



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA**

**TIPOS DE ADYUVANTES Y SU PAPEL EN
LA MODULACIÓN DE LA REPUESTA
INMUNE.**

**Seminario de Titulación
TÓPICOS SELECTOS EN BIOLOGÍA**

TESINA

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

PRESENTA

MARCELA ALCÁZAR SUJUL

DIRECTOR DE TESIS: DR. MARCO AURELIO RODRIGUEZ MONROY

LOS REYES, IZTACALA

OCTUBRE, 2008



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por formar profesionistas de alta calidad y de gran sentido humano.

Al Dr. Sergio Cházaro Olvera Director de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala de la UNAM, por abrir caminos que se transforman en uno solo.

Al Dr. Marco A. Rodríguez Monroy Profesor Carrera de Medicina, por su ayuda desinteresada en la realización de este trabajo y por su gran calidad humana.

A Ma. Eugenia, Vanny, Margarita, Tzasna, Sergio, Marco, Marcela, Jorge, Ma. de los Angeles, José Angel, Irma Elena, Elias, Silvia, José Daniel, Jonathan y Angel, profesores del 5° Seminario de Titulación “Tópicos selectos en Biología” por enseñarme que los sueños no tienen límites.

Al M. en C. Sergio Stanford Camargo y a la Biol. Marcela Patricia Ibarra, por ser las personas que me impulsaron a terminar aquello no concluido.

DEDICATORIA

A mis hijas Tania y Gaby, porque me enseñaron la responsabilidad más grande y la alegría absoluta.

A Tamayo por ser la persona que siempre ha estado a mi lado, que le ha dado un toque de locura, amor y ternura a mi vida.

A mi papá y mamá por ser el mejor regalo que Dios me dio, por brindarme momentos inolvidables que atesoro con gran cariño.

A mis hermanos Miguel, Melba, Aurora, Paty, Lupe, Leonardo, Gabriel y Carmen por ser los mejores amigos que no elegí, pero que la vida me dio.

A mis amigos y familiares que han compartido conmigo los momentos felices y difíciles.

ÍNDICE

Resumen	5
Introducción	6
Clasificación de los adyuvantes inmunológicos	8
Acción Terapéutica de los diferentes tipos de inmunomoduladores	12
Mecanismos de acción de los adyuvantes inmunológicos	17
Nuevos adyuvantes	18
Referencias.	23

TIPOS DE ADYUVANTES Y SU PAPEL EN LA MODULACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE

I. Resumen

La búsqueda de nuevas sustancias con actividad inmunopotenciadora es una de las líneas más importantes en investigación de la inmunología actual. El presente trabajo es una revisión general de los diferentes tipos de adyuvantes inmunológicos que se han utilizado para estimular la resistencia específica y no específica del huésped contra enfermedades infecciosas y el cáncer. Así como la potenciación de la inmunogenicidad de las vacunas. Se describe la clasificación de Vaselón como la de mayor aceptación aunque existen otras clasificaciones. Se menciona el mecanismo de acción de algunos de los adyuvantes más utilizados en el tratamiento de inmunodeficiencias, infecciones y cáncer. Por último se reporta las nuevas tendencias, proteínas recombinantes, toxina colérica, endotoxina de *Escherichia coli*, inyección de plásmidos, adyuvantes genéticos y sustancias tratadas magnéticamente.

II. Introducción

Los seres superiores defienden constantemente su integridad biológica frente a agresiones, procedentes del exterior así como del propio organismo. De no ser así, morirían como consecuencia de tumores e infecciones de bacterias, virus, hongos, etc. Para que estos fenómenos de defensa se lleven a cabo, los organismos disponen de un conjunto de elementos especiales, conocido como *sistema inmune*. La capacidad de defensa se adquiere antes de nacer y se madura y consolida en los primeros años de la vida fuera del seno materno (2).

En general, a las sustancias extrañas se las denomina como antígenos, y son ellos los que desencadenan en el organismo una serie de eventos celulares que provocan la producción de los mecanismos de defensa (2).

Los mecanismos de respuesta se dividen en específicos y no específicos. En los primeros participan moléculas como los anticuerpos, y linfocitos T capaces de combinarse específicamente con antígenos, mientras que los segundos abarcan todos aquellos fenómenos que exhibe un organismo normal, que le permite excluir o eliminar gérmenes por medio de barreras, moléculas y células no específicas. Dentro de estos mecanismos se encuentran principalmente barreras mecánicas y químicas, el fenómeno inflamatorio que incluye la fagocitosis, la acción de moléculas como los interferones y el complemento (2).

Para mantener la integridad del organismo e impedir la penetración masiva de gérmenes, los organismos multicelulares desarrollaron tempranamente barreras mecánicas que en el humano están representadas por la piel y las mucosas (2).

No obstante estos mecanismos funcionan adecuadamente, en pequeñas raspaduras o traumatismos en la piel y en las mucosas pueden penetrar microorganismos al interior de los tejidos. Al penetrar los gérmenes, se liberan o generan sustancias con actividad farmacológica que inician uno de los mecanismos de protección más importantes: el fenómeno inflamatorio. El fenómeno inflamatorio se hace mucho más efectivo cuando se induce la respuesta inmunológica específica humoral y celular. Apareciendo los

anticuerpos como una respuesta específica y se fija el complemento y se activan los macrófagos (2).

