

Vacunas: principios de acción y estrategias de desarrollo

Muchos patógenos han desarrollado mecanismos que le permiten evadir la respuesta inmune y no pueden ser eliminados en forma natural



importancia de las vacunas

Un poco de historia....

- Un individuo que se recupera de una enfermedad "infecciosa" no vuelve a contraerla (*Tucídides, sV AC*)
- El contagio es una infección que pasa de una cosa a otra... La infección es similar tanto en el portador como en el receptor del contagio... El término se utiliza con mayor corrección cuando la infección se origina en partículas pequeñas imperceptibles" (*G. Fracastoro, Univ.de Padua, 1546*)
- Prevención de la viruela: "variolización" practicada en Oriente (sXVI) e introducida luego en Inglaterra



Jenner extendió el concepto de contagio al estudio de la inmunidad producida en el receptor:

primera experiencia de
vacunación





Jenner extendió el concepto de contagio al estudio de la inmunidad producida en el receptor:

primera experiencia de
vacunación



La utilización masiva de las vacunas disponibles, en su mayoría desarrolladas empíricamente, ha tenido un enorme impacto en salud humana, sólo superado por la disponibilidad de agua potable

Cronograma de aparición de algunas de las principales vacunas de uso humano

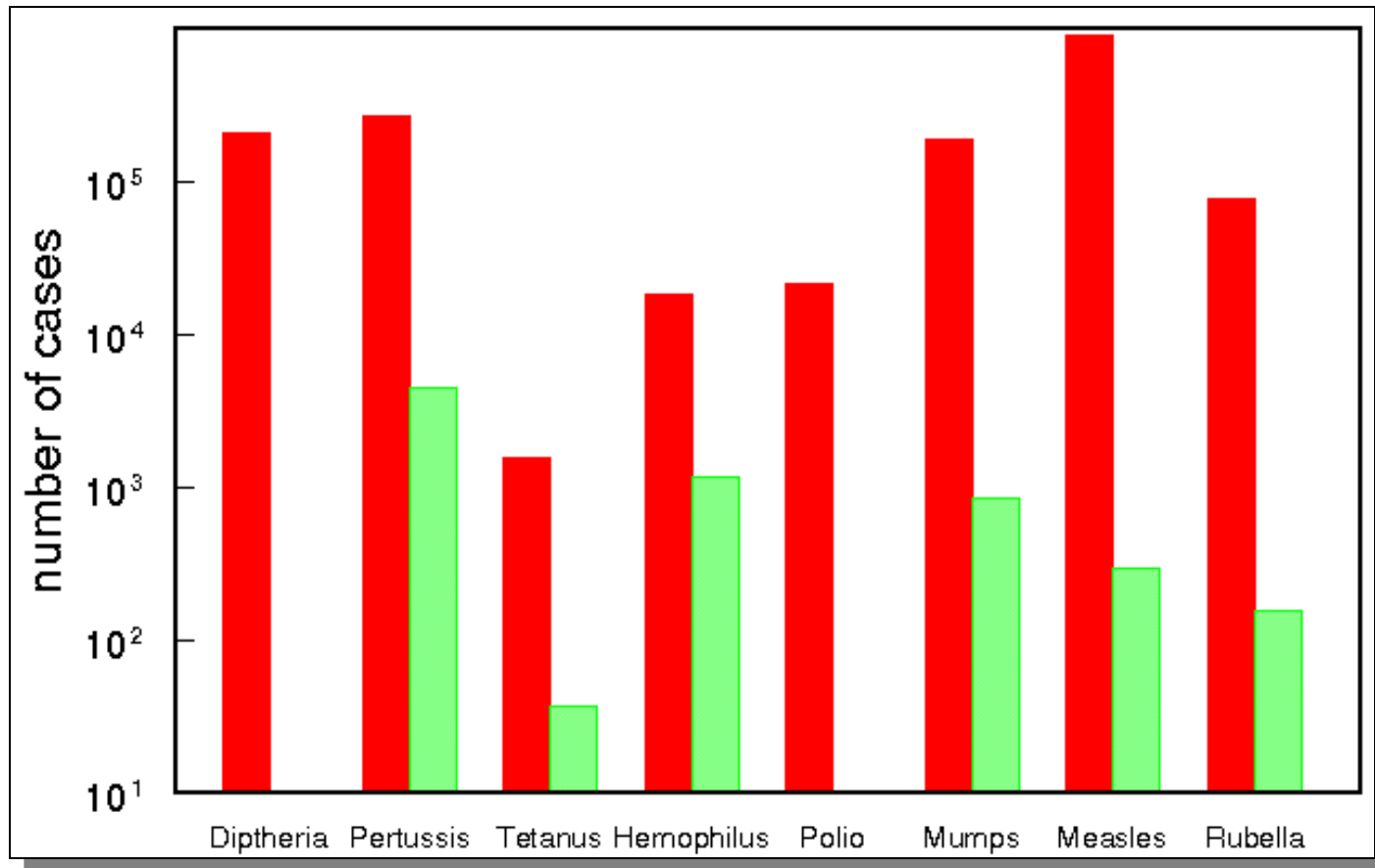
- **1796:** Vacunación contra la viruela
- **1885:** Vacuna contra la rabia
- **1921:** BCG
- **1925:** Toxoide diftérico, Toxoide tetánico y tos convulsa
- **1937:** Vacuna contra la fiebre amarilla
- **1943:** Vacuna contra influenza
- **1954:** Vacuna inactivada contra virus de la polio
- **1956:** Vacuna viva atenuada contra virus de la polio
- **1960:** Vacuna contra el sarampión
- **1966:** Vacuna contra la rubeola
- **1975:** Vacuna contra hepatitis B

- **1980:** Erradicación mundial de la viruela

Cronograma de aparición de algunas de las principales vacunas de uso humano

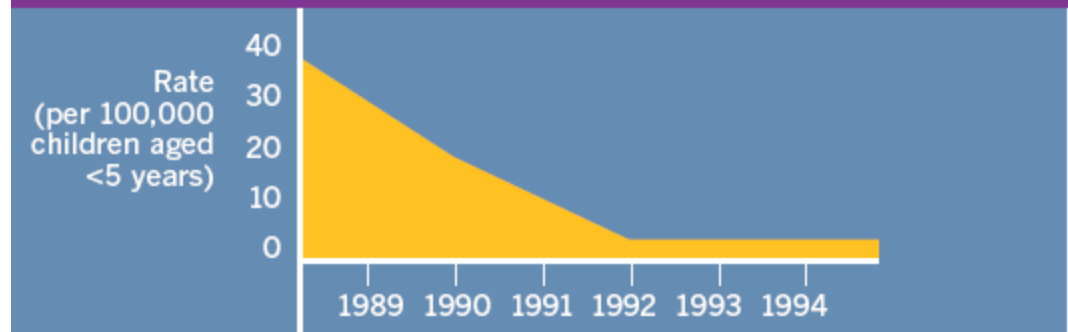
- **1986:** Primera vacuna recombinante (hepatitis B)
- **1988:** Vacuna conjugada contra *H. influenzae* B
- **1995:** Vacuna contra hepatitis A
- **2000:** Vacuna conjugada 7-valente *S. pneumoniae*
- **2007:** Vacuna contra HPV
- **2010:** Vacuna conjugada 13-valente *S. pneumoniae*
- **2010:** Vacuna contra cáncer de próstata

Incidencia pre- y post- vacunación de algunas enfermedades prevenibles



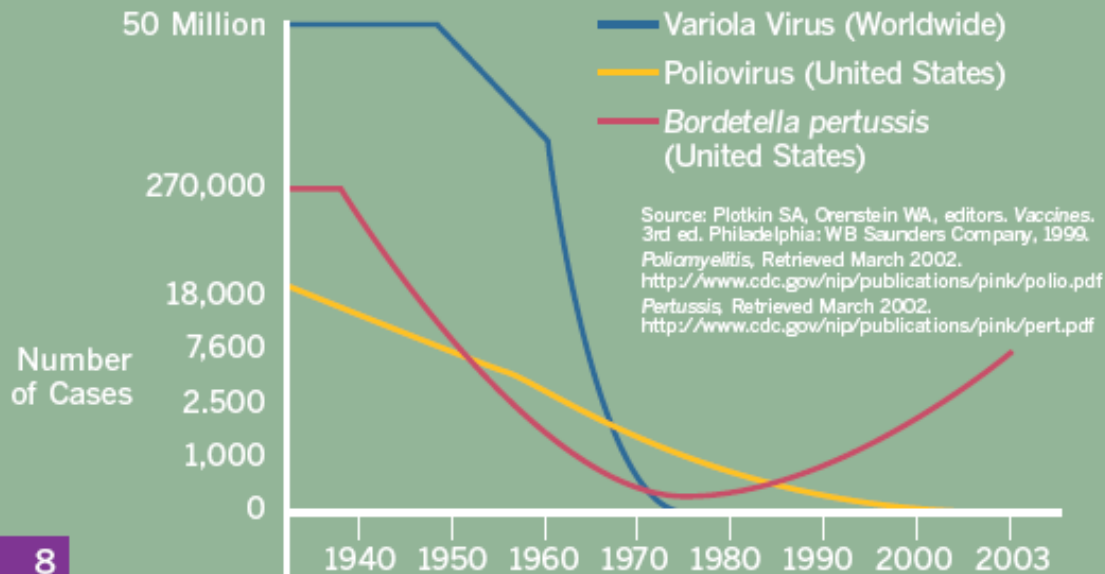
Incidencia pre- y post- vacunación de algunas enfermedades prevenibles.

Incidence rate of invasive *Haemophilus influenzae* type b (Hib) disease among children aged <5 years, United States, 1989-1994

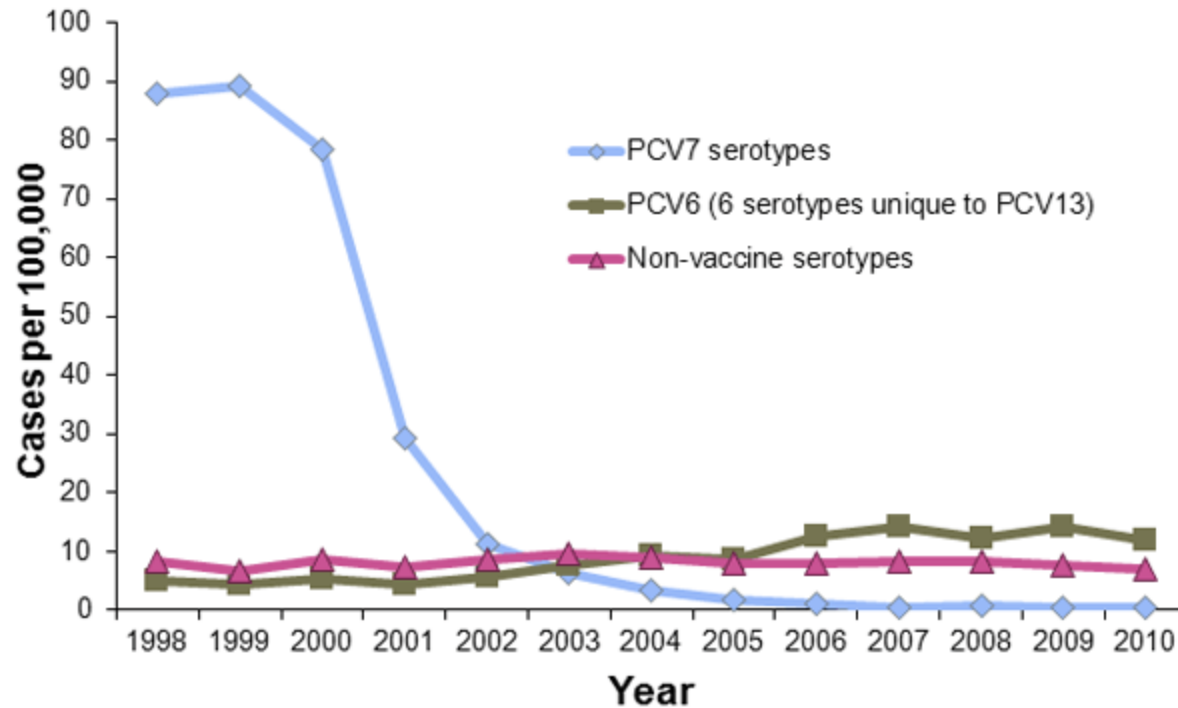


Source: Summary of Notifiable Diseases, United States, 1995. CDC Morbidity and Mortality Weekly Report.

