



# Análisis de la Respuesta Inmunitaria a las vacunas

José Ignacio Santos

Profesor de Medicina Experimental

Facultad de Medicina

Universidad Nacional Autónoma de México

Lunes 1ero de Diciembre, 2014

# Conflicto de Interés

En lo referente a esta presentación, no tengo conflictos de interés que declarar.

# OBJETIVOS DE LA PRESENTACIÓN

Características del sistema inmune

Inmunidad innata e inmunidad adaptativa

Bases inmunológicas de las vacunas

Respuesta innata y respuesta adaptativa

Principios de vacunación

Como medimos protección

Análisis de la respuesta inmunitaria a las vacunas

# Memoria inmunologica

El primer brote documentado de manera confiable de una epidemia con síntomas comparables con los de la peste bubónica se registra en Atenas en el año 430 a.C. En esa época se libró la guerra del Peloponeso entre Esparta y Atenas, la cual fue documentada por el historiador Tucídides que además de describir los síntomas, relata como durante la epidemia de peste, **el cuidado de los enfermos se encomendó a ciudadanos que se habían recuperado de la enfermedad ya que no volvían a padecerla.**

# Características del sistema inmune

**Inmunidad innata:** Primera línea de defensa inespecífica contra infecciones. Incluye mecanismos de defensa celulares y bioquímicos, preexistentes a la infección, capaces de responder rápidamente a ella.

