



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de

Veterinaria

Estudio de la inmunidad y su importancia en el síndrome ASIA

Study of immunity and its relevance in ASIA syndrome

Autor/es

Ana Acebo Pena

Director/es

Marta Pérez Rontome

Facultad de Veterinaria

2017 - 2018



Índice

1. Resumen / Abstract-----	1
2. Introducción-----	3
2.1. Clasificación del sistema inmunitario-----	3
2.1.1. Sistema inmunitario innato-----	4
2.1.2. Sistema inmunitario adquirido-----	10
2.2. Éxito de la respuesta inmune-----	16
2.3. Vacunación-----	18
2.4. Efectos adversos de la vacunación-----	23
2.5. Síndrome ASIA-----	24
3. Objetivos-----	27
4. Metodología-----	28
5. Resultados-----	28
6. Conclusiones-----	28
7. Valoración personal-----	29
8. Bibliografía-----	30
9. Anexos-----	34

1. Resumen

El sistema inmunitario se puede definir como un conjunto de mecanismos que se encargan de la defensa frente a agentes extraños, microorganismos patógenos y sus factores de virulencia. A este estado de resistencia se le denomina Inmunidad y puede ser natural, aquellos sistemas básicos de defensa con los que nacemos, o adquirida, mejorada y ampliada a lo largo de la vida. La Inmunidad, es un sistema que ha evolucionado durante millones de años a partir de organismos invertebrados y vertebrados, hasta desarrollar mecanismos muy específicos que, además de reconocer a un gran número de patógenos, presenta memoria inmunitaria, para generar las respuestas inmunitarias rápidas, y además presenta una tolerancia que evita la lesión inmunitaria en los tejidos propios.

En la mayoría de las ocasiones, el sistema inmune actúa de manera beneficiosa en defensa de los animales, pero en ocasiones su actuación es insuficiente y las respuestas frente al patógeno no siempre son efectivas. En este aspecto, el descubrimiento y perfeccionamiento de las vacunas por el hombre, mejoró la respuesta inmunitaria, induciendo un mejor estado de inmunidad (inmunidad adquirida) contra el patógeno frente al que fue vacunado. El uso de vacunas se ha ido incrementando en los últimos años en todos los animales, tanto de compañía como de producción, lo que ha servido para controlar tanto enfermedades que sólo afectan a dichos animales como posibles zoonosis. Pero este uso continuado y repetido de vacunas se ha visto eclipsado en los últimos años por la aparición de varios síndromes asociados, no tanto debidos al agente inoculado, sino más bien a las moléculas que dicho agente lleva consigo como adyuvantes o conservantes. Tal es el caso del síndrome ASIA (Síndrome Autoinmune Inflamatorio Inducido por Adyuvantes), un conjunto de procesos relacionados con la presencia de hidróxido de aluminio como adyuvante y que genera múltiples y complejos desórdenes neurológicos en animales vacunados de forma repetitiva.



1.1. Abstract

The immune system can be defined as a set of mechanisms that are responsible for the defense against foreign agents, pathogenic microorganisms and their virulence factors. This state of resistance is called Immunity and it can be natural, those basic systems we are born with; or acquired, which is improved and expanded throughout life. Immunity, is a system that has evolved over millions of years from invertebrate and vertebrate organisms, to develop very specific mechanisms that besides recognizing a large number of pathogens, have immune memory in order to generate quick responses, and also presents a tolerance that avoid immune damage in own tissues.

In most cases, the immune system enhance the animals' defense, but sometimes its action is not enough and the responses against the pathogen are not always effective. In this aspect, vaccine research by man improved the immune response, inducing a better state of immunity (acquired immunity) against the pathogen it was vaccinated for. The use of vaccines has increased in recent years in all animals, both company and production, which has served to control diseases that only affect animals and also possible zoonoses. But this continued and repeated use of vaccines has been eclipsed in recent years by the appearance of several associated syndromes, not just due to the inoculated agent, but rather to the molecules that the agent carries with it as adjuvants or companions. Such is the case of the ASIA syndrome (Autoimmune Inflammatory Syndrome induced by Adjuvants), a set of processes related to the presence of aluminum hydroxide as adjuvant and that generates multiple and complex neurological disorders in animals vaccinated repetitively.

2. Introducción

El término *inmunidad* proviene del latín *immunis*, que significa “libre de”. Cuando se empezó a emplear este término se aplicaba al estado de resistencia, por parte de los individuos, ante las infecciones microbianas. La ciencia que estudia la inmunidad es la inmunología y en un principio se limitaba sólo al estudio de la inmunidad frente a las bacterias. Más tarde, se extendió tanto a las reacciones específicas como inespecíficas ante un antígeno^[5]. Sus principales funciones son la defensa contra microorganismos y la inmunovigilancia contra la emergencia de tumores y de enfermedades autoinmunes y alérgicas^[33].

El sistema inmune defiende a los animales y al ser humano ante partículas extrañas, y en ocasiones incluso de moléculas propias, creando una especie de equilibrio funcional, que para mantenerlo, requiere la interacción de los diferentes componentes que lo conforman, tales como la inmunidad innata y la inmunidad adquirida. Ambas respuestas necesitan de la coordinación de una serie de eventos que se van desencadenando, entre los que se encuentran la activación de una respuesta celular y/o una respuesta humoral mediada por anticuerpos. Este sistema se encuentra distribuido en un conjunto de tejidos, células y moléculas que interaccionan y forman un frente común para integrar una respuesta, la llamada respuesta inmune^[26, 17].

Este complejo sistema, que también emplea células específicas con funciones diversas, para bloquear y eliminar los agentes reconocidos como extraños del organismo se explican a continuación.

2.1. Clasificación del sistema inmunitario

Un alto porcentaje de las infecciones que contraen los animales, además de ser de corta duración, se superan con éxito gracias a la acción del sistema inmunitario. El primer paso que realiza este sistema es reconocer al patógeno o material extraño para así poder eliminarlo. En términos generales, podemos clasificar las respuestas inmunitarias en dos tipos: inmunidad innata e inmunidad adquirida. Aunque esta clasificación se hace solo de manera teórica, ya que en la práctica, ambos tipos de inmunidad actúan de manera coordinada^[33]. Como resumen de ambos tipos de respuestas podemos decir que la respuesta inmune innata funciona como la primera línea de defensa contra las infecciones. Está formada por factores solubles, como proteínas del sistema del complemento, y diversos componentes celulares incluyendo los fagocitos, células dendríticas (CDs) y células natural killer (NK). La respuesta inmune adaptativa se desarrolla de manera más lenta, pero manifiesta una mayor especificidad antigénica y posee memoria inmunológica. Está constituida por linfocitos T (en los que se incluyen los clusters TCD4+ o colaboradores y TCD8+ o citotóxicos) y linfocitos B principalmente^[1].

2.1.1. Sistema inmunitario innato

La inmunidad innata, natural o inespecífica representa la primera línea de defensa. Se compone de mecanismos inespecíficos preexistentes que se activan de manera inespecífica y rápida y que preceden a la inmunidad adaptativa, la cual se activará en respuesta a las infecciones. Es el sistema más antiguo y la respuesta no se modifica tras exposiciones repetidas a un determinado patógeno. Además, una misma célula actúa frente a diferentes agentes extraños^[22, 30].

Cuando un agente extraño se encuentra con el organismo, primeramente debe enfrentarse a las barreras externas de éste, que constituyen defensas eficaces, tanto físicas como químicas, frente a la mayoría de los agentes, consiguiendo muy pocas superarlas a través de la piel intacta. Estas barreras son:

- Físicas: piel, moco, cilios, tos, estornudos, peristaltismo intestinal.
- Químicas: pH ácido, sales biliares, lisozima, espermina, lactoperoxidasa, β -lisina...
- Biológicas: microbiota normal de la piel, boca, intestino y vagina^[25, 26, 33].

Si estas barreras son vulneradas, o no son suficientes, entran en funcionamiento otros procesos gracias a la presencia de diferentes células y moléculas implicadas que la inmunidad innata acciona.

El sistema inmunitario innato está constituido por múltiples células y moléculas distribuidas estratégicamente a lo largo de todo el organismo, formando parte de diversos tejidos y/o acudiendo a los sitios infectados desde el torrente circulatorio. Entre las células más importantes del sistema inmunitario innato se encuentran: macrófagos, monocitos, neutrófilos, células Natural Killer y el sistema del complemento, entre otros. Estas células, reconocen en general estructuras moleculares denominadas comúnmente patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs), características de los microorganismos pero no de las células de los mamíferos. Entre los ejemplos más citados de PAMPs se encuentran lipoproteínas provenientes de bacterias, virus, hongos y parásitos^[2]. Existen diferentes familias de receptores codificados en la línea germinal capaces de reconocer PAMPs, denominados en su conjunto receptores de reconocimiento de patrones (PRRs), entre ellos los más conocidos:

- Receptor de tipo Toll (TLR), desencadena señales intracelulares específicas según la naturaleza del PAMP reconocido.
- Lectina tipo C: reconoce motivos particulares de hidratos de carbono a través de dominios proteicos dependientes de calcio.

- **Receptor de la manosa:** mecanismo de endocitosis de microorganismos con residuos únicos de manosa y fucosa en su composición. Se encuentra en la membrana plasmática de monocitos, macrófagos, células de Langerhans y células dendríticas^[2].

A partir del reconocimiento del antígeno a eliminar, se ponen en marcha diferentes mecanismos:

- **Endocitosis:** proceso que consiste en la internalización de los agentes patógenos y partículas extrañas al interior de las células especializadas mediante las invaginaciones de la membrana plasmática, así como de la escisión de vesículas o vacuolas. En el proceso intervienen fluidos, solutos, ligandos y otros componentes de la membrana plasmática^[7].
- **Fagocitosis:** unión del agente a la superficie de una célula fagocítica (macrófagos, leucocitos polimorfonucleares y células dendríticas). La célula fagocítica emite pseudópodos y engloba al agente, dando lugar a un fagosoma (Fig. 1 y Fig. 2), que en etapas posteriores se destruye^[7].

