

Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas Victoria de Girón
McMaster University, Canada

Evaluación de la autorreactividad de las vacunas cubanas Heberbiovac-HB y Vax-TET en ratones Balb/c

Dra. Mónica Romero Sáez, Dr. Lino Muñoz Cuéllar, Dr. Boris Sakic, Dr. Ángel Dacourt Flores y Téc. Orestes Ponce de León Palmero

RESUMEN

Se estableció conocer si la inmunización con 2 de las vacunas cubanas que habitualmente se utilizan durante los esquemas de vacunación inducen la generación de fenómenos autoinmunes (autoanticuerpos). Se realizó un estudio longitudinal en 30 ratones Balb/c del género femenino de 6-8 semanas de edad con peso entre 16-18 g, todos suministrados por el CENPALAB. Se conformaron 3 grupos de 10 ratones cada uno, los cuales fueron inmunizados con las vacunas Heberbiovac-HB y Vax-TET. Se detectó presencia del factor reumatoideo, el cual tuvo un comportamiento fisiológico. No se detectó la presencia de otros autoanticuerpos. Este estudio avala el uso de las vacunas cubanas Heberbiovac-HB y Vax-TET en la población cubana y no representa riesgo.

Palabras clave: Fenómenos autoinmunes, factor reumatoideo, inmunizaciones, autoanticuerpos.

Los agentes infecciosos se pueden relacionar con las enfermedades autoinmunes. Estos incluyen: virus, bacterias y parásitos.¹ Por ejemplo, la infección con el virus de la hepatitis B (HBV) se ha asociado con diversos síndromes reumáticos.² Lo más común es una enfermedad del suero parecido al síndrome artritis-dermatitis, que ocurre durante la fase prodrómica de la enfermedad. Otros síndromes reumáticos esporádicamente reportados que coinciden con la infección por el HBV incluyen: dermato y polimiositis, fenómeno de Raynaud y artritis reumatoidea (AR).³

También en el nivel mundial la posible asociación entre vacunación y la inducción de autoinmunidad es un tema muy discutido, ya sea con el uso de vacunas convencionales o de nueva generación. Reportes publicados relacionan la aparición de manifestaciones reumáticas con el uso de vacunas como: vasculitis⁴ y poliangeítis microscópica⁵ tras la inmunización con la vacuna de la influenza; aparición de artritis,⁶ síndrome de Reiter⁷ y artropatía soriática⁸ tras la administración de BCG y se han descrito también casos de manifestaciones articulares asociados con la presencia de un HLA-DR particular⁹ después del uso de la vacuna contra la rubéola, así como síntomas límbicos y articulares en niños¹⁰ tras la administración de la vacuna triple viral PRS.

Igualmente con el uso de las llamadas vacunas de nueva generación se han reportado manifestaciones autoinmunes: tras la vacunación con hepatitis B recombinante se ha descrito artritis reactiva que en algunos casos los síntomas se continúan por varios meses y muy pocos casos de AR, todos relacionados con el HLA-DR4;¹¹ se han notificado casos de artritis poliarticular¹² y enfermedad poliarticular que progresa hacia AR con factor reumatoideo (FR) positivo y erosiones en la radiografía, así como reacciones inmediatas como urticaria y anafilaxia; y reacciones tardías en piel (eritema nudoso), oftalmológicas (uveítis), hematológicas y neurológicas.^{13,14}

Si se parte del hecho que los agentes infecciosos se involucran en la patogenia de los fenómenos autoinmunes, es posible plantearse teóricamente que el control de las enfermedades a través de la vacunación podría inducir algunos de estos fenómenos; es por ello que los autores de este estudio se propusieron conocer si la inmunización con dos vacunas cubanas usadas en la población es capaz de generar reacciones autoinmunes con formación de autoanticuerpos, así como estudiar el posible papel patológico o regulador de estos en la dinámica de la respuesta inmune frente a antígenos extraños.

