

POTENCIALIDADES DEL USO DE PROTEOLIPOSOMAS DE *Neisseria meningitidis* COMO ADYUVANTE PARA FORMULACIONES DE VACUNA

Hernández-Roche Jonatan, Pérez Martín Oliver, Lastre Pérez Miriam, Bracho Granado Gustavo, Rodríguez Rodríguez Tamara. Instituto Finlay, Ave 27, No. 19805. AP.16017. Cod. 11600, La Lisa, Ciudad Habana, Cuba. Fax: (53 7) 273-1218, (53 7) 273 1218, (53 7) 208-6075. e-mail: jhernandez@finlay.edu.cu

Palabras clave: Meningitis, proteoliposoma, aluminio.

Introducción: El uso de los adyuvantes en el campo de la vacunología es uno de los principales temas de investigación actualmente.¹ A pesar del incremento de la atención y el gran cúmulo de trabajo en el campo de los adyuvantes en la última década, hasta el momento sólo se cuentan con 5 adyuvantes licenciados para uso en humanos: el hidróxido de aluminio, los fosfatos de aluminio y calcio, el MF59 (emulsión aceite de escualeno y agua) y una variante de virosoma (liposomas con componentes virales). Esto está determinado por las limitaciones que presentan en su grado de toxicidad, pirogenicidad, estabilidad, degradación *in vivo* y rápida excreción.² El desarrollo de nuevos adyuvantes está siendo fuertemente influenciado por los grandes avances en el entendimiento de los mecanismos de funcionamiento del sistema inmune, que ha dirigido la investigación hacia la utilización de compuestos immunopotenciadores. Estos adyuvantes están basados fundamentalmente en compuestos bacterianos. El desarrollo a la par de sistemas de liberación más eficientes permite la obtención de vacunas más eficaces y seguras.¹ El objetivo de nuestro trabajo está basado en evaluar la potencialidad del Proteoliposoma de *N. meningitis* como adyuvante.

Metodología: En investigaciones realizadas en el Instituto Finlay se compara la capacidad de estimular la respuesta inmune y la actividad adyuvativa del Proteoliposomas, compuesto por las vesículas de membrana externa de *Neisseria meningitidis* B, tomando como referencia el gel de hidróxido de aluminio (AlOH₃). Para este estudio se utilizaron 20 ratones Balb/c, los cuales fueron inmunizados por vía intramuscular con 12 µg de proteínas por ratón en 2 dosis espaciadas 21 días de proteoliposomas y de la vacuna VA-MENGOC-BC®, la cual contiene gel de hidróxido de aluminio. Los animales fueron sangrados posterior a la 2^a dosis y las respuestas séricas de IgG anti-vesículas fueron evaluadas por ELISA. Por otra parte, la determinación de la función adyuvante se realizó incorporando ovalbúmina (Ova) como antígeno heterólogo en el Proteoliposoma y también incorporado al Al(OH)₃. La presencia de Ova fue comprobada por SDS-PAGE y su posterior Western Blot revelado con un polyclonal anti-Ova. Luego se determinó la presentación a TCD4⁺ y finalmente se determinó la respuesta de IgG anti Ova y sus subclases *in vivo*. Los resultados fueron procesados en el paquete estadístico SPSS sobre Windows V. 10.0.

Resultados y discusión: En la evaluación de la respuesta inmune no se observó diferencia significativa ($p<0.05$) entre las respuestas inducidas por el Proteoliposoma y la vacuna. En todos los casos se indujeron títulos significativos de IgG2a, con actividad opsonofagocítica y bactericidas, elevada producción de interferón gama (IFN- γ) cuando se utilizó el Proteoliposoma indicando la inducción de un patrón de anticuerpos IgG de tipo celular Th1. Estos resultados apoyan la utilidad de las vesículas de membrana externa como vacunas por sí solas. Contrariamente, la alúmina es un adyuvante inductor de respuestas inmunes preferentemente de tipo Th2, aspecto que constituye una limitante para formulaciones vacunales que requieren la inducción de respuestas tipo Th1. Por otra parte, la presencia de Ova fue comprobada por SDS-PAGE y su posterior evidencia por Western Blot, el cual demostró la presencia de una banda correspondiente a Ova dentro del perfil proteico del Proteoliposoma. Se demostró también la capacidad de liberar antígenos al citoplasma propiciando su presentación a linfocitos T CD8+ que son responsables de desarrollar la actividad CTL. Esta actividad es esencial en la eliminación de infecciones intracelulares y el cáncer. Es significativo señalar que en experimentos realizados el Proteoliposoma se transforma en una estructura coclear estable, cuyas propiedades más atractivas son la termo y ácido resistencia, además de conservar las mencionadas anteriormente, lo que permite su atractiva utilización en formulaciones vacunales.

Conclusiones: El Proteoliposoma induce una potente respuesta de tipo Th1 con elevados títulos de anticuerpos IgG y proliferación de células T. Se obtuvo evidencias de la capacidad de estas estructuras de propiciar la presentación de antígenos en moléculas de MCH I lo cual además, pudiera sustentar el uso de estas estructuras como adyuvantes para inducir respuestas de tipo CTL y lograr respuestas inmunes apropiadas hacia epítopos vacunales protectores.

REFERENCIAS

- WHO. *Adyuvants: releve épidémiologique*. Hebdomadaire. 2004; No.29. p. 200-269.
- Lindblad EB. Aluminium adjuvants—in retrospect and prospect. *Vaccine* 2004; 22: 3658-3668.