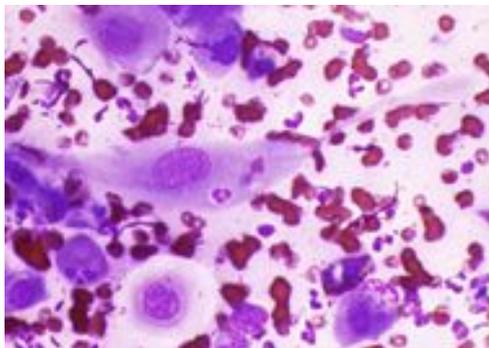


Figura 1. Formación de un fagosoma durante el proceso de fagocitosis

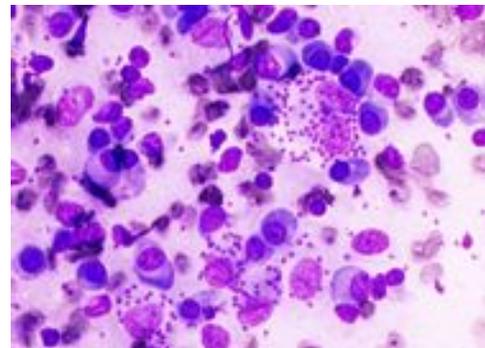


Figura 2. Presencia de células dendríticas con acción fagocítica

- **Activación del complemento:** es un conjunto de proteínas inactivadas en el plasma sanguíneo que interactúan entre sí y con otros elementos del sistema inmunitario innato y adquirido^[4]. Las proteínas del complemento son sintetizadas en el hígado y en los macrófagos. Este sistema es capaz de dirigir la lisis y la opsonización sobre las membranas biológicas de los agentes agresores y no de las propias debido a un estricto control a cargo de proteínas solubles y de membrana que lo impiden. También solubilizan complejos inmunes, activan linfocitos y producen péptidos proinflamatorios (C3a, C4a y C5a) que aumentan la permeabilidad de los capilares facilitando la llegada de células y potenciando la inflamación^[33]. El sistema del complemento se compone de tres vías: la vía clásica, la vía alternativa y la vía de las lectinas (Fig. 3). Aunque cuando nos referimos a estos procesos hablamos de inmunidad innata, en realidad, una de sus vías, la clásica, una de las más

importantes y más extensamente estudiada, necesita de los anticuerpos para su activación, por lo que pertenece a la inmunidad adquirida^[8].

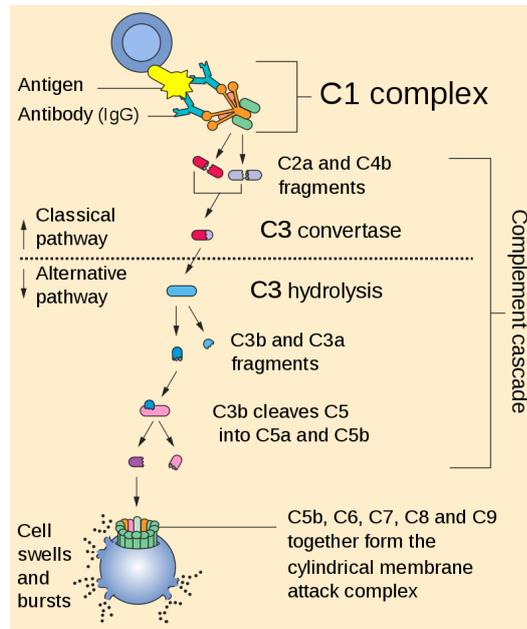


Figura 3. Sistema del complemento. Vías de activación

- **Inflamación:** Proceso basado en el aumento del flujo sanguíneo hacia la zona afectada, aumento de la permeabilidad capilar y migración de leucocitos desde las vénulas hasta los tejidos adyacentes al foco inflamatorio^[8]. Este proceso tiene lugar por la necesidad de concentrar las células del sistema inmunitario y sus productos en el lugar donde se ha producido un daño.

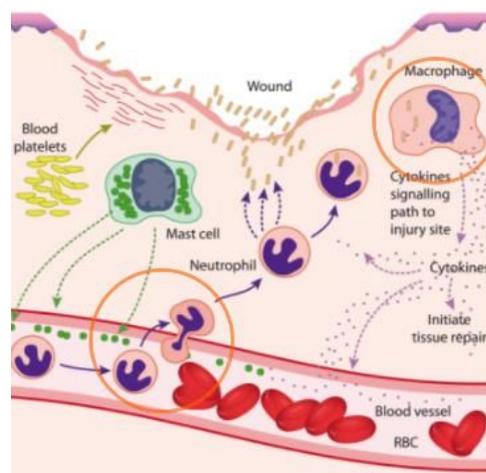


Figura 4. Esquema de un mecanismo de inflamación y de las células implicadas

Además de los procesos anteriormente citados, existen una serie de moléculas muy importantes implicadas en el sistema inmune, tanto innato como adquirido, estas moléculas son las citoquinas. Las citoquinas o interleuquinas (Il) son proteínas secretadas por las células del sistema inmune en respuesta a microorganismos y otros antígenos que las células dendríticas presentadoras de antígeno detectan como ajenos. Dichas proteínas estimulan el crecimiento y diferenciación de algunos leucocitos como los linfocitos y los monocitos, convirtiéndolas en células efectoras maduras, que actuarán sobre otras células inmaduras del mismo linaje. Además de atraer a estos leucocitos hacia las zonas afectadas, actúan en las respuestas inmunes e inflamatorias, en la reparación de tejidos y en la hematopoyesis^[33, 27, 37].

Existen numerosas interleuquinas producidas por diferentes células del sistema inmune y que realizan diferentes funciones. Casi todas las interleuquinas, a excepción de la M-CSF (Macrophage colony-stimulating factor) que es un dímero, presentan estructura monomérica, y además, la mayoría están producidas por los macrófagos y por las células endoteliales^[37]. Un esquema de las principales citoquinas, las células que las producen y su función se resume en la Tabla 1.

Dentro de las interleuquinas, encontramos las quimiocinas, que son aquellas proteínas producidas por células inmunes (linaje monocito-macrófago, linfocitos T) y no inmunes (fibroblastos y células endoteliales), con capacidad quimiotáctica, es decir, que siguen una orientación dirigida por un estímulo químico. Según su estructura química y la posición de dos residuos de cisteína encontramos:

- Quimiocinas del grupo α : poseen capacidad de atracción de neutrófilos y linfocitos pero no de monocitos. Destacan la Il 8 y el PAF (Factor activador de plaquetas). Son producidas por macrófagos, linfocitos, granulocitos, células endoteliales y hepatocitos.
- Quimiocinas del grupo β : atraen linfocitos T, B y monocitos, y algunas incluso basófilos y eosinófilos. Pertenecen a este grupo las proteínas inhibitoras de macrófagos (MIP) y las que atraen a los monocitos (MCP). Los macrófagos, linfocitos T y B y los neutrófilos son quienes las producen.
- Quimiocinas del grupo γ : El grupo γ también presenta capacidad de atracción sobre monocitos y linfocitos, la más conocida de este grupo es la denominada linfotactina.

Tabla 1. Principales interleuquinas mediadoras en los procesos inflamatorios

Interleuquina	Célula productora	Función
IL 1	Macrófagos	Aumento de la temperatura. Proinflamatoria Activación de linfocitos T y macrófagos
IL 4	Linfocitos Th (helper). Mastocitos. Basófilos	Bloquea síntesis de citocinas, inhibe la síntesis de novo
IL 6	Linfocitos Th2. Macrófagos	Proinflamatoria y Antiinflamatoria Activación linfocitos T y B.
IL 10	Linfocitos T y Macrófagos	Propiedades antiinflamatorias Inhibe la síntesis de otras IL proinflamatorias
IL 12	Macrófagos. Neutrófilos. Células dendríticas	Diferenciación de linfocitos Th1. Activación de las células NK (Natural Killer)
IL 16	Linfocitos T CD8+	Introducción del receptor para IL 2
TNF α	Macrófagos. Linfocitos. Células NK. Mastocitos	Inflamación local. Cambios de permeabilidad Elevación de la temperatura
IFN α	Linfocitos	Activación antígenos porcinos
IFN β	Fibroblastos	Activación NK
IFN γ	Linfocitos. Células NK	Inducción de antígenos porcinos Presentación de antígenos

El estudio de las interleuquinas se hace difícil por su corta vida media en suero y su baja concentración^[27]. Las interleuquinas pueden influir en el resultado de las vacunaciones ejerciendo efectos en varias etapas de la respuesta inmunitaria como en: la presentación de antígenos, maduración de las subpoblaciones de linfocitos T, la regulación de la producción de isotipos de anticuerpos y la expansión de las células T y B de memoria^[37].

Tal y como se aprecia ya en la inmunidad innata, y mucho más se verá en la inmunidad adquirida, el sistema inmune requiere de la actuación de un conjunto de células muy especializadas, y todas ellas derivan de diferentes linajes de una célula sanguínea pluripotencial, que da lugar a dos linajes principales: mieloide y linfoide, del que derivarán las principales células responsables del funcionamiento de ambos tipos de inmunidad (Fig. 5).

Del linaje mieloide se diferencia una unidad formadora de brotes eritroides, precursora de los proeritroblastos, que darán lugar a los eritrocitos y el megacarioblasto que dará lugar a las plaquetas; también se diferencia la unidad formadora de colonias de leucocitos o polimorfonucleares y los monocitos, precursora de monocitos y leucocitos granulocíticos (Fig. 5).

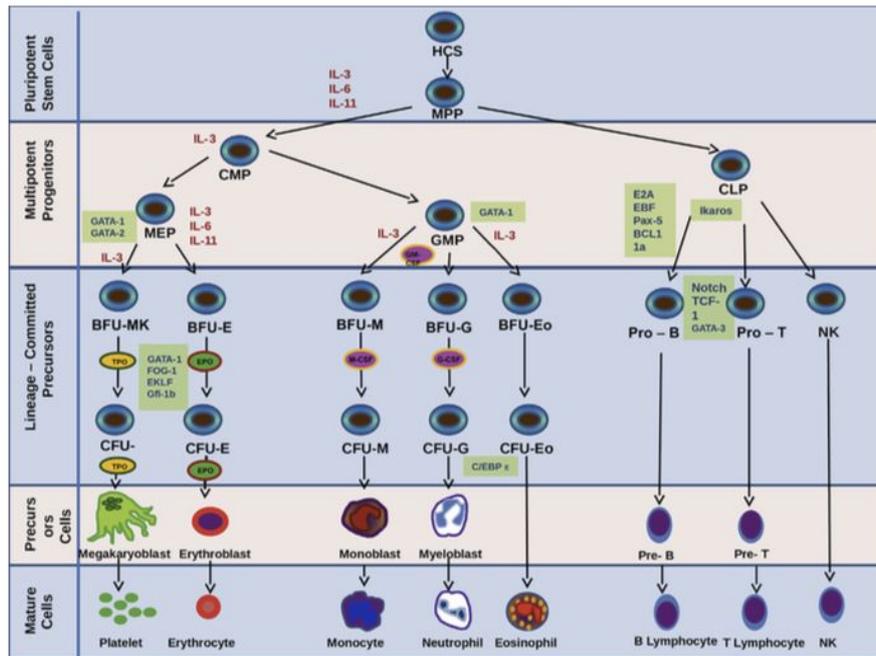


Figura 5. Linajes celulares derivados de las células sanguíneas pluripotenciales^[13]

Los macrófagos, que son los monocitos una vez que llegan a los tejidos, son una pieza esencial, ya que gracias a la función fagocitaria que realizan producen la lisis bacteriana y la degradación del antígeno a péptidos más sencillos que servirán para ser expuestos a las células presentadoras de antígeno (CPA). El macrófago además secreta las interleuquinas que activan al propio macrófago a realizar más eficientemente sus funciones e inducen efectos proinflamatorios. El macrófago por lo tanto, constituye una conexión entre la inmunidad innata y adquirida.

