

O papel dos adjuvantes na pesquisa vacinal

Luís Carlos de Souza Ferreira

Laboratório de Desenvolvimento de Vacinas
Universidade de São Paulo

Adjuvantes

Definição clássica

- Substâncias adicionadas a vacinas que aumentam ou modulam a imunogenicidade do(s) antígenos presentes na formulação.

Aspectos específicos

- Aumentam a sensibilização de indivíduos reduzindo o número de doses para conferir proteção;
- Aumentam a duração da resposta imune;
- Ampliam a resposta imune induzida (respostas citotóxicas e de mucosas);
- Ampliam o reconhecimento de epítopos e conferem maior abrangência da resposta imune;
- Ativam respostas em indivíduos mal respondedores;
- Redução da quantidade de antígeno necessária para se atingir um estado protetor.

Adjuvantes – principais tipos

1 - Imunomoduladores - Solúveis

- Agonistas de TLR (LPS/MPL, MDP, flagelina, CpG, dsRNA, lipopeptídeos,)
- Emulsificantes (Saponinas);
- Emulsões (w/o, o/w);
- Polissacarídeos;
- Toxinas bacterianas;
- Polieletrólitos.

2 - Vetores vacinais - particulados

- Vírus;
- Bactérias;
- Leveduras/protozoários;
- Micropartículas; biodegradáveis;
- Vesículas lipídicas e/ou peptídicas;
- Virosomos,
- Sais minerais – sais de alumínio;
- Emulsões (w/o e o/w).

Classificação atual

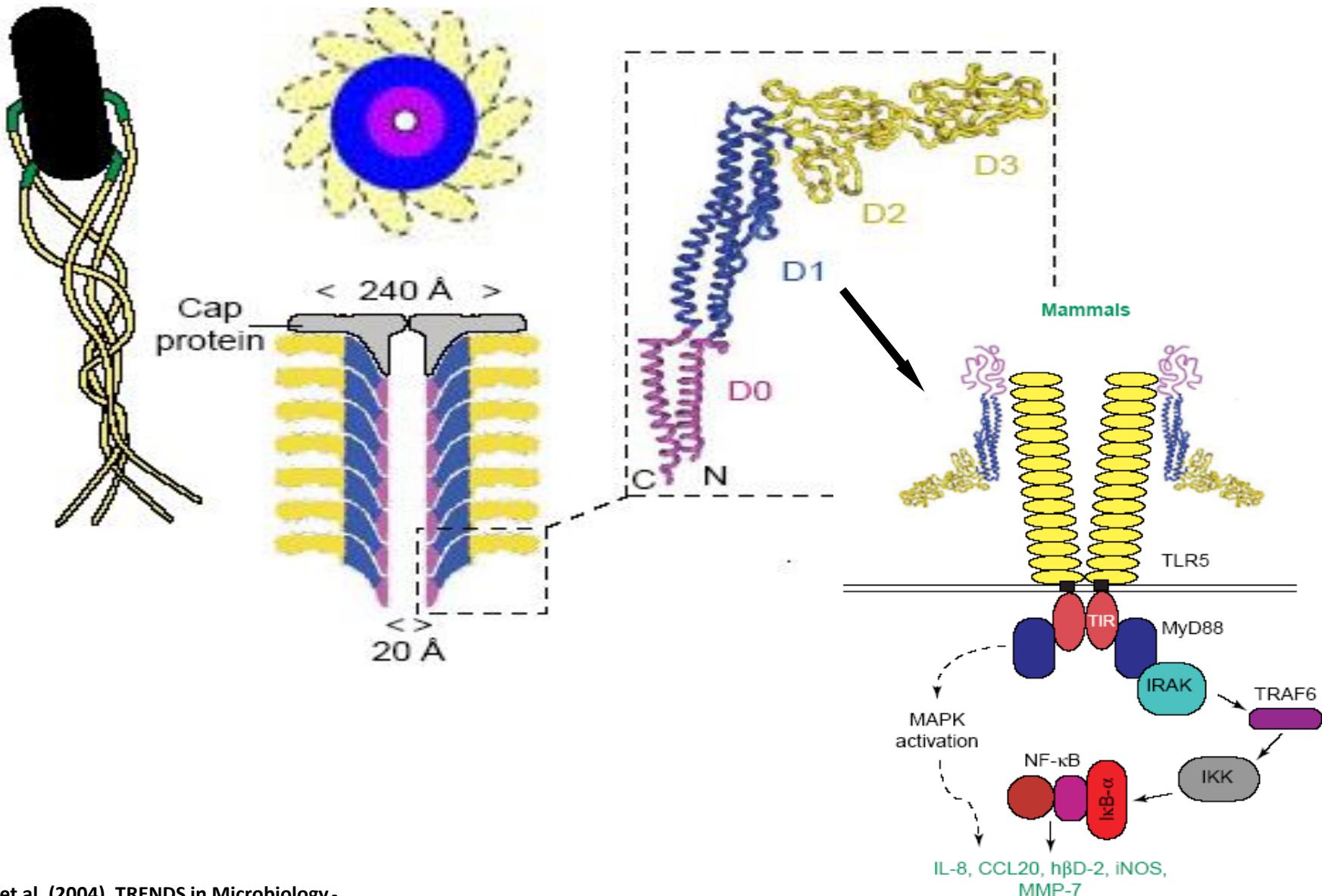
Adjuvantes de primeira geração

Adjuvantes de segunda geração

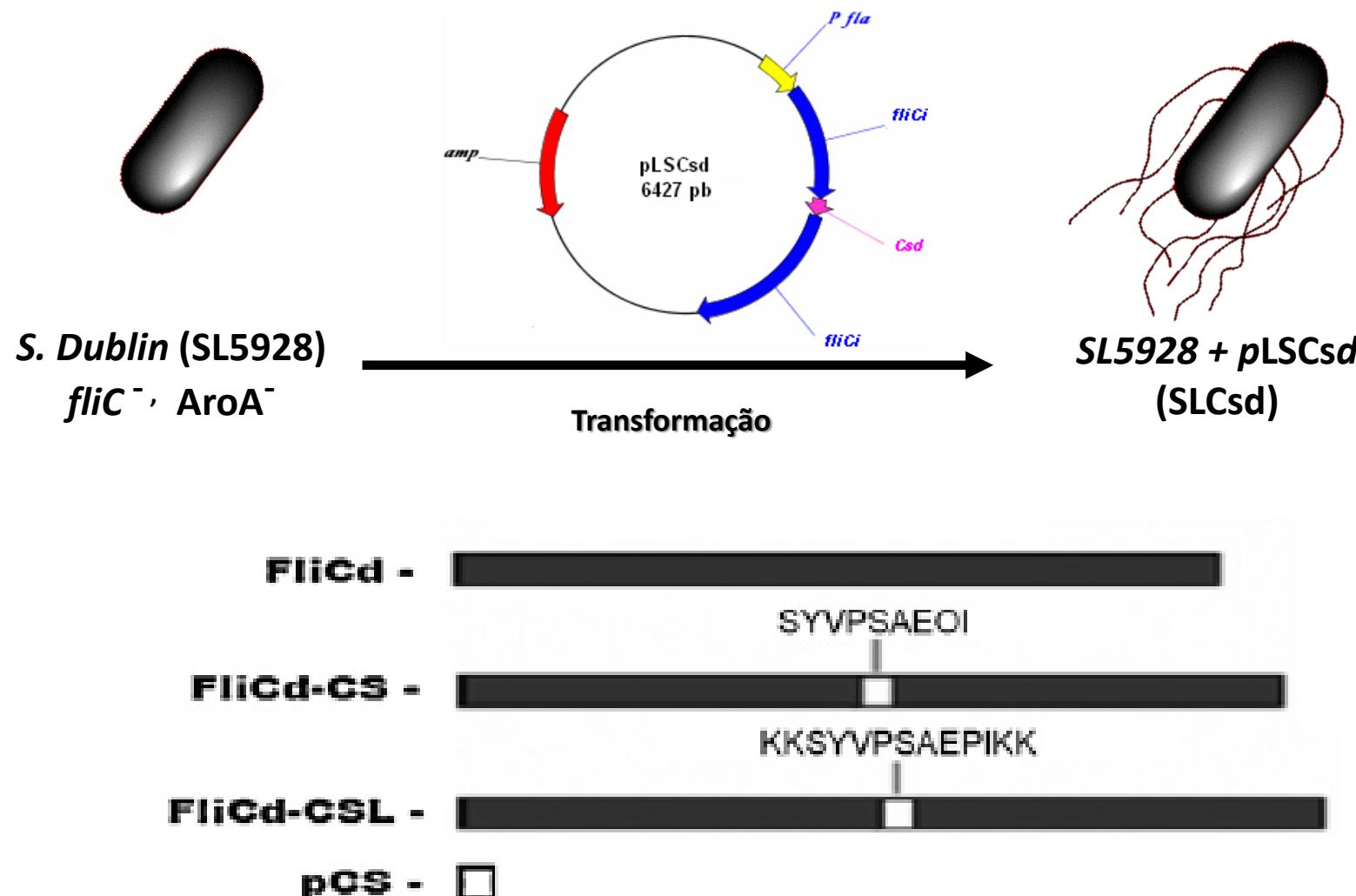
Adjuvantes atualmente utilizados em vacinas

Adjuvante	Vacina	Nome comercial	Empresa
Fosfato de potássio e alumínio	DT, DTaP, DTaP + Hib	Difteria/Tétano, Tripedia, TriHiBit	Sanofi Pasteur
	HPV	Gardasil	Merck
Sulfato de hidroxifosfato alumínio	Hepatite B	Recombivax HB	Merck
Fosfato de alumínio	Pneumocóccica conjugada	Prevnar	Novartis
MF59	influenza	Fluad	Novartis
Virossomos	Influenza Hepatite A	Inflexal Epaxal	Crucell
AS03 (MF59 + α -tocopherol)	influenza	Pandemix	GSK
AS04 (alum + MPL)	Hepatite B, HPV	Fendrix, Cervarix	GSK
AS02 (MPL, esqualeno, QS21)	Malaria	Teste clínico	GSK

