

Aleksandra Goloś, Anna Lutyńska

ADIUWANTY GLINOWE W SZCZEPIONKACH – AKTUALNY STAN WIEDZY

Zakład Badania Surowic i Szczepionek
Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego – Państwowego Zakładu Higieny
w Warszawie

STRESZCZENIE

Związki glinu w postaci wodorotlenku glinu i fosforanu glinu są powszechnie używane jako adiuwanty w szczepionkach do stosowania u ludzi od wielu lat. Ich rola polega na zwiększaniu efektywności odpowiedzi immunologicznej indukowanej przez zawarte w szczepionce antygeny m.in. przez wywoływanie efektu depot w miejscu wstrzyknięcia, aktywację dopełniacza i stymulację makrofagów.

Liczne kliniczno-kontrolne badania oraz badania laboratoryjne prowadzone z wykorzystaniem modeli zwierzęcych *in vivo*, potwierdziły bezpieczeństwo stosowania związków glinu jako adiuwantów szczepionek, w tym podawanych niemowlętom i dzieciom.

Pomimo że pewne szczepionki zawierające w składzie adiuwant glinowy wykazują ograniczenia związane m.in. z brakiem aktywności indukcji odpowiedzi limfocytów szlaku Th1 i brakiem stabilności w temperaturze poniżej 2°C, ich profil bezpieczeństwa oraz niski koszt wytwarzania potwierdzają zasadność ich zastosowania.

Słowa kluczowe: szczepionki, adiuwant glinowy, bezpieczeństwo

WSTĘP

Adiuwanty są powszechnie stosowane jako składniki szczepionek stosowanych u ludzi w celu zwiększenia odpowiedzi immunologicznej indukowanej przez inaktywowane wirusowe i bakteryjne antygeny szczepionkowe, toksoidy bakteryjne i polisacharydy. Nie są one jednak składnikami szczepionek zawierających żywe atenuowane drobnoustroje.

Liczne badania potwierdziły, że inaktywowane antygeny szczepionkowe bez adiuwanta nie były zdolne do efektywnego zwiększenia i wydłużenia czasu utrzymywania się odpowiedzi przeciwciał, obserwowanego kiedy w składzie stosowanych szczepionek znajduje się adiuwant (1). Korzystne działanie adiuwantów na efektywność odpowiedzi immunologicznej wynika z:

- wywoływania efektu depot w miejscu wstrzyknięcia, połączonego z powolnym uwalnianiem antygeny, co ułatwia dostępność antygeny komórkom prezentującym antygen (ang. APC),
- stabilizacji konformacji epitopów, stymulacji makrofagów w celu indukcji retencji i aktywacji limfocytów,

- aktywacji układu dopełniacza (1, 2, 3).

Dzięki licznym właściwościom stymulującym odpowiedź immunologiczną, obecność adiuwanta umożliwia zmniejszenie ilości zastosowanego antygeny na pojedynczą dawkę szczepionki, a także liczby dawek w stosowanym schemacie szczepienia, niezbędnych do wywołania skutecznego efektu uodpornienia (4).

W ostatnim czasie media niejednokrotnie kwestionowały bezpieczeństwo stosowania szczepionek, w składzie których obecne są adiuwanty w postaci związków glinu. Wydaje się, że obawy te zajęły miejsce kwestionowanego wcześniej bezpieczeństwa szczepionek zawierających tiomersal, które nie zostały w sposób wiarygodny potwierdzone, a sam tiomersal został praktycznie wyeliminowany z większości szczepionek stosowanych u ludzi.

Adiuwanty glinowe były pierwszymi substancjami pomocniczymi, które zostały zatwierdzone jako bezpieczny składnik szczepionek stosowanych u ludzi (5). Od wielu lat są z powodzeniem wykorzystywane do zwiększenia efektywności odpowiedzi immunologicznej wielu antygenów szczepionkowych, a tym samym poprawy efektywności prowadzonych szczepień.

Wodorotlenek glinu i fosforan glinu są adiuwantami najczęściej stosowanymi w szczepionkach, podawanych zgodnie z zalecanym schematem szczepień, ze względu na udowodniony i powszechnie akceptowany profil bezpieczeństwa (2). Pomimo że adiuwanty skutecznie indukują odpowiedź limfocytów typu Th2, ich mechanizmy działania nie zostały w sposób dokładny scharakteryzowane (6). Cechują się także niskim potencjałem wywoływania odpowiedzi typu komórkowego i nie są efektywne w połączeniu z antygenami peptydowymi (3).