Barreras físicas y químicas

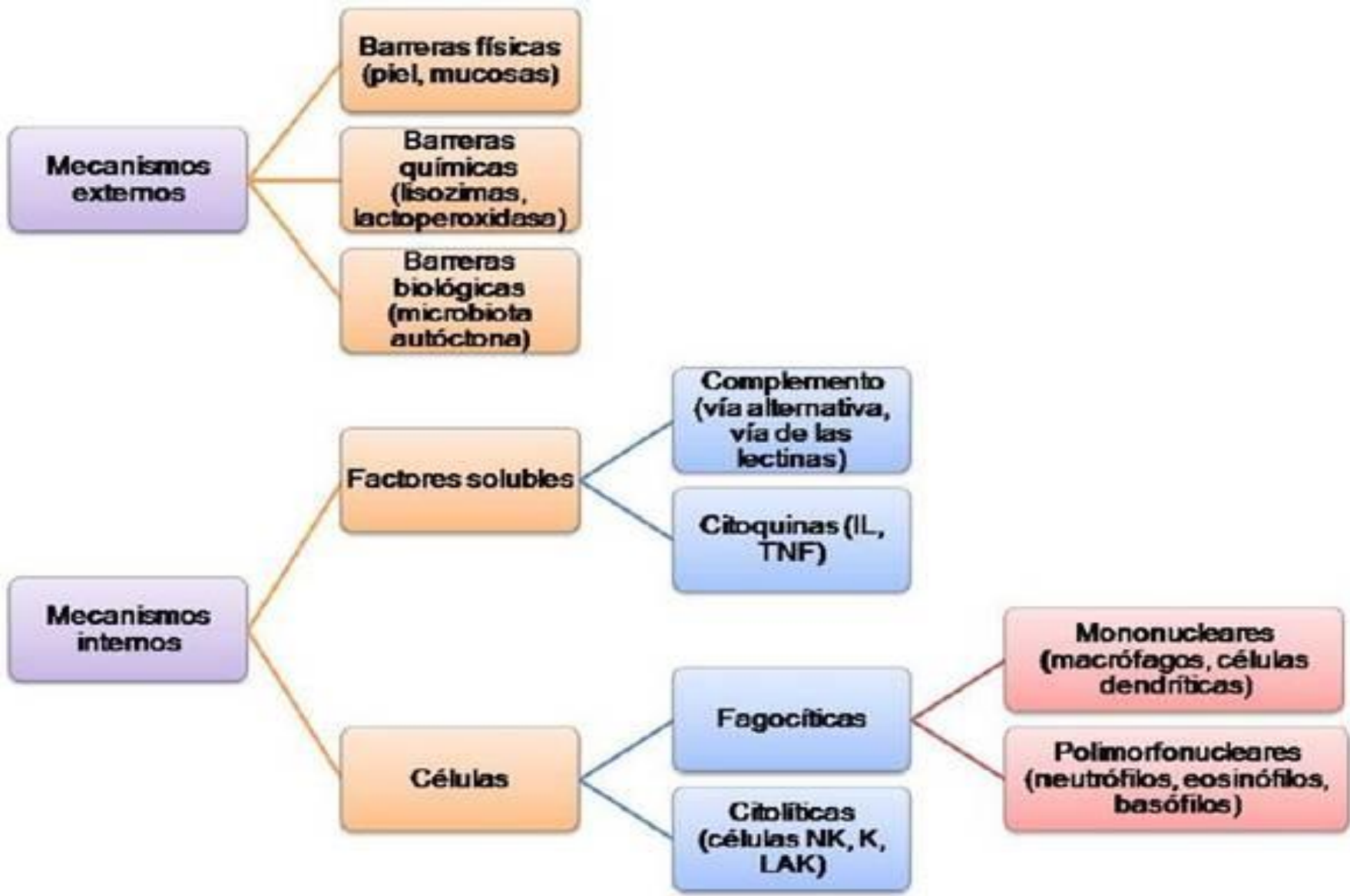
Células fagocíticas y células NK

Proteínas plasmáticas (complemento y mediadores inflamatorios) Citocinas

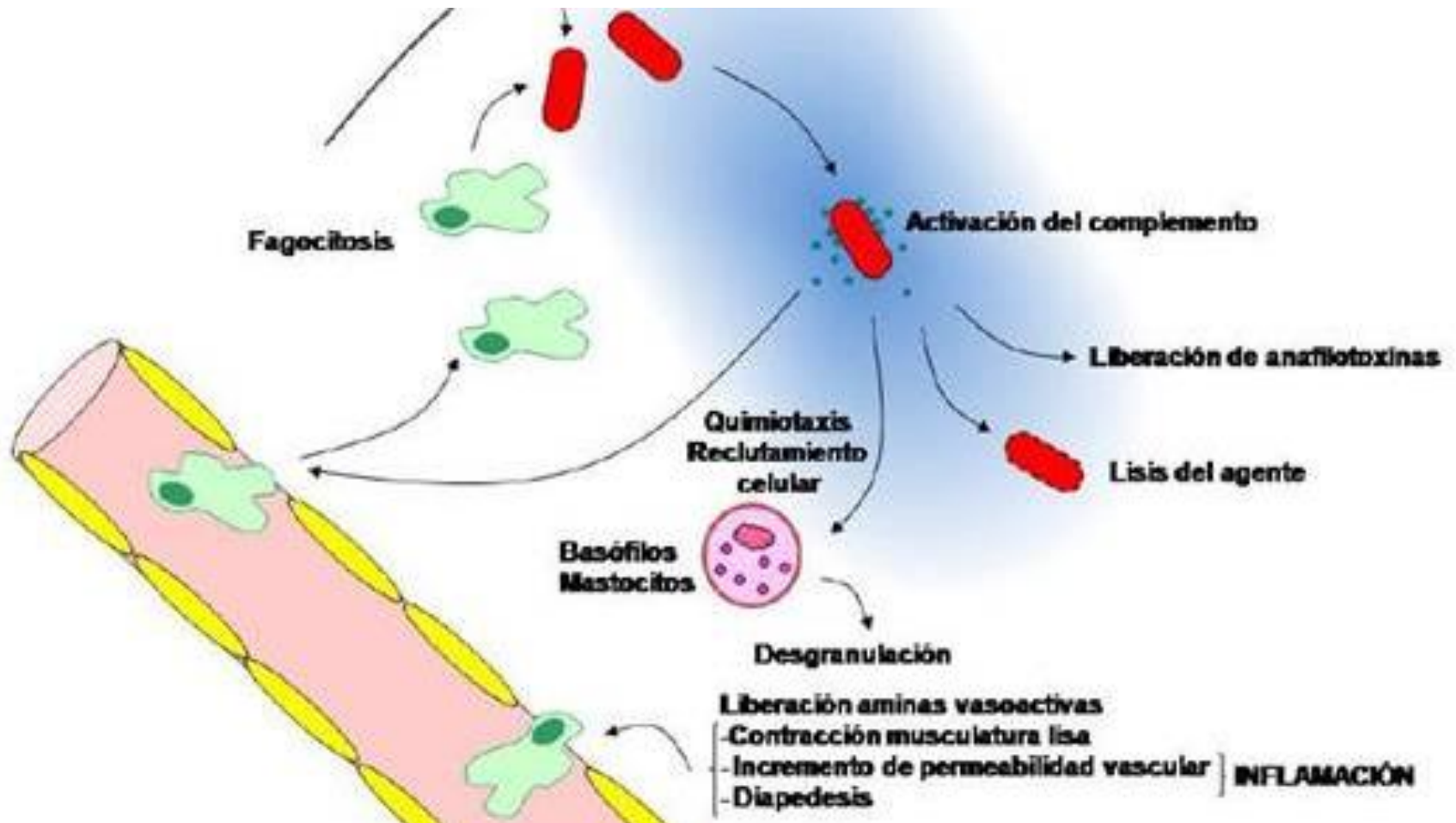
**No se incrementa con inmunización**

**Es fundamental para el establecimiento de la inmunidad adaptativa**

# Componentes del sistema de inmunidad innata



# Respuesta de la inmunidad innata



# Características del sistema inmune

**Inmunidad adaptativa:** Se caracteriza por conferir memoria específica. Comprende las respuestas humoral y celular estimuladas por la exposición a los antígenos (infecciosos o no infecciosos).

Linfocitos T y B y sus células efectoras Células presentadoras de antígenos