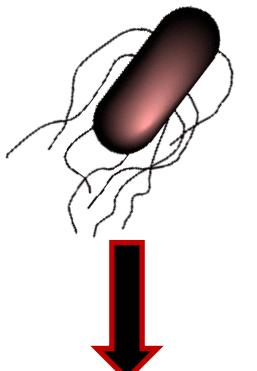
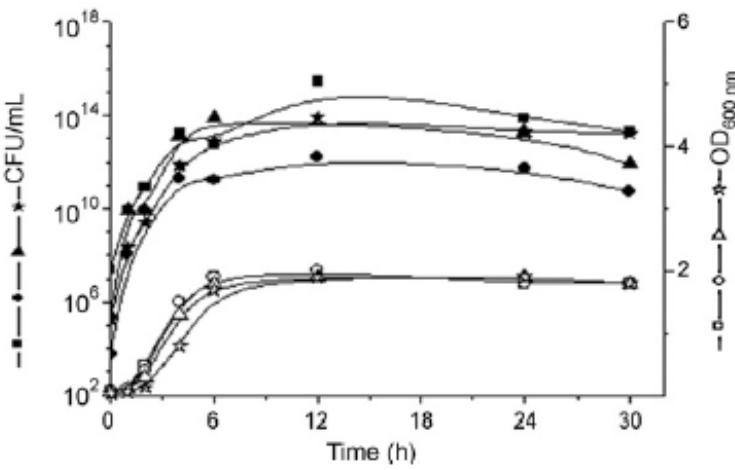
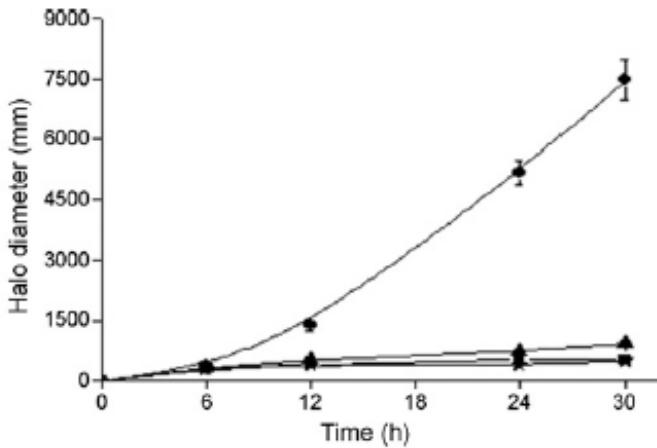
Adjuvantes de natureza protéica: flagelinas



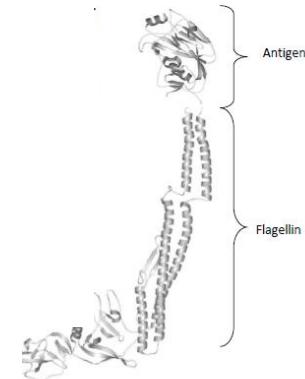
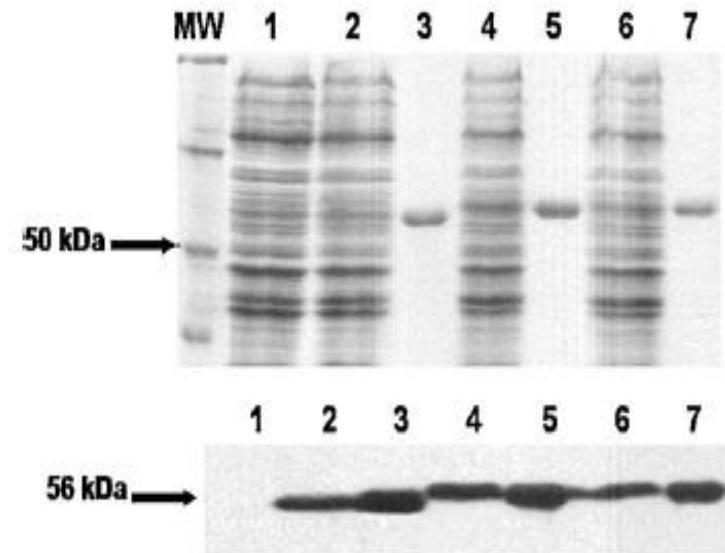
Geração de flagelinas geneticamente fusionadas ao epitopo T CD8⁺ da proteína CS de *Plasmodium yoelli*



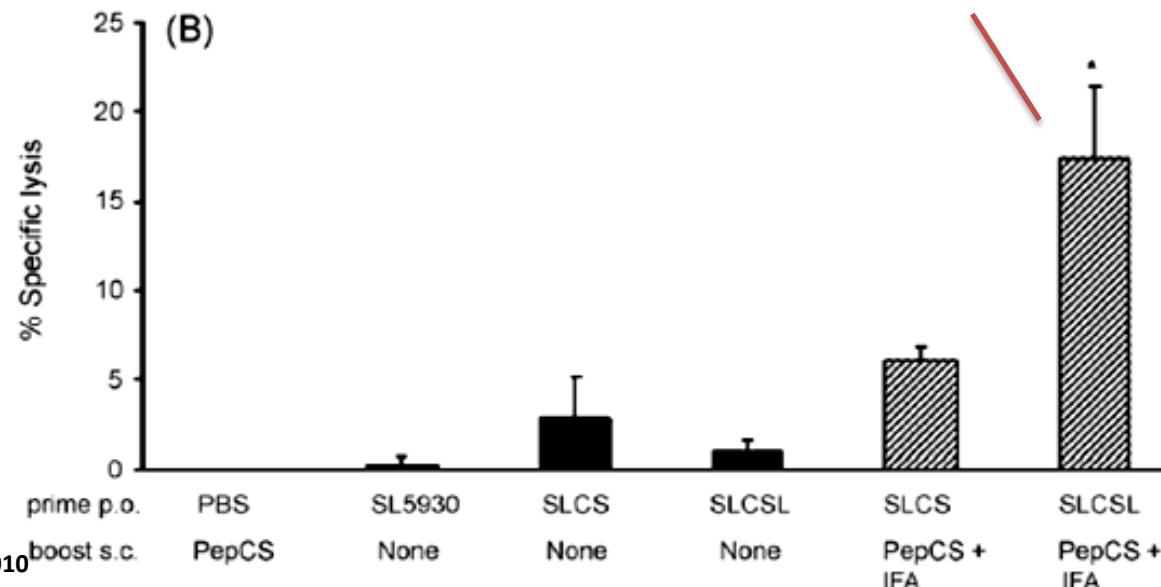
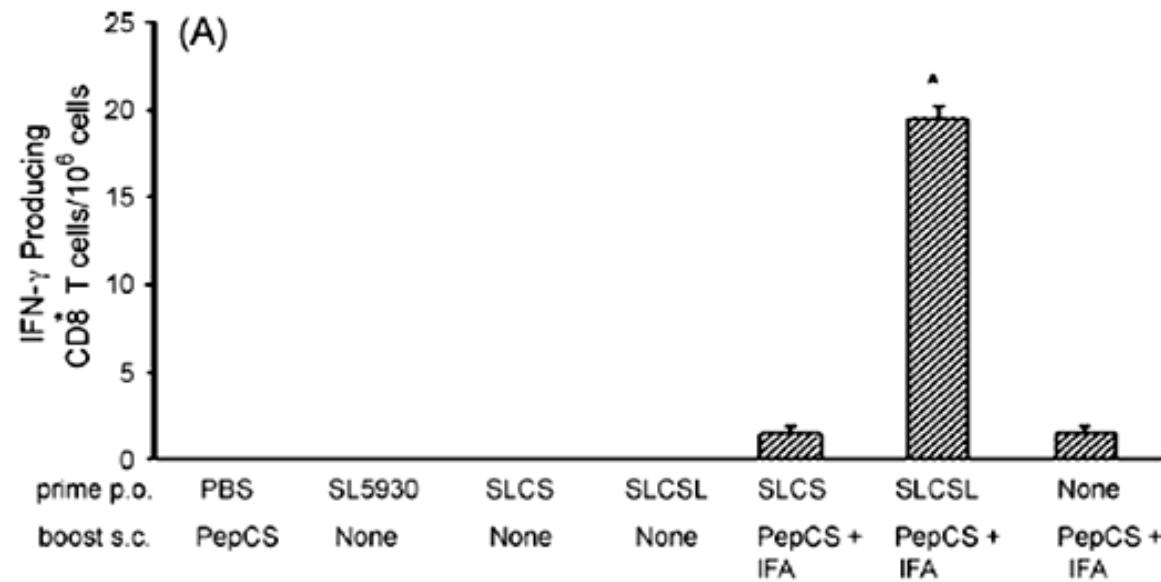
Obtenção de flagelinas nativa e híbridas em *Salmonella*