MÉTODOS

Animales: se utilizaron ratones de género femenino con 6-8 semanas de edad y un peso entre 16-18 g, pertenecientes a la línea isogénica Balb/c, suministrados por el CENPALAB. Se utilizaron un total de 30 ratones.

Diseño experimental

Se conformaron 3 grupos, cada uno de 10 ratones.

Grupo A: los animales fueron inmunizados con la vacuna HEBERbiovac-HB contra el virus de la hepatitis B. Como volumen final se usó 0,1 mL. (2 µg).

Grupo B: este grupo fue inmunizado con la vacuna Vax-Tet, vacuna antitetánica, y se usó como volumen final 0,1 mL.

Grupo C: (control) a estos animales se les administró el diluyente de la vacuna, sin inmunógeno. Como volumen final se usó 0,1 mL.

El esquema de inmunización empleado para los grupos A, B y C fue de 3 dosis (0, 4, 8 semanas). La vía de administración usada fue la intraperitoneal. En todo el estudio se usaron vacunas del mismo lote. Las extracciones de sangre se realizaron de forma preinmune y 15 d después de cada dosis, así como a los 15, 30 y 45 d después de la última dosis. El suero fue obtenido de sangre venosa extraída del plexo retroorbital con capilares de vidrio heparinizados (radiometer, copenhagen), usándose 3 capilares por ratón, centrifugados durante 2 min en centrífuga Technika Hc-240 C a temperatura ambiente, estos se conservaron a -20 °C hasta el momento de su estudio.

Determinaciones en suero

A los sueros de ratones de todos los grupos se les realizó determinaciones de factor reumatoideo (FR) de las clases IgM e IgG, anticuerpos (Ac) anti-ADN de doble y simple cadena y ENA (antígenos nucleares extractables). A los grupos A y C se les realizó además determinaciones de Ac específicos contra el virus de la hepatitis B. Para

el cálculo del valor de corte del método en los ratones inmunizados se utilizaron los valores de densidad óptica (DO) del grupo no inmunizado. Se determinaron la media y la desviación estándar de las DO y se consideraron positivos los valores de DO superiores a la media más 2 desviaciones estándar del grupo escogido como control negativo.

Como control positivo se utilizó un suero proveniente de la cepa de ratón MRL-lpr/lpr. Esta cepa se caracteriza por presentar una mutación espontánea del gen Fas, receptor de la superficie celular que media la muerte celular programada (apoptosis). Los individuos pertenecientes a esta cepa, tanto masculinos como femeninos padecen tempranamente de manifestaciones autoinmunes y linfoproliferativas. Serológicamente presentan una marcada hipergammaglobulinemia, con altos títulos de ANA (anticuerpos (Ac) antinucleares), ENA, Ac anti-DNA de doble y simple cadena, Ac anti-Sm, hipocomplementemia, altos niveles de ICC (inmunocomplejos circulantes), crioglobulinemia y en 50 % de estos se detecta el FR-IgM a temprana edad así como FR-IgG en edades tardías.¹⁵

RESULTADOS

Después de la vacunación con HEBERbiovac-HB (dato no mostrado), se pudo constatar la aparición de respuesta específica (inmunocomplejos específicos) frente al antígeno del inóculo: antígeno de la hepatitis B en los ratones del grupo A, como parte de la respuesta inmune normal frente a la agresión por agentes extraños y corroborándose una vez más la inmunogenicidad de la vacuna.¹⁶

En las figuras 1 y 2 se muestran la presencia y el comportamiento del FR tanto de la clase IgM como IgG frente a las inmunizaciones con HEBERbiovac-HB y Vax-Tet durante todo el esquema de vacunación. De forma general, su presencia se detecta desde la primera extracción posinmunización (extracción del día 15), luego en las determinaciones de los días posteriores se mantiene positivo para ir descendiendo (valor de DO) hasta llegar a los valores normales (por debajo del valor de corte= 0,3) los días 75 y 90.

