



Vaccinurile și autoimunitatea

VOLUM COORDONAT DE

Yehuda Shoenfeld

Zabludowicz Center for Autoimmune Diseases Sheba Medical Center
Tel Hashomer, Israel

Sackler Faculty of Medicine
Tel Aviv University
Tel Aviv, Israel

Nancy Agmon-Levin

Zabludowicz Center for Autoimmune Diseases Sheba Medical Center
Tel Hashomer, Israel

Sackler Faculty of Medicine
Tel Aviv University
Tel Aviv, Israel

Lucija Tomljenovic

Neural Dynamics Research Group University of British Columbia Vancouver, BC, Canada

TRADUCERE DE

Tatiana Tarog

CU O PREFAȚĂ DE

Prof. Univ. Dr. Pavel Chirilă


Editura Christiana

2016



CUPRINS

Prefață la ediția în limba română	9
<i>Prof. Univ. Dr. Pavel Chirilă</i>	
Colaboratori	11
Introducere	15
<i>Yehuda Shoenfeld, Nancy Agmon-Levin și Lucija Tomljenovic</i>	
I	
Mozaicul autoimunității	
1. Rolul adjuvanților în infecții și autoimunitate	25
<i>Eitan Israeli, Miri Blank și Yehuda Shoenfeld</i>	
2. Infecțiile, adjuvanți pentru autoimunitate: efectul adjuvantului	43
<i>Quan M. Nhu și Noel R. Rose</i>	
3. Modele experimentale de adjuvanți	56
<i>Nicola Bassi, Mariele Gatto, Anna Ghirardello și Andrea Doria</i>	
4. Soluții la ideile preconceptuate privind toxicitatea adjuvanților cu săruri de aluminiu din vaccinuri	65
<i>Lucija Tomljenovic și Christopher A. Shaw</i>	
5. Alergie și autoimunitate cauzate de metale: un concept unificator	82
<i>Vera Stejskal</i>	
6. Genetică și vaccinologie	91
<i>John Castiblanco și Juan-Manuel Anaya</i>	
7. Siliconul și sindromul autoimun/autoinflamator indus de adjuvanți (ASIA)	109
<i>Yair Levy și Rotem Baytner-Zamir</i>	

- 
8. **Implanturile mamare cu silicon și sindromul autoimun/ autoinflamator indus de adjuvanți (ASIA): o analiză a literaturii de specialitate** 120
Elisabetta Borella, Eitan Israeli și Yehuda Shoenfeld
9. **Autoanticorpi induși de vaccin** 128
Nataša Toplak și Tadej Avčin
10. **Registrul Sindromului ASIA** 141
Ignasi Rodriguez-Pintó și Yehuda Shoenfeld
11. **Vaccinarea în bolile autoimune** 145
Carla Gonçalves, Schahin Saad, Clóvis A. Silva și Eloisa Bonfá
12. **Vaccinarea pacienților cu boli reumatismale inflamatorii autoimune** 152
Abdulla Watad, Alessandra Soriano și Yehuda Shoenfeld

II

Studii privind afecțiunile autoimune induse de vaccinare

13. **Vaccinul împotriva rujeolei, oreionului și rubeolei (ROR): o triadă de autoimunitate** 173
Carlo Perricone, Guido Valesini și Yehuda Shoenfeld
14. **Vaccinul contra febrei galbene și autoimunitatea** 181
Roger A. Levy și Rodrigo Poubel V. Rezende
15. **Sindromul antifosfolipidic și vaccinurile** 190
Miri Blank și Paola Cruz-Tapias
16. **Vaccinul antihepatic B și autoimunitatea** 198
Daniel S. Smyk, Lazaros I. Sakkas, Yehuda Shoenfeld și Dimitrios P. Bogdanos
17. **Reacții adverse la vaccinul împotriva virusului papilloma uman** 216
Lucija Tomljenovic și Christopher A. Shaw
18. **Vaccinul antigripal și bolile autoimune** 231
Luis J. Jara, Gabriela Medina, Pilar Cruz Dominguez, Olga Vera-Lastra, Miguel A. Saavedra, Mónica Vázquez del Mercado și Minoru Satoh
19. **Vaccinuri și autoimunitate: vaccinuri meningococice** 245
Giovanna Passaro, Alessandra Soriano și Raffaele Manna
20. **Vaccinurile pneumococice și fenomenele autoimune** 253
Elisabetta Borella, Nancy Agmon-Levin, Andrea Doria și Yehuda Shoenfeld
21. **BCG și autoimunitatea** 261
Luigi Bernini, Carlo Umberto Manzini și Clodoveo Ferri