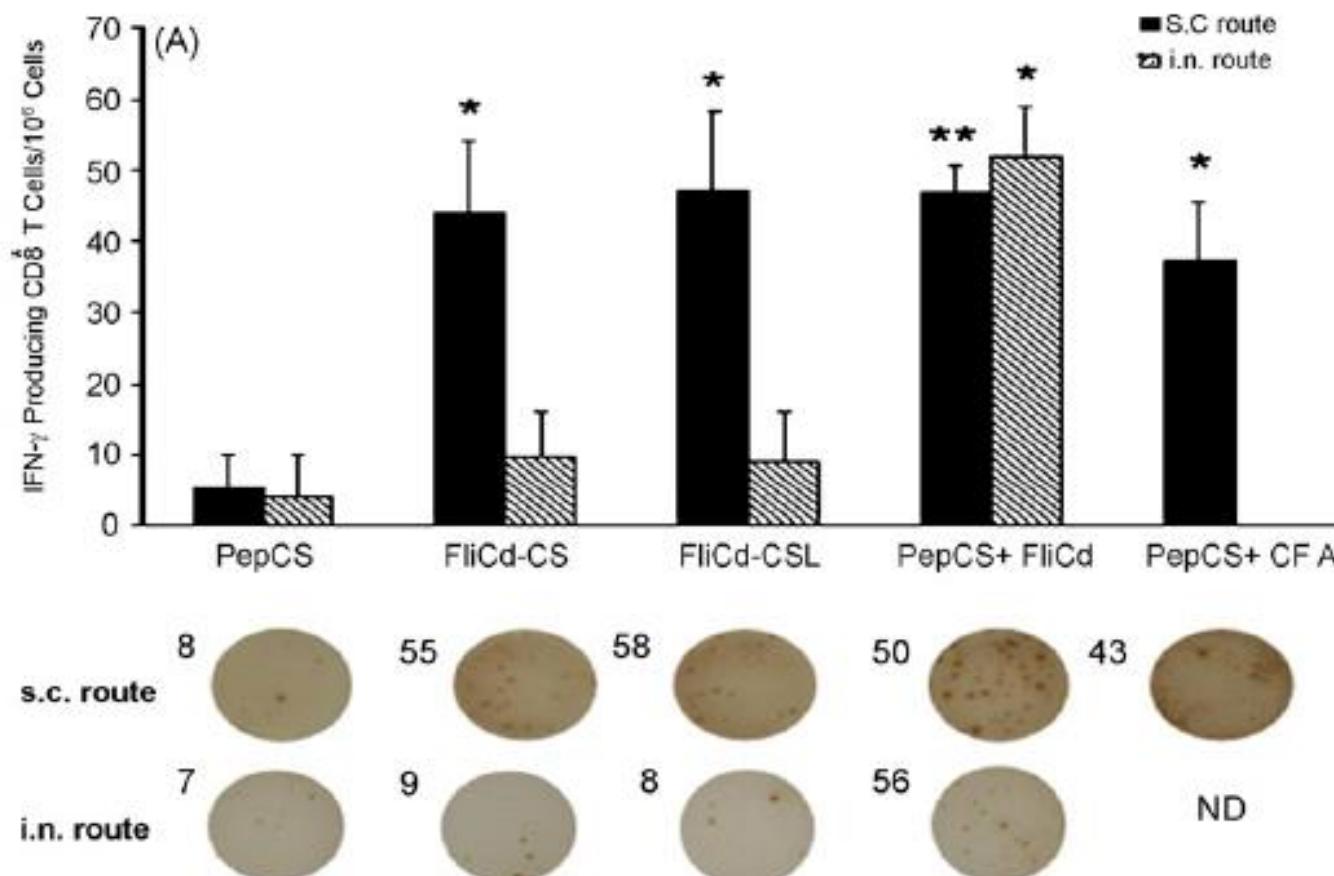
Quebra dos
filamentos
flagelares



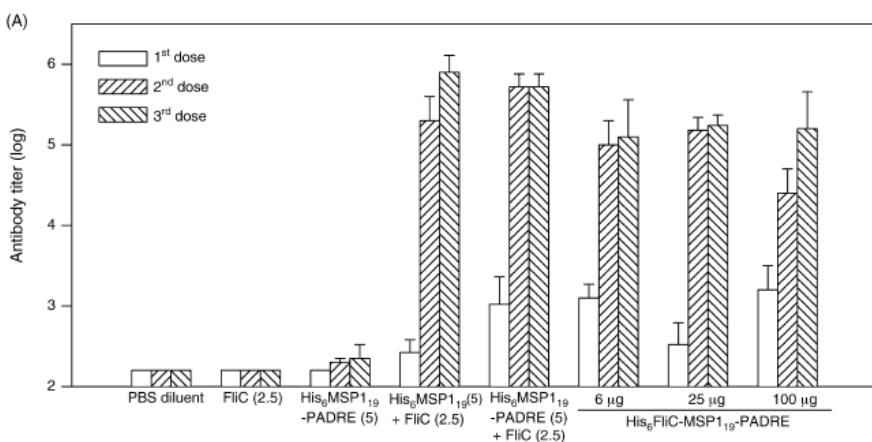
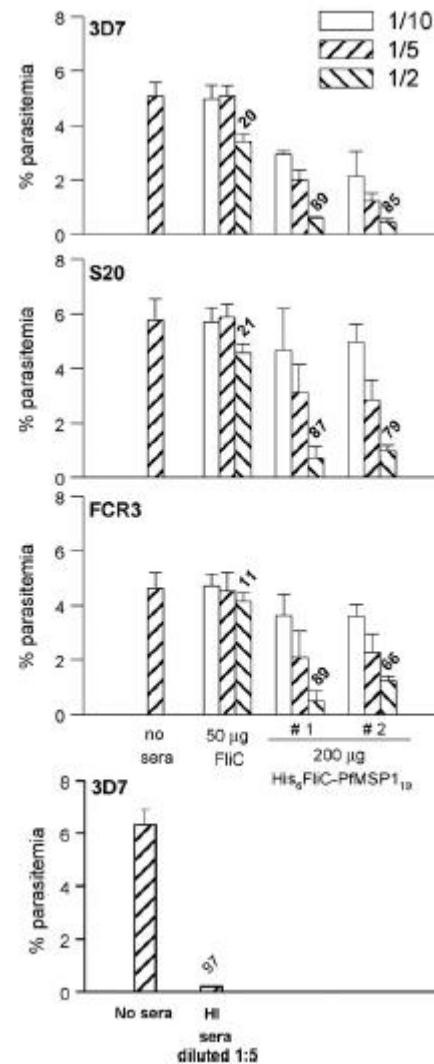
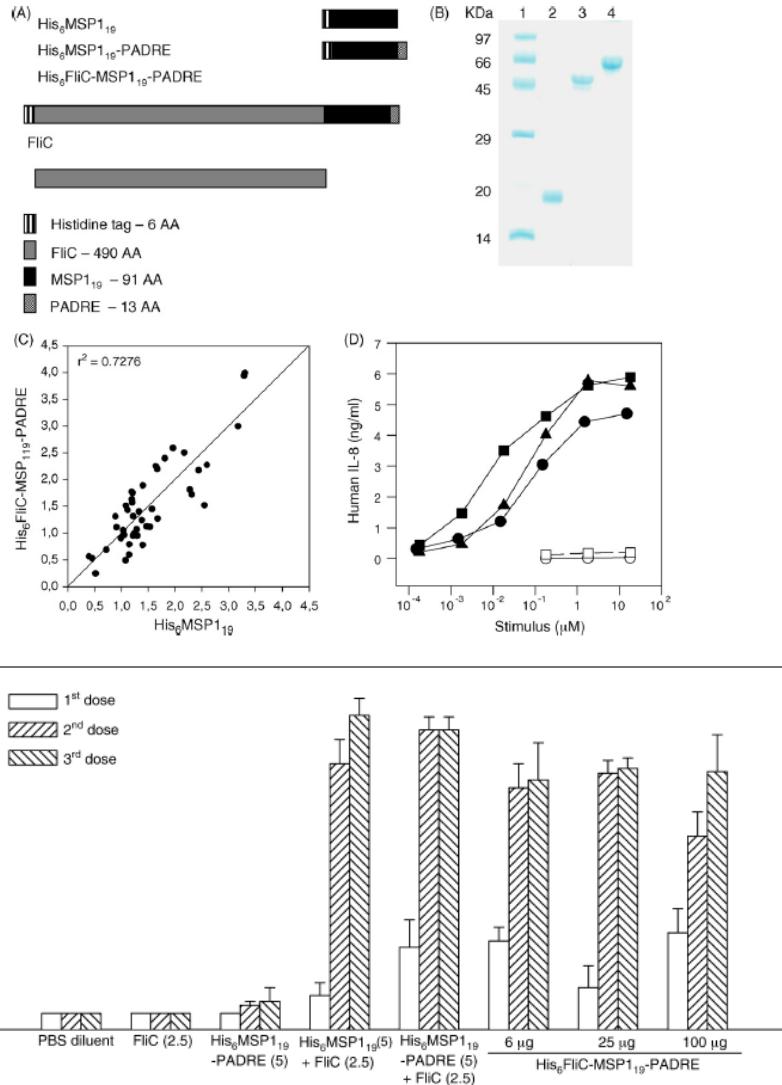
Ativação de células T CD8⁺ CS-específica em animais imunizados com linhagens atenuadas de *S. Dublin*



Ativação de células T CD8⁺ CS-específica em animais imunizados com flagelina co-administrada ou fusionada ao epítopo CS

