

## Adyuvantes en vacunas

Dr. José Uberos Fernández  
Profesor Titular de Universidad acreditado.  
Universidad de Granada

Última revisión: 30 de Septiembre de 2013

Los adyuvantes son sustancias ó procedimientos que incorporados al antígeno o inyectados simultáneamente con él, hacen más efectiva la respuesta inmune. Los adyuvantes pretenden aumentar la inmunogenicidad de antígenos altamente purificados o recombinantes y así poder reducir la cantidad de antígeno y el número de inmunizaciones necesarias. De esta forma se puede aumentar la eficacia de las vacunas en recién nacidos, ancianos y personas inmunocomprometidas. Permiten promover la inducción de inmunidad en mucosas y potenciar la inmunidad celular, aumentando los títulos de anticuerpos funcionales (bactericidas, neutralizantes...). Los adyuvantes están muy presentes hoy en día en el desarrollo de nuevas vacunas.

La utilización del término adyuvante se debe a Ramon Gaston, quien en 1925 observa que la respuesta inmunológica a las antitoxinas puede ser incrementada añadiendo sustancias como agar, lectinas, tapioca, etc. Posteriormente Glenny y cols. Observan en 1926 que el toxoide diftérico asociado a hidróxido de aluminio es mas inmunógeno que el toxoide diftérico solo. Posteriormente Thibault y Richou en 1936 descubren las propiedades adyuvantes del Quil A, saponina extraída de la corteza de un árbol de Sudamérica, *la Quillaja saponaria*. Sin duda, los trabajos mas extensos sobre la importancia de los adyuvantes se deben a Freund, quien en 1937 descubre los efectos inmunopotenciadores del bacilo tuberculoso inactivado combinado con aceite de parafina. La utilización de adyuvantes en vacunas en el momento actual no esta exenta de polémicas, bajo un marco teórico el adyuvante ideal no debe ser tóxico, debe estimular la respuesta inmunitaria tanto celular como humoral, debe promover la respuesta inmunológica a largo plazo, lo que denominamos memoria inmunológica, no debe inducir autoinmunidad, no debe ser mutagénico, carcinogénico o teratogénico, no debe ser pirógeno y debe ser estable en condiciones de temperatura, pH y tiempo.

### Tipos de adyuvantes.

- Sales minerales:
  - Hidróxido de aluminio
  - Fosfato de aluminio
  - Fosfato cálcico
- Partículas lipídicas:
  - Liposomas
  - Complejos estimulantes de la inmunidad.
- Adyuvantes inmunoestimuladores:
  - Saponinas.
  - Muramil dipéptido (MPD).
  - DNA bacteriano (oligo CpG).
  - Lipopolisacáridos (LPS).
  - MPL y derivados sintéticos.
  - Lipopéptidos.
- Micropartículas:
  - Microesferas de partículas biodegradables.

- Partículas virus like.
- Adyuvantes mucosales:
  - Toxina colérica.
  - Toxina de mutantes: LTK63 y LTR72.
  - Toxina lábil de *E. coli*.
- Interleucinas:
  - IL-2, IL-12, GM-CSF, INF- $\gamma$ .
- Genéticos:
  - Genes que codifican moléculas coestimuladoras.

### **Mecanismo de acción de los adyuvantes.**

Pueden actuar a través de dos mecanismos principales:

1. Actuando a través del sistema de liberación de antígeno, aumentando la disponibilidad de antígeno en las células presentadoras de antígeno. Se consigue un retraso en el aclaramiento antigénico y aumento de la respuesta al antígeno en localizaciones fisiológicas específicas. Se incluyen en este grupo de adyuvantes las sales insolubles de aluminio, liposomas, virosomas, micropartículas (PLG), emulsiones y partículas virus-Like.
2. Inmunopotenciadores: Activan directamente los receptores celulares e inducen la liberación de citocinas. Actúan como inmunopotenciadores el MPL y derivados, MDP y derivados, oligonucleótidos (CpG), RNA de doble cadena, patrones alternativos moleculares asociados a patógenos, quilos, resiquimod.

