ادجوانت ها
(Adjuvants)

دکتر محسن تفقدی، دکتر محمودرضا جعفری، دکتر سید ابوالقاسم سجادی

گروه فارماسوتیکس دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

■ مقدمه

واژه ادجوانت از واژه لاتین Adjuvare به معنی کمک کردن گرفته شده است. ادجوانت ها موادی هستند که به همراه یک آنتی‌ژن خاص استفاده می‌شوند و باعث ایجاد ایمنی بیشتر در مقایسه با آنتی‌ژن تنها می‌شوند.

علاوه بر استفاده از ادجوانت ها در واکسن های معمول، یکی از موارد جدیدتر نیاز به ادجوانت ها در واکسن های ساب یونیت است. پیشرفت های ایجاد شده در بیوتکنولوژی و تهیه پپتیدها و پروتیین ها به روش مهندسی ژنتیک منجر به روش های جدیدی برای تهیه واکسن های ساب یونیت شده است که از طریق تهیه پپتیدهای نوترکیب حاوی اپی‌توپ های آنتی‌ژنیک قادرند علیه ارگانیسم های عفونت‌زا مثل ویروس ها و انگل ها ایجاد ایمنی حفاظتی نمایند. واکسن های ساب یونیت در مقایسه با واکسن های معمولی دارای مزایای زیادی هستند که از جمله می‌توان به موارد زیر اشاره کرد: از نظر شیمیایی شناخته شده هستند، می‌توان به صورت تکرارپذیر آن ها را تهیه کرد و تولید آن ها معمولا هزینه زیادی ندارد. اما یک مشکل کلی این واکسن های ساب یونیت ایمنی‌زایی کم آن هاست که در نتیجه در تجویز آن ها استفاده از ادجوانت های قوی یا سیستم های واکسن رسانی موثر، الزامی است. استفاده از ادجوانت ها در انسان به خاطر عوارض جانبی احتمالی محدود است. ادجوانت های فروند (Freund) در سیستم های آزمایشگاهی اثر ادجوانتی قوی دارند اما استفاده عمومی آن ها حتی در دامپزشکی مجاز نیست. نمک های آلومینیوم (آلوم) تنها

ادجوانت هایی هستند که در حال حاضر به طور گسترده در انسان استفاده می شوند، ولی عیب این ادجوانت ها عدم توانایی آن ها در ایجاد ایمنی سلولی است. از جمله معایب دیگر آلوم می توان به عدم جذب بسیاری از پپتیدهای صناعی بر سطح آلوم، ایجاد گرانولوما و التهاب در محل تزریق و ایجاد عیار بالایی از IgE (ImmunoglobinE) اشاره کرد. این معایب آلوم مانع می شود که بتوان آن را به عنوان یک ادجوانت ایده آل در انسان در نظر گرفت. به این دلیل نیاز به یک سیستم آنتی ژن رسانی حاوی ادجوانت قوی برای ایجاد واکسن های تک دوز و ساب یونیت به وضوح حس می شود.

■ نحوه اثر ادجوانت ها

□ تعدیل سیستم ایمنی (Immunomodulation)

این واژه اشاره به توانایی بسیاری از ادجوانت ها در تغییر شبکه سایتوکاین(cytokine) دارد. در مجموع، تنها ادجوانت های تعدیل کننده ایمنی هستند که اگر در زمان یا جای جداگانه ای از ایمونوژن تجویز شوند، اثر ادجوانتی اعمال خواهند کرد. تعدیل ایمنی ممکن است منجر به بالا بردن فعالیت کل سیستم ایمنی شود، اما اغلب باعث بالا بردن برخی از سایتوکاین ها و کاستن از برخی دیگر می شود. دو زیر مجموعه اصلی از سلول های $CD4^+T$، Thl و (T-helper1 and T-helper2) هستند که وجود آن ها در انسان و موش به خوبی اثبات شده و فرض بر وجود آن ها در سایر گونه های حیوانات می باشد. پاسخ های Th1 باعث ایجاد آنتی بادی ثابت کننده کمپلمان (complement fixing antibody) و هم چنین ایجاد واکنش های ازدیاد حساسیت تاخیری می شود و همراه با افزایش اینترفرون گاما (IFN-γ=Interferon gamma)، اینترلوکین ۲ (Interleukine-2=IL-2) و اینترلوکین ۱۲ (12-IL) است. حال آن که پاسخ های Th2 منجر به افزایش میزان آنتی بادی های در گردش (خون) و ترشحی از جمله IgE و سایتوکاین های اینترلوکین ۴، اینترلوکین ۵ و اینترلوکین ۶ و احتمالا اینترلوکین ۱۰ می شود. در بین پاسخ های Th1 و Th2 حالت مهار دو طرفه وجود دارد.

انتخاب یک ادجوانت تعدیل کننده ایمنی مناسب نه تنها باعث افزایش پاسخ ایمنی می شود، بلکه زیرگونه IgG را نیز تعیین می کند. پاسخ ایمنی هیچگاه به طور کامل به یک سمت معطوف نمی شود. بیشترین میزان سوق پاسخ ایمنی با نمک های آلومینیوم ایجاد می شود که پاسخ ایمنی را تا بیش از ۹۰ درصد به سمت Th2 سوق می دهند و در جهت عکس اندوتوکسین های باکتریایی و مشتقات آن ها (لیپید A و مونوفسفوریل لیپید A) هستند که پاسخ ایمنی را به طور عمده به سمت Th1 می برند.