La observación de que algunas enfermedades infecciosas difícilmente se repetían en el mismo individuo, condujo a la búsqueda de los factores y mecanismos que se hallaban involucrados en dicho fenómeno (3).

Las vacunas fueron las primeras medidas preventivas que se utilizaron y se basan en microorganismos vivos se multiplican en el individuo receptor y por lo tanto la producción antigénica se desarrolla en forma logarítmica hasta alcanzar el inicio de la respuesta inmune proyectada. Las vacunas de este tipo (Ej.: sarampión, rubéola, paperas) requieren de una sola dosis para obtener inmunidad por varios años. En contraste, las vacunas producidas basándose en microorganismos muertos inactivados o subunidades de vacuna requieren de repetidas dosis y refuerzos, necesarios para desarrollar y mantener una inmunidad adecuada (Ej.: difteria, tétanos, tos ferina, rabia) (3).

Hoy en día se conocen también los adyuvantes que son sustancias empleadas como complemento en el tratamiento principal de las enfermedades y tratándose de enfermedades infectocontagiosas, los adyuvantes son capaces de favorecer la aparición de mayores concentraciones de anticuerpos cuando se combinan con sustancias antigénicas. Los adyuvantes no necesariamente necesitan ser antigénicos entre sí, ya que hay sustancias que sin relación alguna, refuerzan la reactividad inmunitaria ante los antígenos (3).

Los resultados favorables para tratamiento de algunas enfermedades en las que se utilizan adyuvantes han mostrado ser efectivos. Este trabajo de revisión intenta abordar el estado actual de desarrollo y los principales resultados obtenidos con los adyuvantes, a partir de las ventajas que proporcionan y de su clasificación. Se mencionan, además, las tendencias en el desarrollo de adyuvantes que vislumbran nuevos campos en la investigación sobre vacunas.

III. Clasificación de los adyuvantes inmunológicos

La dosis del inmunógeno es un factor importante para lograr una respuesta inmunológica, ya que cantidades excesivas o mínimas del antígeno pueden inducir el fenómeno de tolerancia, el cual se define como un estado de no respuesta a un antígeno en particular. Por esta razón se utiliza preferentemente el antígeno acompañado de un inmunopotenciador o adyuvante (2).

Los adyuvantes son sustancias o procedimientos que aceleran, prolongan o potencian la respuesta inmune específica contra los antígenos inoculados. La palabra adyuvante proviene del latín *adjuvare*, que significa ayudar (3).

Los adyuvantes inmunológicos se comenzaron a desarrollar a partir de la segunda década del siglo XX. En 1923 Francia, Gastón León Ramón uso con éxito en humanos la anatoxina (toxoides) diftérica y colaboradores observaron que los caballos que desarrollaban abscesos en el sitio de inyección del toxoide diftérico, generaban mayores títulos de anticuerpos específicos que aquellos que no los tenían. Posteriormente, se reportó que los abscesos generados por la inyección de sustancias extrañas junto con el toxoide, aumentaban la respuesta antitoxina en caballos (3,4).

En 1926, Glenny demostró la actividad adyuvante de los compuestos de aluminio mediante el uso de una vacuna de toxoide (5). En la actualidad, los adyuvantes de aluminio (fosfato e hidróxido de aluminio) continúan siendo los adyuvantes inmunológicos más ampliamente usados y los únicos presentes en las vacunas licenciadas en los Estados Unidos.

En 1936, Freund desarrolló una emulsión de agua en aceite mineral que contiene micobacterias muertas, lo que actualmente se conoce como adyuvante completo de Freund (ACF) (19). El ACF es uno de los adyuvantes más poderosos, pero es muy reactogénico para ser usado con fines clínicos. Aun así, el adyuvante incompleto de Freund (AIF) la emulsión sin la adición de la micobacteria muerta ha sido empleado en formulaciones vacunales en humanos (3).

En 1956, Johnson demostró la actividad adyuvante de la endotoxina lipopolisacáridica (LPS) proveniente de una bacteria gramnegativa. Estos estudios son la base del uso actual del LPS detoxificado o de sus componentes como candidatos de adyuvantes para uso en humanos (19).

En 1974, Lederer y colaboradores identificaron el muramildipéptido (MDP) como un componente con actividad adyuvante de la micobacteria presente en el ACF (19). Más recientemente, otros compuestos de origen bacteriano han sido identificados y caracterizados, y se ha comprobado su función inmunomoduladora e inmunopotenciadora como parte del ACF (19).

El antígeno libre normalmente difunde muy rápidamente desde los tejidos locales que rodean el sitio de inyección, y una importante función de algunos adyuvantes es contrarrestar esto, provocando un reservorio de antígeno de larga vida, ya sea extracelular o dentro de los macrófagos (5).