### **Sales de aluminio.**

Habitualmente se utiliza el hidróxido de aluminio como oxihidróxido de aluminio cristalino que adsorbe antígenos cargados negativamente. El fosfato de aluminio se utiliza como hidroxifosfato que adsorbe antígenos cargados positivamente. El efecto depot de las sales de aluminio fue descrito por Glennie en 1931. Las sales de aluminio convierten los antígenos solubles en partículas con un diámetro menor a 10  $\mu\text{m}$ , que son captadas por las células presentadoras de antígeno. Además las sales de aluminio inducen eosinofilia, activan el complemento, estimulan los linfocitos B, CD y macrófagos, regulan las señales de coestimulación en monocitos y promueven la liberación de IL-4. Además la administración de sales de aluminio al inducir inflamación en el sitio de inyección atrae células presentadoras de antígeno y potencia de esta forma la respuesta inmune. Como contrapartida habría que tener en cuenta que las sales de aluminio no estimulan las respuestas Th1, la secreción de IFN- $\gamma$ , ni la producción de IgG2 por los linfocitos B. En cambio, estimulan la respuesta Th2, la secreción de IL-5 e IL-6 y la producción de IgG1 e IgE. Por todo ello, las reacciones adversas más frecuentemente relacionadas con el uso de sales de aluminio como adyuvante son las reacciones locales del tipo de eritema, formación de granulomas o nódulos subcutáneos. La miofascitis macrofágica, que algunos autores relacionaron con la acumulación de aluminio, ha sido descartada como relacionada con el uso de aluminio como adyuvante.

### **Emulsiones.**

Las emulsiones son dispersiones líquidas de dos fases inmiscibles, generalmente aceite y agua, cada una de las cuáles puede ser la fase dispersa o la continua, con lo que se obtiene una emulsión hidrooleosa u oleoacuosa respectivamente.

- Adyuvante completo de Freund: Solución hidrooleosa con aceite de parafina y micobacterias muertas.
- Adyuvante incompleto de Freund: Sin micobacterias. Origina reactividad local, acumulación en organismo e inducción de tumores en ratones.
- SAF: Emulsión oleoacuosa con escualeno y treonil-MDP(derivado de

peptidoglicano pared celular de mycobacterias). Origina efectos adversos inaceptables: uveitis en conejos, es muy pirógeno.

- MF59: Emulsión no viscosa, fácil de inyectar. El escualeno componente natural de las membranas celulares. Precursor sintético del colesterol. Es biodegradable y biocompatible y estable al menos durante 3 años. **No** ejerce efecto “**depot**”. Genera un entorno inmunoestimulador local en el sitio de la inyección, que activa localmente monocitos y granulocitos. Induce la producción de citokinas que aumentan el reclutamiento de células inmunitarias desde la sangre hacia tejidos periféricos. Son responsables de una mayor captación del antígeno por parte de los monocitos en el lugar de inyección, mayor diferenciación de monocitos hacia células dendríticas e induce de manera potente el receptor de alojamiento CCR7 que se encuentra en las células dendríticas en fase de maduración. La evidencia existente con MF59 en la vacuna de la gripe mostró mayores tasas de anticuerpos que con las vacunas de virosomas o subunidades. El MF59 se ha utilizado también en otras vacunas en fase de investigación: citomegalovirus, herpes, VIH, hepatitis B y hepatitis C.

### **Liposomas.**

Son microesferas huecas con 1 o varias bicapas lipídicas. La membrana está constituida por colesterol y fosfolípidos semejantes a las membranas celulares, por lo que al ser introducidos en el huésped no hay rechazo. Prolongan el tiempo de contacto de los antígenos con el sistema inmune de lo que se deduce mayor tiempo de exposición a las células presentadoras de antígenos. Potencian inmunidad celular y humoral para antígenos proteicos y polisacáridos. Existen dos tipos de liposomas: proteosomas y cochleates; los primeros son pequeñas vesículas de origen bacteriano en asociación con proteínas virales inducen respuesta inmune Th1, los segundos son bicapas laminares no vesiculares. Se les adiciona iones de calcio, haciendo que se enrollen y dejen un espacio donde se cargan proteínas ó DNA.