También los polimorfonucleares, cuya función es la fagocitosis, lisis, inclusión y destrucción de los microorganismos mediante las enzimas de sus gránulos forman parte de este sistema, al igual que las células NK, pertenecientes al linaje linfocítico, que destruyen células infectadas y aquellas que han perdido la expresión de moléculas de histocompatibilidad clase I. Las NK controlan inicialmente infecciones virales y otros agentes intracelulares mediante la secreción de perforinas y granzimas. Muy importante en este tipo de células su actividad antitumoral^[33].

Del linaje linfocítico, además de las células NK, derivan las dos familias de linfocitos, células indispensables para el correcto funcionamiento del sistema inmune, sobre todo en el sistema inmunitario adquirido y cuyos representantes más importantes serán los linfocitos T y B (Fig. 5).

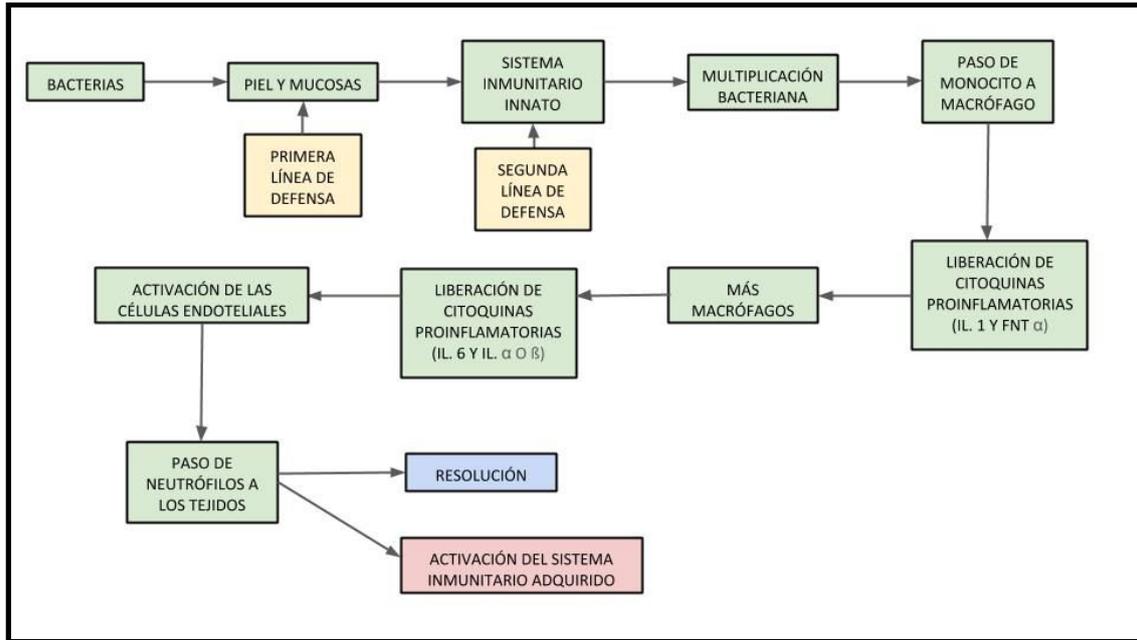


Figura 6. Principales componentes que median en la respuesta inmunitaria innata

Es importante destacar que la activación de la respuesta innata es fundamental para el correcto desarrollo y direccionamiento de la inmunidad adaptativa, en los casos en los que sea necesario accionar los mecanismos más especializados del sistema inmune. Para ello una de las principales células que van a colaborar en la presentación de antígenos al sistema inmune son las células dendríticas, un tipo de células presentadoras de antígeno que han demostrado ser el nexo entre las respuestas inmunes innata y adaptativa^[16].

2.1.2. Sistema inmunitario adquirido

La inmunidad adquirida, adaptativa o específica, basada en mecanismos de defensa específicos, está presente ya en los vertebrados. Sus principales elementos son los linfocitos T (inmunidad celular) y linfocitos B (inmunidad humoral) que se activan frente a antígenos. La intensidad de la respuesta aumenta al ir aumentando el número de exposiciones ante un mismo patógeno, lo que supone que existen células de memoria ante el agente infeccioso, presentando así una alta especificidad ante el mismo patógeno, impidiendo que provoque una enfermedad^[23]. Este sistema utiliza alguno de los mecanismos de la respuesta inmunitaria innata para eliminar a los microorganismos, y si estos mecanismos no son suficientes, se activan, mediante señalización previa con citoquinas proinflamatorias, otros mecanismos como el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) en la CPA y la migración de éstas células que viajan vía linfática hasta el linfonodo más cercano donde se activarán los linfocitos T (CD4) que a su vez activarán otros linfocitos T (CD8) y linfocitos B, que vía linfática y sanguínea llegarán hasta la localización del patógeno para destruirlo;

cuando el proceso finaliza se terminan liberando citoquinas antiinflamatorias por los propios linfocitos CD4 (Fig. 7)^[33].

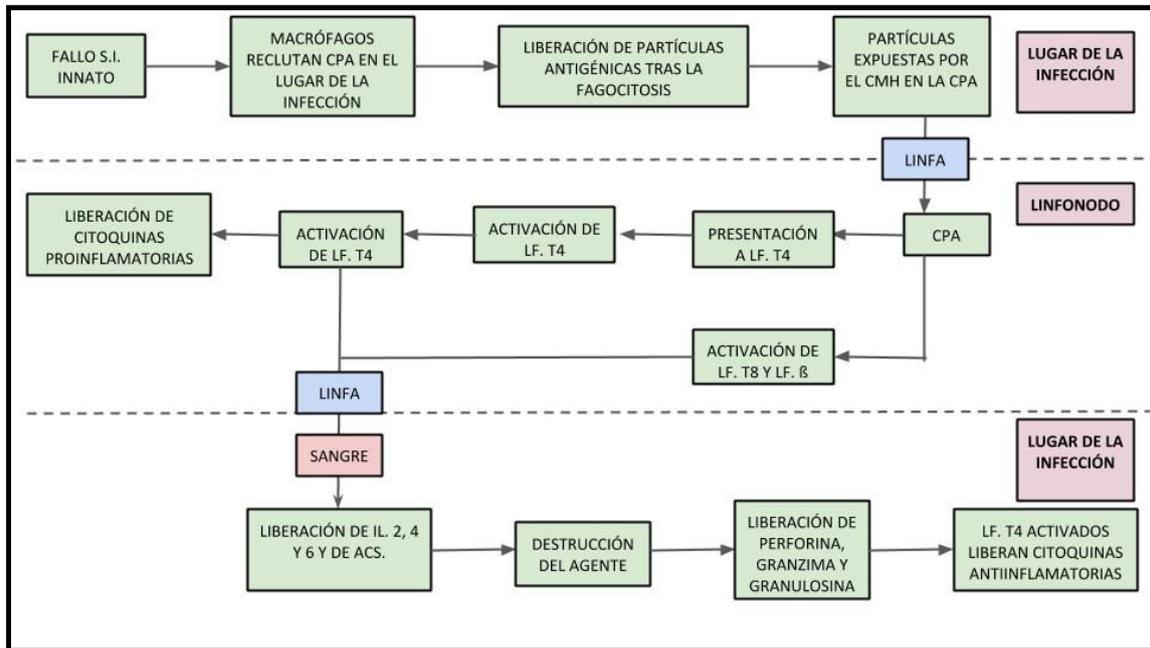


Figura 7. Principales componentes que median en la respuesta inmunitaria adquirida

Por tanto, cuando entra en juego la inmunidad adquirida, una serie de mecanismos en cascada comienzan a producirse. De las células madre hematopoyéticas se diferencian CPA como las células dendríticas (CD), al principio inmaduras, las cuales son reclutadas a los tejidos periféricos e internalizan de forma continua diferentes antígenos que aumentan la producción de citoquinas así como su capacidad migratoria, por lo que viajan vía linfática para ser procesados y presentados en el contexto de las moléculas MHC. Luego migran a los tejidos linfoides y maduran fenotípicamente, presentando complejos en la superficie celular e interaccionando con linfocitos específicos. Tras estas etapas de maduración activan linfocitos T, B y NK, y producen citoquinas proinflamatorias como IL-12 y TNF α .

El MHC es una región situada en diferentes cromosomas, es la región más variable conocida y contiene una gran cantidad de loci diferentes que codifican genes funcionales. Estos genes codifican las moléculas principales responsables de la presentación de antígenos en la superficie celular y pertenecen al HLA (antígenos leucocitarios humanos). Cabe destacar que los genes se llaman HLA aunque muchos autores emplean el MHC para nombrar a las moléculas resultantes de la expresión de estos genes. El MHC puede ser de tipo I o II (Fig. 8). El MHC de tipo I actúa ante agentes virales presentando los antígenos de los mismos a los linfocitos T CD4, mientras que el MHC de tipo

II actúa en presencia de antígenos bacterianos y tumorales presentando los antígenos de los mismos a los linfocitos T CD8.

La expresión del MHC se limita casi exclusivamente a las células presentadoras de antígeno, tales como macrófagos, células dendríticas, de Langerhans (CPA de la piel) y células de Kupffer (CPA del hígado), así como linfocitos B. El MHC ovino está poco caracterizado en comparación con otras especies. Se identificó por primera vez en 1978 mediante estudios antigénicos serológicos de linfocitos de oveja^[10].

