

The Jordan Report

20th Anniversary

Accelerated Development of Vaccines 2002



U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES
National Institutes of Health



National Institute of Allergy and Infectious Diseases

Tecnologia das Vacinas

Margaret A. Liu, M.D.;

Jeffrey B. Ulmer, Ph.D.;

e Derek O'Hagan, Ph.D.

INTRODUÇÃO

Apesar do êxito no desenvolvimento de muitas vacinas, não tem sido factível em muitos casos simplesmente usar os mesmos caminhos para fazer novas vacinas. Isto tem sido devido a vários fatores, biológicos e sociais. Três principais razões conduzem o desenvolvimento de novas tecnologias para vacinas:

1. Novas tecnologias são necessárias para gerar imunidade mais ampla e mais forte não efetivamente induzida pelos tipos anteriores de vacinas.
2. À medida que os padrões reguladores e de segurança têm aumentado, as exigências para a segurança e processos de fabricação têm aumentado, e assim tornando certas vacinas antigas (como a contra pertussis de célula inteira ou a vacina contra encefalite japonesa feita de cérebro de camundongo) menos aceitável.
3. Para tornar a vacinação mais aceitável da perspectiva do paciente e mais factível globalmente, novas tecnologias são necessárias para reduzir o uso de agulhas ou para facilitar a disponibilização de vacinas a locais com carência de profissionais com prática e equipamento apropriado.

Como exemplo da necessidade de gerar imunidade mais ampla, consideremos a vacina contra a influenza. Esta vacina tem que ser refeita a cada ano porque as alterações nas cepas circulantes tornam a vacina viral inativada para indução de anticorpo potencialmente inefetiva contra as novas cepas. O mau pareamento das cepas circulantes com aquelas usadas para a vacina, ou a emergência de novas cepas inesperadas no meio da estação resulta em doença mesmo em indivíduos vacinados. Em contraste com as proteínas neuraminidase e hemaglutininas exteriores altamente alteráveis contra as quais a resposta de anticorpo da vacina inativada é direcionada, a nucleoproteína interna e a proteína matriz são mais altamente conservadas entre as cepas e mesmo entre subtipos virais. Se uma vacina pudesse ser feita que gerasse uma resposta contra as partes conservadas do vírus [como uma resposta de linfócito T citotóxico (LTC)], poderíamos potencialmente ter uma vacina que protegeria contra múltiplas cepas ou entre subtipos.

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) fornece outro exemplo de razão lógica para novas tecnologias. As versões atenuadas ou inativadas de HIV são consideradas por muitos como de muito risco para usar como uma vacina. Diferente de outras viroses para as quais as vacinas têm sido efetivamente feitas usando versões enfraquecidas ou inativadas, o HIV se integra no genoma da pessoa infectada levando a infecção permanente, e é, até agora, incurável e eventualmente fatal.

Assim, se uma cepa vacinal, embora enfraquecida, fosse causar a doença em um indivíduo imunocomprometido ou fosse se reverter à virulência, ou se uma vacina inativada fosse conter traços de vírus vivo, a vacina poderia causar infecção e doença. Embora isto raramente aconteça com certas das vacinas existentes, como a vacina contra a pólio, a

doença resultante não é crônica, nem fatal tão freqüentemente. Mesmo para as doenças que não são tão letais como o HIV, os resultados raros porém adversos têm se tornado menos aceitáveis. Assim, por exemplo, após as ocorrências clínicas de intussuscepção intestinal foram observadas após a imunização com a então vacina recentemente licenciada contra rotavírus (com um excesso de risco de cerca de 1:10.000), a vacina foi retirada do mercado em 1999.

Ironicamente, a pesquisa e desenvolvimento de novos meios de disponibilização de vacina têm se tornado necessárias para o sucesso das vacinas. Atualmente, os lactentes recebem múltiplas vacinações para um número crescente de doenças: sarampo, caxumba, rubéola, difteria, tétano, pertussis, pólio, hepatite B, hemophilus influenzae B, varicela, pneumococo e com freqüência a hepatite A. Este número crescente de injeções tem alimentado o direcionamento para o desenvolvimento de vacinas combinadas e sistemas de liberação alternativos destinados a reduzir o número de injeções e para manter ou aumentar a potência de respostas contra cada componente.

