Adjuvanlar
Katkı Maddeleri

Dr. Şükran Köse

Ocak 2014

Sunu Akışı

- Katkı Maddeleri
- Adjuvanlar
  - İntrensek Adjuvan
  - Adjuvanların Kullanım Hedefleri
  - Adjuvanların İmmünolojisi
  - Alüminyum Adjuvanları
  - MF-59, AS03, MPL, AS04, MDP
  - Virozomlar
  - Virüs Benzeri Moleküller (VPL)
  - Mukozal Adjuvanlar
  - Aşılarda Kullanılmak Üzere Geliştirilen Deneysel Adjuvanlar
- Koruyucular ve Stabilizatörler
- Antibiyotikler
- Sonuç

Aşıların İçerdiği Katkı Maddeleri

- Aşı içerisine bağışıklayıcı antijeni stabilize etmek ve bakteri kontaminasyonunu engellemek için eklenen çeşitli kimyasal maddelerdir:

1. Adjuvanlar
2. Antibiyotikler
3. Stabilizatörler
4. Koruyucular

Adjuvanlar

- Latincede "**adjuvare**" (yardım eden, güçlendiren)

- Kendileri immünojen olmayan, antikor oluşturmayan ancak verildikleri antijeninin immünojenitesini artıran, güçlendiren maddelerdir

Vogel FR et al. *Vaccines* 2008:59-71.

Adjuvanlar

- 1920'li yıllarda;
  - Atlardan difteri antitoksini elde edilmeye çalışılırken, enjeksiyon yerinde apse gelişenlerde daha fazla antitoksin oluştuğu gözlendi
  - İnokulasyon yerinde apse gelişenlerde antijen spesifik antikor düzeylerinin çok yüksek olduğu saptandı
- 1926 yılında;
  - Alüminyuma adsorbe edilmiş difteri toksoidi ile alüminyum tuzlarının adjuvan etkisi gösterildi
- 1980'li yıllara kadar yeni aşı adjuvanları ile ilgili gelişme yok
- Son yirmi yılda yüzlerce doğal ve sentetik içerikli aşı adjuvanı üzerinde çalışılmakta
  - Enfeksiyonlara karşı yeni aşıların geliştirilmeye başlanması, otoimmün hastalıklar ve fertilite tedavi aşıları ile ilgili çalışmaların artması sonucu

Agulair JC et al. *Vaccine* 2007;25:3752-3762.
Glenny AT et al. *J Path Bact* 1926;29:38-45.

İntrensek Adjuvan

- Ölü ya da canlı tam hücre içeren, daha az saflaştırılmış aşılarda, mikroorganizmanın bazı kısımlarının (endotoksinler gibi) adjuvan etkisi göstermesi

- İntrensek adjuvan içeren aşılar, hem kendi hem de birlikte verildiği diğer antijenlerin immünitesini artırıcı etki yapar

- Örnek: Tam hücreli boğmaca aşısı içeren difteri ve tetanoz aşısı

Vogel FR et al. *Vaccines* 2008:59-71.

Adjuvanların Kullanım Amaçları

- Saflaştırılarak veya rekombinasyon tekniği ile elde edilen antijenlerin immünojenitesini artırmak
- Kısa sürede daha güçlü ve uzun süreli bir immün yanıt oluşturmak
- Primer immün yanıt elde edebilmek için gereken antijen miktarını ya da aşılama sayısını azaltmak, bu yolla aşı maliyetini düşürmek
- Aşının yeni doğanlar, yaşlılar ve immün yetmezliği olan kişilerde etkinliğini artırmak

Singh M et al. *Pharm Res* 2002;19:715-728.

Adjuvanların Kullanım Amaçları

- Mukozal immüniteyi uyararak, antijenlerin mukoza tarafından alımını güçlendirmek
- Hücresel immüniteyi uyarmak
- Kombine aşılarda her antijenden eşit bir immün yanıt elde etmek
- İmmün yanıtın fonksiyonel uygun tiplerini sağlamak

  (örnek: T h1'e karşı Th2, CD8'e karşı CD4 gibi)
- Hafıza hücrelerinin hedefini artırmak
- Pandemik enfeksiyonlarda kritik rolü olabilecek başlangıç immün yanıtın hızını artırmak

Singh M et al. *Pharm Res* 2002;19:715-728.