III

Boli autoimune provocate de vaccinuri

22. Lupus eritematos sistemic indus de vaccinuri. 277
Nurit Katz-Agranov și Gisele Zandman-Goddard
23. Vasculitele. 295
Alessandra Soriano, Rotem Inbar, Giovanna Passaro și Raffaele Manna
24. Vaccinările și artrita reumatoidă. 307
Eitan Giat și Merav Lidar
25. Boli de țesut conjunctiv nediferențiate. 325
Maria Martinelli, Carlo Perricone și Yehuda Shoenfeld
26. Vaccinuri, infecții și alopecia areata. 335
Yaron Zafrir, Sharon Baum, Nancy Agmon-Levin și Yehuda Shoenfeld
27. Biopersistența, circulația sistemică și siguranța
pe termen lung a particulelor
de aluminiu: miofasceita macrofagică și alte afecțiuni. 342
Romain K. Gherardi, Josette Cadusseau și François-Jérôme Authier
28. Purpura trombocitopenică imună: între infecții și vaccinări 355
Carlo Perricone, Maurizio Rinaldi, Roberto Perricone și Yehuda Shoenfeld
29. Vaccinările și diabetul tip 1 368
*Alessandro Antonelli, Silvia Martina Ferrari, Andrea Di Domenicantonio, Ele
Ferranmini și Poupak Fallahi*
30. Narcolepsia și vaccinul H1N1 377
*Maria-Teresa Arango, Shaye Kivity, Nancy Agmon-Levin, Gili Givaty, Joab
Chapman și Yehuda Shoenfeld*
31. Factori de mediu non-nutriționali asociați cu boala celiacă:
infecții și vaccinări 389
Aaron Lerner
32. Polimialgia reumatică. 397
Alessandra Soriano și Raffaele Manna
33. Encefalomielita acută diseminată:
idiopatică, post-infecțioasă și post-vaccinare 402
Dimitrios Karussis și Panayiota Petrou

34. Fibromialgia, oboseala cronică, tulburările funcționale și vaccinarea: cum stau lucrurile?	424
<i>Jacob N. Ablin și Dan Buskila</i>	
35. Dermatozele buloase, agenții infecțioși și vaccinurile	432
<i>Yaron Zafrir, Nancy Agmon-Levin și Sharon Baum</i>	
36. Infecții, vaccinări și sindromul oboșelii cronice	441
<i>Hussein Mahagna, Naim Mahroum și Howard Amital</i>	
37. Miozita și vaccinurile	446
<i>Ignasi Rodriguez-Pintó și Yehuda Shoenfeld</i>	
Index	459



ROLUL ADJUVANȚILOR ÎN INFECȚII ȘI AUTOIMUNITATE

MOZAICUL AUTOIMUNITĂȚII

Eitan Israeli,¹ M. J. Feld^{1,2}
¹Zabindowicz Center for Autoimmune Disease, Tel Hashomer, Israel
²Immunology Section, Dana-Farber Cancer Institute, Boston, MA, USA