ADJUVANTES DE VACINAS E SISTEMAS DE DISTRIBUIÇÃO

Um caminho para melhorar o desempenho de vacinas envolve o uso de um gama diversa de sistemas de distribuição de vacinas. Geralmente, os termos adjuvantes e sistema de liberação têm sido usado de forma intercambiável em relação a vacinas, embora em certas situações uma distinção clara possa ser feita. Os adjuvantes imunológicos foram originalmente descritos como substâncias usadas em combinação com um antígeno específico que produzia uma resposta imunológica mais robusta que o antígeno isolado. Esta definição ampla engloba uma gama muito ampla de materiais, incluindo inúmeros sistemas particulados de liberação (p. ex.: emulsões, lipossomos, e micropartículas), cujo principal modo de ação é distribuir os antígenos nas células chaves e/ou locais que são responsáveis pela indução de respostas imunológicas. Em contraste, certas entidades atuam diretamente nas células do sistema imunológico para aumentar ou modular as respostas imunológicas contra antígenos co-administrados.

Adjuvantes

Os adjuvantes são potentes e, em muitos casos, componentes necessários para a efetividade das vacinas. Os adjuvantes convencionais e experimentais são revisados em detalhes por Vogel e Delman. O poder dos adjuvantes experimentais, como MPL, Quil A, está bem documentado em modelos animais, nenhum ainda está aprovado para uso em humanos. Isto é devido, em parte, a efeitos colaterais potenciais, porém também ao pouco entendimento de seus mecanismos de ação e aos discernimentos apenas recentes na sinalização do sistema imunológico natural. Há muito se sabe que a exposição a patógenos (ou estresse) resulta em uma produção rápida (em minutos) de citocinas pró-inflamatórias (p. ex.: fator A de necrose de tumor), conseqüentemente fornecendo uma primeira linha de defesa antes do início da resposta imunológica adaptadora. Isto é manifestado através da ação de citocinas antivirais e antibacterianas, recrutamento e ativação de macrófagos para exterminar os patógenos intracelulares e facilitação da apresentação de antígeno resultando na iniciação das respostas imunológicas específicas ao antígeno. Recentemente, muito se tem aprendido sobre os receptores específicos envolvidos no reconhecimento dos padrões associados (PAMPs) e a seqüência de sinal de transdução em forma de cascata, levando a regulação de expressão de citocina. Além disso, dados recentes têm implicado este caminho no

direcionamento da ativação do tipo de resposta imunológica adaptadora [ou seja, T auxiliares 1 verso resposta Th2 de célula T auxiliar]. Um desses PAMPs, DNA contendo CpG imunoestimulatório derivado de invertebrados, tem gerado muito estímulo. Os sinais CpG através de TLR9, induz uma resposta imunoestimulatória potente em células *in vitro*, e tem efeitos adjuvantes fortes sobre as vacinas baseadas em proteínas em modelos animais. Dados preliminares de experimentos clínicos humanos se mostram promissores.

Esses dados fornecem evidência para um vínculo direto entre as respostas imunológicas naturais e de adaptação e que o uso de adjuvantes pode facilitar e potencializar este vínculo. Além disso, o entendimento crescente do sistema imunológico natural agora fornece a base para a descoberta de adjuvantes com base lógica. Por outro lado, baseado no conhecimento de ligamentos específicos (PAMPs) e receptores (TRLs) envolvidos na transdução do sinal imunológico, pode ser possível desenhar racionalmente os compostos ativos para o adjuvante. Por outro lado, a existência de ensaios baseados em célula e a atividade razoável correlata *in vitro* correlativos da atividade adjuvante *in vivo* (ou seja, produção de citocina) oferece a possibilidade de triagem de grandes números de compostos sem considerar suas estruturas. Esses caminhos complementares devem produzir novos compostos potentes que aumentem a efetividade das vacinas. Embora os adjuvantes imunológicos tenham persistentemente provocado classificações fáceis, eles são com frequência prontamente identificáveis como componentes de bactérias e vírus, que são reconhecidos como sinais perigosos pelos receptores nas células imunológicas naturais. Não obstante, os sistemas de liberação são com frequência usados para direcionar os adjuvantes para as células chaves para realçar suas potências. Conseqüentemente, para um efeito adjuvante ideal, está se tornando muito comum o uso de sistemas de liberação para antígeno e adjuvantes nas mesmas células imunocompetentes.

