

ROTEIRO DE ATIVIDADES SOBRE VACINAS

PROPOR AO ALUNO A PESQUISAR E ENTENDER QUAL A MELHOR ESTRATÉGIA VACINAL PARA CONTROLE DE PANDEMIAS POR AGENTES INFECCIOSOS, INCLUSIVE DO CORONAVÍRUS

A vacinação e a higienização são duas das principais estratégias estabelecidas nos últimos tempos que permitem o controle efetivo de doenças infecciosas. Muitas doenças comuns no Brasil e no mundo deixaram de ser um problema de saúde pública por causa da vacinação massiva da população. Varíola, poliomielite, sarampo, rubéola, tétano, difteria e coqueluche entre outras, são só alguns exemplos de doenças comuns no passado e que as novas gerações só ouvem falar em histórias.

As vacinas são substâncias feitas a partir de microrganismos patogênicos, ou de alguns de seus componentes, causadores de doenças, e têm como principal função estimular o nosso sistema imunológico a produzir anticorpos ou ativação de linfócitos T para combater determinados agentes infecciosos e, dessa forma, manter o nosso corpo livre dessas doenças. Dizemos que as vacinas são uma forma de imunização ativa, já que é o nosso próprio organismo que produz e/ou estimula os componentes essenciais para sua defesa.

Apesar dos grandes avanços na área de pesquisa e desenvolvimento de vacinas, ainda temos sérios desafios pela frente e a real necessidade de novos produtos para o controle de doenças que há séculos dizimam anualmente milhões de pessoas (como a tuberculose, malária, leishmaniose e doenças virais entre outras) e de novos patógenos que frequentemente surgem em nível mundial, como é o caso atual do coronavírus.

Os objetivos principais desse trabalho são:

1. Levar o aluno inicialmente a pesquisar e entender:
 - Os conceitos básicos dos diversos tipos de vacinas (atenuada, inativada, toxoide e subunidade) que são usadas atualmente pela OMS e pelo Ministério da Saúde, e outras em desenvolvimento como as de DNA e mRNA, para o controle de infecções bacterianas e virais;
 - O tipo de resposta imunológica que deve ser desenvolvida e/ou induzida para cada tipo de patógeno, seja intra ou extra-celulares (vírus, bactérias, fungos, parasitas);
 - A necessidade de usar sistemas carreadores e adjuvantes para potenciar a resposta e memória imunológica de longa duração;
 - As vantagens e desvantagens de cada tipo de vacina;
 - As estratégias e etapas necessárias e o tempo para o desenvolvimento de cada tipo de vacina.
 - A necessidade de estabelecer novas tecnologias para acelerar o tempo para desenvolvimento de vacinas eficazes.

2. Levar o aluno a pensar, a usar e integrar os conhecimentos do item 1 acima, para que entenda qual seria o melhor racional para desenvolvimento de uma vacina para coronavírus que estaria disponível para a população em curto espaço de tempo.

Estratégia do estudo

- Serão feitos diversos questionamentos, que devem ser respondidos pelos alunos, por escrito e na sequência proposta;
- Os questionamentos seguem uma lógica para que o aluno entenda os conceitos básicos imunológicos e vacinais e mostrem a viabilidade de se desenvolver uma vacina para coronavírus dentro dos vários tipos e estratégias mencionadas acima (atenuada, inativada, toxoide, subunidade, conjugada, DNA, mRNA);
- Para o estudo, os alunos podem contar com dados de uma apresentação em slides; usar os livros que foram indicados pela disciplina; e serão disponibilizados artigos científicos mais específicos que complementam as informações necessárias.

Questionamentos:

Os alunos devem responder, por escrito e individualmente, cada uma das questões formuladas abaixo. As respostas devem ser adicionadas no moodle.

1. Comentar sobre conceito de vacinas e contextualizar a sua importância no controle de doenças infecciosas nos últimos 2 séculos. Baseado nos dados de alta eficácia vacinal para diversas doenças infecciosas, justifica-se uma vacina para coronavírus?
2. O coronavírus (SARS-CoV-2) foi descoberto recentemente – descreva o que se sabe até o momento sobre as características estruturais desse vírus (isso é importante para saber quais componentes virais/antígenos podem ser usados para desenvolvimento da vacina).
3. O coronavírus é uma doença viral – descreva em linhas gerais o mecanismo de patogenia (infecção, replicação intracelular e disseminação da infecção no hospedeiro). Porque é importante conhecer os mecanismos imunopatológicos para desenvolver vacinas? Eles são considerados patógenos intra ou extracelular, ou ambas as formas?
4. Quais os mecanismos imune-efetores (imunidade celular - sub tipos de linfócitos, e humoral) que devem ser ativados pela vacina para o controle efetivo da infecção por coronavírus?
5. O vírus já se encontra na forma isolada e pode ser cultivado em cultura de células. É possível usar diretamente os vírus provenientes dessa cultura, que são patogênicos, como vacina e inocular nos indivíduos?