Introducere

Vaccinurile utilizate în mod obișnuit sunt o modalitate rentabilă și preventivă de protejare a sănătății, în comparație cu tratarea bolilor acute sau cronice. Cu toate acestea, nu toate vaccinurile sunt la fel de eficiente și ușor de administrat ca vaccinul împotriva variolei (Vaccinia). De obicei, după injectarea unui antigen pur, antigenul nu este preluat la locul de injectare, astfel că efectul imunologic eșuează. Pentru a ajuta sistemul imunitar să recunoască antigenul, se adaugă adjuvanți ai antigenului respectiv în procesul de creare și producere a unui vaccin. În ultimii ani, cercetătorii s-au străduit să elucideze mecanismele prin care adjuvanții își exercită efectele imunologice. Prin descifrarea acestor mecanisme, oamenii de știință speră să conceapă adjuvanți mai eficienți și mai puțin nocivi. Începând din 2013, mecanismele de acțiune ale celui mai răspândit adjuvant, sarea de aluminiu, un adevărat „veteran” al adjuvanților, devin tot mai clare. Se pare că sarea de aluminiu acționează pe căi multiple, fiecare dintre ele putând spori reacțiile imunologice la antigene, în mod independent.

Părți din prezenta lucrare au fost deja publicate de grupul nostru (Israeli et al., 2009). Editura Sage Publications ne-a permis să includem și acele părți în lucrarea de față.

Diferite tipuri de adjuvanți

Adjuvanți mai vechi și mai noi sunt actualmente utilizați în programele de vaccinare umană și veterinară, precum și pe modele experimentale.

Capitla dintre aceștia sunt prezentați în continuare în capitoul de față.



1

ROLUL ADJUVANȚILOR ÎN INFECȚII ȘI AUTOIMUNITATE

Eitan Israeli,¹ Miri Blank¹ și Yehuda Shoenfeld^{1,2}

¹ Zabłudowicz Center for Autoimmune Diseases, Sheba Medical Center, Tel Hashomer, Israel

² Incumbent of the Laura Schwarz-Kipp Chair for Research of Autoimmune Diseases,
Sackler Faculty of Medicine, Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel

Introducere

Vaccinurile utilizate în mod obișnuit sunt o modalitate rentabilă și preventivă de protejare a sănătății, în comparație cu tratarea bolilor acute sau cronice. Cu toate acestea, nu toate vaccinurile sunt la fel de eficiente și ușor de administrat ca vaccinul împotriva variolei (Vaccinia). De obicei, după injectarea unui antigen pur, antigenul nu este preluat la locul de injectare, astfel că efectul imunologic eșuează. Pentru a ajuta sistemul imunitar să recunoască antigenul, se adaugă adjuvanți ai antigenului respectiv în procesul de creare și producere a unui vaccin. În ultimii ani, cercetătorii s-au străduit să elucideze mecanismele prin care adjuvanții își exercită efectele imunologice. Prin descifrarea acestor mecanisme, oamenii de știință speră să conceapă adjuvanți mai eficienți și mai puțin nocivi. Începând din 2013, mecanismele de acțiune ale celui mai răspândit adjuvant, sarea de aluminiu, un adevărat „veteran” al adjuvanților, devin tot mai clare. Se pare că sarea de aluminiu acționează pe căi multiple, fiecare dintre ele putând spori reacțiile imunologice la antigene, în mod independent.

Părți din prezenta lucrare au fost deja publicate de grupul nostru (Israeli *et al.*, 2009). Editura Sage Publications ne-a permis să includem și acele părți în lucrarea de față.

Diferite tipuri de adjuvanți

Adjuvanți mai vechi și mai noi sunt actualmente utilizați în programele de vaccinare umană și veterinară, precum și pe modele experimentale.

Câțiva dintre aceștia sunt prezentați în continuare în capitolul de față.

Săruri de aluminiu

Sarea de aluminiu este un reactiv anorganic care are capacitatea de a spori imunitatea. Sărurile de aluminiu includ fosfatul de aluminiu și hidroxidul de aluminiu, aceștia fiind și cei mai comuni adjuvanți din vaccinurile umane. Uneori, preparatului i se adaugă squalenă, un compus organic (inițial obținut din ulei de ficat de rechin și un precursor biochimic al steroizilor).

