

## VACINAS: PRINCIPAIS ADJUVANTES NO MERCADO GLOBAL

Nathalia Rezende Lordão<sup>1</sup>; Larissa Moraes dos Santos Fonseca<sup>2</sup>; Fabrícia Oliveira Oliveira<sup>3</sup>; Danielle Devequi Gomes Nunes<sup>4</sup>; Gabriele de Abreu Barreto<sup>5</sup>; Katharine Valéria Hodel<sup>6</sup>; Bruna Aparecida Souza Machado<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Bolsista; Iniciação tecnológica – CNPQ; nathali lordao@hotmail.com

<sup>2</sup>Mestre em Microbiologia; Universidade Federal da Bahia; Salvador-Bahia; larimfonseca@gmail.com

<sup>3</sup>Mestre em Biotecnologia; Universidade Federal da Bahia; Salvador-Bahia; fabricia.oliveira@fbter.org.br

<sup>4</sup>Mestre em Patologia; Fundação Oswaldo Cruz; Salvador-Bahia; danielledevequii@hotmail.com

<sup>5</sup>Mestre em Ciências dos Alimentos; Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-Bahia; abreugabriele@gmail.com

<sup>6</sup>Mestranda em Farmácia; Universidade Federal da Bahia; Salvador-Bahia; k2hodel@gmail.com

<sup>7</sup>Doutora em Biotecnologia; Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-Bahia; Bruna.Machado@idri.org

### RESUMO

Adjuvantes são incorporados às vacinas aumentando a imunogenicidade e seu desenvolvimento expandiu pesquisas nas últimas décadas. A adição do adjuvante ao antígeno da vacina possui vantagens como redução da dose e a indução de uma resposta imune mais rápida, ampla e forte. Sais de alumínio, emulsões de óleo em água MF59, AS03, virossomas, AS01 são adjuvantes aprovados, licenciados e outras formulações como o GLA-SE encontram-se em estudo. A escolha do adjuvante é de extrema importância, compreender seu mecanismo de ação e o sistema imunológico é essencial para estimular novas formulações de vacinas. Realizou-se uma revisão bibliográfica identificando adjuvantes presentes no mercado e sua importância para a elaboração de vacinas. Sais de alumínio foram os únicos adjuvantes utilizados em vacinas de uso humano por décadas, emulsões como o MF59, AS03, virossomas estão sendo atualmente utilizados e o GLA-SE apresenta-se como um adjuvante promissor na elaboração de vacinas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Vacinas; adjuvantes; imunidade.

### 1. INTRODUÇÃO

As vacinas comumente compreendem um antígeno e um adjuvante, que pode aumentar e modular a imunogenicidade do antígeno, possuindo papel fundamental nas vacinas de subunidades, já que essas vacinas contêm menos estimuladores intrínsecos e necessitam de alguns componentes presentes em patógenos inteiros que desencadeiam a resposta imune inata. Os adjuvantes possuem a capacidade de prolongar respostas de memória, reduzindo a quantidade de antígenos em cada dose de vacina ou diminuindo o número de doses necessárias, podendo melhorar as respostas imunes em populações tipicamente suscetíveis, como idosos, bebês e imunocomprometidos<sup>1</sup>. Diferentes tipos de adjuvantes foram descobertos e formulados no decorrer dos anos, a compreensão de como induzem respostas protetoras possibilitará a produção de vacinas mais específicas e eficientes, o que pode conferir imunidade por períodos mais longos<sup>2</sup>. O objetivo do trabalho foi pesquisar os diferentes tipos de adjuvantes licenciados e em estudo no mercado e sua relevância para formulação de vacinas.

### 2. METODOLOGIA

Esse resumo foi elaborado a partir de uma revisão da literatura nas bases de dados SciELO, Pubmed, Medline, Embase. Foram estabelecidos os seguintes descritores: vaccine adjuvants, correlates of adjuvanticity, licensing adjuvants, adjuvants development. As estratégias de busca foram baseadas em combinações na língua inglesa e os operadores booleanos AND e OR. Foram incluídos artigos publicados em inglês que retratassem a temática definida, ao final 26 artigos foram selecionados.