Vacinas atenuadas

6. Como não é possível usar o vírus patogênico, podemos fazer uma atenuação do mesmo para que ele não seja mais patogênico (não cause doença) e fazermos uma vacina de vírus vivo atenuado? Explique dois mecanismos básicos que podem ser utilizados para atenuação de microrganismos (vírus) e usá-los como vacina.
7. Quais as vacinas vivas atenuadas (virais e bacterianas) que são usadas (ou já foram) para o controle de doenças infecciosas no Brasil e em nível mundial? Qual o impacto do uso desse tipo de vacina para o controle dessas epidemias?
8. Comente o caso da vacina contra varíola (viva atenuada), que foi a mais eficaz de todos os tempos (erradicou a varíola), e foi desenvolvida em época que não se conhecia nem que micróbios causavam doenças e nem os conceitos básicos de imunologia.
9. Uma vez que o vírus seja atenuado (organismo vivo que não causa mais doença) ele poderá ser usado como uma vacina viva atenuada. Como esse tipo de vacina pode ser produzida em grande escala? Essa vacina pode ser considerada intra ou extra-celular? Que tipo de resposta imune pode ser induzida por esse tipo de vacina? Ela tem a capacidade de estimular imunidade inata e adaptativa (humoral, celular)? Quais os antígenos e os PAMPs que estão presentes na vacina? Existe a necessidade de uso de adjuvantes e/ou carreadores para potenciar a resposta imunológica? Quais são os principais tipos de carreadores e adjuvantes usados em vacinas e como eles atuam? Quais são as vantagens e as desvantagens (ativação da resposta imunológica, efeitos colaterais, tempo de memória imunológica etc..) das vacinas vivas atenuadas? Existe restrição de reconhecimento de antígenos dessa vacina por moléculas de HLA (MHC) dos diferentes indivíduos que poderia restringir a eficácia vacinal?
10. Como vimos, as vacinas vivas atenuadas são altamente eficazes no controle de infecções. O desenvolvimento desse tipo de vacina demora mais de 15 anos para ser disponibilizada e usada pela população em geral. Comente as etapas necessárias que devem ser seguidas para desenvolver uma vacina até que ela seja disponibilizada para uso na população em geral. Levando-se em consideração as diversas etapas e o tempo de desenvolvimento, comente se seria adequado, nesse momento, que precisamos de maneira urgente uma nova vacina, iniciar o desenvolvimento de uma vacina viva atenuada para coronavírus.

Vacinas Inativadas

11. Uma excelente e prática alternativa para desenvolvimento de vacinas é o uso de microrganismos mortos inativados – não necessitam de longo tempo para atenuação. Descrever os mecanismos que podem ser usados para inativar patógenos de maneira geral para uso vacinal.

12. Quais as vacinas inativadas (virais e/ou bacterianas) que são usadas atualmente para o controle de doenças infecciosas no Brasil e em nível mundial? Qual o impacto do uso desse tipo de vacina para o controle dessas epidemias?
13. Uma vez que o vírus seja inativado (organismo morto) ele poderá ser usado como uma vacina viva inativada. Como esse tipo de vacina pode ser produzida em grande escala? Essa vacina pode ser considerada intra ou extra-celular? Que tipo de resposta imune pode ser induzida por esse tipo de vacina? Ela tem a capacidade de estimular imunidade inata e adaptativa (humoral, celular)? Quais os antígenos e PAMPs estão presentes na vacina? Existe a necessidade de uso de adjuvantes e/ou carreadores para potencializar a resposta imunológica? Quais são as vantagens e as desvantagens (ativação da resposta imunológica, efeitos colaterais, tempo de memória imunológica etc..) das vacinas inativadas? Existe restrição de reconhecimento de antígenos dessa vacina por moléculas de HLA (MHC) dos diferentes indivíduos que poderia restringir a eficácia vacinal?
14. Seria possível uma vacina baseada em vírus inativado para uso contra coronavírus?