Adjuvanți pe bază de ulei

Adjuvanții pe bază de ulei (de exemplu, adjuvantul Freund, Pristane etc.) se găsesc de obicei în unele formule de vaccinuri de uz veterinar. Adjuvantul Freund incomplet (IFA) conține emulsie de ulei-în-apă, în timp ce adjuvantul Freund complet (AFC) conține și micobacterii moarte. Micobacteriile adăugate la adjuvant atrag celulele macrofage și alte celule la locul de injectare, ceea ce intensifică răspunsul imun. Astfel, AFC se folosește, de obicei, în vaccinarea primară, în timp ce versiunea lui incompletă se administrează cu scop stimulat. Unele emulsii de ulei-în-apă, de dată mai recentă, sunt produse de companii farmaceutice ca MF59 (Novartis), AS03 (GlaxoSmithKline), Advax (Vaxine Pty) și Qs-21/ISCOM (vezi mai jos).

Virozomi

În decursul ultimelor două decenii s-au analizat diverse tehnologii, din punct de vedere al capacității lor de a îmbunătăți adjuvanții de sare de aluminiu de largă folosință (Holzeret *et al.*, 1996) și susceptibili să inducă inflamație locală. Astfel, s-au creat adjuvanți novatori, care pot fi utilizați și ca sisteme purtătoare de antigene numite virozomi. Virozomii conțin o hemaglutinină și o neuraminidază legate de membrană, derivate din virusul gripei, ambele capabile să faciliteze absorbția la nivelul celulelor prezentatoare de antigene (CPA) și să imite răspunsul imun natural (Gluck, 1999).

Adjuvanți moderni experimentali

În căutarea de adjuvanți mai moderni și mai siguri, companiile farmaceutice care utilizează inovații imunologice și chimice de ultimă oră au creat o serie de adjuvanți cu totul inediți.

Adjuvanți legați de receptori Toll-like

IC31 este un adjuvant sintetic alcătuit din două componente, care semnalează prin intermediul receptorului Toll-like (RTL)-9. Acest adjuvant nou se testează încă din 2008 în diverse combinații destinate vaccinului antigripal (Riedlet *et al.*, 2008). Alți patru adjuvanți, ASO4, ASO2A, CPG 7907 și GM-CSF, fac obiectul cercetărilor legate de câteva vaccinuri extrem de importante, cum ar fi vaccinurile contra virusului papilloma uman, contra hepatitei B și contra malariei (Pichichero, 2008). Alți posibili adjuvanți dependenți de RTL, cum ar fi RC-529 și ISS, Flagellin și agoniști RTL, sunt,

deocamdată, în curs de studiu clinic. AS02 și AS04 sunt adjuvanți patentati ai GlaxoSmithKline (GSK). AS02 conține MPL și QS-21 într-o emulsie ulei-în-apă. AS04 combină MPL cu sarea de aluminiu. MPL este o serie a 4'-monofosforil lipidului A, care variază în ce privește gradul și poziția substituției acizilor grași. Este preparat din lipopolizaharide (LPZ) de *Salmonella Minnesota* R595, prin tratarea LPZ prin hidroliză acidă și bazică blândă, urmată de purificarea LPZ-ului modificat. Dinucleotidele CpG-ului nemetilat sunt motivul pentru care ADN-ul bacterian, dar nu și ADN-ul vertebratelor, este imunostimulator. ADN-ul vertebratelor conține cantități relativ mici de CpG nemetilat, comparativ cu ADN-ul bacterian. Efectul adjuvant al CpG este îmbunătățit prin conjugarea cu antigene proteice. CPG7909, un adjuvant creat de Coley Pharmaceuticals, a fost testat în câteva vaccinuri contra agenților infecțioși (cum ar fi alergenul hepatitei B: Creticos *et al.*, 2006) și contra celulelor tumorale (Alexeev *et al.*, 2008; Kirkwood *et al.*, 2009).

