

## 17. gaia: Immunoterapia. Txertoak eta immunoprofilaxia

Immunitate babesgarria sortzeko bi bide desberdintzen dira:

1. Aktiboa: Antigenoa sartzen da organismoak, eta erantzun immunea ematea bultzatzen da. Honi esker, antigorputzen ekoizpena emango da. Babes iraunkorra izango da, oroimen immunologikoa lortzen delako
  - a. Naturala: infekzioa ematen denean
  - b. Artifiziala: txertoen bidez
2. Pasiboa: Antigorputza sartzen da zuzenean organismoan (edo elementu babesgarriren bat). Babes tenporala edo aldi baterakoa da soilik, oroimen immunologikorik sortzen ez delako.
  - a. Naturala: amarengandik
  - b. Artifiziala: seruma

### ❖ IMMUNIZAZIO PASIBOA

Antigorputz, seruma (antigorputzekin), edo zelula sentsibilizatuak ematen dira babesa emateko.

Beraz, antigorputzak PURIFIKATUAK (kromatografia bidez) edo serumean (beste zenbait molekulekin batera) ematen dira.

Hauen lortzeko, nondik:

- Gaixotasuna pairatu duen pertsona baten odola erabil daiteke
- Antigenoa animali bati txertatu ahal zaio (bere immunizazioa egiten da) eta honek erantzuna garatuko du honen aurka antigorputzak ekoitziz. Bere odoletik antigorputzak zein seruma lor dezakegu.

Eta antigorputz edo serum hauek erabiliko dira zertarako:

- Immunoeskasia duten pertsonetan, zein gaixotasuna pairatzeko arriskua dutenetan
- Profilaxia: txertoa ez dahoenean
- Pozoi batzuen efektua tratatzeko
- Immunodepresoreak

Immunizazio pasiboaren ezaugarriak:

- *Berehalako efektua*: berehala nabaritzen da efektua zeren neutralizazio azkarra gauzatzen duten antigorputzek
- Efektuaren *iraupena laburra*: Antigorputzak denborarekin galtzen doazelako

Immunizazio pasiboaren arriskuak:

- Seruma erabiliz gero, baliteke han beste proteina batzuk egotea zeintzuek errefusa eragin dezaketen (anafilaxiraino, hipersentikortasunak)

- Serumean gaixotasunak transmiti daitezke, zenbait birus detektatzeko zailak badira (hepatitisa adibidez, Ig ez purifikatuak erabiltzen badira)

Zein gaixotasunekin edo zein kasutan erabiltzen da immunizazio pasiboa?

Difteria, tetanos, barizela-zoster, grangena gaseosoa, botulismoa, suge-hozka, eskorpioi ziztada, amorr, a eta b hepatitis, pertusis, parotiditis, elgorria, rh inkompatibilitatea, transplantea...

### ❖ IMMUNOMODULATZAILEAK

Immunitate sistemaren erregulazioaz arduratzen dira

- Immunoindartzaileak: immunoeskasiak eta minbizia tratatzeko
- Immunosupresoreak: gaixotasun autoimmuneak, alergiak

Motak (ez dira jakin behar):

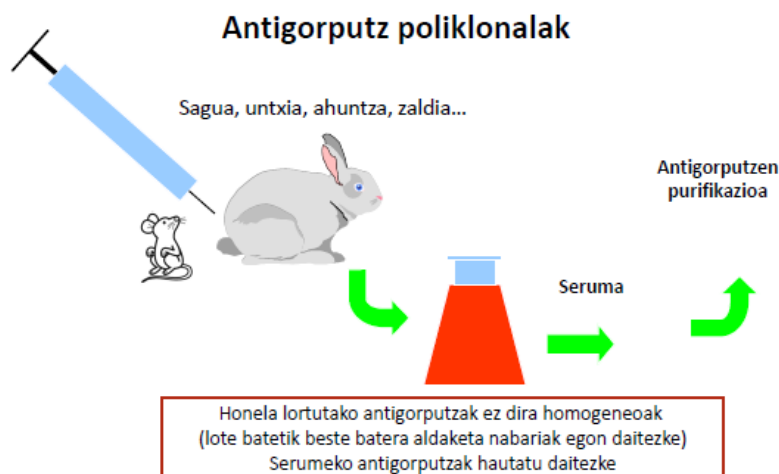
- ✓ Zitokinak : CSFs, IFN, hormona timikoak
- ✓ Antigorputz monoklonalak eta hartzaileen antagonistak (zitokinak blokeatzeko)
- ✓ Immunoglobulinak: immunogutxituei emateko, edo erantzun immunea erregulatzeko (positiboki ala negatiboki)
- ✓ Kortikoesteroideak
- ✓ Konposatu sintetikoak: pentoxifilina, talidomida, imiquimod

### ❖ ANTIGORPUTZEN EKOIZPENA: ANTIGORPUTZ POLIKLONALAK

Animalietatik (sagua, untzia, ahuntza...) lortzen dira. Animaliak antigorputzak ekoitz ditzan antigenoa inokulatzen zaio. Animaliaaren immunitate sistemak antigeno horren aurkako erantzuna garatuko du, eta ondorioz, antigorputzak ekoiztuko ditu (antigorputzen ekoizpena eman dadin, antigenoa behin baino gehiagotan ziztatuko zaio, antigorputz espezifikoagoak lortuz, eta gainera kontzentrazio altuagoa).

