

# INTRACELLULÆR AKKUMULERING AV ALUMINIUMSADJUVANT I MAKROFAGER ETTER FAGOCYTOSE AV ADJUVANTPARTIKLENE - EN IN VITRO STUDIE

Ida Marie Underhaug, e-post: ida.m.underhaug@hiof.com

Bioingeniørutdanningen, Avdeling for ingeniørfag, Høgskolen i Østfold, Norge

## Introduksjon

For beskyttelse mot farlige sykdommer har man i lang, lang tid benyttet det som tilsvarer vaksinerings i dag. For rundt 90 år siden ble aluminiumsadjvanter oppdaget og dette har siden vært en av de mest brukte adjuvantene for å forsterke immunresponsen ved vaksinerings. Aluminiumsadjvanter virkningsmekanisme er lite kjent, men noe forskning har vist at aluminiumsadjvanter kan akkumuleres på injeksjonsstedet og forårsake inflammasjon.

På bakgrunn av dette ble det utarbeidet en hypotese om at aluminiumsadjvanter blir værende intracellulært i makrofager over lenger tid.

## Metode

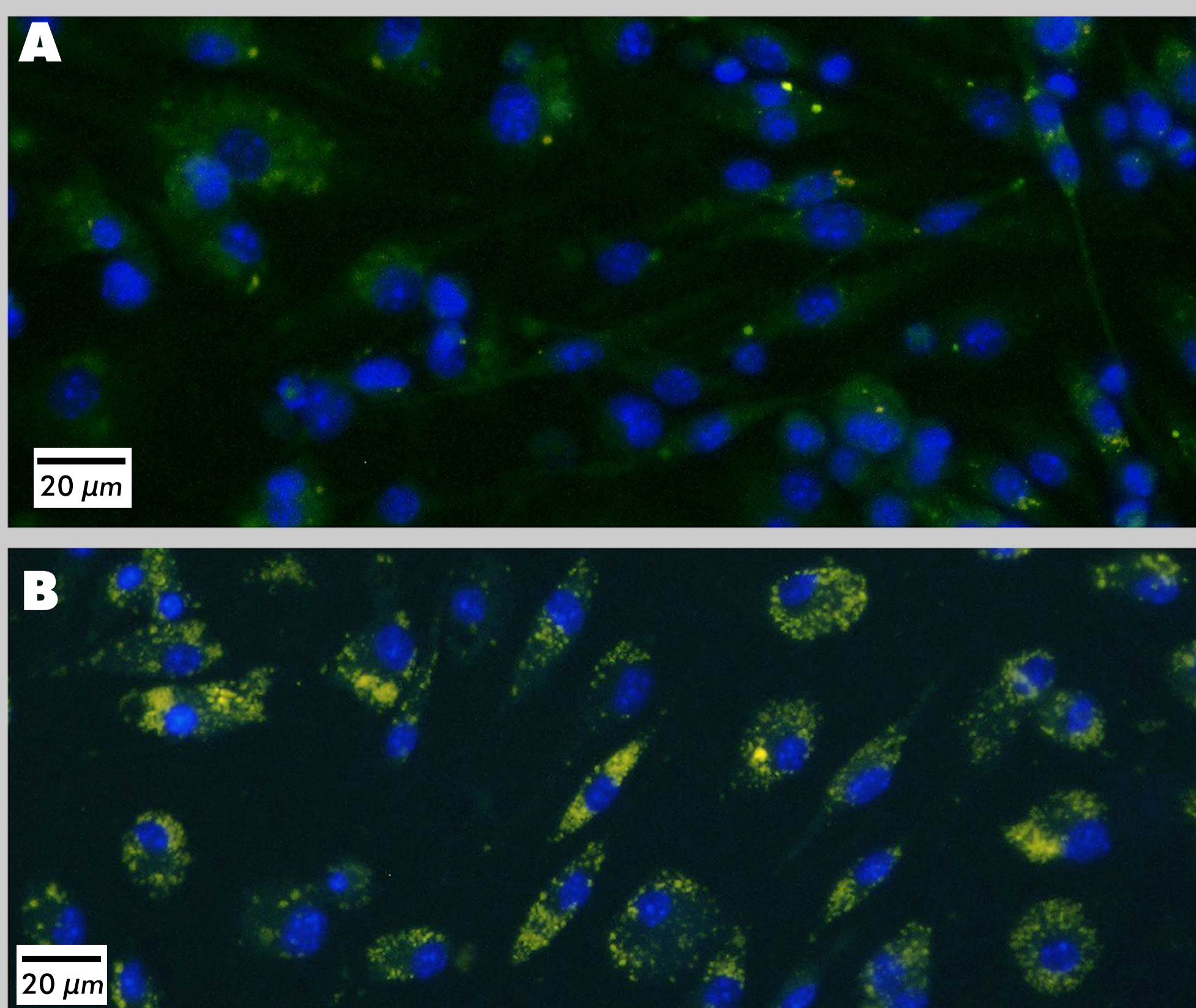
Leukocyttkonsentrater ble kjøpt inn fra Skåne Universitetssjukhus og monocytter ble isolert med Ficoll-Paque og magnetisk celledatering. Monocytene ble deretter sådd ut og kultivert med R10 medie inneholdende cytokiner. Dette for å polarisere monocytene til M1- eller M2 makrofager. Etter 7 dager i kultur ble M2 makrofagene behandlet med lumogallionsmerkede aluminiumsadjvanter i 24 timer. Deretter ble makrofager eluert ut og analysert på flowcytometeret med jevne mellomrom fra og med dag 8. Makrofagene i culture chambers ble fiksert dag 8 og montert med monteringsmedie inneholdende DAPI, for deretter bli analysert ved fluoresensmikroskopering.