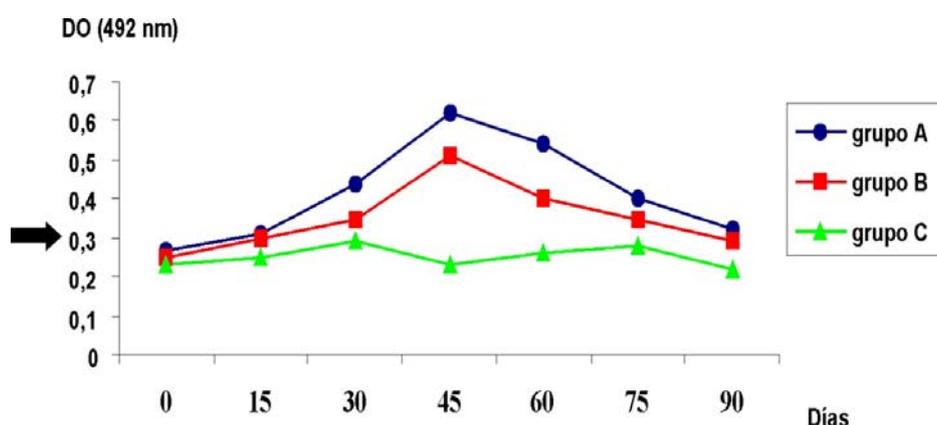


Fig 1. Cinética de generación del FR de la clase IgM durante el esquema de vacunación completo. (valor de corte [VC= 0,3])

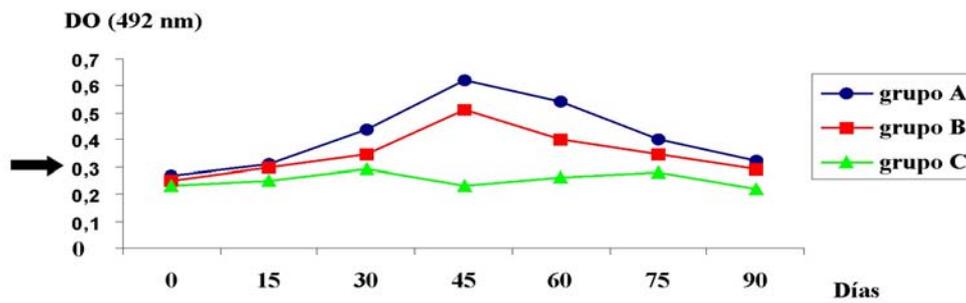


Fig. 2. Cinética de generación del FR de la clase IgG durante el esquema de vacunación completo. (VC= 0,3)

Los resultados que se muestran en las figuras 3, 4 y 5 indican que no se produjo respuesta frente a determinantes antigénicos conservados (ADN de doble y simple cadena y otros antígenos nucleares) existentes en el organismo. Lo cual presupone que los linfocitos B que reconocen a esta molécula, no existen o permanecen regulados.¹⁷

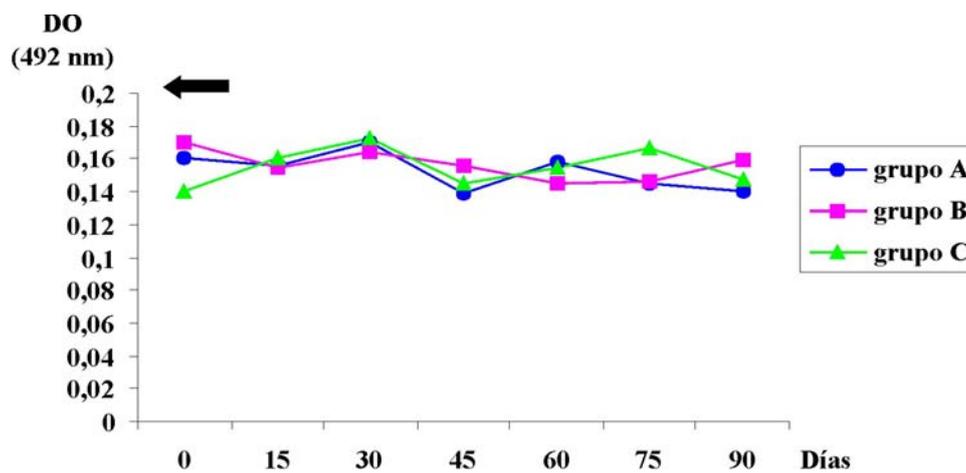


Fig 3. Valores de DO obtenidos en la determinación de anticuerpos anti-ADN de doble cadena en el suero de todos los animales. (VC= 0,2)