Ekoiztu dituen antigorputz horiek erabili ahal izateko animalia hil egiten da, bere odol guztia atera behar delako. Odolaren zentrifugazioa egin eta seruma berreskuratuko da, non antigorputzak egongo diren.

Serumean egongo diren antigorputz horiek izango dira poliklonalak.



Abantailak: Prozesu erraza da eta ez da garestia

Desabantailak: Baliteke gure animalia beste antigeno batzuekin kontaktuan egon izana, eta horrenbestez beste antigorputz batzuk ere aurkitzea serumean. Gainera, errepikortasun maila txikia dauka, izan ere organismo bakoitzean antigenoak eragingo duen erantzuna ezberdina da (estandarizatu beharra dago)

#### ❖ **ANTIGORPUTZEN EKOIZPENA: ANTIGORPUTZ MONOKLONALAK**

Hasierako urratsak antigorputz poliklonalen ekoizpenaren berdinak dira. Hau da, animalia bat hautatu eta antigenoa inokulatzen zaio. Behin immunizatuta dagoenean animalia hil egingo da, eta bareatik (BL gehien dituen organoa) B linfozitoak hartuko dira, horretarako organoa disgregatu beharko dugularik.

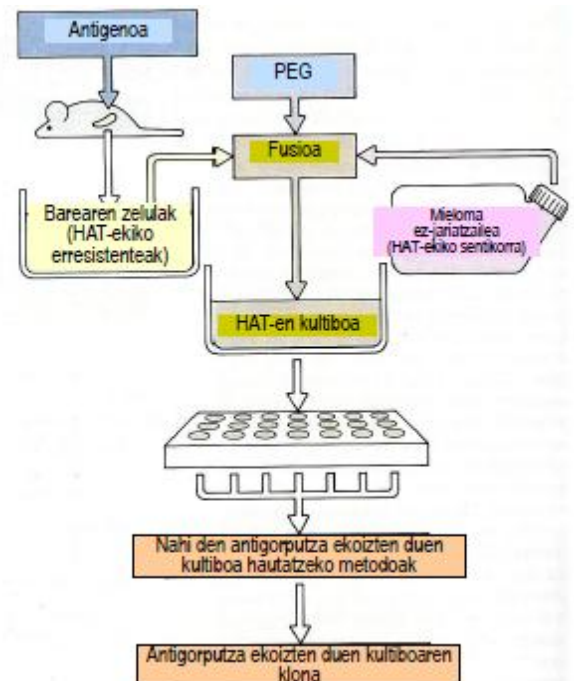
Behin BLak ditugunean hauek mieloma zelula batekin hibridatu behar dugu. Haien arteko fusioaren bitartez HIBRIDOMA deritzon zelula lortuko dugu. Fusioa gauzatzeko polietilenglikola erabiliko dugu, zeinek mintzen desegonkortzea ekarriko duen. Mintzak desegonkortuak daudenean, medio normal batera bueltatuko dira, eta mintzak berriro bere egoera arruntera bueltatzean emango da zoriz zelula batzuen arteko fusioa. Prozesu hau bukatutakoan gure plakan hiru zelula mota izango ditugu: hibridomak (gure interesekoak), mieloma zelulak eta BLak.

BLak denbora pasatakoan hil egingo dira berez, izan ere, ez dituzte laborategian hazteko baldintzak betetzen. Mieloma zelulekin bukatzeko plakari HAT substantzia gehitzen zaio. Mieloma zelulak sentikorrak dira honekiko, baina BLak erresistenteak, beraz mielomak hil eta hibridomak mantendu egingo dira.

Hibridomak BL en eta mielomaren ezaugarriak izando ditu:

- Kultiboan mantendu ahalko ditugu, hilezkorrak
- Antigorputzen ekoizpena egin dezakete
- HATekiko erresistenteak dira

Behin hibridomak soilik ditugunean, ELISA plaka bateko putzu bakoitzean bat jartzen saiatuko gara. Hibridoma bakoitza ugalduz joango da, eta putzu bakoitzean antigorputz mota bakar baten ekoizpena emango da. Probak egin ostean, gure interesekoa den antigorputza aukeratzeko gaitasuna izango dugu. Hibridoma hautatu eta mantendu egingo da, berak sortuko dituelarik gure intereseko antigorputz monoklonalak.



Abantailak: homogenea da (hibridoma mota bakarra → antigorputz mota bakarra), zelula kultiboan mantenduz gero antigorputen kopurua etengabea izango da, eta lortzen dugun antigorputza oso espezifikoa izango da.

Desabantailak: Prozesu luzea da, zaila eta garestia.

Antigorputzen erabileraren ADIBIDEA: ebola.