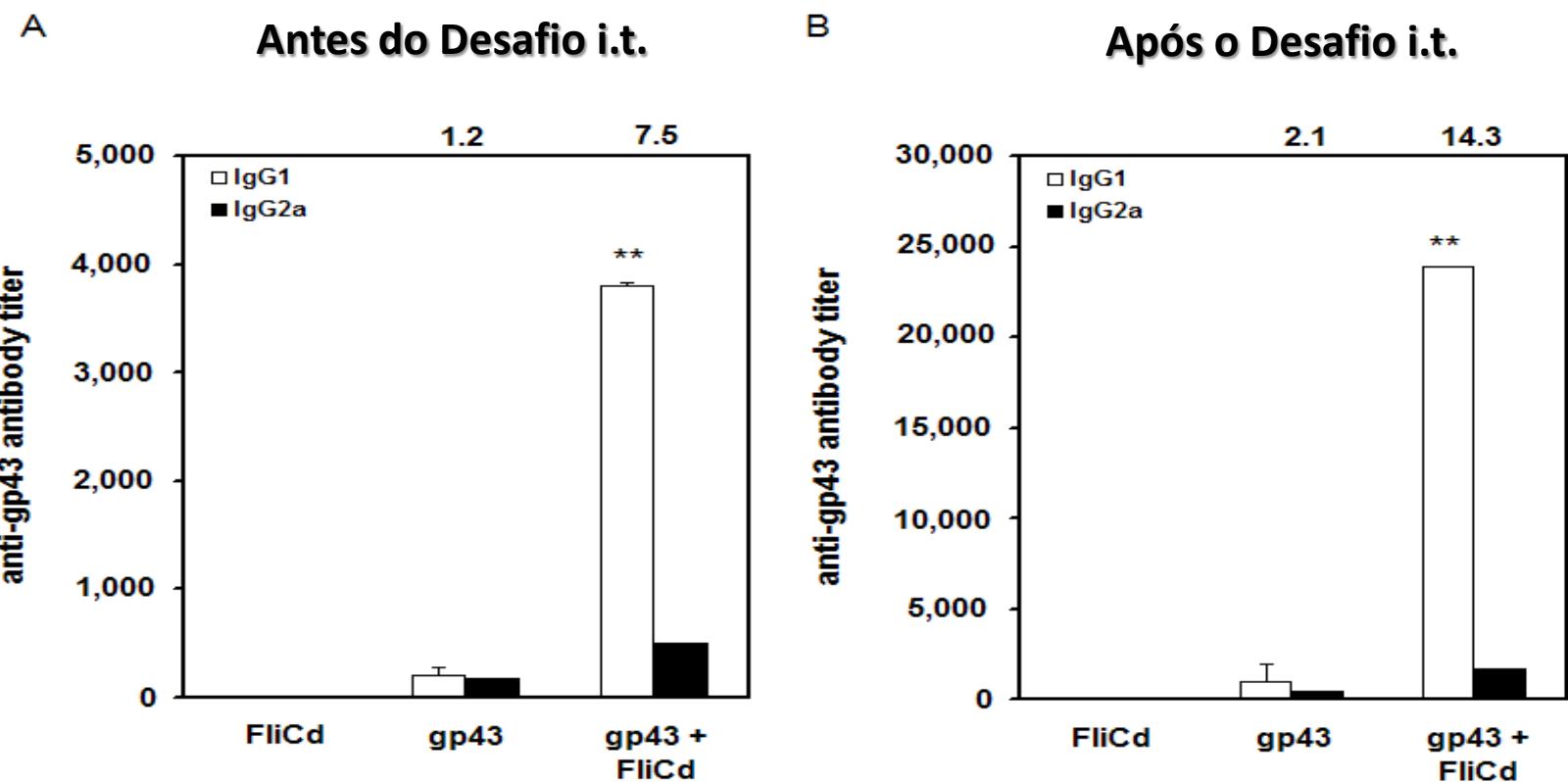


Uma nova abordagem para vacinas contra malária: flagelinas híbridas

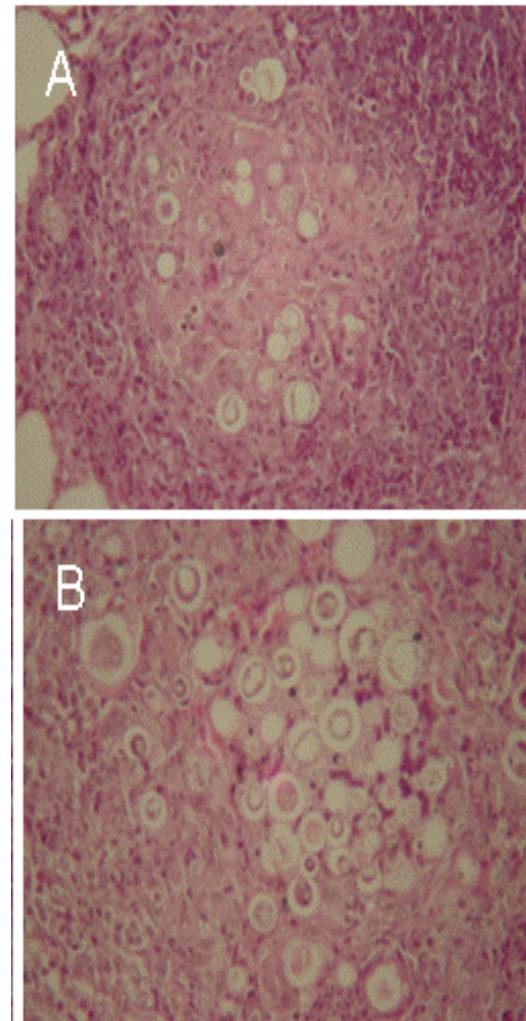
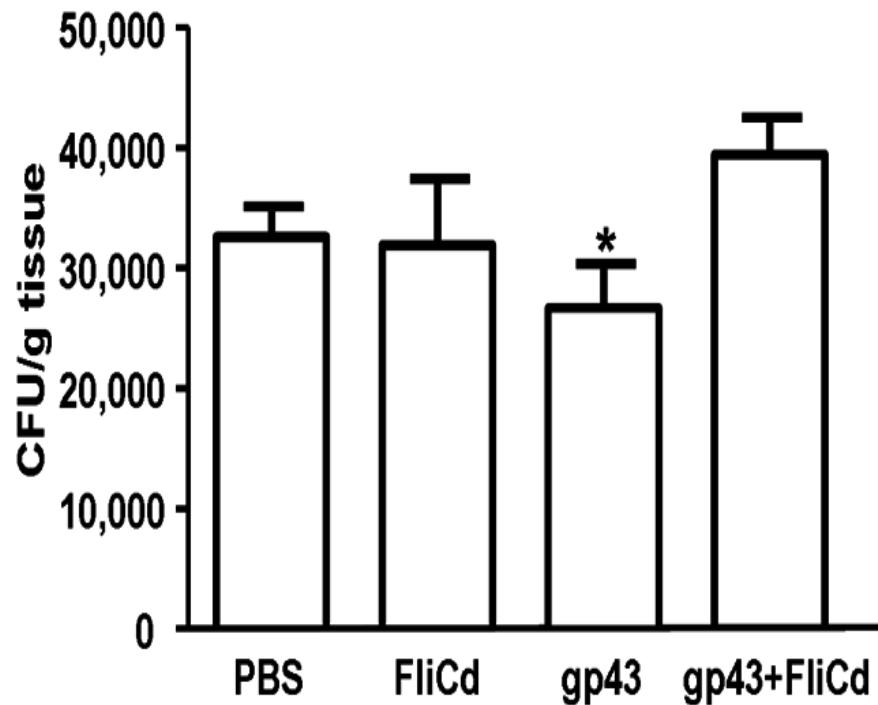


Barguieri et a. Vaccine, 28:2818, 2010
Barguieri et a. Vaccine, 26:6132, 2008

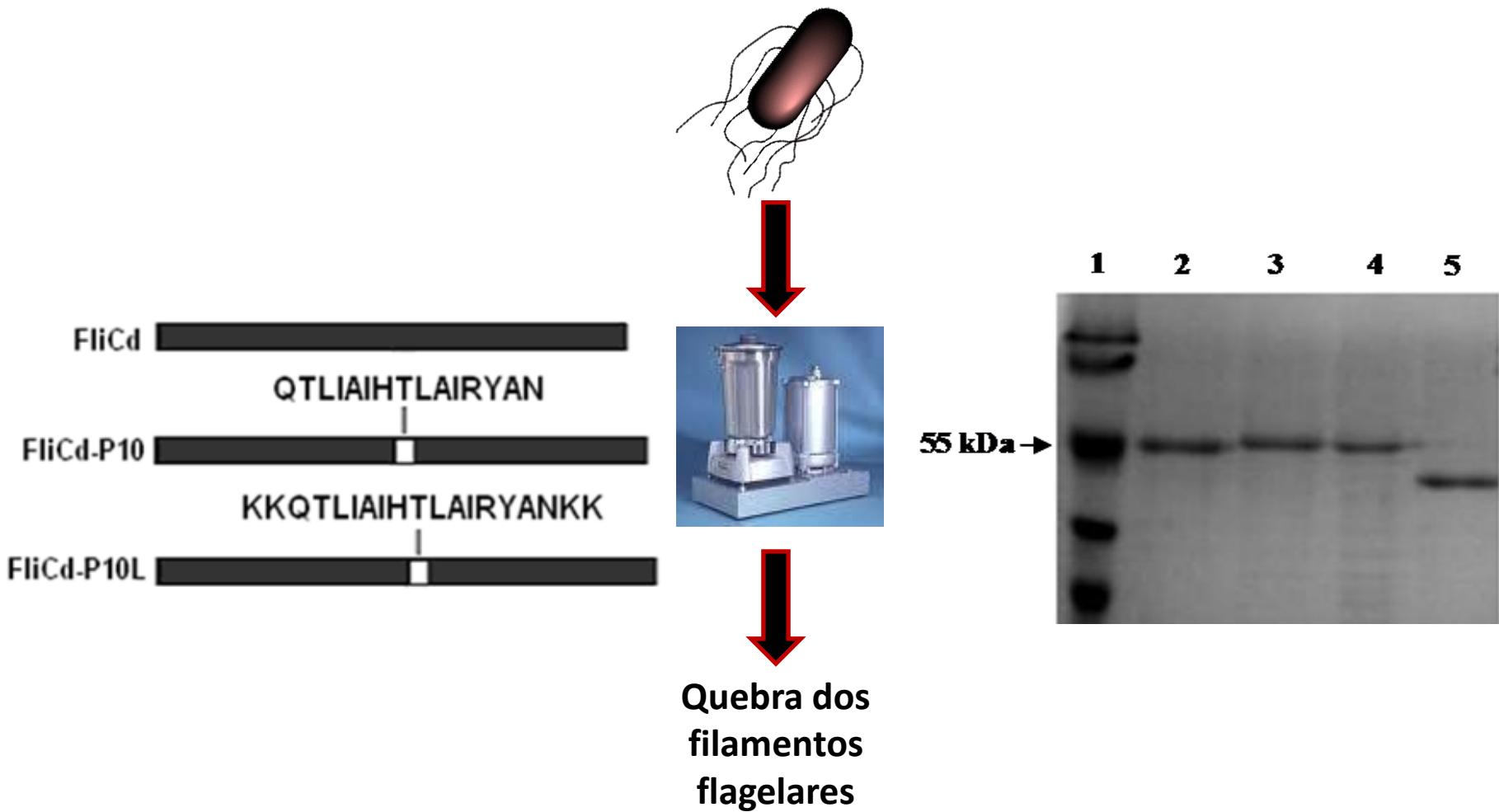
Flagelina com adjuvante de mucosa contra a paracoccidioidomicose: Resposta de IgG sérico anti-GP43 em camundongos



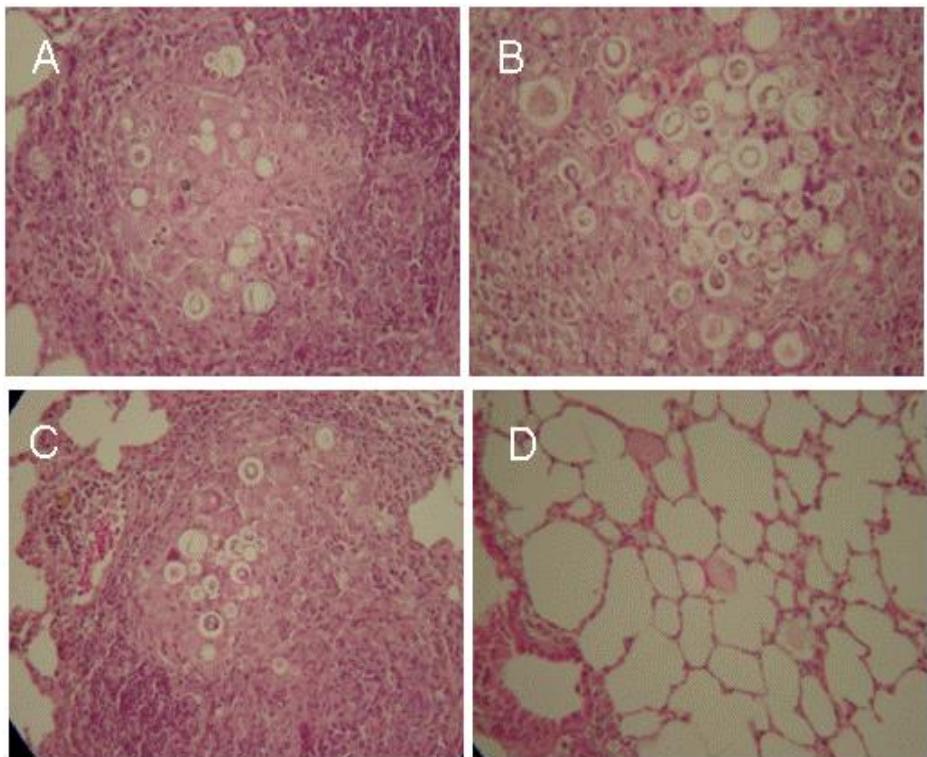
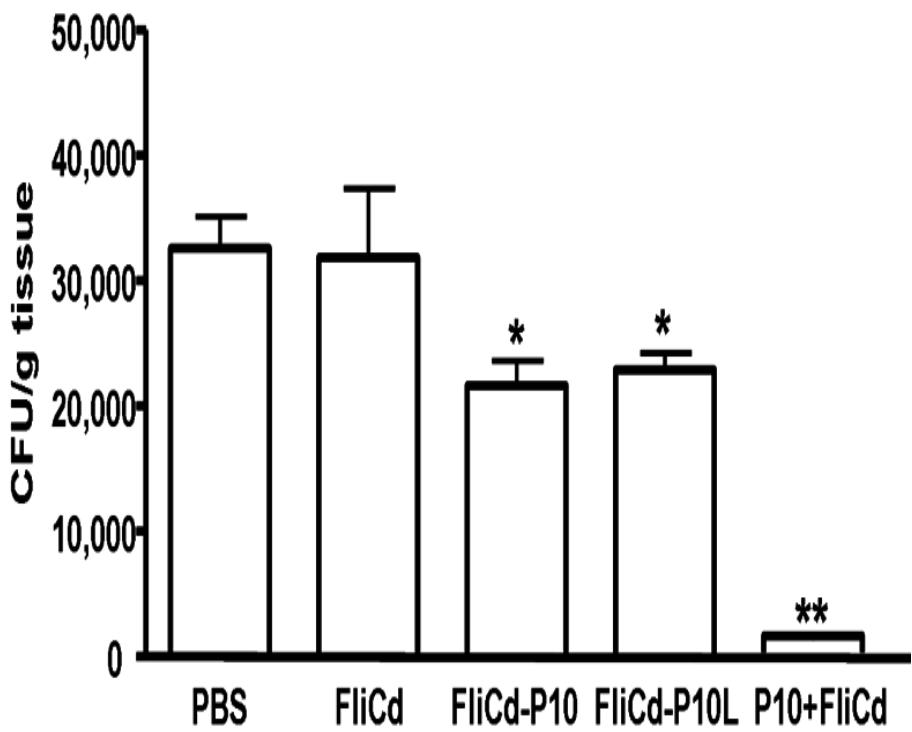
Ausência de proteção em animais imunizados por via nasal com vacinas contendo FliC e GP43 de *P. brasiliensis*