Los adyuvantes son preparados químicos o biológicos, que incorporados junto al antígeno en un organismo dado (vertebrados) hacen más efectiva la respuesta inmune. Otra ventaja de estas sustancias además de un ahorro de tiempo y antígeno es que la respuesta es más rápida, fuerte y duradera. Se ha comprobado que los adyuvantes inmunológicos desempeñan una función muy importante en los procesos de inducción y activación de la respuesta inmune, al producir el reclutamiento y activación de células accesorias y la inducción de coestimuladores de la respuesta inmune (7).

Los adyuvantes han sido utilizados por más de 70 años para aumentar la respuesta inmune específica (6).

Existen diferentes tipos de clasificaciones de adyuvantes

La de Vanselón en 1989. (8) Que la divide de la siguiente manera:

Sustancias Biológicas	Microorganismos y sus productos, como las microbacterias de la tuberculosis, incorporados a la adyuvante completo de Freund (AFC), o mezcla de toxinas bacterianas, usualmente derivadas de estreptococos, serratias, virus, saponinas, vitaminas A y E, lanolina y otras.
Productos químicamente definidos de hongos, bacterias y algas	Dipéptido murámico (MDP), trehalosa dimicolato. (TDM), proteína P40 asociada al peptidoglicano de la pared bacteriana, lípido A, lipopolisacárido (LPS) proveniente de bacterias gramnegativas, glucanos de hongos y polisacáridos de algas.
Productos biológicos del sistema inmune Citoquinas	Citoquinas (IL-2, INF α .)
Productos sintéticos análogos a los biológicos	Componentes de paredes bacterianas.
Preparaciones químicas	Compuestos del aluminio: Al(OH) ₃ , Al ₂ (SO ₄) ₃ , Ca ₃ (PO ₄) ₂ , K ₂ PO ₄ , sulfato de dextrano y liposomas, así como solución de sales de NaCl, tratada magnéticamente. (CM – 95).

En 1993 Audivert et. al. identificaron 4 fuentes fundamentales de inmunoadyuvantes:

- Las vegetales, donde incluyen las saponinas o extractos de glucanos.
- Las bacterianas como fosforil lípido A, trehalosa dimcolato, toxina colérica, lipopolisacáridos o sus derivados
- Las químicas como hidróxido de aluminio, emulsiones, micropartículas y macropartículas
- Las citoquinas (INF α o GM-CSF) y hormonas (9).

Por su parte, en 1997 Klein et. al. dividen los adyuvantes inmunológicos en:

- Oleosos,
- Sales minerales,
- Polímeros sintéticos,
- Liposomas
- y sustancias naturales.

En el 2000 Salager, profundizó en los adyuvantes oleosos que forman emulsiones, incluyó en estos a las sustancias tensioactivas y su modo de acción (11).

En sentido general se ha aceptado la clasificación planteada desde 1989 por Vanselón, que en su concepción inicial no ha cambiado, a pesar de los nuevos enfoques referidos en toda década de los 90; sin embargo, se han intensificado los estudios para el uso de cada tipo de adyuvante en vacunas humanas y veterinarias (16, 17).

IV. Acción Terapéutica de los diferentes tipos de inmunomoduladores

Se ha designado inmunógeno a toda sustancia que puede inducir una respuesta inmunológica humoral o celular. Entre las características más importantes que poseen los inmunógenos están las de ser generalmente sustancias extrañas al organismo, presentar grupos químicos que les confieren cierta rigidez estructural, tener alto peso molecular y ser susceptibles de metabolizarse parcialmente por células especializadas como los macrófagos.

Según Taks (1992) las sustancias inmoduladoras tienen la capacidad de modular la respuesta inmune, sea estimulándola o suprimiéndola, es decir son sustancias que estimulan o aumentan indirectamente el sistema inmune. Con frecuencia, estos agentes se enfocan en células claves del sistema inmune y causan respuestas secundarias tales como una mayor producción de citocinas y de inmunoglobulinas (1).

Cuando existen inmunodeficiencias como infecciones (virales y bacteriales) así como en el tratamiento de cáncer, las radiaciones y los medicamentos utilizados rompen el equilibrio del sistema inmune y los inmunopotenciadores juegan un papel importante. Dos agentes inmunomoduladores no específicos que se usan en el tratamiento del cáncer son el bacilo de Calmette-Guerin (BCG) y el levamisol (1).

Hoy en día se conoce como inmunoquimioterapia a la combinación de sustancias inmunopotenciadoras y quimioterapia o radioterapia (12).

Al lo usos mencionados se une la posibilidad de potenciar la inmunogenicidad de vacunas con antígenos sintéticos, incluidas las de nueva generación, así como la inmunización experimental para obtener antisueros policlonales y anticuerpos monoclonales; (13) en este último caso, a los inmunopotenciadores se les denomina adyuvantes inmunológicos. Es por ello que la inmunología experimental contempla investigaciones dirigidas a conseguir y evaluar nuevas sustancias con actividad inmunomoduladora y mayos fuerza para inmunopotenciar, o sea, para estimular la respuesta inmune.

Los inmunomoduladores actúan a diferentes niveles del sistema inmune, por la necesidad de desarrollar agentes que puedan inhibir o intensificar selectivamente poblaciones o subpoblaciones de células para la respuesta inmune, tales como: linfocitos, macrófagos, neutrófilos, células asesinas NK y citotóxicas (CTL), o producir mediadores solubles como las citoquinas (12, 14).