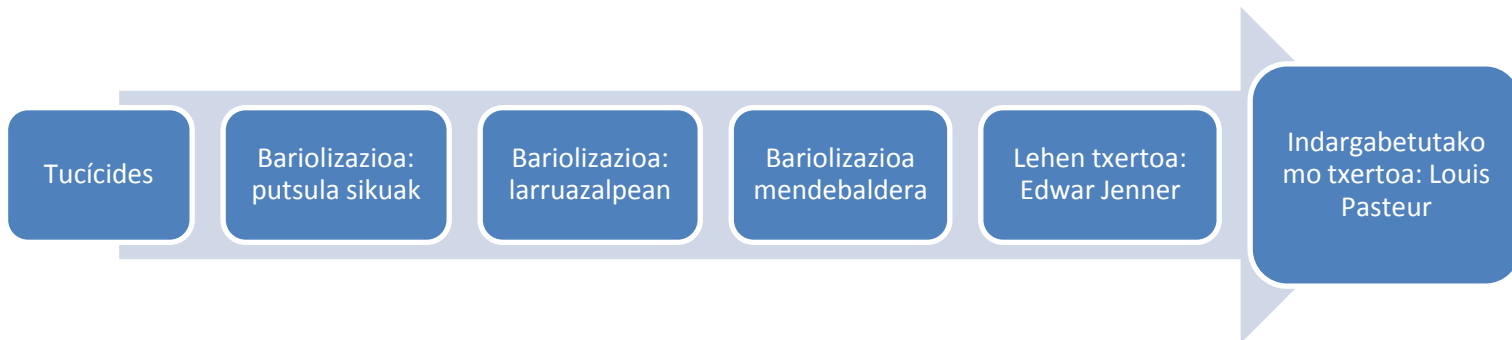
Ebola sendatzeko prozesuan 3 antigorputz gizatiartuak erabili ziren, eta ebola jasandako pertsona baten seruma. 3 antigorputz gizatiartu horiek monoklonalak dira, eta hibridoma baten bidez sortuak. Hibridoma horiek landareetan transfektatu eta haietan ekoizten dira antigorputzak.

#### ❖ TXERTAKETAREN HISTORIA

- **Tucídides** (464-404 k.a.): gaixptasun (izurri) bat pairatzen zuen pertsona babestuta zegoela ondorioztatu zuen.
- **Txina zaharrean**, XI. Mendean: Baztanga arinarekin gaixotzen ziren pertsonen pustula sikuak ateratzen zitzaizkien. Pustula hauek hartu eta ehozten zituzten hauts bihurtseko eta gero sudurretik hartu eta immunizatu egiten ziren: bariolizazioa → Lehen immunizazioa
- XV. Mendean: Indian, Otomandar Inperioa, eta ekialdeko afrika Bariolizazioa ohikoa zen: baztangaren zarakarrak azalean inokulatu (larruazalpean)
- XVIII. Mendean: Bariolizazioa mendebaldera etorri zen Lady Mary Wortley Montaguk ekarrita
- **Edward Jenner** (Berckley, 1749-1823)  
1796an, “baztanga ergela” bezala ezagutzen zen behien baztangarekin ume bat inokulatu zuen, eta handik hilabete batzuetara giza baztanga inokulatu zionean umea EZ zela gaixotu ikusi zuen.  
Prozesuari “Vaccinate” deitu zion (“*vaccinus-a-um*”: behia) → txertaketa  
Lehen txerto modura kontsdera daiteke
- **Louis Pasteur** (1822-1895)- Immunologia eta mikrobiologian oso garrantzitsua izan zen bere lana.  
Mikroorganismo indargabetuetan oinarritutako lehenengo txertoa erabili zuen, eta *vaccine* hitza erabiliz zuen Jenneren ohorez.  
Nahigabean garatu zuen txertoa. Izan ere, bere esperimenduetako batean hegaztien inokulazioa egite ahaztu egin zitzaien. Denbora pasa zen, eta mikroorganismoak zeuden kultiboa zahartu egin zen indargabetu. Kultibo honetako mikroorganismoen oilaskoak inokulatzean ez ziren gaixotu. Arazoa kultiboaren zaharkitzean zegoela pentsatuta, kultibo berri bat gartu eta mikroorganismoarekin inokulatu nahi izan zituen berriro oilaskoak, baina aztertu zuen nola oraingoan ere ez ziren gaixotzen. Ondorioa → mikroorganismo indargabetuek immunizazioaren garapena bultzatu.

Hiru txerto indargtu garatu zituen:

- Oilaskoen kolera: kultura zahartua
- Karbunkoa: T<sup>a</sup> altuetan inkubatutako bakterioak
- Amorrua: untxi hilen hezur-muin diseatuak



### ❖ TXERTOAREN EFIKAZIA

Nolakoa izan behar du txerto efikazak?	
<b>SEGURUA</b>	Ez du eritasuna edo heriotza eragin behar
<b>BABESGARRIA</b>	Patogeno biziarekiko esposizioak eragindako gaixotasunen kontra babestu behar du → erantzun immunea garatu behar da
<b>BABES IRAUNKORRA</b>	Gaixotasunen kontrako babesak zenbait urte iraun behar du. Hau da, oroitzen immunologikoa garatu behar da, denbora luzerako.
<b>Ab-n EKOIZPENA INDUZITU</b>	Antigorputz neutralizatzaile eta opsonizatzaileak beharrezkoak dira.
<b>T ZELULA BABESGARRIAK INDUZITU</b>	Zenbait patogeno, batez ere intrazelularrak, zelulek bideraturiko erantzunen bidez efikazia handiagorekin tratatzen dira- Tc batez ere.
<b>KONTSIDERAZIO PRAKTIKOAK</b>	Dosi merkea → eskuragarri egoteko edozeinentzat Egonkortasun biologikoa → mantentzeko eta garraiatzeko erraztasunak Administrazio erraza Efektu sekundario gutxi

Umeek, erantzun immunea gara dezaten txertaketa bat jarraitzen dute beraien bizitzako lehenabiziko urteetan. Haietaz gain, zenbait egoera berezitan ere txertoak erabiltzen dira gaixotasunak ekiditeko:

- ✓ Bidaiariak
- ✓ Arrisku taldeak: barerik ez duten pertsonak, immunoeskasietan, albaiariak, militarrek...



