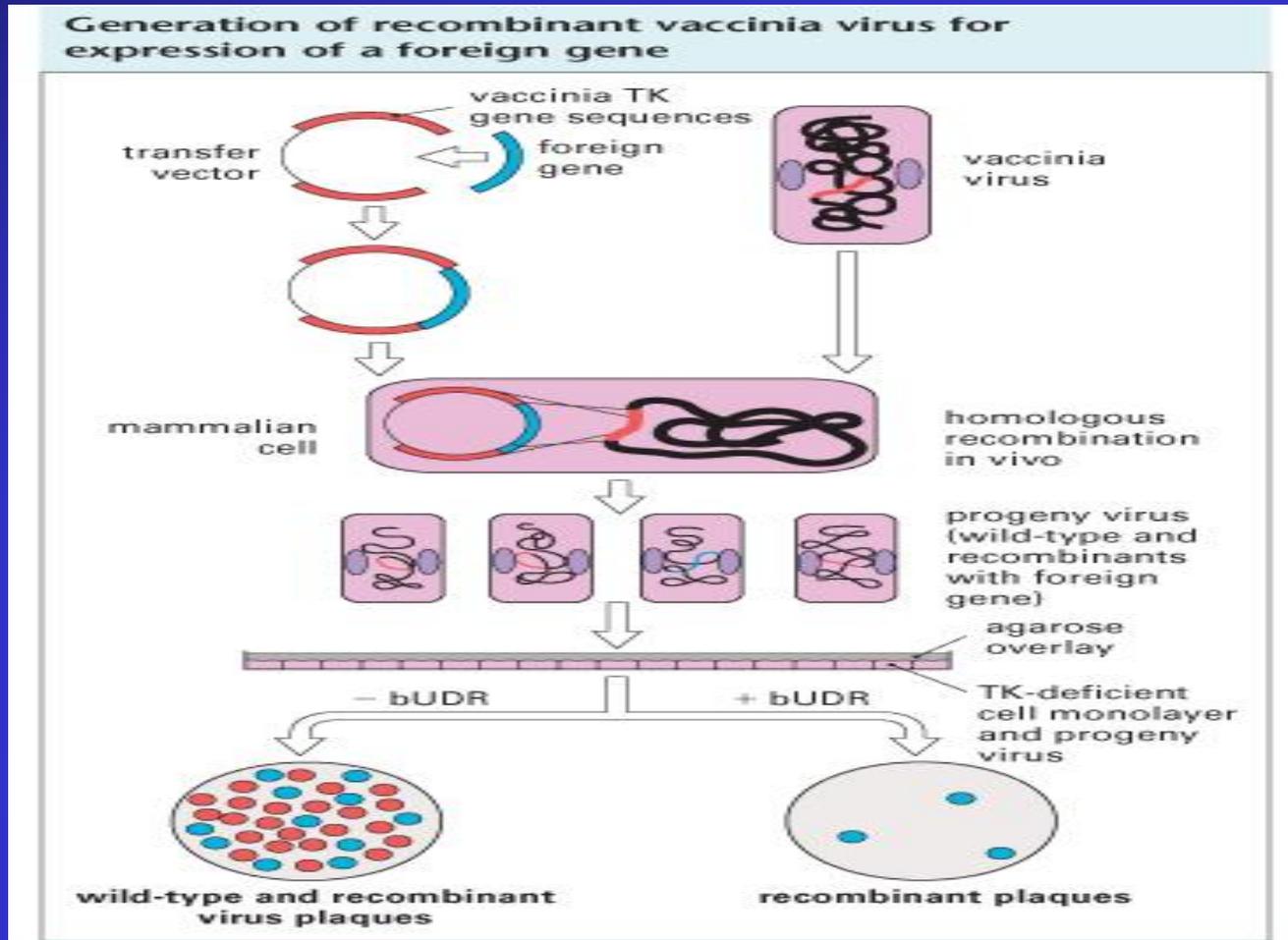
- La vacuna meningocócica contiene polisacáridos de cuatro serotipos
- La vacuna antineumocócica contiene polisacáridos de 23 tipos

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

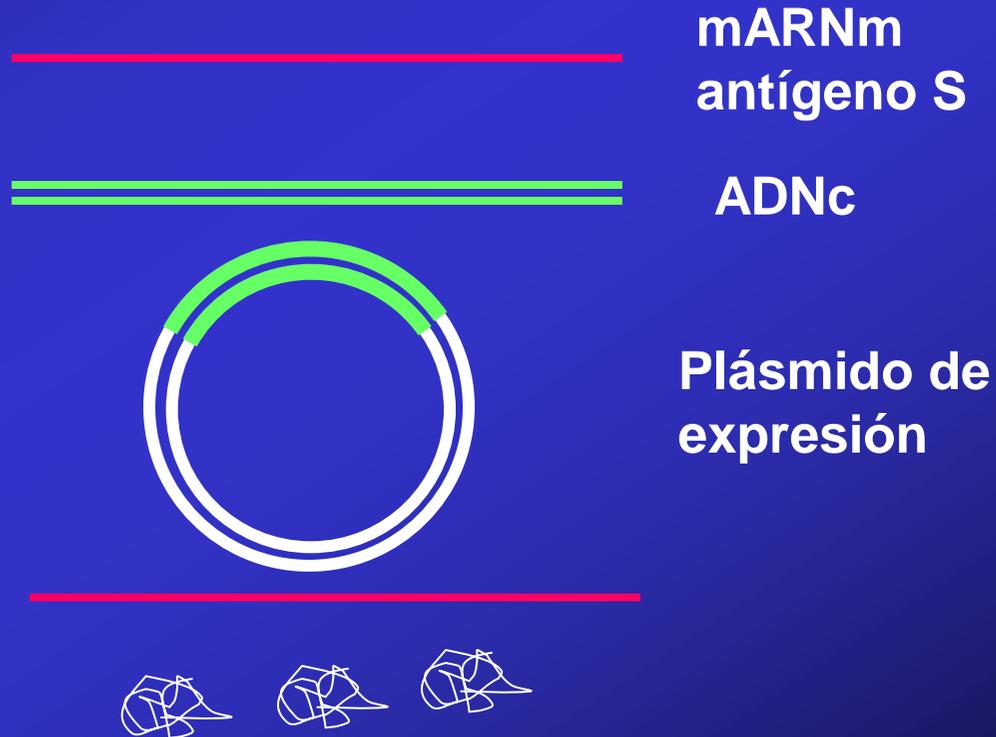
- Monos inmunizados con el virus de la influenza, cepa Ankara, que expresa el antígeno tumoral *lacZ*, se retaron con un número letal de células tumorales. Los animales no presentaron metástasis tumoral.

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

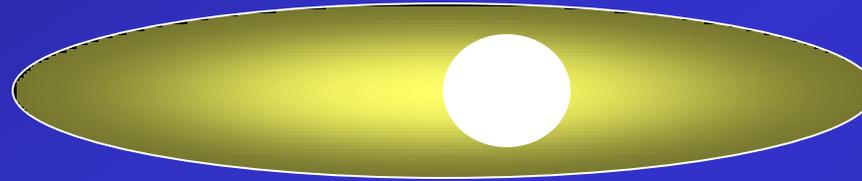
- Se inyectan directamente en el músculo por medio de una “pistola genética” que usa gas presurizado.
- Inducen inmunidad celular y humoral duradera en animales de experimentación.