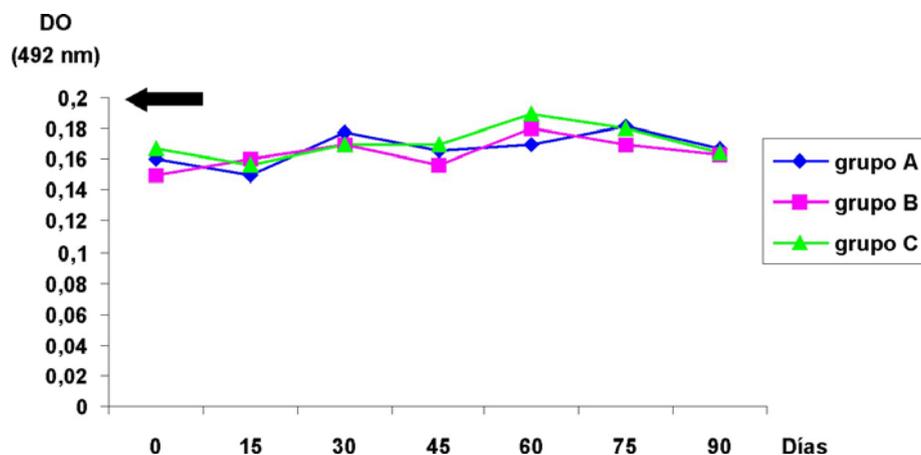


Fig. 4. Valores de DO obtenidos en la determinación de anticuerpos anti-ADN de simple cadena en el suero de los animales. (VC= 0,2)

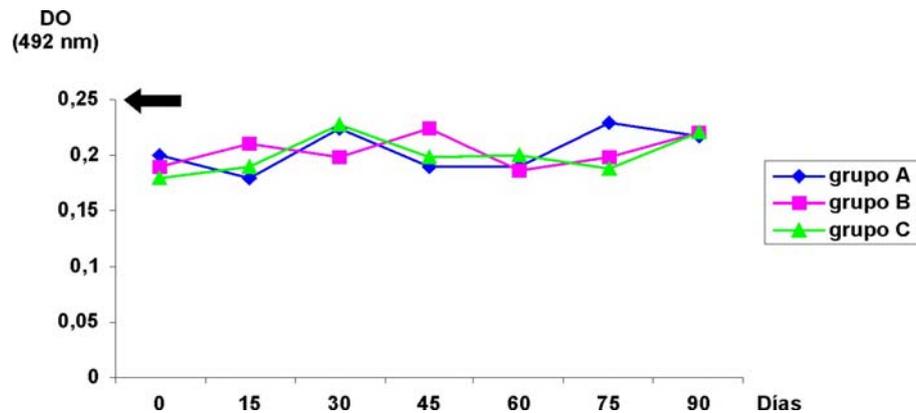


Fig. 5. Valores de DO obtenidos en la determinación de anticuerpos contra antígenos nucleares extractables (ENA). (VC= 0,25)

DISCUSIÓN

En el caso de este estudio sus autores piensan que la producción de FR en los ratones inmunizados con las vacunas se debe a la producción de ICC. En primer lugar el FR se generó porque los inmunocomplejos específicos en el suero de los ratones fueron fijados, procesados y presentados por una célula B con FR como inmunoglobulina (Ig) de superficie a una célula T antígeno-específica. Estos IC podrían no ser reconocidos por las mismas células B, debido a que ahora estos epítopes están unidos a anticuerpos específicos. Esto conduce a una pérdida del estímulo para la célula B antígeno específica a producir inmunoglobulinas. El IC así formado podría ser eficientemente presentado por macrófagos y células B FR+ a la célula T antígeno-específica,¹⁸ lo cual lleva a la célula B a diferenciarse hacia célula plasmática: productora de FR.^{19,20}

