

# Adjuvantes e Imunomoduladores

Prof. Geferson Fischer  
Universidade Federal de Pelotas

- Vacinas...

# Definições

- Adjuvante é uma palavra derivada do latim (*adjuvare*) que significa ajudar.
- São substâncias que, quando acrescidas às vacinas, maximizam sua eficiência, especialmente daquelas compostas por micro-organismos inativados ou altamente purificados.

# Definições

- Adjuvante = incremento de resposta
- Imunomodulador
  - Imunoestimulação
  - Imunossupressão

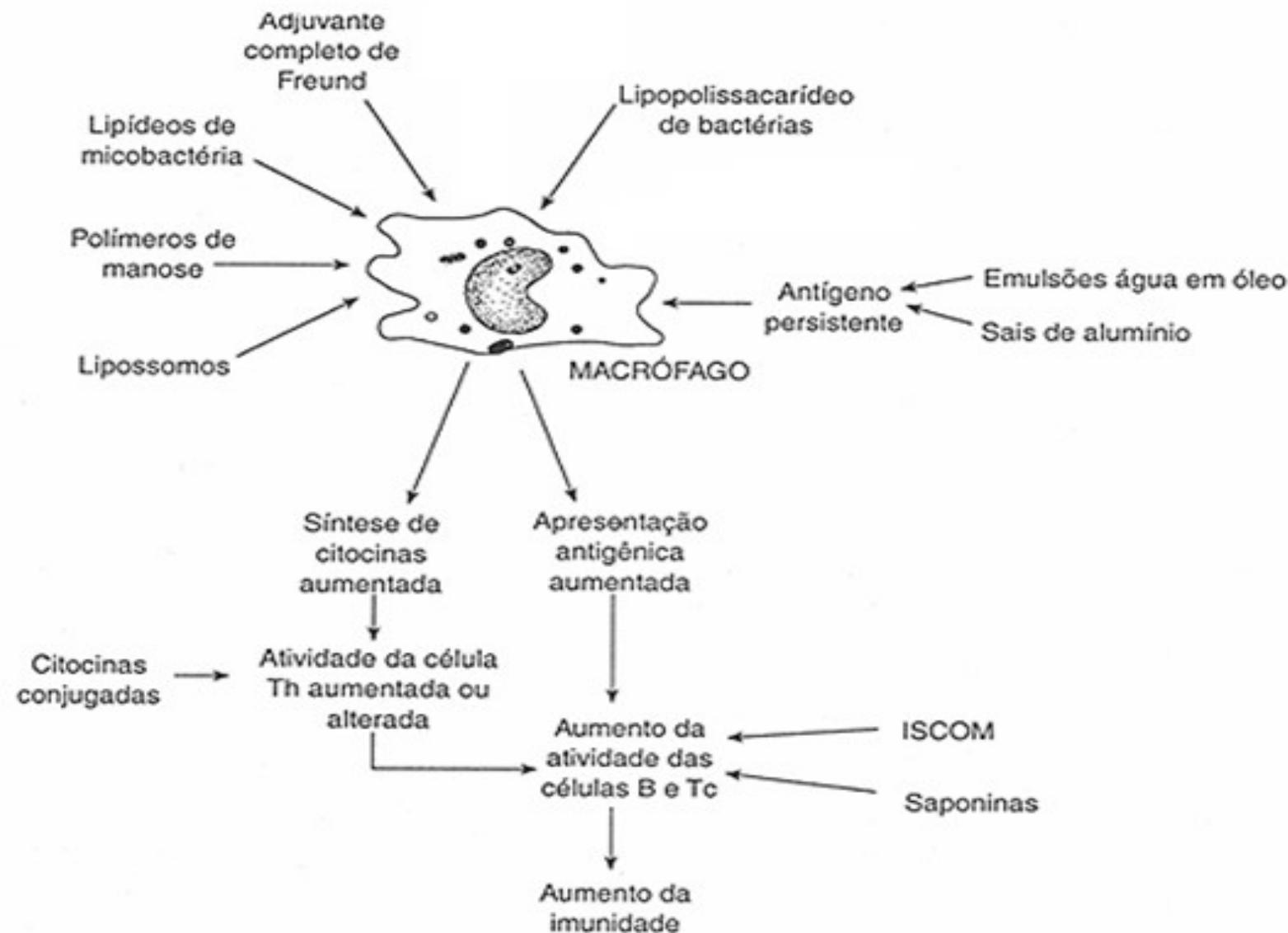
# Definições

- Adjuvante ideal
  - Atóxico ou toxicidade insignificante;
  - Imunidade longa e memória imunológica duradoura;
  - Não induzir auto-imunidade;
  - Não ser carcinogênico, mutagênico ou teratogênio;
  - Potencial para selecionar interações entre as populações de células imunocompetentes.