Bacilo de Calmette-Guering (BCG).

BCG es una cepa atenuada de *Mycobacterium bovis*. Es un estimulante de la respuesta inmune, tiene acciones específica e inespecífica cuya acción principal es estimular los linfocitos, estimular las células asesinas (NK), activar la acción destructora de los macrófagos y formar los granulomas (macrófago asociado al epitelio), y la producción de interleuquina 2 (IL-2). Se aplica en la vacuna terapéutica contra el cáncer de vejiga, ovario, colon y melanomas.

Levamisol.

Actúa de forma inespecífica; es capaz de restaurar la respuesta inmune humoral y celular (es capaz de incrementar la proliferación de linfocitos y de la actividad de los macrófagos neutrófilos). Se indica fundamentalmente en casos de Inmnodeficiencias producidas por helmintos y protozoos. El levamisol se usa junto con quimioterapia de fluorouracilo (5-FU) en el tratamiento de cáncer de colon en estadio o etapa III (C de Dukes) después de la cirugía. Es posible que el levamisol actúe para restaurar la función inmune deprimida.

Dipéptido murámico (MDP)

Su modo de acción puede ser específico e inespecífico. Estimula la respuesta inmune (humoral y celular) con acciones antitumorales y se prescribe a pacientes afectados por cáncer e infecciones bacterianas (6).

Glucanos (hongos) y polisacáridos de algas.

Muchos carbohidratos complejos de origen natural estimulan las células de los sistemas inmune y reticuloendotelial (19). Entre ellos se encuentran los polímeros de plantas y hongos como los glucanos, las dextranas y los lentinanos todos ellos polímeros de glucosa, y los mananos, entre los que se encuentran los glucomananos y los galactomananos (3). La actividad de muchos de estos poliglicanos sobre los macrófagos que tienen receptores de glucanos y mananos, incluye la inducción de fagocitosis y la secreción de citocinas, leucotrienos y prostaglandinas. El lentinano, glucano común de las setas, estimula la respuesta celular y de anticuerpos contra eritrocitos de carnero, aumenta la resistencia del huésped a varios tipos de infecciones bacterianas, virales y parasíticas, y ha restaurado la disfunción inmunológica en pacientes con neoplasias (3). Los polisacáridos de algas se han usado experimentalmente en aplicaciones para la terapia tumoral en oncogénesis virales y metástasis (6).

Hormonas tímicas, timosina y timopoyetina.

Su acción es inespecífica, pero permiten la diferenciación y maduración de linfocitos T y estimula la inmunidad celular. Son efectivas en la terapia de inmunodeficiencias de células T (14,7).

Proteínas del complemento (globulinas).

Pueden actuar por vías específica e inespecífica y fundamentalmente activan la respuesta humoral. Se usan para tratar hipogammaglobulinemias y anemias (14).

Citoquinas

Interleuquina 1 (IL-1); interferón gamma (INF α); interluquina 2 (IL-2), interluquina 5 (IL-5); factor de necrosis tumoral alfa (FNT α); interluquina 18 (IL-18); factor de transferencia y factor de crecimiento y diferenciación grabulosito–macrófago (GM-CSF), interluquina 12 (IL-12). Actúan de forma inespecífica e sentido general, pero muchas de ellas pueden hacerlo con carácter específico. Capaces de regular y activar la respuesta inmune humoral y celular, se utilizan en la terapia de estados inmunodeficientes, cáncer, hepatitis y recuperación hematopoyética (20 – 22).

La IL-2 estimula el crecimiento y la actividad de muchas células inmunes, como los linfocitos, que pueden destruir células cancerosas. La FDA ha aprobado la IL-2 para el tratamiento de cáncer de riñón metastático y de melanoma metastático (1).

Lectinas, concavalina A y fitohemaglutininas (PHA).

Su acción es Inespecífica, con efectos mitógenos sobre linfocitos, por lo que se usan para activar estas células en ensayos de proliferación.

Lipopolisacáridos bacterianos (LPS).

Pueden actuar por vías inespecífica y específica; son activadores de linfocitos, macrófagos y TNF α . Se ha experimentado para combatir las inmunodeficiencias (20).

Lectina (Mistetloe) de origen vegetal.

Su modo de acción es inespecífico pero puede activar las células natural Killer (NK); macrófagos; PMN; FNT; INF α ; IL-1 e IL–6. Se han realizado ensayos con este elemento para la terapia del cáncer (23, 24).

La heterogeneidad de los compuestos químicos y biológicos de los adyuvantes inmunológicos puede explicar los mecanismos de acción y efectos diferenciados que poseen estas sustancias. Se incluyen los que favorecen su depósito en el sitio e inyección, pues al insolubilizarse el antígeno lo van liberando lentamente, reclutan células inmunocompetentes en la zona de inoculación son capaces de producir granulomas macrofágicos, entre ellos los compuestos minerales del aluminio. También están los adyuvantes basados en aceites, como el completo (ACF) e incompleto (AFI) de Freund y polímeros sintéticos biodegradables. Otros son los transportadores de antígeno hasta las células inmunocompetentes (liposomas, proteoliposomas, sustancias tensioactivas y polímeros no iónicos) y los de acción immunoestimulante (ACF, MPD, LPS, lípido A, MPL, citoquinas y proteosomas (6,8).