## **Adaptativa Humoral**

Mediada por anticuerpos producidos por linfocitos B, mecanismo de defensa contra microorganismos extracelulares y sus toxinas

## **Adaptativa Celular**

Mediada por células efectoras derivadas de la activación de los linfocitos T CD4 y CD8



# Relación entre inmunidad celular e inmunidad humoral

## 1. Producción de Anticuerpos

### Antígenos T-Dependientes :

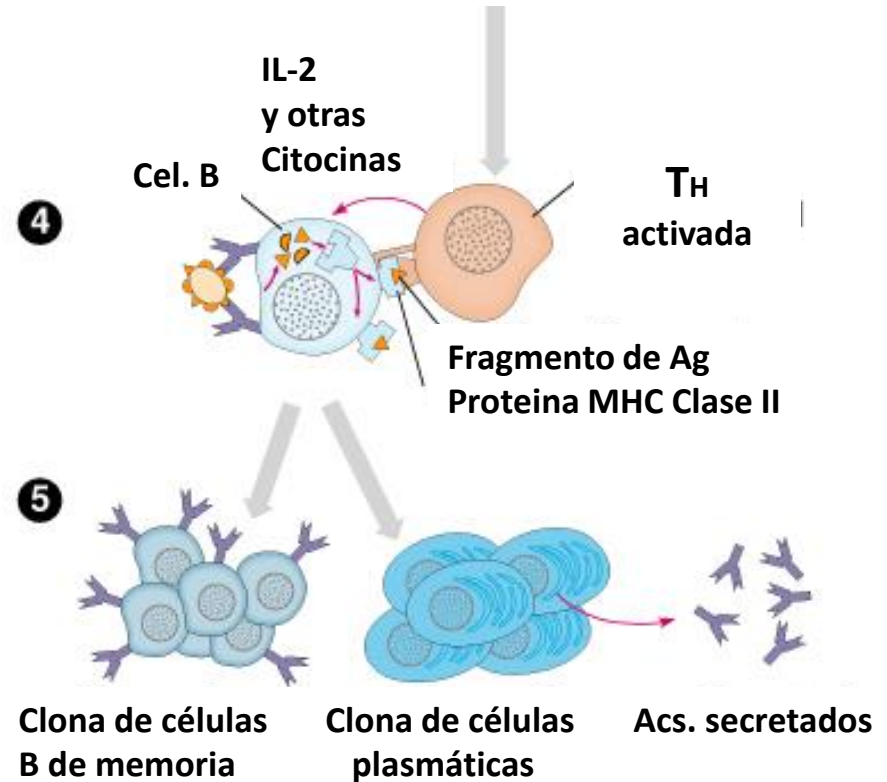
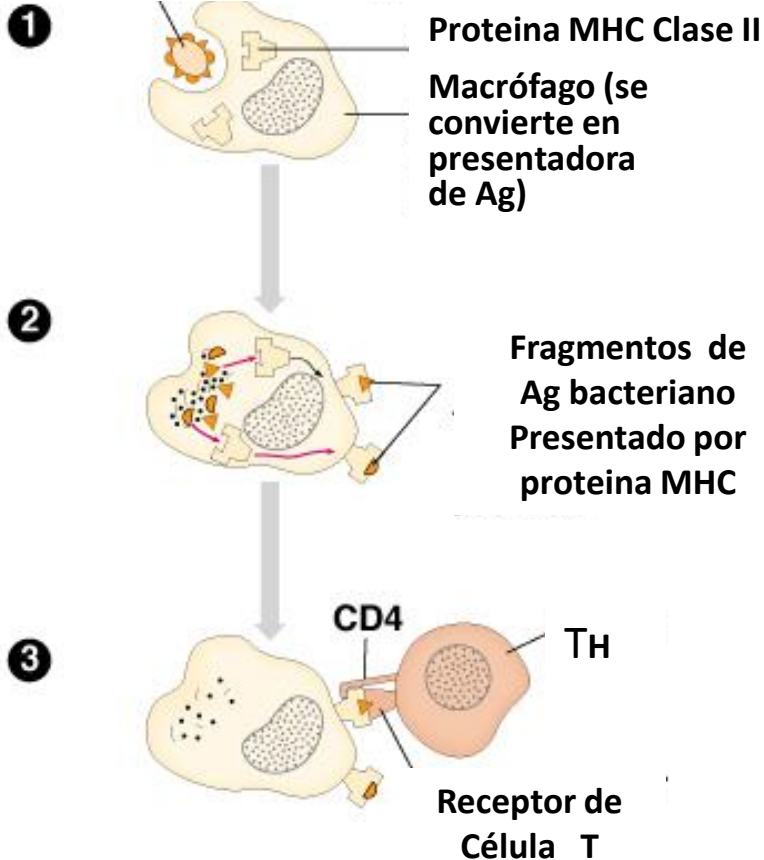
- Producción de Acs requiere cooperación de linfocitos T<sub>H</sub>
- Un macrófago ingiere el antígeno y lo presenta a T<sub>H</sub>
- Células T<sub>H</sub> estimulan linfocitos B específicos para el antígeno convirtiéndolas en células plasmáticas
- Los antígenos generalmente son virus , bacteria, eritrocitos ajenos, y moléculas acariadas por haptenos