Adjuvanların İmmünolojisi

- Adjuvanlar etkilerini genel olarak 4 ana mekanizma ile oluştururlar:

1. Depo etkisi
2. Grup özgün yapıları tanıma reseptörü (PRR) aktivasyonu
3. İnflamazom aktivasyonu
4. Major Histocompatability Complex (MHC) sunumu

1. Depo Etkisi

- Antijenlerin enjeksiyon alanında tutularak, sürekli antijen sunumunun sağlanması şeklindedir

- Depo etkisi ile etkili olan adjuvanlar;

  – **Alum** (antijenlerle karıştırılmış, alüminyum hidroksitler/fosfatlar'dan oluşan çözelti)

  – **MF59** (skualen içerikli adjuvan)

  – **IFA** (tamamlanmamış Freund's adjuvanı)

2. Grup özgün yapıları tanıma reseptörü (PRR) aktivasyonu

- PRR, doğal immünitenin üyesi
- Doğal immünite ile kazanılmış immünite arasındaki ilişkiyi, "patojene özgü moleküler yapılar"ı (PAMPs) tanıyarak sağlar
- İyi saflaştırılmış protein ve subünit içeren aşılarda adjuvan olarak kullanılan PAMPs'ı tanır, doğal immüniteyi uyararak kazanılmış immünite oluşmasını sağlar
- En önemli PRR'ler;
  - Toll benzeri reseptörler (TLR)
  - nükleotid oligomerizasyon bölgesi (NOD) benzeri reseptörler

Guy B *Nat Rev Microbiol* 2007;5:505-517.

Toll benzeri reseptörler (TLR)

- Antijen uyaranlarını tanıyan en az 11 reseptör içeren bir aile
- Dendritik hücrelerin doğal immün yanıtla etkinleşmesini sağlayarak, kazanılmış immün yanıtta güçlü bir uyarılma sağlar
- TLR'lerin çoğu, güçlü ve şiddetli Th1 yanıtını uyarır
- Tip-1 interferon üretimini artırır
- Belirli TLR ligandları antikor yanıtını da uyarabilir
  - Hepatit B aşısına CpG DNA eklenmesi sonucunda, hem serokonversiyon sağlayan aşıların oranında hem de ortalama antikor titrelerinde artış ortaya çıkar

Dillon SJ et al. *Clin Invest* 2006;116(4):916-928.
Payette PJ et al. *Intervirology* 2006;49(3):144-151.

NOD Benzeri Moleküller

- 20 hücre içi proteinden oluşan bir aile
- Antijen sunan hücreler ile epitelyal hücrelerde eksprese olur
- Özellikle bakteriyel hücre duvarı bileşenleri olmak üzere birçok antijen molekülünü tanır
- NOD benzeri reseptörler tarafından canlı bakterinin tanınması, IL-1β ve IL-18 üretimini artırır

Fritz JH et al. *Nat Immunol* 2006;7(12):1250-1257.

3. İnflamazom Aktivasyonu

- NOD benzeri reseptörler tarafından patojenlerin algılanması sonucunda "inflamazom" denilen çoklu protein kompleksinin etkileşimi gerçekleşir

- Kaspaz-1 etkinleşmesi olur

- IL-18 ve IL1β ve Th2 sitokini olan IL-33 üretimi uyarılır

- İnflamazom aktivasyonu ile etkili olan adjuvan: "Alum"

Schmitz J et al. *Immunity* 2005; 23(5):479-490.

4. MHC Sunumu

- Antijen sunan hücreler (APC) patojenle ilk karşılaşan ve onun yabancı olduğunu tanımlayan hücre grubudur
- APC içine alınan antijen membranda yer alan MHC molekülü ile birlikte T hücrelerine sunulur
- MHC molekülü içindeki antijen, spesifik T hücre reseptörüne (TCR) bağlanarak aktive olur
- Aktivasyon sonrası çeşitli sitokinler salınır
- Adjuvanların immünolojik aktiviteleri hangi sitokinleri uyardıklarına bağlı olarak değişir
- MHC sunumu ile etkili olan adjuvanlar: MF59 ve IFA

Vogel FR et al. *Vaccines* 2008:59-71.

Çeşitli Adjuvan Örnekleri

Adjuvanın Tipi	Genel Örnekler	Özgün Örnekler
Mineral Tuzları	Alüminyum Hidroksit Alüminyum Fosfat Kalsiyum Fosfat	Alhydrogel Adju-Phos Calcium Phosphate Adjuvant
Mikroorganizma Kaynaklı	Muramil Dipeptid (MDP) Analogları Bakteriyel Ekzotoksinler Endotoksin	Murabutide Kolera Toksini *E. coli* Isı Labil Toksini
Partiküller	İmmünostimülan Kompleksler Lipozom, virozom, proteozomlar	Iscomatrix
Yağ Emülsiyonları ve Surfaktan Adjuvanları	"Freund İnkomplet" Antijeni Metabolize Edilebilir Emülsiyonlar Saponinler	Montanide ISA 51 MF59, SAF QS-21
Sentetik	İyonik Olmayan Blok Kopolimerleri Polifosfazen LPS-bazlı Sentetik Bileşikler	L121 PCPP RC529
Sitokinler	IL-2, IL-12, GM-CSF, IFN-gama	