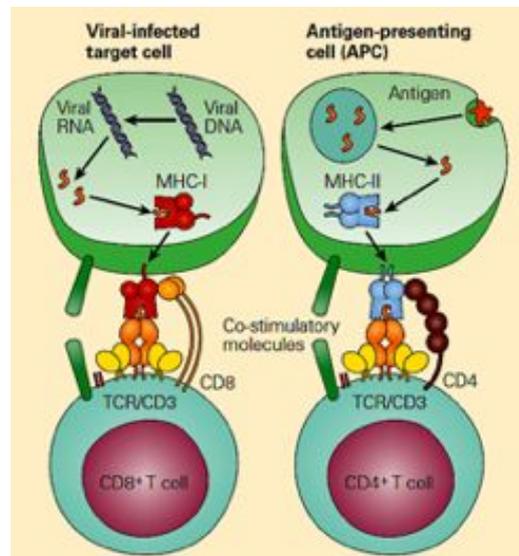


Figura 8. Activación y tipos de MHC

A través de la vía linfática, la CPA, cuyos antígenos han sido expuestos en su superficie a través del MHC, migra hasta los linfonodos, y es allí donde tiene lugar la presentación antigénica por parte de la CPA a los linfocitos T. Aquí también tiene lugar la maduración funcional de los linfocitos. Los nódulos linfáticos conectan sistema linfático y sanguíneo. Estos linfocitos, estamos viendo que son células imprescindibles dentro del sistema inmune adquirido y cuando hablamos de respuesta inmunitaria adquirida podemos distinguir dos tipos:

- **Inmunidad celular:** es mediada por los linfocitos T. Los linfocitos T son un tipo de leucocitos pertenecientes al sistema linfoide y producidos en la médula ósea a partir de la célula madre inicial (Fig. 5). Los linfocitos T inmaduros se denominan timocitos, posteriormente maduran en el timo (de ahí su nombre), y constituyen el principal mecanismo de defensa contra microorganismos intracelulares. Estos linfocitos se dividen en dos poblaciones principales: linfocitos T CD4+, que pertenecen a los linfocitos T helper (cooperadores), que secretan interleuquinas, y que se encargan de la respuesta inmunitaria frente a agentes extracelulares mediante el MHC de clase II, y los linfocitos T CD8+, pertenecientes al grupo de los linfocitos T citotóxicos, que eliminan células infectadas y tumorales, en general agentes intracelulares

mediante el MHC de clase I. La expresión de dos factores de transcripción, ThPOK y Runx3, es crucial para decidir la diferenciación del timocito entre uno de los dos destinos celulares. Aquí Intervienen células específicamente sensibilizadas, es decir, células que llegan a tener contacto con el antígeno y actúan por citotoxicidad directa o liberación de mediadores específicos del antígeno. Este tipo de inmunidad es fácilmente transmisible por transferencia de células, pero no lo es por transferencias de suero^[32]. Estudios recientes han demostrado el alto grado de similitud entre las respuestas inmunitarias en insectos y en mamíferos, por ejemplo, *Drosophila melanogaster* se ha tomado como modelo para el estudio comparativo de la inmunidad entre ambas especies^[12, 33].

- **Inmunidad humoral:** está mediada por moléculas con especificidad para el antígeno, los anticuerpos o inmunoglobulinas (Ig), secretados por los linfocitos B y producidos a distancia de su sitio de acción, aunque también pueden actuar como CPA. Los linfocitos B tienen dos procesos de maduración y diferenciación: primero se producen en la médula ósea, que no está expuesta a los antígenos, y posteriormente maduran en el nódulo linfático. En esta segunda etapa, el linfocito B, mediante la unión de antígenos y coestimulación (linfocitos T cooperadores), se diferencia en otros tipos de células: células plasmáticas (producen las inmunoglobulinas o anticuerpos) y los linfocitos de memoria^[5]. Los anticuerpos producidos, son responsables de la neutralización de antígenos mediante la unión a ellos, de modo que se conviertan en objetos más fáciles para los fagocitos. Las células plasmáticas mueren a los pocos días pero los anticuerpos permanecen durante más tiempo. Las inmunoglobulinas son un tipo de proteínas específicas para un único antígeno, por lo que hay muchos tipos de células B en el cuerpo. Todas las células plasmáticas que descienden de un solo linfocito B producen el mismo anticuerpo, anticuerpos monoclonales, que está dirigido contra el mismo antígeno. Los linfocitos B de memoria permitirán que los futuros contactos con el mismo microorganismo sean más eficaces y tempranos, respondiendo casi inmediatamente ante el mismo antígeno y produzcan los anticuerpos pertinentes a mayor velocidad.

La vacunación, es un logro que ha permitido reproducir la inmunidad humoral y la transferencia pasiva de anticuerpos monoclonales. Sin embargo, actualmente también se contempla el empleo de vectores, tales como virus, en vacunas ya que parecen ser efectivos en la administración de transgenes que codifican anticuerpos^[32, 33].

Los anticuerpos o Inmunoglobulinas, son inmunocomplejos proteicos que poseen una fracción constante (Fc), que determina su clase (IgG, IgA, IgM, IgD e IgE) y función biológica, y una región variable (Fab), que constituye la zona de unión al antígeno (Fig. 10).^[33]

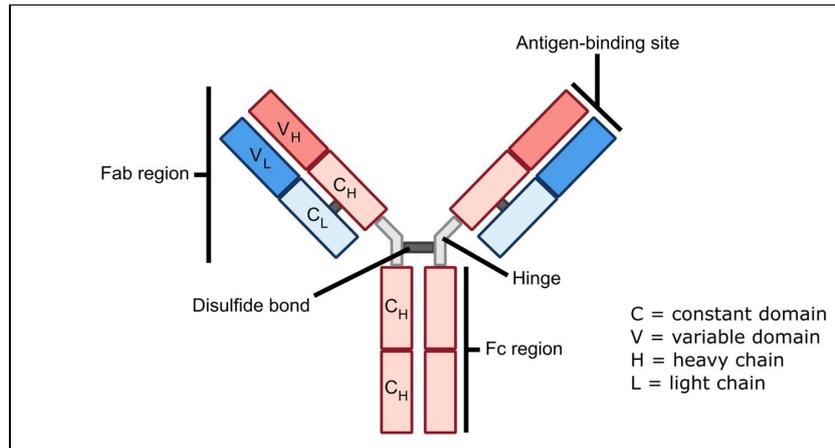


Figura 10. Estructura de una inmunoglobulina

Existen cinco isotipos de inmunoglobulinas o anticuerpos:

- IgM: M de macroglobulina, por su tamaño. Es la primera que se genera, por lo tanto es sinónimo de infección aguda. Puede encontrarse como receptor de los linfocitos B.
- IgD: está asociada a la membrana de estos linfocitos.
- IgA: función de defensa inmune en las mucosas.
- IgG: importante en infecciones crónicas y en transferencia inmunitaria vía materno-fetal, ya que es la única capaz de atravesar la placenta por su tamaño.
- IgE: implicada en los fenómenos de hipersensibilidad, alergias e infecciones parasitarias.

Sobre la síntesis de anticuerpos se han desarrollado diversas teorías. Una de las primeras fue la *teoría de las cadenas laterales* de Ehrlich^[4], la cual enuncia que al combinarse un antígeno con un receptor que previamente han sintetizado las células B, se desencadena la producción y secreción por parte de la célula de más receptores del mismo tipo.

Dicha teoría no fue totalmente admitida, por lo que se desarrolló la *hipótesis instructiva*, según la cual una molécula de anticuerpo flexible sería modificada por el antígeno, dando lugar a un punto de unión complementario. Posteriormente, los avances en biología molecular hicieron que esta hipótesis fuese insostenible, provocando que Jerne y Burnet^[4] elaborasen la *teoría de la selección clonal* siguiendo en la vía de las teorías selectivas, según esta, cada linfocito produce un único tipo de inmunoglobulina, y el antígeno selecciona y estimula las células que producen el tipo de inmunoglobulina adecuado. Pero esta hipótesis no explicaba la diversidad de anticuerpos, por lo que, posteriormente, se propuso el concepto de *mutación somática*, según el cual un número relativamente pequeño de genes de las células germinales da lugar a muchos genes mutados a lo largo de la vida del individuo.

Pueden existir diversos anticuerpos frente a un mismo patógeno, cada uno de los cuales se unirá a un antígeno diferente de la superficie del mismo. Cada anticuerpo se une a una región concreta de la molécula de antígeno, que se denomina epítopo. Los anticuerpos son específicos de un epítopo, y no de la molécula de antígeno completa^[29].

Cuando un antígeno se encuentra con un anticuerpo, estos últimos establecen enlaces no covalentes con el antígeno y los aminoácidos del punto de unión. Estas fuerzas son débiles en comparación con los enlaces covalentes. Sin embargo, como se establecen múltiples interacciones, la energía total de la unión es elevada y esto condicionará el éxito de la respuesta inmune.

En general, la capacidad de reconocimiento específico de cada antígeno, por parte de los linfocitos (T o B), se debe a la expresión de receptores a los diferentes antígenos existentes y se denomina cluster de linfocitos, el cual es extremadamente amplio (los linfocitos T CD4 y CD8 son dos claros ejemplos de clusters). El repertorio de linfocitos se genera por la existencia de tres familias de receptores que, mediante recombinaciones génicas, son capaces de generar una diversidad que les permita reconocer a casi cualquier antígeno existente. Estos receptores son las moléculas de histocompatibilidad o antígenos leucocitarios humanos, los receptores de linfocitos T (TCR) y los receptores de linfocitos B (BCR)^[33].

Los receptores de células T reconocen el antígeno expuesto en las superficies celulares en forma de péptidos unido al MHC de la CPA. Además, cada linfocito T, expresa un TCR único. Esto asegura una amplia gama de variantes moleculares capaces de reconocer cualquier antígeno presentado.

Por tanto, la presentación de antígenos resulta ser una herramienta imprescindible, tanto en la inmunidad innata como adquirida a la hora de desencadenar ambos procesos. El término “presentación de antígenos” se inició en 1970 con Zinkernagel y Doherty^[15], quienes recibieron un premio Nobel. Hoy en día, se conoce que los linfocitos T son capaces de reconocer antígenos solamente si estos se encuentran en la superficie celular, después, estos antígenos son capturados, procesados y presentados en forma de fragmentos peptídicos, principalmente por la familia de glicoproteínas HLA (Fig. 11).

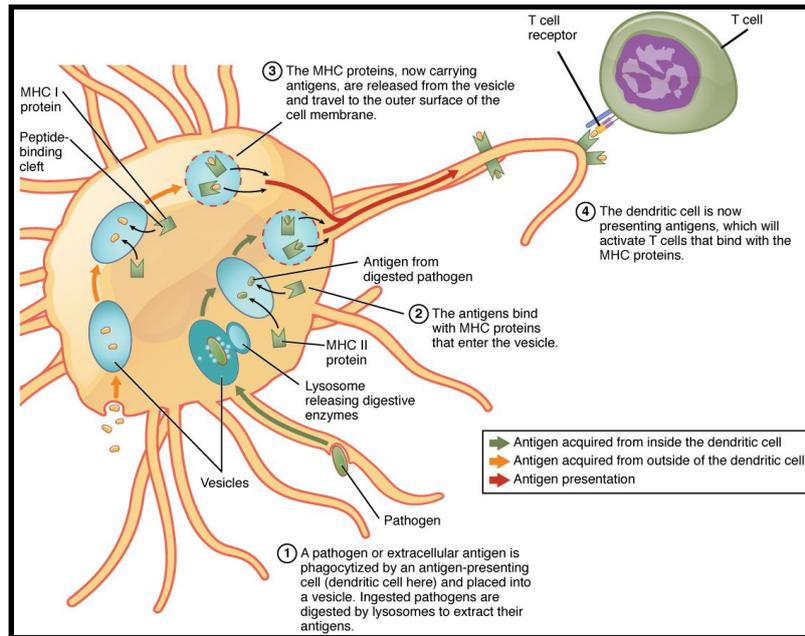


Figura 11. Mecanismos celulares para la presentación antigénica

La presentación de antígenos explicaría fenómenos como la educación tímica, la respuesta contra las infecciones, el rechazo de transplantes, la autoinmunidad e incluso la inmunidad tumoral^[15]. Un resumen esquemático de las células y los mecanismos implicados tanto en la inmunidad innata como en la adquirida aparecen en la Fig. 12.