Adjuvanți noi formulați

MF59 este o emulsie ulei-în-apă submicronică de squalenă, polioxiutilen sorbitan monoelat (Tween 80) și sorbitan trioleat. MF59 a fost aprobat în Europa și se găsește în mai multe vaccinuri, inclusiv în vaccinul antigripal. Adjuvantul a fost licențiat și altor companii, fiind testat activ în studii de vaccinologie. Alte emulsii ulei-în-apă conțin Montanide (Seppic), adjuvant 65 (utilizat din anii 1960) și Lipovant. QS-21, un produs natural obținut din scoarța copacului *Quillaja Saponaria*, originar din Chile și Argentina, este actualmente în curs de investigație (Ghochikyan, 2006). Complexele imunostimulatoare (COMIS) sunt structuri-fagure compuse, în principal, din saponine din scoarța de Quillaja, colesterol, fosfolipide și antigen. Unele complexe imunostimulatoare sunt realizate fără antigen și se amestecă apoi cu antigen, astfel ca antigenul să fie absorbit pe sau conjugat cu COMIS. Izoforme specifice de ADVAX, un adjuvant creat în Australia, pe bază de inulină (un polizaharid natural derivat din plante, care constă dintr-un lanț de molecule de fructoză terminat cu o moleculă de glucoză), se prepară și se formulează în compoziții adecvate pentru utilizare pe post de adjuvanți. Un efect sinergic se obține prin combinarea gamma-inulinei cu un material de legare la antigen, cum este inulina; produsul se numește Algamulin.

Adjuvanți xenobiotici (adjuvanți naturali)

Unele dintre proprietățile adjuvante ale pereților bacterieni ai bacteriilor Gram-negative au fost atribuite în mod clar fracției de lipidă A a LPZ-lor (Ulrich, 1995). În mod similar, muramil dipeptida xenobiotică, dovedită a fi cel mai mic fragment peptidic de perete celular bacterian, poate înlocui micobacteriile din adjuvantul AFC (Bahr, 1986).

Mai recent, interesul s-a concentrat pe o altă structură naturală bine-definită, cu calități adjuvante: ADN-ul bacterian. Studiile asupra ADN-ului bacterian au arătat că modelele CpG nemetilate care prezintă secvențele nucleotidice 5'-Pu-Pu-CPG-Pir-Pir-3' (Pu: purină, A sau G; Pir: pirimidină, C sau T) sunt recunoscute de și pot activa celule ale sistemului imunitar (Krieget *et al.*, 1995). Astfel de pattern-uri permit sistemului imunitar să distingă ADN-ul străin, derivat din patogen, de ADN-ul propriu. S-a

constatat că modelele CpG activează celule prezentatoare de antigen, ceea ce duce la reglarea pozitivă a complexului major de histocompatibilitate (CMH) și a moleculelor costimulatoare, la secreția de citokine proinflamatorii (TNF- α , IFN- γ , IL1, IL6, IL12 și IL-18) și la activarea răspunsului imun *T helper tip 1* (Th1) (Lipfordet *et al.*, 1997; Millan, 1998; Zimmermann, 1998).

Autoadjuvantul Tuftsina

Tuftsina este o tetrapeptidă imunostimulatoare fiziologică naturală (Thr-Lys-Pro-Arg), o fracțiune a moleculei IgG de lanț greu, produsă prin clivaj enzimatic în splină. Deficitul de tuftsina, ereditar sau cauzat de splenectomie, conduce la creșterea susceptibilității la anumite infecții cauzate de organisme capsulate, cum ar fi *Haemophilus influenzae*, *pneumococi*, *meningococi* și *Salmonella*. Tuftsina, fiind o moleculă auto-immunostimulatoare, poate fi considerată un „autoadjuvant”, date fiind funcțiile sale biologice, care cuprind:

1. Legarea de receptorii de pe celulele neutrofile și macrofage, pentru a le stimula activitatea fagocitară. Tuftsina este capabilă să sporească eficacitatea agenților antimicrobieni. Terapia pe bază de tuftsina s-a dovedit una de succes, prin activitatea unei gentamicine combinată cu conjugat de tuftsina, în tratarea cheratitei cauzată de infecții cu *Pseudomonas aeruginosa* și cu *Candida peritonis*, într-un model experimental murin. Macrofagele peritoneale murine activate de tuftsina au ucis și protozoarul intracelular *Leishmania major*. Mai mult decât atât, derivatul de tuftsina Thr-Lys-Pro-Arg-NH-(CH₂)₂-HCOC15H₃₁ a protejat șoarecii împotriva infecției cu *Plasmodium berghei*. În studiile pe oameni s-a dovedit că tuftsina stimulează activitatea antimicrobiană a macrofagelor monocitare sanguine la pacienții cu lepră.