Vacinas de subunidades – diferentemente das vacinas atenuadas e inativadas, que contam com todos os antígenos e PAMPs do patógeno, as vacinas de subunidades são constituídas de um único componente como os toxóides (toxinas inativadas) proteínas purificadas (recombinantes), peptídicas (epítomos proteicos) e conjugadas.

Toxinas inativadas

15. As toxinas (bacterianas) inativadas são usadas há longo tempo como vacinas não só pelo seu poder antigênico como também pela possibilidade de neutralização rápida dos efeitos das toxinas quando indivíduos são infectados. Quais as vacinas baseadas em toxinas que são usadas atualmente para o controle de doenças infecciosas no Brasil e em nível mundial? Qual o impacto do uso desse tipo de vacina para o controle dessas infecções?
16. Uma vez que a toxina seja inativada ela poderá ser usada como uma vacina de subunidade (um único antígeno mas contendo diversos epítomos). Como esse tipo de vacina pode ser produzida em grande escala? Ao ser inoculada, essa vacina pode ser considerada como antígeno intra ou extra-celular? Que tipo de resposta imune pode ser induzida por esse tipo de vacina? Ela tem a capacidade de estimular imunidade inata e adaptativa (humoral, celular – CD4, CD8)? Existe a necessidade de uso de adjuvantes e/ou carreadores para potencializar a resposta imunológica? Quais são as vantagens e as desvantagens (ativação da resposta

imunológica, efeitos colaterais, tempo de memória imunológica etc..) das vacinas baseadas em toxóides? Existe restrição de reconhecimento de antígenos dessa vacina por moléculas de HLA (MHC) dos diferentes indivíduos que poderia restringir a eficácia vacinal?

17. Seria possível uma vacina baseada em toxóides para uso contra coronavírus? Os vírus contam com toxinas em sua constituição?

Proteínas recombinantes

18. Diversas proteínas de diferentes patógenos são considerados antígenos imunodominantes e com grande poder de estimular resposta imunológica efetora e de memória humoral e celular. Quais as vacinas baseadas em proteínas recombinantes que são usadas atualmente para o controle de doenças infecciosas no Brasil e em nível mundial? Qual o impacto do uso desse tipo de vacina para o controle de infecções?

19. Como caracterizar se uma proteína pode ser usada como antígeno vacinal? Como você explica o processo biotecnológico de obtenção de uma proteína recombinante para ser usada como vacina e ser produzida em grande escala? Ao ser inoculada, essa vacina pode ser considerada como antígeno intra ou extra-celular? Que tipo de resposta imune pode ser induzida por esse tipo de vacina? Ela tem a capacidade de estimular imunidade inata e adaptativa (humoral, celular – CD4, CD8)? Existe a necessidade de uso de adjuvantes e/ou carreadores para potencializar a resposta imunológica? Quais são as vantagens e as desvantagens (ativação da resposta imunológica, efeitos colaterais, tempo de memória imunológica etc..) das vacinas baseadas em proteínas recombinantes? Existe restrição de reconhecimento de antígenos dessa vacina por moléculas de HLA (MHC) dos diferentes indivíduos que poderia restringir a eficácia vacinal?

20. Quais os principais carreadores vivos (bactérias ou vírus inativados, LLPs) e particulados (micropartículas) que podem ser usados em vacinas de subunidades como as constituídas por proteínas recombinantes?

21. Seria possível uma vacina baseada em proteína recombinante para uso contra coronavírus?

22. Existe um grupo de pesquisadores da USP liderado pelo Dr. Jorge Kalil que já está desenvolvendo uma vacina para coronavírus, baseada em proteína recombinante, e usando um sistema carreador denominado VLPs (virus-like particles). Procure na internet e tente explicar a estratégia que está sendo adotada por esse grupo de pesquisa e a sua viabilidade quanto ao tempo de desenvolvimento para ser usada no controle dessa pandemia.