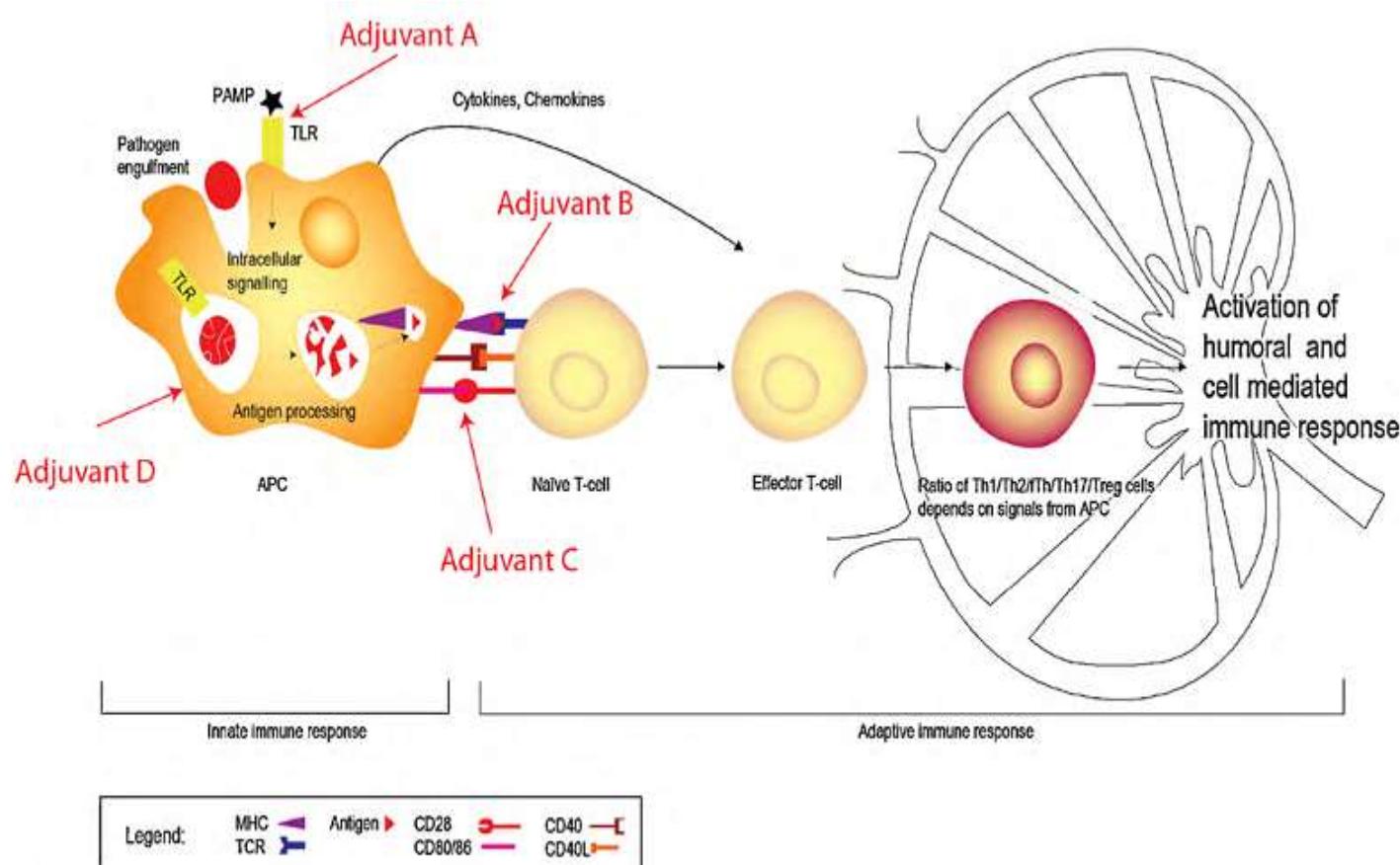
# Funções

- Adjuvante
  - Aumento da resposta do organismo às vacinas;
  - Reduções na quantidade de antígeno injetado;
  - Redução no número de doses;
  - Modulação da resposta;
  - Indução de imunidade de mucosa;
  - É essencial para o estabelecimento de uma resposta prolongada contra os antígenos (memória).

# Mecanismos de ação



# Mecanismos de ação



**Fig. 1.** The activation of T-helper cells (Th1 and Th2) requires specific signals from an antigen presenting cell (APC). There are several targets for adjuvants to interact with this process and to modulate the adaptive immune response. Adjuvants can impact at different levels such as: (1) Recognition of a pathogen associated molecular pattern (PAMP) by a toll-like receptor (TLR). (2) Presentation of antigens by the major histocompatibility complex (MHC) to the T-cell receptor (TCR). (3) Recognition of co-stimulatory signals like CD28 or CD40L by specific T-cell CD80/86 and CD40 ligands. (4) Intracellular signalling processes in the APC.