Geração e obtenção de flagelinas geneticamente fusionadas ao epítopo T CD4+ da proteína gp43

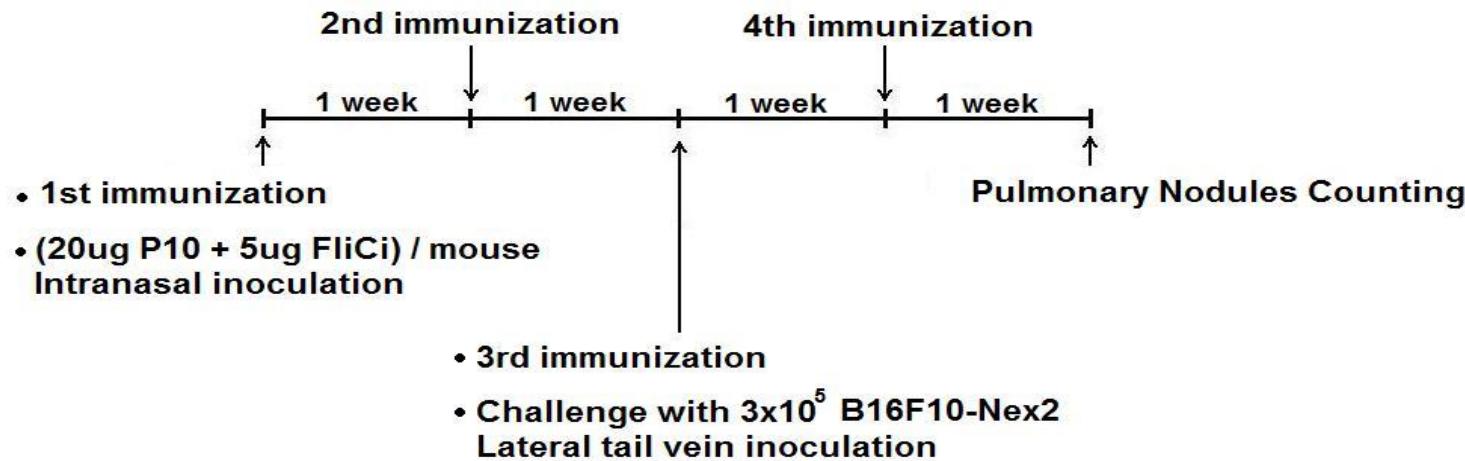


Imunidade protetora conferida a camundongos imunizados com FliC e peptídeo P₁₀ frente a desafio com PB₁₈ relacionada à imunomodulação

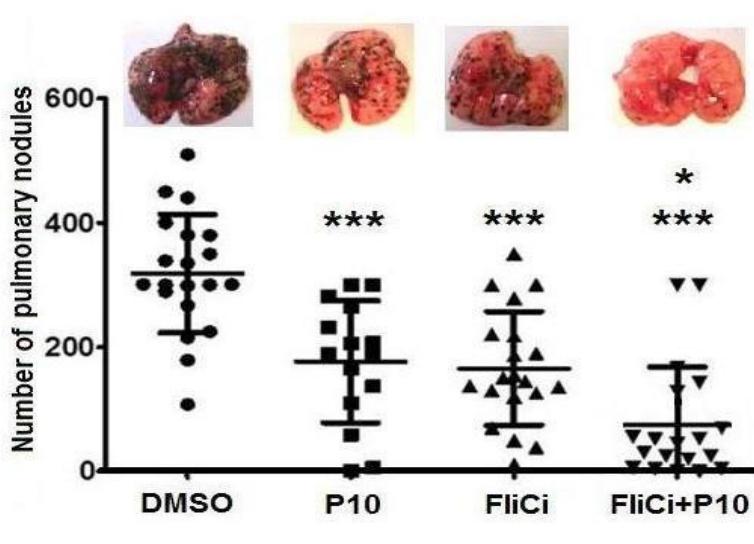


Efeito anti-tumoral de flagelina e P10 em melanoma experimental

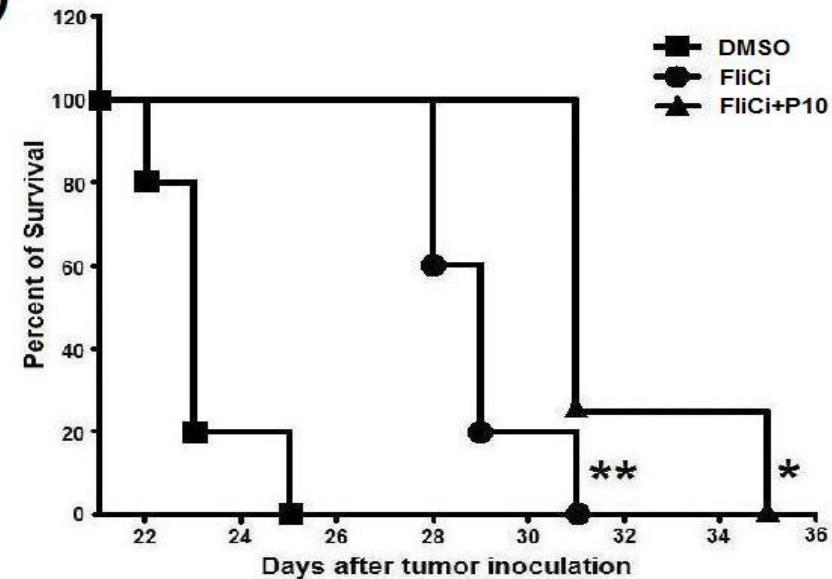
A)



B)



C)



Pesquisas sobre os efeitos adjuvantes de flagelinas

Sorotipos de Flagelinas Utilizadas

- nFliCi e rFliCi
- nFliCd
- nFljB
- nHag

Antígenos Utilizados

- Peptídeos: P10, CS, CfaB
- Proteínas: gp43, MSP-1₁₉, OVA, p24, E7

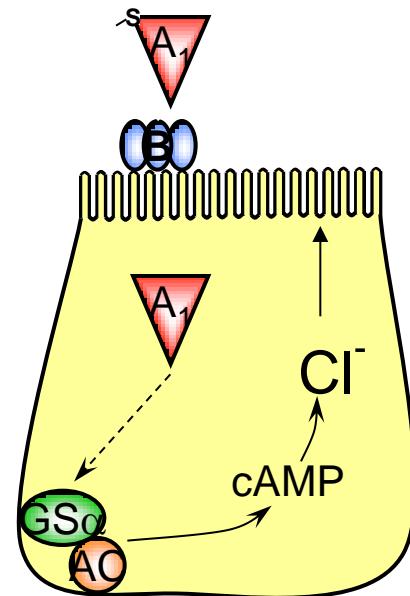
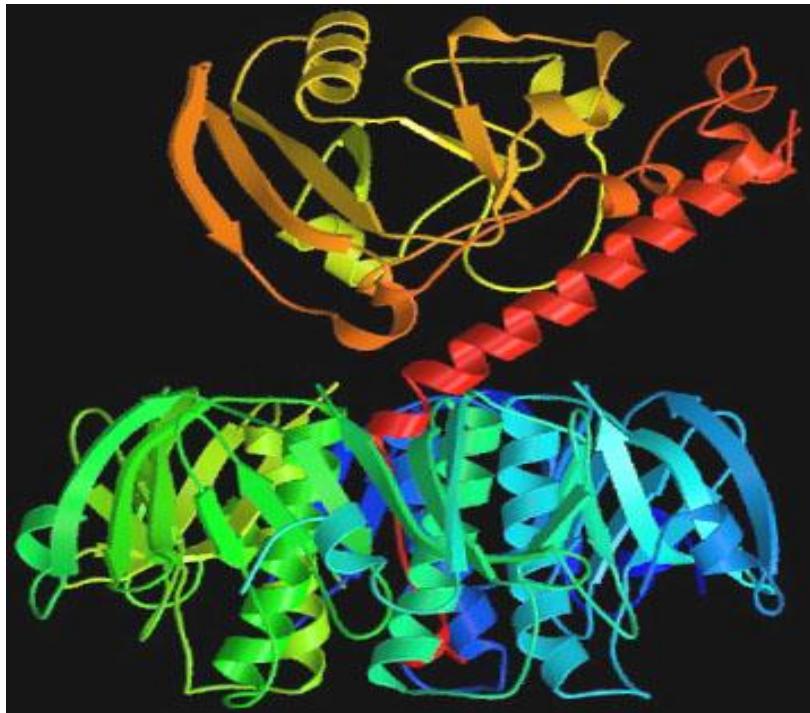
Origem dos Antígenos

- Bacteriana
- Viral
- Fúngica
- Parasitária
- Tumoral

Aspectos avaliados

- Via de mucosa X Via parenteral
- Fusão X Co-administração
- Particulado X Solúvel