## Resultater

M1 makrofagene hadde desverre en høy dødelighet fra tidlig i forsøkene, og det ble derfor kun undersøkt akkumulering av aluminiumsadjvanter i M2 makrofagene.

Figur 1 viser fluoresensmikroskopering av M2 makrofagens fagocyttering av lumogallionmerket aluminiumsadjvant.

Figur 2 viser målt fluoresens fra makrofager som har fagocyttert lumogallionsmerkede aluminiumsadjvanter plottet mot tid.

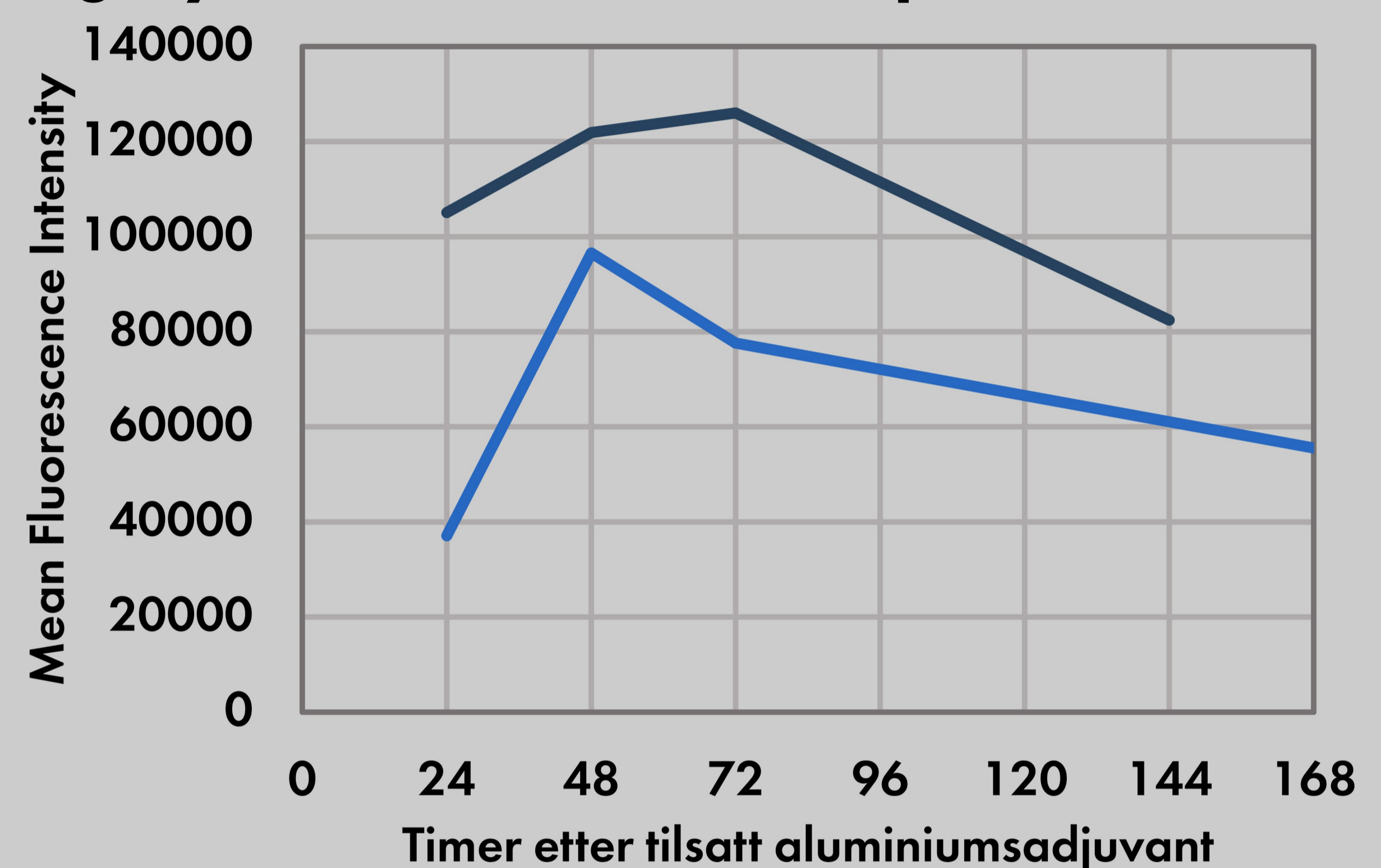


Figur 1 Fluoresensmikroskopering av M2 makrofager.

A) M2 makrofager som ikke har blitt utsatt for aluminiumsadjvant. Blått er DAPI, en farge som binder seg til DNA i cellekjernen.

B) M2 makrofager som har blitt utsatt for lumogallionsmerket aluminiumsadjvant (ses som gule prikker i cytoplasma). Blått er DAPI.

## Fagocytose av aluminiumsadjvant i M2 makrofager



Figur 2 Graf som illustrerer dataene fra flowcytometrisk analyse av fagocyttert lumogallionsmerket aluminiumsadjvant i M2 makrofager.

Forsøk 1 er merket med **lyseblått** og forsøk 2 med **mørkeblått**.

## Diskusjon

Hovedpunktene fra denne studien er som følgende:

- M1 makrofager hadde høyere dødelighet enn M2, tyder på at vekstforholdet ikke er optimalt.

- Grafen for mengde fluoresens emittert fra M2 makrofagene viste maksimum emittert fluoresens 48/72 timer etter at behandlingen med aluminiumsadjvanter ble startet. Tyder på en feilkilde hvor makrofagene fagocytterte både celledbris og aluminiumsadjvant.