Após a descoberta de alguns adjuvantes muito potentes nos anos recentes, têm ocorrido preocupações de que esses agentes poderiam ativar a imunidade a esses, numa extensão que as condições autoimunes poderiam ser desencadeadas. Este é um conceito razoável para adjuvantes que imitam componentes de microrganismos patógenos e fornecem sinais potentes pró-inflamatórios. Entretanto, a cronometragem do tempo e localização do estímulo pró-inflamatório pode se mostrar importante. Neste contexto, a limitação da distribuição sistêmica de adjuvantes e a focalização de seus efeitos especificamente nas células chaves é provável que seja benéfico. Conseqüentemente, uma importante contribuição dos sistemas de distribuição particulados pode ser limitar a toxicidade de adjuvantes de nova geração pela limitação de sua distribuição *in vivo*. Os problemas práticos adicionais que são importantes para o desenvolvimento de adjuvantes e sistemas de liberação incluem a biodegradabilidade, estabilidade, comodidade de fabricação, custo e aplicabilidade a uma ampla gama de vacinas. De modo ideal, para a comodidade de administração e aceitação do paciente, o adjuvante deve permitir que a vacina seja administrada por uma via mucosa, preferivelmente oral.

Sistemas de Liberação

Embora os mecanismos precisos de ação da maior parte dos adjuvantes ainda permaneçam apenas parcialmente entendidos, se o conceito geográfico de reatividade imunológica for aceito, no qual os antígenos que não alcançam os linfonodos locais não induzem respostas, torna-se fácil propor interpretações mecânicas dos efeitos importantes dos adjuvantes, os quais trabalham principalmente como sistemas de liberação. Os sistemas de liberação

podem funcionar para melhorar o acesso do antígeno aos linfonodos de inúmeras maneiras: Aumentar a infiltração celular no local da injeção de forma que mais células estejam presentes para absorver o antígeno, promover diretamente o entendimento do antígeno nas células que apresentam o antígeno (APCs) através da ativação da fagocitose, ou liberar diretamente o antígeno no linfonodo local saindo a partir do local da injeção e movê-lo para os linfáticos. Os APCs mais importantes envolvidos na captura do antígeno são considerados como células dendríticas (DCs), as quais têm a habilidade exclusiva de apresentar o antígeno às células T simples nos linfonodos. A imunização com inúmeros sistemas de liberação, incluindo emulsões, micropartículas, lipossomos tem se mostrado capaz de resultar no recrutamento de números significativos de APCs no local da injeção, os quais são então capazes de absorver o sistema de liberação, paralelo com antígenos e adjuvantes associados anterior ao tráfego para os linfonodos locais. Os adjuvantes particulados (p. ex.: emulsões, micropartículas, lipossomos, virossomos e partículas semelhantes a vírus) têm dimensões comparáveis aos patógenos que o sistema imunológico desenvolveu para o combate. Conseqüentemente, essas partículas são normalmente absorvidas eficientemente pelas células fagocíticas do sistema imunológico natural e funcionam principalmente para liberar antígeno associado nessas células. Os adjuvantes podem também ser incluídos no sistema de liberação particulado para maior realce do nível de resposta ou para focalizar a resposta através de um caminho desejado (p. ex.: Th1 ou Th2).