### 3. RESULTADOS

#### **Sais de alumínio**

Os sais de alumínio foram por quase cem anos os únicos adjuvantes utilizados e ainda hoje são bastantes requisitados no mundo, sendo utilizados em vacinas humanas e animais<sup>3</sup>, um terço das vacinas licenciadas contém sais de alumínio apresentando como resultado um extenso histórico de segurança em vacinas. Sais de alumínio também chamados de alúmen, estimulam forte resposta imune humoral permeado por anticorpos específicos ao antígeno secretado<sup>4,5</sup>, sendo eficaz contra doenças com hepatite B, tétano e difteria, pois para antígenos virais e bacterianos são fundamentais anticorpos neutralizantes<sup>6</sup>.

### **Emulsões: MF59 e AS03**

A primeira emulsão adjuvante aprovada foi o MF59, uma emulsão de óleo em água à base de um óleo biodegradável<sup>7</sup>. Essa emulsão contém gotículas de óleo de 160 nm em diâmetro, estabilizadas pela adição de esqualeno<sup>8</sup>, toda a emulsão atua como adjuvante, devido a combinação de seus componentes. Em determinado estudo, um grande recrutamento celular foi estimulado por MF59 nos músculos injetados, como neutrófilos, eosinófilos, granulócitos e principalmente monócitos, macrófagos, células dendríticas<sup>9</sup>. Essas células recrutadas tem a habilidade de absorver o antígeno e o adjuvante para a drenagem nos linfonodos<sup>10,11</sup>. A atuação do MF59 para drenar os linfonodos através de um sistema transportador celular é a via mais importante em relação ao mecanismo geral<sup>12</sup>.

O AS03 é um Sistema Adjuvante que contém  $\alpha$ -tocoferol e esqualeno em uma emulsão de óleo em água. O mecanismo de ação do AS03 partilha muitos aspectos com o MF59<sup>13</sup>, diferenciando pela inclusão de  $\alpha$ -tocoferol, que é a forma mais biodisponível da vitamina E. Foi comparado em um estudo o AS03 e uma emulsão sem  $\alpha$ -tocoferol in vivo e in vitro e sugeriu-se que  $\alpha$ -tocoferol funciona como um imunomodulador. O  $\alpha$ -tocoferol também afetou a produção de citocinas, elevou a resposta adaptativa específica ao antígeno e reduziu o tempo de deslocamento de eosinófilos e neutrófilos para os linfonodos drenantes<sup>12</sup>.

Estudos clínicos estão sendo realizados com o agonista de TLR4 que está presente na emulsão estável com adjuvante lipídico glucopiranosídeo (GLA-SE)<sup>14</sup>. O GLA, um análogo sintético do MPL demonstrou ser mais potente por molécula que o MPL e menos tóxico<sup>15</sup>, suas partículas formadas possuem 100 nm de diâmetro em emulsões estáveis. O GLA pode ser formulado em lipossomas, formulações aquosas ou adsorvidos em alumén, produzindo em cada um desses sistemas uma resposta imune ligeiramente diferente, além disso esse adjuvante estimula resposta imune do tipo Th1 em suas formulações<sup>14</sup>.

### **Combinação de imunoestimulantes: AS01**

AS01 contém duas moléculas imunoestimuladoras conhecidas por possuírem propriedades adjuvantes, MPL e a saponina QS-21. QS-21 é um glicosídeo triterpeno purificado do extrato da casca de *Quillaja saponaria* Molina, conhecida por estudos com animais para aperfeiçoar as respostas de anticorpos e estimular respostas específicas das células T<sup>16</sup>. O mecanismo de ação do MPL está bem definido e alguns mecanismos moleculares de adjuvanticidade de QS-21 foram propostos. Posterior a injeção intramuscular, ele tem como alvo macrófagos subcapsulares no linfonodo ativando a caspase 1<sup>17</sup>. Semelhante a outros adjuvantes, como sais de alumínio, quando elaborado em lipossomas, QS-21 sinaliza através de uma endocitose dependente de colesterol, seguida de desestabilização lisossômica e ativação da cinase<sup>18</sup>. AS01 demonstrou elevar consistentemente os anticorpos e as células T, independentemente do antígeno utilizado, idade ou condição imunológica específica<sup>19</sup>.

### **Virossomas e lipossomas**

Os virossomas possuem função adjuvante e na década de 1970 já se pensava em utilizá-los em vacinas<sup>20,21</sup>. São vesículas unilamelares esféricas compostas por lipídios da membrana e proteínas do envelope viral integradas, suas partículas não são produzidas pelas células hospedeiras, mas montadas in vitro a partir do vírus parental. A atividade adjuvante está associada à estrutura das partículas e aos componentes individuais do virossoma, com efeitos estimuladores e potencial sinérgico<sup>22</sup>.