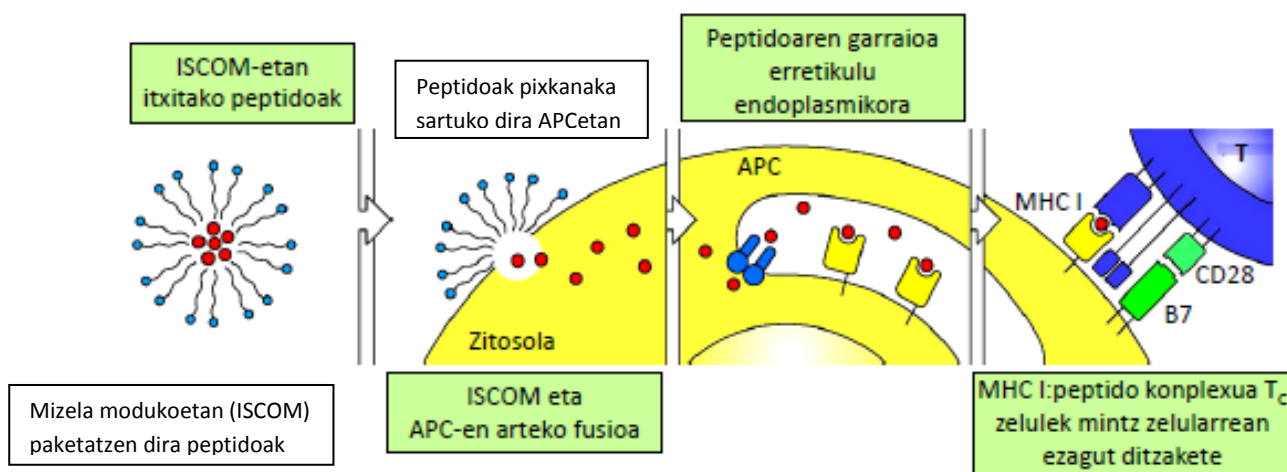
### ❖ TXERTO KONJUGATUAK

Badaude zenbait antígeno immunogenoak ez direnak. Erantzun immunea sor dezaten konjugatu egiten dira, **ADIUBANTEA** deritzon molekula baten bidez. Gainera, honi esker, oroitzen immunologikoa lortuko da.

Def. : *Koadiubantea*: Gaitasun antigenikoa handitzeko eta erantzun immune hobea estimulatzeko txertoari gehitzen diren substantziak.

➔ Noiz erabiltzen dira?

- Antígeno T independenteen kasuan
- Molekula purifikatu zein sintetikoaren kasuan askotan erabiltzen da.



### Koadiubante erabilienak:

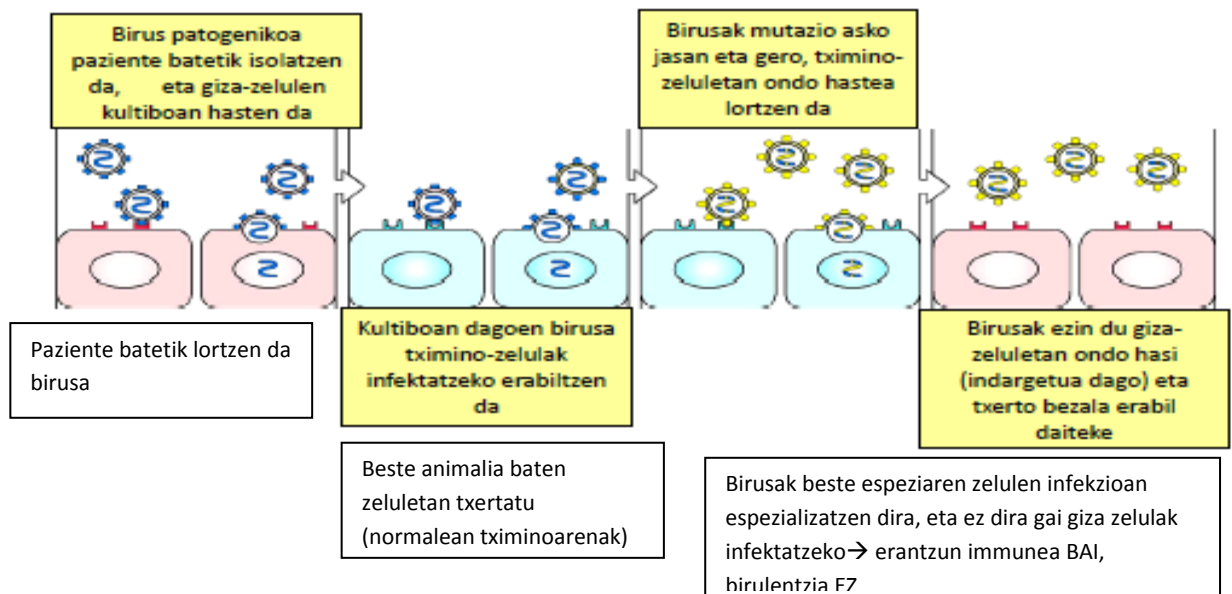
Nombre del adyuvante	Composición	Mecanismo de acción
Adyuvante incompleto de Freund	Emulsión de aceite en agua	Liberación retardada de antígeno, aumento de la captura por macrófagos
Adyuvante completo de Freund	Emulsión de aceite en agua con micobacterias muertas	Liberación retardada de antígeno, aumento de la captura por macrófagos, inducción de coestimuladores en macrófagos
Adyuvante de Freund con MDP	Emulsión de aceite en agua con muramildipéptido (MDP), un constituyente de micobacterias	Similar al adyuvante completo de Freund
Alúmina (hidróxido de aluminio)	Gel de hidróxido de aluminio	Liberación retardada de antígeno, aumento de la captura por macrófagos
Alúmina más <i>Bordetella pertussis</i>	Gel de hidróxido de aluminio con <i>Bordetella pertussis</i> muerto	Liberación retardada de antígeno, aumento de la captura por macrófagos, inducción de coestimuladores
Complejos inmunoestimuladores (ISCOM)	Matriz de Quil A que contiene proteínas víricas	Introduce antígenos en el citosol, permite la inducción de células citotóxicas