Vacunas de ADN

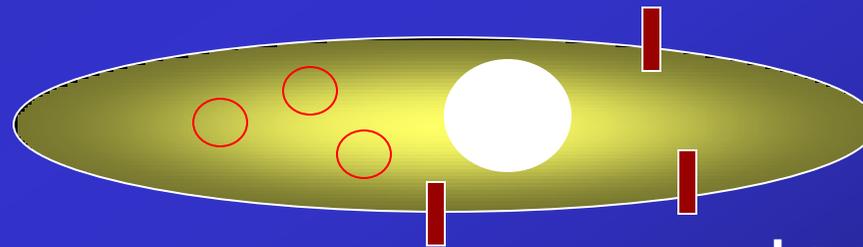
Gen del
antigen



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

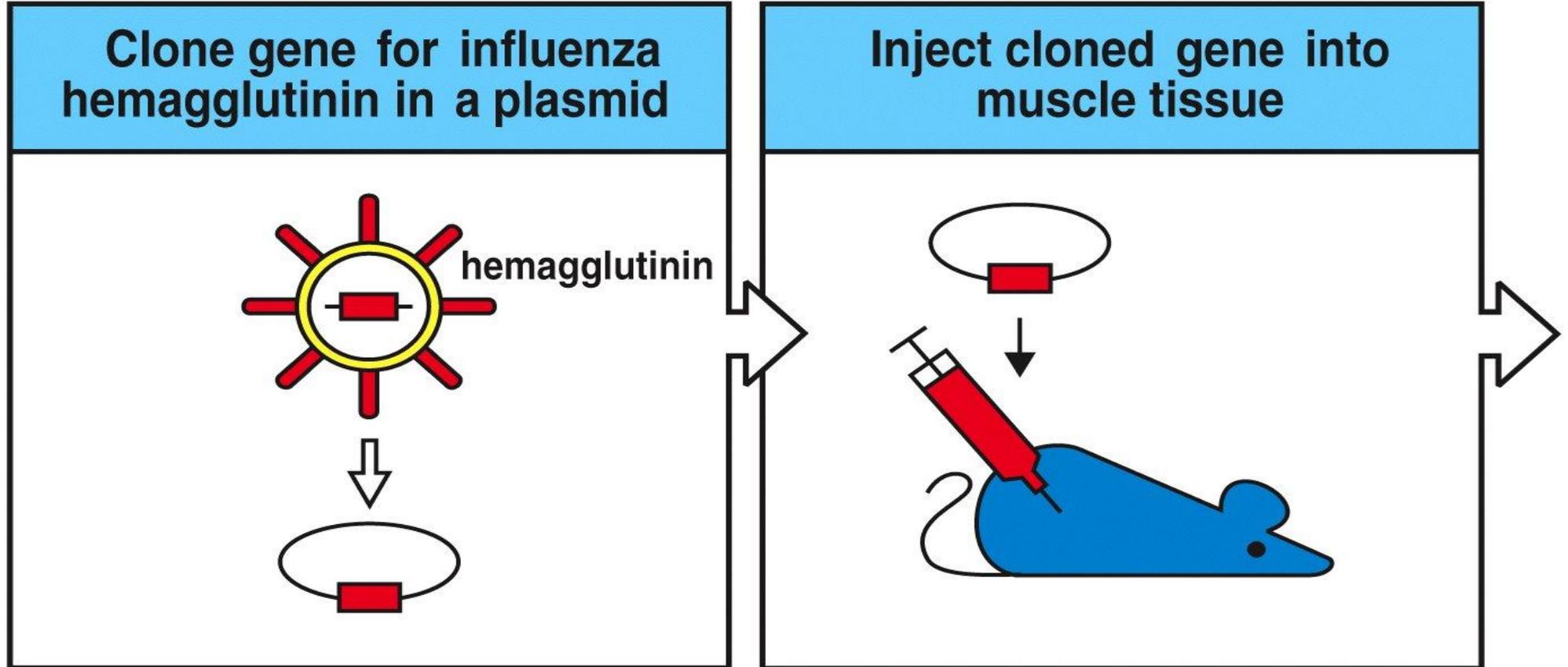


Figure 14-28 part 1 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

VACUNAS CON ADN

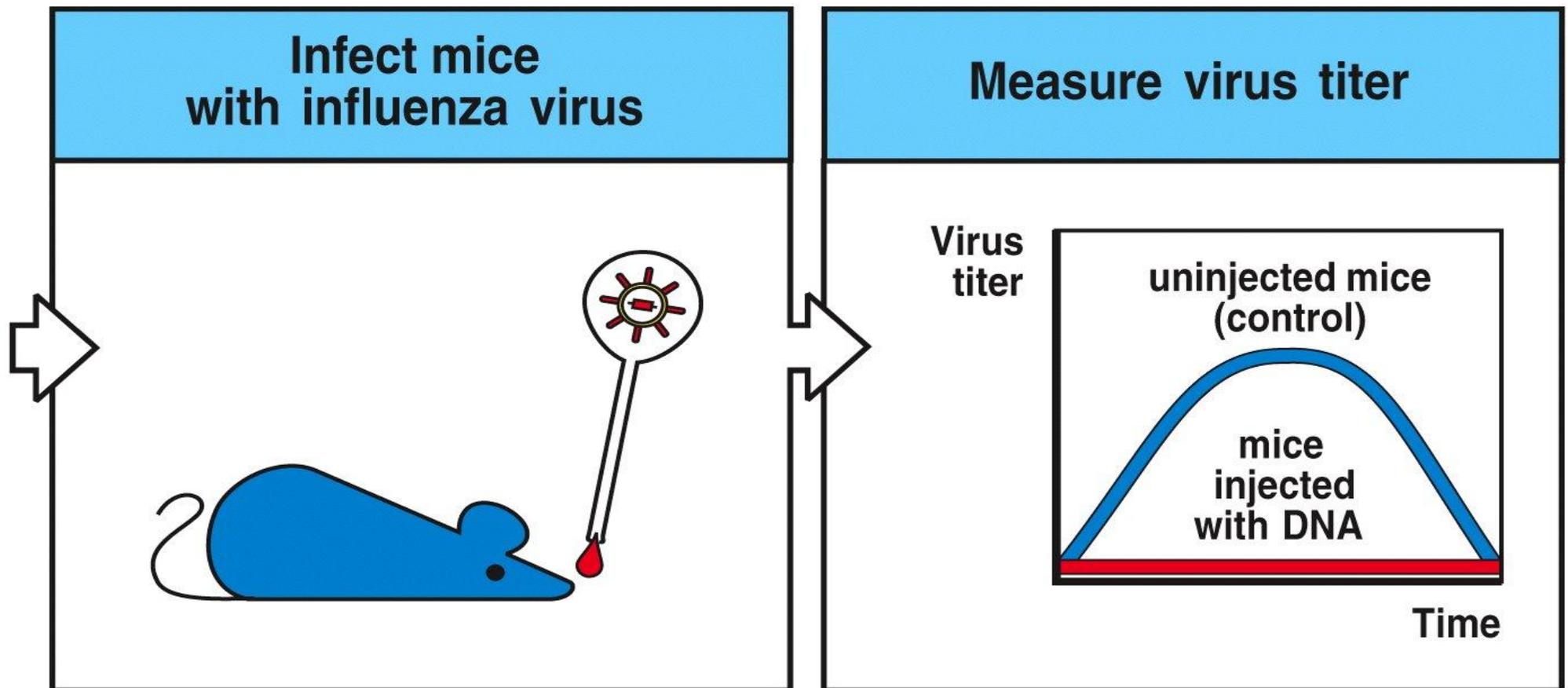


Figure 14-28 part 2 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

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.