Lisanslı Adjuvanlar

Adjuvan	Başlıca İmmünostimülan komponenti	Doğal Reseptörleri	Başlıca Uyarılan İmmün yanıtlar
Alum	Alüminyum tuzları	NLRP3 İnflamazom?	Antikor Th2 (ek olarak insanda Th1)
MF59 ve AS03	Skualen	Tanımlanmış reseptörü yok Doku inflamasyonuna neden olur	Antikor Th1+Th2
AS04	MPL+Alum	TLR4 İnflamazom?	Antikor Th1

BUHASDER

Çeşitli Lisanslı Aşıların İçerdikleri Adjuvanlar

Aşı	Ticari Adı	Adjuvan
Difteri ve Tetanoz Aşısı	Difteri ve adsorbe tetanoz toksoidi USP	Alüminyum potasyum fosfat
DT Aselüler Boğmaca (DBaT)	Tripedia	Alüminyum potasyum fosfat
Hemofilus influenza tip B (HIB)	Pedvax HIB	Alüminyum hidroksifosfat sülfat
DBaT+HIB	TriHibit	Alüminyum potasyum fosfat
Hepatit B	Recombivax HB	Alüminyum hidroksifosfat sülfat
Hepatit B	Engerix-B	Alüminyum hidroksit
Hepatit B+HIB	Comvax	Alüminyum hidroksifosfat sülfat
Hepatit A	Havrix	Alüminyum hidroksit
Hepatit B+Hepatit A	Twinrix	Alüminyum hidroksit/fosfat
Konjuge Pnömokok Aşısı	Prevnar	Alüminyum fosfat
İnfluenza Aşısı	Fluad	MF59
İnfluenza Aşısı	İnflexal	Virozom
Human Papilloma Virüs (HPV) Aşısı	Gardasil	Alüminyum hidroksifosfat sülfat
Hepatit B	Fendrix	AS04

Vogel FR Immunologic adjuvants. Vaccines 2008:59-71.

Alüminyum Adjuvanları

- Güvenliği ve etkinliği iyi bilinir

- 1920'li yıllardan günümüze kadar aşılarda kullanılan en önemli adjuvanlardır

- Başlıca alüminyum adjuvanları;
  - Alüminyum hidroksit
  - Alüminyum fosfat
  - Alum

Baylor N et al. *Vaccine* 2002;20:18-23.

Alüminyum Adjuvanları

- **Alüminyum hidroksit;**
  - Aynı zamanda kristalin alüminyum oksihidroksit (ALOOH) şeklindedir
  - Primer partikülleri yüksek yüzey alanına (~500 m^2/g) sahip olması nedeniyle güçlü adsorbandır
  - Hem asidik hem de bazik pH'da çözülebilir
- **Alüminyum fosfat;**
  - Hidroksil grubunun fosfat grubu ile kimyasal olarak yer değiştirdiği form
  - İzoelektrik pH'ı 4.5-9.4 arasında değişmekte
- **Alum;**
  - Antijenlerle karıştırılmış alüminyum tuzlarından (alüminyum hidroksitler, alüminyum fosfatlar) oluşur

Gavin AL et al. *Science* 2006;314:1936-1938.

Alüminyum Adjuvanları-Adsorbsiyon

- Alüminyumlu bileşiklerin adjuvan etki göstermesi için antijenlerin alüminyum moleküllerine adsorbe olması gereklidir
- Proteinlerle adsorbsiyon mekanizmaları;
  - Elektrostatik etki
    - Proteinlerin elektrostatik etki ile pozitif yüklü alüminyum hidroksite adsorbe olması
  - Ligand değişimi
    - Protein ile alüminyum tuzları arasında hidroksil ve fosfat gruplarının değişimi
  - Hidrofobik güçler

Morefield GL, et al. *Vaccine* 2005;23:1502-1506.

Alüminyum Adjuvanları-Etki Mekanizması

- Adjuvan etkisinin mekanizması net bilinmemekle beraber muhtemel mekanizmalar;
  - Depo etkisi
  - Antijenleri enjeksiyon alanında tutarak, sürekli salınım amacıyla bunların yavaş salınımının sağlanması
  - Enjeksiyon yerinde yüksek konsantrasyonda antijen olmasına neden olarak, antijenin APC tarafından endositozunun artırılması
  - Dendritik hücrelerin stimülasyonu
  - Kompleman aktivasyonu
  - Kemokin salınımının uyarılması

Hogenesch H et al. *Vaccine* 2002;20:34-39.