Las reacciones adversas asociadas a los adyuvantes se clasifican en locales y sistémicas. Las reacciones adversas locales incluyen dolor, inflamación local, necrosis en el sitio de la inyección o en zonas adyacentes, linfadenopatías regionales y, en raras ocasiones, la inducción de granulomas y la formación de abscesos estériles. Las reacciones sistémicas observadas incluyen náuseas, fiebre, artritis por adyuvante y uveítis, anafilaxis, toxicidad específica de órgano e inmunotoxicidad, como por ejemplo, liberación de citocinas, inmunosupresión y enfermedades autoinmunes (25, 26).

Entre las ventajas del uso de adyuvantes se hallan:

- su capacidad de potenciar la inmunogenicidad de antígenos con un grado de pureza elevado o recombinantes;
- la reducción de la cantidad de antígeno y del número de reinmunizaciones requeridas para proveer una inmunidad protectora
- el aumento de la eficacia de las vacunas en los recién nacidos, los ancianos y las personas inmunocomprometidas
- permitir el envío mucosal de vacunas dirigidas a incrementar la respuesta inmune a nivel de mucosas (3)

- generar una respuesta inmune persistente y de alta afinidad con anticuerpos de la clase IgG, además de atóxicos (inocuos), seguros y biodegradables (27).

Uno de los aspectos incumplidos en la seguridad de los adyuvantes inmunológicos en la inocuidad, pues casi todos los que son efectivos para lograr buenas respuestas inmunológicas como preámbulo para su uso en la obtención de los inmunobiológicos, resultan tóxicos en alguna de sus acciones. Teniendo en cuenta estos elementos, se impone incluir los estudios toxicológicos e inmunológicos preclínicos en la evaluación de los adyuvantes inmunológicos.

V. Mecanismos de acción de los adyuvantes inmunológicos

En sus mecanismos de acción, los inmunomoduladores pueden actuar específica o inespecíficamente, como se explica a continuación.

Inmunomoduladores de acción inespecífica

Los agentes inmunomoduladores no específicos son sustancias que estimulan o aumentan indirectamente el sistema inmune. Con frecuencia, estos agentes se enfocan en células claves del sistema inmune y causan respuestas secundarias tales como una mayor producción de citocinas y de inmunoglobulinas, sin que la actividad de las células estimuladas vaya dirigida hacia un antígeno determinado. Se dividen en 3 tipos, según su acción:

- los que actúan sobre el sistema inmune normal (tipo I),
- los que lo hacen sobre el sistema inmune inmunodeprimido (tipo II) y
- el sistema inmune funcionalmente normal e inmunodeprimido (tipo III).

Inmunomoduladores de acción específica

Ejercen su acción sobre células del sistema inmune, atribuible a la presencia de un antígeno o inmunógeno dado, por lo que haya especificidad selectiva en la acción de estas células para producir una respuesta inmune. La inmunomodulación es selectiva cuando hay estimulación y su resultado significa una inmunorreacción hacia un antígeno o varios, como es el caso de los adyuvantes inmunológicos o las vacunas terapéuticas (14, 15, 16).

VI. Nuevos adyuvantes

Las tendencias actuales están mucho más dirigidas a la investigación de inmunomoduladores presentes en la sangre o tejido linfoide, que aportan las células o sus productos y cuyas funciones propician la modulación de la respuesta inmune en vertebrados, entre ellos el hombre, así como de otras sustancias de origen natural que realicen estas funciones. Así se logran respuestas específicas e inespecíficas, pero sin reacciones adversas (27).

En la década de los 90 se intensificó la obtención de diversos productos del sistema inmune para la inmunoterapia de enfermedades infecciosas y el cáncer, entre otras, con el uso de novedosas técnicas como la del ADN recombinante, para lo cual se han clonado genes que codifican la síntesis de citoquinas. También se ha desarrollado la modificación genética de linfocitos infiltrantes de melanomas, al transferir genes de la IL-2, provenientes de linfocitos T humanos, para desarrollar la terapia genética en pacientes con este tipo de cáncer. Por otro lado, se han transferido genes del factor de necrosis tumoral (TNF) de macrófagos a células tumorales del melanoma TLLs, por su actividad inmunomoduladora cuando se encuentra en bajas concentraciones (7).

McHugh et, al (1999) como Neil et, al (2001) han trabajado en la modificación de membranas celulares de tejido tumoral humano, al hacer la transfección de moléculas coestimuladoras en células tumorales, tales como B7-1 y B7-2, lo cual ha conducido a la proliferación de células T y a la protección inmunológica contra el cáncer (7).

Para vacunas terapéuticas Se han utilizado anticuerpos monoclonales (AcM) antidiotipos, que compiten con los antígenos tumorales, y se ha aplicado en método de fusión celular para obtener estas biomoléculas. De igual forma se ha investigado con AcM quiméricos (ratas / humanos) para aumentar la eficiencia en el tratamiento de infecciones, controlar procesos inflamatorios y evitar o disminuir los rechazos a órganos transplantados (30).