### Antígenos T-Independientes

- Producción de Acs **no** requiere cooperación de linfocitos T
- Antígenos son principalmente polisacáridos o lipopolisacáridos con repertorios de subunidades (capsula bacteriana)
- Respuesta inmune es mas debil que para antígenos T dependientes.

# Respuesta inmune a antígenos T dependientes

Bacteria con Ags.  
T-dependientes

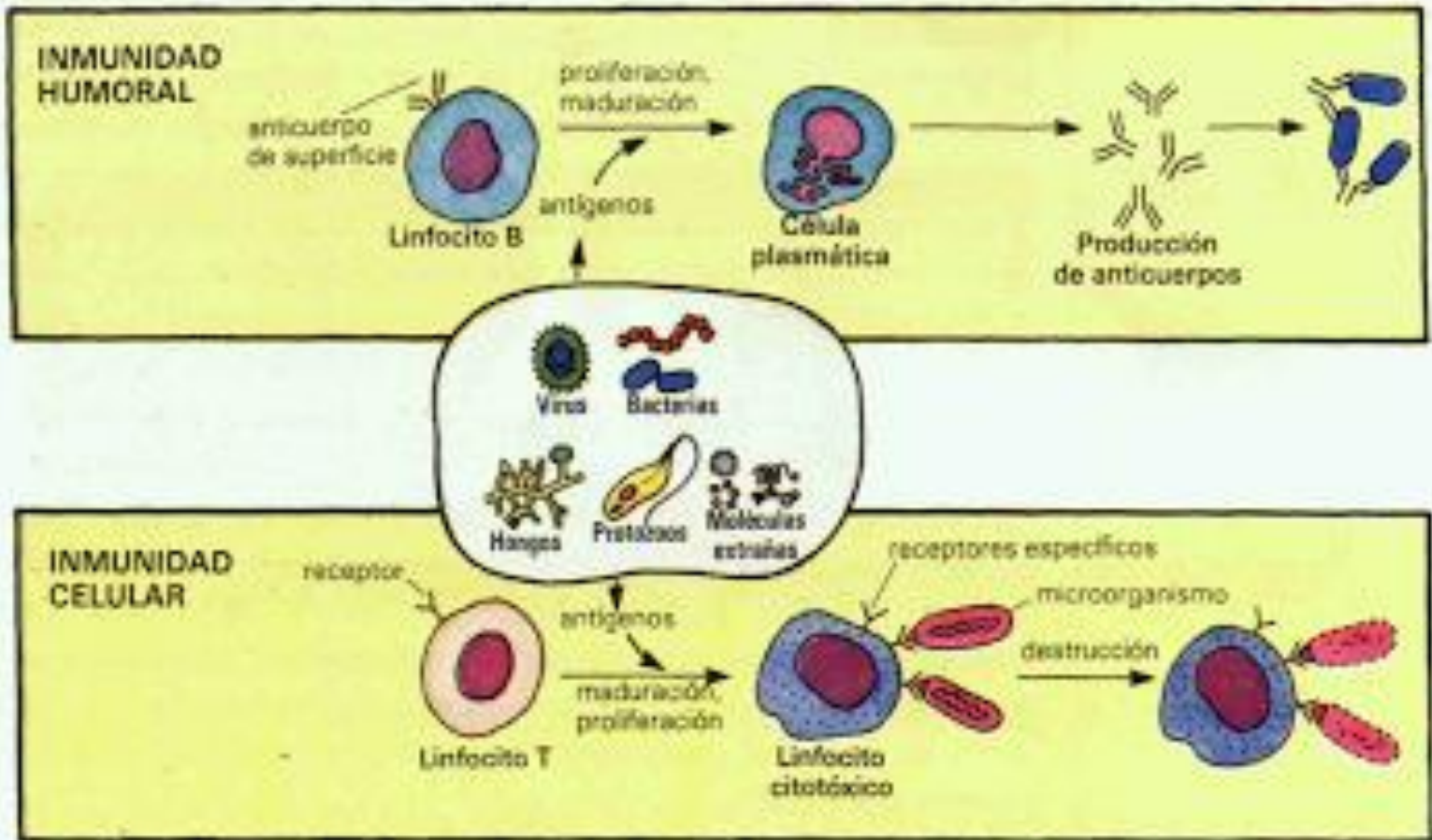


# Relación entre inmunidad celular e inmunidad humoral

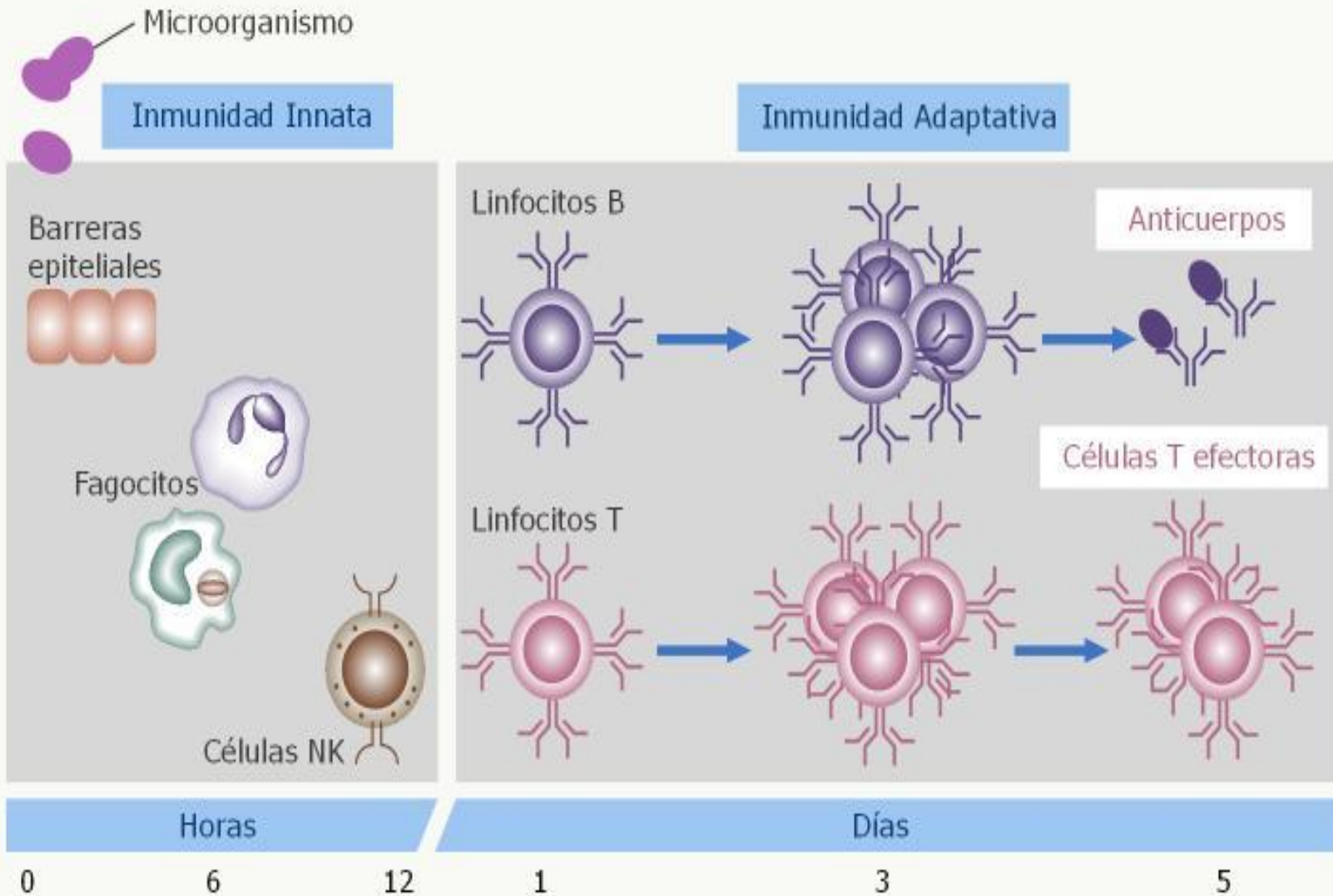
## 2. Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos

- La célula blanco es cubierta por anticuerpos dejando el componente Fc proyectando hacia fuera.
- Células NK y otras células inespecíficas con receptores para Fc son estimuladas para matar a las células blanco.
- El microorganismo blanco es destruido por sustancias de las células citotóxicas.
- Este mecanismo se utiliza por el hospedero para microorganismos demasiado grandes para ser fagocitados.

# Respuesta adaptativa humoral y celular



# Inmunidad innata e inmunidad adaptativa



# El papel de la inmunidad innata en la respuesta inmune adaptativa

Reconocimiento de antígenos por células profesionales presentadoras de antígenos: células dendríticas, macrófagos, células B mediante PAMPs y receptores tipo TOLL.

Procesamiento y presentación de antígeno por moléculas MHC clase I y II

Modulación de la respuesta inmune adaptativa mediante la co-estimulación y secreción de citocinas.

Funciones efectoras inducidas por componentes de la respuesta inmune adaptativa.

# Principios de la Vacunación

Basada en 2 elementos clave de la inmunidad

Innata: Especificidad y Memoria

Estimulación del sistema inmune del individuo para producir anticuerpos por la administración de una vacuna.

# Tipos de vacunas

## **Viva, atenuada**

Sarampión, paperas, rubéola  
(vacuna SRP combinada)

Varicela, Influenza (intranasal), Rotavirus

## **Inactiva/muerta**

Poliomielitis (IPV)

Hepatitis A

## **Toxoide (toxina inactiva)**

Difteria, tétanos, tosferin (DTaP)

## **Subunitaria/conjugada**

Hepatitis B

Influenza (inyección)

*Haemophilus influenza* tipo B (Hib)

Tos ferina (parte de la inmunización combinada

DTaP)

Neumocócica

Meningocócica



# Vacunas como inmunógenos

En cada vacuna debe de haber una molécula capaz de producir una respuesta del sistema inmune adaptativo mediante la activación de linfocitos

Los antígenos de vacunas son de naturaleza peptídica, aunque también pueden actuar como antígenos, moléculas de distintos tipos como lipopolisacáridos e incluso ADN

Los anticuerpos interactúan en forma específica con pequeños fragmentos de moléculas denominados determinantes antigénicos o epítopes.

Antígenos pequeños se denominan haptenos y tienen que estar acoplados a moléculas acarriadoras para suscitara una respuesta inmune.

# BASES INMUNOLOGICAS DE LAS VACUNAS

LOS PRINCIPALES MECANISMOS EFECTORES del sistema inmunitario son tres: producción de anticuerpos, inflamación y citotoxicidad.