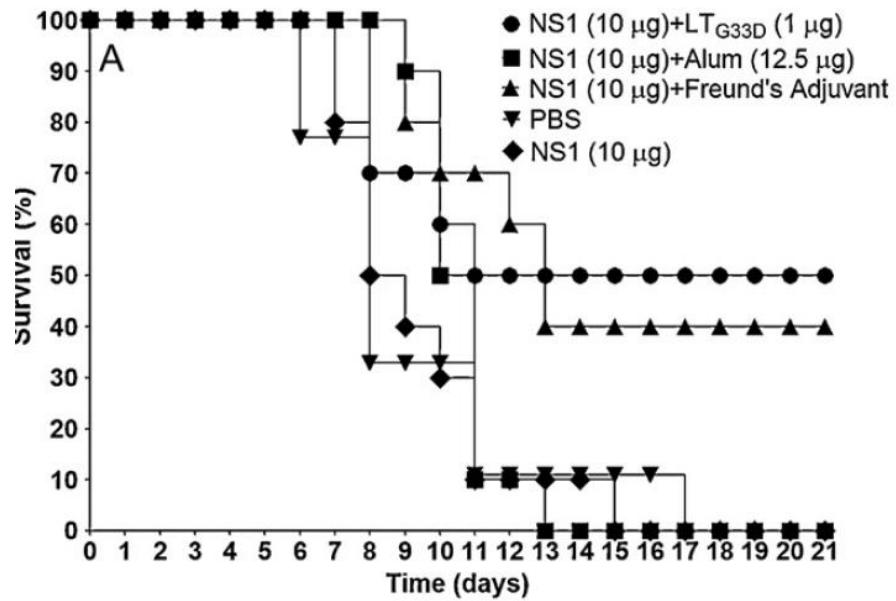
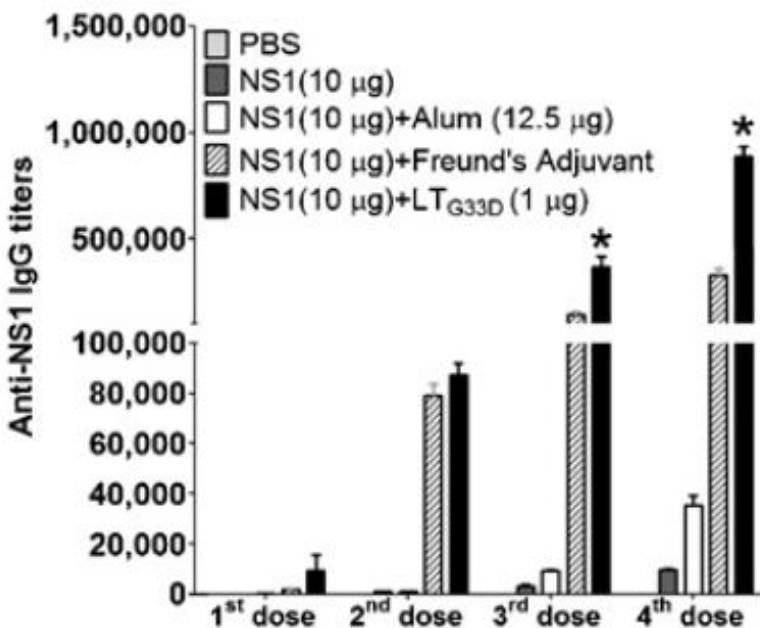
Toxinas do tipo AB como adjuvantes para múltiplas vias de administração



Toxina termo-lábil de ETEC

Derivados de LT como adjuvantes para vacinas contra a dengue

A



Amorim et al. Vaccine, 30:837, 2012
Amorim et al. Plos One, 7, 2012

Avaliação de efeitos colaterais induzidos por derivados de LT

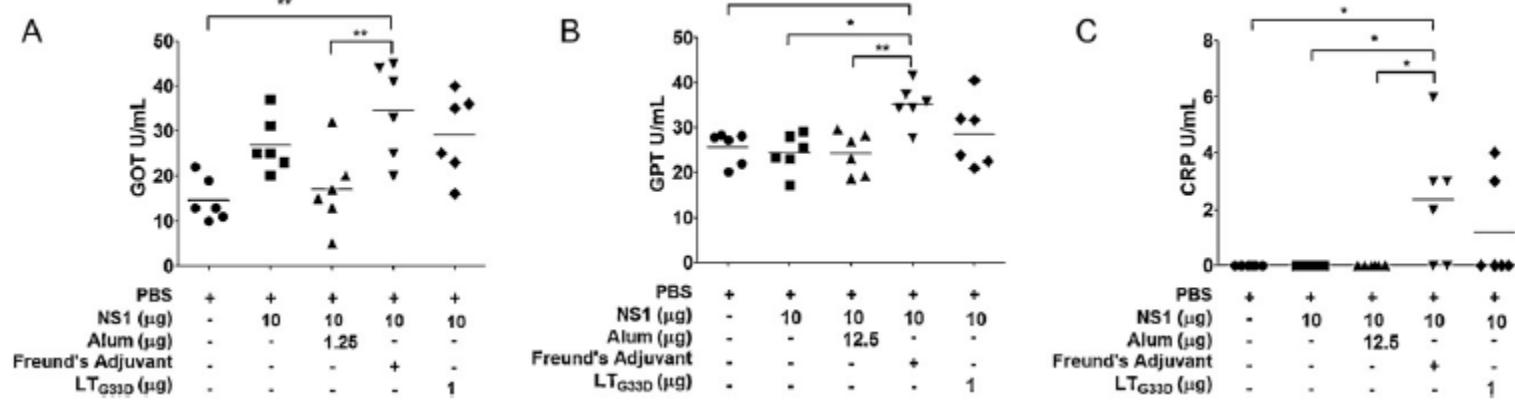
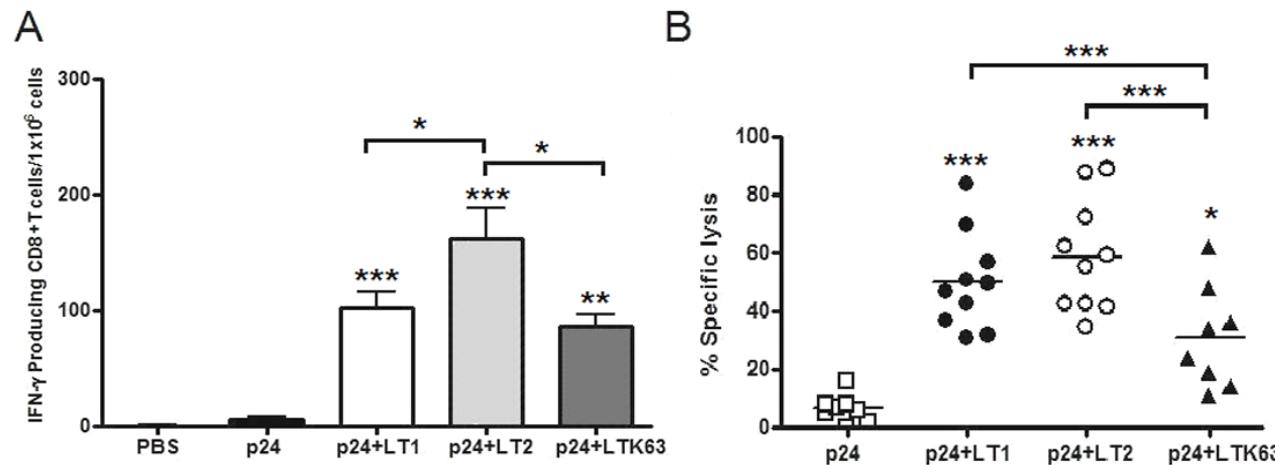


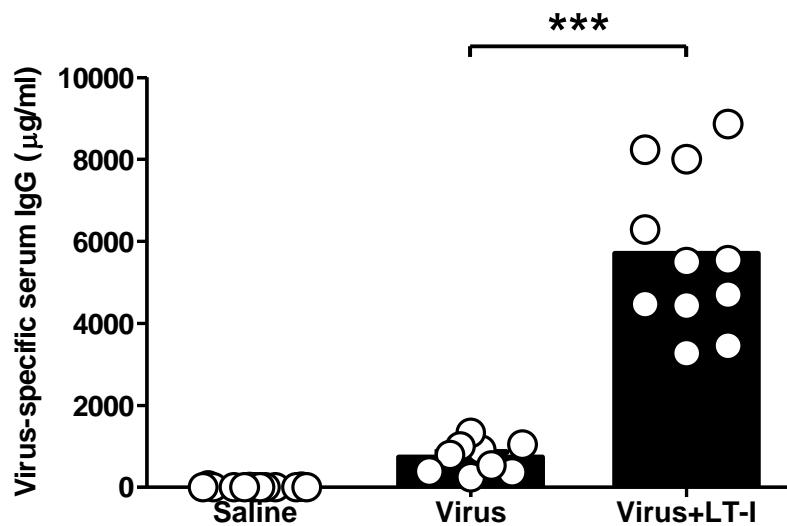
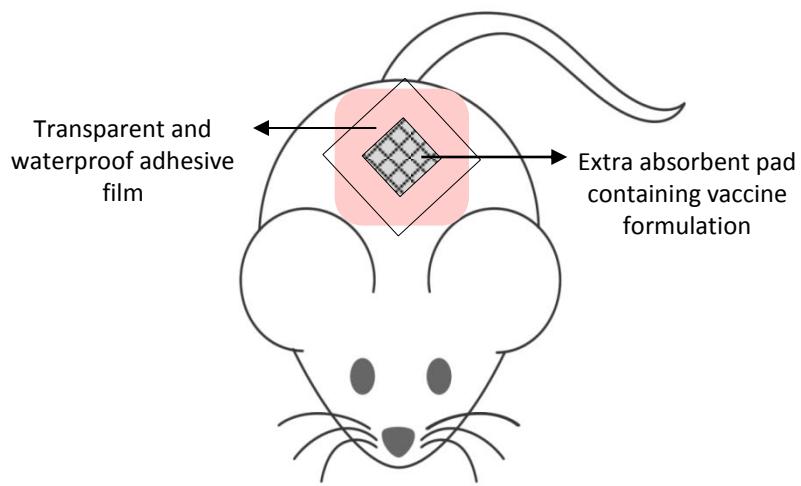
Table 1
Hematological analyses of mice immunized with purified NS1 and LT_{G33D}.