# Mecanismos de ação

Immunostimulant	Cellular interaction	Type of immune response
<b>TLR ligands</b>		
Bacterial lipopeptide, lipoprotein and lipoteichoic acid; mycobacterial lipoglycan; yeast zymosan, porin	TLR-2, 1/2, 2/6	Th1, antibody (Ab), NK cell
Viral double stranded RNA	TLR-3	NK cell
Lipopolysaccharide, Lipid A, monophosphoryl lipid A (MPL®), AGPs	TLR-4	Strong Th1, Ab
Flagellin	TLR-5	Th1, CTL, Ab
Viral single stranded RNA, imidazoquinolines	TLR-7/8	Strong Th1, CTL
Bacterial DNA, CpG DNA, hemozoin	TLR-9	Strong Th1, CTL and Ab; NK cell
Uropathogenic bacteria, protozoan profilin	TLR-11	Th1
<b>Other</b>		
Saponins (Quil-A, QS-21, Tomatine, ISCOM, ISCOMATRIX™)	Antigen processing	Strong Th1, CTL and Ab; long term memory
Cytokines: GM-CSF, IL-2, IFN- $\gamma$ , Flt-3.	Cytokine receptors	Th1, Ab
Bacterial toxins (CT, LT)	ADP ribosylating factors	Ab

**Tabla 20-2 Algunos adyuvantes habituales**

<b>Tipo</b>	<b>Adyuvante</b>	<b>Modo de acción</b>
Adyuvantes de liberación prolongada	Fosfato de aluminio Hidróxido de aluminio Alumbre Adyuvante incompleto de Freund	Depósito de antígeno de liberación lenta Depósito de antígeno de liberación lenta Depósito de antígeno de liberación lenta Depósito de antígeno de liberación lenta
Adyuvantes microbianos	Corinebacterias anaeróbicas BCG Muramil dipéptido <i>Bordetella pertussis</i> Lipopolisacárido	Estimulador de macrófagos Estimulador de macrófagos Estimulador de macrófagos Estimulador de linfocitos Estimulador de macrófagos
Inmunoestimulantes	Saponina Lisolecitina Detergentes plurónicos Acemanano Glucanos Sulfato de dextrano	Estimula el procesamiento de antígenos Estimula el procesamiento de antígenos Estimula el procesamiento de antígenos Estimulador de macrófagos Estimulador de macrófagos Estimulador de macrófagos
Sistemas de liberación	Liposomas ISCOM	Estimula el procesamiento de antígenos Estimula el procesamiento de antígenos
Mezcla de adyuvantes	Microparticulas Adyuvante completo de Freund	Estimula el procesamiento de antígenos Emulsión de agua en aceite más <i>Mycobacterium</i>

## TLR-INDEPENDENT ADJUVANTS

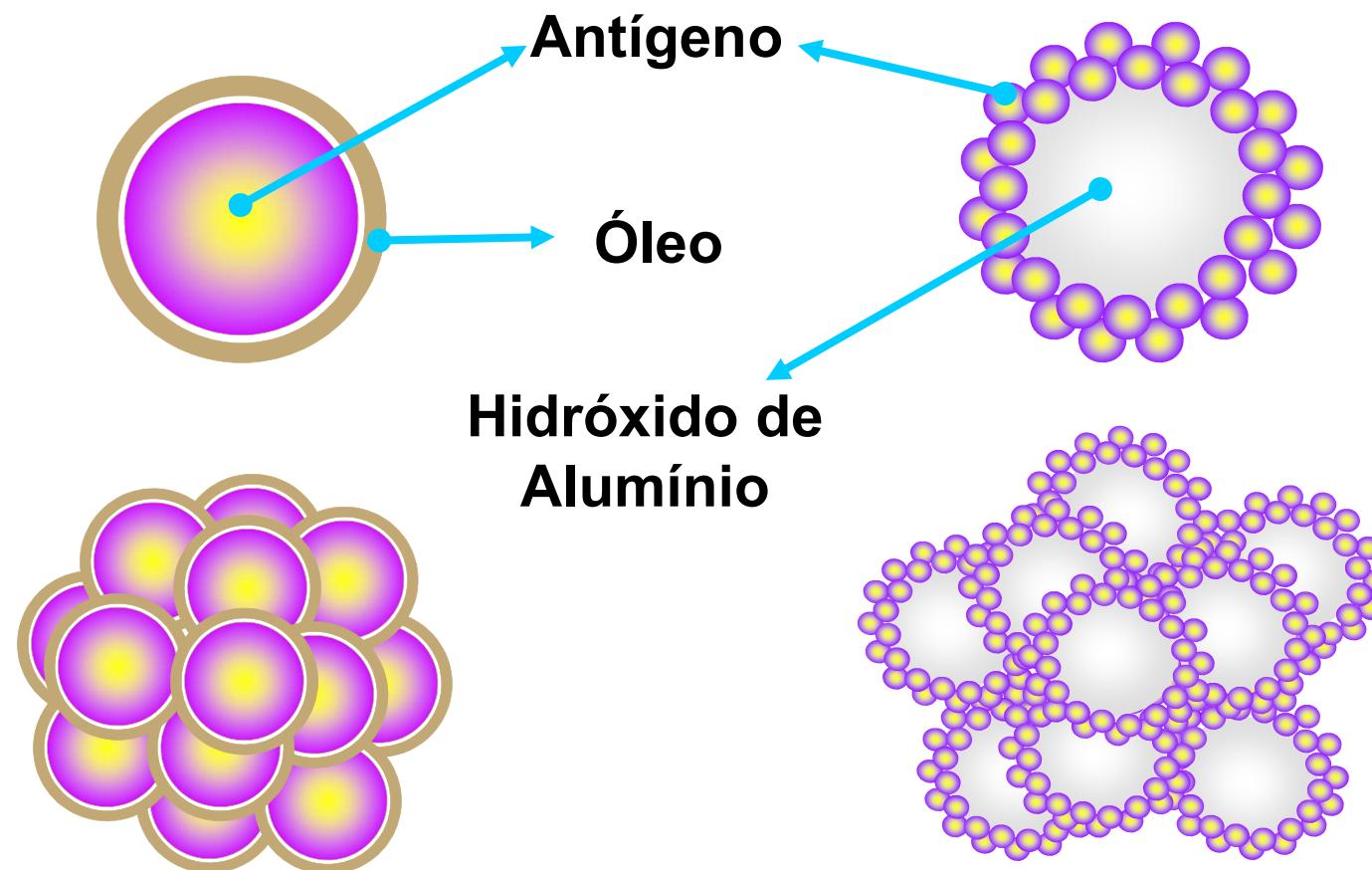
<b>Alum</b>	Mineral salts (1), (2)	Diphtheria, tetanus, pneumococcus, etc.
<b>MF59</b>	Oil-in-water emulsion (22), (29)	Influenza
<b>AS03</b>		Influenza
<b>AF03</b>		influenza
<b>Virosomes</b>	Liposomes	HAV
<b>Iscomatrix</b>	Combination	HCV, influenza, HPV, cancer
<b>Montanide ISA51</b>	Oil-in-water emulsion	Malaria, HIV, cancer
<b>Montanide ISA720</b>		Malaria, HIV, cancer
<b>LT</b>	Bacterial toxins	Influenza, ETEC
<b>LTK63</b>		Influenza, TB, HIV