Em 1997, um óleo em microemulsão aquosa (MF59) foi introduzido no mercado na Itália como um adjuvante para a vacina contra influenza (Fluad). O MF59 tem se mostrado seguro e bem tolerado em inúmeros experimentos clínicos envolvendo uma ampla gama de vacinas experimentais. As vacinas lipossômicas, baseadas em fosfolipídios e proteínas de membrana viral do vírus influenza (virossomos), também têm estado no mercado na Europa por vários anos e têm melhorado a potência das vacinas tradicionais contra influenza. Os iscomes, que compreendem a saponina adjuvante Quil A, incorporadas a partículas lipídicas de colesterol, fosfolipídeos, e antígenos de membrana viral têm sido avaliados extensivamente em estudos pré-clínicos e clínicos. Embora os iscomes sejam considerados o caminho ideal para a indução de respostas CTL usando antígenos de proteína em modelos pré-clínicos, sua potência e tolerabilidade continuam a ser mais estabelecida em indivíduos humanos. Em anos recentes, as micropartículas construídas de polímeros biodegradáveis têm se mostrados consideravelmente promissores como sistemas de liberação de antígeno, particularmente para as vacinas de DNA. As micropartículas também oferecem oportunidades únicas para o desenvolvimento de vacinas de dose única devido à liberação controlada de antígenos capturados. Entretanto, o progresso tem sido lento nesta área, devido a problemas de instabilidade dos antígenos capturados e devido a ineficiências de microencapsulação para muitos antígenos.

Sistemas de Liberação de Antígeno para Imunização por via Mucosa

Embora a maioria das vacinas tenha sido tradicionalmente administrada por via intramuscular ou subcutânea, a administração mucosa de vacinas oferece inúmeras vantagens importantes, incluindo administração mais fácil, efeitos adversos reduzidos e o potencial para reforço freqüente. Além disso, a imunização local induz imunidade mucosa no local onde muitos patógenos inicialmente estabelecem infecção do hospedeiro. A imunização oral seria particularmente vantajosa em comunidades isoladas onde o acesso a

profissionais da saúde é difícil. Além do mais a imunização mucosa evitaria o problema potencial de infecção devido à reutilização de agulhas. Várias vacinas administradas por via oral, as quais são baseadas em organismos vivos atenuados, incluindo a contra a pólio, *Vibrio cholerae*, e *Salmonella typhi*, estão comercialmente disponíveis. Além disso, uma ampla gama de caminhos está atualmente sendo avaliada para liberação mucosa de vacinas, incluindo muitos caminhos envolvendo adjuvantes e sistemas de liberação não vivos.

A via mais atrativa para a imunização mucosa é a oral devido a comodidade e aceitabilidade da administração através dessa via. Entretanto, devido a presença de baixa acidez no estômago, uma ampla faixa de enzimas digestivos no intestino e a camada mucosa protetora que limita o acesso ao epitélio mucoso, a imunização oral tem se provado extremamente difícil com antígenos mortos. Entretanto, novos sistemas de liberação e adjuvantes podem ser usados para realçar significativamente as respostas após a imunização oral.

A encapsulação de antígenos em sistemas de liberação particulados, incluindo os lipossomos, micropartículas e iscomes, tem sido extensivamente avaliados para a liberação mucosa de vacinas. Entretanto, todos esses caminhos compartilham algumas limitações graves. O entendimento do sistema de liberação no tecido linfóide associado a mucosa é frequentemente muito ineficiente, resultando na maioria das formulações em não alcançarem seu local de ação pretendido. Este problema é mais aparente após a liberação oral, necessitando altas doses de imunização oral, porém é também um problema após a imunização intranasal. Além disso, muitos dos sistemas de liberação particulados usados não têm estabilidade suficiente para se opor ao ambiente desafiante no intestino, incluindo o baixo pH, enzimas gástricos, os sais biliares, etc. Não obstante, as micropartículas poliméricas podem ser especialmente desenhadas para sobreviver ao baixo pH do estômago e para liberar o antígeno capturado dentro da vizinhança do tecido linfóide local. Conseqüentemente, as assim denominadas formulações revestidas entéricas têm alguns atributos de uma formulação desejável para a liberação oral. O uso de formulações entéricas revestidas pode também superar o problema de levantamento limitado de partículas no tecido linfóide considerando que essas formulações não são desenhados para carrear, ao invés contrário, antígeno é liberado localmente para carreamento direto. Entretanto, a maioria das vacinas baseadas em DNA e proteína são improváveis de serem suficientemente imunogênicas para induzir respostas imunológicas potentes mesmo nessa situação e os componentes de formulação adicional podem se provar necessários para proteger os antígenos contra a degradação enzimática ou para promover o carreamento. Respostas mais potentes podem ser esperadas se o antígeno puder se ligar diretamente ao epitélio e carrear seu próprio potencial adjuvante natural (p. ex.: toxinas bacterianas secretadas, particularmente enterotoxinas que sofreram mutação). Em geral, os desafios significativos para o desenvolvimento de vacinas orais efetivas usando sistemas de liberação não replicativos não devem ser subestimados, e o sucesso em modelos animais menores usando altas doses de antígeno não devem ser superinterpretados. Como um caminho alternativo, a imunização intranasal oferece muitas vantagens, considerando que esta via não expõe os antígenos a faixa de enzimas secretados e baixo pH do intestino e oferece fácil auto-administração com uma variedade de dispositivos comercialmente disponíveis. Além disso, em muitas ocasiões, as respostas imunológicas potentes têm sido induzidas em inúmeras espécies diferentes após a imunização intranasal com sistemas de

