



Universidad de Sevilla – Facultad de Farmacia

DESCUBRIMIENTO DE NUEVAS VACUNAS: EL GRAN DESAFÍO DE LA CIENCIA



RAFAEL PÉREZ CASTRO

Facultad de Farmacia – Universidad de Sevilla



Trabajo de Fin de Grado – Grado en Farmacia

DESCUBRIMIENTO DE NUEVAS VACUNAS: EL GRAN DESAFÍO DE LA CIENCIA

Autor/a: Rafael Pérez Castro

Tutor/a: Francine Piubeli

Departamento: Microbiología

Fecha de presentación: Julio 2021 – Facultad de Farmacia

Tipología: Revisión bibliográfica

ÍNDICE

Contenido

ÍNDICE	3
RESUMEN.....	4
INTRODUCCIÓN	4
OBJETIVOS	6
METODOLOGÍA	6
ANTECEDENTES: CONTEXTO HISTÓRICO DE LAS VACUNAS	7
NUEVAS ESTRATEGIAS DE OBTENCIÓN DE VACUNAS	11
Vacunas de células enteras.....	12
Vacunología inversa.....	13
Vacunología estructural.....	15
Vacunas ARN.....	16
NUEVAS ESTRATEGIAS DE POTENCIACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD.....	19
Vacunómica.....	19
Nuevos adyuvantes.....	21
SITUACIÓN ACTUAL DEL DESARROLLO DE VACUNAS DE ENFERMEDADES HISTÓRICAS	22
Virus de la Inmunodeficiencia Humana.....	22
Malaria	24
SARS-CoV-2.....	26
CONCLUSIONES	29
BIBLIOGRAFÍA.....	30

RESUMEN

Desde el descubrimiento de las primeras vacunas, las técnicas de obtención y desarrollo de estas han ido mejorando para poder inmunizar a la población frente a todo tipo de enfermedades infecciosas. Gracias al proceso de vacunación se ha conseguido erradicar la viruela y se ha reducido la transmisión de varias enfermedades como la rubeola o el sarampión.

No obstante, los patógenos causantes de estas enfermedades infecciosas también evolucionan y la producción de vacunas con el fin de frenar estas enfermedades se complica. Es por esta razón que se están realizando investigaciones para crear nuevas estrategias de obtención de vacunas que mejoren su efectividad y seguridad con el fin de proporcionar una mayor inmunización en la población, así como una mejor aceptación y participación por parte de los individuos.

Además, la investigación tiene como objetivo, desde hace varios años, desarrollar vacunas contra enfermedades que, actualmente, no tienen una vacuna aprobada y continúan siendo una amenaza para la salud pública. Se hace necesario resaltar las epidemias provocadas por el virus de la inmunodeficiencia humana o por el parásito *Plasmodium* causante de la enfermedad de la malaria, a la que se suma la reciente pandemia ocasionada por el coronavirus SARS-CoV-2.

En líneas generales, el conjunto de nuevas ideas permitirá la llegada de nuevos tipos de vacuna que sean más económicas y aceleren y faciliten la inmunización de la población frente a importantes enfermedades que aún no se les ha podido hacer frente con las estrategias tradicionales y futuras enfermedades que podrían amenazar con convertirse en una pandemia.

INTRODUCCIÓN

La vacunología es la ciencia multidisciplinar enfocada al estudio de las vacunas incluyendo desde los componentes antigénicos hasta su impacto en la población (González-Romo y Picazo, 2015).

Las vacunas son una de las mayores innovaciones en salud pública en la historia de la humanidad (Karch y Burkhard, 2016) junto a la introducción del agua potable y el

saneamiento (Greenwood, 2014). La vacunación proporciona un mecanismo muy eficaz para contrarrestar las enfermedades infecciosas, puesto que previenen el desarrollo de morbilidad y mortalidad. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que las vacunas previenen de 2 a 3 millones de muertes humanas al año, cifras que se situarían al menos en 6 millones si todos los niños recibieran el calendario de vacunación recomendado (Karch y Burkhard, 2016).