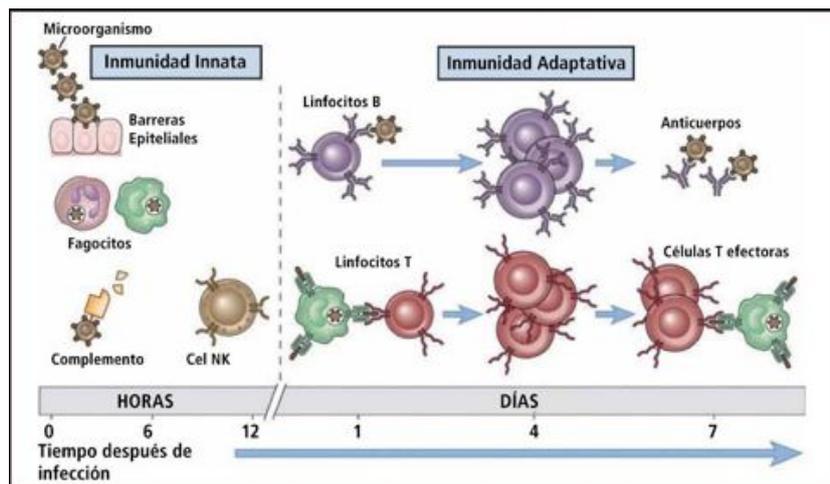


Figura 12. Esquema de la inmunidad innata y adaptativa

2.2. Éxito de la respuesta inmune

El éxito de la respuesta inmunitaria depende, entre otras condiciones, del lugar donde se produzca la infección, así como del agente patógeno implicado. Por lo que resulta importante diferenciar entre aquellos patógenos que invaden las células del hospedador y los que no son capaces de hacerlo. Por ejemplo, los virus, algunas bacterias y protozoos se reproducen en el interior

celular del hospedador, por lo que la tarea del sistema inmunitario consiste en reconocer y destruir dichas células infectadas y así, conseguir erradicar la infección.

Cuando el sistema inmunitario actúa contra agentes patógenos extracelulares, su objetivo es destruir al propio agente y neutralizar sus productos. Por el contrario, cuando se trata de agentes intracelulares, el sistema dispone de dos estrategias diferentes: los linfocitos T pueden destruir a la célula infectada (citotoxicidad) o pueden activar a la célula para que sea ella misma quien inactive al agente patógeno^[26].

Una respuesta inmunitaria consta de dos fases: reconocimiento del antígeno y reacción para erradicarlo. En las respuestas inmunitarias adquiridas, las células encargadas de reconocer al antígeno son los linfocitos, y el proceso que hace que esto posible es la selección clonal, que es la proliferación de las células que reconocen un antígeno específico^[5].

Al principio, el término *antígeno* (del inglés, *antibody generator*: generador de anticuerpos) se aplicó a toda molécula capaz de inducir la producción de anticuerpos específicos por parte de los linfocitos B. Hoy en día, se emplea para cualquier molécula con capacidad de ser específicamente reconocida por el sistema inmunitario adquirido, es decir, células T (TCR), B (BCR) o ambas^[38].

Se definen a los *anticuerpos* como las sustancias cuya producción es provocada mediante la administración de antígenos o de haptenos unidos a un portador y capaces de unirse específicamente a este antígeno o este hapteno. Los *haptenos* son moléculas que reaccionan con los anticuerpos pero que por sí mismos, en su forma libre y soluble, no pueden inducir la producción de éstos porque no se unen a los BCR y por lo tanto no reclutan a los linfocitos T. Sin embargo, cuando se unen a una proteína portadora, se vuelven inmunogénicos, ya que la proteína transporta a múltiples haptenos que ahora sí podrán unirse a los receptores de los linfocitos B. La respuesta inmune contra el hapteno es dependiente de las células T y requiere la captación, el procesamiento y la presentación de péptidos en moléculas MHC de clase II por parte de las células presentadoras de antígenos a la célula T específica^[31, 14].

Factores como la cantidad, la clase, la subclase y la afinidad de los anticuerpos producidos contra un cierto antígeno, así como el desencadenamiento o no de una respuesta inmune celular, dependen de la conformación química de dicho antígeno, así como de las condiciones de inmunización y factores genéticos del propio hospedador.

La naturaleza y cantidad de los anticuerpos producidos dependen de la cantidad inoculada de antígeno. Por lo tanto, bajas cantidades de anticuerpos se relacionarán con dosis bajas de

antígenos, pero estos anticuerpos son de gran afinidad y poseen una alta especificidad para el antígeno. Este hecho estimula a los linfocitos T, lo que explica la inducción de una memoria inmunológica con dosis que no provocan una producción de anticuerpos evidenciable y la posible obtención de una inmunidad mediada por células sin anticuerpos circundantes.

La vía de administración de un antígeno también tiene gran influencia sobre la naturaleza de la respuesta inmunitaria. La más empleada es la parenteral y permite un contacto rápido entre el antígeno y las células inmunocompetentes de los linfonodos regionales en caso de inmunización intradérmica, subcutánea o intramuscular, o del bazo tratándose de inmunización intravenosa. Se pueden observar importantes variaciones de la inmunización de acuerdo con la vía de administración. La vía digestiva que se emplea para algunas vacunas, implica el riesgo de desnaturalización.

La administración simultánea de varios antígenos puede provocar un efecto sinérgico en la producción de los anticuerpos. Por el contrario, la administración de los antígenos con dos o tres días de intervalo puede reducir la respuesta ante el segundo antígeno. Este es el fenómeno de *competencia antigénica*^[9].

2.3. Vacunación

En la actualidad, el claro ejemplo de inmunidad adquirida podríamos decir que es la que se activa tras una vacunación. Las vacunas nos ayudan a prevenir y controlar a las enfermedades infecciosas^[6].

El término *vacuna* se acuñó debido a que la primera vacuna procedía del virus de la vacuna o *vaccinia*, que es una enfermedad que afecta al ganado bovino. Se reconoce a Pasteur como uno de los padres de la vacunación ya que afirmó que era posible emplear preparados de microbios modificados para producir un incremento de la respuesta inmunitaria frente al agente virulento intacto.

Finalmente, con Burnet^[6] y la *teoría de la selección clonal* y al ser descubiertos los linfocitos T y B, se pudo saber que el antígeno o antígenos contenidos en una vacuna inducen la expansión clonal de las células T y/o B específicas, dando lugar a la formación de una población de células de memoria. Estas inducen una respuesta inmunitaria secundaria cuando se produce una nueva exposición al mismo antígeno (o antígenos), que es más rápida y eficaz que la respuesta primaria normal.

La vacunación se asienta en dos pilares clave de la inmunidad adaptativa: la especificidad y memoria del sistema inmunitario. Cuando se producen posteriores exposiciones a un antígeno previamente conocido, se desencadena una respuesta inmunitaria mucho más enérgica, se produce más rápidamente y con una mayor eficacia que la primera respuesta.

Para elaborar una vacuna se debe modificar el patógeno o sus toxinas, de manera que resulten inocuos, pero sin perder sus propiedades antigénicas. Esto es posible porque los anticuerpos y las células T reconocen determinadas partes del antígeno, los epítomos, y no al organismo ni a la toxina completa. También se pueden atenuar agentes infecciosos completos para que conserven sus propiedades antigénicas pero pierdan su patogenicidad^[6].

Existen muchos tipos de vacunas en función de la presentación del agente patógeno. Un tipo son las vacunas vivas, en las cuales, la estrategia más empleada consiste en atenuar al agente, para así reducir su virulencia sin provocar la desaparición de los antígenos. Las primeras referencias de este método, se corresponden con Calmette y Guérin^[5], que a través del cultivo *in vivo* durante 13 años de una cepa de *Mycobacterium tuberculosis* de origen bovino consiguieron transformarla en la cepa que conocemos actualmente como BCG (bacilo de Calmette-Guérin).

En un estudio realizado con el virus de la viruela del mono (MPXV), un patógeno con un curso de infección similar a la viruela, se identificaron regiones genómicas que contenían los genes de virulencia y se eliminaron dos. Se demostró que estas regiones se relacionaban con la replicación del virus, la propagación tisular y la mortalidad en ratones^[19]. Por consiguiente, la eliminación de cualquiera de estas regiones, conllevaba una disminución de la virulencia^[34].

La obtención de un patógeno atenuado se puede inducir mediante mutaciones aleatorias inducidas por el crecimiento del agente en condiciones no óptimas. Otro tipo son las vacunas inactivadas, compuestas por organismos íntegros pero inactivados.

Cuando el problema son las toxinas y no el agente en sí, podemos recurrir a las toxinas inactivadas y toxoides, que según algunos estudios, son las vacunas bacterianas más eficaces. Un *toxoides* es una toxina bacteriana cuya toxicidad ha sido atenuada o suprimida por un producto químico (formol) o por efectos del calor, mientras que se mantienen otras propiedades, como su inmunogenicidad.

Un dato curioso, es que el toxoide tetánico se puede emplear como “portador” para otras vacunas, ya que la mayor parte de la población ha sido vacunada frente al tétanos, por lo que poseen células T de memoria que reconocen la toxina.

También es posible introducir el gen adecuado en un vector, inyectarlo al paciente y dejar que el vector se replique y exprese el gen, con lo que se producirán grandes cantidades de antígeno *in situ*. Se ha sugerido que el virus de la vacuna podría ser un vector adecuado, un argumento en contra es que muchos individuos son inmunes a dichos virus, por lo que lo eliminarían con demasiada rapidez. Como alternativa se han propuesto prácticamente todas las vacunas atenuadas.

Otra posibilidad es utilizar como vectores vacunas bacterianas atenuadas. La BCG parece el candidato más adecuado, ya que según los estudios realizados, su genoma tiene el tamaño suficiente para albergar genes procedentes de todos los organismos para los que se pretenda elaborar la vacuna^[6].