## ❖ MIKROORGANISMO INDARGETUEKIN EGINDAKO TXERTOAK

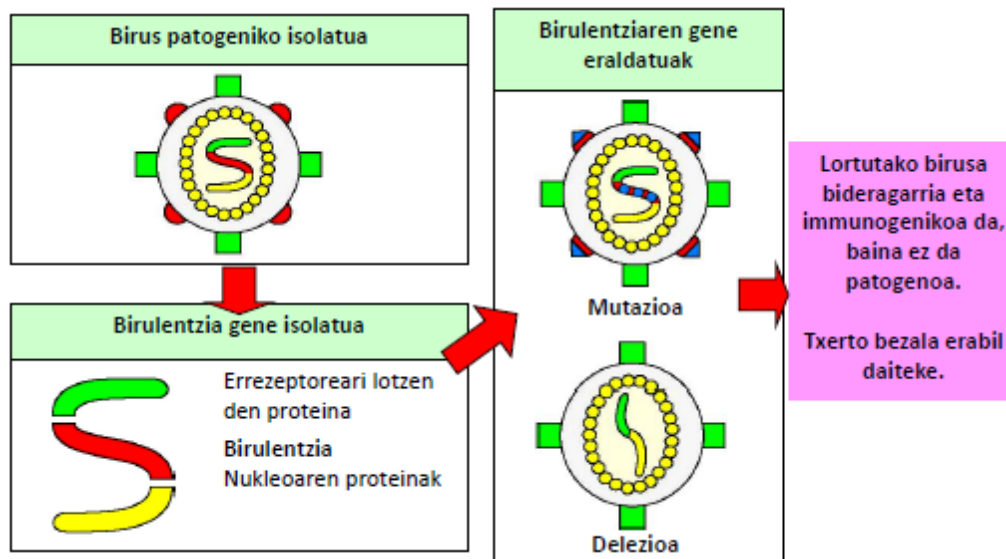
- Immunogenizitatea mantentzen duten arren, ez dira gai izango gaixotasuna eragiteko
- Erantzun immunologiko indartsua eragiten dute+ oroimen immunologikoa indusitzen dute→ Oso txerto onak
  - Birusekin: polio, elgorria, sukar horia
  - Bakterio batzuekin ere bai: BGS (Calmette-Guérin baziloa) (*M. bovis*)
- Abantailak:
  - Erantzun immune ona eragiten dute (alde horretatik txerto onena)
  - Bi erantzunen aktibazioa eragin: berezkoa eta espezifikoa
  - Babes luzea eragiten du: haurtzaroan ematen dira→ oroimen immunologikoa
- Desabantailak:
  - Arriskutsuak izan daitezke
    - Konbertsioa emanez gerp birulentzia berriro har dezakete
    - Beste patogeno batzuen kutsadura izan dezake txertoak, izan ere txertoa ezin da esterilizatu (gure intereseko mikroorganismoa ez hiltzeko) eta beraz, baliteke ahuldu gabeko beste mikroorganismoen bat mantentzea.

➔ Nola lortzen da mikroorganismoa indargetzea?

BIRUS BATEN INDARGETZEAlortzeko, normalean, birusen selekzioa gizakiarenak ez diren zeluletan egiten da. Birusei haien birulentzia genea kentzen zaie, eta hortaz ez dira infekzioa garatzeko gai izango baina erantzun immunea eragingo dute.



BIRUSEN INDARGETZE azkar eta seguruago bat lor daiteke DNA errekonbinantearen tekniken bidez (ingenieritza genetiko). Birulentziaren eragilea den genean mutazioak sartu edo zuzenean kendu egiten da.