□ ارایه آنتی ژن (antigen presentation)

این واژه اشاره به توانایی یک ادجوانت در حفظ کنفورماسیون اصلی یک آنتی ژن و ارایه آن به یک سلول مناسب ایمنی دارد. این مساله وقتی پیش می آید که یک ادجوانت بتواند به

گونه‌ای با یک آنتی‌ژن تداخل داشته باشد که اپی توپ های کنفورماسیونی آن به گونه مؤثرتری نگهداری شوند. مزایای اصلی این ادجوانت ها بهتر شدن فعالیت درون تن (in vivo) و افزایش زمان ارایه آنتی‌ژن است.

□ القای پاسخ لنفوسیت های T سیتوتوکسیک (CTL) $CD8^+$

برای این که یک ادجوانت در القای CTL (Cytotoxic T lymphocyte) مؤثر باشد، باید اتصال یا دوام اتصال پپتید به Major histocompatibility complex class I (MHC–I) را تسهیل کند. مؤثرترین راه رسیدن به این حالت این است که ادجوانت به گونه‌ای با غشای سلولی کنش کند که آنتی‌ژن متصل به ادجوانت درون سیتوسول به نحوی جایگزین شود به نحوی که برای فرآوری معمول در پروتئازوم ها (proteasome) مناسب باشد. این حالت می‌تواند با ذوب شدن در غشای خارجی یا با اندوسیتوزر پینوسیتوز و در پی آن ذوب شدن در غشای اندوزومی یا شکافتن غشا (گریز اندوزومی) صورت گیرد.

□ هدف گیری

این واژه نمایانگر توانایی یک ادجوانت برای رسانیدن یک ایمونوژن به سلول های هدف ایمنی (معمولاً از طریق سلول های ارایه دهنده آنتی ژن (Antigen Presenting Cells, APCs) است. علی رغم این که اطلاعات زیادی در دسترس نیست، این احتمال هست که بخش زیادی از واکسن تجویز شده به وسیله تجزیه با پروتئازهای سرم یا با حذف گذر اول در کبد، از دست برود. این شکل از اثر ادجوانتی نوع پاسخ ایمنی را تغییر نمی‌دهد. بلکه بیشتر بر مقدار ایمونوژن مورد نیاز برای رسیدن به یک اثر مشخص اثر می‌گذارد، به عبارت دیگر کفایت ایجاد پاسخ ایمنی را افزایش می‌دهد. اما چنانچه هدف گیری بیشتر برای ماکروفاژها یا سلول های دندریتیک (Dendritic Cells, DCs) انتخابی باشد، نوع پاسخ ایمنی ممکن است تغییرات عمده‌ای را نشان دهد. در برخی مطالعات نشان داده شده است که کاستن از ماکروفاژها منجر به چرخش شدید پاسخ ایمنی به سمت Th2 می‌شود. برای رسیدن به این اثر، یک ادجوانت از راه های مختلفی می‌تواند کمک کند. معمول‌ترین حالت بر هم کنش با آنتی‌ژن به صورت تشکیل یک توده چند مولکولی با آنتی‌ژن است. این توده ها باعث افزایش برداشت به وسیله ماکروفاژها و DCs می‌شود و اگر یک ادجوانت تعدیل کننده ایمنی نیز اضافه شود، تضمین کننده تجویز آنتی‌ژن و تعدیل کننده ایمنی به یک APC است. ادجوانت هایی که دارای چنین ویژگی هستند را ادجوانت ذره‌ای می‌نامند. در کاربردهای اختصاصی، ذرات ۱۰-۱ میکرون را می‌توان از راه خوراکی تجویز کرد که می‌توانند به وسیله پلاک های پیر (Peyers patches) برداشت شوند.

در یک حالت دیگر، می‌توان تحویل به ماکروفاژها و DCs را با افزودن گروه های قندی (مثل ساپونین ها)، یا دیگر مولکول های قابل تشخیص باگیرند های سطح سلول (مثل تشخیص گانگلیوزید GM-1 توسط CTB (Cholera toxin B) و LTB (Labile toxin B) یا با اتصال ایمونوژن به پلیمر

مانوز (مثل مانان (mannan)، آسه مانان (acemannan) یا کربوهیدرات های دیگر افزایش داد.

روش سوم برای هدف گیری، اشباع سلول های کوپفر کبدی به وسیله ادجوانت است تا آنتی ژن که در این حالت نباید به ادجوانت متصل باشد، بتواند به وسیله APC برداشت شود. چنین سازوکاری را برای بسیاری از ادجوانت های کربوهیدراتی فرض کرده اند.

□ تولید مخزن

این حالت را می توان به صورت کوتاه یا طولانی مدت انجام داد و در حالت دوم رهش می تواند به صورت مداوم یا ضربانی باشد. مشخص ترین نوع مخزن های کوتاه مدت نمک های آلومینیوم و امولسیون های w/o هستند که آنتی ژن را در محل تزریق نگاه می دارند و مانع از دست رفتن آن با تصفیه کبدی می شوند. برداشت محل تزریق ۱۰ـ ۸ روز پس از تزریق، روی شدت و دوام پاسخ ایمنی بدون اثر بوده یا اثر ناچیزی داشته است. این نشان می دهد که آن زمان آنتی ژن حذف شده است.

مخزن های طولانی مدت بیشتر با استفاده از پلیمرهای سنتتیک مثل پلی (لاکتاید کو گلیکولاید Poly(D,L–lactide–co–glycolide) (PLGA= تهیه می شود. میکروسفرهای ساخته شده با این پلیمرها تجزیه شده و ایجاد رهش ضربانی می کنند. چنین میکروسفرهایی باید ترجیحاً بزرگتر از ۱۰μm باشند تا بتوانند در محل تزریق باقی بمانند. می توان با دقت مطلوب، به رهش در محدوده ۶ ـ ۱ ماه دست یافت.