Os lipossomas são vesículas de forma esférica que podem ser formadas a partir de colesterol e fosfolipídios naturais não tóxicos, são biodegradáveis, biocompatíveis e menos tóxicos<sup>23</sup>. Eles podem induzir resposta imune humoral e mediada por células, sua capacidade adjuvante resulta da formação de um depósito no local da injeção e a apresentação de antígenos para APCs<sup>24</sup>. As respostas imunogênicas dos lipossomas podem ser influenciadas pela densidade de epítopos, rigidez da bicamada, a carga superficial das vesículas e a associação de antígeno com a estrutura lipossômica<sup>25</sup>.

### **Licenciamento**

Para favorecer o desenvolvimento de novas formulações, devem-se realizar testes pré clínicos com um modelo animal adequado, avaliando o efeito do adjuvante na resposta imune. Após o teste pré-clínico e a elaboração das boas práticas de fabricação da formulação da vacina, iniciam-se os ensaios clínicos em humanos. Os estudos de vacinas de Fase I são realizados para avaliar a segurança, em indivíduos saudáveis e as informações iniciais de imunogenicidade podem ser obtidas nessa fase. Os ensaios de Fase II são planejados para avaliar a tolerabilidade, imunogenicidade e segurança, envolvendo centenas de voluntários. Quando os testes atingem a Fase III, é importante verificar a imunogenicidade e eficácia na população-alvo da vacina. Confirmada a segurança e eficácia, a vacina pode ser licenciada e comercializada. A formulação passa por um monitoramento de segurança pós-mercado, Fase IV, para avaliar reações adversas raras adicionais<sup>26</sup>.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Devido a importância dos adjuvantes nas vacinas modernas, são necessários recursos adicionais para apoiar a pesquisa e proporcionar uma melhor compreensão da ação adjuvante no organismo, sem causar toxicidade. Os sais de alumínio foram os primeiros adjuvantes e a partir deles, outros foram desenvolvidos como MF59 e AS03, permitindo que novas possibilidades de adjuvantes se estabelecessem, além disso formulações como o GLA-SE encontram-se em estudo clínico e são promissoras. Com isso, adjuvantes são necessários para melhorar a potência das vacinas sem comprometer a tolerabilidade ou a segurança, e o seu desenvolvimento é essencial para aumentar a imunogenicidade da vacina, não causar reatogenicidade e não afetar a segurança da população. É o que anseiam pesquisadores e cientistas.

#### Agradecimentos

Ao SENAI CIMATEC e ao CNPQ pela concessão da bolsa.