# Adjuvantes de depósito

- Protegem os抗ígenos da degradação rápida;
- Resposta imunológica prolongada;
- Exemplos:
  - Sais de alumínio (fosfato ou hidróxido de alumínio);
  - Emulsão de água em óleo (Adjuvante Incompleto de Freund);
- Quando o抗ígeno é misturado a esses sais e injetado em um animal, forma-se um granuloma.



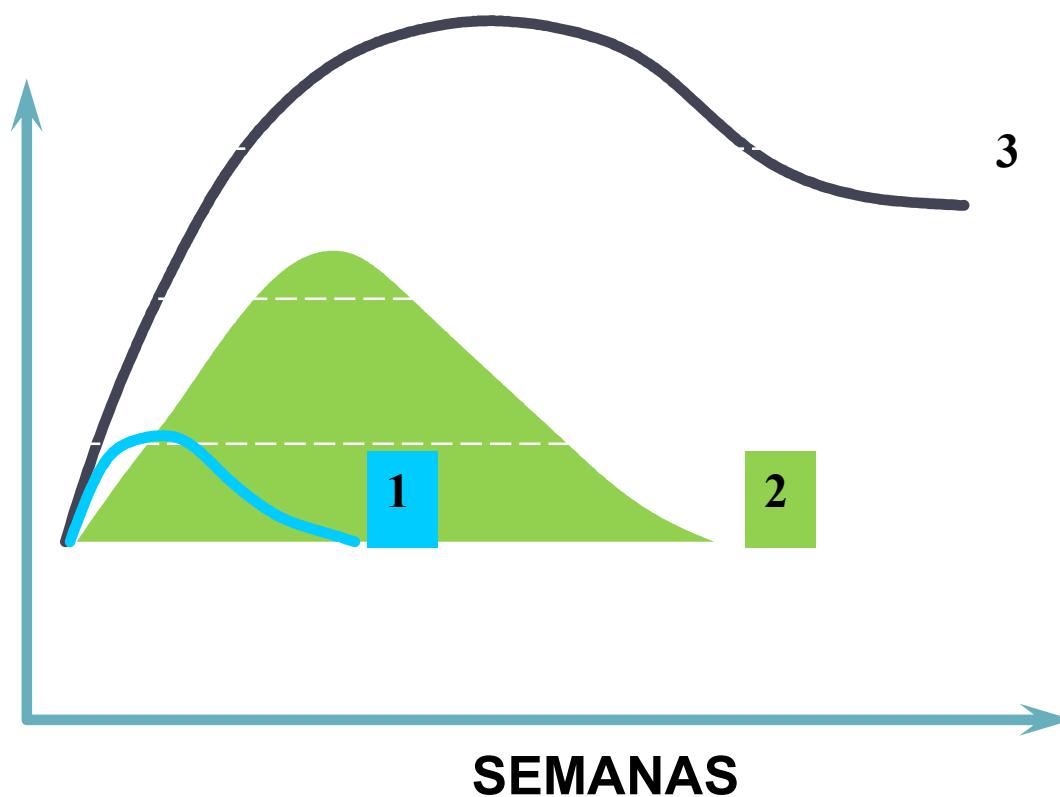
# Adjuvantes: óleo x hidróxido de alumínio