■ دسته بندی ادجوانت ها

معیارهای مختلفی را می توان برای دسته بندی ادجوانت ها استفاده کرد. در یک تقسیم بندی کلی می توان ادجوانت ها را در دو گروه کلی ذره ای و غیر ذره ای قرار داد.

□ ادجوانت های ذره ای

این ادجوانت ها به شکل ذرات میکروسکوپی هستند و حداقل بخشی از اثر ادجوانتی آن ها به این ویژگی باز می گردد. معمولاً فقط هنگامی اثرات کامل این ادجوانت ها اعمال می شود که ایمونوژن درون آن ها وارد یا حداقل به ذره متصل شود. بسیار غیر محتمل است که یک سیستم ذره ای برای همه انواع آنتی ژن، همه روش های تجویز و همه کاربردهای بالینی مؤثر باشد. هر آنتی ژن باید از نظر نوع تجویز و ویژگی های بالینی مورد بررسی قرار گیرد.

□ نمک های آلومینیوم

مشتقات آلومینیوم که به عنوان ادجوانت مصرف می شوند شامل فسفات آلومینیوم، هیدروکسید آلومینیوم و واکسن های رسوب یافته با آلومینیوم است. در منابع به تمام این ترکیبات آلوم گفته می شود. آلوم که از نظر شیمیایی پتاسیم آلومینیوم سولفات است، در اصل برای تخلیص جزیی آنتی ژن های پروتئینی به ویژه توکسوییید کزاز و دیفتری به کار می رود. این توکسوییدها در حضور آنیون هایی مانند فسفات و بی کربنات رسوب می کنند و مخلوطی از ترکیبات به ویژه فسفات و هیدروکسید آلومینیوم ایجاد می کنند.

این ادجوانت ها رسوب های نامحلول و ژل مانندی با اندازه ذره ای ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ نانومتر

هستند. ایمونوژن به وسیله تداخلات الکترواستاتیک با ژل از پیش تشکیل شده یا در حین تشکیل ژل به آن متصل می‌شود. این ادجوانت‌ها به صورت گسترده‌ای از سال ۱۹۳۰ تاکنون در واکسن‌های انسانی و حیوانی استفاده شده‌اند و از نظر بی خطر بودن دارای پیش زمینه بسیار مناسبی می‌باشند. این ادجوانت‌ها پاسخ‌های قوی Th2 ایجاد می‌کنند و به شرط جذب سطحی ایمونوژن، هدف گیری خوبی دارند و ایجاد اثر مخزنی متوسط می‌نمایند، اما در القای CTL و CMI (Cell mediated immunity) اثر ناچیزی دارند. این ادجوانت‌ها پاسخ IgE بالایی ایجاد می‌کنند و بهای اندک، بی خطر بودن و سادگی فرمولاسیون از مزایای دیگر آن‌ها می‌باشد.

□ امولسیون‌های آب در روغن (w/o)

در این ادجوانت‌ها ذرات آب در حضور سورفکتانت (معمولاً مانید مونواولئات (mannide mono – oleate) در فاز پیوسته روغنی [معمولاً پارافین، اسکوالن (squalene) یا اسکولان (squalane)] پراکنده هستند. در ادجوانت‌های امولسیونی، کاهش اندازه قطرک‌های امولسیون از ۲ ـ ۱ میکرون به ۳۰۰ ـ ۲۰۰ نانومتر باعث افزایش قابل توجه در فعالیت ادجوانتی می‌شود. ادجوانت ناکامل فروند (Incomplete Adjuvant = FIA) (Freund's) در واکسن‌های انسانی و دامی استفاده شده، اما در حال حاضر به خاطر شیوع کم واکنش‌دهی در محل تزریق از آن سلب اعتبار شده است. ادجوانت‌های فروند معمولا از آلوم قوی‌تر عمل می‌کنند.

امولسیون‌های تهیه شده با روغن‌های قابل متابولیزه بی خطرتر هستند. این ادجوانت‌ها در غیاب اثر تحریک موضعی، اثر تعدیل کنندگی کمی دارند، مخزن‌های کوتاه مدت خوبی می‌دهند، بهای کمی دارند، فرمولاسیون آن‌ها به نسبت ساده است و پاسخ آنتی‌بادی خوبی به ویژه، برای ایمونوژن‌های هیدروفیل ایجاد می‌کنند. امولسیون‌های w/o از این نظر که می‌توان تعدیل کننده‌های ایمنی محلول را در آن‌ها وارد کرد، بسیار عالی هستند. این امولسیون‌ها می‌توانند ناپایدار باشند.

□ امولسیون‌های روغن در آب (O/W)

ذرات (قطرک‌های) روغن (معمولاً اسکوالن یا اسکولان)، با اندازه حدود (۲۰۰nm) درون فاز آبی پیوسته پراکنده و به وسیله سورفکتانت (معمولاً توئین ۸۰ و یا اسپان ۸۵) پایدار شده‌اند. این امولسیون‌ها دارای ویژگی ارایه آنتی‌ژن عالی و هدف گیری متوسط هستند. این امولسیون‌ها کم بها و بی خطر هستند و برای افزودن تعدیل کننده‌های ایمنی لیپوفیل مناسب هستند. این امولسیون‌ها برای مولکول‌های آمفی‌پاتیک مناسب هستند، اما باید ایمونوژن را درون فاز روغنی وارد کرد.