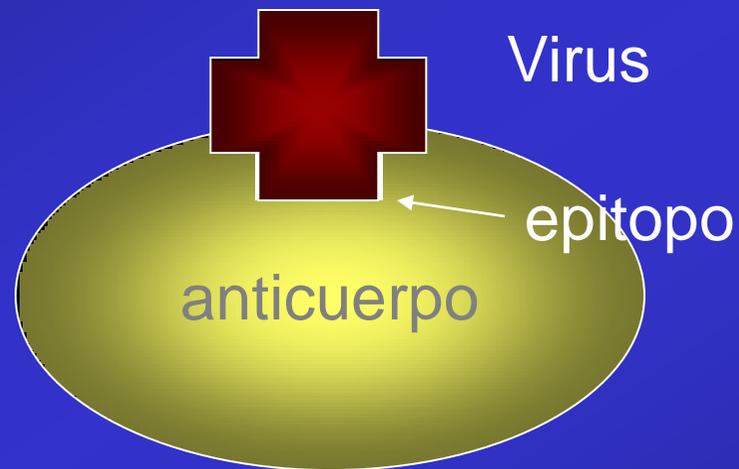
VACUNAS DE ADN

- 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



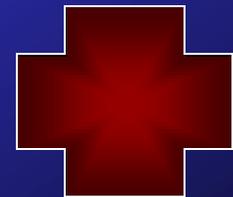
**Anticuerpo
con epitopo
en sitio de
enlace**

Vacuna Anti-idiotipo cont.



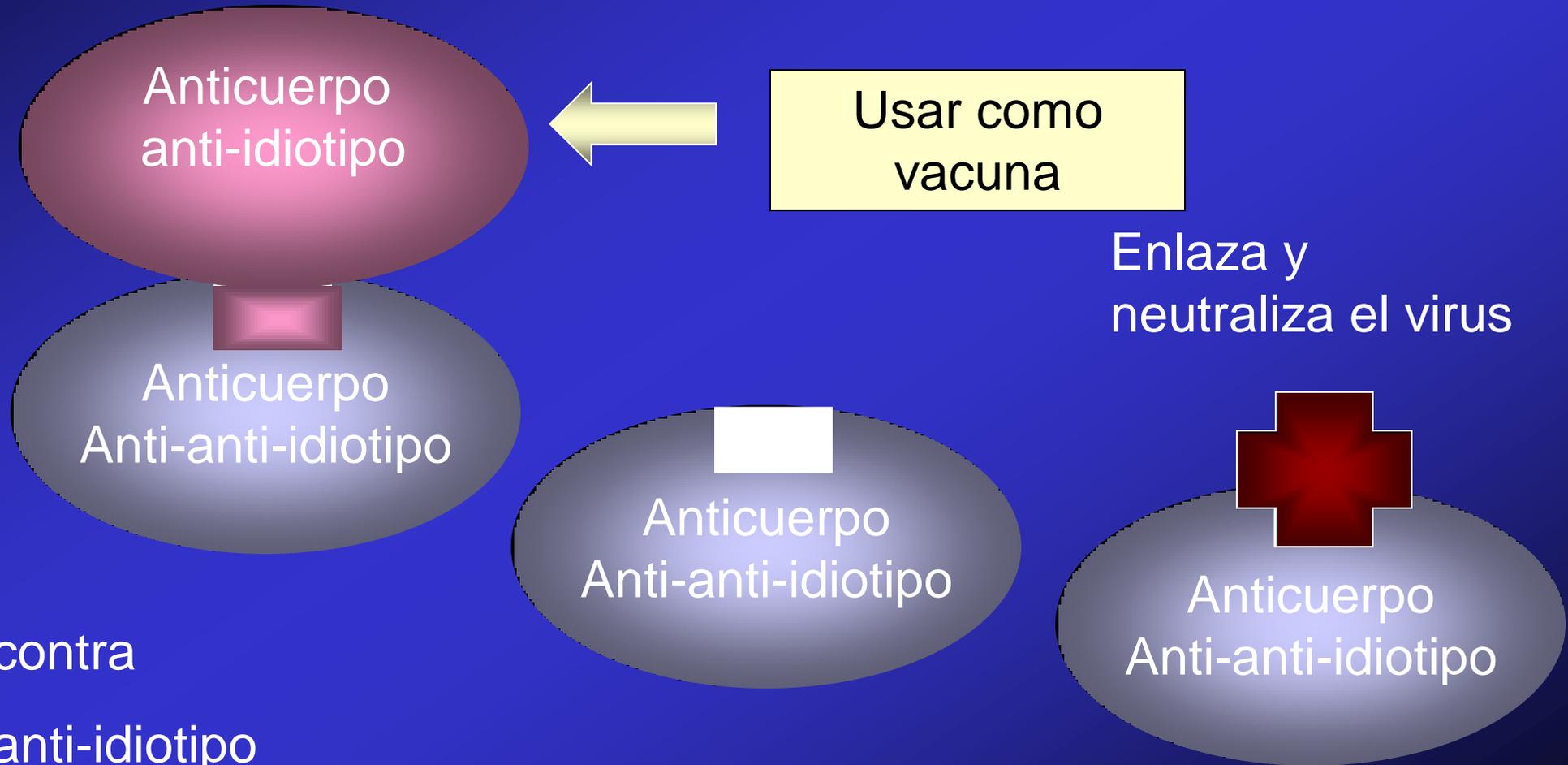
**Hacer Ac contra el
Id del Ac**

**Anticuerpo anti-
idiotipo mimetiza al
epitopo**



Anticuerpo anti-idiotipo cont.