#### ❖ **MIKROORGANISMO HILEKIN EGINDAKO TXERTOAK**

- Mikroorganismoa hilda dago baina immunogenizitatea mantentzen du → haren aurkako antigorputzak ekoitziko dira
- Mikroorganismoak hiltzeko bide desberdinak:
  - Tratamendu termikoa (beroaren bidez)
  - Tratamendu kimikoa
  - Erradiazioa
- Lortzen diren txertoak egonkorak izango dira eta kontaminazio gabeak, izan ere txertoaren esterilizazioa egin daiteke.
- Gripe, A hepatitis, antipertusis...-en aurka erabiltzen diren txertoak adibidez
- Desabantailak:
  - Erantzuna ez da hain indartsua eta ona izango
  - Dosi altuak erabili behar dira eta bagzuetan bat baino gehiago (immunizazio bat baino gehiago ala dosi bat baino gehiago)
  - Batzuetan ez dute babes egokia eta iraunkorra ematen
- Abantailak:
  - Ez dira arriskutsuak
  - Txertoaren esterilizazioa egin daiteke
  - Ez da behar 4°Ctan mantentzea → txerto egonkorra



Ezaugarriak	Indargabetuak	Inaktibatuak
Dosia	Txikia, (dosi bakarra)	Handia (dosi bat baino gehiago?)
Adiubanterik?	EZ	BAI
Iraupena	Luzea	Laburra
Antigorputzak	IgG, IgA	IgG
Immunitate zelularra	Ona	Txarra
Termoegonkortasuna	Gutxi	Handia
Albo ondorioak	Arinak batzutan	Batzuetan besoko mina
Errebertsioa birulentziara	Arraroa	EZ
Immunosuprimuentzat?	EZ	BAI

## Birusak

Gaixotasuna	Txerto mota
Hepatitis A	Hilda/inaktibatua
Influenza	Hilda/inaktibatua
Elgorria	Indargabetua
Parotiditis	Indargabetua
Poliomielitis (Sabin)	Indargabetua
Poliomielitis (Salk)	Hilda/inaktibatua
Amorrua	Hilda/inaktibatua
Errotavirus	Indargabetua
Errubeola	Hilda/inaktibatua
Barizela zoster	Indargabetua
Sukar horia	Indargabetua

## Bakterioak

Gaixotasuna	Txerto mota
Karbunko	Hilda/inaktibatua
Kolera	Hilda/inaktibatua
Kukurruku eztula	Hilda/inaktibatua
Peste	Hilda/inaktibatua
Tuberkulosia	Indargabetua
Tifoidea	Indargabetua

### ❖ ANTIGENOAK ERABILIZ EGITEN DIREN TXERTOAK

- Ez dira mikroorganismoak erabiltzen
- Txerto hauek sortzeko erabiltzen dira **antigeno purifikatuak** edo **toxina inaktibatuak**
  - **Toxoideak** (toxuna inaktibatuak): Tetanos, Difteria...
  - **Polisakarido bakterianoak**
    - TI-2: ez dute Th aktibatzen, bai BL (IgM)
    - *S.pneumoniae*, *N.meningitidis*, *Haemophilus influenzae B*
- Th eta antiferputzen erantzuna indusitzen dute, baina ez dituzte Tc linfotito onak eragiten (MHC molekulatan ez baitira ondo aurkezten)
- Normalean **konjugatuak** ematen dira, bestela erantzuna oso eraginkorra ez delako.
- Segurtasun altuko txertoak dira, izan ere ez dute inolako arriskurik eragiten (ez dira birulentoak eta ez daukate infekzioa garatzeko gaitasunik)

- Ez da erantzun oso ona lortzen, ez da T linfzito zitotoxikoen aktibazio ona ematen

### **KONJUGATUAK**

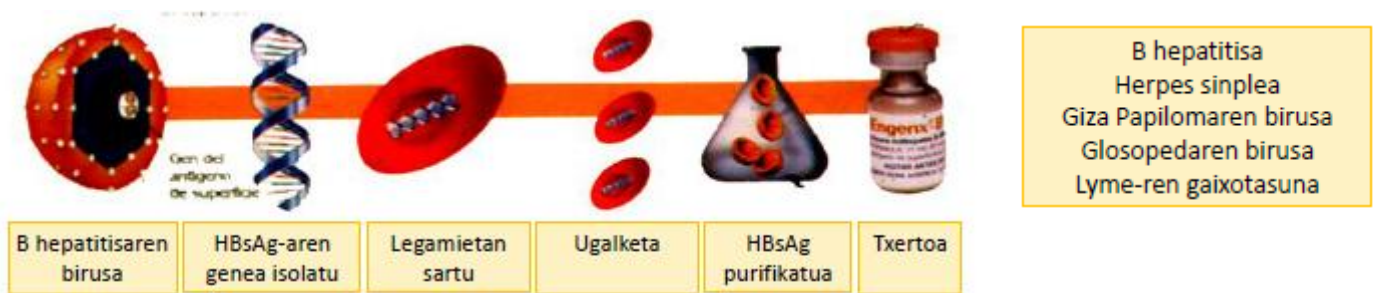
➔ Nola lor daitezke karbohidrato baten aurka antigorputz espezifikoak?

Konjugazioak ahalbidetzen du hori. Antigeno modura txertatuko dugun karbohidratoaren ondoan proteina bat jartzen da. BCRak karbohidratoa ezagutuko du, baina ezin du horren prozesaketa gauzatu aurkezteko, eta beraz, ondoko proteinarekin egingo du hori. Hau da, proteina horren prozesaketak BLaren aktibazioa eragingo du, eta ekoitziko diren antigorputzak karbohidratoaren aurkakoak izango dira.

Horrela lortzen da karbohidratoaren aurkako antigorputzen sintesia, nahiz eta aurkeztu eta prozesatu ezin den molekula izan.