La mayoría de las vacunas disponibles en la actualidad se basan en la clásica metodología de vacunas inactivadas o vivas atenuadas (Francis, 2018) que han sido las estrategias dominantes en la inmunización hasta finales de la década de 1990 (González-Romo y Picazo, 2015). Sin embargo, la inactivación puede no inducir respuestas protectoras, como es el caso del ébola; y las vacunas vivas atenuadas tienen el riesgo de reversión, lo que impide su uso para organismos altamente patógenos (Rauch et al., 2018). Existen organismos con estructuras y ciclos de vida complejos, como es el caso del parásito de la malaria, o virus capaces de superar la respuesta inmune humana a través de la diversidad antigénica, como el VIH o el virus de la influenza, por lo tanto, el desarrollo de las futuras vacunas sigue suponiendo uno de los principales retos para la ciencia en la actualidad (Greenwood, 2014).

La producción de vacunas puede verse obstaculizada por factores como la dificultad o imposibilidad del cultivo del patógeno en condiciones *in vitro* o la necesidad de un alto nivel de bioseguridad para el cultivo, por lo que se requieren enfoques nuevos que no dependan exclusivamente del cultivo de patógenos (Rauch et al., 2018). Además, es necesario comprender mejor la base inmunológica de la vacunación para desarrollar vacunas contra estos patógenos, controlar los brotes que amenazan la seguridad sanitaria mundial y averiguar cómo reactivar las respuestas inmunitarias en el sistema inmune envejecido para proteger a la creciente población de adultos mayores de las enfermedades infecciosas (Pollard y Bijker, 2021).

La pandemia de la enfermedad por el virus SARS-CoV-2 que se ha extendido por todo el mundo (Jeyanathan et al., 2020), el temor a una grave pandemia de gripe, o el brote de enfermedad por el virus ébola, son ejemplos de la imperante necesidad de desarrollar nuevas vacunas, que siendo eficaces y seguras, puedan ser obtenidas a escala mundial de manera rápida (González-Romo y Picazo, 2015).

En la historia de la humanidad, sólo se han podido eliminar dos enfermedades infecciosas como resultado de una exitosa campaña de vacunación: la viruela en 1979 y la peste bovina en 2011. Aunque haya enfermedades que estén cerca de su erradicación, como son los casos del sarampión y la poliomielitis, todavía hay mucho por hacer (Karch y Burkhard, 2016).

Los obstáculos para encontrar vacunas de alta eficacia frente a plagas como la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) o la malaria, a pesar del tiempo y de los recursos invertidos, ponen de manifiesto que son necesarios nuevos enfoques en el desarrollo de vacunas. Durante los últimos años se ha producido un gran desarrollo en numerosos campos de la medicina gracias a los avances científicos y tecnológicos de los que se dispone, así como la facilidad y rapidez para interaccionar y comunicar los hallazgos (González-Romo y Picazo, 2015). Estos conocimientos deberían explicar mejor la naturaleza de las respuestas para obtener una inmunidad protectora frente a distintas enfermedades y permitir el progreso de nuevas generaciones de vacunas con mejores propiedades (Francis, 2018).

OBJETIVOS

Es necesario dar a conocer los descubrimientos realizados por la sociedad científica sobre los diferentes tipos de vacuna y sus métodos de obtención. Frente al expuesto, el objetivo de este trabajo es:

- Estudiar nuevos enfoques para el desarrollo de vacunas y estrategias que potencien la inmunidad.
- Conocer así la situación y el pronóstico de algunas de las enfermedades infecciosas más importantes del mundo.

METODOLOGÍA

Para la realización de este trabajo se realizó una revisión bibliográfica utilizando como principal fuente de información la base de datos Pubmed. Se han utilizado palabras claves como: vacuna, antígeno, anticuerpo, virus, inmunización.