Alüminyum Adjuvanları

- Alüminyum adjuvanları için önemli bir sorun;
  - Kullanımları nötralizan antikor üretimi gerektiren bakteriyel ve viral aşılarla sınırlı olması

- Alüminyumlu bileşikler humoral immün yanıt oluşturmada etkin, IL-4, IL-5 ve B lenfositlerden IgG1, IgE üretimine neden olur

- Hücresel immün yanıtı uyaramazlar

Exley C et al. *Trends Immunol* 2010;31:103.

Alüminyum Adjuvanları-Yan Etkileri

- Enjeksiyon yerinde yerel granülom oluşumu
  - Özellikle aşının intramusküler yerine intradermal ya da subkutan uygulanması sonucu
- Lokal ağrı, şişlik
- Alerjiye eğilim
- Potansiyel nörotoksisite

Agulair JC et al. *Vaccine* 2007;25:3752-3762.

Alüminyum Adjuvanları-Klerens

- Renal yol ile atılır
- Renal fonksiyon bozukluklarında vücutta birikir
- Yüksek alüminyum düzeyleri beyin ve kemik dokularını etkiler
- Fatal nörolojik sendrom ya da diyaliz ilişkili demansa neden olabilir

Agulair JC et al. *Vaccine* 2007;25:3752-3762.

Alüminyum Adjuvanları İçeren Aşı Örnekleri

- Hepatit A (Havrix, Vaqta, Avaxin)
- Hepatit B (Engerix-B, Rekombivax-HB)
- İnsan Papilloma Virüs (Gardasil)
- *Streptococcus pneumoniae* (Prevenar)
- Pediyatrik difteri, tetanoz, asellüler boğmaca (DTaP) (İnfanrix, Boostrix, Daptacel, Repevax)

Leroux-Roels G et al. *Vaccine* 2010;28:25.

MF59

- İçerik olarak oluştuğu bileşenler;
  - Skualen (temel bileşeni)
  - Polisorbat 80
  - Sorbitan trioleat
  - Trisodyum sitrat dihidrat
  - Sitrik asit monohidrat

- Bileşenlerin hiçbiri tek başına immünostimülan özelliğe sahip değil

Ott G et al. *Humana Press* 2000;211.

MF59

- Skualen;
  - Hücre zarının doğal bileşiği
  - İnsan steroid hormonlarının üretiminde biyosentetik yolağın aracısı
  - Kolesterol sentezinin öncülü
  - Karaciğer ve deriden üretilir
  - Aşı endüstrisinde en bol bulunduğu köpekbalığı karaciğerinden elde edilmekte
  - İnsan vücudunda doğal olarak bulunması nedeniyle adjuvanların çoğunun yapısında bulunmakta

Podda A et al. *Immunopotentiators in modern Vaccines* 2006;149.

MF59

- Skualen zayıf bir immünojen
- Sağlıklı kişilerin serumlarında çok düşük titrelerde anti-skualen antikorlar bulunmakta
- Skualen içeren aşıların kullanımıyla anti-skualen antikorların varlığı ya da titrelerinde artış saptanmamış

Lippi G, et al. *Eur J Intern Med* 2010;21:70.

MF59 - Etki Mekanizması

- **Depo etkisi**

- **Dendritik hücrelerle doğrudan etkileşime girerek, antijenin dendritik hücreler tarafından alınmasını kolaylaştırmak**

- **Monosit ve makrofajları hedefleyerek, CCL2, CCL3, CCL4 ve CCL8 gibi kemokinlerin üretimini tetiklemek**

- **Antijene özgü humoral immün yanıtın tetiklenmesi**

Calabro S, et al. *Vaccine* 2011;29:1812.

MF59

- 1991 deki Körfez savaşında Amerikan askerlerine yapılan şarbon aşısında skualen bulunduğu için askerlerde bir çeşit nörolojik bozukluk geliştiği iddia edilmiş

- Körfez sendromunun etiyolojisi net olarak bilinmemektedir.

Phillips CJ,et al. *Vaccine* 2009;27(29):3921-6.

MF59 İçeren Aşı Örnekleri

- Mevsimsel influenza aşısı "Fluad" MF59 içermektedir
  - Avrupa'da 1997'den beri lisanslıdır
  - 29 ülkede 60 milyon dozdan fazla dağıtımı yapılmıştır
  - Çok sayıda klinik çalışma tamamlanmıştır

- İnfluenza A (H1N1) pandemik aşısı "Focetria, Celtura"
  - 2009 salgını sırasında 100 milyon dozdan fazla dağıtılmıştır

Ohagan DT, et al. *Expert Rev Vaccines* 2011;10:447.

MF59 Adjuvanlı Aşılarla Yapılan Çalışmalar

- Black ve ark.'ları;
  - 6 ay - 18 yaş arasındaki çocuklarda
  - MF59 adjuvanlı ya da adjuvansız trivalan/tetravalan mevsimsel grip ve MF59 adjuvanlı monovalan H5N1 influenza aşı sonuçlarını içeren 5 klinik çalışma
  - MF59 adjuvanlı aşılarda ciddi yan etkilerde artış olmadığı

Black S, et al. *Vaccine* 2010;28:7331.