Usar Ac anti-idiotipo como vacuna
inyectable



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

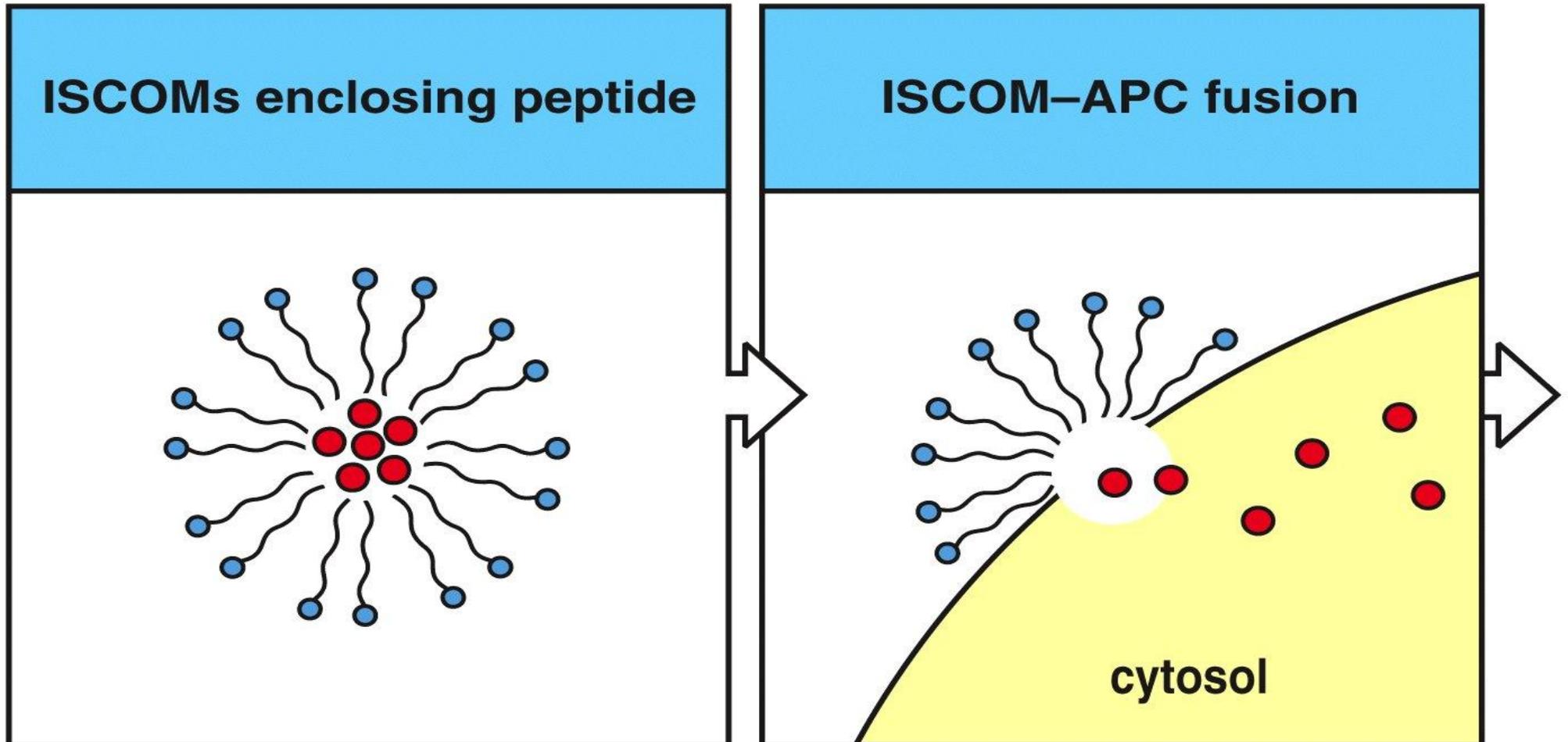
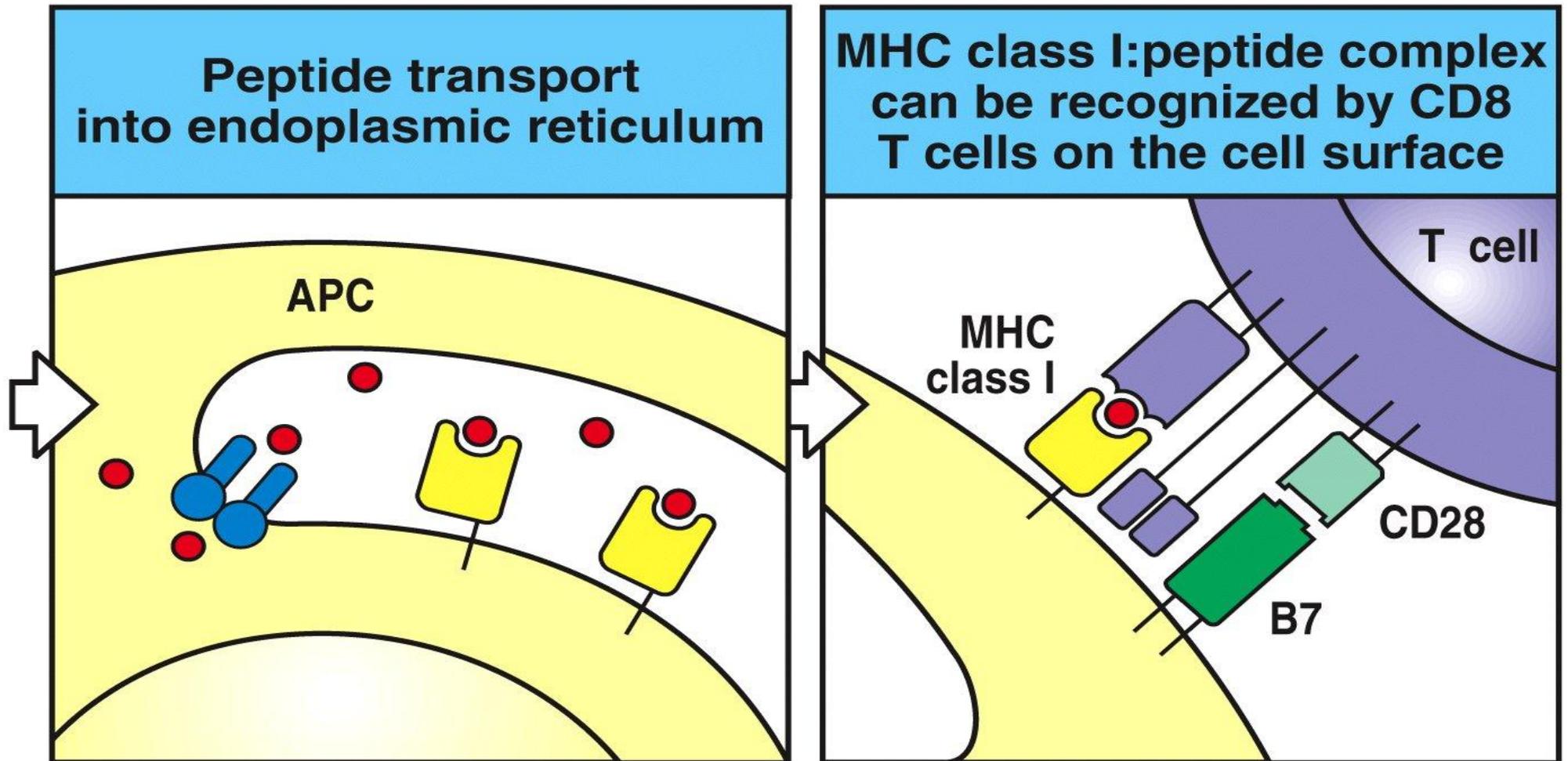


Figure 14-27 part 1 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

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 γ

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- γ 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 γ) 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- κ B, un inductor de citocinas inflamatorias, como TNF- α .

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 (paracrinias).
- 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 : 6×10^{10} AFC en MALT versus 2.5×10^{10} linfocitos en órganos linfoides.