liberação particulados usando doses significativamente menores que aquelas usadas para imunização oral.

Dispositivos de Liberação de Vacina

Em seu senso mais amplo, o conceito de sistemas de liberação de vacina pode ser ampliado para incluir uma gama diversa de dispositivos e sistemas de liberação física que são desenhados para melhorar a potência das vacinas ou para permitir a imunização usando novas vias não invasivas. Os caminhos que têm sido avaliados na clínica com dados estimulantes incluem a caminho do “tiro” de gene, o qual propõe pérolas duradouras com DNA na epiderme; dispositivos desenhados para lançar vacinas poderosas na pele através do uso do gás hélio; e emplastos de vacina, os quais são topicamente aplicados à pele para induzir imunização. Desses caminhos, a imunização tópica é a única que causa maior excitação considerando que oferece a oportunidade de evitar agulhas usando tecnologia que já está bem estabelecida para a liberação de drogas. Não obstante, este caminho enfrenta desafios muito significativos para aceitação da via, particularmente como um esquema de imunização primária. Quando este caminho foi primeiro descrito, houve uma grande quantidade de ceticismo sobre se ou não os dados provariam reprodutibilidade, amplamente porque as observações foram tão surpreendentes e contrárias ao que foi observado anteriormente. Entretanto, a medida que este caminho tem avançado nos testes clínicos iniciais, tem se tornado mais amplamente aceitável pela comunidade. Os desafios que enfrentam este caminho não deveriam ser subestimados, porque, até aqui, as respostas imunológicas relativamente baixas têm sido induzidas com altas doses de imunógenos potentes. Não obstante, a tecnologia ainda está em seus primeiros estágios de desenvolvimento, e as melhorias provavelmente resultarão em aumentos significativos na potência, talvez, resultando na habilidade deste caminho em ser usado como uma vacina de reforço efetiva em indivíduos bem preparados.

Vacinas Baseadas em Genes

À medida que o entendimento dos processos celulares e moleculares envolvidos na geração de ramos diferentes do sistema imunológico aumentou durante as duas últimas décadas, novos caminhos para imunidade gerada seletivamente têm sido tentados. A habilidade de fazer as proteínas recombinantes expandiu os meios para visar um simples antígeno para uma vacina além da simples purificação de proteínas particulares ou polissacarídeos do próprio patógeno. Uma área de ação significativa tem sido o desenvolvimento de vacinas desenhadas para CTL gerada especificamente, como também tipos específicos de respostas de célula T auxiliar.

Os CTLs há muito têm sido considerados importantes na resposta imunológica do hospedeiro contra infecções por vírus, bactérias intracelulares e parasitas, como também contra o câncer. Dentro dos últimos 20 anos ou mais, se tornou claro que um antígeno geralmente é necessário estar presente no citoplasma de um APC para que os epitópos derivados dele sejam capazes de se associar com moléculas da classe I de complexo de maior histocompatibilidade (MHC) para então induzir uma resposta CTL. Reciprocamente, se uma proteína estiver exógena a uma célula, usualmente não será carregada para dentro deste caminho de processamento classe I de MHC, e conseqüentemente não resulta geralmente na indução de CTL, porém resulta na produção de células CTL. Este conhecimento tem auxiliado a orientar ações para desenhar vacinas que gerarão CTL. Por

exemplo, esforços têm sido feitos para introduzir peptídeos derivados dos antígenos diretamente nas moléculas classe I de MHC ou para liberar a codificação genética dos antígenos nas células para que as células produzam então as proteínas de modo endógeno no citoplasma. Muitos sistemas diferentes de liberação estão desta forma sob desenvolvimento que liberem a codificação de genes de vários antígenos, ao invés de simplesmente liberar os próprios antígenos protéicos .