ANTECEDENTES: CONTEXTO HISTÓRICO DE LAS VACUNAS

La variolización es la inyección de pequeñas cantidades de material infeccioso de las vesículas de viruela en la piel de individuos sanos, con el fin de inducir protección frente a la enfermedad naturalmente adquirida provocando síntomas leves (Weiss y Esparza, 2015). Esta práctica se remonta al siglo XV en Oriente Medio y Asia, donde las pústulas de los pacientes con casos leves de viruela eran extraídas y secadas. Posteriormente, se frotaban en la superficie de la piel de otro paciente con el fin de evitar una forma más grave de la enfermedad. Esta práctica sirvió para reducir las tasas de mortalidad comparada con la infección de un individuo con el virus de la viruela (Karch y Burkhard, 2016).

Es así como la variolización fue traída a Europa en 1718 de la mano de Lady Mary Wortley Montagu, la esposa del embajador británico en el Imperio Otomano, que observando esta práctica decidió llevarla a cabo con sus hijos para así evitar que se contagiaran de viruela (Karch y Burkhard, 2016). Por otro lado, el granjero Benjamin Jesty y el médico Edward Jenner argumentaron que el contacto de las lecheras con las vacas las protegía de la viruela (Plotkin y Plotkin, 2011). Benjamin Jesty inoculó al niño James Phipps con material de una vaca infectada con la viruela vacuna, que resultó en una lesión indicativa de infección; y siete semanas después le inyectó material de una pústula de viruela (Minor, 2015). La vacuna contra la viruela fue la primera vacuna desarrollada en el mundo y en consecuencia también ha sido la viruela la primera enfermedad infecciosa humana erradicada por vacunación, un hito alcanzado en 1979 (Greenwood, 2014).

Tuvieron que pasar 80 años hasta el siguiente precedente, cuando Louis Pasteur observó que podía atenuar a una bacteria si la exponía a condiciones adversas (Plotkin y Plotkin, 2011); mientras estudiaba el cólera de los pollos (*Pasteurella multocida*), inoculó a las aves con un cultivo de un mes después de unas vacaciones, provocando que estos pollos desarrollaran síntomas menores de la enfermedad, pero se recuperaran posteriormente. Más tarde inoculó a los mismos pollos con un cultivo reciente de bacterias y vio que los pollos previamente inoculados con el primer cultivo estaban protegidos de la infección, mientras que las aves que no fueron inoculadas aún desarrollaban síntomas (Karch y Burkhard, 2016).

Pasteur había descubierto el concepto de **atenuación**, donde los microorganismos que se cultivaban en condiciones subóptimas o se trataban con ciertos productos químicos, no eran tan virulentos como los microorganismos cultivados en condiciones ideales (Karch y Burkhard, 2016). Pasteur investigó sobre el ántrax y la rabia tras este descubrimiento y aunque su base teórica para la atenuación estaba equivocada, los resultados prácticos que logró fueron trascendentales (Plotkin y Plotkin, 2011).

“En la última década del siglo XIX, el desarrollo de vacunas empezó a tener un fundamento. La ciencia fue producida por trabajadores en Gran Bretaña, Alemania, Estados Unidos y el laboratorio de Pasteur en Francia.” (Plotkin y Plotkin, 2011). El estudio de los patrones de las enfermedades infecciosas en los países industrializados desde finales del siglo XIX muestra una importante disminución de la mortalidad infantil y de la mortalidad por enfermedades infecciosas, debido a mejoras como la nutrición, la sanidad o la vivienda, a lo que tendríamos que añadir la contribución de la vacunación (Greenwood, 2014).

A principios del siglo XX se desarrollaron varias vacunas basadas en organismos **inactivados** (pneumococo, meningococo, bacilo de la fiebre tifoidea). Estas vacunas generaban poca inmunidad y a menudo, causaban efectos secundarios importantes, por lo que han acabado siendo relegadas (Greenwood, 2014). Las vacunas **inactivadas** deben ser totalmente inocuas y no transmitir la infección por una inactivación incompleta. Puesto que la fabricación de estas vacunas precisa del cultivo de grandes cantidades del agente infeccioso, existe un peligro potencial para el personal y el medio ambiente y por ello se deben usar técnicas de inactivación y pruebas de inocuidad más confiables dentro del proceso de fabricación (Francis, 2018).