Vaccines at Work



Incidencia pre- y post- vacunación de algunas enfermedades prevenibles



Rates of invasive pneumococcal disease among children aged <5 years - 1998-2010

**¿ Qué es y como funciona
una vacuna?**

¿ Qué es y como funciona una vacuna?

- Usa la capacidad de especificidad y memoria de la inmunidad adaptativa
- Preparado de uso profiláctico (prevención)
 - *Simular la infección natural pero sin generar enfermedad*
 - *Predesarrollar respuesta contra la(s) moléculas responsables de la enfermedad (toxinas)*
 - *Preinducir respuestas que normalmente no se inducen durante la infección*

Como funcionan: mecanismos efectores

- **Humorales: Anticuerpos, citoquinas**
- **Celulares: CTL (CD8, NKT, NK (ADCC)), macrófagos, neutrófilos**
- **Necesidad de adyuvantes para potenciar mecanismos efectores**

¿Que tipos de vacunas existen?

Tradicionalmente, se han utilizado:

- **Microorganismos vivos atenuados empíricamente / patógenos de otras especies**

- **Microorganismos muertos**

- **Antígenos purificados ("subunidades")**

Proteínas o polisacáridos del patógeno

- * Virus

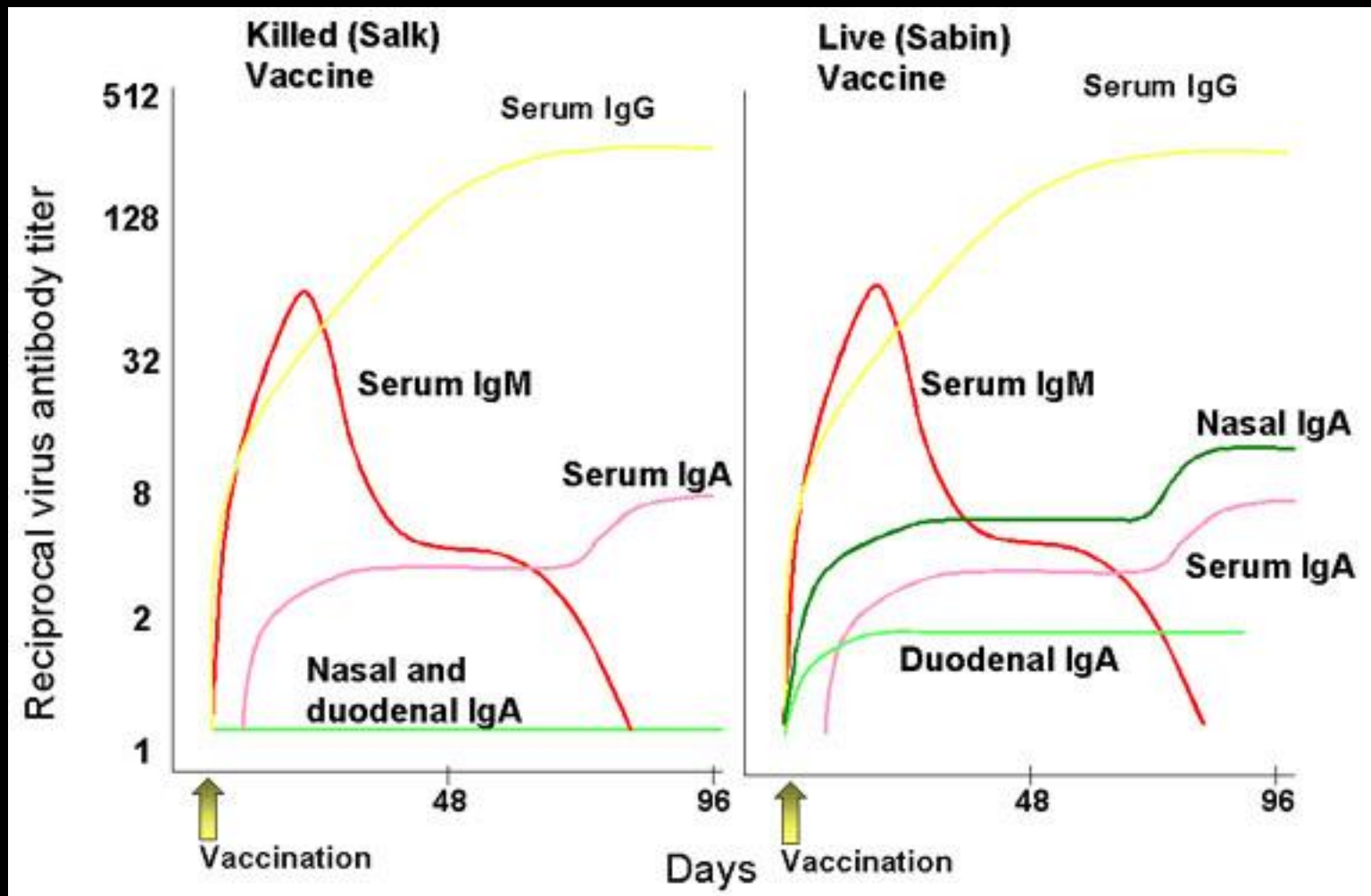
 - Ag de superficie (Hepatitis B: HBsAg)

- * Bacterias

 - Polisacáridos capsulares (ej: neumo y meningococo)

 - Exotoxinas modificadas (Toxoide tetánico)

El tipo de respuesta inmune inducida depende de las características de la vacuna



Impacto del uso de vacunas

- Ha tenido un impacto enorme en salud humana y animal, modificando sustancialmente la expectativa de vida de la población
- Ha permitido el control de patógenos:
 - *causantes de infecciones agudas, que generan inmunidad duradera*
 - *carentes de variación antigénica*
 - *para los que existen modelos experimentales*

Sin embargo:

- Las enfermedades infecciosas siguen siendo el principal problema de salud humana (y animal) en el mundo
- Algunos patógenos para los que existen vacunas, mantienen alta morbi/mortalidad, y no es posible una cobertura global con las vacunas actuales (*inmunidad no duradera, vacuna inestable*)
- Existen situaciones en las que el principio clásico de vacunación no es aplicable (*respuesta inmune débil, o no efectiva*)
- Necesidad de vacunas terapéuticas (HSV, cancer)

**Es necesario contar con nuevas y mas
eficaces vacunas**

Situación actual

En los últimos años se ha producido un avance espectacular en el diseño de nuevas vacunas como resultado de:

- incremento en el conocimiento de cómo los patógenos causan enfermedad
- avance en el conocimiento de la inmunología de las infecciones
- avances tecnológicos: ingeniería genética, secuenciación masiva de genomas de patógenos, etc.

Etapas para el desarrollo de una nueva vacuna

Investigación y desarrollo:

Definición del “principio activo” y demás componentes
Evaluación de la eficacia en modelos pre-clínicos



Desarrollo de un proceso productivo (escalado, GMP, etc.)



Ensayos clínicos pre-habilitación:

- Fase I y Fase II
- Fase III (habilitación de la vacuna) / Definición de rango de acción



Evaluación clínica pos-habilitación:

Fase IV: farmacovigilancia

Esencial para evaluar efectividad de largo aliento; reacciones adversas raras y eficacia en poblaciones diferentes

Diseño racional de nuevas vacunas e inmunoterapias

Estrategias de desarrollo

*Dirigidas a generar una respuesta inmune mas efectiva contra cada **patología** en particular*

- Definición precisa de antígenos relevantes
- Entrega eficiente del antígeno al sistema inmune
- Mejoras en la aplicabilidad
- Mejora en la presentación antigénica e inducción de mecanismos efectores
- Localización de la respuesta

Estrategias de desarrollo

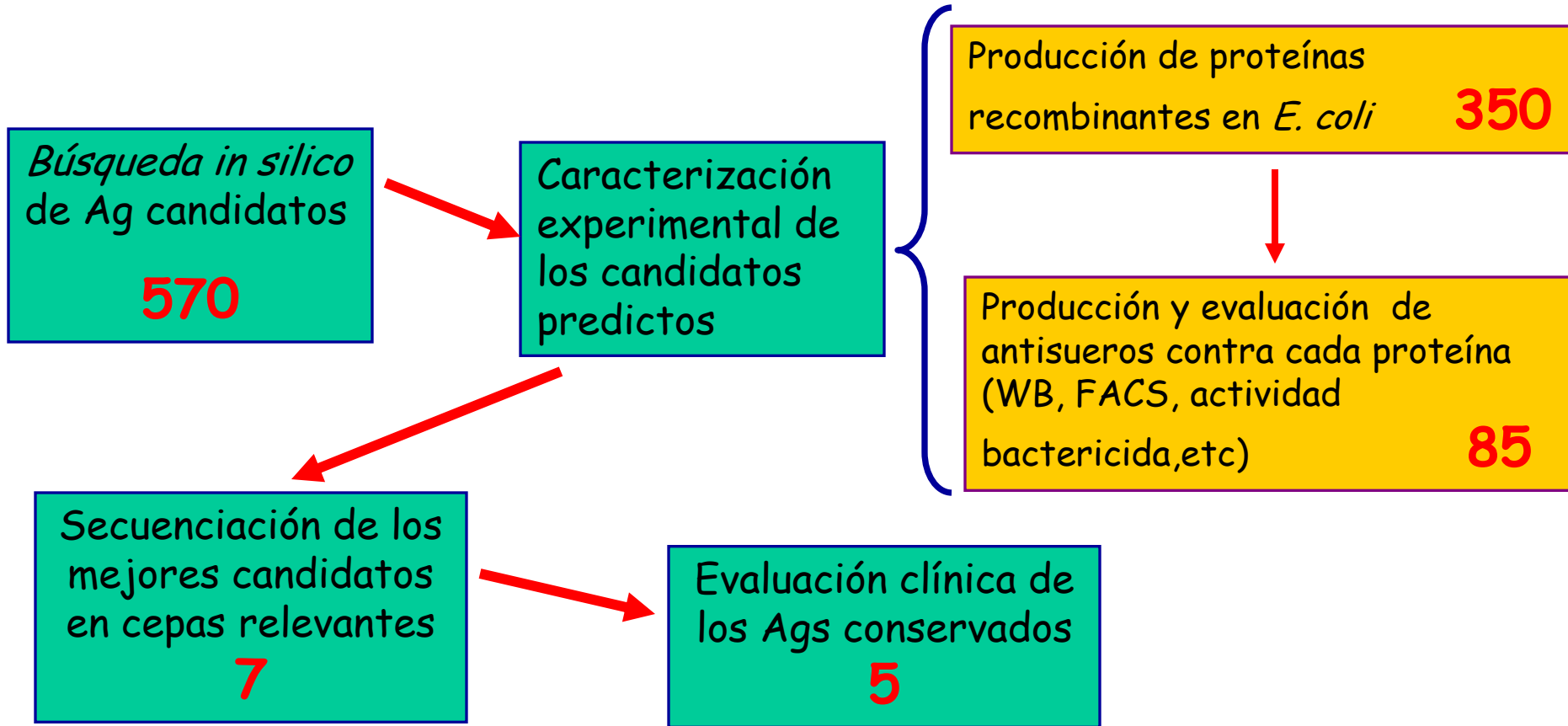
*Dirigidas a generar una respuesta inmune mas efectiva contra cada **patología** en particular*