INMUNOLOGÍA DE LAS MUCOSAS

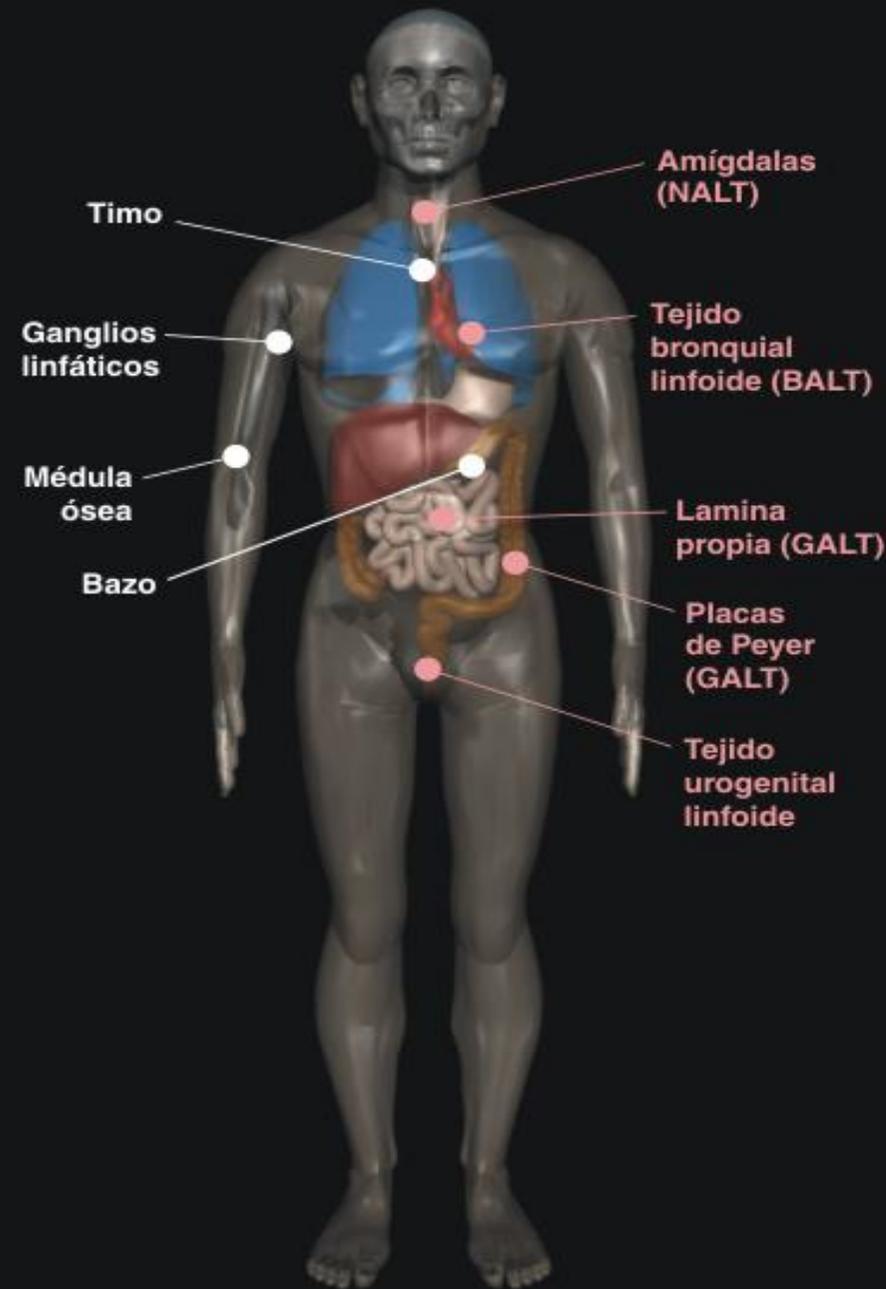
- Inmunización de la mucosa:
 - inmunidad de la mucosa
 - inmunidad sistémica
 - previene infecciones
- Inmunización sistémica:
 - no proporciona inmunidad de las mucosas
 - resuelve infección antes que la enfermedad desarrolle

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⁺ 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