Además, la hiperinmunización con antígenos conduce (similar a lo que sucede con anticuerpos específicos) a la aparición de FR durante la respuesta inmune secundaria. En relación con los grupos A y B aparece FR de la clase IgM como parte de la respuesta primaria del organismo y posteriormente FR de la clase IgG, siguiendo una respuesta secundaria a causa del esquema de inmunización al cual fueron sometidos (figs. 1 y 2), corroborando así otros reportes que plantean la generación de FR como parte de la respuesta frente a los antígenos extraños; ejemplo, *Milgrom* y *Witebsky*²¹ quienes describieron la aparición de Ac dirigidos contra la IgG en conejos inmunizados con antígenos proteicos solubles y con IgG autóloga. Además, en un experimento en el que se inmunizaron ratones con células rojas de carnero y con varias proteínas se indujo FR cuyos títulos igualaron y hasta excedieron a los de la IgM antígeno específica.²²

En resumen, se puede decir que el comportamiento que presenta el FR en ambas figuras (figs. 1 y 2) es el de una respuesta regulada, porque en la fase de inducción de la respuesta específica, este se eleva y se mantiene así durante el período en que se administra una nueva dosis del inmunógeno, para pasar después a un período en el cual estos niveles comienzan a normalizarse hasta hacerse negativos.

Aunque se ha planteado en numerosos reportes el papel del FR en la inmunopatogenia de entidades reumáticas como en la AR, los resultados de este trabajo concuerdan con

otros reportados, o sea, que estos se generan como parte de la respuesta inmune normal contra los antígenos extraños, formando parte de una de las primeras líneas de defensa antes de que se desarrolle la respuesta específica y después como un potenciador “no específico” de los efectos mediados por la respuesta inmune humoral secundaria.²³

Estos resultados avalan el uso de las vacunas cubanas HEBERbiovac-HB y Vax-Tet en poblaciones humanas normales, no constituyendo ningún factor de riesgo, porque la "reacción autoinmune" que se produce frente a estas, dígase presencia de FR, tiene un comportamiento fisiológico; es decir, está regulado y autolimitado como se observó durante un esquema de inmunización completo en ratones de experimentación.

Se concluye que la inmunización con las vacunas Heberbiovac-HB y Vax-Tet indujeron la generación de factor reumatoideo en animales de experimentación; el comportamiento del factor reumatoideo durante el esquema de inmunización fue totalmente fisiológico; no se detectó la presencia de otros autoanticuerpos; el uso de las vacunas cubanas Heberbiovac-HB y Vax-Tet en el esquema de inmunización, no constituyen ningún factor de riesgo para la población.

Evaluation of the autoreactivity of the Cuban Heberbiovac-HB and Vax-TET vaccines in Balb/c mice

SUMMARY

In order to know if the immunization with the 2 Cuban vaccines usually used during the vaccination schemes induce the generation of autoimmune phenomena (autoantibodies), a longitudinal study was conducted in 30 female Balb/c mice aged 6-8 weeks with a weight between 16 and 18 g. All of them were supplied by CENPALAB. They were divided into 3 groups of 10 mice each that were immunized with Heberbiovac-HB and Vax-TET vaccines. It was detected the presence of the rheumatoid factor, which had a physiological behavior. Autoantibodies were not observed. This study supports the use of the Cuban Heberbiovac-HB and Vax-TET vaccines in our population and it does not represent any risk.

Key words: Autoimmune phenomena, rheumatoid factor, immunizations, autoantibodies.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Notkins AL, Onodera T. Virus-induced autoimmunity. En: Concepts in viral pathogenesis. Germany:Springer Heidelberg;1994.p.210-5.
2. Inman RD. Rheumatic manifestation of hepatitis B infection. Sem Arthritis Rheum 1982;11:406-20.
3. Duffy J, Lidsky MD, Sharp JT. Polyarthritis, polyarteritis and hepatitis B. Medicine 1976;55:19-37.
4. Vidal E, Gaches F, Berdah JF. Vasculitis alter influenza vaccination. Rev Med Interne 1993;14:1173.