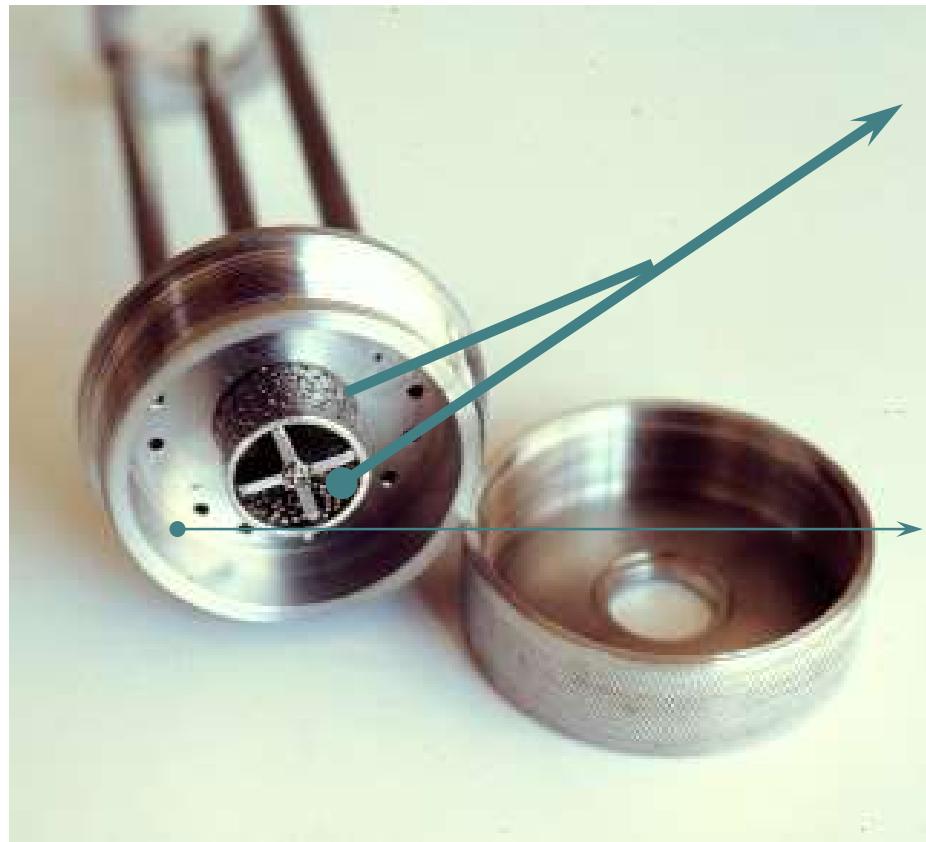
# Adjuvantes Imunológicos

1. Ag + Salina
2. Ag + Hidróxido de Alumínio
3. Ag + Óleo + BCG

Resposta Imune  
a diferentes  
adjuvantes  
imunológicos  
Ag = Alb. Bovina



## Emulsificador : emulsificar Ag aquoso em óleo mineral



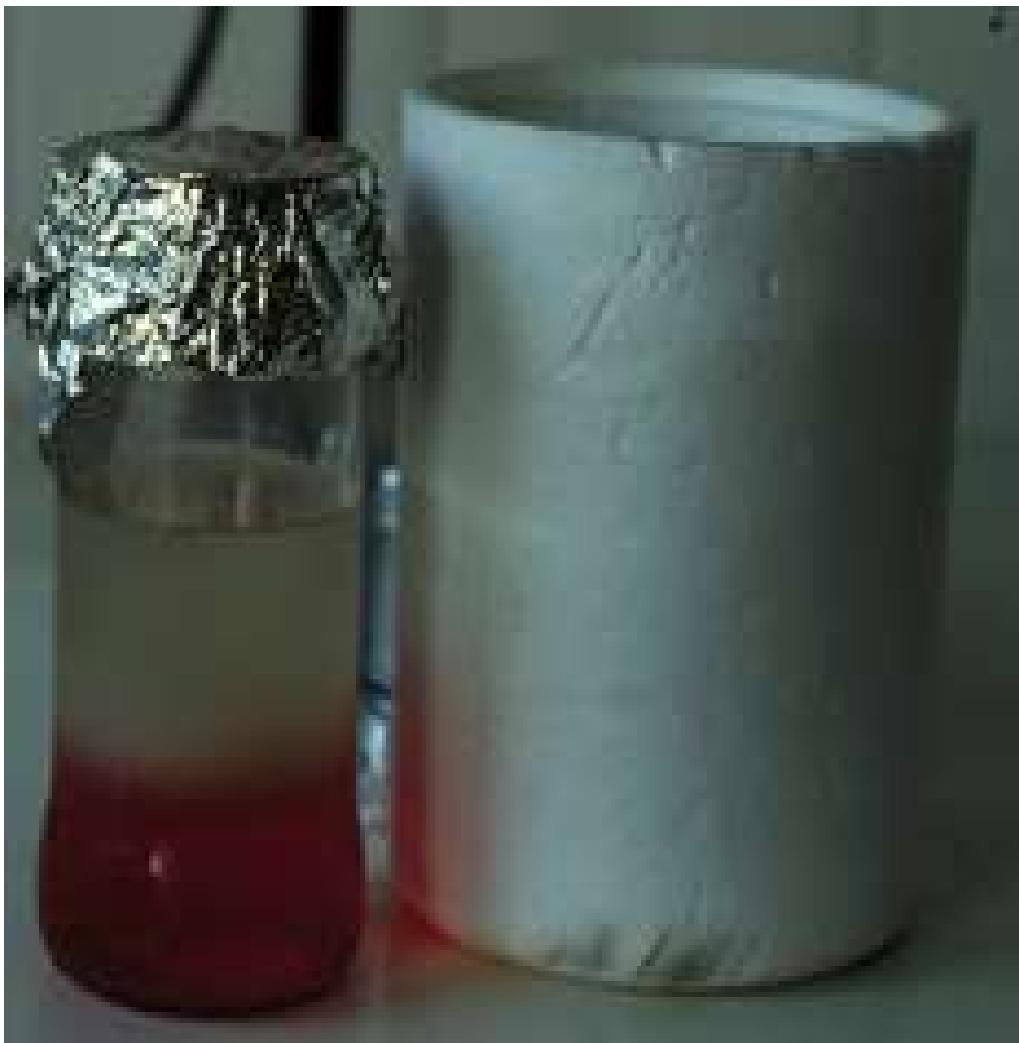
1. O Ag. é sugado pela hélice do rotor e lançado através da telinha, gerando gotículas;
2. As gotículas do Ag., agora revestidas de óleo, são jogadas contra a parede da câmara e saem pelas perfurações superiores;
3. Ao sair da câmara é sugado novamente, até que a emulsão fique pronta.