#### ❖ **ANTIGENO SINTETIKOEKIN EGINDAKO TXERTOAK**

- DNA birkonbinatuaren teknikaren bitartez lortzen da antigenoaren adierazpena (adierazpen sistema ezberdinak erabiliz egin daiteke, kasuz kasu)
- Normalean proteina errekonbinanteak sortzen dira
- Abantaila:
  - Oso ziurra da eta ez dago kontaminazio arriskurik
- Desabantailak:
  - Identifikazio eta sintesi prozesua zailak eta luzeak dira
  - Immunogenizitate baxuko antigenoak sortzen dira normalean, eta horregatik konjugatuak erabili ohi dira



#### ❖ **BEKTOREEN ERABILERA TXERTOAK PRESTATZEKO**

- Birus ez zitopatikoko batean (eta zenbait bakterio eta legamietan) antigenoa kodifikatzen duten geneak txertatzen dira, eta beraz birusa bektore moduan erabiliko da organismora gene hauek sartzeko
  - Mikroorganismo horrek antigenoa sintetizatuko duen arren patogenoa ez denez, txertoak prestatzeko erabil daiteke.
  - Abantailak:
    - Erantzun immune osoa eragiten da (TL zitotoxikoak ere aktibatuko dira)
    - Antigenoaren aurkako erantzuna garatzen bada ere,

<b>Birus ez zitopatikokoak</b>
Vaccinia
Estomatitis
Carypox
Polioaren birus indargabetua
Adenovirus
<b>Bakterioak:</b>
<i>Salmonella indargabetua</i> ( <i>S. enterica</i> ser. Typhimurium)
BCG
Estreptokoko batzuk (ahozkoak)

bektore modura erabilitako bektorearen aurka ere erantzuna sortuko da

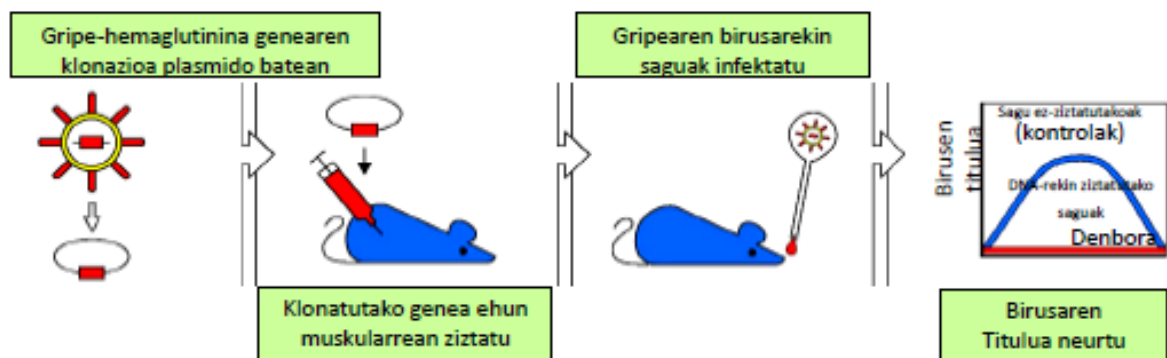
- Desabantailak:
  - Birusek, patogenoak ez diren arren, zelula gutxi batzuen infekzioa gauzatuko dute. Zelula haietan antigenoaren ekoizpena emango da eta erantzun immunea aktibatzen denean Tc-en bidez zelula hauek suntsitu egingo dira.

#### ❖ DNA TXERTOAK

- Gaur egun ez dira erabiltzen baina etorkizunerako ikerketa lerro oso garrantzitsua da.
- DNA birkonbinatuaren teknikaren bitartez lortzen da antigenoaren ekoizpena
- Plasmido bat sortzen da zeinek antigenoaren genearentzako CDNA izango duen. Plasmido hori antígeno aurkezle profesionala den zelula batean transfektatuko da, eta honi esker zelula honek antigenoa sintetizatuko du eta bere aurkezpena egingo duenez, haren aurkako erantzun immunea garatuko da.
- Erantzun immune humoral eta zelular (Tc eta linfozitoak) indartsua eta luzea emango da, adiubanterik erabili gabe ere.
- Gaur egun HIESA, paludismoa, Influenza, herpes... bezalako gaixotasunen aurkako txertoen prestaketarako ikertzen ari dira.

➔ Nola egin daiteke?