### **Virosomas.**

Son vesículas esféricas diminutas, que contienen proteínas virales incrustadas en su membrana. Estas proteínas permiten a las membranas del virosoma fusionarse con las células del sistema inmune, liberando su contenido, (los antígenos específicos de la vacuna) directamente a sus dianas. Una vez liberados los antígenos, los virosomas son completamente degradados en el interior de las células. La ventaja principal de los virosomas es que imitan la forma natural de presentación del antígeno y estimulan las dos vías del sistema inmune: Humoral y celular, al liberar los antígenos en las dianas específicas y amplificar la respuesta inmune. Se trata de sistemas de transporte con amplias aplicaciones ya que pueden administrarse por vía parenteral o nasal. En la actualidad la vacuna de la hepatitis A (Hepaxal) o la vacuna de la gripe (Inflexal) utilizan virosomas y están comercializadas.

### **Micropartículas de polímeros.**

El PGL (Poliéster polilactide-co-glicosides) consigue la encapsulación de antígenos que controlan la velocidad de liberación de antígenos. Su efecto adyuvante es consecuencia de su efectiva captación por las células presentadoras de antígeno que migran a áreas T dependientes de los ganglios linfáticos. Se distinguen dos tipos de PGL: micropartículas de PGL catiónicas y aniónicas.

### **Partículas virus-like.**

Son cápsidas vacías de un virus que no contienen DNA ó RNA viral, contienen proteínas estructurales sin material genético. Mimetizan la estructura del virus, por ello son presentados de forma muy eficiente a las células dendríticas y desencadenan potentes respuestas CTL y CD4 proliferativas. Pueden ser usadas como sistemas de

liberación de epitopos de otros virus o bacterias sin adicción de adyuvantes. Existen 2 vacunas comercializadas de este tipo: Gardasil®: Vacuna papilomavirus tipo 16, 18, 6, 11; y Cervarix®: Vacuna papilomavirus 16,18.

#### **MPL y derivados sintéticos.**

Hace ya algunas décadas que se comprobó el potente efecto adyuvante de las endotoxinas bacterianas con el inconveniente de su gran toxicidad. A este grupo de adyuvantes pertenece el monofosforil lípido A (MPL). Este adyuvante interactúa con los receptores Toll-Like tipo 4 (TLR4), activa las células presentadoras de antígeno originando una cascada de citocinas inmunoreguladoras que aumentan la migración y maduración de las células dendríticas que inducen síntesis de IL-2 y IFN- $\gamma$  promoviendo repuestas Th1.

#### **ASO4.**

Se trata de un sistema adyuvante consistente en MPL (derivado del lipopolisacárido de la pared *Salmonella minnesota* cepa R595, detoxificado por hidrólisis y purificado) adsorbido en hidróxido o fosfato de aluminio. Actúa a través de su unión con TLR4 induciendo fuerte inmunidad humoral y celular, mayoritariamente Th1. Existe experiencia con este adyuvante en la vacuna de la hepatitis B (Fendrix), donde induce tasas de seroprotección mayores, más rápidas y con mayor persistencia en el tiempo que la vacuna adyuvada con aluminio; así como en la vacuna Cervarix frente al papilomavirus.

#### **Oligodesoxinucleótidos con secuencias CpG.**

Se trata de secuencias no específicas de DNA bacteriano que contienen los dinucleótidos citosina y adenina en forma no metilada. Estas secuencias son reconocidas por sistema inmune innato incluyendo células dendríticas, macrófagos y linfocitos B por medio del TLR-9. Los receptores para CpG son intracelulares, desarrollan una potente respuesta CD4+Th1 y CD8 CTL caracterizada por la liberación de citocinas y quimiocinas: TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-12 y la expresión de moléculas coestimuladoras.