## Emulsificador

O rotor do emulsificador é acoplado e acionado por uma retífica de alta rotação (20.000 rpm)

# Emulsão água e óleo



Ag. aquoso (cor vermelha) por ser mais pesado fica abaixo do óleo (porção clara).

No isopor se coloca gelo, pois a emulsão deve ser feita em temperatura baixa (4 a 10°C).

## Vacina oleosa: condutibilidade elétrica



O Antígeno, por ser uma solução salina, conduz a eletricidade. O óleo não conduz eletricidade.



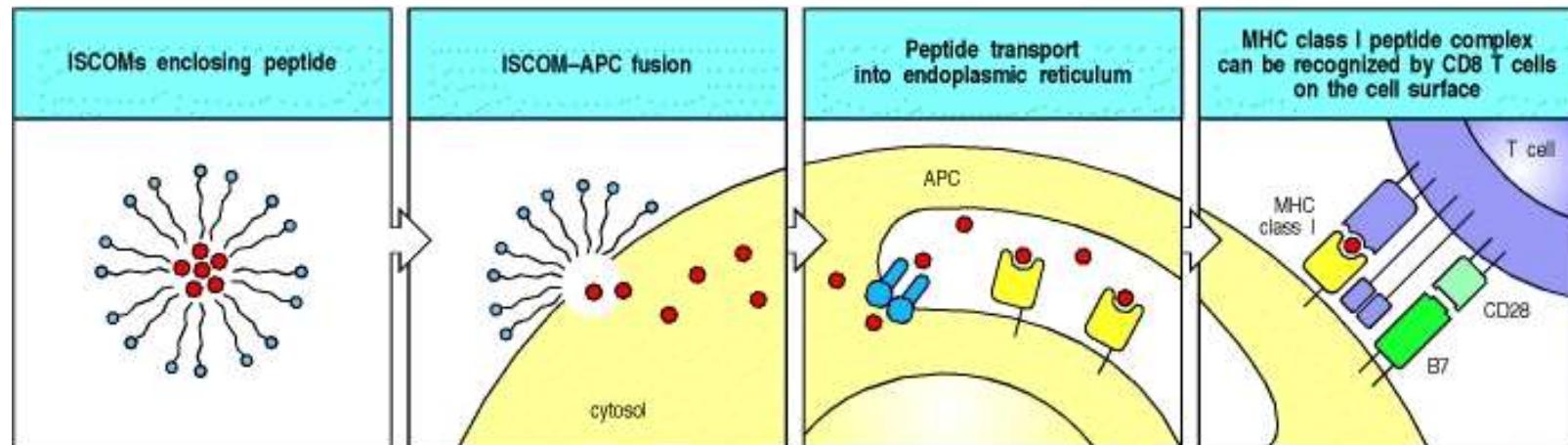
Como o Antígeno deve estar envolvido pelo óleo, a vacina pronta não deve apresentar condutibilidade elétrica.

# Adjuvantes particulados

- Partículas que distribuem os antígenos às células apresentadoras dessas substâncias, aumentando sua apresentação.
- Exemplos:
  - Emulsões;
  - Complexos imunoestimulantes (ISCOMs);
  - Lipossomos.

# Adjuvantes particulados

- Complexos imunoestimulantes (ISCOMs):
  - Contém colesterol, fosfolipídio, antígeno e saponina;
  - Adjuvantes eficazes com poucos efeitos adversos.



# Adjuvantes imunoestimulantes

- Moléculas que aumentam a produção de citocinas;
- Estimulam as respostas Th1 ou Th2 seletivamente;
- Exemplos:
  - Lipopolissacarídeos (ou seus derivados);
  - Saponinas;
  - Própolis e outros extratos vegetais.