A infecção por vírus vivos resultará em suas proteínas serem feitas no meio intracelular enquanto elas se replicam, com frequência levando a indução de CTL. Entretanto, devido as preocupações sobre a segurança de certos vírus vivos mesmo se atenuados, ações têm sido feitas para usar organismos não patogênicos de um organismo diferente). Por exemplo, a vaccinia modificada ou adenovírus têm sido alterados para carrear os genes para vários patógenos, como o HIV, geralmente codificando para um ou poucos antígenos. Um HIV replicativo intacto não poderia ser feito, porém simplesmente antígenos específicos para induzir uma resposta que seria potencialmente protetora. A bactéria também tem sido modificada para codificar um gene heterólogo [por exemplo, o Bacilo de Calmette-Guerin (BCG)] ou para liberar a codificação plasmídica de um antígeno protéico. Como final, as versões atenuadas de patógenos de mucosa como a Shigella ou Salmonela oferecem a possibilidade de vacinas liberadas por via oral. Esses sistemas vetoriais têm limitação potencial de induzir uma resposta imunológica contra eles próprios, possivelmente limitando seu uso repetido para reforços ou outras vacinas. Similarmente, a exposição prévia, como ao adenovírus, pode significar que muitas pessoas já tenham uma resposta imunológica que possa limitar a efetividade da vacina.

Assim, um outro caminho tem sido o uso de vacinas de DNA, simples plasmídios de DNA codificando o antígeno desejado. Os plasmídios têm as vantagens de serem mais simples de manipular e fabricar que os vetores virais ou bacterianos e de não terem o risco potencial de causar doença pela reversão ou outro modo. Além disso, as vacinas de DNA não têm a mesma limitação de imunidade antivector que os sistemas vetoriais heterólogos. Entretanto, as vacinas de DNA têm a habilidade de induzir a resposta imunológica natural que é separada da proteína codificada. As vacinas de DNA consistem de DNA bacteriano (plasmídico) e contêm seqüências que são reconhecidas pelos sistemas imunológicos dos mamíferos como sendo estranhas (motivos CpG), que resulta na ativação da imunidade natural. Assim, isto é uma propriedade que é intrínseca as seqüências de genes que compõem a vacina de DNA ligeiramente separado do antígeno codificado pela vacina. Atualmente, testes clínicos iniciais de vacinas de DNA têm mostrado potência limitada, inúmeras vacinas de DNA de segunda geração estão em desenvolvimento usando vários sistemas e dispositivos de liberação. Além disso, um novo caminho para a imunização, denominado vacinação de modalidade mista ou primo-reforço, está sendo avaliada. Envolve uma vacinação inicial que usa um tipo de vacina, então o reforço é feito com um tipo diferente de vacina. Por exemplo, resultados pré-clínicos promissores têm sido obtidos imunizando primeiro com DNA e após reforçando com uma vaccinia ou vetor de adenovírus codificando o mesmo antígeno, ou com uma versão protéica recombinante do mesmo antígeno que codificou a vacina de DNA.

SUMÁRIO

Durante os últimos 20 anos, as tecnologias aplicadas ao desenvolvimento de vacina têm radicalmente mudado do uso do próprio patógeno para o aproveitamento dos

Traduzido por: Edson Alves de Moura Filho

E-mail: edson.moura@saude.gov.br

Em: 06/06/2003

desenvolvimentos de uma variedade de disciplinas científicas que usam novas formas de antígenos (como a codificação genética de um antígeno), novos adjuvantes além do alúmen, e novos sistemas de liberação. Como resultado, numerosas vacinas estão em desenvolvimento com a meta de induzir novos tipos ou formas específicas de imunidade, usando novas vias de liberação, fornecendo segurança aumentada se necessário, aumentando a estabilidade e baixando o custo. Enquanto muito permanece para ser concluído antes de algumas dessas tecnologias se tornarem realidades, o ritmo de desenvolvimento de novas vacinas durante os últimos 20 anos tem sido notável.