El antígeno pasa al interior de una célula presentadora de antígenos; ésta expone, en su superficie, fragmentos del mismo asociados con el complejo principal de Histocompatibilidad (MHC) de clase II.

Células T inactivas reconocen el complejo constituido por antígeno y MHC y se multiplican en consecuencia. Las células T activadas median los tres mecanismos efectores a través de la producción de citoquinas específicas (anticuerpos, inflamación y citotoxicidad).

LAS CELULAS T ayudan a las células B a producir anticuerpos.

La unión del antígeno a inmunoglobulinas de superficie sirve de señal de las Células B ; al mismo tiempo, el antígeno pasa al interior de las células presentadoras de antígeno, que lo degradan en péptidos y estos se asocian con las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad de clase II y activan a las células T coadyuvantes inactivas.

El antígeno ligado y las señales de las células T coadyuvantes activadas provocan que las células B comiencen a multiplicarse y a diferenciarse en células plasmáticas secretoras de anticuerpos.

# Para que la vacunación se efectiva.....

Requiere de la activación de linfocitos T y B

**Los linfocitos T** tienen receptores específicos que reconocen epitopes antigénicos presentados por MHC  
CD4+ son células cooperadoras con otras células mediante citocinas

CD8+ son células citotóxicas que también coadyuvan

**Los linfocitos B** reconocen proteínas mediante receptores que se acoplan a epitopes en esa proteína y producen isotipos de anticuerpos que funcionan de acuerdo a la región Fc.

La expansión clonal o proliferación

Diferenciación para establecer funciones efectoras y memoria inmunológica

# Respuesta inmune ideal a una vacuna

La vacuna es procesada  
por células presentadoras  
de antígeno



activando células T y B para  
formar células de memoria

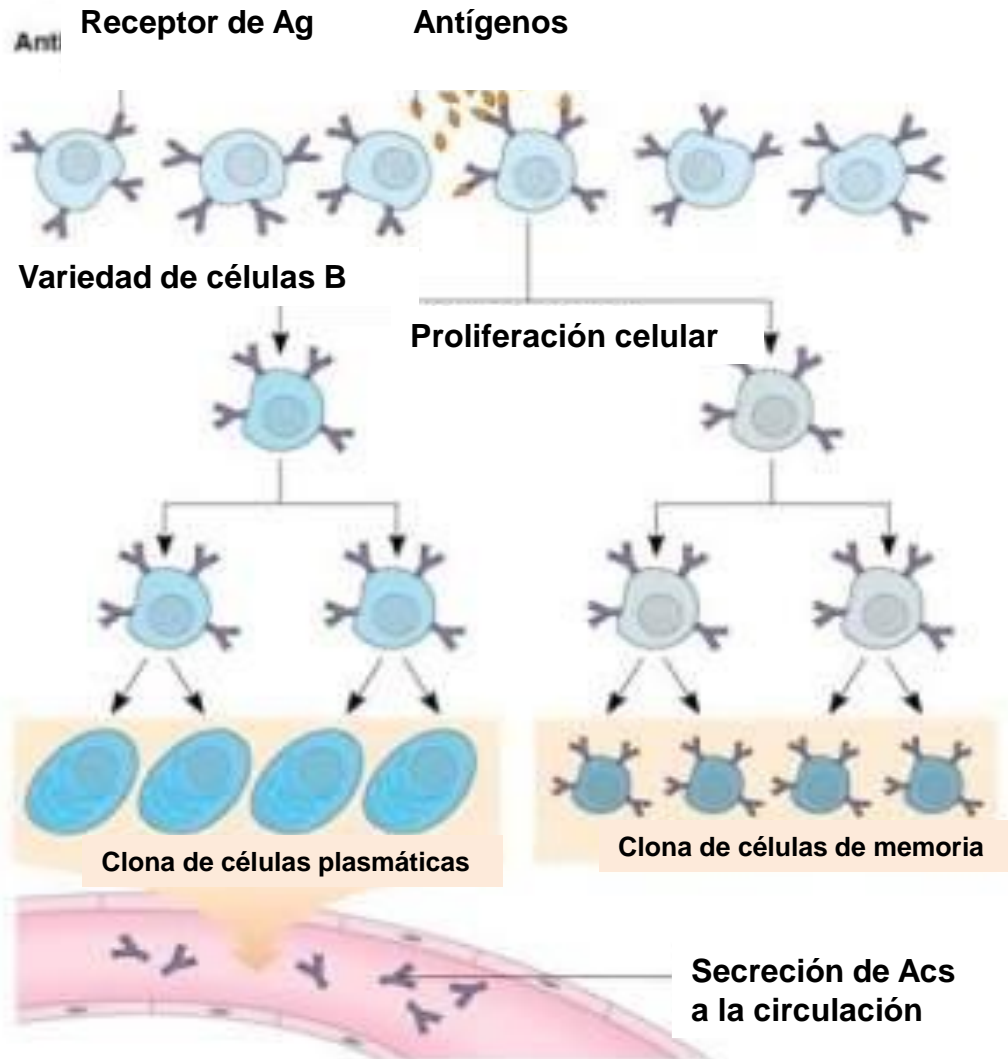


Se generan células Th y Tc a  
varios epítopes



antígeno persiste y continua  
el reclutamiento de células B  
de memoria produciendo  
anticuerpos de alta afinidad

# Respuesta immune ideal a una vacuna



La vacuna es procesada por células presentadoras de antígeno

- activando células T y B para formar células de memoria
- genera células Th y Tc a varios epítopes
- antígeno persiste y continua el reclutamiento de células B de memoria produciendo anticuerpos de alta afinidad

# Importancia de la respuesta inmune a las vacunas

La respuesta inmune que desencadena una vacuna se conoce como **respuesta inmune específica** ante dicho antígeno . Esta es de dos tipos **humoral** mediada por anticuerpos (células B) y **celular** mediada por células (células T).

Los factores que participan en la inducción de la respuesta inmune específica, son múltiples y variados, entre ellos podemos mencionar la vía de inmunización, el tipo de antígeno, así como la cantidad del mismo. La cantidad de antígeno aplicado repercute de manera importante en la inducción de la respuesta inmune.

De tal manera que los anticuerpos generados por cantidades excesivas de antígeno, ven reducida su capacidad para eliminar al microorganismo causante de la enfermedad, debido a que disminuyen la **afinidad**, la **especificidad** y la **avidéz** del anticuerpo por dicho antígeno.