En la década de 1940, los virólogos descubrieron que las células podían cultivarse *in vitro* y usarse como sustratos para que los virus crezcan, demostrando que muchos virus se podían conservar en cultivos celulares, incluidos la poliomielitis y el sarampión (Plotkin, 2014). Entre los años 1950 y 1960, el cultivo de virus permitió el desarrollo de más **vacunas vivas atenuadas**, como las vacunas contra el sarampión y la poliomielitis (Figura 1), entre otras, las cuales inducen una respuesta inmune fuerte y de larga duración (Greenwood, 2014). Las vacunas atenuadas deben tener un control preciso para proporcionar el nivel requerido de inmunidad protectora sin causar síntomas de enfermedad significativos y deben cumplir los estudios de seguridad de reversión a la

virulencia, ya que existe un riesgo bajo de que el antígeno atenuado revierta a una virulencia completa (Francis, 2018).

Las vacunas de **toxoides**, como por ejemplo, para el tétanos y la difteria, son toxinas proteicas inactivadas con formaldehído que se han purificado del patógeno (Pollard y Bijker, 2021) (Figura 1). A principios del siglo XX, se desarrollaron antitoxinas para tratar y prevenir el tétanos y la difteria, puesto que los signos y síntomas de estas enfermedades, son causados por toxinas solubles producidas por las bacterias causantes. Como la prevención proporcionada por estas antitoxinas fue de corta duración, en la década de 1920 se demostró que se podía lograr una protección sostenida contra estas infecciones mediante una vacuna formada con una toxina modificada (Greenwood, 2014).

Durante las décadas de 1950 y 1960, aumentó la comprensión de los científicos sobre la genética microbiana molecular, lo que sugirió la idea de que las moléculas de ADN podrían modificarse para incluir ADN exógeno a principios de la década de 1970 (Karch y Burkhard, 2016). “La aparición de la tecnología del ADN recombinante significó que los genes exógenos podrían insertarse en vectores de expresión y luego introducirse en células que actúan como "fábricas de producción" de las proteínas exógenas codificadas por esos genes” (Francis, 2018).

Todas las vacunas anteriores requerían un cultivo de un agente infeccioso que era complicado por su alto costo o por su elevada patogenicidad, pero ahora se podían generar antígenos proteicos de organismos, lo que permitió producir vacunas seguras, baratas y efectivas. Estas vacunas de subunidades reducen el riesgo de efectos secundarios como reversiones espontáneas de las vacunas atenuadas o la desnaturalización de péptidos antigénicos de vacunas inactivadas. (Karch y Burkhard, 2016).

Sin embargo, a principio del siglo XX no se logró una respuesta inmune eficaz con toxoides purificados de difteria y tétanos, por lo que empezaron a usarse adyuvantes, que son formulados como parte de una vacuna cuyo fin es mejorar la respuesta inmune (Shi et al., 2019). La mayoría de los adyuvantes aumentan la respuesta inmunitaria a través de la activación de las células dendríticas y de una mayor capacidad para presentar antígenos y atraer y activar linfocitos T (González-Romo y Picazo, 2015). En 1926, se descubrió el efecto adyuvante de las sales de aluminio (Shi et al., 2019) que hasta hace poco eran ampliamente utilizadas y cuyo mecanismo exacto de acción sigue sin conocerse aún. Debido a una deficiente estimulación de la inmunidad celular, se ha promovido la

búsqueda de nuevas sustancias, como es el MF59 (emulsión de aceite de escualeno en agua, Tween 80 y Span 85), que induce una gran respuesta de anticuerpos de mayor diversidad y afinidad en la vacuna de la gripe (González-Romo y Picazo, 2015).

Posteriormente, en la década de los 70 se introdujo el concepto de vector viral y no fue hasta 1982 cuando se observó un virus que podía usarse como vector de expresión, al que se denominó *vaccinia virus*, puesto que se usó como vector en la vacuna para erradicar la enfermedad de la viruela (Ura et al., 2014). Las vacunas basadas en vectores virales consisten en la administración de uno o más antígenos codificados dentro de un virus inocuo modificado (Figura 1). Estos virus inocuos funcionan como vectores de vacunas que son manipulados para que codifiquen antígenos y los transporten a las células huésped, donde el antígeno se expresa e induce la respuesta inmune en el huésped (Rauch et al., 2018).