□ کمپلکس‌های تحریک کننده ایمنی (Immune stimulating complexes = ISCOM)

این کمپلکس‌ها ساختمان‌های سه بعدی قفس مانند به قطر ۷۰ ـ ۳۰ نانومتر دارند و از مخلوط کردن لیپیدها (کلسترول، فسفولیپیدها)، QuilA و آنتی‌ژن تهیه می‌شوند. QuilA مخلوطی از ساپونین‌های استخراج شده از پوست درخت Quillaja saponaria است و یک ادجوانت قوی

می‌باشد. مزیت عمده ISCOMs در این است که ساختمان ISCOMs اثر ادجوانتی ساپونین کیلایا و ایمنی‌زایی آنتی‌ژن همراه را به طور هم‌زمان دارد. این ادجوانت‌ها در حال حاضر برای واکسن‌های دامی استفاده می‌شوند و کاربرد احتمالی آن‌ها در انسان در دست بررسی است. ISCOMs باعث القای پاسخ‌های قوی Th1 و Th2 شده و دارای اثر هدف گیری و ارایه خوب و پاسخ CTL عالی است.

□ کاکلیت‌ها

کاکلیت‌ها (cochleates) رسوب‌های پایداری از پروتئین ـ فسفولیپید ـ کلسیم هستند که می‌توان آنتی‌ژن‌های مختلفی را درون آن‌ها وارد کرد. تجویز خوراکی این سیستم‌های حاوی آنتی‌ژن با افزودن در آب آشامیدنی یا تزریق این سیستم‌ها باعث ایجاد پاسخ‌های ایمنی قوی و طولانی مدت شده است. این سیستم تجویز واکسن که خیلی مؤثر به نظر می‌رسد، می‌تواند هم پروتئین‌ها یا گلیکوپروتئین‌ها را و هم DNA را برای تجویز مخاطی همراه بر دارد.

□ لیپوزوم‌ها

لیپوزوم‌ها وزیکول‌های تک یا چند لایه با غشای دو لایه هستند که اندازه آن‌ها از ۲۰nm تا چند میکرون متغیر است و از فسفولیپید و کلسترول تشکیل شده‌اند. ایمونوژن ممکن است به غشا متصل شود (مولکول‌های لیپوفیل و آمفی‌پاتیک) یا این که درون فاز آبی داخلی وارد شود (مولکول‌های هیدروفیل).

لیپوزوم‌ها در مطالعات بسیاری برای تشدید پاسخ ایمنی به آنتی‌ژن انکپسوله شده استفاده شده‌اند. در ارایه آنتی‌ژن‌های انکپسوله در لیپوزوم‌ها، عمده‌ترین APC، ماکروفاژها هستند. این مساله در آزمایش‌های متعددی نشان داده شده است. لیپوزوم‌ها برای هدف‌گیری، القای CTL و ارایه آنتی‌ژن پتانسیل خوبی دارند. لیپوزوم‌ها بی خطر هستند و تعدیل کننده‌های ایمنی هیدروفیل و لیپوفیل را می‌توان در آن‌ها وارد کرد. اما فرمولاسیون و وارد کردن ایمونوژن در آن‌ها مشکل است و تعدیل کننده‌های ایمنی باید محلول باشند.

راه‌های متعددی را می‌توان برای افزایش اثر ادجوانتی لیپوزوم‌ها به کار برد. از جمله این روش‌ها می‌توان به هدف گیری لیپوزوم‌های مانوزیله حاول آنتی‌ژن به APC بیان کننده گیرنده مانوز، انکپسوله کردن هم‌زمان یک ادجوانت دیگر (مثل MDP (Muramyl dipeptide) و مشتقاتش) و آنتی‌ژن در یک لیپوزوم و استفاده از برخی لیپیدهای کاتیونی (مثل DOTMA) در ساختمان دو لایه اشاره کرد.

□ نانو و میکروپارتیکل‌ها

ذرات کوچک جامد در محدوده ۱۰۰۰nm ـ ۱۰ (نانوپارتیکل) و ۱۰۰μm ـ ۱ (میکروپارتیکل) هستند که از پلیمرهای زیست سازگار و زیست تجزیه پذیر تشکیل شده‌اند. از جمله مزایای میکروسفرها می‌توان به تشدید قابل توجه پاسخ آنتی‌بادی، ایجاد حالت مخزنی از آنتی‌ژن در محل تزریق و تأمین تماس طولانی‌تر با سیستم ایمنی، و امکان تجویز مؤثر واکسن‌ها به بافت‌های ایجاد کننده ایمنی مخاطی و محافظت آنتی‌ژن در مقابل آنزیم‌های پروتئولیتیک هنگام تجویز مخاطی را نام برد.

این ادجوانت ها هدف گیری عالی دارند (اگر کوچکتر از ۵μm باشند) و بهترین انتخاب برای تهیه واکسن های یک بار تجویز و چند بار رهش هستند. به این معنی که می توان فرمولاسیون هایی ساخت که مقادیر متعددی از واکسن را به صورت جداگانه آزاد کنند و به این ترتیب شبیه واکسن های یادآور عمل کنند. تهیه میکروسفرها مشکل است. در استفاده از میکروسفرها، اندازه ذره‌ای اهمیت به سزایی دارد و میکروسفرهای کوچکتر از ۱۰ میکرون ایمنی زایی بسیار بیشتری نسبت میکروسفرهای بزرگتر از ۱۰ میکرون دارند. اثر ادجوانتی میکروپارتیکل ها را می توان با تجویز هم‌زمان با بقیه ادجوانت ها افزایش داد.