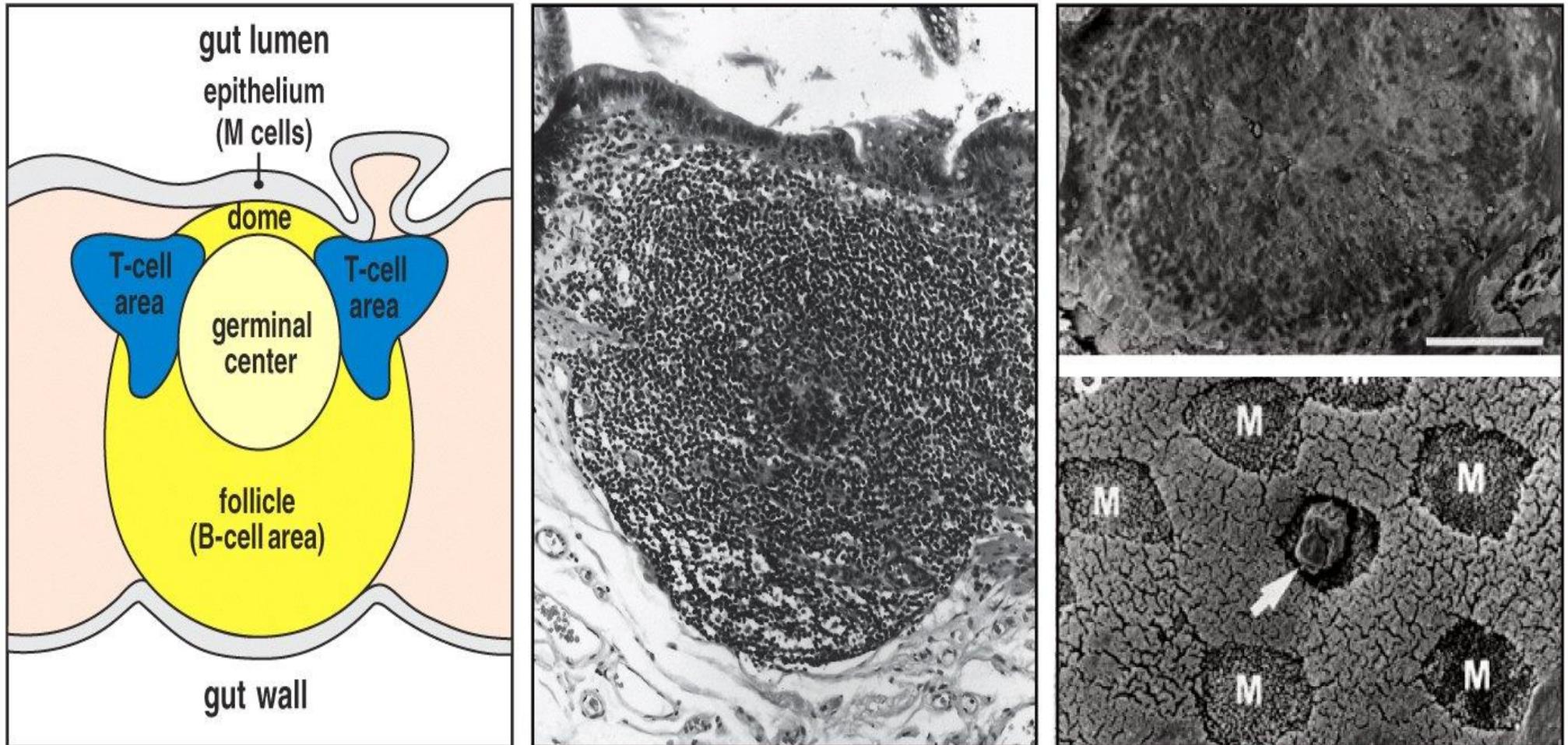
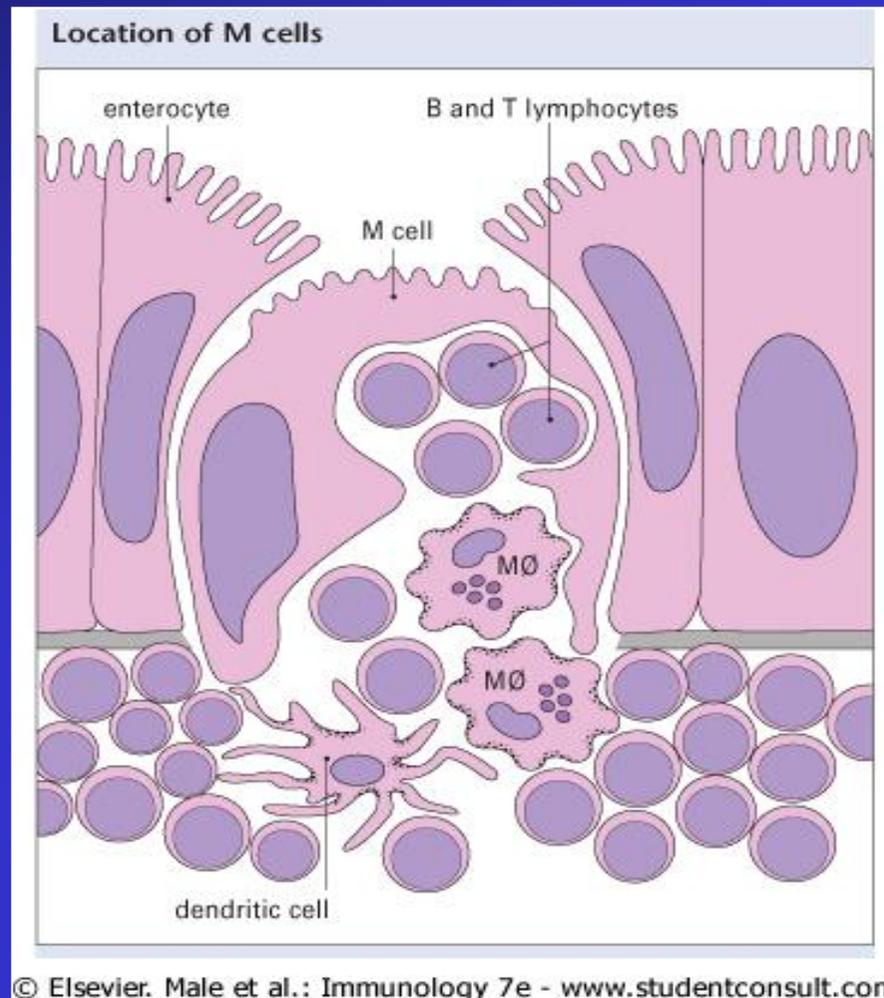
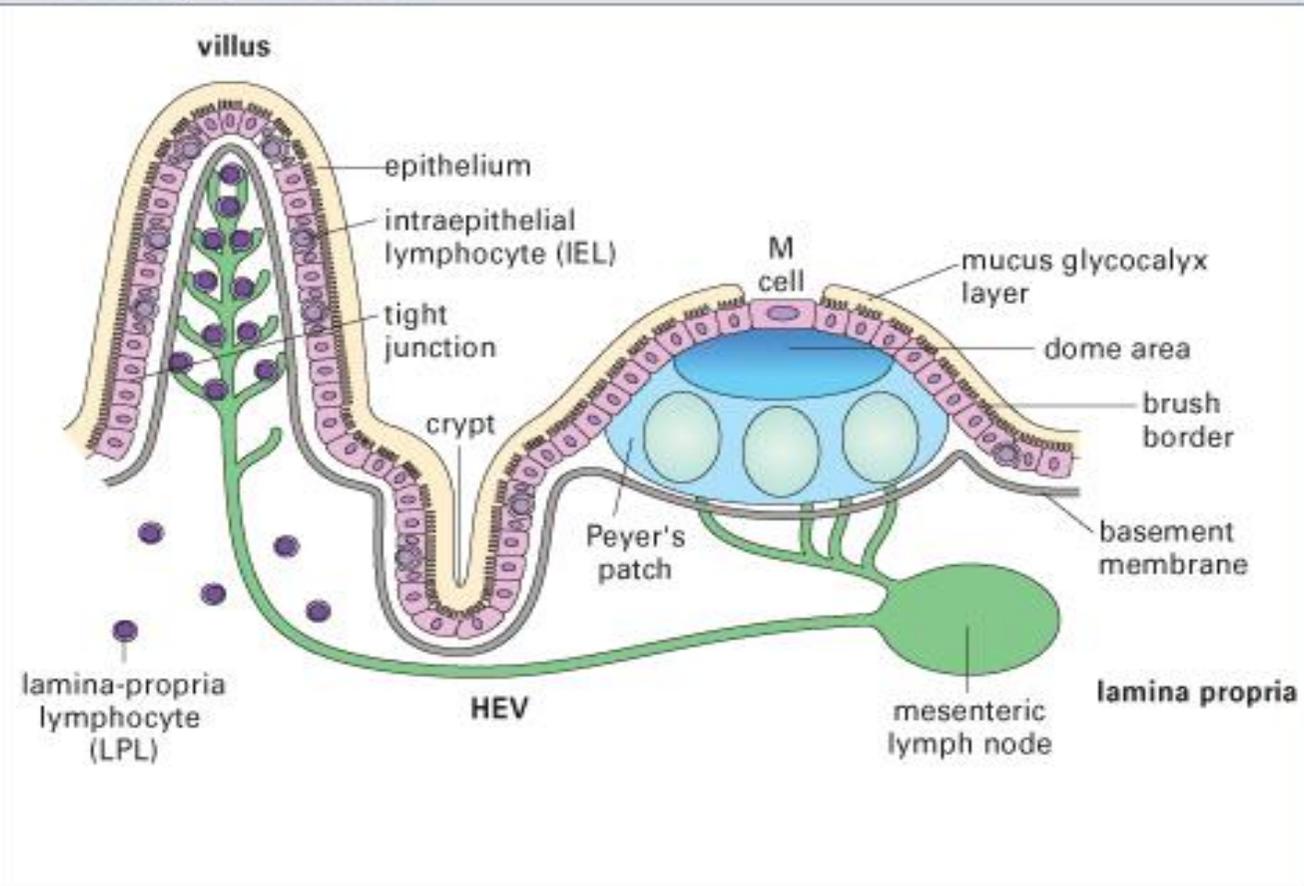


Figure 1-10 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)



Mucosal lymphoid tissue



© Elsevier. Male et al.: Immunology 7e - www.studentconsult.com