2. Stimularea eliberării factorului de necroză tumorală alfa (TNF α) din celulele Kupffer umane.

3. Stimularea secreției de IL1, prin activarea macrofagelor (Phillips *et al.*, 1981; Dagan *et al.*, 1987).

4. Interacțiunea cu celulele macrofage, ceea ce face ca expresia oxid nitric (NO) sintaza să producă NO (Dagan *et al.*, 1987).

5. Stimularea citotoxicității naturale mediate celular la modele murine (Phillips *et al.*, 1981). Fiind o moleculă mică de autoadjuvant natural, utilizarea ei poate stimula, pe lângă activități antimicrobiene și antifungice, restaurarea sistemului imun înăscut la gazde imunocompromise, cum ar fi bolnavii de SIDA (Fridkin *et al.*, 2005) și bolnavii de cancer (Khan *et al.*, 2007; Yuan *et al.*, 2012). În plus, tuftsina poate servi ca un bun adjuvant pentru o nouă generație de vaccinuri, fără efecte secundare sau cu efecte secundare minime (Pawan *et al.*, 1994; Gokulan *et al.*, 1999; Wardowska *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2012).

Liu *et al.* (2012) au introdus un nou vaccin împotriva virusului gripal A, bazat pe un multimer de tuftsina cu domeniul extracelular al proteinei matrice 2 (M2e) a virusului gripal A. După studii pe animale, constructul-tuftsina M2e a fost propus drept candidat promițător pentru un vaccin universal împotriva virusului gripal. La evaluarea vaccinului contra malariei, tuftsina a fost legată chimic de secvențele repetate



SINDROMUL ANTIFOSFOLIPIDIC ȘI VACCINURILE

Miri Blank și Paola Cruz-Tapias

¹Zabludowicz Center for Autoimmune Diseases, Sheba Medical Center, Tel Hashomer, Israel

²Doctoral Program in Biomedical Sciences, Del Rosario University, Bogotá, Colombia

Introducere

Sindromul antifosfolipidic (SAFL) este o boală multisistemică autoimună, asociată cu pierderi fetale recurente, fenomene tromboembolice, trombocitopenie, precum și cu tulburări neurologice, cardiace și dermatologice (Cervera *et al.*, 2002; Shoenfeld, 2003). SAFL se caracterizează prin prezența anticorpilor antifosfolipidici, care leagă fosfolipide încărcate negativ, în principal prin $\beta 2$ -glicoproteina I ($\beta 2$ GP1) (Galii *et al.*, 1990). Factorii care cauzează producerea anticorpilor anti- $\beta 2$ GP1 rămân încă necunoscuți, dar există dovezi că SAFL este una din acele boli autoimune care pot fi induse de infecții și care pot avea legătură cu vaccinarea (Cruz-Tapias *et al.*, 2012).

$\beta 2$ GP1 și anticorpilor $\beta 2$ GP1 în SAFL

Antigenul $\beta 2$ GP1 a fost identificat ca cel mai important element antigen în SAFL (Schwarzenbacher *et al.*, 1999). $\beta 2$ GP1 este o glicoproteină care leagă fosfolipidele anionice, aparținând superfamiliei proteinelor de control ale sistemului complement (PCC). $\beta 2$ GP1 constă din 326 de aminoacizi, organizați în cinci domenii PCC. Primele patru domenii au secvențele regulate, conservate, dar al cincilea domeniu conține 20 de aminoacizi cu bucle la capetele C-terminale, care constituie o zonă (patch) încărcată pozitiv, și care determină afinitatea pentru fosfolipidele anionice (Bouma *et al.*, 1999; Schwarzenbacher *et al.*, 1999). S-a demonstrat că interacțiunea dintre $\beta 2$ GP1 și fosfolipidele anionice suferă modificări conformaționale, care au ca rezultat expunerea unui epitop criptic, recunoscut de anticorpilor anti- $\beta 2$ GP1; această cripticitate poate fi o caracteristică importantă a epitopilor recunoscuți de autoanticorpi în SAFL (Pengo *et al.*, 1995; Agar *et al.*, 2011). $\beta 2$ GP1 are câteva proprietăți *in vitro*, care îl definesc ca