Los principales vectores de expresión utilizados son adenovirus, alfavirus, flavivirus, virus del sarampión, rabdovirus, retrovirus, lentivirus y poxvirus (Lundstrom, 2020); siendo los vectores de adenovirus los más empleados, con una gran cantidad de estudios preclínicos y clínicos que evalúan su eficacia y seguridad (Rauch et al., 2018). Además los vectores de adenovirus tienen una alta eficiencia de transducción, un alto nivel de expresión transgénica y un amplio rango de tropismo viral (Ura et al., 2014). Estos adenovirus son virus de ADN bicatenario no envuelto, con una cápside icosaédrica y un tamaño de 30-40 kb (Rauch et al., 2018). Una desventaja potencial de las vacunas con vectores virales es la presencia de inmunidad preexistente cuando se usa un vector como el adenovirus humano que comúnmente causa infección en humanos. Esto puede superarse mediante el uso de vectores como un adenovirus de simio, contra el cual casi no existe inmunidad preexistente en los seres humanos (Pollard y Bijker, 2021).

En último lugar, se ha estado investigando el ADN como base del desarrollo de vacunas durante décadas, mientras que el ARNm ha surgido más recientemente. Estas vacunas consisten en ARNm que codifica al antígeno dentro de una nanopartícula lipídica (Figura 1), la cual es administrada en el huésped para la posterior traducción de proteína. Tienen la ventaja de no ser infecciosas y de sintetizarse mediante una transcripción *in vitro*, sin necesidad de cultivo, lo que permite una producción rápida y económica (Jeyanathan et al., 2020).

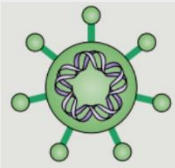
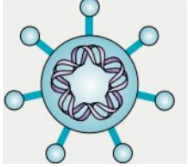

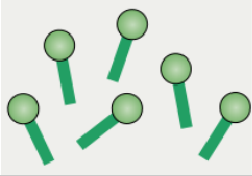
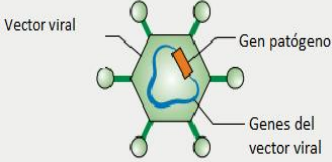
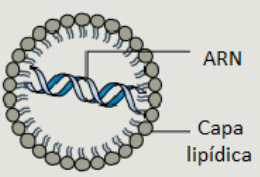
Tipo de vacuna	Representación	Vacunas aprobadas con esta tecnología	Año de introducción
Vivas atenuadas		Sarampión, paperas, rubeola, fiebre amarilla, poliomielitis	1798 (viruela)
Organismo completo inactivado		Pertussis, polio, rabia, virus influenza.	1896 (fiebre tifoidea)
Toxoides		Difteria, tétanos	1923 (difteria)
Subunidad		Pertussis, influenza, tifoidea, hepatitis B, meningococo	1970 (ántrax)
Vector viral		Ébola	2019 (ébola)
Ácido nucleico		SARS-CoV-2	2020 (SARS-CoV-2)

Figura 1. Diferentes tipos de vacuna. Representación de los diferentes tipos de vacuna contra patógenos (Pollard y Bijker, 2021).

A continuación, se detallarán las nuevas estrategias que vienen siendo estudiadas en los últimos años con el fin de mejorar el desarrollo de vacunas.

NUEVAS ESTRATEGIAS DE OBTENCIÓN DE VACUNAS

Debido a una mejor probabilidad de que se satisfagan los criterios clave de candidatura de la vacunas, se han buscado métodos alternativos con mejor rendimiento para acelerar la fase de desarrollo de vacunas preclínicas (Bidmos et al., 2018). Ya se ha avanzado con las vacunas terapéuticas contra el cáncer y los futuros objetivos potenciales incluyendo la adicción al tabaco, la diabetes, la hipertensión y el Alzheimer (Greenwood, 2014).