No se han perdido las esperanzas en el uso de inmunomoduladores conjugados. Azuma en 1992 demostró la potenciación de los mecanismos de defensa del hospedero contra infecciones al utilizar citoquinas unidas al derivado del N-acetil muramil L-alanina D isoglutamina lisina (MDP) en ratones y seres humanos, además de referirse al desarrollo de una vacuna terapéutica con epítopes para contrarrestar procesos alérgicos.

Recientes estudios (11) han revelado que varias combinaciones para el tratamiento clínico con TNF α , G-GSF, INF α , IL-2 y factor de transferencia aumentan la citotoxicidad leucocitaria y apoptosis de células tumorales.

Una tendencia moderna para la adyuvación es la obtención de vacunas conjugadas a partir de polisacáridos capsulares de neumococos y meningococos. Las vacunas conjugadas son una generación de vacunas en las que se unen polisacáridos, de por sí poco inmunogénicos, procedentes de la cápsula de las bacterias patógenas a proteínas transportadoras capaces de producir altos niveles de inmunidad. La unión se produce mediante enlaces covalentes.

También se han desarrollado estrategias para utilizar proteínas antigénicas existentes en el toxoide tetánico (TT), diftérico (TD) y pertusis (PT) por acoplamiento covalente de estas proteínas con los polisacáridos de *Haemophylus influenzae* tipo B (Hib) y neumococos de 7 tipos. Se ha logrado obtener una respuesta de tipo T dependiente, lo cual constituye una nueva estrategia para el desarrollo de una vacuna potente, económica y segura al combinar difteria, tétanos, pertusis, Hib y neumococos (6).

La encapsulación de vacunas consiste en la liberación controlada de antígenos y alérgenos con el fin de mejorar la especificidad del fármaco vehiculizado y permitir el uso de nuevas vías de administración. La encapsulación de vacunas compuestas de un polisacárido capsular de Hib y toxoide tetánico en microesferas de PGLA. Se ha publicado que Smith Klene (31) preparó una formulación de vacuna conjugada, donde fusionó la proteína D de *Haemophilus influenzae* con la proteína HPV-16 asociada al papiloma virus (HPV) y adyuvada en monofosforil lípido A (MPL) y el compuesto QS-21, aislado de *Quillaja saponina*, en diversos vehículos (con liposomas, emulsiones de aceite y agua o sales de aluminio), para tratar el cáncer cervical asociado al HPV. Se obtuvieron buenos resultados en la respuesta de anticuerpos IgG1, acción linfoproliferativa y respuesta de linfocitos citotóxicos (CTL), lo cual propició la regresión de lesiones preestablecidas del tumor en ratones. Se han utilizado otras combinaciones de adyuvantes como QS-21 y MPL para vacunas con péptidos tumoroespecíficos (22), o proteínas recombinantes del HIV (32,33).

La generación de una respuesta inmune protectora a nivel de mucosas, es de gran interés para quienes estudian las enfermedades que afectan las mucosas o que tienen en ellas su puerta de entrada. Existen diferencias en la efectividad de los adyuvantes por las diferentes rutas, debido a que las vías mucosales tienen características fisiológicas que las diferencian entre sí y de las rutas sistémicas. De ahí que el desarrollo de vectores, sistemas de envío de antígenos y otros compuestos con actividad adyuvante tiene en cuenta las características de la ruta por la cual ha de ser inoculado (19).

El desarrollo de vacunas mucosales ha exigido la búsqueda de adyuvantes que logren elevar la respuesta humoral de anticuerpos IgA secretora. Este propósito se ha logrado con el uso de la toxina colérica (TC) y la endotoxina de *Escherichia coli* (LT), a partir de bacterias mutante con reducida toxicidad. Las vacunas de ADN constituyen una de las tendencias en este campo, con la inyección de plásmidos de ADN que codifican antígenos para inducir una respuesta inmune específica a ellos y son la base de nuevas vacunas (33). Una modalidad de estos biológicos es el atrapamiento de los plásmidos en microagregados para inducir inmunidad mucosal, así como la electroporación in vivo para introducir el ADN (34).

Se ha encontrado que el ADN, por si mismo tiene actividad adyuvante a través de la región motivo PG; ventaja que ha sido utilizada para modular el ADN y crear vacunas donde se insertan genes de citoquinas en los plásmidos de ADN, también deviene una alternativa para modular la respuesta inmune en vacunas de ADN, pues logra incrementar su inmunogenicidad (35).

Últimas investigaciones en este campo han desarrollado el uso de citoquinas, quimioquinas y moléculas coestimuladoras como adyuvantes genéticos para vacunas de ADN. En tal caso se han expresado genes de estas biomoléculas en plásmidos de ADN y escogido aquellas citoquinas que inducen respuestas Th1 o Th2 (33).