anticoagulant (de exemplu, inhibarea activității protrombinei, agregarea plachetară indusă de ADP, producția de factor plachetar IX) (Blank *et al.*, 1991; Pengo *et al.*, 1995; Bouma *et al.*, 1999; Schwarzenbacher *et al.*, 1999; Agar *et al.*, 2011). Transferul pasiv al anticorpilor anti- β 2GP1 induce SAFL experimental la șoareci naivi și formarea trombilor la modele *ex vivo* (Blank *et al.*, 1991; Pierangeli *et al.*, 1996). Imunizarea cu molecula β 2GP1 umană induce SAFL experimental la șoareci naivi, care se manifestă prin titruri ridicate de anticorpi anti- β 2GP1 și un procent crescut de resorbție fetală (echivalentă cu pierderea fetală, în cazul SAFL la om), trombocitopenie și prelungirea timpului de activare parțială a tromboplastinei (Blank *et al.*, 1994). Administrarea orală de β 2GP1 la șoareci cu SAFL induce toleranță (Blank *et al.*, 1998). Boala poate fi tratată cu peptide sintetice aferente β 2GP1 (Blank *et al.*, 1999, 2011).

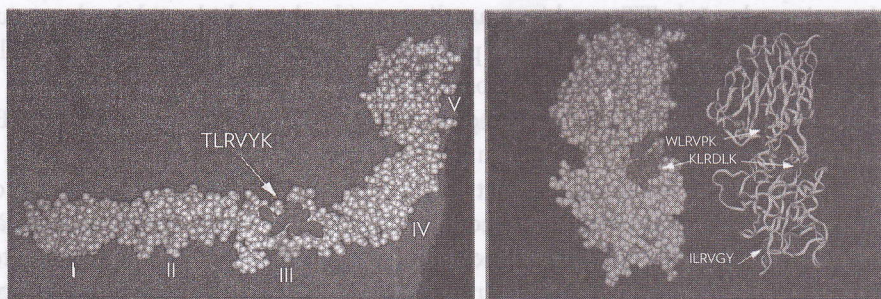
Sindromul antifosfolipidic (SAFL) și vaccinul cu toxină tetanică

Toxina tetanică (TT) este o exotoxină puternică, produsă de bacteria *Clostridium tetani*. Este produsă sub formă de lanț polipeptidic inactiv unic, de 150 kDa, format din trei domenii 50 kDa, conectate prin bucle sensibile la protează. Toxina este activată printr-un clivaj proteolitic selectiv, care generează două lanțuri cu legături disulfidice: un lanț greu (100 kDa) și un lanț ușor (50 kDa). Capătul carboxil al lanțului greu se leagă la membrana celulară neuronală, iar capătul amino facilitează intrarea în celulă. Toxina are un efect predominant asupra neuronilor inhibitori, inhibând eliberarea acidului gamma aminobutiric (AGAB). Când sunt afectați interneuronii inhibitori spinali, apar simptomele (Cook *et al.*, 2001). Infecția poate fi prevenită prin utilizarea unui vaccin pe bază de TT, combinat cu adjuvant (de obicei, hidroxid de aluminiu). Cu toate acestea, vaccinul poate induce producerea de anticorpi împotriva toxoidului tetanic, care poate reacționa cu alte autoantigene.

S-a produs un anticorp IgM derivat din celulele tip hibridoma umane (H3 MAB), de la o persoană sănătoasă vaccinată cu doză de rapel de vaccin antidifteric și TT, și s-a constatat că anticorpii au reacționat atât la toxină, cât și cardiolipline umane (de o manieră dependentă de β 2GP1). O confirmare suplimentară a acestei reactivități încrucișate a provenit de la analiza anticorpilor serici la pacienți cu lupus eritematos sistemic (LES) și la indivizi sănătoși (Sutjita *et al.*, 1988). Serurile individuale au fost trecute printr-o coloană (cu sefaroză) de afinitate la toxina difterică, iar anticorpii legați au fost examinați cu testul ELISA. S-a constatat o reactivitate încrucișată a H3 mAb la TT atât la preparatele obținute din serul normal, cât și la cele obținute din serul pacienților cu LES (Sutjita *et al.*, 1988). Anticorpii antiidiotip anti-H3 au fost capabili să blocheze legarea H3 la cardiolipină, toxina difterică și TT. Mai mult decât atât, niveluri ridicate de idiotip H3 au fost detectate la 83% din serurile pacienților cu LES și a existat o bună corelare între cantitatea de H3 idiotip și totalul (IgG, IgA, și IgM) de anticorpi cardiolipinici ($r_s = 0,70$, $p < 0,001$) (Sutjita *et al.*, 1989; Hohmann *et al.*, 1991).