Por lo tanto, en la vacunación está implicada la inmunidad adaptativa pero también la innata. El éxito a la hora de elaborar una vacuna consiste en obtener preparados antigénicos del patógeno que:

- Se puedan administrar con seguridad.
- Sean estables durante el período de almacenamiento: importante en las vacunas vivas.
- Induzcan el tipo de inmunidad adecuado.
- Sean suficientemente inmunogénicas.
- Sean asequibles para la población a la que estén destinados. En los seres humanos, la salud, así como el bienestar de éstos son los factores más importantes, mientras que en los animales destinados a la alimentación, la rentabilidad es uno de los factores clave. Un dato es que las vacunas humanas se pueden comercializar a más de 100€ por dosis, mientras que el precio de las vacunas para la industria ganadera no suele ser más de unos euros por dosis^[6].

El objetivo final de la vacunación, por lo tanto, es inducir un estado de inmunidad protectora de larga duración contra la infección con patógenos vivos y prevenir enfermedades infecciosas clínicamente relevantes. Para ello, ha sido necesaria la intervención de los adyuvantes. El propósito de éstos es ayudar a la función del sistema inmune (del latín *adjuvare* significa "ayudar"), de modo que un microorganismo coadministrado o una proteína inofensiva o polisacárido se vuelven más inmunogénicos, provocando un aumento de la intensidad de la respuesta inmunitaria, estimulando poblaciones celulares como macrófagos o linfocitos T y B^[18].

El primer adyuvante data de 1925, cuando el veterinario francés Gaston Ramon^[6] observó que añadiendo diferentes sustancias, como cloruro cálcico, saponinas, almidón, aceite vegetal y bacterias, a la vacuna "anatoxina diphtherica" para caballos, se propiciaba la inflamación en el lugar

de inoculación. Ramon añadió pus a dicha vacuna y contempló un aumento en la producción de los anticuerpos. Más tarde, se descubrió que añadiendo tapioca o migajón de pan, se podían obtener los mismos efectos^[6].

Hoy en día se sabe que la eficacia de las vacunas depende de la presencia de un adyuvante junto con el antígeno, y de entre todos los tipos que existen, los que contienen aluminio (Al), descubiertos por primera vez en 1926 por Alexander T. Glenny^[21] y sus compañeros, son actualmente los más empleados^[21].

Glenny y colaboradores,^[21] observaron que si se precipitaba al antígeno en partículas insolubles de aluminio y sulfato de potasio, se obtenían mejores respuestas de anticuerpos que si se inoculaba el antígeno solo. Por lo que estos adyuvantes comenzaron a ser empleados en vacunas contra *Clostridium tetani* y *Corynebacterium diphtheriae*. Glenny creía que estos adyuvantes actuaban como un “efecto depósito” porque hacían que el antígeno permaneciera en el organismo durante mucho tiempo y que este se liberase lentamente^[21].

Parece ser, que el alumbre (sulfato potásico de aluminio) es reconocido por los monocitos y hace que estos se conviertan en células dendríticas con capacidad inmunogénica. También se sabe que los adyuvantes activan, en el sitio de inoculación, a las células del estroma, lo que atrae a las células inmunes innatas al sitio de inyección^[18]. Actualmente se conoce que se desencadena una respuesta inmune de tipo T helper, respuesta celular.

Las soluciones de antígenos precipitadas por el alumbre provocan, en el sitio de la inyección, el desarrollo de un granuloma local que contiene, casi en su totalidad, macrófagos. El antígeno se libera lentamente a partir de este depósito, y una vez pasado el período de sensibilización, da lugar a una verdadera reacción secundaria.

El alumbre ha sido sustituido progresivamente por hidróxido de aluminio y fosfato de aluminio en las vacunas comerciales.

Algunos experimentos más actuales han demostrado que en las horas posteriores a la administración de las sales de aluminio a ratones, se detectan mediadores proinflamatorios como interleuquina-1 β (IL-1 β) 13, CC-quimiocina ligando 2 (CCL2, CC porque tienen dos cisteínas seguidas también conocido como MCP-1), CCL11 (también conocido como eotaxin-1) 7, la histamina y la IL-5.

Además, las células inflamatorias innatas como los neutrófilos, los eosinófilos, los monocitos inflamatorios, las células dendríticas mieloides y las células dendríticas plasmacitoides se reclutan en el sitio de la inyección con sales de aluminio en un solo día. Aunque los mediadores que contribuyen al reclutamiento de estos tipos de células infiltrantes aún no se han definido completamente, estos datos muestran claramente que las sales de aluminio tienen efectos, además del efecto de depósito, que explican sus propiedades adyuvantes^[21].

Las sales minerales, como las de aluminio, son relativamente seguras y rentables cuando se emplean como adyuvantes, de ahí que sean los principales empleados con tal fin. Demuestran una buena coadyuvancia en las vacunas contra los patógenos extracelulares: sin embargo, su aplicación en vacunas dirigidas a infecciones bacterianas intracelulares es limitada^[6].

Los adyuvantes desempeñan un papel importante en la dirección del isotipo y la cantidad de anticuerpo producido tras la inmunización. Se cree que los adyuvantes inducen la producción de interleuquinas y, por lo tanto, influyen en el desarrollo de las células T^[37].

Empleando interleuquinas recombinantes como adyuvantes se puede manipular la inducción de interleuquinas apropiadas en el organismo para que promuevan el desarrollo de la inmunidad protectora^[37].

Antiguamente se incluía dentro del grupo de los adyuvantes el fosfato de calcio en forma de hidroxiapatita, desarrollado por el Instituto Pasteur. El fosfato de calcio fue utilizado en vacunas contra la difteria, el tétanos, la tos ferina y la poliomielitis. Como casi la totalidad de los adyuvantes empleados, el fosfato de calcio puede causar pequeños nódulos subcutáneos palpables durante 30 días postvacunación. Posteriormente, estos nódulos son reabsorbidos dejando un depósito de calcio rodeado por una capa fibrosa acelular. Estos nódulos pueden ser evitados con inyecciones intramusculares profundas.

En los años 80, el fosfato de calcio fue sustituido por las sales de aluminio a pesar de ser clasificado como un compuesto seguro y biocompatible según la FDA (Food and Drug Administration), ya que está presente de manera natural en el organismo.

El fosfato de calcio tiene la ventaja, frente a las sales de alumbre, que es un compuesto natural para el organismo, y por consiguiente, puede ser bien tolerado. El mecanismo por el cual los macrófagos o células dendríticas captan las partículas de fosfato de calcio es la endocitosis. Los productos de degradación son calcio e ión fosfato, que también están presentes en el organismo, concretamente en la sangre. En cambio, el hidróxido de aluminio no es biodegradable, por lo que puede retenerse durante mucho tiempo, induciendo una posible toxicidad. Por lo tanto, se supone que las partículas biodegradables son más seguras que las que no lo son. Tal es así, que el fosfato de calcio es empleado en ortopedia y prótesis dentales.

Además, el fosfato de calcio no induce un aumento en la tasa de IgE durante su uso en revacunaciones, a diferencia del hidróxido de aluminio. El incremento prolongado de las IgE podría provocar cuadros de hipersensibilidad en inyecciones regulares. El fosfato de calcio induce una producción muy baja de IgE probablemente por ser un constituyente natural del organismo.

También se ha estudiado el fosfato de calcio para desarrollar una vacuna contra el cáncer en ratón, ya que el punto crucial de las vacunas contra el cáncer es emplear el adyuvante apropiado. En esta línea, se conoce que la combinación del fosfato de calcio con magnesio, permite una inmunidad antitumoral sistémica más potente, que inhibe el crecimiento del tumor tanto in vivo como in vitro^[21].

2.4. Efectos adversos en la vacunación

En ocasiones, la vacunación no ejerce su función principal, que es impedir el desarrollo de la enfermedad contra la que se está vacunando, y provoca el desarrollo o bien de la enfermedad, o bien de otros síndromes asociados a los componentes de la vacuna y la respuesta que estos provocan en el organismo.

En 2008, hubo un resurgimiento de la Lengua Azul, una enfermedad infecciosa no contagiosa de distribución mundial, que afecta tanto a rumiantes domésticos como salvajes con importantes diferencias según las especies afectadas y que se incluye en la antigua lista A de la Oficina Internacional de Epizootias (OIE). Esta enfermedad es producida por un virus ARN del género *Orbivirus* (familia *Reoviridae*), y ante el peligro inminente de expansión de la enfermedad, hizo que la Unión Europea se viese obligada a vacunar a aproximadamente 90 millones de animales^[20].

Principalmente, en España, los animales recibieron vacunas inactivadas contra dos cepas del virus (serotipos 1 y 8 del virus de la Lengua Azul (vLA)), con un total de cuatro inoculaciones en menos de un mes entre la principal y los refuerzos. Esta situación provocó la aparición de un síndrome que no había sido descrito anteriormente, con una fase aguda seguida de una caquetizante crónica, con consecuencias devastadoras en la industria ovina.

En la *XXI Reunión de la Sociedad Española de Anatomía Patológica Veterinaria y XXVII Meeting of European Society of Veterinary Pathology* en 2009, se habló de la aparición de un síndrome neurológico asociado a una reacción adversa frente a las vacunas empleadas contra la Lengua Azul. Dicho síndrome, aparecía entre el cuarto y sexto día post-inyección en animales que habían recibido más de una dosis vacunal. Estos animales presentaban convulsiones, incoordinación, pedaleo, opistótonos, pérdida de visión, nistagmo, bruxismo e hipersalivación. Un porcentaje de los animales que se recuperaban mostraban cierto grado de desorientación y apatía. En la necropsia, los hallazgos fueron una meningoencefalitis purulenta y cambios vasculares, tales como hiperemia, edemas y hemorragias, pero no eran unas lesiones demasiado evidentes^[28].

Otros rebaños se vieron afectados por un síndrome caquetizante crónico que aparecía entre 7 y 60 días tras la administración de la última dosis de la misma vacuna que en el caso anterior.

Los trastornos de este síndrome eran principalmente nerviosos (inquietud, mordiscos a la lana), aunque también se acompañaban de pérdida de peso sin anorexia, disminución de la producción láctea y en fases terminales ataxia, ausencia de respuesta a estímulos, postración y muerte. En la necropsia, los animales presentaban atrofia serosa de la grasa, y microscópicamente, no se observaron lesiones de relevancia. En cuanto a las cifras de incidencia no existe un acuerdo. Algunos trabajos señalan la afectación tanto de animales jóvenes como de adultos, llegándose a alcanzar una morbilidad de hasta el 80% y una alta mortalidad, especialmente a medida que avanzó el proceso.