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* (toxoide, 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.

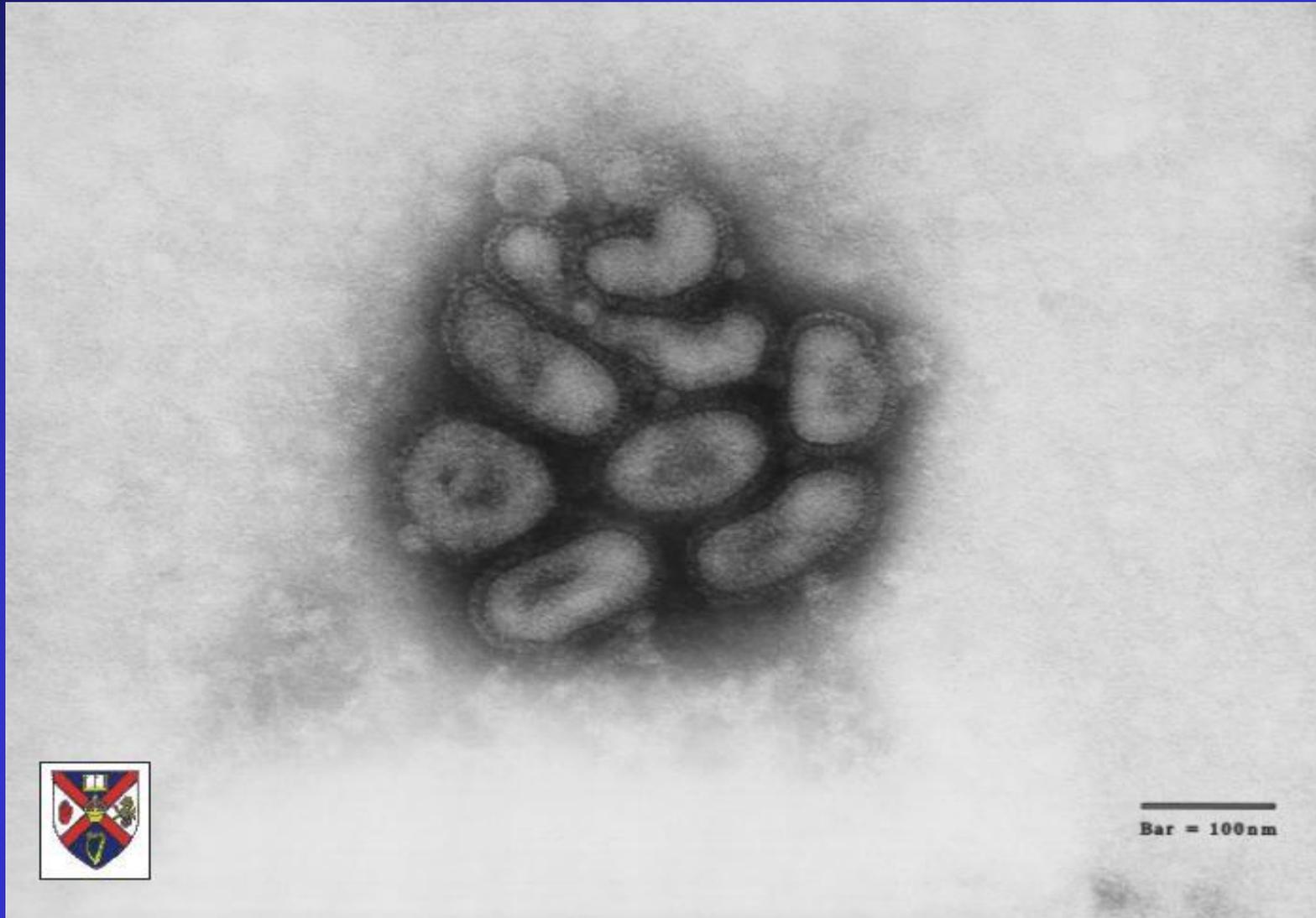
VACUNA CUADRUPLE: parotiditis, sarampión, rubéola, varicela-Zoster