MF59 Adjuvanlı Aşılarla Yapılan Çalışmalar

- 43 gebe ile yapılan bir çalışmada;
  - MF59 adjuvanlı aşıların, adjuvansız aşılara göre farklı bir gebelik sonucuna yol açmadığı gözlenmiş
- MF59 adjuvanlı hepatit B aşısının alüminyum adjuvanlı aşılara oranla 100 kat daha potent olduğu saptanmış
- HIV pozitif annelerin yeni doğan bebeklerine
  - doğumda, 2. haftada, 2. ayda, 5. ayda hem MF59'lu hem de aluminyum içeren HIV aşıları kullanılmış
  - yenidoğan bebeklerde güvenilir ve etkili bulunmuş

Tsai T, et al. *Vaccine* 2010;28:1877.
Vogol FR, et al. *Vaccine* 2008:59-71.
Heineman TC, et al. 1999;17:2769-2778.

AS03

- Skualen içeren bir başka adjuvan

- Ayrıca yağda çözünür surfaktan olarak "DL-alpha –tocopherol (vitamin E)" ve suda çözünür surfaktan olarak "Tween 80" içerir

- Adjuvan etkisi;
  - Nötrofillerin enjeksiyon alanına çekilmesi, antijenin monositlere sunulması sonucu yüksek antikor titreleriyle giden bir yanıt oluşur

Morel S, et al. *Vaccine* 2011;doi:2011.01.011.

AS03

- AS03 adjuvanlı H5N1 aşısı;
  - Güvenli ve etkin immün yanıt oluşturduğu saptanmış

- AS03 adjuvanlı H1N1 aşısı;
  - İyi tolere edildiği ve immünojenik olduğu gösterilmiş

Leroux-Roels I et al. *Vaccine* 2010;28:849.

MPL (Monofosforil lipid A)

- Gram negatif hücre duvarından elde edilen lipopolisakkaridden (LPS) detoksifiye edilir
- *Salmonella minnesota* bakterisinin LPS'den elde edilir
- Lipid A kadar etkili, ancak daha az toksik

Agulair JC et al. *Vaccine* 2007;25:3752-3762.

MPL (Monofosforil lipid A)

- **TLR aracılığı ile sinyal iletimi sağlar**

- **IL-2 ve IFN-ϒ sentezini ve salınımını artırarak, hücresel immün cevabı uyarır**

- **Yüksek risk grubu kişilerde diğer lisanslı aşılara oranla daha hızlı, güçlü ve uzun süreli immün yanıt oluşturmaktadır**

Singh M et al. *Pharm Res* 2002;19:715-728.

MPL (Monofosforil lipid A)

- "Fendrix" aşısı adjuvan olarak MPL ve alüminyum (AS04) içerir
  - Renal hastalığı olanlarda, yaşlılarda, immünsupresif hastalarda, sağlıklı ya da rutin aşılara cevap vermeyen hasta gruplarında hepatit B profilaksisinde kullanılmak üzere geliştirilmiş
  - 0, 1, 2 ve 6. aylarda toplam 4 doz uygulama

- En sık görülen yan etkisi;
  - Lokal ağrı

Vogel FR et al. *Vaccines* 2008:59-71.

AS04

- Kullanılacak aşıya göre değişmek üzere alüminyum hidroksit ya da alüminyum fosfat üzerine adsorbe edilmiş MPL'den oluşur

- HBV ve HPV aşıları için ruhsatlı

- Ayrıca HSV, RSV ya da EBV gibi çeşitli etkenlere karşı değerlendirilmekte

Garcon R et al. *Expert Rev Vaccines* 2008:59-71.

AS04

- AS04 adjuvanlı HBV aşısı:"Fendrix”

- AS04 adjuvanlı HPV aşısı: "Cervarix"
  - HPV tip 16 L1 ve HPV tip 18 L1 proteinlerinden oluşur
  - HPV 45 için %94 (HPV 18 ile ilgili), HPV 31 için %55 (HPV 18 ile ilgili) çapraz koruma sağladığı gösterilmiş
  - 0, 1 ve 6. aylarda toplam 3 doz uygulanır
  - Aşının 7. ayda yüksek düzeyde bellek B hücrelerini indüklediği gösterilmiş
  - Kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında ciddi bir yan etkisi yok

Garland SM et al. *Drugs* 2010;70:1079.

MDP (Muramil Dipeptid)

- Mikroorganizmaların adjuvan etkisinden sorumlu
- Tek başına kullanıldığında hümoral immüniteyi indükler
- Lipozomlarla ya da gliserol ile beraber kullanıldığında hücresel immüniteyi güçlü bir şekilde uyarır

Agulair JC et al. *Vaccine* 2007;25:3752-3762.