Con estos dos casos, no parecía descabellado pensar en la relación de los síndromes con la vacunación. Sin embargo, se desconocen los mecanismos. Una vacuna inactivada contra la Lengua Azul es BLUEVAC-1[®], la cual de un total de 2 ml. 4'15mg son de hidróxido de aluminio. (AEMPS, *Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2018*)

Los tratamientos antiparasitarios que se administraron previamente por vía oral ahora se inoculan por vía subcutánea y portan el mismo tipo de adyuvantes. Como resultado, un solo animal puede recibir una media de 4 inoculaciones con adyuvante de alumbre bajo la forma de sales de hidróxido de aluminio cada año^[20].

Parece que los adyuvantes que contienen aluminio no son simples vehículos de suministro de antígenos, sino que también inducen señales de peligro endógenas que pueden estimular el sistema inmunológico^[32].

2.5. Síndrome ASIA.

En 2011 Shoenfeld y Agmon-Levin^[30] hablaron por primera vez de un síndrome que se producía por la exposición a varios adyuvantes, y que se denominó Síndrome ASIA (síndrome autoinmune inflamatorio inducido por adyuvantes)^[32]. Algunos casos clínicos, así como enfermedades autoinmunes, incluyendo la esclerosis sistémica, el lupus eritematoso sistémico y la artritis reumatoide se han relacionado también con algunos adyuvantes. Sin embargo es un síndrome que desapercibido y es de difícil diagnóstico^[28, 35, 36].

En un estudio de Jara y colaboradores (Jara et al. 2016) se describieron 4479 casos de ASIA humano desde que se dió a conocer en 2011. De todos ellos, 305 se consideraron graves y la mayoría se desarrollaron por la vacunación del virus del papiloma humano (HPV), virus de la hepatitis B (HBV) y gripe (*Orthomyxoviridae*). Todos ellos, tenían como denominador común el aluminio como adyuvante junto con el antígeno viral^[11, 24].

Pero no solo se relaciona dicho síndrome con este adyuvante, pues en México y América Latina, donde las inyecciones de aceites minerales con fines cosméticos son muy frecuentes, han

sido estos las principales causas del síndrome ASIA, provocando una inflamación crónica a la que le sigue la formación de un granuloma y engrosamiento de la dermis^[35].

Las principales sustancias asociadas con ASIA son escualeno (síndrome de la Guerra del Golfo), hidróxido de aluminio (fenómenos posvacunación, miofascitis macrofágica) y silicona en la siliconosis. Todos estos síndromes comparten respuestas inmunes hiperactivas como su común denominador y un complejo similar de signos y síntomas^[34].

Parece ser que el riesgo de padecer una enfermedad autoinmune, se ve potenciado en pacientes con antecedentes de enfermedades autoinmunes endocrinas como la diabetes mellitus tipo 1 (DM1) o la tiroiditis autoinmune ya que estos procesos son inmunomediados. Por lo tanto, es posible que las enfermedades autoinmunes endocrinas puedan ser desencadenadas por adyuvantes. La mayoría de los estudios de estas enfermedades autoinmunes, incluido el síndrome ASIA, son escasos^[35].

En 2013, El equipo de Luján y colaboradores^[20] describieron una forma del síndrome ASIA, en ovejas comerciales, asociado a la reiterada inoculación de adyuvantes que contienen aluminio por medio de la vacunación. Este síndrome produce una fase aguda con una prevalencia menor del 0.5% en los animales del rebaño que aparece de 2 a 6 días después de una inoculación que contiene adyuvante, ya sea por vacunación o por tratamiento antiparasitario inyectable, y se caracteriza por un episodio neurológico agudo con baja respuesta a estímulos externos y meningoencefalitis. Sin embargo, las pérdidas directas debidas a la fase aguda son bajas y la mayoría de los animales se recuperan después de un período clínico de 2-3 días.

Existe también una fase crónica, que se observa en una mayor proporción de animales, como fue el caso durante las vacunaciones contra la Lengua Azul en España. La cantidad de animales afectados en un rebaño dado puede alcanzar casi el 100% y puede aparecer sin la concurrencia previa de la fase aguda en un rebaño dado. Dicha fase está desencadenada por factores externos, tales como las bajas temperaturas, sin tener ninguna relación con la edad de los animales. También está relacionada una condición corporal y estado nutricional deficiente, así como un alto nivel de producción de carne o leche. Esta fase, podría estar desencadenada por la persistencia del aluminio en el sistema nervioso central, así como la hiperestimulación crónica del sistema inmunitario por la vacunación rutinaria de las ovejas. Este estado, facilita la producción de autoanticuerpos que conducen al desarrollo de una enfermedad autoinmune.

En la fase aguda, los signos y síntomas asociados son una fase excitadora, incluso acompañada al principio de polifagia, seguida de debilidad, caquexia extrema, tetraplejía y como resolución la muerte del animal. Los rebaños afectados han mostrado incluso durante ésta última

fase un aumento en el número de abortos de etiología desconocida. Además, como se ha citado anteriormente, los rebaños llegan a presentar pérdidas de peso acusadas, tal y como se muestra en la Fig. 13, procedente del estudio de Luján y colaboradores^[20].

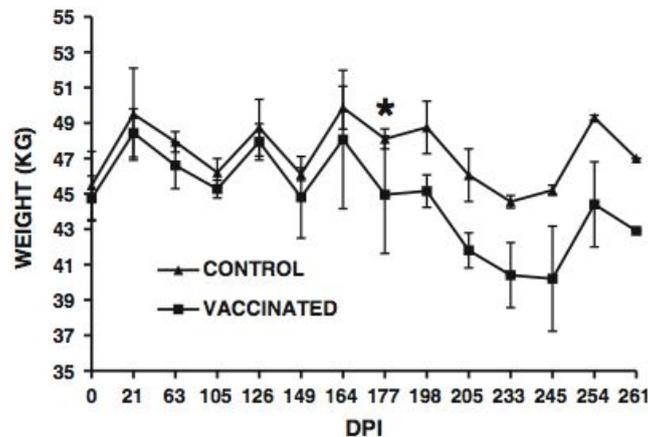


Figura 13. Gráfica que enfrenta peso con los días post vacunación, observando una acusada diferencia a partir del día 164.

En la necropsia, se observa macroscópicamente caquexia con atrofia muscular esquelética generalizada, tal y como se puede apreciar en la Fig. 13, pudiendo verse en algunos casos ascitis, hidrotórax e hidropericardio. Microscópicamente, las lesiones son compatibles con una meningoencefalitis aguda grave con inflamación de menor grado en la médula espinal, concretamente de la sustancia gris. Esta reacción inflamatoria está formada por un grupo celular que incluye macrófagos, linfocitos, neutrófilos, eosinófilos y escasas células plasmáticas. La inflamación podría estar causada por la vehiculización del aluminio por parte de los macrófagos. Se sabe que los macrófagos cargados de sales de aluminio pueden liberar interleuquinas proinflamatorias tales como IL-1beta, IL-18 e IL-33, lo que conduce a una reacción inflamatoria perivascular severa con la presencia de macrófagos, linfocitos, neutrófilos y eosinófilos, todo esto no relacionado con ninguna otra enfermedad ovina. Sin embargo, el transporte de Al al sistema nervioso central puede ocurrir en todos los animales, independientemente de la aparición de síntomas clínicos agudos.



Figura 13. Ovino afectado por ASIA crónico. Nótese la pérdida de peso, lana, condición corporal y desarrollo muscular del cuello^[20]

En este trabajo^[20] se llevó a cabo con éxito la reproducción experimental de ASIA ovino en un pequeño grupo de animales, detectándose aluminio, en su forma Al^{3+} en los tejidos, lo que indicaba la presencia del aluminio en el tejido nervioso de estas ovejas.

El síndrome de ASIA ovino puede utilizarse como modelo de otras enfermedades similares que afectan tanto a humanos como a animales^[20].

3. Objetivos

En la actualidad, la inmunidad es un tema en auge. De hecho el último Premio Nobel de Medicina ha sido otorgado al estadounidense James P. Allison y al japonés Tasuku Honjo, quienes han sido bautizados como “los padres de la inmunoterapia”. El jurado del Instituto Karolinska de Estocolmo ha galardonado a estos dos científicos por sus descubrimientos en la terapia contra el cáncer, en concreto por el descubrimiento de dos proteínas que ejercen función sobre los linfocitos T. Los hallazgos de ambos científicos han resultado esenciales para el desarrollo de la inmunoterapia contra los tumores.

James P. Allison, inmunólogo, comenzó estudiando una proteína llamada CTLA-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4), demostrando que, dicha proteína, actúa como freno para los linfocitos T en la identificación y combate contra determinadas células, entendiéndose así que realizando ciertas modificaciones, se podría conseguir el mismo resultado contra las células tumorales. En 1994 tomó forma esta idea desarrollando anticuerpos que inhiben la acción de la CTLA-4 impidiendo el bloqueo de los linfocitos. Se realizó un experimento en ratones demostrando la efectividad contra los tumores de los animales. Este principio, sirvió como base para desarrollar Ipilimumab®, el primer medicamento oncológico contra el melanoma metastásico^[3].

Por otra parte, Tasuku Honjo, descubrió la PD-1 (death protein), proteína que se expresa en la superficie de los linfocitos T, perteneciente al grupo de las CD28 y que al igual que la anterior, también impide que los linfocitos ataquen a los tumores. PD-1 se conjuga con la PD-2, expresándose ampliamente por los componentes del sistema inmunitario. La función principal de la PD-1 es mantener la tolerancia, y por lo tanto proteger al cuerpo frente a las auto-reacciones, es decir, reacciones contra los componentes propios del cuerpo. Los anticuerpos contra PD-1 son más efectivos que aquellos dirigidos contra CTLA-4, permitiendo tratamientos efectivos contra el cáncer de pulmón, renal, de piel y linfoma^[17].

En cambio, la combinación de ambos anticuerpos, aumenta la efectividad de la inmunoterapia en personas con melanoma.

Por lo tanto, comprender este complejo sistema e intentar relacionar la actuación de todos sus componentes en los diferentes eventos en los que actúan, resulta necesario hoy en día, para intentar resolver algunas dudas de las patologías, sobre todo de tipo crónico, que siguen afectando reiteradamente a humanos y animales y que en parte son debidas a las reacciones inmunes que median en estos procesos.

Así, el principal objetivo de este estudio es realizar un repaso de la inmunidad, sus componentes y factores implicados, además de los agentes externos, tales como vacunaciones, que pueden influir en la inmunidad, y sus consecuencias, que no siempre son las de proteger al individuo frente al agente o los agentes de los que se vacuna.

4. Metodología

Al ser un trabajo de revisión bibliográfica, la utilización de bases de datos como herramienta en su desarrollo ha sido crucial. Entre las bases de datos consultadas, destaca sobre todo PubMed pero también otros libros y apuntes de divulgación, principalmente los escritos por Bach, J. F. y Roitt y colaboradores.