- 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-)

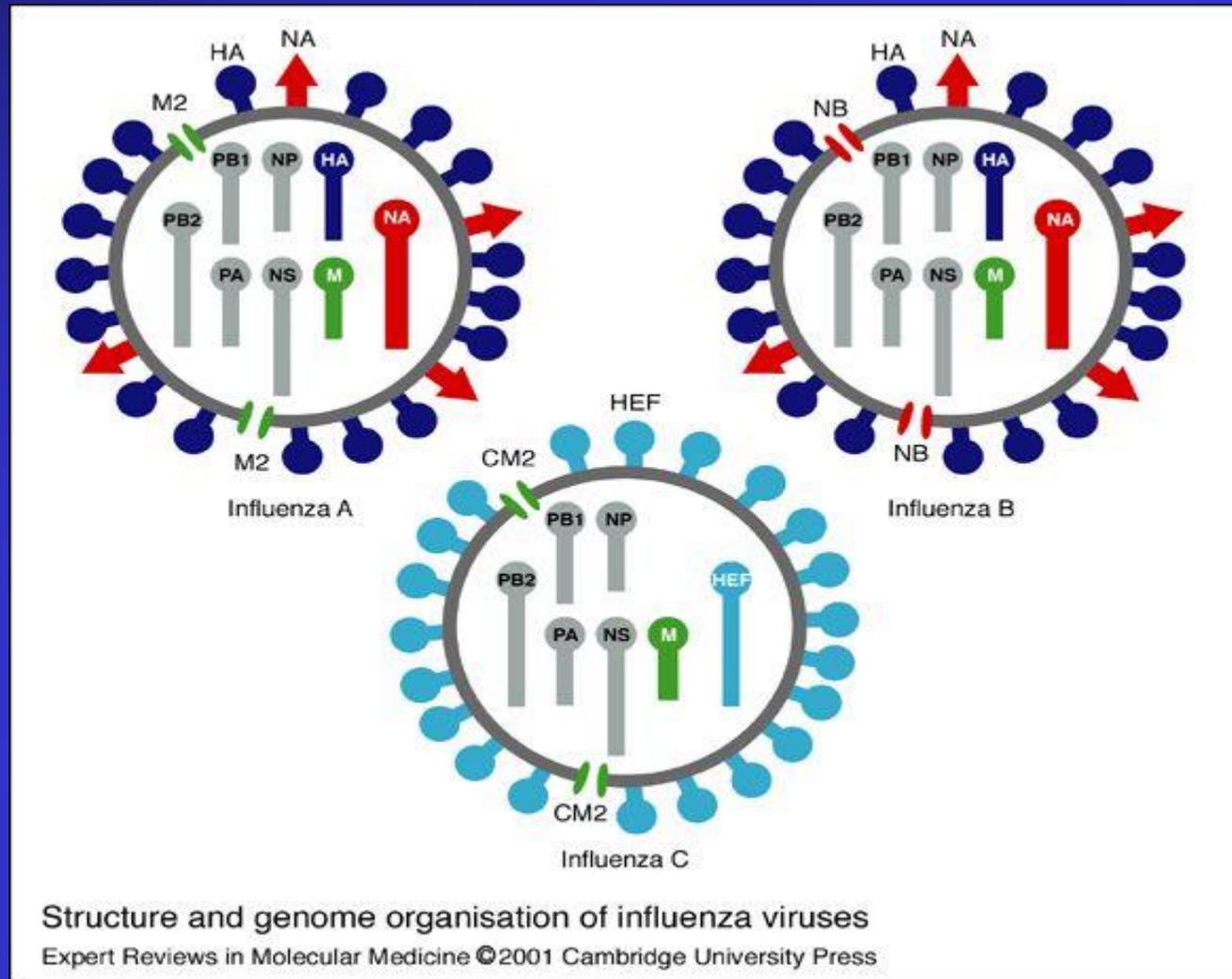
VIRUS DE LA INFLUENZA



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

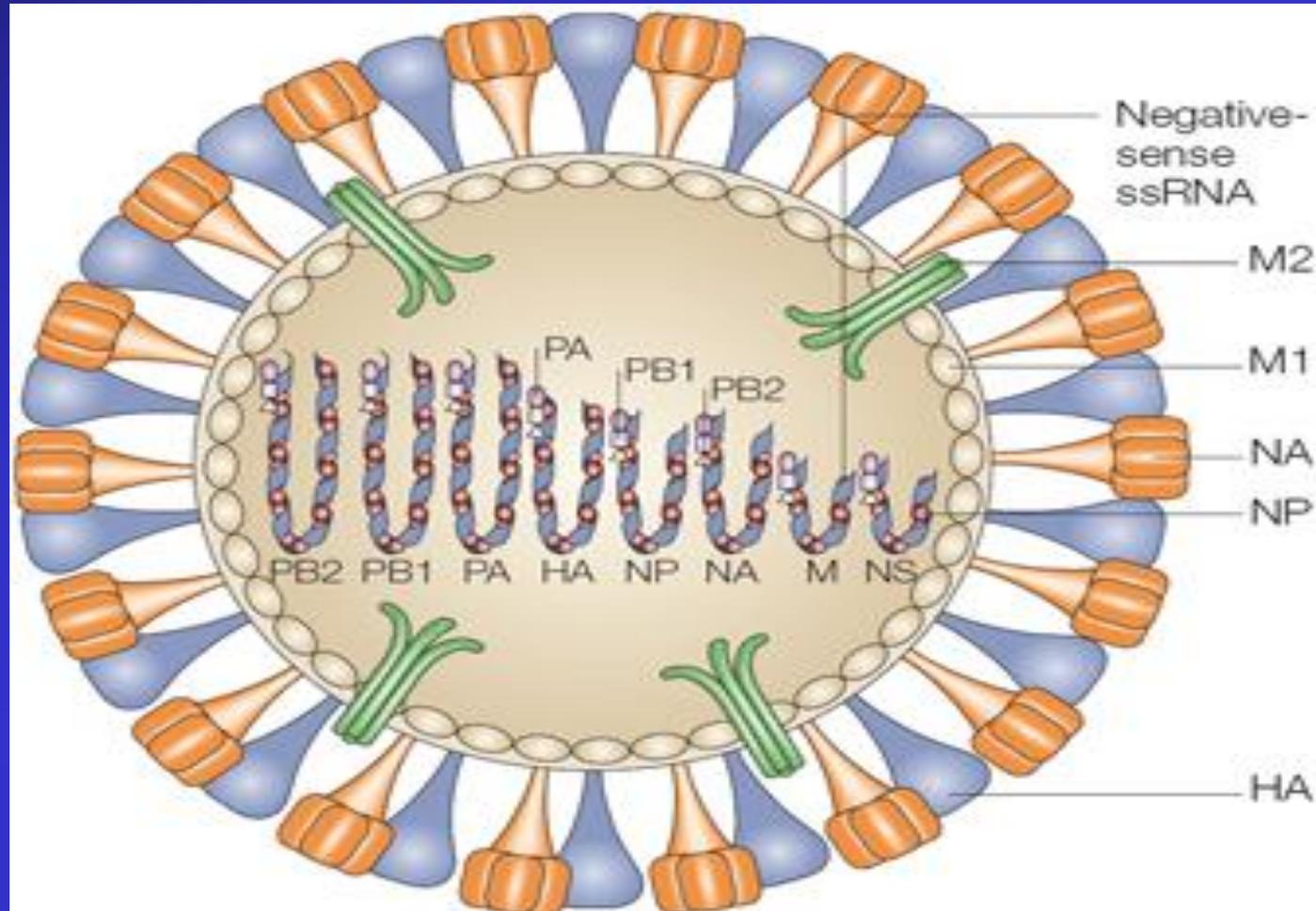
VIRUS DE INFLUENZA: ESTRUCTURA Y ORGANIZACIÓN DEL GENOMA



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

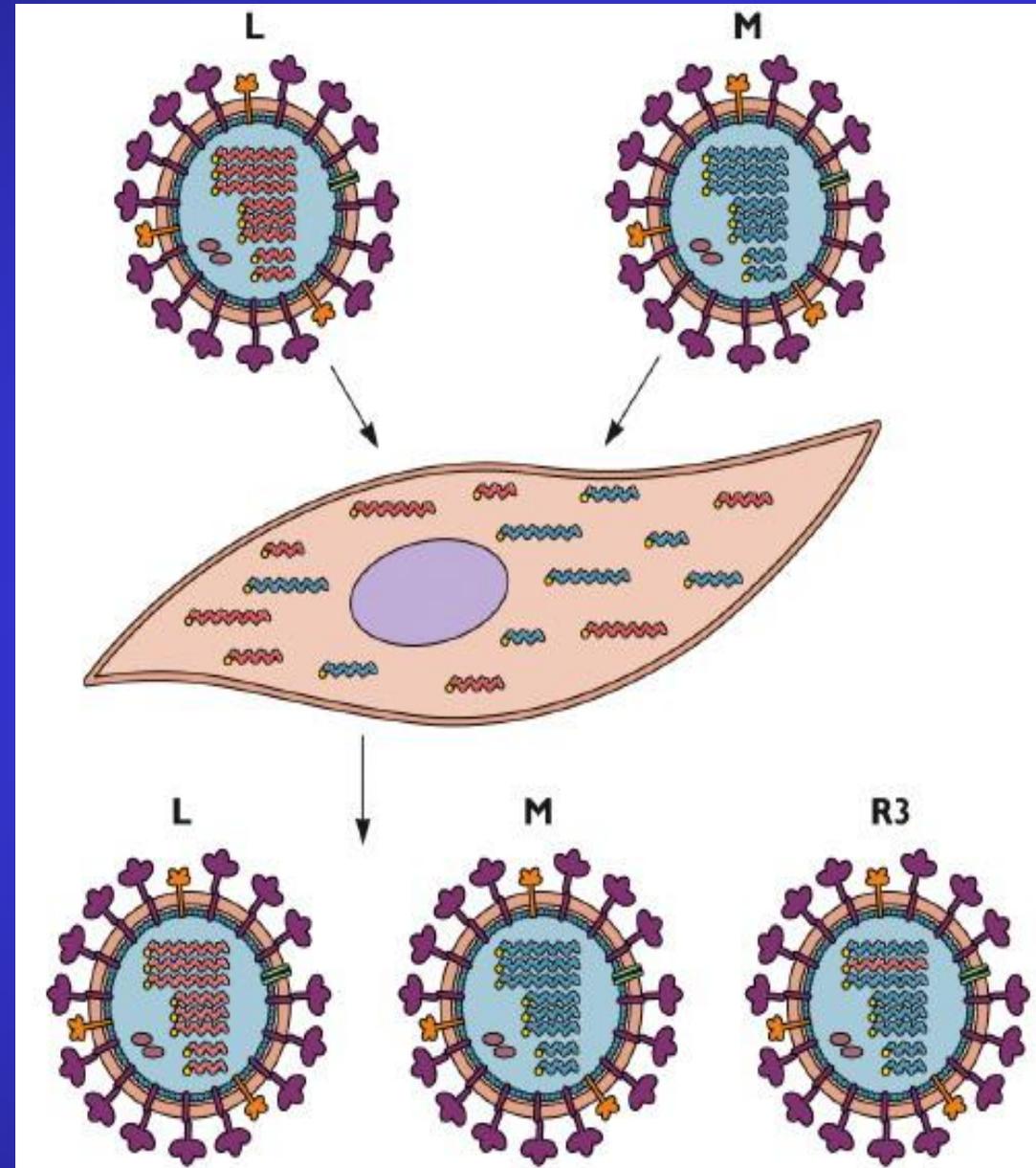
- Transporta al virus a través de las mucinas y destruye los receptores de la HA sobre la célula huésped infectada, permitiendo la elución de la progenie viral.
- Previene la agregación viral, protegiendo al virus de su propia HA.
- Estimula la producción de Ac inhibidores de la NA.

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

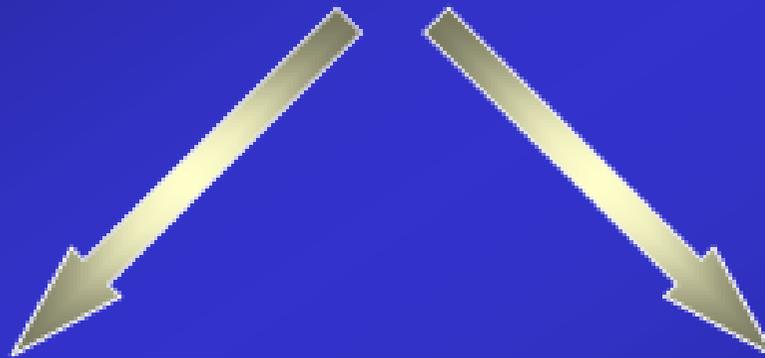
- Porque necesitamos una vacuna
- Donde se necesita más
- Que tipo de RI correlaciona con protección a la infección
- Como se puede inducir tal respuesta con una vacuna
- Que vacunas se han tratado y cuales son sus expectativas

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 SUCECOS MAS IMPORTANTES DE LA BIOLOGIA