Virozomlar

- Antijen dağıtım sisteminin bir üyesi
- Virüslerin kılıf proteinlerini içeren lipozomlardır
- Viral genom içermez, enfeksiyon riski yok
- Viral adezyon molekülleri bulunduğundan immün sistem tarafından kolaylıkla tanınır

Moser C et al. *Expert Rev Vaccines* 2007;6:711.

Virozomlar

- İlk kez influenza A virüsü ana virüs olarak kullanılmış
- İnfluenza virozomları 2 şekilde hazırlanmakta;
  - Virüsün kendi lipidleri dışında ek bir lipidin kullanılması
  - Ek olarak yumurtadan türetilmiş ve sentetik lipidlerin kullanılması (IRIV)
- İnfluenza virüsüne yapısal ve işlevsel benzerlikleri nedeniyle antijenin dağıtımını ve sunumunu doğal bir şekilde yaparlar
- Virozom yaklaşımı diğer zarflı virüslere de uygulanmaktadır (kızamık, kızamıkçık, herpes simplex virüs (HSV), kuduz, Epstein Barr virüsü (EBV) ve HIV-1 gibi)

Gluck R et al. *Humana Press* 2000;151.

Virozomlar-Etki Mekanizması

- Dendritik hücrelerin olgunlaşmasını sağlar
- Virozom ve endozomal membranların füzyonu sonucu hemaglütinin ve aşı antijenleri ortaya çıkar
  - Hemaglütinin, sitotoksik T hücre aktivasyonuna neden olur
  - Aşı antijenleri yardımcı T hücre aktivasyonunu sağlar
- Virüs benzeri partikül yapısı ile B lenfositleri aktive ederek IgG sentezini artırır (süperstimülasyon etkisi)
- Hücre dışı degradasyondan kısmi korunma sağlayarak, depo etkisi yapar

Gluck R et al. *Curr Drug Deliv* 2005;2:395-400.

Virozom Adjuvanlı Aşılar

- **İnflexal V;**
  - İnfluenza aşısı
  - Üç monovalan virozom havuzunun bir karışımı
  - Her biri, bir influenza suşunun hemaglütinin ve nöraminidaz glikoproteinlerinden oluşur
  - 38 ülkede ruhsatlı, 40 milyon dozdan fazla kullanılmış
  - Sağlıklı kişilerde olduğu kadar, immünsupresif kişilerde de immünojen ve güvenli

Herzog C, et al. *Vaccine* 2009;27:4381.

Virozom Adjuvanlı Aşılar

- **İnflexal V;**
  - **Belirgin bir lokal enflamasyona neden olmaz**
  - **Anti-fosfolipid antikor yanıtı oluşturmaz**
  - **Çocuklarda, otoimmün hastalıklarda, yumurta alerjisi olanlarda da kullanımı uygun**
  - **3 yaş altı çocuklarda mevsimsel influenzaya karşı normal dozla iki doz aşılamanın, daha önce aşılanmamışlarda immün yanıtın etkin ve güvenilir olduğu saptanmış**

Esposito S, et al. *Vaccine* 2010;28:6137.

Virozom Adjuvanlı Aşılar

- Epaxal;
  - 1995'de lisans alan ilk virozomal aşı
  - Formalinle inaktive edilmiş, saflaştırılmış HAV virionlarını içerir
  - Yaşlılarda ve çocuklarda immünojen ve güvenli
  - Rutin çocukluk çağı aşılarıyla beraber verilmesinin bu aşıların antikor yanıtını etkilemediği ve HAV antikorları içinde bir düşüşün söz konusu olmadığı gösterilmiş

Bovier PA, et al. *J Med V irol* 2008;8:1177.

Virüs Benzeri Moleküller (VPL)

- Boş viral kapsid ya da kapsid proteinleridir
- Virüs genomu (DNA ya da RNA) içermezler, bu nedenle güvenlidirler
- Viral yapı korunmuştur
- Atenüasyon ya da inaktivasyon gerektirmezler
- Virüslerden ya da non-viral kaynaklarda genetik mühendisliği ile rekombinant teknoloji kullanılarak üretilirler

Antonis AF, et al. *Vaccine* 2006;24:5481-5490.

VPL-Etki Mekanizmaları

- B hücreler üzerindeki özgül reseptörlere bağlanarak, B hücre yanıtını uyarırlar

- Dendritik hücrelerin ve monositlerin sitozollerine ulaşamasa da, çapraz sunum yoluyla MHC 1 ile sınırlı sitotoksik T lenfosit yanıtını uyarırlar

- Doğal viriona çok daha benzer epitopları nedeniyle, uyardıkları bağışık yanıt daha etkilidir

Grgacic EVL, et al. *Vaccine* 2006;40:60.