# Análisis de la respuesta inmunitaria de las vacunas

La inmunidad generada por las vacunas es similar a la originada por las enfermedades: la vacunación desencadena una respuesta inmune humoral y celular del organismo, mediante la formación de anticuerpos que van actuar neutralizando o facilitando la fagocitosis de los agentes infecciosos específicos.

Podemos evaluar la respuesta humoral en forma cuantitativa mediante estudios serológicos antes y después de su aplicación.

# ¿Como medimos la protección?

La respuesta inmunológica contra la mayoría de las vacunas induce la producción específica de anticuerpos y linfocitos T efectores.

Este reconocimiento entre el antígeno – anticuerpo o linfocito sienta las bases del diagnóstico inmunológico.

El análisis cualitativo y cuantitativo se realiza mediante el empleo de técnicas inmunológicas basadas en la detección de y evaluación de la respuesta humoral (anticuerpos y complemento) o celular (linfocitos T y fagocitos).



# ¿Como medimos la protección?

La respuesta del organismo a una vacunación o exposición de campo con el agente se puede realizar mediante pruebas serológicas de laboratorio utilizando suero del paciente

La respuesta inmune primaria y secundaria se pueden evaluar en el laboratorio mediante la detección de anticuerpos específicos en el suero, utilizando antígenos conocidos antes y semanas después de la aplicación de la vacuna.

# Evaluación de la respuesta humoral

- Detección serológica de la titulación de anticuerpos pre y post vacunación, o mediante la detección de anticuerpos IgM .

- Otras técnicas diagnósticas:

Fijación de complemento (CFT); Radioinmunoensayo (RIA); ELISA; Pruebas de inmunofluorescencia (EIA); Aglutinación de partículas de látex; Pruebas de neutralización; Western Blot; Hemólisis radial ; Inmunoblot recombinante (RIBA) etc.

El análisis de la especificidad permite evaluar la capacidad de los anticuerpos de distinguir y reaccionar con una estructura química entre muchas.

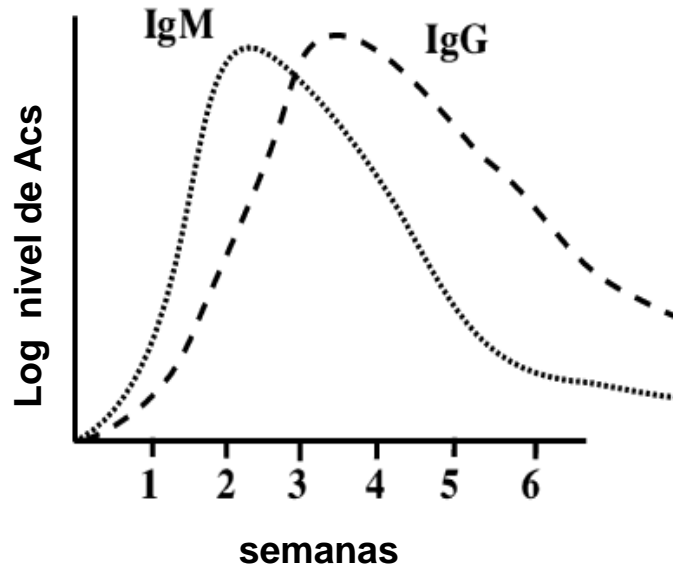
También se puede analizar la reactividad cruzada: es decir el anticuerpo reacciona con otro antígeno, cuando este y el antígeno que estimulo la producción del anticuerpo específico comparten un epítoto idéntico o muy similar.

# Respuesta Inmune humoral

- La respuesta inmune primaria se desarrolla entre una y dos semanas después de la exposición al antígeno e inicia con anticuerpos IgM seguida por anticuerpos IgG.
- La respuesta inmune secundaria es mas robusta con predominio de Acs IgG.