□ ادجوانت های غیر ذره‌ای

این گروه از ادجوانت ها برای فعالیت، نیازی به طبیعت ذره‌ای با مولتی مری ندارند و بیشتر آن ها در صورت همراه شدن با ادجوانت های ذره‌ای، اثرشان بهبود می یابد.

□ مورامیل دی پپتید (MDP) و مشتقاتش

MDP یک ترکیب با فعالیت ادجوانتی است که از یک پپتیدوگلیکان استخراج شده از مایکوباکتری به دست می‌آید. این ترکیب و مشتقاتش از تحریک کننده های قوی IL-1 هستند. مشتقات هیدروفیل Th2 و مشتقات لیپوفیل Th1 را تحریک می کنند. این ادجوانت ها بهتر است همراه ادجوانت های ذره‌ای به ویژه امولسیون های w/o و o/w و لیپوزوم ها استفاده شوند. این داجوانت ها در آزمون های بالینی از خود عوارض نشان داده‌اند. در این میان خود MDP سمیت زیادی دارد، ولی مشتقات آن سمیت کمتری دارند.

□ کوپلیمرهای بلوک غیر یونی

این پلیمرها اغلب از یک ناحیه پلی اکسی پروپیلن (POP) هیدروفوب که با مناطقی از پلی اکسی اتیلن (POE) احاطه شده‌اند، تشکیل یافته‌اند. این پلیمرها به عنوان افزودنی به فاز روغنی امولسیون w/o یا o/w اضافه می شوند و عمل اصلی آن ها افزایش ارایه مولکول های آمفی پاتیک است، اما این ها ممکن است اثر تعدیل سیستم ایمنی نیز داشته باشند. این کوپلیمرها عیار IgG (Immunoglobin G) را افزایش می دهند. فرمولاسیون های مختلف می توانند به صورت اختصاصی مقادیر نسبی IgG1، IgG2 و IgG3 را تغییر دهند.

□ ساپونین ها

ساپونین های مورد استفاده در تحقیق بر روی واکسن ها، مخلوط های پیچیده‌ای از تری ترپنوییدها هستند که از پوست درخت Quillaja saponaria استخراج می شوند. ساپونین QS21 که از کیلایا ساپوناریا به دست می‌آید را گروه ساختمانی مسوول فعالیت ادجوانتی ساپونین ها می‌دانند. این ترکیب اثر ادجوانتی دارد ولی عوارض شبه آنفولانزا ایجاد می کند.

ساپونین ها باعث پاسخ های قوی Th1 و Th2 و پاسخ های متوسط CTL در مقابل برخی پروتئین ها می شوند. دلیل احتمالی چنین اثری تشکیل میسل های مخلوط پروتئین ـ ساپونین با این پروتئین هاست. این ادجوانت ها کم بها و عموما بی خطر هستند و فرمولاسیون آن ها ساده می‌باشد.

اثر تحریک سیستم ایمنی توسط ساپونین‌ها به عوامل مختلفی نسبت داده می‌شود. از جمله ساز و کارهای پیدا شده در مطالعات برون‌تن (in vivo) می‌توان به اثر میتوززایی روی لنفوسیت‌ها، فعال سازی ماکروفاژها، فعال سازی گرانولوسیت‌ها و اثر بر تولید سایتوکاین‌ها را نام برد.

□ لیپید A

لیپید A یک دی‌ساکارید از گلوکزامین با دو گروه فسفات و ۵ تا ۶ زنجیره اسید چرب است. با برداشتن گروه فسفات '۱، باقیمانده '۴ منوفسفوریل لیپید A (lipid A, MPLA Monophosphoryl) نام دارد که به تنهایی یا همراه با امولسیون‌های o/w یا لیپوزوم‌ها به عنوان یک ادجوانت برای واکسن‌های انسانی پیشنهاد می‌شود. MPL از سالمونلامینه سوتا (Salmonella minesota) تهیه می‌شود و عوارض آن در آزمون‌های بالینی قابل تحمل بوده است.

□ سایتوکاین‌ها

سایتوکاین‌ها گلیکوپروتئین‌هایی هستند که دارای انواع و اثرات مختلف می‌باشند. چنانچه بر مشکلاتی که در کار با سایتوکاین‌ها وجود دارد از جمله پایداری، سمیت و احتمال واکنش‌های خود ایمن غلبه شود، جزء مهمی از برخی از واکسن‌های پیشگیری و اغلب واکسن‌های درمانی می‌شوند. سایتوکاین‌ها گران قیمت و گونه ـ ویژه هستند.

□ پلیمرهای کربوهیدرات

این دسته پلیمرهایی از مانوز (مانند مانان) و 1-3β- گلوکز [مانند گلوکان (glucan)، اسه مانان] هستند که به عنوان ادجوانت در واکسن‌های انسانی چه به تنهایی و چه مخلوط یا کنژوگه با ایمونوژن به کار می‌روند. این‌ها می‌توانند ماکروفاژها و DCs را تحریک و هدف گیری کنند و پاسخ Th1 را افزایش دهند.

□ پلی ساکاریدهای مشتق سازی شده

این گروه دکستران‌های سولفاته یا دی اتیل آمینو اتیل (DEAE) دکستران‌های با وزن مولکولی بالا هستند که به عنوان ادجوانت واکسن‌های دامی (برای انسان هم پیشنهاد می‌شوند) کاربرد دارند. اثر آن‌ها پیچیده است، شاید سازوکار اثر آن‌ها اشباع سلول‌های کوپفر کبدی یا احتمالا اثر میتوززایی بر سلول‌های B یا T باشد.