#### **Saponinas.**

Se incluyen aquí los glicósidos tensioactivos derivados de *Quillaria Saponaria* (Quil A), que inducen potentes respuestas CTL y Th1. Son muy tóxicas, actúan a través de liberación de citosinas, quizás interactuando con PRR (receptores reconocimiento de patógenos). El QS21 es una fracción de Quil A que mantiene capacidad adyuvante al ser un potente inductor de CTL e inducir la liberación de IgG2, citoquinas IFN $\lambda$  y IL-2. Se trata de uno de los adyuvantes más potente para infecciones que requieran potente CTL. Su principal limitación en su uso es la gran toxicidad.

#### **Complejos inmunoestimulantes (ISCOM).**

Son partículas de 30-40 nm que contienen Quil A incorporado dentro de partículas lipídicas con colesterol, fosfolípidos y antígenos. Su principal ventaja es que el Quil A unido al colesterol, no está libre para interactuar con las membranas celulares, por lo que se reduce la actividad hemolítica, se reduce la dosis de Quil A y la formulación se dirige directamente a las células presentadoras de antígeno. Induce la producción de citocinas y respuestas Th1 y CTL potentes. Su principal inconveniente es la dificultad para incluir antígeno en el interior sistema adyuvante; en animales se ha ensayado con las vacunas frente a HVC, CMV, VIH, EBV, gripe. Necesita probarse en humanos.

#### **Otros sistemas adyuvantes.**

- ASO2: Emulsión oleoacuosa con MPL y QS21.
- ASO1: Liposomas, MPL y QS21.
- IC30: Poly-L-arginina (versión sintética de RNA de doble cadena): Agonista TLR3. Vacuna terapéutica de la hepatitis C.

- IC31: Péptido KLK (derivado de IC30) y ODNs (Oligodeoxinucleótidos sintéticos que contiene CpG motivos no metilados). Agonista TLR3 y TLR9.

#### **Adyuvantes para la inmunización en mucosas.**

Las micropartículas de polímeros tienen capacidad de liberar antígenos en tejido linfoide asociado a mucosas (MALT). Las toxinas bacterianas como la toxina de *Vibrio cholerae* (CT) y la toxina termolábil de *Escherichia coli* (LT) son muy tóxicas; sin embargo las LT y CT mutantes tienen menos efectos tóxicos e inducen potentes respuestas de anticuerpos, tras inmunización intranasal. Existe alguna experiencia con LT mutante formulada dentro de un sistema de liberación bioadesivo que podría emplearse para vacunaciones infantiles.

La investigación de nuevos adyuvantes continúa siendo necesaria ya que posibilita respuestas Th1/Th2 específicas, potenciando la respuesta inmune frente a enfermedades como la malaria, tuberculosis, VIH o hepatitis C.

#### **REFERENCIAS**

1. Glenney A.T.: J.Path.Bact. 34:267-275 1931.
2. R.G. White et al. J. Exp. Med 102: 73-82, 1955.
3. R.K. Gupta and cols. Vaccine 14:1412-1416, 1996
4. J.C. Cox and cols. Vaccine15:248-256, 1997.
5. Brewer JM and cols. Cell Mol Ther 3:233-46, 1997.
6. Grun JL and cols. Cell Immunol 121:134-45, 1989.
7. M. Blennow and cols. Vaccine 12:427-430, 1994.
8. Dupuis M. Vaccine 18,434-439,1999.
9. Schijns VE, et al. Immunopathol 12:456-63, 2000.
10. Singh M, et al.. Expert Opin Biol Ther 4:483-91, 2004.
11. G. Ott, et al. J Control release 79:1-5, 2002.
12. Beyer T et al. Curr. Drug.Target Infect Disord. 1; 287-302, 2001.
13. Ulrich JT, Pharm. Biotechnol. 6:495-524, 1995.
14. Davis HL. Et al. J. Immunol. 160:870-6, 1998.