# Adjuvantes combinados



- Combinação pode gerar adjuvantes poderosos;
- Exemplo:
  - Adjuvante completo de Freund (FCA).



Adjuvants	Formulation	In pre-clinical or clinical trials
Montanides	Water-in-oil emulsions	Malaria (Phase I), HIV, Cancer (Phase I/II)
Saponins (QS-21)	Aqueous	Cancer (Phase II), Herpes (Phase I), HIV (Phase I)
SAF	Oil-in-water emulsion containing squalene, Tween™ 80, Pluronic™ L121	HIV (Phase I - Chiron)
AS03	Oil-in-water emulsion containing $\alpha$ -tocopherol, squalene, Tween™ 80	Pandemic Flu (GSK)
MTP-PtdEtn	Oil-in-water emulsion	HSV
Exotoxins	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i> , cystic fibrosis (AERUGEN - Crucell/Berna)
ESCOMs	<i>E. coli</i> heat-labile enterotoxin LT	ETEC (Phase II - Iomai Corp.)
Phospholipids, cholesterol, QS-21		Influenza, HSV, HIV, HBV, Malaria, Cancer
TLR ligands		
MPL®-SE	Oil-in-water emulsion	<i>Leishmania</i> (Phase III - IDRI)
Synthetic Lipid A	Oil-in-water emulsion	Various indications (Avant/IDRI)
MPL®-AF	Aqueous	Allergy (ATL); Cancer (Biomira)
AS01	Liposomal	HIV (Phase II), Malaria (AS01, Phase III, GSK) Cancer (Phase II/III, Biomira/MerckKGaA)
AS02	Oil-in-water emulsion containing MPL® and QS-21	HPV (Cervarix), HIV, Tuberculosis, Malaria (Phase III), Herpes (GSK)
AS04	Alum + aqueous MPL®	HPV, HAV (GSK)
AS15	AS01 + CpG	Cancer therapy (GSK)
RC629	Aqueous	HBV, pneumovax
TLR-9 (CpG)	n/a	Cancer (ProMune - Coley/Pfizer) HCV (ACTILON - Coley)
TLR-9 ISS series	n/a	HIV, HBV, HSV, Anthrax (Vaximmune Coley/GSK/Chiron) HBV (HEPLISAV, Phase III - Dynavax) Cancer (Phase II, Dynavax)
TLR-9 IMO series (YpG, CpR motif)	n/a	Cancer (IMOxine, Phase I, Hybridon Inc.) Cancer (IMO-2055, Phase II, Idera Pharm.) HIV (Remune, Phase I, Idera/MNR)
TLR-9 agonist (MIDGE®)	n/a	Cancer (Phase I, Mologen AG)
TLR-7/8 (Imiquimod)	n/a	Melanoma (3M Pharmaceutical) HIV (preclinical), Leishmaniasis
TLR-7/8 (Resiquimod)	n/a	HSV, HCV (Phase II - 3M Pharmaceuticals)

Abbreviations: ETEC, Enterotoxigenic *Escherichia coli*; HBV, Hepatitis B virus; HCV, Hepatitis C virus; HPV, human papilloma virus; HSV, Herpes simplex virus.

# Imunomoduladores

- drogas capazes de normalizar uma resposta imunológica deficiente, inadequada ou hiperativa, restaurando o bom funcionamento dos mecanismos de defesa.
- em Medicina Veterinária o seu uso tem sido feito, principalmente, para aumentar a resistência às infecções e no tratamento de enfermidades imunossuppressoras ou de doenças infecciosas multifatoriais.

# Imunomoduladores

- Interferons
- Interleucinas
- Bacilo de Calmett-Guérin (BCG)
- Avridina
- Levamizol
- Própolis

# Imunomoduladores

- Exemplo 1

Macrófago não pode destruir as micobactérias no meio intracelular sem a presença do IFN $\gamma$ .

Na sua ausência, o macrófago servirá de reservatório para a micobactéria, disseminando a infecção.

Neste caso a presença do IFN $\gamma$  age como imunomodulador, corrigindo o defeito imunológico.

# Imunomoduladores

## - Exemplo 2

Meningite bacteriana é responsável por uma intensa resposta inflamatória do organismo, causando lesões neuronais, às vezes irreversíveis.

Uso de esteroide pode diminuir a intensidade da resposta inflamatória do hospedeiro.

# Imunomoduladores

- Levamizol (antihelmíntico)

Atua no sistema imunológico de maneira semelhante ao hormônio timopoietina, produzido no timo.

Estimula a ação de células T e a resposta aos抗ígenos, potencializa a produção de interferons e aumenta a atividade fagocitária de macrófagos e neutrófilos, estimula a citotoxicidade mediada por células, a produção de linfocinas e a função das células supressoras.