A pesar de la larga historia y los avances en este sentido, aún son escasos los trabajos relacionados con el empleo del campo magnético para lograr la inmunomodulación (27), han informado acerca del uso de la solución de sales CM-95, tratada magnéticamente como inmunopotenciador (adyuvante inmunológico) para obtener sueros antibacterianos en ratones Balb/c y conejos de Nueva Zelanda blancos. Estos autores obtuvieron títulos de anticuerpos superiores a los alcanzados con la utilización del adyuvante de Freund e hidróxido de aluminio, a la vez que hallaron inocuidad en su acción biológica, al estimular la proliferación de células inmunocompetentes en los órganos del sistema inmune. No hubo respuestas inflamatorias locales, pues no se formaron granulomas macrofágicos en el sitio de inoculación, como si sucede con la mayoría de los adyuvantes que hoy se comercializan (34,35).

La sustancia tratada magnéticamente, inoculada sin antígenos en animales de laboratorio, logra estimular la respuesta inmune innata y posee acción inespecífica, entre cuyos efectos figura la activación de macrófagos. En su acción específica puede también activar macrófagos, inducir la proliferación de linfocitos y la producción de citocinas como el $INF\alpha$, por lo que induce un patrón preferencial hacia la respuesta Th1, propio de un mecanismo de acción hacia la inmunidad celular. Estas acciones suceden sin producir efectos tóxicos e inmunotóxicos en los animales tratados con ella (34,35).

Los resultados apuntan hacia su posible uso en preparados vacunales especiales o el tratamiento de enfermedades, como una nueva alternativa en la inmunomodulación.

Finalmente puede decirse que los avances en esta dirección son reveladores de la eficacia de los inmunomoduladores obtenidos a partir de sustancias naturales, productos del sistema inmune, combinación de otros conocidos y estudio de nuevas sustancias. Estas han ido sustituyendo las que no cumplen las exigencias de seguridad y, a su vez, de eficacia inmunológica, sobre todo en la estimulación de las respuestas celulares para lograr el balance entre ambos parámetros; sin embargo, existen nuevos retos, que obligan a seguir trabajando en el establecimiento de líneas generales para evaluar estas sustancias, con propuestas de baterías de ensayos. En lo particular, estas deben adaptarse al uso propuesto como inmunomodulador, donde se incluyan estudios toxicológicos, inmunotoxicológicos y genotóxicos de rigor.

Debe tenerse en cuenta que las sustancias propuestas como inmunopotenciadores pueden facilitar el desarrollo de una respuesta inmune eficaz. Al mismo tiempo, cuando estas se introducen en el organismo, han de ser capaces de interactuar con la compleja red del sistema inmune (36) (células de diferentes tipos y orígenes, mediadores solubles, receptores de membrana, coestimuladores, que actúan de forma armónica y regulada) (7); por ello hay que estudiar la posible aparición de efectos indeseables, tales como la inhibición de alguna rama o vía importante del sistema, la generación de reacciones autoinmunes o el desarrollo de la hipersensibilidad inmediata, entre otras.

Cuando se demuestra la acción de una sustancia sobre la respuesta inmune y a la vez su inocuidad, puede cumplirse con el balance entre inmunomoduladores en humanos o animales.

Referencias.