Adiuwanty glinowe po raz pierwszy zastosowane zostały w szczepionkach przeciw błonicy, tężcowi i krztuścowi i inaktywowanych szczepionkach przeciw polio, a wraz z postępem wakcynologii zostały wprowadzone do składu szczepionek przeciw wirusowemu zapaleniu wątroby typu A i B oraz szczepionek inaktywowanych przeciw kleszczowemu zapaleniu mózgu (2). Obecnie większość szczepionek inaktywowanych jest adsorbowana na wodorotlenku glinu, a tylko niektóre tj. skoniugowane szczepionki przeciw meningokokom i pneumokokom są adsorbowane na fosforanie glinu. Relatywnie rzadko stosowana jest kombinacja obu tych adiuwantów.

WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE ADIUWANTÓW GLINOWYCH

Adiuwanty glinowe w literaturze anglojęzycznej często określane są jako związki zawierające glin: „alum”. Należy jednak unikać stosowania tego określenia, ponieważ odnosi się ono do konkretnego związku chemicznego, tj. uwodnionego siarczanu glinu, który nie jest stosowany jako adiuwant w szczepionkach przeznaczonych do stosowania u ludzi (7). Szczepionki zawierające adiuwant glinowy są uzyskiwane przez adsorpcję antygeny szczepionkowego na żelu wodorotlenku glinu lub fosforanu glinu (8). Powszechnie stosowane nazwy, tzn. wodorotlenek glinu i fosforan glinu, niedokładnie opisują ich rzeczywistą strukturę. Analizy krystalografii rentgenowskiej wskazują, że wodorotlenek glinu jest w rzeczywistości tlenowodorotlenkiem krystalicznym glinu ($\text{AlO}(\text{OH})$), a fosforan glinu amorficznym hydroksyfosforanem glinu $\text{Al}(\text{OH})_x(\text{PO}_4)_y$ (9). Związki te uzyskuje się w dokładnie określonym i kontrolowanym środowisku chemicznym przez poddanie wodnych roztworów jonów glinu, występujących często w postaci rozpuszczalnych soli chlorku glinu lub siarczanu glinu, działaniu warunków środowiska alkalicznego (2). Awidność wiązań adiuwanta i antygeny zależy od wielu czynników, tj. zastosowanej postaci soli glinu, właściwości fizykochemicznych antygeny, włącznie z jego masą cząsteczkową, sposobu wytwarzania kompleksu antygen-adiuwant oraz pH środowiska reakcji

(10). Główną różnicą pomiędzy tlenowodorotlenkiem glinu i hydroksyfosforanem glinu jest punkt zerowego ładunku (ang. PZC), który dla tlenowodorotlenku glinu szacowany jest na pH 11,0, a dla fosforanu glinu na pH 4,0 – 5,5. PZC określa wartość pH, w którym powierzchnia zawiesiny ciała stałego w roztworze wodnym posiada zerowy ładunek elektryczny. Wartość PZC jest zatem cechą decydującą o wyborze optymalnego adiuwanta dla danego antygeny szczepionkowego, co jest również uzależnione od ładunku samego antygeny (6). Reasumując, efektywna adsorpcja antygeny zależy od wartości pH uzyskiwanego w zakresie punktu izoelektrycznego (ang. IEP) antygeny i PZC adiuwanta, gwarantujących przeciwstawność ładunków elektrycznych, a w konsekwencji optymalny poziom przyciągania elektrostatycznego i efektywną adsorpcję (2). W związku z powyższym, wodorotlenek glinu efektywnie adsorbuje antygen charakteryzujący się kwasową wartością IEP, a fosforan glinu - antygeny z alkaliczną wartością IEP (11).

W praktyce wybór odpowiedniego adiuwanta dla określonego rodzaju antygeny decyduje o poziomie wzbudzonej immunogenności i skuteczności szczepionki. W szczepionkach DNA, zastosowanie wodorotlenku glinu jako adiuwanta powodowało obniżenie immunogenności, natomiast fosforan glinu skutecznie wzmacniał poszczepienną odpowiedź immunologiczną (12, 13).

Pomimo że adiuwanty glinowe są powszechnie stosowane, posiadają również pewne ograniczenia tj. wrażliwość na tzw. przemrożenie, co wyklucza możliwość ich liofilizacji (2). Narażenie szczepionek z adiuwantem glinowym na przechowywanie w warunkach poniżej temperatury 2°C, powoduje nieodwracalne zerwanie struktury usieciowania wiązań między adiuwantem i antygenem, co obniża immunogenność szczepionki i wpływa na wzrost ryzyka wystąpienia miejscowych działań niepożądanych (14).