□ توکسین‌های باکتریایی

این گروه پروتئین‌های پیچیده‌ای همانند توکسین وبا (Choleraetoxin, CT) و توکسین ناپایدار E.coli هستند که در برخی از مدل‌های حیوانی ادجوانت مخاطی پرقدرتی می‌باشند. دلیل اثر ادجوانتی توکسین‌های باکتریایی مشخص نیست.

اتصال شیمیایی آنتی‌ژن به پروتیین‌های حامل مثل توکسین وبا و انتروتوکسین مقاوم به حرارت E.coli، پس از تجویز خوراکی، ارایه آنتی‌ژن به وسیله تعدادی از سلول‌ها را افزایش می‌دهد. افزایش IgA (Immunoglobin A) مخاطی و میزان IgG سرم در هنگام تجویز پروتئین همراه نظیر توکسویید کزاز، نشان می‌دهد که این روش تجویز می‌تواند به MEC-II منتهی شود.

ساب یونیت اتصالی B از توکسین وبا (CTB)

که غیر سمی می‌باشد، در افزایش پاسخ ایمنی پس از تجویز مخاطی بسیار خوب عمل کرده است.

■ ادجوانت‌های چند تایی

هدف از ادجوانت‌های چند تایی، گرد هم آوردن ترکیبات ادجوانت مختلف برای رسیدن به یک پاسخ ایمنی مورد نظر است. شناخته شده ترین ادجوانت چند تایی، ادجوانت کامل فروند (Freund complete adjuvant = FCA) است که خواص تعدیل ایمنی مایکوباکتریوم توبرکولوزیس و اثر مخزنی کوتاه مدت امولسیون‌های w/o را هم‌زمان با هم دارد. این ادجوانت باعث ایجاد پاسخ‌های Th1 و Th2 قوی می‌شود و به ویژه برای ایمونوژن‌های هیدروفیل مناسب است.

■ ادجوانت‌های مخاطی

تحریک موثر سیستم ایمنی مخاطی نیاز به دو ویژگی زیر دارد:

۱ـ آنتی‌ژن‌ها باید با کارآیی لازم به بافت‌های لنفاوی مخاطی رسانیده شوند.

۲ـ پاسخ ایمنی ایجاد شده درون بافت‌های لنفاوی باید با تجویز هم‌زمان ادجوانت‌های مخاطی افزایش داده شود.

از میان ادجوانت‌های متعدد تنها برخی از آن‌ها در سطح مخاطی نیز اثربخش هستند که از جمله به موارد زیر می‌توان اشاره کرد:

□ توکسین‌های باکتریایی

دو توکسین باکتریایی که اثر ادجوانتی مخاطی آن‌ها اثبات شده توکسین وبا (CT) که به وسیله V.cholerae ترشح می‌شود و انتروتوکسین ناپایدار در مقابل حرارت (Labile toxin = LT) مربوط به E.coli هستند. این دو مولکول در خصوصیات بسیاری مشترک هستند، از جمله هر دو دارای چند ساب یونیت با اجزای A و B هستند. محدودیت موجود در مصرف این ادجوانت‌ها افزایش ترشحات مخاطی است. به عنوان مثال تجویز خوراکی ۵ میکروگرم از CT خالص منجر به اسهال شدید در انسان می‌شود. تغییرات زیادی بر روی CT داده شده که در ضمن حفظ اثر ادجوانتی، سمیت آن کاهش یابد.

□ الیگوداکسی نوکلئوتیدهای حاوی CpG ($CpG-ODN_s$)

در سال‌های اخیر این گروه از ادجوانت‌ها اثر ادجوانتی خوبی هم از راه سیستمیک و هم از راه خوراکی نشان داده‌اند. در مقایسه با CT، $CpG-ODN_s$ (oligodeoxynucleotides cytosine–phosphate–guanine) در تحریک ایمنی سلولی و هومورال و تحریک ترشح sIgA (secretory immunoglobulin A) موفق‌تر عمل کرده‌اند.

ادجوانت‌های دیگری نیز در سطوح مخاطی مؤثر بوده‌اند که از جمله می‌توان اینترلوکین ـ ۱۲، مورامیل دی پپتید (MDP)، آوریدین (avridin)، منوفسفوریل لیپید A (MPL)، نمک‌های آلومینیوم و MF59 را نام برد.

علیرغم پیشرفت‌های انجام شده در تحقیق بر روی ادجوانت‌ها، هنوز اثر ادجوانتی مخاطی هیچ یک از آن‌ها در انسان نشان داده نشده است. یافتن چنین ادجوانتی کلید موفقیت در

ایجاد واکسن‌های مخاطی خواهد بود. سدهای فیزیولوژیک متعددی که بر روی سطوح مخاطی قرار دارند، مانع جذب مناسب واکسن‌های تجویز شده از راه بینی و ورود آن‌ها به بافت‌های لنفوئید سیستم ایمنی مخاطی مشترک (Common mucosal immune system = CMIS) می‌شوند. این سدها عبارتند از: تجزیه آنزیمی آنتی‌ژن، روبش مکانیکی آنتی‌ژن‌ها از سطوح مخاطی، پایین بودن کفایت جذب آنتی‌ژن‌ها به وسیله سلول‌های ارایه دهنده آنتی‌ژن (APCs). برای رفع این مشکلات، نیاز به دوز بالا و تجویزهای مکرر آنتی‌ژن است. برای غلبه بر این سدها، استراتژی‌های نوینی نیز به‌کار گرفته شده است که از جمله می‌توان استفاده از ناقلین زنده نوترکیب، ذرات پلیمری زیست تجزیه‌پذیر، ذرات لیپیدی، واکسن‌های خوراکی و پلاسمید DNA را نام برد.