Leitura Sugerida

Amara, R. R., et al. (2001). Control of a mucosal challenge and prevention of AIDS by a multiprotein DNA/MVA vaccine. *Science*, 292(5514), 69-74.

Barouch, D. H., et al. (2000). Control of viremia and prevention of clinical AIDS in rhesus monkeys by cytokine-augmented DNA vaccination. *Science*, 290(5491), 486-492.

Barr, I. G., Sjolander, A., & Cox, J. C. (1998). and other saponin based adjuvants. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 32, 247-271.

Bendelac, A., & Medzhitov, R. (2002). Adjuvants of immunity: Harnessing innate immunity to promote adaptive immunity. *Journal of Experimental Medicine*, 195(5), F19-F23.

Calarota, S. A., et al. (2001). Gene combination raises broad human immunodeficiency virus-specific cytotoxicity. *Human Gene Therapy*, 12(13), 1623-1637.

Dubensky, T. W., Jr., Liu, M. A., & Ulmer, J. B. (2000). Delivery systems for gene-based vaccines. *Molecular Medicine* 6(9), 723-732.

Edelman, R. (1997). Adjuvants for the future. In M. M. Levine, G.

C. Woodrow, J. B. Kaper, & G. S. Cobon (Eds.), *New generation vaccines* (pp. 173-192). New York: Marcel Dekker, Inc.

Krieg, A. M., & Davis, H. L. (2001). Enhancing vaccines with immune stimulatory CpG DNA. *Current Opinion in Molecular Therapeutics*, 3(1), 15-24.

Le, T. P., et al. (2000). Safety, tolerability and humoral immune responses after intramuscular administration of a malaria DNA vaccine to healthy adult volunteers. *Vaccine*, 18(18), 1893-1901.

Levine, M. M., & Dougan, G. (1998). Optimism over vaccines administered via mucosal surfaces. *Lancet*, 351, 1375-1376.

Medina, E., & Guzman, C. A. (2001). Use of live bacterial vaccine vectors for antigen delivery: Potential and limitations. *Vaccine*, 19(13-14), 1573-1580.

Michalek, S. M., O'Hagan, D. T., Gould-Fogerite, S., et al. (1999). Antigen delivery systems: Nonliving microparticles, liposomes, cochleates, and . In P. L. Ogra, J. Mestecky, M. E. Lamm, W. Strober, J. Bienenstock, & J. R. McGhee (Eds.), *Mucosal immunology* (2nd ed., pp. 759-778). San Diego: Academic Press.

O'Hagan, D., Singh, M., Ugozzoli, M., et al. (2001). Induction of potent immune responses by cationic microparticles with adsorbed HIV DNA vaccines. *Journal of Virology*, 75(19), 9037-9043.

O'Hagan, D. T., MacKichan, M. L., & Singh, M. (2001). Recent developments in adjuvants for vaccines against infectious diseases. *Biomolecular Engineering*, 18(3), 69-85.

Roy, M. J., et al. (2000). Induction of antigen-specific CD8+ T cells, T helper cells, and protective levels of antibody in humans by particle-mediated administration of a hepatitis B virus DNA vaccine. *Vaccine*, 19(7-8), 764-778.

Ulmer, J. B., et al. (1993). Heterologous protection against influenza by injection of DNA encoding a viral protein. *Science*, 259(5102), 1745-1749.

Vogel, F. R., & Powell, M. F. (1995). A compendium of vaccine adjuvants and excipients. In M. F. Powell & M. J. Newman (Eds.), *Vaccine design: The subunit and adjuvant approach* (pp. 141-228). New York: Plenum Press.

Widera, G., et al. (2000). Increased DNA vaccine delivery and immunogenicity by electroporation in vivo. *Journal of Immunology*, 164(9), 4635-4640.