El desarrollo de nuevas vacunas contra objetivos importantes de enfermedades infecciosas, como el dengue o los nuevos coronavirus, debería ser más fácil utilizando

tecnologías establecidas, pero la modesta eficacia de una vacuna contra el dengue probada recientemente enfatiza que aún existen desafíos en el desarrollo de vacunas más convencionales. El limitado éxito obtenido con la vacuna antipalúdica más prometedora (RTS,S/AS01) y con una pauta de vacunación de refuerzo principal contra el VIH y el fracaso de una nueva vacuna contra la tuberculosis ilustran lo difícil que será el desarrollo de vacunas eficaces contra estas importantes infecciones (Greenwood, 2014).

Se están investigando nuevos enfoques para desarrollar nuevas vacunas, por ejemplo, el uso de organismos completos atenuados, la vacunación inversa (que identifica posibles antígenos candidatos a través del genoma), estudios estructurales detallados (que ayudan a definir los determinantes antigénicos y podrían inducir una respuesta inmune efectiva en cepas de organismos muy variables, como influenza o VIH), el uso de ARN en vez de ADN para inducir una respuesta inmune (Greenwood, 2014).

Vacunas de células enteras

Como hemos visto anteriormente, a lo largo de la historia, las vacunas se han desarrollado utilizando métodos que reducían o inactivaban la virulencia de un patógeno, como es el caso de la atenuación. Existe una nueva generación de tipos vacunas basadas en células enteras de un serotipo no encapsulado que permite la expresión de diversos antígenos (Morais et al., 2019).

Vinculado al concepto de vacuna de células enteras, encontramos el ejemplo de las vacunas de células enteras contra la tos ferina, que estaban compuestas por suspensiones de extractos crudos de *Bordetella pertussis* inactivada por calor (Pichichero, 2017). Estas formulaciones de células completas expresan todos los antígenos proteicos y podrían ser menos costosas que la purificación de proteínas (Morais et al., 2019).

Para *Streptococcus pneumoniae*, se ha planteado una vacuna de células enteras compuesta por una preparación celular inactivada de una cepa no encapsulada que presenta una combinación de antígenos protectores comunes a todas las cepas (Mohammadzadeh et al., 2017). Los estudios han mostrado respuestas inmunes humorales y celulares contra múltiples antígenos, dando resultados muy prometedores (Morais et al., 2019).

Para la producción de estas vacunas, se cultivó una cepa carente de autolisina en caldo Todd-Hewitt suplementado con extracto de levadura al 0,5% y 0,3µg/mL de eritromicina. A continuación, las células se lavaron y se suspendieron en solución salina al 10%;

posteriormente, se mezclaron con etanol en proporción 3:7 y, por último, las muestras fueron lavadas, resuspendidas en solución salina y se congelaron en pequeñas alícuotas. Cuando la preparación se cultivó en agar sangre, no se detectaron bacterias viables (Mohammadzadeh et al., 2017).

La vacuna neumocócica de células enteras se encuentra en la fase 1/2 de ensayos en humanos y parece ser la mejor opción de tratamiento para las enfermedades neumocócicas (Morais et al., 2019).

Vacunología inversa

“Tradicionalmente, las vacunas se han desarrollado de forma empírica, ya sea aislando, inactivando o inyectando los microorganismos causantes de la enfermedad” (Rappuoli et al., 2016). La primera secuencia completa del genoma bacteriano se publicó en 1995 y fue una revolución en los enfoques para el desarrollo de vacunas (Bidmos et al., 2018), lo que permitió el descubrimiento de nuevos antígenos de vacunas directamente a partir de la información genómica (Rappuoli et al., 2016).

Este método sigue el camino contrario a la vacunología convencional (González-Romo y Picazo, 2015) y se denominó “vacunación inversa” para señalar que el desarrollo de la vacuna era en base a la información de la secuencia genética sin la necesidad de cultivar patógenos (Rappuoli et al., 2016). La estrategia empieza con un screening, partiendo de la secuencia completa del genoma de un microorganismo, de una lista de genes responsables de la producción de potenciales proteínas que pudieran servir de antígenos y fueran accesibles para los anticuerpos. Este proceso suele denominarse predicción “*in silico*” (González-Romo y Picazo, 2015).