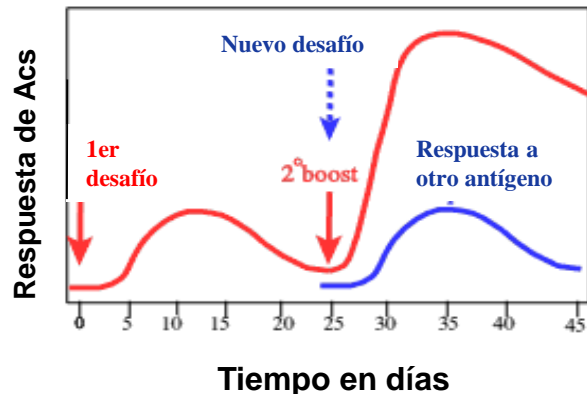
# Respuesta Inmune humoral

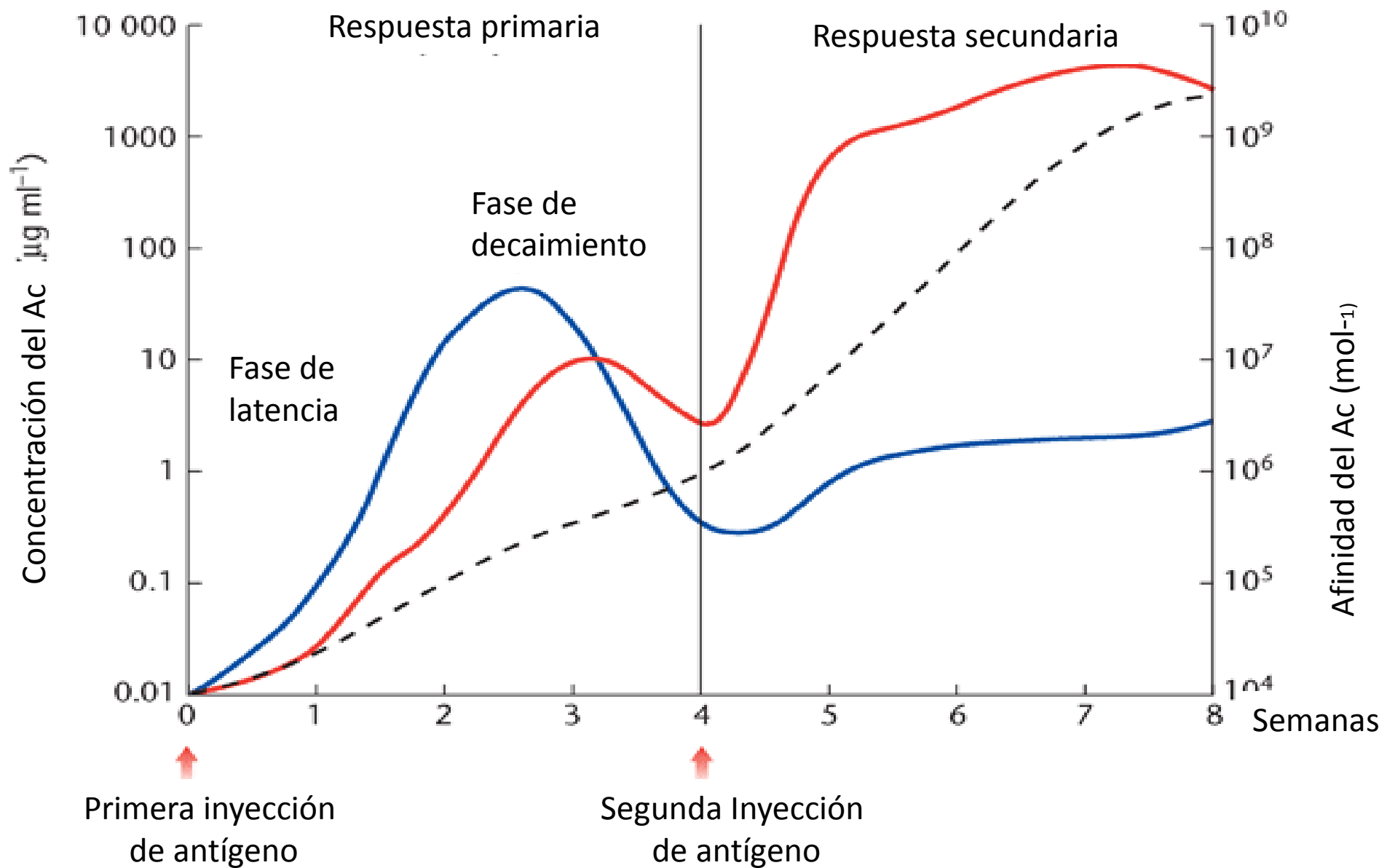
La respuesta inmune primaria se desarrolla entre una y dos semanas despues de la exposición al antígeno e inicia con anticuerpos IgM seguida por anticuerpos IgG.



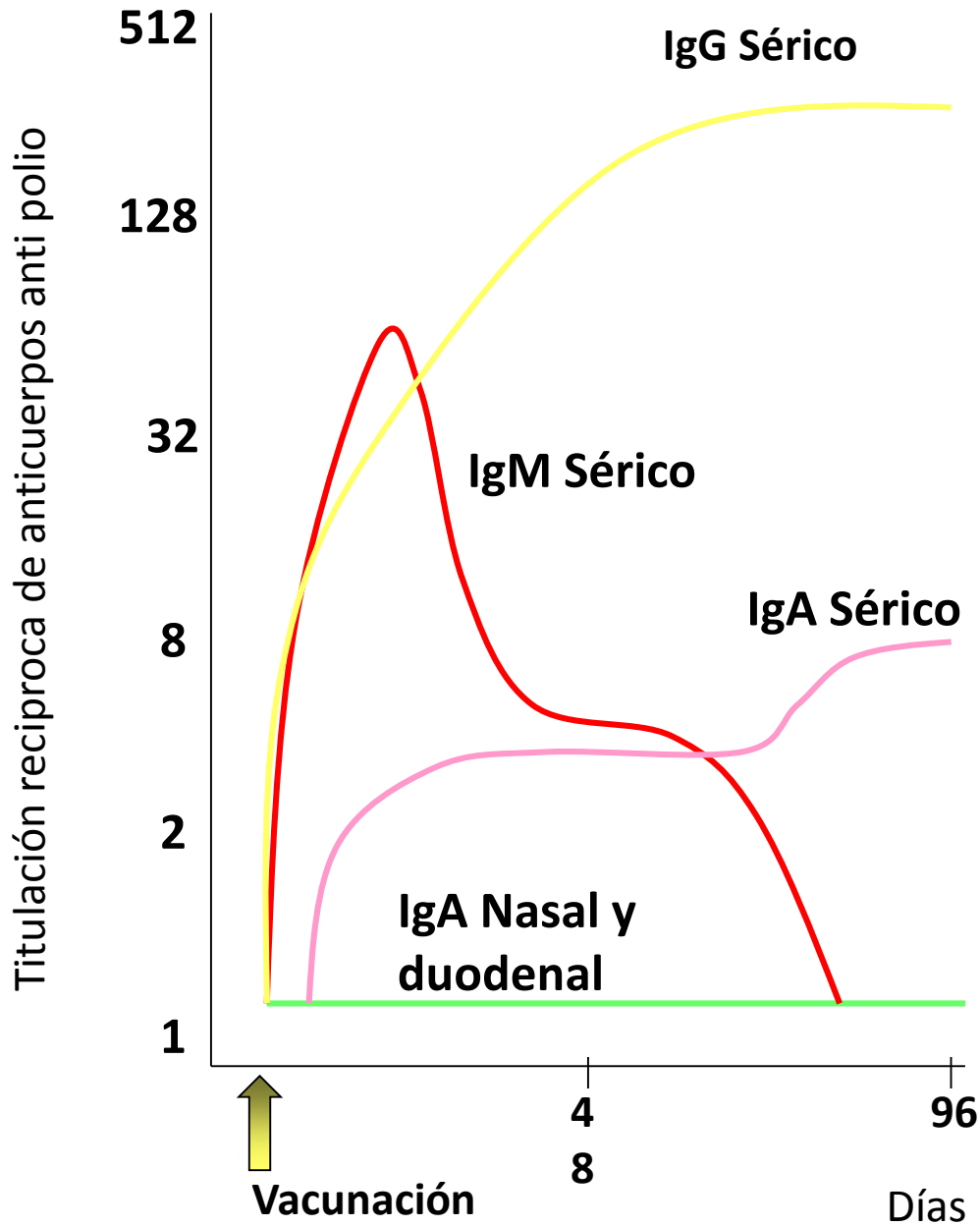
La memoria específica caracteriza a la inmunidad adaptativa

La respuesta inmune secundaria es mas robusta con predominio de Acs IgG.