- Definición precisa de antígenos relevantes
(proteínas, polisacáridos, DNA, RNA)

Uso de la información
genómica para el desarrollo
de nuevas vacunas:

“In-Silico screening”:
Vacunología Reversa

Vacunología reversa para desarrollo de vacuna contra *N. meningitidis* serogrupo B



A universal vaccine for serogroup B meningococcus

Marzia M. Giuliani*, Jeannette Adu-Bobie*, Maurizio Comanducci*, Beatrice Aricò*, Silvana Savino*, Laura Santini*, Brunella Brunelli*, Stefania Bambini*, Alessia Biolchi*, Barbara Capecchi*, Elena Cartocci*, Laura Ciocchi*, Federica Di Marcello*, Francesca Ferlicca*, Barbara Galli*, Enrico Luzzi*, Vega Masignani*, Davide Serruto*, Daniele Veggi*, Mario Contorni*, Maurizio Morandi*, Alessandro Bartalesi*, Vanda Cinotti*, Donatella Mannucci*, Francesca Titta*, Elisa Ovidi[†], Jo Anne Welsch[‡], Dan Granoff[‡], Rino Rappuoli*[§], and Mariagrazia Pizza*

*Novartis Vaccines, Via Fiorentina 1, 53100 Siena, Italy; [†]Centro Interdipartimentale di Microscopia Elettronica, University of Tuscia, 01100 Viterbo, Italy; and [‡]Children's Hospital Oakland Research Institute, Oakland, CA 94609

This contribution is part of the special series of Inaugural Articles by members of the National Academy of Sciences elected on May 3, 2005.

Contributed by Rino Rappuoli, May 12, 2006

Estrategias de desarrollo

*Dirigidas a generar una respuesta inmune mas efectiva contra cada **patología** en particular*

- Definición precisa de antígenos relevantes
- Entrega eficiente del antígeno al sistema inmune

Vectores vivos

- **Vectores basados en organismos vivos**
- **Hacen uso de su ruta natural de entrada (oral, tracto respiratorio) para estimular respuestas eficientes**

Bacterias como vectores para entrega de antígenos in vivo

- Inducen amplio rango de respuestas inmunes:
 - Diferentes PAMPs / rutas de entrada / ciclos de vida, etc.
- Pueden expresar simultáneamente antígenos de diversos patógenos (**vacunas multivalentes**)
- Pueden acomodar amplio rango de antígenos
- En general seguras:
 - cromosoma estable / duplicación de mutaciones atenuantes / no integración en cromosoma del hospedador

Bacterias como vectores para entrega de antígenos in vivo

- *Salmonella enterica*
- *Listeria monocytogenes*
- *Shigella flexneri*
- BCG
- *Vibrio cholerae*
- *Lactococcus lactis*
- *Clostridium*
- *Pseudomona*

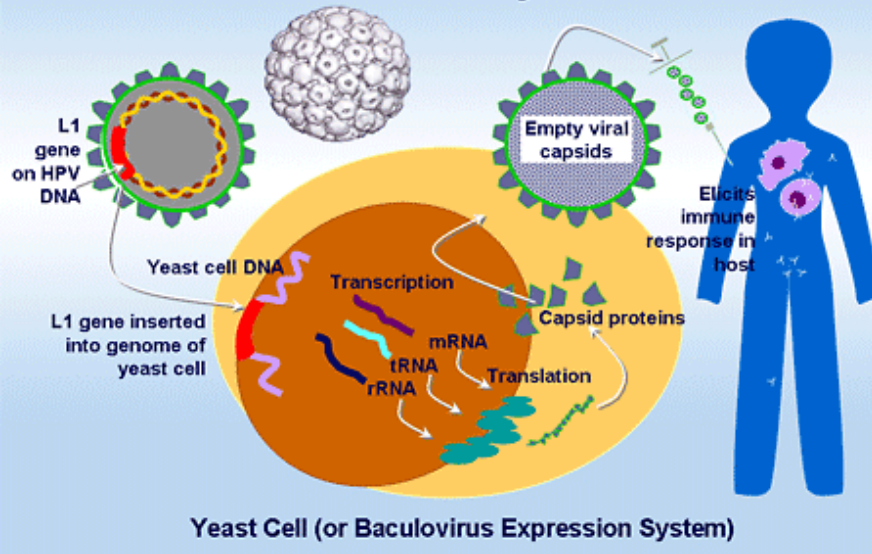
Seguridad: tema central

Simular respuestas naturales sin riesgos

- **Virus-like particles (VLPs):** estructuras multiproteicas que mimetizan la organización y conformación molecular de un virus, pero carecen del genoma viral
- Vacunas mas seguras y mas fáciles y baratas de producir
- Plataformas para expresión de antígenos foráneos (construcciones quiméricas)

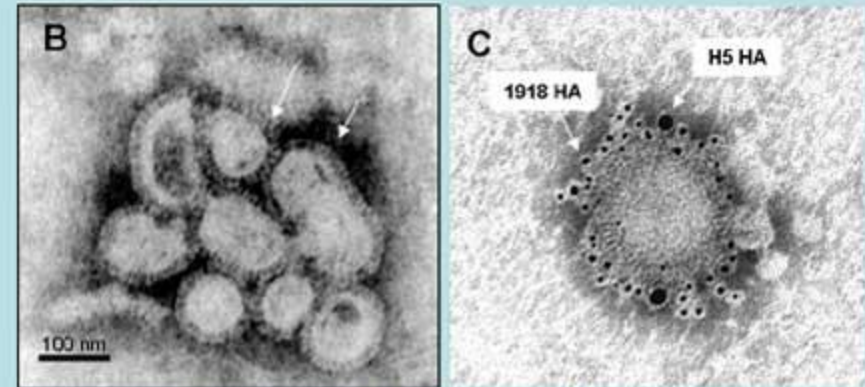
Diseño de VLPs

HPV L1 VLP Vaccine Synthesis



Polyvalent Influenza VLP Vaccine

To protect against multiple influenza virus strains



Negative Staining and Dual Immunogold Labeling EM of Polyvalent VLPs

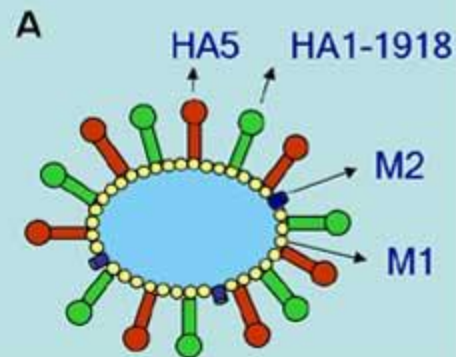
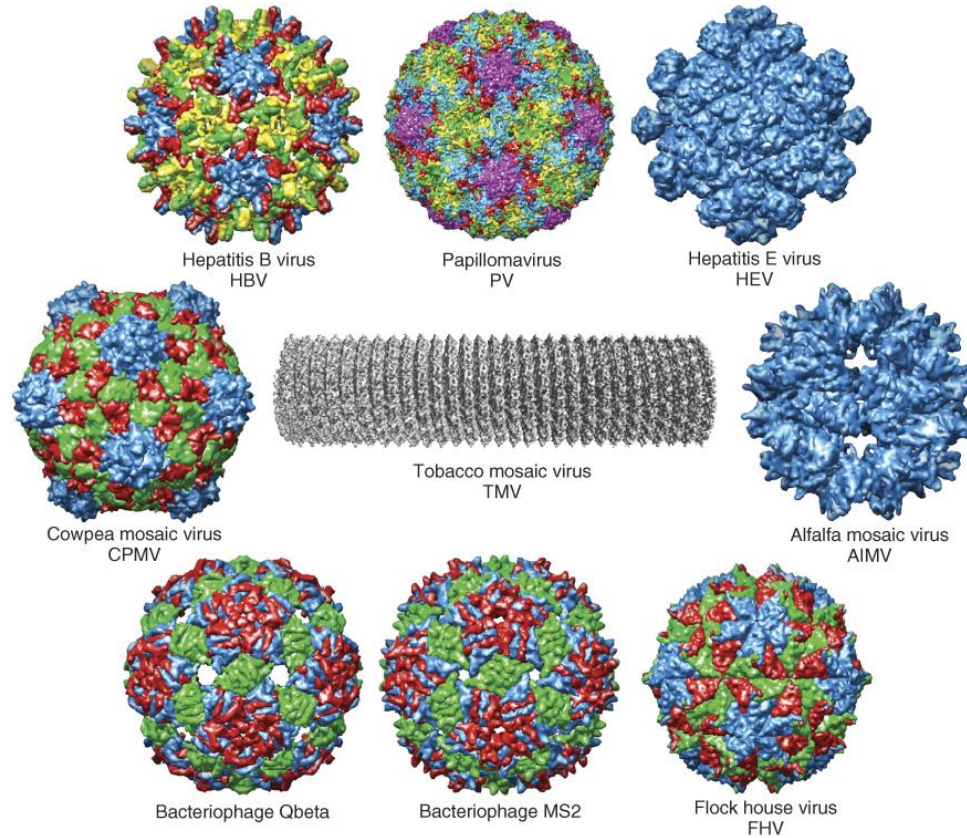


Illustration of the Structure of a Polyvalent VLP

Polyvalent influenza virus-like particles carry on their surfaces two antigenically distinct HA molecules. Polyvalent VLP vaccines will protect against influenza viruses for which they carry antigens. A) Illustration of polyvalent VLP. B) Negative staining of polyvalent VLPs showing polymorphic influenza virus-like structures (arrows point to HA spikes). C) Dual immunogold labeling of VLPs with anti-1918 HA (5nm gold particles) and anti-HA5 (10nm gold particles) antibodies. The electron microscopy study was performed at the Bio-Imaging Center of Rockefeller University.