#### 5. REFERÊNCIAS

- <sup>1</sup>PASQUALE, Alberta Di et al. Vaccine adjuvants: from 1920 to 2015 and beyond. **Vaccines**, v. 3, n. 2, p. 320-343, 2015.
- <sup>2</sup>DANE, Eric L.; IRVINE, Darrell J. Big thinking for adjuvants. **Nature biotechnology**, v. 33, n. 11, p. 1146, 2015.
- <sup>3</sup>WEN, Yumei; SHI, Yan. Alum: an old dog with new tricks. **Emerging microbes & infections**, v. 5, n. 1, p. 1-5, 2016.
- <sup>4</sup>BECK, Lucinda; SPIEGELBERG, Hans L. The polyclonal and antigen-specific IgE and IgG subclass response of mice injected with ovalbumin in alum or complete Freund's adjuvant. **Cellular immunology**, v. 123, n. 1, p. 1-8, 1989.
- <sup>5</sup>RUBIN, R. L. et al. IgG subclasses of anti-tetanus toxoid antibodies in adult and newborn normal subjects and in patients with systemic lupus erythematosus, Sjogren's syndrome, and drug-induced autoimmunity. **The Journal of Immunology**, v. 137, n. 8, p. 2522-2527, 1986.
- <sup>6</sup>CLEMENTS, C. J.; GRIFFITHS, E. The global impact of vaccines containing aluminium adjuvants. **Vaccine**, v. 20, p. S24-S33, 2002.
- <sup>7</sup>BRITO, Luis A.; MALYALA, Padma; O'HAGAN, Derek T. Vaccine adjuvant formulations: a pharmaceutical perspective. In: **Seminars in immunology**. Academic Press, 2013. p. 130-145.
- <sup>8</sup>O'HAGAN, Derek T. MF59 is a safe and potent vaccine adjuvant that enhances protection against influenza virus infection. **Expert review of vaccines**, v. 6, n. 5, p. 699-710, 2007.
- <sup>9</sup>MOSCA, F. et al. Molecular and cellular signatures of human vaccine adjuvants. **Proceedings of the national academy of sciences**, v. 105, n. 30, p. 10501-10506, 2008.
- <sup>10</sup>CALABRO, Samuele et al. Vaccine adjuvants alum and MF59 induce rapid recruitment of neutrophils and monocytes that participate in antigen transport to draining lymph nodes. **Vaccine**, v. 29, n. 9, p. 1812-1823, 2011.
- <sup>11</sup>GERDTS, Volker. Does adjuvanticity depend on the ability to recruit specific immune cells?. **Expert review of vaccines**, v. 10, n. 4, p. 433-435, 2011.
- <sup>12</sup>DUPUIS, Marc et al. Dendritic cells internalize vaccine adjuvant after intramuscular injection. **Cellular immunology**, v. 186, n. 1, p. 18-27, 1998.
- <sup>13</sup>MOREL, Sandra et al. Adjuvant System AS03 containing  $\alpha$ -tocopherol modulates innate immune response and leads to improved adaptive immunity. **Vaccine**, v. 29, n. 13, p. 2461-2473, 2011.
- <sup>14</sup>FOX, Christopher B. et al. TLR4 ligand formulation causes distinct effects on antigen-specific cell-mediated and humoral immune responses. **Vaccine**, v. 31, n. 49, p. 5848-5855, 2013.
- <sup>15</sup>COLER, Rhea N. et al. Development and characterization of synthetic glucopyranosyl lipid adjuvant system as a vaccine adjuvant. **PloS one**, v. 6, n. 1, 2011.
- <sup>16</sup>GARCON, Nathalie; VAN MECHELEN, Marcelle. Recent clinical experience with vaccines using MPL-and QS-21-containing adjuvant systems. **Expert review of vaccines**, v. 10, n. 4, p. 471-486, 2011.
- <sup>17</sup>DETIENNE, Sophie et al. Central role of CD169+ lymph node resident macrophages in the adjuvanticity of the QS-21 component of AS01. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-14, 2016.
- <sup>18</sup>WELSBY, Iain et al. Lysosome-dependent activation of human dendritic cells by the vaccine adjuvant QS-21. **Frontiers in immunology**, v. 7, p. 663, 2017.
- <sup>19</sup>DIDIÉRLAURENT, Arnaud M. et al. Adjuvant system AS01: helping to overcome the challenges of modern vaccines. **Expert review of vaccines**, v. 16, n. 1, p. 55-63, 2017.
- <sup>20</sup>ALMEIDA, JuneD et al. Formation of virosomes from influenza subunits and liposomes. **The Lancet**, v. 306, n. 7941, p. 899-901, 1975.

- <sup>21</sup>MOREIN, B. et al. Effective subunit vaccines against an enveloped animal virus. **Nature**, v. 276, n. 5689, p. 715-718, 1978.
- <sup>22</sup>MOSER, Christian; AMACKER, Mario; ZURBRIGGEN, Rinaldo. Influenza virosomes as a vaccine adjuvant and carrier system. **Expert review of vaccines**, v. 10, n. 4, p. 437-446, 2011.
- <sup>23</sup>AKBARZADEH, Abolfazl et al. Liposome: classification, preparation, and applications. **Nanoscale research letters**, v. 8, n. 1, p. 102, 2013.
- <sup>24</sup>GUPTA, Rajesh K.; SIBER, George R. Adjuvants for human vaccines—current status, problems and future prospects. **Vaccine**, v. 13, n. 14, p. 1263-1276, 1995.
- <sup>25</sup>COPLAND, Melissa J. et al. Lipid based particulate formulations for the delivery of antigen. **Immunology and cell biology**, v. 83, n. 2, p. 97-105, 2005.
- <sup>26</sup>APOSTOLICO, Juliana de Souza et al. Adjuvants: classification, modus operandi, and licensing. **Journal of immunology research**, v. 2016.