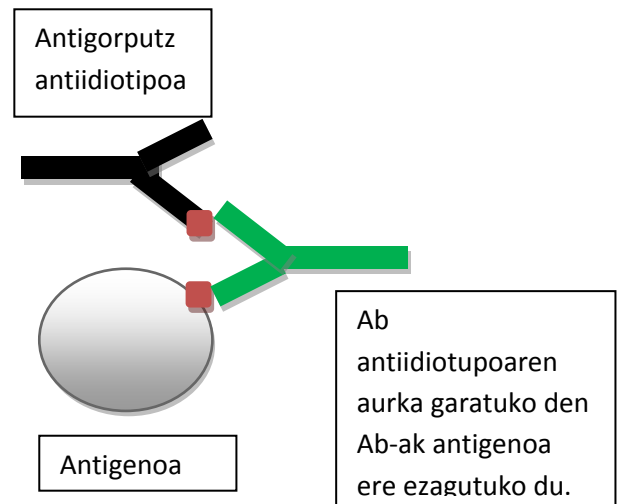
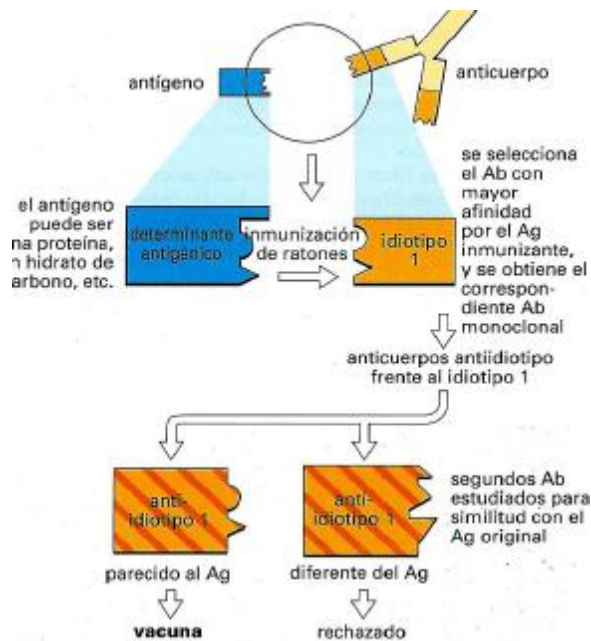
1.) DNAREN ziztada zuzena muskuluan:



2.) Etorkizunean: geneak nahastu (Ag+ zitokinak)

#### ❖ ANTIGORPUTZ ANTIIDIOTIPO

- Antigorputz bat erabiliko dugu zeinek gure intereseko antigenoaren oso antzeko CDRa izango duen.
- Antigorputz honi antigorputz antiidiotipo deituko diogu, eta hau txertatzean erantzun immuneak haien aurkako antigorputzak ekoitziko ditu. Sortzen diren antigorputz horiek antigenoaren aurka ere balioko dite, eta beraz, antigeno horren aurka immunizatuak egongo gara.
- Antigeno lipidiko eta karbohidratoe kasuan, antiidiotipo antigorputzak oso erabilgarriak izan daitezke.

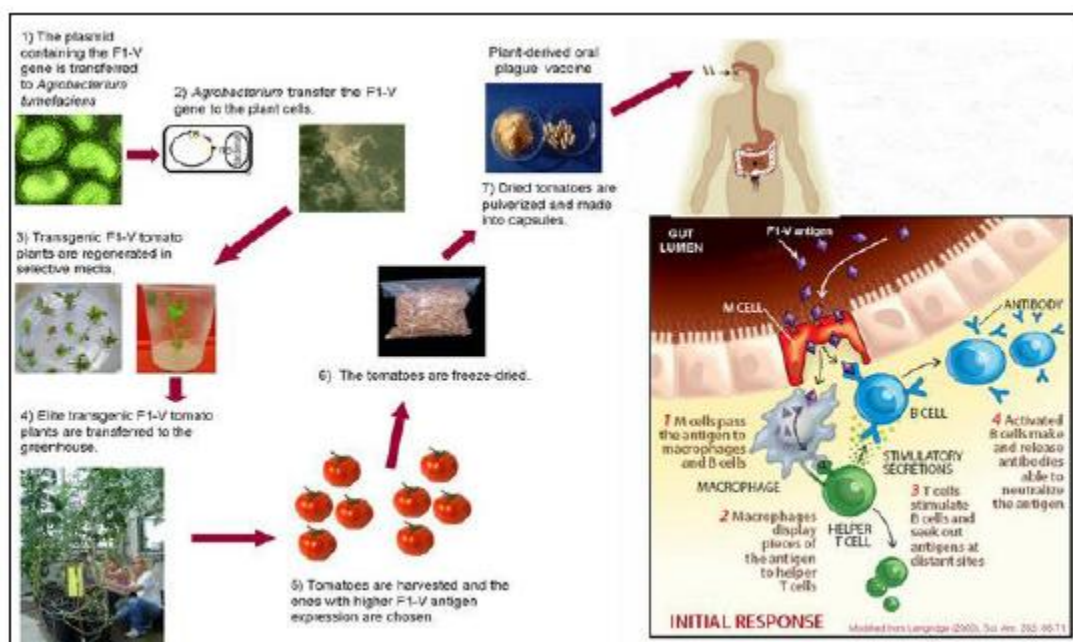


### ❖ LANDARE TXERTOAK

Gure antígenoarentzako genea sortuko da eta plasmido batean txertatuko da. Plasmido hori bakterio batean transformatu, eta bakterioa erabiliz landaren baten infekzioa gauzatuko da. Infekzioaren eraginez. Landareak bere genoaman integratuko du antígenoaren informazioa eta horrenbestez antigenoa adieraziko du. Landare horretatik lotzen diren fruituek adibidez antigenoa izango dute.

Adb: tomate landare batean antígenoarentzako genea integratzea lortuz gero haziko diren tomateek antigenoa izango fute. Tomatea janez gero, pasiboki immunizatuko gara.

Hala ere, bide honetan gauza asko daude oraindik ikertzeko.



### ❖ TXERTO KONBINATUAK

- Etorkizunerako txertoak dira
- Mikroorganismo batzuen aurkako geneak daramatzaten bektore bakteriano edo birala erabiltzen da
- Matrizea solidoa ere izan daiteke (bolatxoak)
- Txertaketa bakarraren bitartez antigeno ezberdinen aurkako immunizazioa lortzeko aukera dago.