Este procedimiento se efectúa mediante complejos cálculos bioinformáticos y va seguida de una caracterización experimental, que consiste en la expresión de estos genes y la inmunización de animales con estas proteínas recombinantes para determinar los niveles de protección activa y pasiva. De esta forma se pueden obtener vacunas de subunidades inmunógenas y más seguras que contengan varias proteínas y por lo tanto, tengan mayor efecto neutralizante (Bidmos et al., 2018) (González-Romo y Picazo, 2015).

De hecho, recientemente se ha autorizado una vacuna contra el meningococo B (4CMenB), la primera derivada de la vacunación inversa (Rappuoli et al., 2016). Se partió de un total de 2.158 genes diferentes, de los que se seleccionaron 570 proteínas de

superficie. Sin embargo, en *E.coli* sólo se podían clonar y expresar 350, de las que se compararon 35 proteínas con las cepas que suelen producir la infección, escogiendo un total de 7 antígenos para los primeros ensayos clínicos (González-Romo y Picazo, 2015).

En este contexto, para paliar el problema que representa la diversidad genética de patógenos de una misma especie pero con múltiples cepas se está desarrollando el concepto del Pan-Genoma (González-Romo y Picazo, 2015). Se ha argumentado que el análisis del Pan-Genoma “*in silico*” es más adecuado debido al alto grado de diversidad intraespecífica exhibida por muchos patógenos bacterianos (Bidmos et al., 2018). En estos casos, se comparan los genomas de distintas cepas y se identifican los genes compartidos y los específicos de cada una de las cepas (González-Romo y Picazo, 2015), como es el caso de *Streptococcus agalactiae*, donde pudieron identificarse cuatro antígenos protectores a partir del análisis de las cepas causantes de enfermedad más prevalentes (Bidmos et al., 2018).

La principal fortaleza de la vacunología inversa es su aplicabilidad a cualquiera patógeno y la inmunidad generada por los anticuerpos para la protección contra la enfermedad (Bidmos et al., 2018). Además, es una técnica rápida, barata y útil en bacterias no cultivables (González-Romo y Picazo, 2015). Sin embargo, existen proteínas de superficie que no son habituales y pueden ser desestimadas por los parámetros de los sistemas de cribados masivo (Bidmos et al., 2018).

La vacunología inversa ha sido testigo de la aparición de nuevas tecnologías en los campos de la inmunología humana y la biología estructural que han impulsado una nueva era denominada “vacunología inversa 2.0” (Rappuoli et al., 2016). La “vacunología inversa 2.0” se fundamenta en el aislamiento de anticuerpos monoclonales, producidos en las respuestas inmunitarias de las personas que sufren la infección, para ser utilizados como base para el diseño de vacunas en una inversión del flujo normal de vacunas a anticuerpos (Burton, 2017).

Este enfoque se basa en el aislamiento y la expresión recombinante de las regiones variables de los genes de cadena pesada y ligera de inmunoglobulina utilizando distintas herramientas moleculares (Bidmos et al., 2018). El aislamiento y la caracterización de los anticuerpos producidos por células B específicas de antígeno ha adquirido una gran importancia en la última década para explicar la respuesta a los antígenos de la vacuna (Rappuoli et al., 2016). El aspecto más interesante de disponer de múltiples anticuerpos

funcionales para la misma región de epítopo es que uno tiene múltiples moldes de anticuerpos relacionados para el diseño de inmunógenos y es realmente útil cuando se trata de patógenos muy variables antigénicamente capaces de escapar a un anticuerpo monoclonal, pero no a varios (Burton, 2017).

La primera fase de la vacunología inversa 2.0 es la clonación de los anticuerpos monoclonales humanos a partir de células productoras de anticuerpos, las cuales son clasificadas en placas de múltiples pocillos utilizando citometría de flujo. Entonces se evalúa la relevancia clínica de los anticuerpos monoclonales en investigaciones *in vivo* de inmunidad pasiva o ensayos funcionales *in vitro* (Bidmos et al., 2018).