Hematological parameters ^b	Immunization groups ^a		
	PBS	NS1 (10 µg)	NS1 (10 µg)+LT _{G33D} (1 µg)
WBC	7.5 ± 1.28	6.1 ± 2.07	7.47 ± 2.92
NEU	1.5 ± 0.33	1.22 ± 0.37	1.42 ± 0.72
LYM	5.32 ± 0.99	4.52 ± 1.79	5.75 ± 2.24
RBC	6.53 ± 1.72	6.32 ± 2.13	5.48 ± 0.57
HCT ^c	36.83 ± 0.98	37.17 ± 0.98	37.5 ± 1.05
PLT	1.55 ± 0.35	1.57 ± 0.45	1.38 ± 0.32
BT ^d	188 ± 46	220 ± 151	195 ± 75

Derivados de LT em formulações vacinais anti-HIV administradas por via parenteral



Administração t.c. de vacinas contra a dengue



Pesquisas sobre os efeitos adjuvantes de derivados de LT

Tipo de LT produzidos

- LTK63
- LTG33D
- LTK4R
- 16 tipos naturais de LT

Antígenos Utilizados

- Proteínas: p24, NS1, EIII, CFA/I, CfaE, OVA, gDE7, MSP1
- Vírus inativados: DENV

Origem dos Antígenos

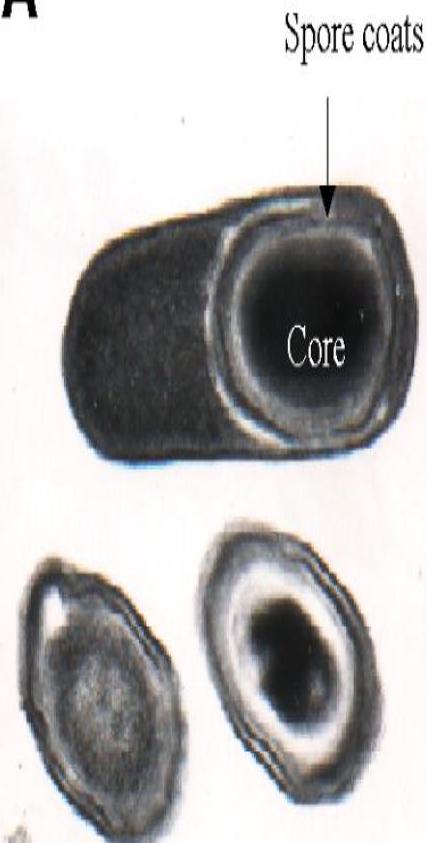
- Bacteriana
- Viral
- Parasitária
- Tumoral

Aspectos avaliados

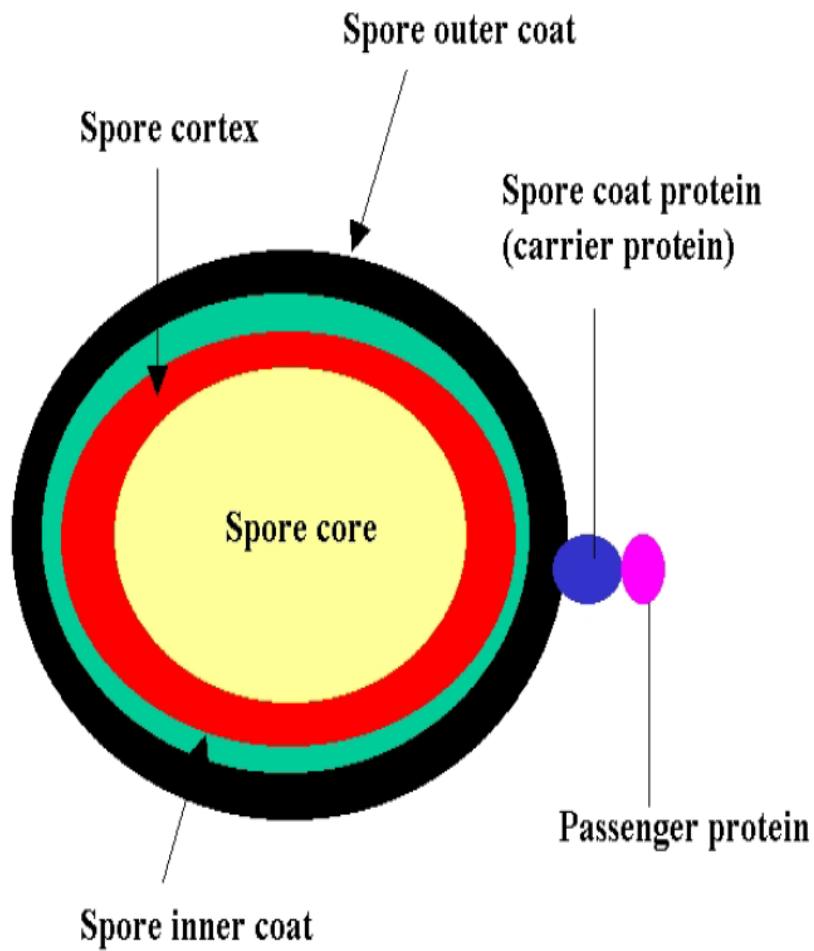
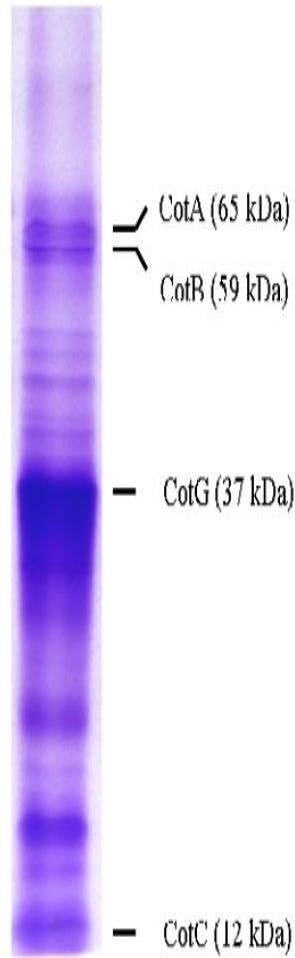
- Via de mucosa (p.o., i.n., s.l.)
- Via parenteral (s.c., i.d., t.c.i.)
- Variantes com atividade imunomoduladora diferenciada

Esporos de *Bacillus subtilis* como adjuvantes

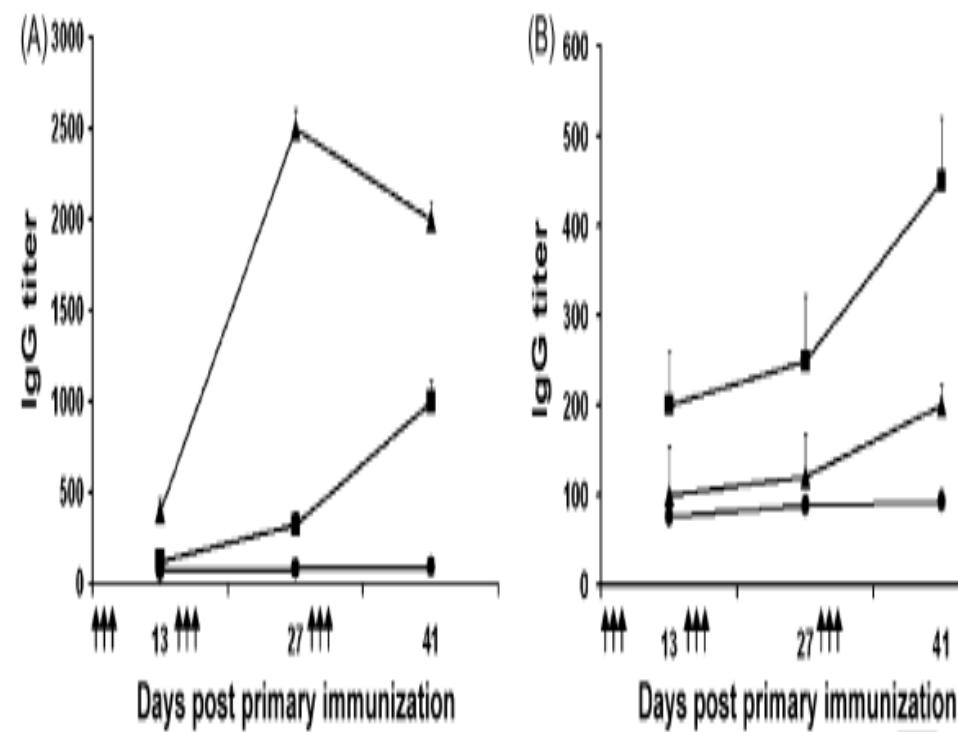
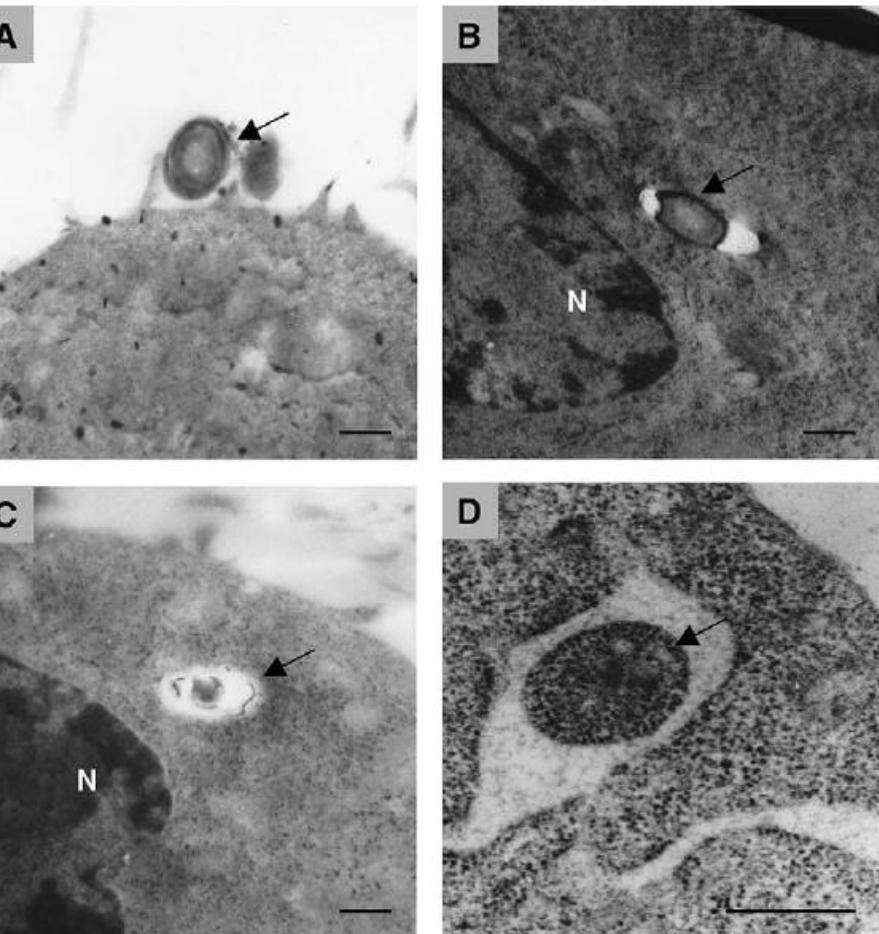
A