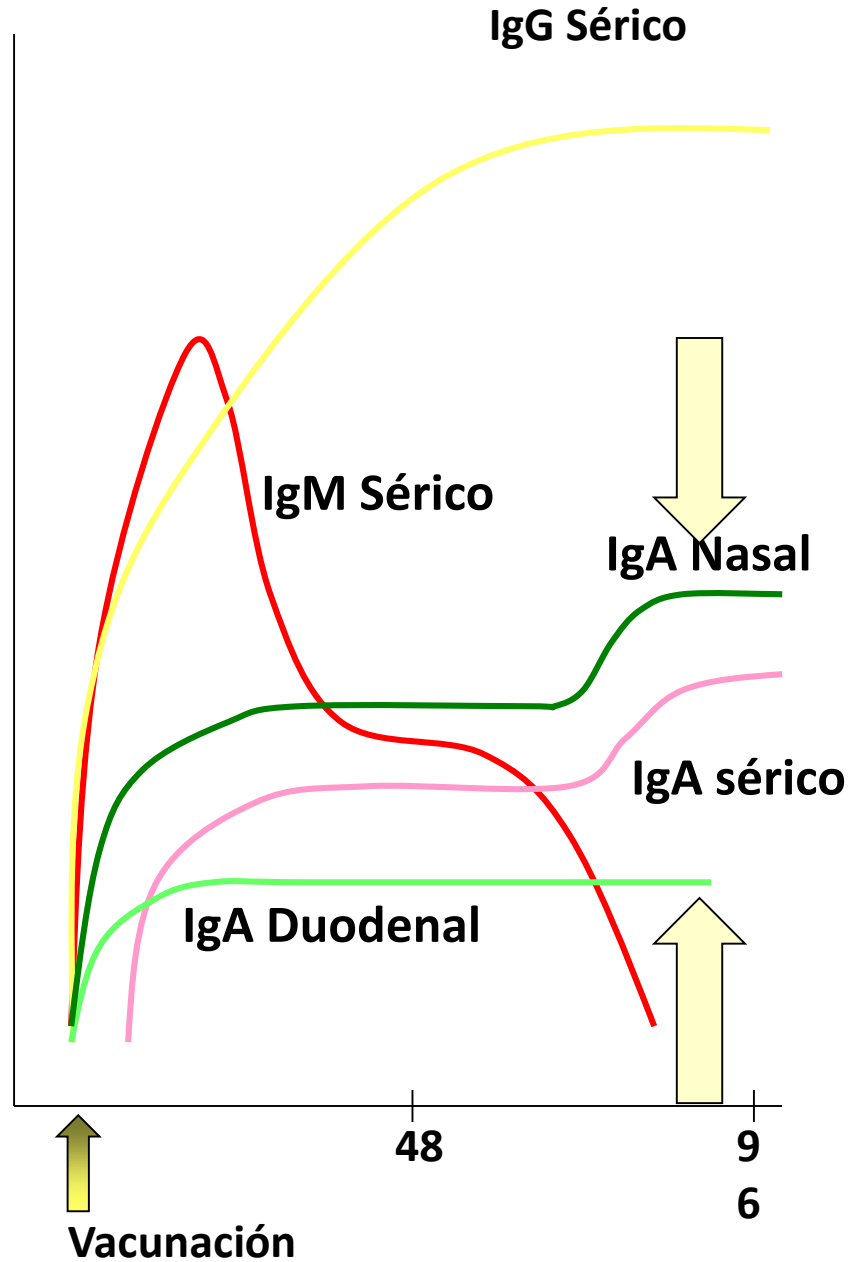




### Vacuna Salk



### Vacuna Sabin



# Análisis de la calidad de respuesta humoral

Con la finalidad de analizar la calidad de la respuesta humoral de una vacuna, se puede evaluar la afinidad y la avidéz de los anticuerpos.

**Afinidad** de un anticuerpo es la fuerza o intensidad de la unión, entre un sitio de unión del anticuerpo y el determinante antigénico de la vacuna.

**Avidéz** es la fuerza con la que el anticuerpo se une al antígeno.

# Pruebas de Laboratorio

- Inmunofluorescencia.
- Radioinmunoanálisis.
- Pruebas inmunoenzimáticas. ELISA.
- Aglutinación.
- Precipitación,
- Inmunodifusión
- Inmunoelectroforesis
- Hemaglutinación-Inhibición de hemaglutinación.



# ¿Cómo interpretamos la respuesta?

- Seroconversión: Aumento del título de anticuerpos x 4 o paso de negativo a positivo
- Título: Máxima dilución a la cual un suero continúa siendo positivo en una prueba serológica determinada

# ¿Cual es la utilidad de ensayos serológicos ?

- Inmunogenicidad clínica y Efectividad (eficacia inferencial)
  - Ej.- Demostración de la no inferioridad de una respuesta inmune relevante
  - Comparación con los estándares de atención
- Comparación con sueros de estudios de eficacia con correlación clínica comprobada.
  - La no interferencia con otras vacunas aplicadas
  - Determinar si la correlación de protección es aceptable
  - CMC – Inmunogenicidad
  - Evaluar cambios en procedimientos de manufactura
- Nuevas instalaciones de manufactura
  - Consistencia de lotes

# Análisis de la respuesta inmune celular

Aunque no es rutinario, para fines de evaluar una vacuna en fase uno se cuenta con varias pruebas clínicas y de laboratorio.

La intradermorreacción (prueba cutánea de sensibilidad tardía) permite evaluar la memoria celular al antígeno y por ende a la vacuna.

## **Nuevos métodos de Inmunología Celular**

La cuantificación de células B (productoras de Acs específicos) y subpoblaciones de linfocito T se pueden realizar mediante citometría de flujo.

Para la localización y enumeración de células formadoras de anticuerpo se utiliza marcaje inmuno-fluorescente y placa hemolítica.

El cultivo celular permite el análisis de interacciones entre las células

# Respuesta linfoproliferativa

Consiste en cultivar linfocitos del paciente con el antígeno (vacuna) que se quiere evaluar o estudiar y con varios mitógenos que se utilizan como control de la inmunoproliferación (estimulación no específica).

La transformación blástica específica se mide por la capacidad que tiene la vacuna de inducir la proliferación linfocitaria.

# Características deseables en las pruebas de análisis inmunodiagnóstico

- Utilizar pequeñas cantidades de sangre y de reactivos
- Sensibles y específicas.
- Estandarizada y validada.
- Reproducible.(Ínter laboratorios)
- Antígenos inactivados.
- Sencilla.
- Equipo y reactivos accesibles, económicos.