Tabela 1: Sinalização Mediada por Receptor do Sistema Imunológico Natural

Padrão Molecular Associado ao Patógeno (PAMP) Receptor Semelhante ao Sinal (TLR)	
Lipopeptides, proteoglycan, yeast cell wall	TLR2
dsRNA	TLR3
Lipopolysaccharide (LPS), heat shock protein (HSP), respiratory syncytial virus (RSV)	TLR4
Bacterial flagellin	TLR5
Zymosan	TLR6
Imiquimod	TLR7
CpG	TLR9
Certas ligações de patógenos (PAMPs) são consideradas estimulantes do sistema imunológico natural através da transdução do sinal mediado por receptor levando a uma regulação da produção de citocina.	

Biografia do Autor



Dr. Liu é Vice Presidente de Transgene e Consultora da Fundação Bill & Melinda Gates. Ela também é membro do Conselho do Instituto Nacional de Alergia e Doenças Infecciosas (NIAID), presidente do Grupo Consultivo Científico do Instituto Internacional de Vacina em Seul, membro do Conselho de Diretores da Sociedade Americana de Terapia Genética, e membro do Conselho Consultivo de Ciência da Fundação Pediátrica de AIDS Elizabeth Glaser. Foi eleita membro da Sociedade Americana de Investigação Clínica e associada da Sociedade de Medicina Molecular.

Devido ao seu trabalho pioneiro na área de vacinas de DNA, Dr. Liu recebeu a Rose Lectureship no Columbia University College of Physicians and Surgeons (1993); o Inaugural Saul Krugman Memorial Lecture na New York University (1996); o M. R. Hilleman Lecture no Children's Hospital of Pennsylvania (1997); o Walter F. Enz Memorial Lecture Series no the University of Kansas (1999); e o Oon International Fellowship no

Preventive Medicine da Cambridge University, Inglaterra (2000). Além disso, ela tem falado na Karolinska Research Lecture Series por solicitação do comitê Nobel (2001).

Biografia do Autor



Desde 1995, Dr. O'Hagan está trabalhando na Chiron Corporation em Emeryville, CA. Ele é Diretor de Adjuvantes de Vacina e Sistemas de Liberação, uma posição que ele tem mantido desde 2000. Dr. O'Hagan tem feito inúmeras contribuições pioneiras no uso de sistemas de liberação mucosa e sistêmica para uma ampla gama de vacinas, incluindo as vacinas conjugadas polissacarídicas, de DNA, peptídicas, e de proteínas.

Dr. O'Hagan foi agraciado com a Conference Science Medal da Royal Pharmaceutical Society da Great Britain em 1997 e o Young Investigator Research Achievement Award da Controlled Release Society em 1999. É membro do Board of Scientific Advisors da Controlled Release Society.

Dr. O'Hagan está no editorial de *Vaccine*, *Pharmaceutical Research*, e *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*. Publicou mais de 80 trabalhos, 15 revsões, 12 capítulos de livro, e 2 livros. Além disso, ele tem arquivado mais de 25 patentes.

Biografia do Autor



Após concluir seu treinamento pós-doutorado no laboratório do Nobel, Dr. George Palade da Yale University School of Medicine, Dr. Ulmer passou 8 anos no Merck Research Laboratories onde realizou trabalho original sobre vacinas de DNA. Desde 1988, Dr. Ulmer está na Chiron Corporation onde ele é *Jeffrey B. Ulmer, Ph.D.* Diretor Superior de Pesquisa de Vacinas e é responsável por tecnologias de adjuvantes e DNA e proteína para vacinas.

Dr. Ulmer está no editorial do *Expert Opinion on Biological Therapy* e tem publicado mais de 100 trabalhos científicos no campo da bioquímica, biologia celular, imunologia e vacinas.

Este documento traduzido trata-se de uma contribuição da **Coordenação Geral do Programa Nacional de Imunizações – CGPNI/CENEPI/FUNASA/MS**, em parceria com a **Organização Pan Americana de Saúde – OPAS** - Escritório Regional da **Organização Mundial de Saúde para a Região das Américas** - Brasil, a todos que se dedicam às ações de imunizações.