Distintas cápsides virales son usadas como VLPs para vacunas o plataformas para presentación antigénica



Vacunas de VLPs disponibles

Table 2 . List of recombinant hepatitis B vaccines commercially available worldwide.[†]

Trade name	Manufacturer	Country	Recombinant protein	Expression host	US FDA approval date
DTP-Hep B	P.T. Bio Farma	Indonesia	HBsAg S protein	Yeast (<i>Pichia pastoris</i>)	
Engerix-B [®]	GlaxoSmithKline	Belgium	HBsAg S protein	Yeast (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	1989
Enivac HB	Panacea Biotec Ltd.	India	HBsAg S protein	Yeast (<i>P. pastoris</i>)	
Euvax B	LG Life Sciences	South Korea	HBsAg S protein	Yeast (<i>S. cerevisiae</i>)	
Gene Vac-B [®]	Serum Institute of India Ltd.	India	HBsAg S protein	Yeast (<i>Hansenula polymorpha</i>)	
GenHevac B [®]	Pasteur-Mérieux Aventis	France	HBsAg S and M protein	Mammalian cells (CHO)	
Heberbiovac HB	CIGB – Heber Biotec	Cuba	HBsAg S protein	Yeast (<i>P. pastoris</i>)	
Hepavax-Gene [®]	Crucell	The Netherlands	HBsAg S protein	Yeast (<i>H. polymorpha</i>)	
Recombivax HB [®]	Merck and Co., Inc.	USA	HBsAg S protein	Yeast (<i>S. cerevisiae</i>)	1986
Revac-B ^{+™}	Bharat Biotech International Ltd.	India	HBsAg S protein	Yeast (<i>P. pastoris</i>)	
Sci-B-Vac [™]	SciGen	Israel	HBsAg S, M and L protein	Mammalian cells (CHO)	
Shanvac [™] -B	Shantha Biotechnics Ltd.	India	HBsAg S protein	Yeast (<i>P. pastoris</i>)	

[†]Several other combined vaccines exist but are not included in this table.

CHO: Chinese hamster ovary; HBsAg: Hepatitis B surface antigen; L: Large; M: Medium; S: Small.

Data from [2,302,303,314].

Vacunas de VLPs disponibles

Table 3. Main characteristics of the licensed human papillomavirus-like particle vaccines.

Vaccine	Manufacturer	VLP types	Dose of L1 protein	Expression system	Adjuvant	Administration
Gardasil®	Merck & Co., Inc.	6/11/16/18	20 µg (types 6 and 18) and 40 µg (types 11 and 16)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> expressing L1	225 µg aluminum hydroxyphosphate sulphate	0, 2 and 6 months
Cervarix®	GlaxoSmithKline	16/18	20 µg (types 16 and 18)	<i>Trichoplusia ni</i> (Hi-5) insect cell line infected with L1 recombinant baculovirus	500 µg aluminum hydroxide, 50 µg 3-O-deacylated monophosphoryl lipid A	0, 1 and 6 months

VLP: Virus-like particle.
Data taken from [24,34,304,305,306].

Vacunas de VLPs en desarrollo

Subtype	Proteins (cell type)	Dose/route (model [†])	Clinical status	Ref.
<i>Seasonal</i>				
H3N2 (A/Udon)	HA, M1 (IC)	HA (1 µg)/in., im., twice	Preclinical	[44]
H1N1 (A/PR8/34)	HA, M1 (IC)	VLP (10 µg)/in., twice	Preclinical	[43]
H3N2 (A/Fujian/411/2002)	HA, NA, M1 (IC)	HA (0.24–3 µg)/im., twice (mice, ferrets)	Preclinical	[41]
H1+H3 (A/PR8/34+ A/Aichi/2/68 [X31])	HA (H1 + H3), M1 (IC)	VLP (10 µg)/im., twice	Preclinical	[225]
A/PR8/34 (H1N1)	HA, M1 (IC)	VLP (10 µg)/im., twice	Preclinical	[226]
H1N1 A/Brisbane/59/2007, H3N2 A/Brisbane/10/2007, B/Florida/04/2006	HA, NA, M1 (IC)	15 and 60 µg	Phase II	[309]
<i>Pandemic</i>				
H5N1 clade 1 (VN/04), clade 2 (Indo/05)	HA, NA, M1 (IC)	HA (0.6–3 µg)/im., once or twice	Preclinical	[227]
H5N1 (Indo/05, clade 2.1)	HA, NA, M1 (IC)	HA (0.6–15 µg)/im., twice (ferrets)	Phase I/IIa	[228,309]
Bivalent H5N1 (clades 1 + 2)	HA, NA, M1 (IC)	HA (0.6 µg)/im., twice	Preclinical	[229]
H5N1 clade 1 (VN/04)	HA, NA, M1 (IC)	HA (0.1–0.3 µg)/in.	Preclinical	[230]
H5N1 (Indo/05), H1N1 (A/New Caledonia)	HA (PC)	0.7–1 µg HA/im., ip., twice (mice, ferrets)	Preclinical	[231]
H5N1 clade 1 (VN/04), clade 2 (Indo/05) (pseudotyped)	Gag, HA, NA (IC)	0.7–1 µg HA/im., ip., twice (mice, ferrets)	Preclinical	[232]
H5N1, H7N1 (pseudotyped)	Gag, HA, NA, M2 (293T)	108 particles	Preclinical	[233]
A/Taiwan/083/2006 and A/Hanoi/30408/2005(H5N1)	HA, NA, M1, and M2 (Vero)	0.3–10 µg VLP	Preclinical	[125]
H5N3 (LPAI)	HA, NA, M1	VLP (2–20 µg) (ducks)	Preclinical	[184]
H9N2 (A/HK/1073/99)	HA, NA, M1 (IC)	VLP (10 µg)/sc.	Preclinical	[40]
H9N2 (A/HK/1073/99)	HA, NA, M1 (IC)	HA (0.12–15 µg/im., twice (mice, rats, ferrets)	Preclinical	[42]
H1N1	HA, NA, M1, M2 (IC)	5 µg, 15 µg and 45 µg HA (humans)	Phase II	[309]
H1N1 (A/California/04/2009)	HA, M1 (IC)	0.25–10 µg, HA/ip., im.	Preclinical	[234,235]
Pandemic 1918 A virus (H1N1)	HA, NA, M1, M2 (IC)	HA (1 µg)/in., twice	Preclinical	[236]

[†]Unless specified, mice were used for testing vaccine efficacy.

HA: Hemagglutinin; IC: Insect cells; im.: Intramuscular; in.: Intranasal; ip.: Intraperitoneal; LPAI: Low-pathogenic avian influenza; M: Matrix protein;

Table 5. Examples of chimeric virus-like particles in preclinical development.

VLP platform	Chimeric antigen and plasmids	Expression system	Ref.
BPV	CTL epitopes of HPV and HIV, L2 HPV epitopes, A β 1–9 peptide	B/IC	[179,238,239]
HBV (core)	GFP, bacterial and protozoan epitopes, HPV-16 E7 oncoprotein epitopes, B- and T-cell epitopes of HCV, <i>Plasmodium falciparum</i> circumsporozoite protein epitopes (malaria vaccine candidate [†]), M2 of influenza A [‡] and FMDV VP1	Bacteria (<i>Escherichia coli</i>)	[48,60,240–246]
HBV (surface)	Plant signal peptides, dengue virus envelope, HIV gp41 2F5 epitope, HCV HVR1, HPV-16 E7 oncoprotein epitopes, GFP, VSP α S	Mammalian cells, transgenic plants (tobacco cells), bacteria (<i>E. coli</i>) and yeast (<i>Pichia pastoris</i>)	[110,112,244,247–250]
HEV	HEV B-cell epitope	B/IC	[251]
HIV, SHIV gag	Various HIV envelope epitopes, RT or TN proteins, gp120 and pol, and influenza A HA	B/IC and mammalian cells	[199,252–255]
HPV	SHIV (HIV TN, RT; SIV gag), HPV16 E6 and E7, HBV core protein epitopes, M2 of influenza A and pIL-2, A β	B/IC, transgenic plants (tomato cells), yeast (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) and mammalian cells	[176,256–262]
Influenza A	VSV G protein, ESAT6–HA	B/IC	[39,263]
JC polyomavirus	DNA fragment coding for EGFP	B/IC	[264]
NDV	RSV G protein	Avian cells	[170]
Polyomavirus (murine)	Immunodominant H-2Kb-restricted ovalbumin 257–264 epitope	Bacteria (<i>E. coli</i>)	[265]
Parvovirus B19	Dengue-2 glycoprotein epitopes	B/IC	[266]
Phage Q β	Nicotine, angiotensin II [§] , IL-1 β , A β 1–6 peptide and A β 1–9 peptide	Bacteria (<i>E. coli</i>)	[52,53,62,65,66,262,267,268]
PhMV	CPV epitopes or CDV F protein	Bacteria (<i>E. coli</i>)	[213]
RHDV	Short peptides	B/IC	[269]
SV40	Plasmid DNA up to 17.7 kb, foreign peptides	B/IC	[270,271]

[†]Phase I (Apovia, Inc., CA, USA).

[‡]Phase I (Sanofi Pasteur, Lyon, France).

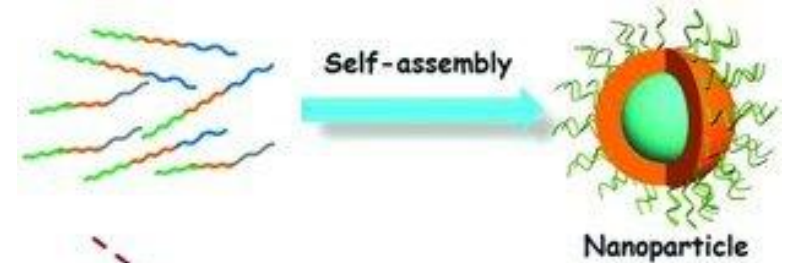
[§]Phase I (University of California, San Diego, CA, USA).

Ensayos clínicos con VLPs

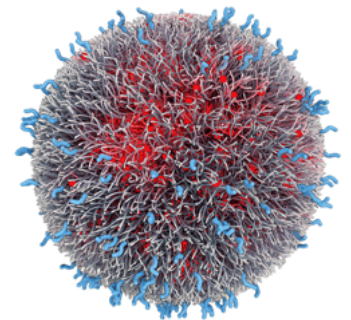


Nanopartículas como carriers

- Estructuras autoensamblantes (PLA, PLGA, Chitosan, etc.)