VPL

- Yapısal olarak basit VPL'ler için bakteriler (*E. coli*) ya da mayalar kullanılır

- Mayalardan elde edilmiş VPL'lere dayanan ruhsatlı dört aşı bulunmaktadır
  - HBV aşıları: Rekombivax HB, Engerix B, Hepavax-Gene
  - HPV aşısı: Gardasil

Paul M, et al. *Vaccine* 2010;9:821.

Mukozal Adjuvanlar

- Bilinen en güçlü mukozal adjuvanlar;
  - *Vibrio cholerae* kolera toksini (CT)
  - *Escherichia coli* ısıya dayanıksız enterotoksini (LT)
- Birlikte verildikleri antijene özgül IgA oluşumunu ve uzun ömürlü belleği uyarırlar
- CT, Th2 yanıtını; LT , Th1/Th2 yanıtını uyarır
- CT B alt biriminin kullanıldığı tek aşı: tam hücre ölü kolera aşısı "Dukoral"

Bishop AL, et al. *Vaccines* 2011;10:79.

Aşılarda Kullanılmak Üzere Geliştirilen Deneysel Adjuvanlar

- AS01 ve AS02
  - AS01, lipozom temelli bir adjuvan sistemi
  - AS02, suda yağ emülsiyonu temelli adjuvan sistemi
  - Sıtma, HIV, tüberküloz, HBV aşılarında adjuvan etkileri değerlendirilmektedir
- Lipozomlar ve ISCOM'lar
  - HIV, influenza, EBV, HSV aşı çalışmalarında denenmekteler
- Montanide ISA 720 ve 51
  - Sıtma ve HIV aşılarında denenmekte
- Sitokinler (IL-6, IL-12, IL-15, IL-18, IL-21)

Koruyucular

- Üretim ya da kullanım sırasında istenmeyen bir şekilde aşıya kontamine olan bakteri ya da mantarların büyümesini engelleyen maddelerdir
- Özellikle tekrarlayan multidoz flakonlarda kontaminasyon riskine karşı aşıya eklenirler
- Food and Drug Administration (FDA) tarafından koruyucular için belirtilen tanımın içerdiği mikroorganizmalar;
  - *Candida albicans*
  - *Aspergillus niger*
  - *Escherichia coli*
  - *Staphylococcus aureus*
  - *Pseudomonas aeruginosa*

U. S. Food and Drug Administration Guidance for Industry 2007.

Koruyucular

- Koruyucunun kabul edilebilir olması için, aşı, mikroorganizma ve koruyucudan oluşan test örneğinde 7, 14, 21 ve 28. günlerde yapılan analizlerde;
  - 7. ve 14. günde mayalar, başlangıç inokulum seviyesi ya da altında olmalı
  - 14. günde bakteriler, enfeksiyon oluşturmak için deneysel olarak verilen dozun %0,1'den daha az olmalı
  - 28. günde mikroorganizmaların sayısı 14. gündeki seviyesinde ya da daha altında olmalı

Wilson GS et al. *United States Pharmacopoeia* 2006, 2500.

Koruyucular

- Koruyucular aşılardaki kontaminasyon riskini tamamen ortadan kaldırmaz

- A.B.D.'de lisanslı aşılarda kullanılan başlıca koruyucular;
  - Tiomerosal
  - Fenol
  - 2-Fenoksietanol
  - Benzotonium klorür (femerol)

Wilson GS et al. *United States Pharmacopoeia* 2006, 2500.

Tiomerosal

- Aşılarda en yaygın olarak kullanılan koruyucu madde
- Ağırlığının yaklaşık %50'sini civa oluşturur
- Vücutta metabolize olarak etil civa ve tiyosalisilat'a dönüşür
- Aşıda koruyucu olarak yaklaşık %0.01 oranında tiomerosal bulunur (0.5 mL doz aşıda yaklaşık 25 mikrogram civa, 50 mikrogram tiomersal)

United States Pharmacopoeia 2004.