Vacinas peptídicas

23. Como dito acima, diversas proteínas de diferentes patógenos são considerados excelentes antígenos e com grande poder de estimular resposta imunológica efetora e de memória humoral e celular. Com o avanço das tecnologias e da bioinformática é possível prever quais são os principais epitopos imunodominantes de uma proteína para ativação de células B e T. Com a predição desses epitopos é possível fazer a síntese química desses polipeptídeos (de 8 a 20 aminoácidos em média) e usá-los individualmente ou em uma mistura para ativação do sistema imunológico. Uma outra estratégia é fazer uma proteína quimérica contendo vários desses epitopos para uso como vacina.
24. Seria possível uma vacina baseada em peptídeos para uso contra coronavírus nesse momento? Existem dados suficientes na literatura para saber quais proteínas virais são imunogênicas e pesquisar os respectivos epitopos por ferramentas de bioinformática?
25. Se for possível, quais as vantagens e desvantagens desse tipo de vacina peptídica? Existiria restrição de reconhecimento desses peptídeos vacinais por moléculas de HLA (MHC) nos diferentes indivíduos que poderia restringir a eficácia vacinal?

Vacinologia reversa – Os diversos tipos de vacinas descritos acima demoram em média 15 anos para serem desenvolvidas e disponibilizadas para a sociedade. Novos conceitos de vacinas foram estabelecidos recentemente, para acelerar o tempo e os processos de desenvolvimento de novas vacinas. Entre esses novos conceitos estão o da vacinologia reversa.

26. Explicar em linhas gerais os fundamentos baseados nessa estratégia de vacinologia reversa e como isso pode acelerar o tempo no desenvolvimento de vacinas – usar livro texto e artigo anexo para melhor compreensão e entendimento. Além do tempo mais curto de desenvolvimento quais outras vantagens para o uso dessa estratégia?
27. Existe alguma vacina já desenvolvida e disponibilizada para uso geral usando essa tecnologia de vacinologia reversa?
28. Esses conceitos de vacinologia reversa poderiam ser utilizados para o desenvolvimento de uma vacina para coronavírus?

Vacinas de terceira geração – DNA e mRNA

29. As vacinas de DNA consistem em um plasmídeo de expressão contendo genes que codificam um ou mais antígenos imunogênicos de interesse. A inoculação deste plasmídeo (mensagem gênica) no organismo hospedeiro e consequente transfecção das células deste hospedeiro possibilita a produção in vivo dos determinantes antigênicos desejados utilizando a própria maquinaria celular. Uma vez que esses plasmídeos recombinantes estiverem dentro da célula hospedeira o gene alvo será transcrito, processado e

produzida a proteína recombinante que será apresentada pelas células apresentadoras de antígenos (APCs), podendo estimular uma resposta imune celular (CD4 e CD8) e humoral. Embora não tenha nenhuma vacina de DNA aprovada e disponível para a sociedade, existem centenas de ensaios clínicos sendo realizados para diversas doenças infecciosas virais, bacterianas, fúngicas e parasitárias. Com base nesses dados, explicar como se constrói uma vacina de DNA, como é produzida em larga escala e como ela consegue estimular todo o sistema imunológico do indivíduo após a sua inoculação.

30. Seria possível desenvolver uma vacina de DNA para coronavírus? Quais as vantagens e desvantagens desse tipo de vacina em relação às tradicionais descritas acima? Para melhor entendimento sobre vacinas de DNA use os livros indicados e o artigo em anexo.

Vacinas de RNA mensageiro (mRNA)

31. As vacinas de mRNA representam uma alternativa promissora às abordagens de vacinas convencionais devido à sua alta potência em estimular o sistema imunológico (inato e adaptativo), capacidade de desenvolvimento super rápido e potencial de baixo custo de fabricação e administração segura. Usar o texto anexado no Moodle para entender e descrever de forma sumária os fundamentos dessa nova tecnologia.
32. Cientistas americanos iniciaram dia 24/03 o primeiro teste em humanos de uma possível vacina contra o novo coronavírus. De acordo com comunicado dos Institutos Nacionais de Saúde (NIH, na sigla em inglês), órgãos vinculados ao governo americano, a fase 1 da pesquisa clínica envolve 45 voluntários saudáveis adultos, com idades entre 18 e 55 anos. O primeiro participante recebeu a dose em teste dia 24/03. Procure na Internet as estratégias utilizadas pela empresa americana Moderna para desenvolver em apenas 3 meses uma vacina de mRNA contra um patógeno onde o genoma desse vírus foi descrito em janeiro de 2020.
33. Faça uma análise crítica sobre o potencial e possibilidades de sucesso do uso dessa tecnologia de mRNA para o desenvolvimento de vacina contra coronavírus. Se for necessário faça uma comparação de possível sucesso dessa tecnologia quando pareadas com as outras tecnologias clássicas de desenvolvimento de vacinas.