BEZPIECZEŃSTWO SZCZEPIONEK Z ADIUWANTEM GLINOWYM

Udowodniono, że adiuwanty glinowe nie są czynnikami rakotwórczymi i teratogennymi (15). Bardzo wysokie dawki glinu mogą być toksyczne, przy czym bezpieczne stężenia glinu u ludzi zostały ściśle zdefiniowane i wynoszą 2 mg/kg na dzień. Należy podkreślić, że ekspozycja na glin zawarty w szczepionkach jest znacznie mniejsza niż ekspozycja na glin pochodzący z diety (16), pomimo że związki glinu zawarte w składzie szczepionek nie przechodzą przez ściany przewodu pokarmowego, który jest istotną barierą jego wchłaniania (17).

W Europie maksymalna dopuszczalna zawartość glinu w szczepionkach do stosowania u ludzi, zgodnie

z wymaganiami aktualnego wydania Farmakopei Europejskiej wynosi 1,25 mg na dawkę szczepionki.

Związki glinu niekiedy mogą powodować reakcję alergiczną. Do najczęściej obserwowanych działań niepożądanych związanych z podaniem szczepionki z adiuwantem glinowym należą łagodne, szybko przemijające bolesne i swędzące guzki lub zaczerwienienie w miejscu wstrzyknięcia (15).

Metaanaliza rejestrowanych niepożądanych odczynów poszczepiennych po podaniu szczepionek przeciw błonicy, tężcowi i krztuścowi adsorbowanych na solach glinu nie wykazała poważnych i długotrwałych działań niepożądanych (18). Dotychczas odnotowano zaledwie kilka przypadków nadwrażliwości na glin w postaci miejscowego lub układowego zapalenia skóry (19).

Doniesienia o potencjalnym wpływie ekspozycji na glin pochodzący ze szczepionek na rozwój choroby Alzheimera nie zostały udowodnione, tym bardziej że poziom glinu adsorbowanego przez organizm z żywności jest znacznie większy niż ten pochodzący ze szczepionek (15).

Światowy Komitet Doradczy ds. Bezpieczeństwa Szczepień (ang. GACVS) jako organ doradczy Światowej Organizacji Zdrowia w raporcie wydanym w czerwcu 2012 roku potwierdził brak naukowych dowodów o jakimkolwiek szkodliwym wpływie szczepień z zastosowaniem szczepionek zawierających adiuwanty glinowe na zdrowie oraz brak ryzyka rozwoju autyzmu (20 - 22). Ponadto, GACVS zwrócił uwagę na wiele błędnych wniosków na temat ryzyka rozwoju chorób neurologicznych, wynikających ze stosowania szczepionek zawierających związki glinu, w tym brak wiarygodnych wyników badań ekologicznych w tym zakresie. Niemniej jednak, GACVS zaleca kontynuację badań klinicznych i epidemiologicznych w zakresie monitorowania i dalszego potwierdzenia bezpieczeństwa stosowania adiuwantów glinowych (22).

Bezpieczeństwo stosowania szczepionki przeciw wirusowi brodawczaka ludzkiego (ang. HPV) zawierającej w składzie adiuwant glinowy zostało również potwierdzone w stanowisku GACVS wydanym 12 marca 2014 r. W analizowanych danych dotyczących częstości występowania objawów rzadkiej choroby mięśni charakteryzującej się m.in. mikroskopową martwicą mięśni w miejscu ogniska zapalnego (ang. MMF) zawierającą sole glinowe, początkowo łączonych z podawaniem szczepionek zawierających adiuwant glinowy, GACVS nie znalazł żadnego potwierdzenia naukowego na temat potencjalnego związku między adiuwantem glinowym znajdującym się w szczepionce przeciw HPV i reakcjami skórny występującym w miejscu wstrzyknięcia z żadnym zespołem autoimmunologicznym (23). Europejska Agencja Leków (ang. European Medicines Agency, EMA) przeprowadziła analizę profilu bezpieczeństwa zarejestrowanych szczepionek

przeciw HPV pod kątem oceny prawdopodobieństwa zachodzenia związku przyczynowo – skutkowego między ich podaniem, a występowaniem rzadkich zespołów bólu i dysfunkcji autonomicznego układu nerwowego (24). Przeprowadzona ocena dostępnych wyników badan nie wykazała związku przyczynowego między podaniem szczepionki przeciw HPV a występowaniem zespołów chorobowych, takich jak kompleksowy zespół bólu regionalnego (ang. CRPS) lub zespół posturalnej tachykardii ortostatycznej (ang. POTS) (25).