1. <http://www.meb.uni-bonn.de/>"Terapias biológicas: El uso del sistema inmune para tratar el cáncer" is redistributed by University of Bonn, Medical Center.
2. Manual del curso teórico-práctico de Inmunología General. Inmunización y sangrado de animales. P.49-50.(2000) ENCB.
3. Aguilar,C.J. y Aguilar,R. Adyuvantes vacunales: estado actual y nuevas tendencias. Biotecnología Aplicada, Ciudad de La Habana, Cuba.Volumen 17, July-September 2000, pp. 147-160 Julio.
4. Cabrera, C. R. Eventos adversos temporalmente asociados a vacunación Rev Fac Med UNAM 1998; Volumen 41 (1): 22-2 *Facultad de Medicina, UNAM.*
5. Roitt,I. Inmunología Esencial.3ª. ed. Ed. Jims. Barcelona. 1979. p. 213
6. Gupta RK, Griffin P, Echenchang JR, Rivera R, Anderson R, Rots B, et al. The role of adjuvant and delivery. Systems in modulation of immune response to vaccine. Novel strategies in design and production of vaccines. New York: Plenum Press, 1996: 105-13.
7. Abbas AK, Lichtman AH, Power JS. Inmunología celular y molecular. 3 ed. Madrid: Interamericana McGraw-Hill, 2000: 268-91.
8. Vanselón BA. La aplicación de adyuvantes a la medicina veterinaria Veterinary Bull. 1989; 37 (11): 881-93.
9. Audivert FM, Lise LD. Adjuvants currents status. Clinical perspectives and future prospects. Immunol Today 1993; 14: 281- 4
10. Klein J, Hgejsi V. Blood cells in vertebrate. En: Immunology. 2 ed. London: Butherworths, 1997: 294-300.
11. Salager JL. Formulations concepts for the emulsion. Pharmaceuticals Scien. 2000; 105: 9- 68.
12. Morris HQ, Martínez C, Abdala RT, Campos DO. Adyuvantes inmunológicos. Rev Cubana Investig Bioméd 1999; 18 (2) : 130- 7
13. Azuma I. Synthetic immunoadjuvant applications to non-especific host stimulation and Potentiation of vaccine immunogenicity. Vaccine 1992; 10: 1000- 6
14. Stites DP, Stogo JD, Fuderbarg UH, Wule VJ. Inmunología básica y clínica. La Habana; Editorial Científico-Técnica, 1985: 200-50.
15. Gupta RK, Griffin P, Echenchang JR, Rivera R, Anderson R, Rots B, et al. The role of adjuvant and delivery. Systems in modulation of immune response to vaccine. Novel strategies in design and production of vaccines. New York: Plenum Press, 1996: 105-13.
16. TaKx Kohlen BC. Immunomodulators. Future prospects. Pharmacology Weebi Sci 1992; 14:24- 52.
17. Maham SM, Kimbula D, Burnidge MJ, Barbel AF. The inactivated Cowdria rumiantium vaccine for heart water protects against heterologous strains and against. Laboratory Field Tick Chalengewr Vaccine, 1998.
18. Aucouturier J, Dupuis L, Ganne V. Adjuvants designed for veterinarian human vaccines. Vaccine. 2000; 19: 2666- 72.
19. Aguilar JC, Muzio VL, Leal MJ, Guillén GE, Pentón E, Véliz G, *et al.*, inventors. Center for Genetic Engineering and Biotechnology, assignee. Immunopotentiating formulations for vaccinal use. WO98/39032. 1998 Sep 11.
20. Shung- Te K, Shing- Liang Y, Chang Chi, Hitch Mei-Do, Yangting-Fu, Wang Jaung-G. Immunomodulation of Bu- Zhonc- Yiqi- Tang on in vitro granulocyte colony stimulatory factor and tomuor necrosis factor á production by peripheral blood mononuclear cell. Immunopharmacol Toxicol 2000; 22 (4): 710- 20.
21. Silla S, Fallari F, Boan T, Uyttenhave C. Enhancement by IL-12 of the cytolytic T lymphocyte (CTL) response of nice immunized with tumour specific peptides in an adjuvants containing QS-21 and MPLA. Eur Cytokine Newt 1999; 10: 181-90.
22. Mengs V, Witthohn K, Schwartz, Lentzen H. Valma of mistetloe of lectin standarized mistetloe for evaluating antitumor properties wein. Med Wochenship 1999; 149: 262- 4.
23. Hyunock P, Gil S, Suoh GL, Layo Sm, Lee H, Suck HL, et al. Potentiation of tumour necrosis factor á induced apoptosis by mistetloelectin. Immunopharmacol Toxicol 2000; 22: 1697- 709.
24. Gupta RK, Relyveld EH, Lindblad EB, Bizzini B, Ben-Efraim S, Gupta CK. Adjuvants - a balance between toxicity and adjuvanticity. Vaccine 1993;11:293-306.
25. Allison AC, Byars NE. Immunological adjuvants: desirable properties and side-effects. Molecular Immunology 1991; 28:279-84.
26. Martínez, M. C. Rev. Cubana Invest. Biomed. 2006; 25(4) Modulación de la respuesta inmune: tendencias actuales.
27. McHugh RS, Nagrajau S, Wang YE, Sell K W, Salvaraj P. Protein transfer of glucosyl phosphat dylinositol B7-1 into tumour cell membrane a novel approach to tumour immunotherapy. Cancer Res 1999; 59: 2433- 7.
28. Neil J, Sharimugan P, Nagjarow G, Bumgarner W, Silvary P. Development of therapeutic vaccines by direct modification of cell membranes from surgically removed human tumour tissue with

- immunoestimulatory molecules. *Vaccine* 2001;19(15-16):2029-38.
29. Gavilondo JV. Anticuerpos monoclonales. Teoría y Práctica. La Habana:Ediciones ELFOS; 1995. p.31-45.
 30. Gerard GM, Baudson N, Kraemer K, Bruck C, Garcon N, Paterson Y, et al. Therapeutic potential of protein and adjuvant vaccinations. *Vaccine* 2001; 19 (17-19): 2583- 6.
 31. Moore A, Mc, Carthy L, Mills KK. The adjuvants combinations Monophosphoril Lipid A and QS21 switches cell responses induces with a soluble recombinant HIV proteins from Th2 to Th1. *Vaccine* 1999; 17: 2517- 2.
 32. Pierre J, Scheerlinck S. Genetic adjuvant for DNA vaccines. *Vaccines* 2001; 19: 2647- 56.
 33. Widera G, Austin M, Rabussay D, Goldbeck C, Barnett SW, Chen M, et al. Increased DNA vaccine delivering and immunogenity by electroporati3n in vivo. *J Immunol* 2000;164 (9) :4635-40.
 34. Martínez CE, Cano B, Cobas G, Pérez I, Hurtado A, Correa M. Soluci3n adyuvante. Patente Cubana 22583. Julio 14, La Habana, 1999.
 35. Aucouturier J, Dupuis L, Ganne V. Adjuvants designed for veterinarian human vaccines. *Vaccine*. 2000; 19: 2666- 72.