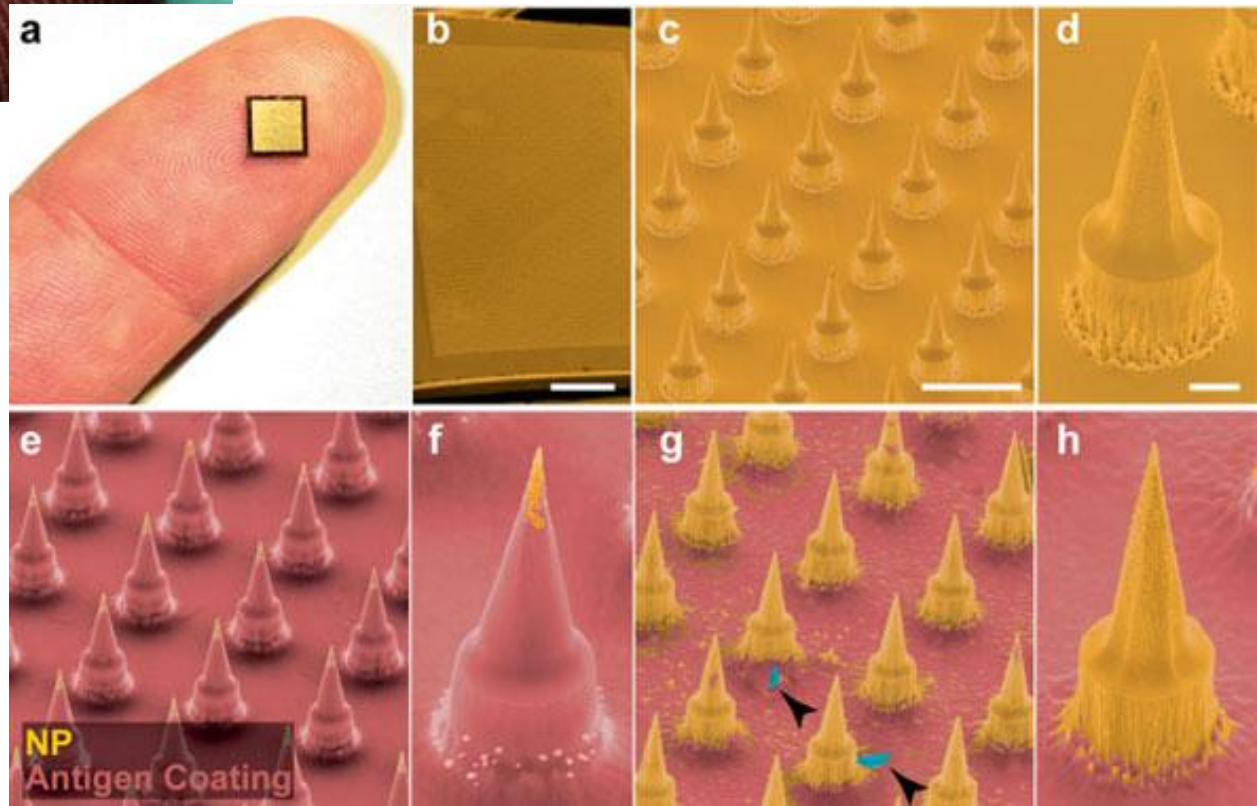
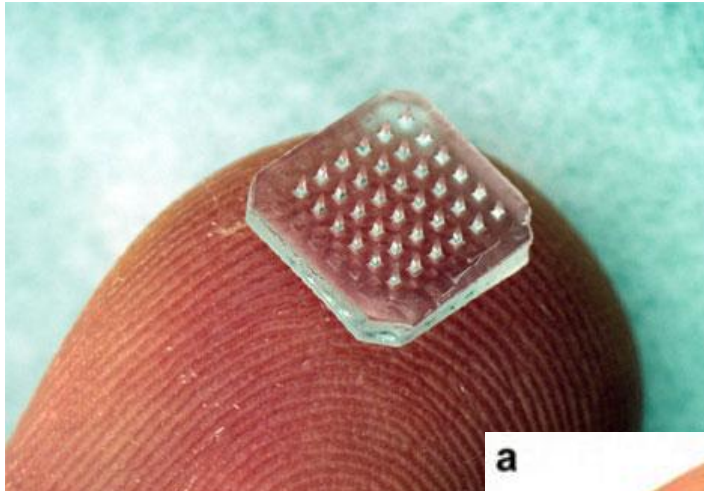


- Decoradas con antígenos de interés - Multicopias de antígenos aumenta inmunogenicidad

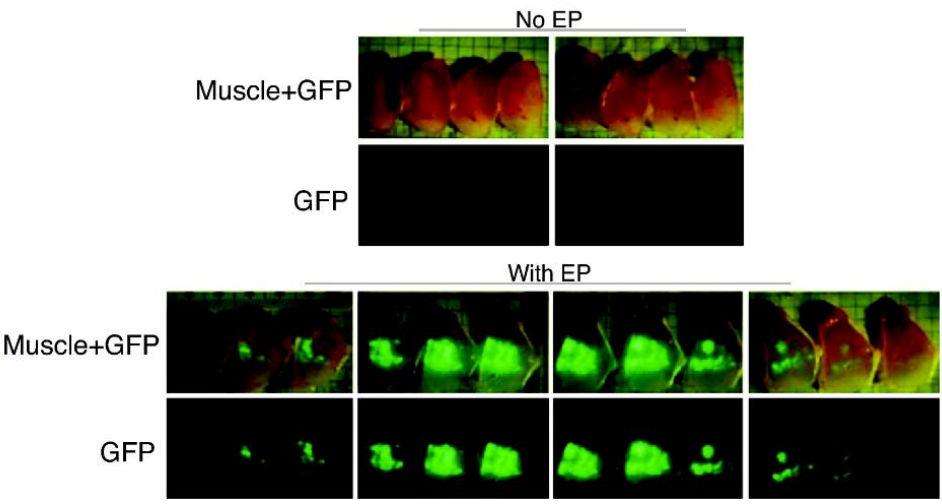
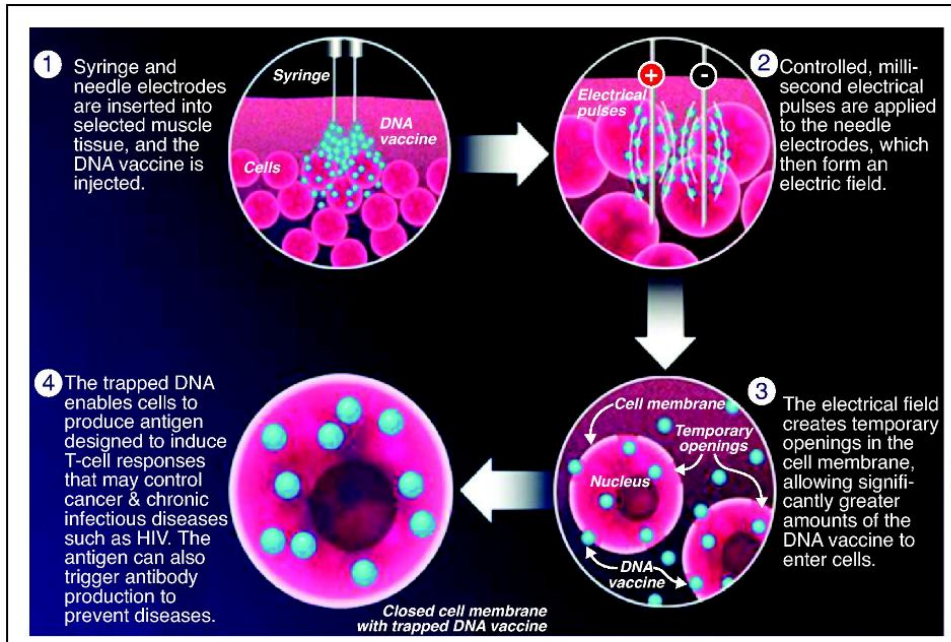
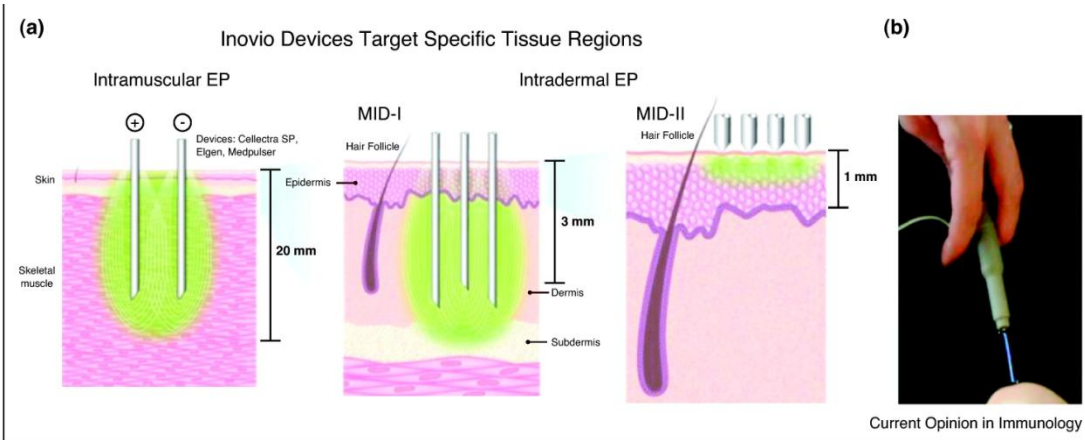


- **“Size matters!”**: El tamaño de partícula importa: nanopartículas son mas eficientes que micropartículas

Nano-parches para vacunación por piel



Electroporation in vivo



Estrategias de desarrollo

*Dirigidas a generar una respuesta inmune mas efectiva contra cada **patología** en particular*

- Definición precisa de antígenos relevantes
- Entrega eficiente del antígeno al sistema inmune
- Mejoras en la aplicabilidad

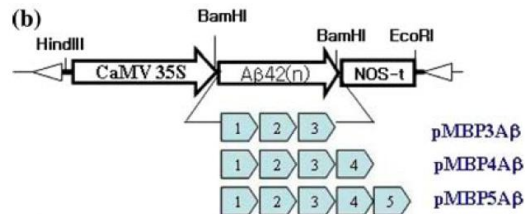
Vacunas comestibles

Biotechnol Lett (2008) 30:1839–1845
DOI 10.1007/s10529-008-9759-5

ORIGINAL RESEARCH PAPER

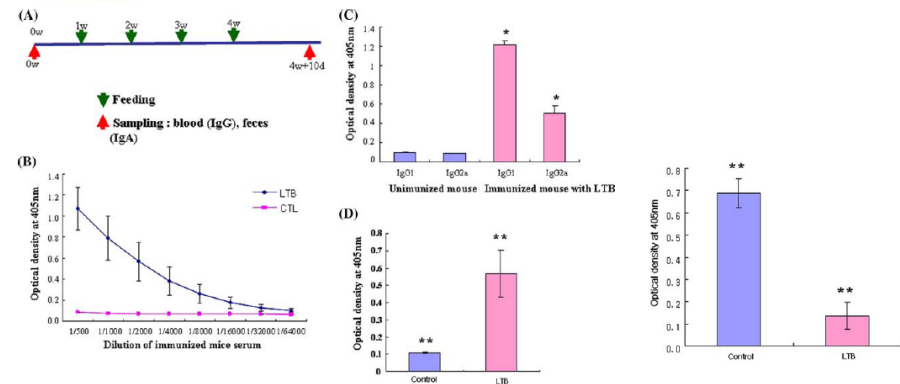
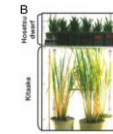
Transgenic tomatoes expressing human beta-amyloid for use as a vaccine against Alzheimer's disease

Jung Won Youm · Jae Heung Jeon · Hee Kim ·
Young Ho Kim · Kisung Ko · Hyouk Joung ·
HyunSoon Kim