B

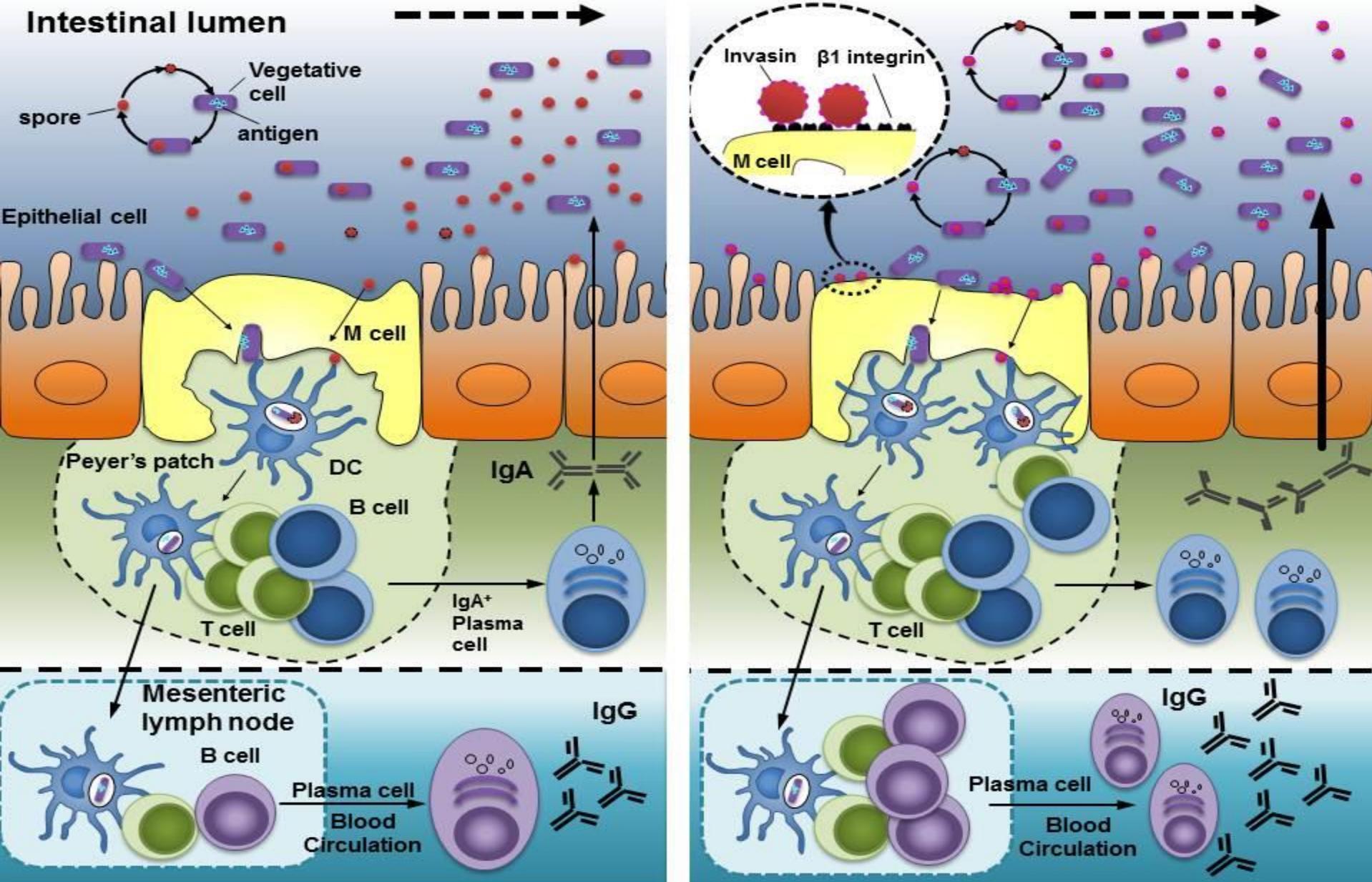


Expressão de antígenos codificados após germinação in vivo

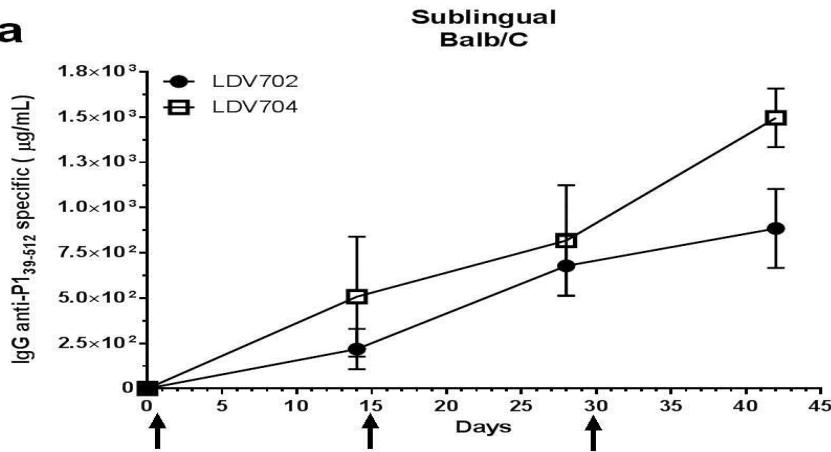
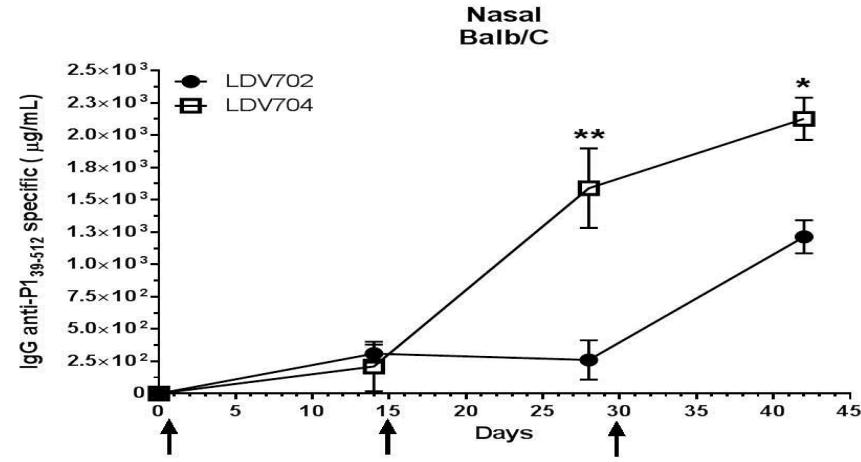
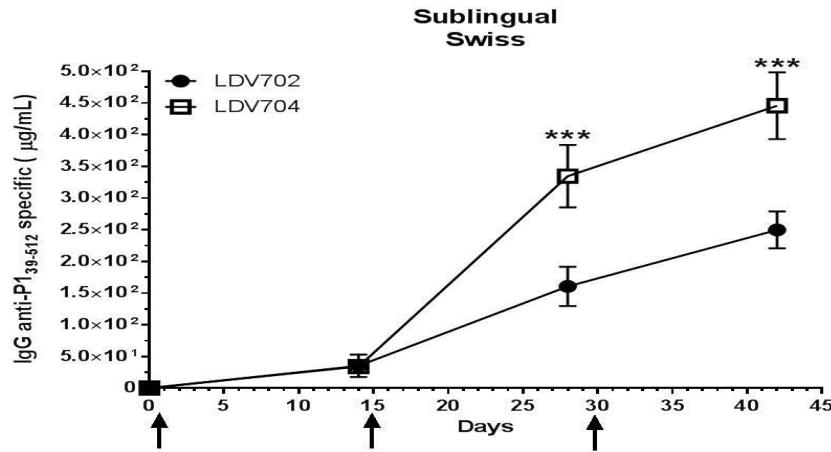
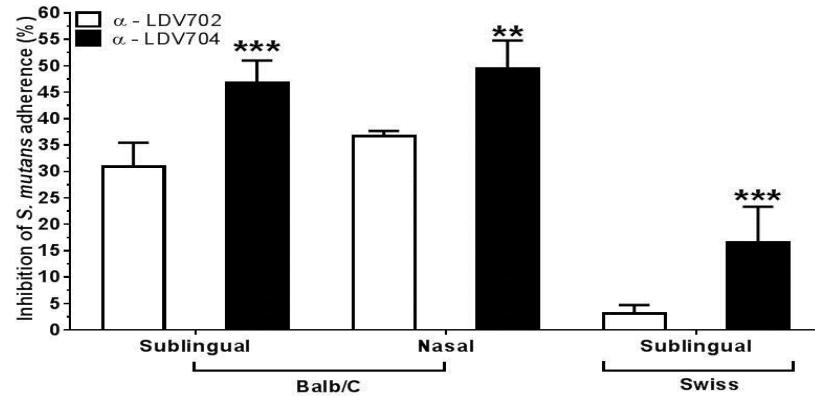


Luiz et al. Vaccine, 26:3998, 2008
Paccez et al. Vaccine, 25:4691, 2007
Nugyen et al. Plasmid, 54:241, 2005

Segunda geração de esporos com veículos vacinais – esporos entero adesivos



Segunda geração de esporos com veículos vacinais – esporos entero adesivos

a**b****c****d**

Pesquisas sobre os efeitos adjuvantes de esporos de *B. subtilis*

Tipo esporos

- *B. subtilis*
- *B. subtilis* (entero adesivos)
- 120 espécies e linhagens de *Bacillus sp.*

Antígenos Utilizados

- Proteínas: P1, LTB, PstS de *S. mutans*, p24, LT, CfaE
- Antígenos tumorais: vacinas de DNA, gDE7

Origem dos Antígenos

- Bacteriana
- Viral
- Tumoral

Aspectos avaliados

- Esporos como veículos vacinais administrados por mucosa (p.o.)
- Adjuvantes para vacinas de DNA e proteínas purificadas (administração parenteral)
- Substrato para biobalística

Conclusões

- Adjuvantes de natureza proteica representam uma rota alternativa para o desenvolvimento de novas vacinas;
- O domínio de tecnologias voltadas para o desenvolvimento e a produção de uma linha própria de adjuvantes representa um passo tecnológico e científico estratégico para o país (p.ex. Lage et al. PNAS, 2013);
- A complexidade do estudo de adjuvantes e vacinas exige o estabelecimento de parcerias tanto estrangeiras mas, e sobretudo, com competências estabelecidas no país (p.ex. INCTV, NPV-USP);

LDV



Colaboradores

- . Universidade de São Paulo**
- . Universidade Federal de São Paulo**
- . Universidade de Buffalo**
- . Universidade da Florida**
- . Centre de Pesquisas Médicas da Marinha (EUA)**
- . Instituto Butantan**
- . Academia de Medicina (Argentina)**
- . FIOCRUZ**

Financiamentos – FAPESP, CNPq , USP, GSK