5. Resultados

El resultado de esta investigación bibliográfica, por tanto, se ve reflejado en la propia introducción de esta memoria, ya que supone plasmar el estado del arte sobre diferentes aspectos de la composición y actuación del sistema inmune en el organismo. Y de cómo el ser humano ha intentado copiar estos mecanismos para conseguir una mejor actuación en el control de las enfermedades, aunque en determinadas ocasiones, como en el caso de la aparición del síndrome ASIA, hayan podido ser perjudiciales.

6. Conclusiones

- El sistema inmunitario está compuesto por un conjunto de células, moléculas, órganos y mecanismos, algunos de ellos muy complejos, que han sido muy difíciles de resumir en este trabajo, aunque muchos de estos mecanismos todavía son desconocidos, por lo que en el campo de la inmunología hay muchas posibles líneas de investigación abiertas.
- A pesar de que nuestro organismo parece una máquina perfecta, en cuanto a defensa inmunitaria, en ocasiones se producen errores, ganando la batalla los agentes patógenos que pueden superar las barreras que el sistema inmune le proporciona y desencadenar finalmente la enfermedad.

- El ser humano ha intentado vencer a los agentes patógenos por medio de la administración de las vacunas, pero como bien se ha explicado en este trabajo, en ocasiones resulta contraproducente, provocando síndromes, como el ASIA ovino, con resoluciones fatales, incluso peores que las que desencadenaría, en ocasiones, el propio patógeno frente al que se vacuna.
- Es importante buscar alternativas frente a los adyuvantes empleados, en este caso el hidróxido de aluminio. En futuros trabajos se plantea la posibilidad de rescatar el fosfato cálcico, empleado hace unas décadas y desplazado desde hace unos años por el aluminio como adyuvante principal, pues, como se ha citado anteriormente, el fosfato cálcico se encuentra en condiciones normales en nuestro organismo, por lo que las consecuencias que pudiese desencadenar, a priori, parecen menores que las que ocasiona el aluminio.

7. Valoración personal

Este trabajo ha sido muy fructífero para mi formación, me ha otorgado ciertas capacidades como saber documentar, estructurar y referenciar un trabajo oficial. Además, me ha enseñado a utilizar correctamente bases de datos científicas como PubMed.

Quisiera agradecer a mi tutora, Marta M^a Pérez Rontome, por su ayuda en la realización de este trabajo.

8. Bibliografía

- [1] Abbas, A.K., Litchman, A. H. and Pillai, S. *Inmunología celular y molecular*. Elsevier Saunders. (2012). 7. ed.
- [2] Akira, S., Uematsu, S. and Takeuchi, O. *Pathogen recognition and innate immunity*. Cell. (2006). 124(4): 783-801.
- [3] Allison, J. P. et al. (2017). *Distinct Cellular Mechanisms Underlie Anti-CTLA-4 and Anti-PD-1 Checkpoint Blockade*. Elsevier. Wei et al., 2017, Cell (170), 1120–1133.
- [4] Anderluh, G. and Gilbert, R. (2014). *MACPF/CDC Proteins - Agents of Defence, Attack and Invasion*. Netherlands: Springer.
- [5] Bach, J-F. (1984). *Inmunología*. México: Ed. Limusa, S.A.
- [6] Coffman, R. L., Sher, Al. and Seder, R. A. (2010). *Vaccine Adjuvants: Putting Innate Immunity to Work*. Immunity, 29.
- [7] Cossart, P. and Helenius, A. (2014). *Endocytosis of Viruses and Bacteria*. Cold Sprung Harbor Laboratory Press.
- [8] Cronkite, D. A. and Strutt, T. M. (2018) *The Regulation of Inflammation by Innate and Adaptive Lymphocytes*. Journal of Immunology Research.
- [9] Deal, C. E. and Balazs, A. B. (2015). *Engineering Humoral Immunity as Prophylaxis or Therapy*. Curr Opin Immunol, 35.
- [10] Dukkipati, V. S. R., Blair, H. T., Garrick, D. J. and Murray, A. (2006). "Ovar-Mhc" - ovine major histocompatibility complex: structure and gene polymorphisms. Genetics and Molecular Research, 5.
- [11] Esposito, S. et al. (2014). *Autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants (ASIA): clues and pitfalls in the pediatric background*. Immunol Res, 60.
- [12] Fauvarquez, M-O. and Williams, M. J. (2011). *Drosophila cellular immunity: a story of migration and adhesion*. Journal of Cell Science, 124. The Company of Biologists Ltd.
- [13] Fernández, K. S. et al. (2013). *Development of the Hematopoietic System and Disorders of Hematopoiesis that Present During Infancy and Early Childhood*. Elsevier. Pediatr Clin (60).
- [14] Gefen, T. et al. (2015). *The effect of haptens on protein-carrier immunogenicity*. British Society of Immunology. Immunology (144-1).

- [15] Goldberg, A. C. (2015). *MHC structure and function – antigen presentation*. Einstein, 13 (1).
- [16] Heath, W.R. and Carbone F.R. *Dendritic cell subsets in primary and secondary T cell responses at body surfaces*. Nat. Immunol. (2009). 10(12)137-1244.
- [17] Honjo, T. et al. (2017). *Role of PD-1 in Immunity and Diseases*. Springer International Publishing AG. Current Topics in Microbiology and Immunology.
- [18] Lambrecht, B. N. et al. (2009). *Mechanism of action of clinically approved adjuvants*. Immunology, 21.
- [19] Lopera, J. G. et al. (2014). *Attenuation of monkeypox virus by deletion of genomic regions*. Virology, 475.
- [20] Luján, L. et al. (2013). *Autoimmune/autoinflammatory syndrome induced by adjuvants (ASIA syndrome) in commercial sheep*. Springer. Immunol Res.
- [21] Marrack, P., McKee, A. S. and Munks, M. W. (2009) *Towards and understanding of the adjuvant action of aluminium*. Nat Rev Immunol. (9)
- [22] Masson, J. D. et al. (2016). *Calcium phosphate: a substitute for aluminum adjuvants?*. Taylor and Francis. Expert review of vaccines (16).
- [23] Max Planck Institute of Immunobiology and Epigenetics. (2014). *Origin and Evolution of Adaptive Immunity*. Annual Review of Animal Biosciences.
- [24] Perricone, C. et al. (2013). *Autoimmune/Inflammatory syndrome induced by adjuvants (ASIA) 2013: Unveiling the pathogenic, clinical and diagnostic aspects*. Journal of Autoimmunity, 47.
- [25] Riera Romo, M., Pérez-Martínez, D. and Castillo Ferrer, C. (2016). *Innate immunity in vertebrates: an overview*. Immunology, 148.
- [26] Roitt et al. (2000). *Inmunología*. (5a ed.) Madrid: Ediciones Harcourt, S.A.
- [27] Sánchez-Cordón, P. J. et al. (2012). *Potential Role of Proinflammatory Cytokines in the Pathogenetic Mechanisms of Vascular Lesions in Goats Naturally Infected with Bluetongue Virus Serotype 1*. Transboundary and Emerging Diseases.
- [28] Sánchez-Cordón et al. (2009). *Lengua Azul: Vacunas, inmunomoduladores e inmunidad protectora*. Anales, 22.

- [29] Schultz, P. G., Yin, J. and Lerner, R. A. (2002). *The Chemistry of the Antibody Molecule*. Angew. Chem. Int, 41.
- [30] Shoenfeld, Y. and Agmon-Levin, N. (2011). "ASIA"- Autoimmune/Inflammatory syndrome induced by adjuvants. *Journal of Autoimmunity*, 36.
- [31] Stanfield, R. L. and Wilson, I. A. (2014). *Antibody Structure*. American Society for Microbiology, 2.
- [32] Tanaka, H. and Taniuchi, I. (2013). *The CD4/CD8 Lineages: Central Decisions and Peripheral Modifications for T Lymphocytes*. Springer. Current Topics in Microbiology and Immunology.
- Toche, P. (2012). *Visión panorámica del sistema inmune*. Rev. Med. Clin. Condes, 23 (4).
- [33] Toche, P. (2012). *Visión panorámica del sistema inmune*. Rev. Med. Clin. Condes, 23(4).
- [34] Vera-Lastra, O. et al. (2013). *Autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants (Shoenfeld's syndrome): clinical and immunological spectrum*. Expert Reviews Ltd (9).
- [35] Watad, A., David, P., Brown, S. and Shoenfeld, Y. (2017). *Autoimmune/Inflammatory Syndrome Induced by Adjuvants and Thyroid Autoimmunity*. *Frontiers in Endocrinology*, 7.
- [36] Watad, A. et al. (2018). *The autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants (ASIA)/Shoenfeld's syndrome: descriptive analysis of 300 patients from the international ASIA syndrome registry*. *Clin Rheumatol*, 37.
- [37] Wood, P. R. and Seow, H. F. (1996). *T cell cytokines and disease prevention*. Elsevier. *Veterinary Immunology and Immunopathology* (54).
- [38] Yang, G. et al. (2014). *Probing Antibody-Antigen Interactions*. American Society for Microbiology, 2.

9. Anexos.

A continuación se hace un repaso de las abreviaturas empleadas en este trabajo:

Ac-----	Anticuerpo.
AEMPS-----	Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.
Al-----	Aluminio.
ASIA-----	Síndrome autoinmune inflamatorio inducido por adyuvantes.
BCG-----	Bacilo de Calmette-Guérin.
BCR-----	Receptores de linfocitos B.
BCR-----	Receptor de células B.
CDs-----	Células dendríticas
CPA-----	Células presentadoras de antígeno.
CTLA-4-----	Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4.
DM1-----	Diabetes mellitus tipo 1.
Fab-----	Región variable.
FC-----	Fracción constante.
FDA-----	Food and drug administration.
Genes Ir-----	Genes de respuesta inmune.
HBV-----	Virus de la hepatitis B.
HLA-----	Antígenos leucocitarios humanos.
HPV-----	Virus del papiloma humano.
HT-----	Tiroiditis de Hashimoto.
Ig-----	Inmunoglobulina.
Il-1 β -----	Interleuquina-1 β . Il-1 β
Il-----	Interleuquina.
MCP-----	Monocyte chemoattractant protein.
M-CSF-----	Macrophage colony-stimulating factor.
MHC-----	Complejo Mayor de Histocompatibilidad/Major Histocompatibility Complex.
MIP-----	Proteínas inhibidoras de macrófagos.
MPXV-----	Virus de la viruela del mono.
NK-----	Natural killer.
OIE-----	Oficina Internacional de Epizootias.
PAF-----	Factor activador de plaquetas.
PD-----	Death protein.
SLA-----	Antígenos de histocompatibilidad porcinos.
TCR-----	Receptores de linfocitos T.



Th-----Linfocitos T helper.

PAMPs-----Patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs).

PRRs-----Receptores de reconocimiento de patrones (PRRs).

vLA-----Virus de la Lengua Azul.