Vacunas comestibles: arroz transgénico como vacuna para ETEC

Kim et al. (2010) Mol. Biotechnol

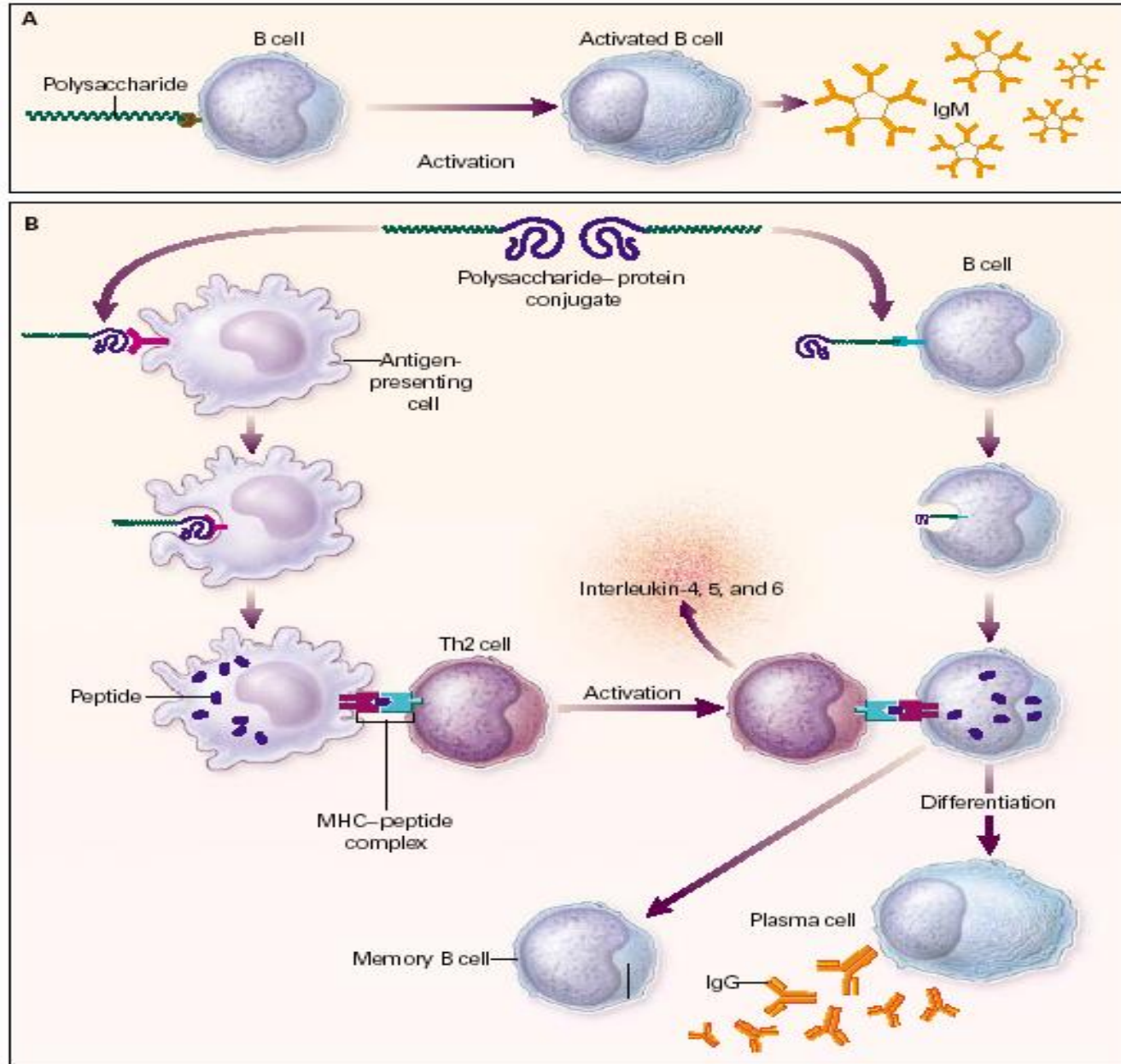


Estrategias de desarrollo

*Dirigidas a generar una respuesta inmune mas efectiva contra cada **patología** en particular*

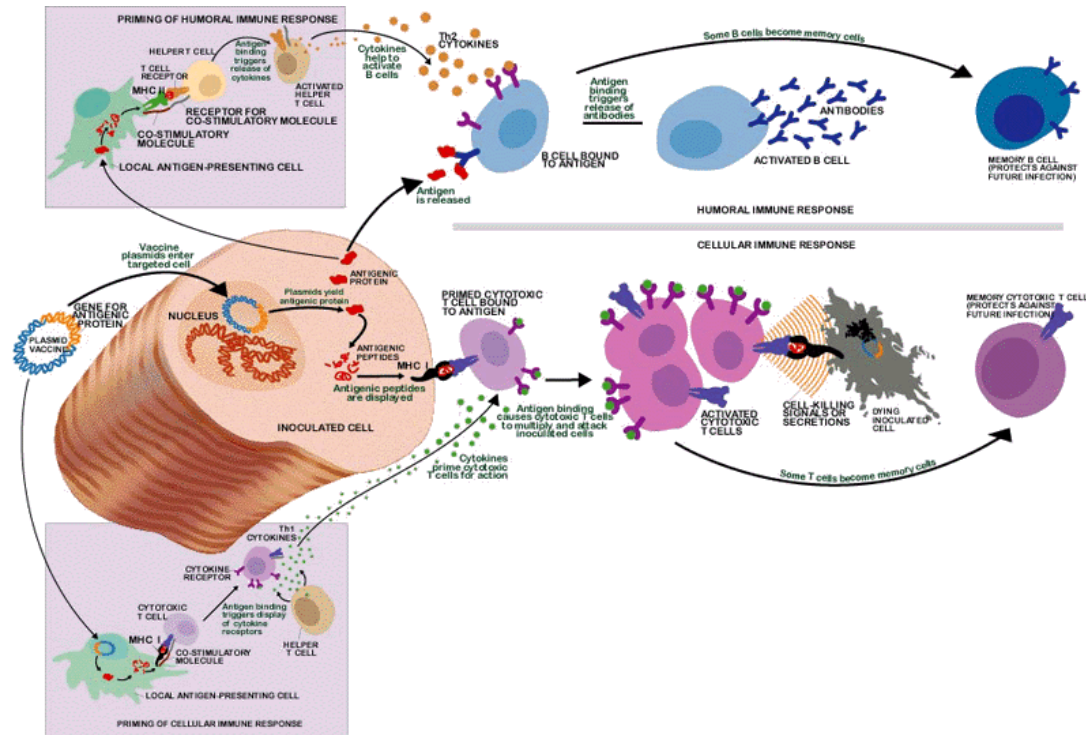
- Definición precisa de antígenos relevantes
- Entrega eficiente del antígeno al sistema inmune
- Mejoras en la aplicabilidad
- Mejora en la presentación antigénica e inducción de mecanismos efectores

Vacunas conjugadas



Vacunas génicas (DNA vaccines)

- ❖ Muy seguras
- ❖ Efectivas en modelos experimentales
- ❖ Fácil producción y escalado
- ❖ Generan mecanismos efectores especiales



Vacunas génicas (DNA vaccines)

- ❖ Muy seguras
- ❖ Efectivas en modelos experimentales
- ❖ Fácil producción y escalado
- ❖ Generan mecanismos efectores especiales

- ❖ En clínica RI en general débiles
 - Necesidad de mejorar su potencia
 - adyuvantes moleculares
 - pistola génica, inmunización cutánea
 - vectores vivos

Adyuvantes

- Productos agregados que potencian inmunogenicidad
- Sales de aluminio: adyuvante de la inmensa mayoría de vacunas en uso
- Intensa investigación
 - *Productos naturales (ej.: saponinas; ISCOMs)*
 - *Productos derivados de patógenos (PAMPs)*
 - *Aceites minerales y no-minerales*

Estrategias de desarrollo

*Dirigidas a generar una respuesta inmune mas efectiva contra cada **patología** en particular*

- Definición precisa de antígenos relevantes
- Entrega eficiente del antígeno al sistema inmune
- Mejoras en la aplicabilidad
- Mejora en la presentación antigénica e inducción de mecanismos efectores
- Localización de la respuesta: sistémica vs. mucosas

Vacunas de mucosas

- Ideal para control de patógenos de mucosas
- Ventajas prácticas para uso masivo y global
- Administración sistémica en general no induce adecuada respuesta de mucosas
- **Sin embargo:**

Muy pocas vacunas de mucosas disponibles

Problemas para el desarrollo de vacunas de mucosas

- Mercado menos conocimiento que la contraparte sistémica
- Administración de antígenos a través de mucosas puede inducir tolerancia
- Sistema altamente regulado para combinar homeostasis inmunológica y defensa
- Las mucosas presentan una importante colonización microbiana

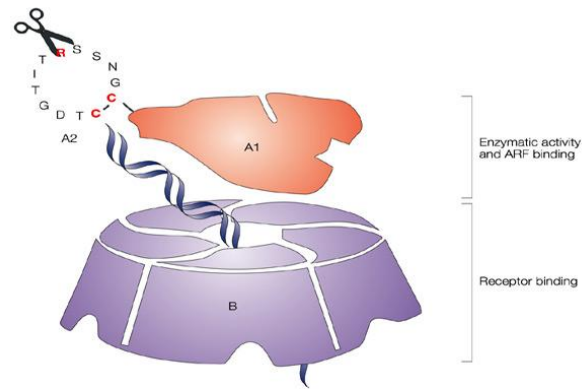
Investigación y Desarrollo en Vacunas de mucosas

Diferentes estrategias para generar respuestas inmunes efectivas

- **Adyuvantes de mucosas**
- Sistemas de entrega
- Vectores
- **Direccionamiento del antígeno a mucosas**
- Vacunas comestibles

Adyuvantes de mucosas

Tóxicas derivadas de patógenos



Nature Reviews | Drug Discovery

Toxinas entéricas (AB5): CT y LT

Transient Facial Nerve Paralysis (Bell's Palsy) following Intranasal Delivery of a Genetically Detoxified Mutant of *Escherichia coli* Heat Labile Toxin

David J. M. Lewis^{1*}, Zhiming Huo¹, Susan Barnett², Ingrid Kromann³, Rafaela Giemza¹, Eva Galiza¹, Maria Woodrow¹, Birgit Thierry-Carstensen³, Peter Andersen³, Deborah Novicki², Giuseppe Del Giudice², Rino Rappuoli²

1 St George's Vaccine Institute, St George's University of London, London, United Kingdom, **2** Novartis Vaccines, Siena, Italy, **3** Staten Serum Institute, Copenhagen, Denmark

Abstract

Background: An association was previously established between facial nerve paralysis (Bell's palsy) and intranasal administration of an inactivated influenza virosome vaccine containing an enzymatically active *Escherichia coli* Heat Labile Toxin (LT) adjuvant. The individual component(s) responsible for paralysis were not identified, and the vaccine was withdrawn.