Na podstawie wyników badań farmakokinetycznych wchłaniania związków glinowych ze szczepionek zawierających adiuwanty glinowe *in vivo*, przeprowadzonych na królikach z użyciem izotopu ^{26}Al jako znacznika, poprzez pomiar stężenia glinu w krwi i moczu, oszacowano, że po podaniu dorosłemu człowiekowi dawki szczepionki zawierającej 0,85 mg glinu, stężenie tego pierwiastka w osoczu może wzrosnąć o ok. 0,04 ng/ml czyli o ok. 0,8% w porównaniu do stężenia glinu w osoczu (26). Zgodnie z wyżej przedstawionymi wynikami badań, hipoteza, że ilość glinu w organizmie po podaniu pojedynczej dawki ludzkiej znacząco przyczynia się do ogólnego narażenia na niekorzystne efekty zdrowotne u ludzi, związane z dostarczoną do organizmu glinem lub do zwiększenia stężenia glinu w surowicy ludzkiej, jest wysoce wątpliwa (2).

Bezpieczeństwo stosowania szczepionek zawierających adiuwant glinowy podawanych zgodnie z ustalonym schematem szczepień zostało także potwierdzone wynikami badań farmakokinetycznych przeprowadzonych przez amerykańską Agencję Żywności i Leków (ang. FDA) (17). Wyniki FDA zaktualizowały wykonane uprzednio badania toksykokinetyczne obecnego w szczepionkach glinu, w których okres półtrwania eliminacji glinu z organizmu oszacowano w przybliżeniu na 24 godziny. Rezultaty wyżej omówionych badań wskazują, że korzyści stosowania szczepionek, w tym zawierających glin, znacznie przewyższają wszelkie teoretyczne obawy o potencjalnie negatywne skutki wpływu glinu na zdrowie niemowląt.

Analiza szczepień obowiązkowych wykonywanych w ciągu pierwszego roku życia zgodnie z Programem Szczepień Ochronnych (PSO) prowadzonych w Polsce wykazała, że narażenie na glin pochodzący ze szczepionek jest dużo niższe w porównaniu do szczepień obowiązkowych prowadzonych zgodnie z amerykańskim programem szczepień ochronnych. Wykonanie wszystkich szczepień według zaleceń Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) z 2011 roku wiązało się z maksymalną ekspozycją na glin niemowląt w pierwszym roku życia wynoszącą 4,225 miligramów Al^{3+} . Przyjmując takie same kryteria podczas analizy PSO w Polsce obowiązującego w 2015 r. (28), ekspozycja na glin u niemowląt w pierwszym roku życia została oszacowana na 2,850 miligramów Al^{3+} (tab I).

Należy podkreślić, że maksymalna dopuszczalna zawartość glinu w pojedynczej dawce szczepionki jako 1,25 mg znajduje się znacznie powyżej autentycznych wartości. Stężenia stosowane i zatwierdzone w specyfikacjach przez organy uprawnione w pojedynczej dawce szczepionki stosowanej u ludzi są przeważnie nawet dwu-trzykrotnie niższe. Na przykład zgodnie z Charakterystyką Produktu Leczniczego, pełnokomórkowa szczepionka DTP (IBSS BIOMED S.A.) przeciw błonicy, tężcowi i krztuścowi zawiera nie więcej niż 0,7 mg Al^{3+} na dawkę, a Engerix B (GSK Biologicals S.A.) i Euvax B (LG Life Science Poland Sp. z o. o.) - szczepionki przeciw WZW B, stosowane u niemowląt, zawierają 0,25 mg Al^{3+} na dawkę.

PODSUMOWANIE

Adiuwanty glinowe są powszechnie stosowane w szczepionkach od ponad sześciu dekad, a ich skuteczność i bezpieczeństwo są niepodważalne. Pomimo że niektóre szczepionki z adiuwantem glinowym wykazują pewne ograniczenia m.in. dotyczące braku stabilności w temperaturze poniżej 2°C oraz aktywacji limfocytów

szlaku Th1, ich profil bezpieczeństwa i niski koszt produkcji decydują o korzyściach ich stosowania zwłaszcza w krajach rozwijających się. Kontynuacja badań adiuwantów występujących w postaci związków glinu w kontekście dokładnego wyjaśnienia mechanizmów indukcji odpowiedzi immunologicznej lub poprawy ich stabilności w niekorzystnych warunkach przechowywania może pozytywnie wpłynąć na zastosowanie w szczepionkach nowych pochodnych lub innych wariantów adiuwantów glinowych.

Otrzymano: 13.10.2015 r.

Zaakceptowano do druku: 12.11.2015 r.

Adres do korespondencji:

Aleksandra Gołoś

Pracownia Immunochemii

Zakładu Badania Surowic i Szczepionek

Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego – Państwowe-
go Zakładu Higieny

w Warszawie

ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa

e-mail: agolos@pzh.gov.pl

tel.: (22) 5421347