Șoarecii naivi imunizați cu mAb H3 au dezvoltat SAFL experimental, manifestat prin titruri mari de anticorpi circulanți anticardiolipină, număr crescut de avorturi spontane, trombocitopenie și timp de coagulare prelungit (Bakimer *et al.*, 1992). H3 mAb leagă anticardiolipina prin β 2GP1. Pentru identificarea țintei epitop β 2GP1 a H3 mAb, H3 mAb, s-a introdus într-o bancă de expresie a hexapeptidelor la suprafața bacteriofagilor. Peptida RTLVIYK imită epitopul de legare H3/ β 2GP1. Peptida RTLVIYK este situată în al treilea domeniu al moleculei β 2GP1 (aminoacizii 133-138 pe domeniul III). Peptida RTLVIYK nu a inhibat doar legarea H3 mAb la β 2GP1, ci și activarea celulelor endoteliale. Prin urmare, șoarecii injectați cu H3 mAb patogen și tratați apoi cu peptida RTLVIYK au fost protejați contra declanșării SAFL experimental (Blank *et al.*, 1999).

Căutările în baza de elvețiană Protein Database au relevat un grad ridicat de omologie între hexapeptida RTLVIYK și domeniul peptidic al diferitelor bacterii și virusuri și TT (Blank *et al.*, 2002). Peptida RTLVIYK este situată pe moleculele β 2GP1 și TT (apare de trei ori în TT, nu ca peptide lineare, ci ca mimotopi conformaționali) (Figura 15.1) (Blank *et al.*, 2002). Șoarecii BALB/c naivi, imunizați cu TT, au dezvoltat anticorpi direcționați către TT, ADNc și β 2GP1, și s-au îmbolnăvit extrem de grav. Prin urmare, pentru a evalua potențialul patogen al anticorpilor direcționați către peptida comună legată la anticorpi anti-TT și anti- β 2GP, la șoarecii imunizați contra TT, anticorpii cu reactivitate încrucișată au fost supuși unei purificări de afinitate pe o coloană compusă din peptide sintetice RTLVIYK. Anticorpii anti-TT/ β 2GP1 au legat β 2GP1 și TT de înaltă afinitate, de o manieră dependentă de doză. Transferul pasiv de anticorpi anti-RTLVIYK purificați prin afinitate, la șoareci naivi, a indus un model experimental de SAFL, manifestat printr-un procent semnificativ de mare de avorturi spontane, timp de coagulare prelungit și trombocitopenie, similar cu cel înregistrat pe un grup martor de șoareci imunizați cu un anticorp monoclonal patogen anti- β 2GP1 (Figura 15.2) (Blank *et al.*, 2002).



▶ β 2GP1: Peptida TLRVIYK este situată pe domeniul III

▶ Anatoxina tetanică: un mimotop este extern și 2 mimotopi sunt criptici

Figura 15.1 Omologia între peptida legată de β 2GP1 și TT.

(pentru versiunea color a acestor figuri, a se vedea planșele color de la finalul cărții)

Împreună, toate probele prezentate aici susțin ideea potrivit căreia mecanismul mimetic molecular între β 2GP1 și TT este una din cauzele posibile ale SAFL. În speță, se pare că epitopii TT specifici pot induce un răspuns imun care rupe toleranța la epitopii gazdă. Celula T sau B cu reacție încrucișată este apoi capabilă să inducă un răspuns autoimun