Methodology/Principal Findings: Subjects participating in two contemporaneous non-randomized Phase 1 clinical trials of nasal subunit vaccines against Human Immunodeficiency Virus and tuberculosis, both of which employed an enzymatically inactive non-toxic mutant LT adjuvant (LTK63), underwent active follow-up for adverse events using diary-cards and clinical examination. Two healthy subjects experienced transient peripheral facial nerve palsies 44 and 60 days after passive nasal instillation of LTK63, possibly a result of retrograde axonal transport after neuronal ganglioside binding or an inflammatory immune response, but without exaggerated immune responses to LTK63.

Conclusions/Significance: While the unique anatomical predisposition of the facial nerve to compression suggests nasal delivery of neuronal-binding LT-derived adjuvants is inadvisable, their continued investigation as topical or mucosal adjuvants and antigens appears warranted on the basis of longstanding safety via oral, percutaneous, and other mucosal routes.

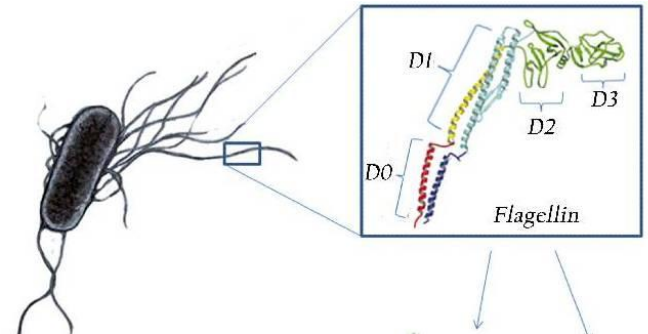
Citation: Lewis DJM, Huo Z, Barnett S, Kromann I, Giemza R, et al. (2009) Transient Facial Nerve Paralysis (Bell's Palsy) following Intranasal Delivery of a Genetically Detoxified Mutant of *Escherichia coli* Heat Labile Toxin. PLoS ONE 4(9): e6999. doi:10.1371/journal.pone.0006999

Editor: Stefan Bereswill, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Germany

Received: June 16, 2009; **Accepted:** July 29, 2009; **Published:** September 16, 2009

PAMPs como adyuvantes de mucosas

- Epitelios de mucosas expresan múltiples receptores de PAMPs (TLRs, NOD, etc)
- Administración de PAMPs o agonistas sintéticos de receptores puede:
 - Aumentar y hacer mas eficiente el muestreo de antígenos en los sitios inductores del MALT
 - Inducir producción de señales proinflamatorias a nivel local amplificando el nivel de respuesta
- Ejemplos de moléculas usadas: CpG, Flagelina

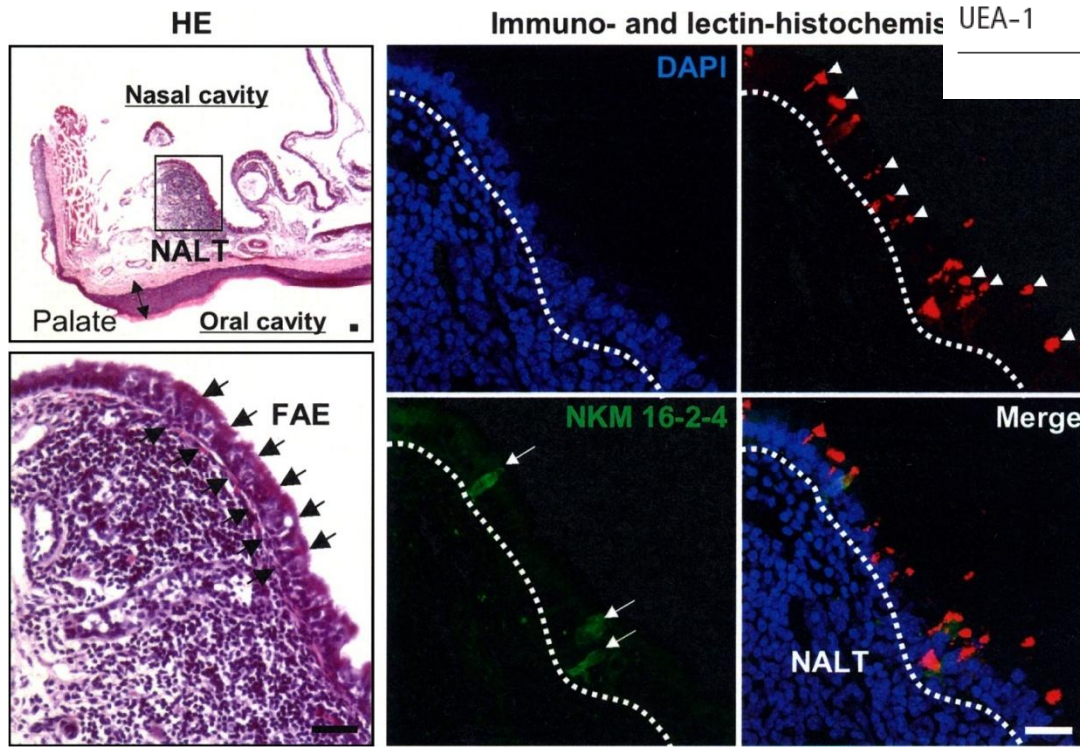


Direccinamiento del antígeno a mucosas

El anticuerpo NKM 16-2-4 reacciona exclusivamente con la células M del tejido linfoide en mucosas

Table I. Immunological and biochemical characteristics of newly established mAb (NKM 16-2-4) and UEA-1 in M cells

mAb/lectin	Specificity	Cell specificity		
		M cells	Epithelial cells	Goblet cells
NKM 16-2-4	$\alpha(1,2)$ fucose-containing carbohydrate moiety	+	-	-
UEA-1	$\alpha(1,2)$ fucose	+	-	+



Nochi et al. (2007) J Exp Med

NUEVOS DESAFIOS

Vacunas terapéuticas: cáncer

Vacunas celulares

- Células enteras o lisados celulares como fuente de antígenos

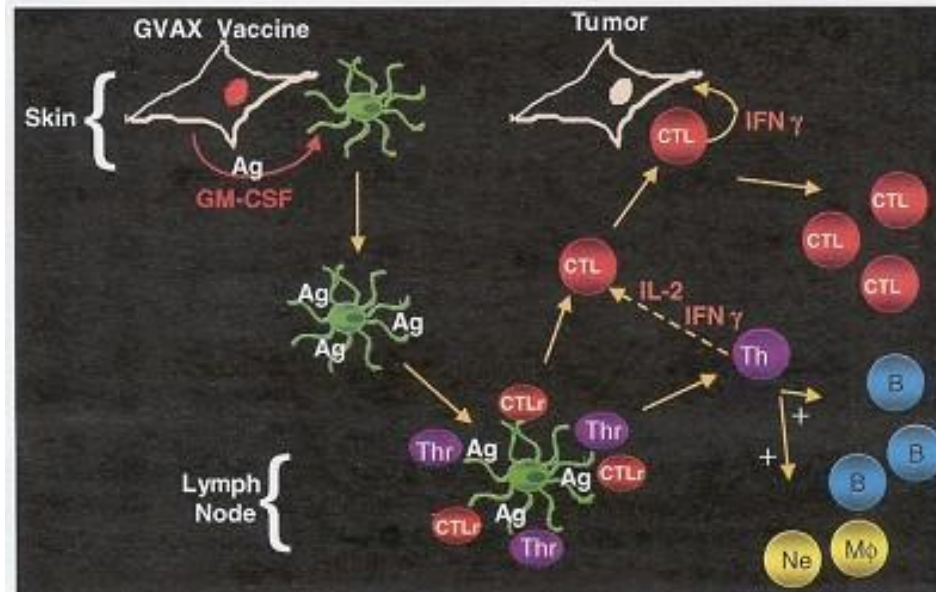
Células tumorales:

- No hay que seleccionar Ag de interés, presentación de múltiples Ag.
- Poco inmunoestimuladoras: expresión de citoquinas u otras moléculas.

Vacunas a células tumorales

GVAX[®] inmunoterapia

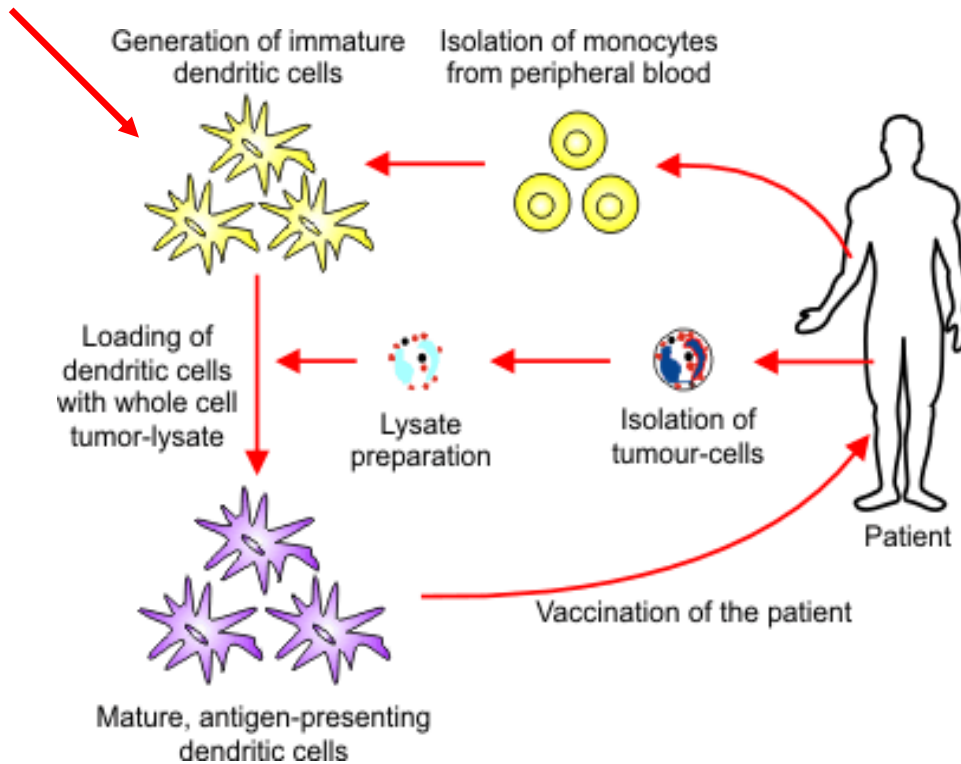
Células tumorales irradiadas modificadas genéticamente para secretar una citoquina inmunomoduladora, GM-CSF



Vacunas a células dendríticas (DCs)

DC alogénicas

DC autólogas



DC alogénicas:

- Mayor número
- Mejor función APC
- Mayor capacidad estimuladora
- Proceso estandarizado

DC autólogas:

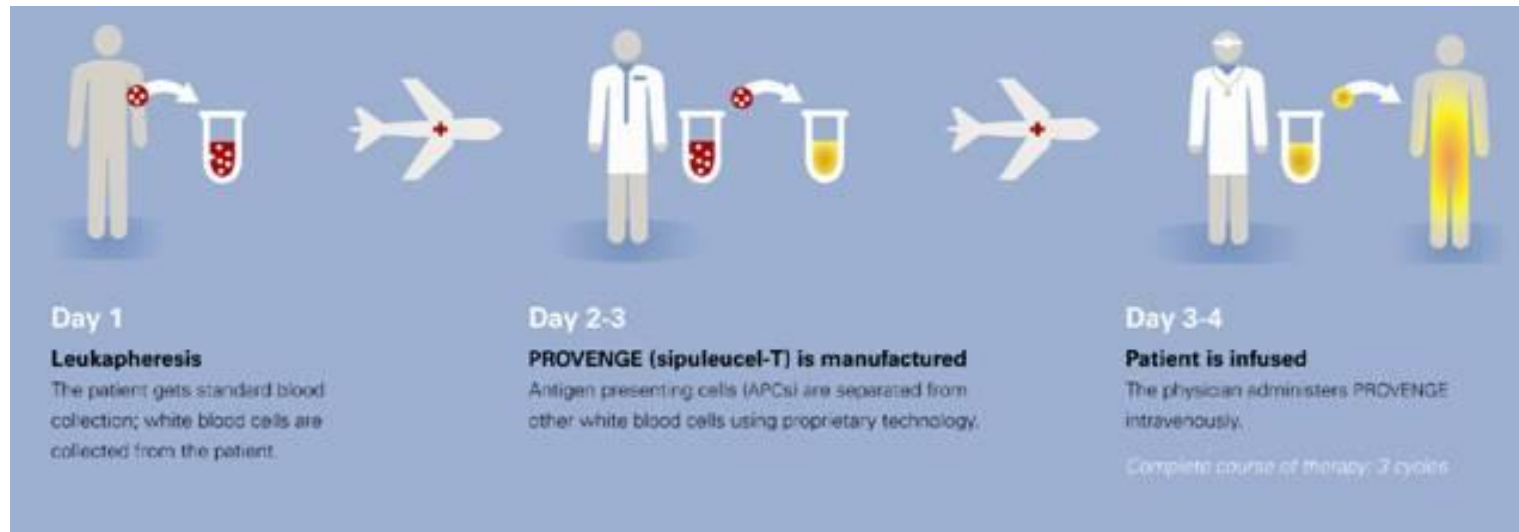
- Compatibilidad

- Cargadas con Ag
- Fusionadas a células tumorales
- Expresando moléculas co-estimuladoras

DCs cargadas con Ag de interés

Provenge: primer vacuna aprobada contra cáncer próstata

DCs cargadas con PAP (prostatic acid phosphatase) fusionada a GM-CSF



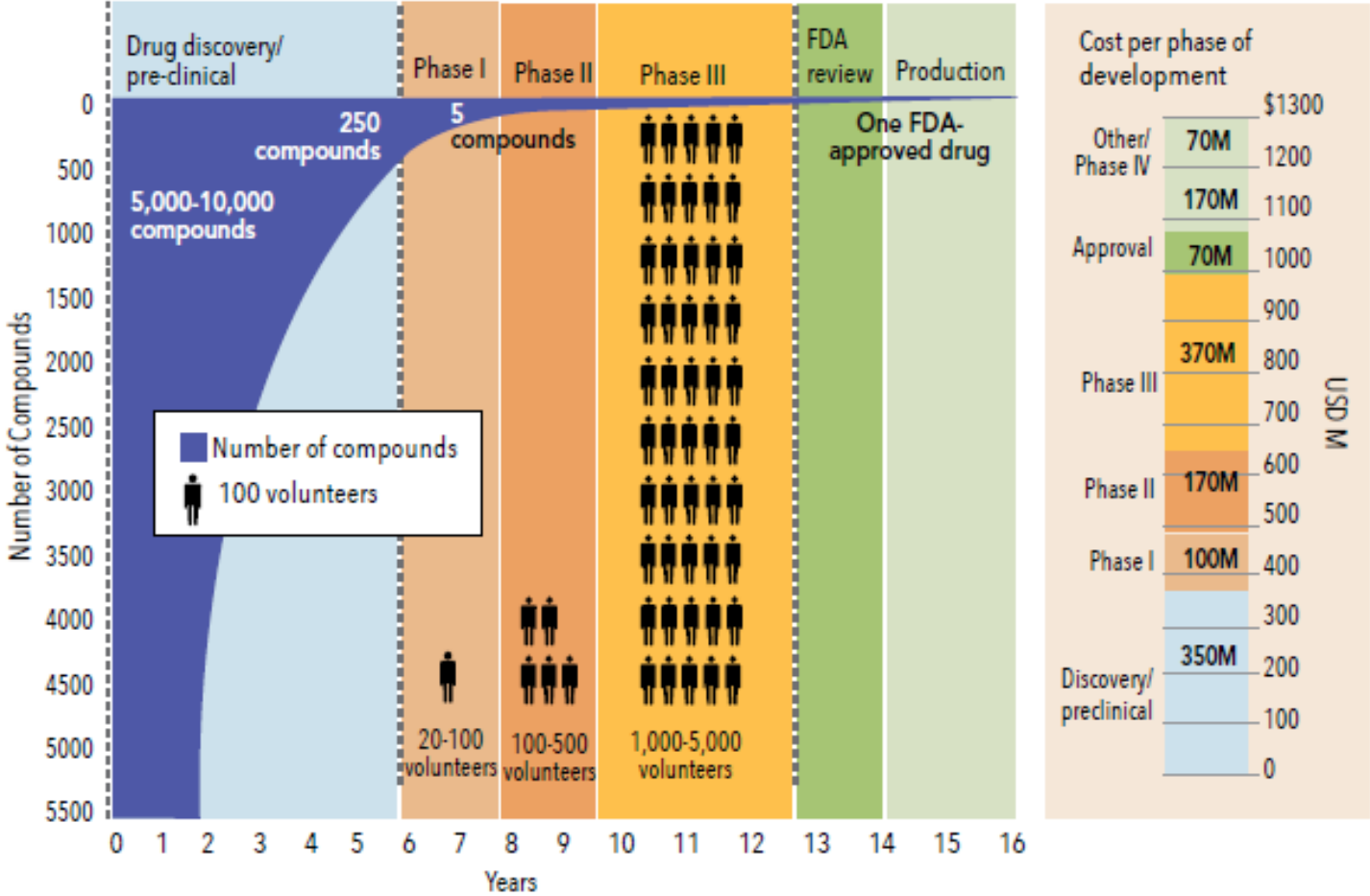
Régimen: 3 dosis a intervalos de 2 semanas

Problemas asociados a los nuevos desarrollos

- Altas inversiones en I+D resultan en altos precios
- Existencia de “vacunas huérfanas”
- Diferencia genética de patógenos puede resultar en efectividad relativa

Evolución del desarrollo y costos

Drug Development: A Slow, Expensive, and Risky Endeavor



Source: Pharmaceutical Research and Manufacturers of America

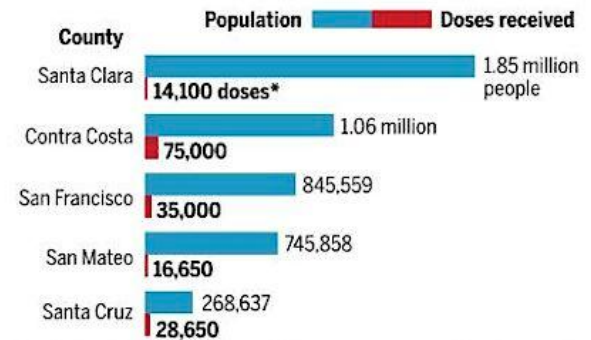
Sumado a esto:

- Problemas asociados a incapacidad de satisfacer demanda globales de algunas vacunas



H1N1 vaccine in the Bay Area

Although H1N1 flu vaccine is supposed to be distributed to counties in proportion with their populations, counties with smaller populations than Santa Clara have received more doses.



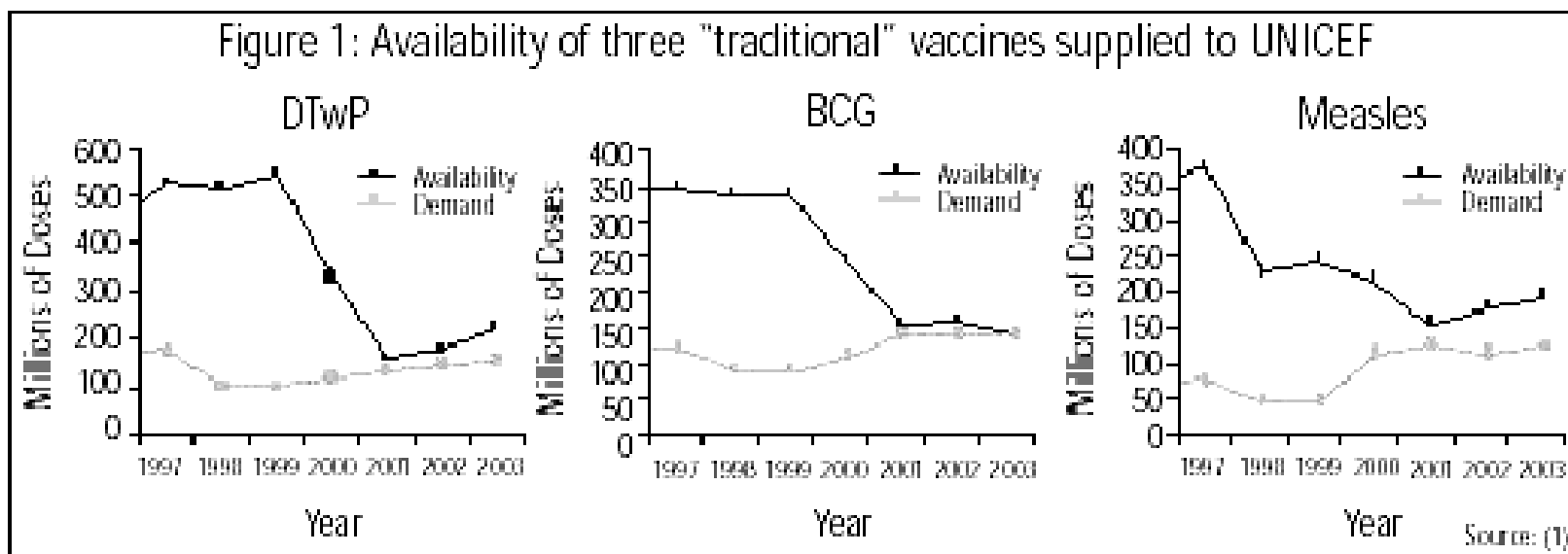
*Santa Clara County has been promised 8,800 more doses this week but had not received them as of Wednesday.

Note: Does not include doses sent directly to Kaiser Permanente's network of hospitals; Kaiser declined to state the amount it received.

Source: County health departments

MERCURY NEWS

Escasez de vacunas tradicionales



Fuente: GAVI Immunization Focus - June 2001

Consideraciones necesarias para implementar el uso de una nueva vacuna

- **Calidad:** los datos de ensayos clínicos demuestran que es una vacuna efectiva y segura?
- **Pertinencia:** el objetivo para el cual fue habilitado (lo evaluado en ensayos clínicos) son el problema de salud que pretendo prevenir?
- **Epidemiológicas:** es la vacuna adecuada para la población en la que pretendo usarla?
- **Costo-beneficio:** el impacto en salud pública será el esperado?

A CONSIDERAR: crecientes grupos de rechazo a la vacunación