- Grafen tyder på at aluminiumsadjvanter blir værende i M2 makrofager etter fagocytose, og at denne nedbrytningen går sakte. Dette kan føre til en akkumulering med klinisk betydning, da nedbrytningen av aluminiumsadjvanten vil kunne føre til en mulig spredning av aluminiumsionene i kroppen og kunne innta sentralnervesystemet. (Gherardi et al., 2015) Andre studier peker på andre mulige sideeffekter som kronisk inflammasjon i musklene på injeksjonsstedet. (Verdier et al., 2005)

## Konklusjon

Denne studien tyder på at aluminiumsadjvanter akkumulerer i M2 makrofager etter fagocytose, men det er behov for ytterligere forsøk.

I videre forsøk vil det være behov for å øke M2 makrofagers livslengde og forbedre M1 makrofagers overlevelse.

## Litteratur

Gherardi, R. K., Eidi, H., Crépeaux, G., Authier, F. J. & Cadusseau, J. (2015). Biopersistence and brain translocation of aluminum adjuvants of vaccines. *Frontiers in neurology*, 6, 4. <https://doi.org/10.3389/fneur.2015.00004>

Verdier, F., Burnett, R., Michelet-Habchi, C., Moretto, P., Fievet-Groyne, F. & Sauzeat, E. (2005) Aluminium assay and evaluation of the local reaction at several time points after intramuscular administration of aluminium containing vaccines in the Cynomolgus monkey. *Vaccine*, 23(11), 1359-1367. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2004.09.012>

09.06.2020