□ ناقل‌های نوترکیب زنده

ناقل‌های نوترکیب ویروسی یا باکتریایی ارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که با مهندسی ژنتیک، آنتی‌ژن‌های خارجی را بیان می‌کنند. با انجام جهش بر روی این ارگانیسم‌ها، بیماری‌زایی و سمیت آن‌ها کاملا کاهش یافته یا از بین رفته است. اما توان تکثیر و نفوذ به سطوح مخاطی این ارگانیسم‌ها حفظ شده است. به این خاطر تجویز مخاطی یک دوز متوسط از این ناقل‌ها می‌تواند از طریق تکثیر در درون بدن منجر به یک دوز ایمنی‌زای بسیار قوی شود. این مساله باعث پاسخ‌های ایمنی قوی و طولانی اثر می‌شود. به علاوه، این ناقل‌ها پتانسیل آن را دارند که به طور هم‌زمان چند آنتی‌ژن مختلف را بیان و علیه چندین بیماری با یک نوبت ایمن‌سازی ایجاد محافظت نمایند.

از جمله ناقلین نوترکیب ویروسی که برای تجویز مخاطی واکسن‌ها قابل استفاده هستند عبارتند از: واکسینیا (Vaccinia)، آدنوویروس‌ها (adenovirus)، پوکس ویروس (poxvirus) و ویروس هرپس سمپلکس (HSV). ایمن‌سازی مخاطی توسط ویروس زنده آنفلوانزا و سرخک نیز آزمایش شده است.

همانند ویروس‌ها، عوامل بیماری‌زای باکتریایی مانند سالمونلا (Salmonella) نیز به‌عنوان یک حامل واکسن مخاطی، برای تجویز آنتی‌ژن‌های خارجی امکان کاربرد دارند.

علی‌رغم موفقیت‌های بسیار این ناقلین زنده در بررسی‌های پیش بالینی، هنوز هیچ کدام از آن‌ها نتوانسته‌اند در بررسی‌های بالینی در انسان پاسخ ایمنی تکرارپذیری را ایجاد نمایند. قبل از استفاده روزمره از این ناقلین زنده به عنوان حامل واکسن، نیاز به بهتر کردن طراحی ناقل، انتخاب و بیان آنتی‌ژن و هم‌چنین پایداری و انتخاب جای آنتی‌ژن است.

□ ذرات پلیمری زیست تجزیه پذیر

در این گروه میکرو و نانوپارتیکل‌های زیادی استفاده شده است که عمده‌ترین ویژگی آن‌ها زیست تجزیه‌پذیر بودن آن‌هاست. از میان پلیمرهای زیست تجزیه‌پذیر متعددی که مورد تحقیق قرار گرفته‌اند، PLGA بیش از همه استفاده شده است.

از میان پلیمرهای زیست تجزیه‌پذیر محلول در آب، کیتوزان بیش از همه مورد استفاده قرار

گرفته است. کیتوزان خاصیت مخاطی چسبی دارد و یک نفوذ افزای مخاطی است. یک مزیت در استفاده از پلیمرهای محلول در آب، عدم نیاز به استفاده از حلال های آلی که ممکن است باعث کاهش آنتی‌ژنیسیته آنتی‌ژن شوند، می‌باشد. از پلیمرهای محلول در آب دیگر که در ایمن‌سازی از راه‌های مخاطی مورد استفاده قرار گرفته‌اند می‌توان نشاسته، دکستران و آلژینات را نام برد. سیستم‌های تجویزی همانند میکروسفرها یک مزیت مهم بر سیستم‌های میکروبی دارند و آن این است که در استفاده از سیستم‌های میکروبی، ممکن است پاسخ ایمنی بیشتر علیه ناقل زنده ایجاد شود (نه آنتی‌ژن مورد نظر) و این امر مانع تکرار مصرف ناقل می‌شود.

علی‌رغم نتایج امیدبخش به دست آمده با میکروسفرها، این فن آوری باید بر بعضی از مشکلات از جمله بهای تمام شده و پیچیده بودن فرآیند ساخت، مشکل بودن کنترل اندازه ذره‌ای، سرعت رهش و فاکتورهای دیگری که بر پاسخ‌های ایمنی اثر می‌گذارند از جمله آسیب به آنتی‌ژن‌های حساس به وسیله حلال‌های آلی مورد استفاده در بسیاری از فرآیندهای میکروانکپسولاسیون، غلبه کند.

□ ذرات لیپیدی

ذرات لیپیدی نیز به عنوان حامل برای واکسن‌های مخاطی شناخته شده‌اند. معمول‌ترین شکل ذرات لیپیدی لیپوزوم‌ها هستند. استفاده از لیپوزوم‌ها برای تجویز مخاطی واکسن‌ها با موفقیت‌هایی همراه بوده است. در بیشتر موارد تجویز هم‌زمان آنتی‌ژن‌ها و ادجوانت‌ها در لیپوزوم، توانسته پاسخ‌های ایمنی را در حد قابل توجهی بهبود بخشد، اما در مجموع ایمن‌سازی مخاطی توسط لیپوزوم‌ها در مقایسه با میکروسفرها کمتر رضایت‌بخش بوده است.