Tiomerosal

- **Klinik literatürde tiomerosale alerjik yanıtın geliştiği bildirilmiş (gecikmiş tip hipersensitivite yanıtı)**
- **Alerjik yanıttan sorumlu olan başlıca komponenti;**

  "Tiyosalisilat"

- **İçerdiği civa nedeniyle immün, nörolojik, motor ve davranış bozukluğuna özellikle otizme neden olabileceği ileri sürülmüş**
- **Tiomerosal içeren aşılarla otizm ilişkisini kanıtlayan bilimsel veri olmadığı bildirilmiştir**

***ECDC Health Information* 2009.**

Tiomerosal

- Bulunduğu aşılar;
  - İnfluenza Aşıları (Pandemrix, Focetria, Fluval P, Panenza, Celtura, Panvax, Fluvirin)
  - Tifoid Vi Polisakkarid Asışı (Typhim Vi)
  - Pnömokok Polisakkarid Aşısı (Pneumovax 23)
  - Japon Ensefaliti Virüs Aşısı (JE-VAX)

Aşıların İçerdiği Koruyucular

Aşı	Ticari İsmi	İçerdiği Koruyucu Madde
Difteri, Tetanoz, Aselüler Boğmaca Aşısı	İnfanrix	2-Fenoksietanol
Hepatit A Aşısı	Havrix	2-Fenoksietanol
Polio Aşısı	IPOL	2-Fenoksietanol
İnfluenza Aşıları	Pandemrix, Focetria, Fluval P, Panenza, Celtura, Panvax, Fluvirin	Tiomerosal
Japon Ensefaliti Virüs Aşısı	JE-VAX	Tiomerosal

Stabilizatörler

- Aşılardaki proteinlerin ve karbonhidratların çevre koşullarından etkilenerek inaktive olmaması için kullanılırlar
- Antijen miktarının çok küçük olduğu durumlarda dolgu maddesi oluşturmak üzere kullanılırlar

- Aşılarda stabilizatör olarak kullanılan maddeler;
  - Şekerler (sukroz, laktoz)
  - Amino asitler (glisin, monosodyum glutamat (MSG))
  - Proteinler (insan serum albümini, jelatin)
  - Tuzlar (magnezyum, NaCl)

Aşıların İçerdiği Stabilizatörler

Aşı	Ticari İsmi	İçerdiği Stabilizatör
Tifo Aşısı	Vivotif	Sukroz, Amino asit karışımı, Laktoz, Magnezyum sitrat
İnfluenza Aşısı	FluMist	Sukroz, KP04
Kızamık, Kızamıkçık, Kabakulak Aşısı	M-M-R	MSG, Sorbitol, Jelatin
Varisella Aşısı	Varivax	Sukroz, Fosfat, Glutamat, MSG, Jelatin
Sarı Humma Aşısı	YF-VAX	Jelatin, Sorbitol
Kuduz	RabAvert	Polijelin, Potasyum glutamat
Hemofilus tip B Konjuge Aşısı	ActHIB	Sukroz
Meningokokal Polisakkarid Grup A, C, Y, W-135 Aşısı	Menomune	Laktoz

Antibiyotikler

- Aşı üretimi sırasında aşı flakonlarına bakterilerin büyümesini engellemek için ilave edilir

- Aşılarda kullanılan antibiyotikler;
  - Streptomisin
  - Polimiksin-B
  - Neomisin
  - Gentamisin

Aşıların İçerdiği Antibiyotikler

Aşı	Ticari İsmi	Antibiyotik
İnfluenza Aşısı	FluMist	Gentamisin
Kızamık, Kızamıkçık, Kabakulak Aşısı	M-M-R	Neomisin
Varisella	Varivax	Neomisin
Kuduz	RabAvert	Neomisin

Sonuç-1

- Katkı maddeleri, aşı içerisine bağışıklayıcı antijeni stabilize etmek ve bakteri kontaminasyonunu engellemek için eklenen çeşitli kimyasal maddelerdir
- Koruyucular, stabilizatörler, antibiyotikler ve adjuvanlardan oluşur
- Koruyucular, üretim ya da kullanım sırasında istenmeyen bir şekilde aşıya kontamine olan bakteri ya da mantarların büyümesini engelleyen maddelerdir
- Başlıca koruyucular; tiomerosal, fenol, 2-fenoksietanol ve benzotonium klorürdür

Sonuç-2

- Stabilizatörler, aşılardaki proteinlerin ve karbonhidratların çevre koşullarından etkilenerek inaktive olmaması için kullanılırlar

- Başlıca stabilizatörler; sukroz, laktoz, glisin, MSG, insan serum albumini, jelatin, magnezyum ve NaCl'dir

- Antibiyotikler, aşı üretimi sırasında aşı flakonlarına bakterilerin büyümesini engellemek için ilave edilir

- Aşılarda kullanılan antibiyotikler; streptomisin, neomisin, gentamisin ve polimiksin-B'dir

Sonuç-3

- Adjuvanlar, kendileri immünojen olmayan, antikor oluşturmayan ancak verildikleri antijeninin immünojenitesini artıran, güçlendiren maddelerdir

- Kullanım onayı olan adjuvanlar; alum, MF59, AS03 ve AS04'tür

- Önümüzdeki yıllarda geliştirilen adjuvanlar sayesinde, zor enfeksiyonlardan korunmak ve tedavi aşılarının geliştirilmesi mümkün olabilecektir

BUHASDER

Teşekkürler