5. Kelsall JT, Chalmers A, Sherlock CH. Microscopic polyangeiitis after influenza vaccination. *J Rheumatol* 1997;24(6):1198-202.
6. Puett DW, Fuchs HA. Arthritis after bacillus Calmette-Guerin therapy. *Ann Inter Med* 1992;117(6):537.
7. Saporta L, Gumus E, Karadag H. Reiter's syndrome following intracavitary BCG administration. *Scandinavian J Urol Nephrol* 1997;31(2):211-2.
8. Queiro R, Ballina J. Psoriatic arthropathy after BCG immunotherapy for bladder carcinoma. *British J Rheumatol* 1995;34(11):1097.
9. Mitchell LA, Tingle AJ, MacWilliam L. HLA-DR class II association with rubella vaccine induced joint manifestations. *J Infect Dis* 1998;177(1):5-12.
10. Benjamin CM. Joint and limb symptoms in children after immunization with measles, mumps and rubella vaccine. *Br Med J* 1992;17:1250-51.
11. Pope JE, Stevens A, Howson W, Bell DA. The development of Rheumatoid arthritis after recombinant hepatitis B vaccination. *J Rheumatol* 1998;25(9):1963-87.
12. Gross K, Combe C, Kruger K. Arthritis after hepatitis B vaccination. Report of three cases. *Scand J Immunol* 1995;24:50-2.
13. Grotto I, Mandel Y, Ephros M. Major adverse reaction to yeast-derived hepatitis B vaccines. A review. *Vaccine* 1998;16(4):329-34.
14. Biasi D, Carletto A, Caramaschi P. Rheumatological manifestations following hepatitis B vaccination. *Rec Prog Med* 1994;85(9):438-40.
15. Watanabe-Fukunga R, Brannan CI, Copeland NG. Lymphoproliferation disorders in mice explained by defects in Fas antigen that mediates apoptosis. *Nature* 1992;356:314-7.
16. Vidal MC. El control y la prevención de la hepatitis B. Su desarrollo histórico y legislativo. *OFIL* 1999;9(1):14-24.
17. Shoenfeld Y. Vaccination and autoimmunity-´vaccinosis´: a dangerous liaison? *J Autoimmunity* 2000;14(1):1-10.
18. Carson DA, Chen PP, Fox PI. New roles for rheumatoid factors. *J Clin Invest* 1991;87:379-83.
19. Hannestad K, Johannesen A. Polyclonal human antibodies to IgG (rheumatoid factors) which cross-react with cell nuclei. *Scand J Immunol* 1976;5:541-52.
20. Hay FC, NinehamLJ, Roitt IM. Intraarticular and circulating immune complexes and antiglobulins (IgG and IgM) in rheumatoid arthritis: correlation with clinical features. *Ann Rheum Dis* 1979;38:1-7.
21. Milgrom F, Witebsky E. Studies on the rheumatoid and related serum factors. I. Autoimmunization of rabbits with gamma globulin. *JAMA* 1960;174:138-45.
22. Coulie P, van Snick J. Rheumatoid factors and secondary immune responses in the mouse. II. Incidence, Kinetics and induction mechanisms. *Eur J Immunol* 1983;13:895-9.
23. Nordström E, Möller E, Abedi-Valugerdi M. Induction of IgG rheumatoid factor (RF) production by antibody-antibody (RF-like) immune complexes : the role of T cells, Complement and Fcγ receptors. *J Autoimmunity* 1998;11:131-40.

Recibido: 2 de junio de 2005. Aprobado: 14 de noviembre de 2005.

Dra. *Mónica Romero Sáez*. Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón". Avenida 31, Esq. 146, No. 3102, municipio Playa 11600, Ciudad de La Habana, Cuba. Teléf.: 271 8467. Correo electrónico: monique@infomed.sld.cu