# Imunomoduladores

- Dexametasona

Fármaco corticosteróide fluorado, utilizado juntamente com a radioterapia com a finalidade de reduzir a ocorrência de edema induzido pela radiação em zonas críticas como o mediastino superior, o cérebro ou a medula

# Imunomoduladores

- **Fatores estimuladores de colônia**
  - diminuem período maturação  
(NEUPOGEN – FILGRASTIM )
  - estimulam a divisão e diferenciação celular  
(LEUKINE – SARGRAMOSTIM )
- **Interleucina II**
  - intensifica mitose, induzindo atividade celular.  
(PROLEUKIN – AUDESLEUCINA )

# Imunomoduladores

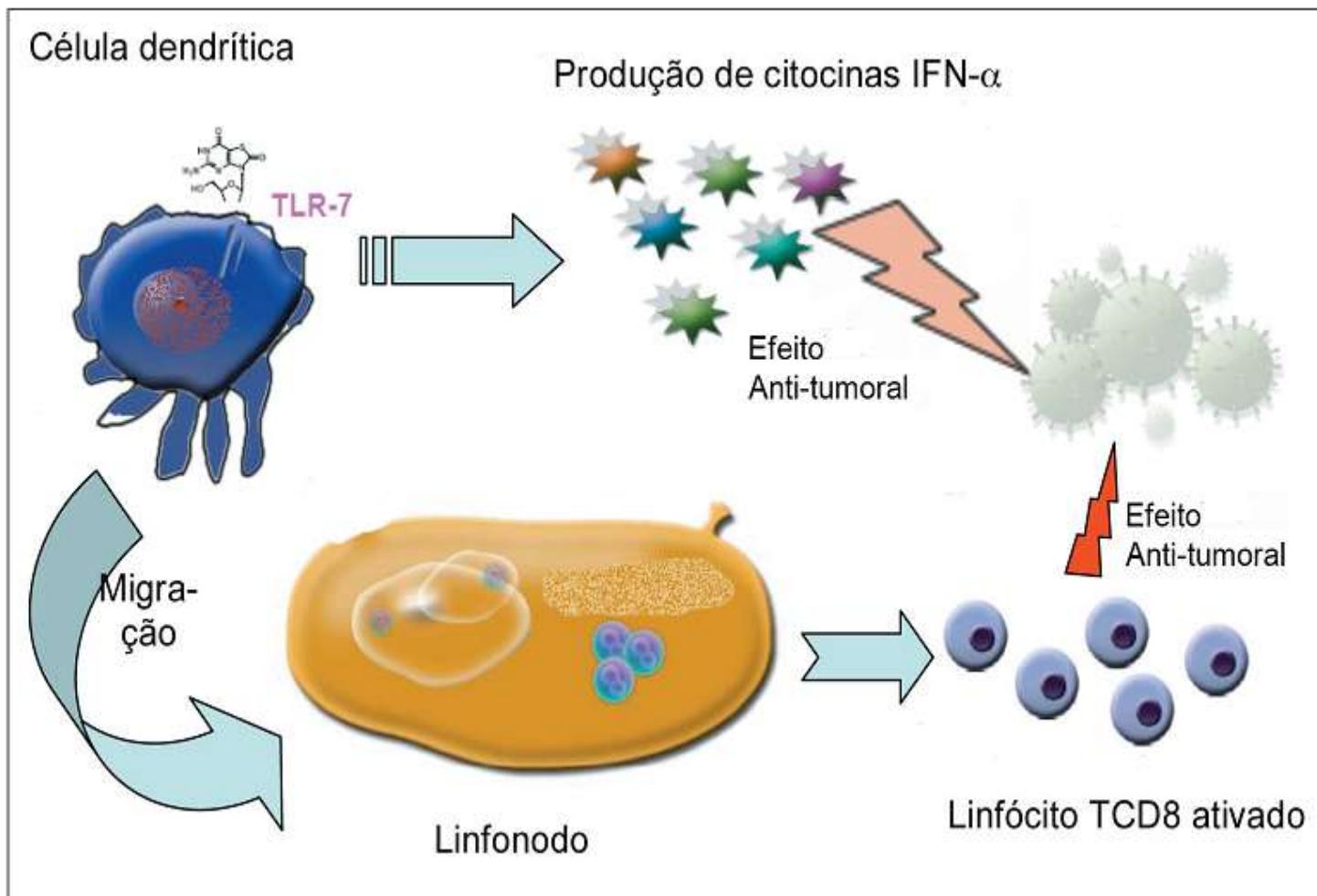
- INTERFERONS: ALFA 2-A (ROFERON-A)  
ALFA 2-B (INTRON - A)  
ALFA n-3 (ALFERON - N)

- inibem a penetração, a liberação a transcrição e tradução das proteínas virais;

## GAMA - 1b (ACTIMMUNE)

- intensa ativação fagocitária;
- intensifica a citotoxicidade celular;
- interage com IL-2, intensificando ação sobre células T

# Imunomoduladores



**FIGURA 4:** Mecanismos imunológicos de ação do imunomodulador imiquimod. O contato dessa substância com os receptores TLR7 nas células dendríticas estimulam a produção de citocinas. Algumas delas estimulam ação antitumoral com IFN- $\alpha$ . A ativação da célula dentrítica permite a ativação linfocitária no linfonodo regional e a subsequente produção de linfócitos, principalmente T CD8 antitumorais.

Perguntas?  
Muito obrigado!