یکی از محدودیت‌های لیپوزوم‌ها به عنوان حامل برای واکسن‌های مخاطی به ویژه در راه خوارکی، ناپایداری آن‌ها است. لیپوزوم‌ها مستعد حل شدن به وسیله دترژنت‌های روده‌ای و هم‌چنین تجزیه به وسیله فسفولیپازهای روده‌ای هستند.

ویروزوم‌ها به عنوان گروهی از ادجوانت‌های مخاطی هستند. ویروزوم‌ها وزیکول‌های لیپیدی هستند که حاوی گلیکوپروتئین‌های ویروسی می‌باشند و از راه سیستمیک و مخاطی برای ایمن‌سازی به کار گرفته شده‌اند.

گروه دوم از ذرات لیپیدی، ISCOM‌ها یا کمپلکس‌های تحریک کننده ایمنی هستند. از زمان کشف ISCOMs در بیش از یک دهه پیش، این ترکیبات در مطالعات متعددی به کار رفته‌اند و توانسته‌اند در تجویز از راه تزریق یا مخاطی، باعث تحریک ایمنی سلولی و هومورال شوند.

□ واکسن‌های خوراکی

روش دیگر ابداع شده برای تجویز مخاطی آنتی‌ژن‌ها، الحاق آنتی‌ژن‌ها درون گونه‌های گیاهی است. اندیشه به کارگیری گیاهان برای تولید و تجویز آنتی‌ژن‌های مخاطی، اولین بار به وسیله Arntzn و همکارانش در سال ۱۹۹۲ بیان شد. این گروه با تغییر ژنتیکی گیاه تنباکو گیاه را قادر به بیان ژن آنتی‌ژن سطحی هپاتیت B کردند. پس از آن تاریخ آنتی‌ژن‌های

متعدد دیگری توسط گیاهان ترانس ژنیک مثل سیب زمینی و گوجه فرنگی تولید شده است. این گیاهان به حیوانات خورانیده می‌شوند و در برخی پاسخ ایمنی مخاطی و سیستمیک علیه آنتی‌ژن بیان شده، مشاهده شده است. علی‌رغم نتایج امیدوار کننده‌ای که به دست آمده، به دلیل بیان بسیار کم آنتی‌ژن‌های خارجی در بافت‌های گیاهی، مقادیر زیادی از گیاه توسط حیوان باید مصرف شود تا دوز آنتی‌ژن تامین گردد، که یک محدودیت برای این روش می‌باشد. برای بهبود بخشیدن این روش، نیاز به بهتر کردن بیان ژن و بیان هم‌زمان ادجوانت‌های مناسب می‌باشد.

وارد شدن این فن آوری به تحقیقات در مورد واکسن‌ها، گام مهمی برای تولید ایمونوژن‌های خوراکی کم بها می‌باشد که می‌توان به وسیله آن‌ها جمعیت‌های بزرگی به ویژه در کشورهای در حال توسعه را ایمن کرد.

□ پلاسمید DNA

هنگامی که پلاسمید DNA وارد سلول شود به طور موقت آنتی‌ژن مورد نظر را درون سلول میزبان بیان می‌کند. تجویز مستقیم پلاسمید DNA بیان کننده یک آنتی‌ژن در مقایسه با ناقلین ویروسی نوترکیب، کارآیی بیشتری نشان داده است.

اثر تجویز مخاطی پلاسمید DNA هنوز مورد مطالعه وسیع قرار نگرفته است و برداشت DNA از سطوح اپی‌تلیومی به اندازه تزریق مستقیم DNA درون سلول‌های عضلانی نیست، اما می‌توان برداشت DNA را با استفاده از سازوکارهای خاصی هم‌چون وارد کردن در میکروسفر، لیپوزوم یا ویروزوم یا کوچلئات و یا تجویز DNA با یک پلیمر مخاط چسب افزایش داد. این واکسن‌های DNA به صورت انکپسوله درون میکروسفر PLGA توانسته‌اند در موش پاسخ ایمنی سیستمیک و مخاطی ایجاد کنند. در گسترش این واکسن‌ها دو مانع بزرگ یکی مسئله خطرات احتمالی و دیگری عدم اثبات اثربخشی این واکسن‌ها در حیوانات بزرگ می‌باشد.

منابع

1. Chattaraj S C, Rathinavelu A. Das S K. Biodegradable microparticles of influenza viral vaccine: comparison of the effect of routes of administration on the in vivo immune response in mice; J. Con. Rel. 1999; 58: 223-232.

2. Cho N H. Seong S Y. Chun K H. Kim Y H. Kwon I C. Ahn B Y. Jeong S Y. Novel mucosal immunization with polysaccharide - protein conjugates entrapped in alginate microspheres; J. Con. Rel. 1998; 53: 215-224.

3. Cox J C. Coulter A R. Adjuvants a classification and review of their modes of action; Vaccine 1997; 15: 248-256.

4. Gupta R K. Siber G R. Adjuvants for human vaccines - current status, problems and future prospects; Vaccine 1995; 13: 1271-1272.

5. Mestecky J. Moldoveanu Z. Michalek S M. Morrow C D. Compans R W. Schafer D P. Russell M W. Current options for vaccine delivery systems by mucosal routes; J. Con. Rel. 1997; 48: 243-257.

تذکر:

این مقاله دارای ۱۷ منبع است که بنابر روال نشریه رازی، تنها ۵ منبع درج شده است. مابقی در دفتر ماهنامه موجود است که در صورت درخواست علاقمندان، در اختیار آن‌ها قرار خواهد گرفت.