El poder de la caracterización de los anticuerpos producidos por células B humanas que se generaron *in vivo* en respuesta a infecciones específicas ha sido probado para diferentes virus, como por ejemplo para el virus de la influenza, el citomegalovirus humano (HCMV), el virus del dengue y el virus respiratorio sincitial (RSV) (Rappuoli et al., 2016).

Vacunología estructural

Esta estrategia parte de la observación de que con el reconocimiento de múltiples epítomos sin necesidad de la proteína antigénica se consigue una respuesta inmune eficaz (Finco y Rappuoli, 2014). Estos epítomos se escogen gracias al conocimiento de las secuencias de los aminoácidos de las proteínas y de sus estructuras secundarias y terciarias (González-Romo y Picazo, 2015). La vacunología estructural es un enfoque racional para desarrollar una vacuna eficaz que sigue 4 pasos:

1. En el primer paso de este enfoque, la estructura 3D del antígeno o del complejo antígeno-anticuerpo se determina utilizando herramientas de biología estructural, como son la cristalografía de rayos X, la microscopía crioelectrónica o la resonancia magnética nuclear.
2. Luego, se remodela el antígeno teniendo en cuenta su información estructural. El conocimiento inmunológico y bioinformático se combina con los conocimientos estructurales para diseñar un antígeno eficaz.
3. A continuación, el antígeno rediseñado es incorporado a un vehículo, como una vacuna de proteína recombinante o una vacuna viva atenuada.
4. Por último, la inmunogenicidad y la eficacia de la vacuna candidata deben probarse en modelos animales (Anasir y Poh, 2019).

Esta estrategia es complementaria a la vacunología inversa, pues puede servir para mejorar la inmunogenicidad de antígenos proteicos identificados por ella. Actualmente se investiga en una vacuna distinta frente al virus respiratorio sincitial (VRS), con prometedores resultados, y otra de sus potenciales aplicaciones será la vacuna frente al VIH, mejorando como antígeno vacunal la proteína Env, que es la única diana de los anticuerpos neutralizantes (González-Romo y Picazo, 2015).

Vacunas ARN

En las últimas dos décadas, ha habido un interés creciente respecto a la tecnología basada en el ARNm para el desarrollo de vacunas contra enfermedades infecciosas y gracias a los avances tecnológicos, se ha acelerado el proceso de las vacunas de ARNm (Maruggi et al., 2019). El uso de un mecanismo de administración basado en el ARN promete un desarrollo acelerado y una aprobación clínica y producción bastante rápidas (Sandbrink y Shattock, 2020).

El proceso comienza con la identificación del antígeno elegido del patógeno, se secuencian el gen del antígeno, se sintetiza y se clona en el plásmido molde de ADN. Se transcribe a ARNm *in vitro* y se administra en una vacuna al sujeto. Este tipo de vacuna utiliza la maquinaria de la célula huésped para la traducción *in vivo* en el antígeno correspondiente, reproduciendo una infección viral para provocar la respuesta inmunitaria, tanto humoral como celular (Maruggi et al., 2019).

Las vacunas de ARNm han demostrado muchas ventajas respecto a las vacunas clásicas. En teoría, el ARNm, puede codificar y expresar toda la información genética en todo tipo de proteínas. Además, la eficiencia de las vacunas puede ser optimizada modificando la secuencia del ARNm, y por último, los procedimientos de producción y purificación de

vacunas de ARNm son muy similares aunque se codifiquen diferentes antígenos (Xu et al., 2020).

El ARNm debe atravesar la membrana celular para llegar al citoplasma y para ello, uno de los métodos más desarrollados es la administración del ARNm formulado en nanopartículas lipídicas (LNPs, del inglés, Lipid Nano Particles) (Kowalski et al., 2019) (Figura 2). Estas partículas constan de lípidos catiónicos ionizables, fosfolípidos naturales, colesterol y polietilenglicol (PEG). Los lípidos catiónicos ionizables promueven la agregación autónoma de ARNm en una partícula de unos 100nm y luego liberar el ARNm en el

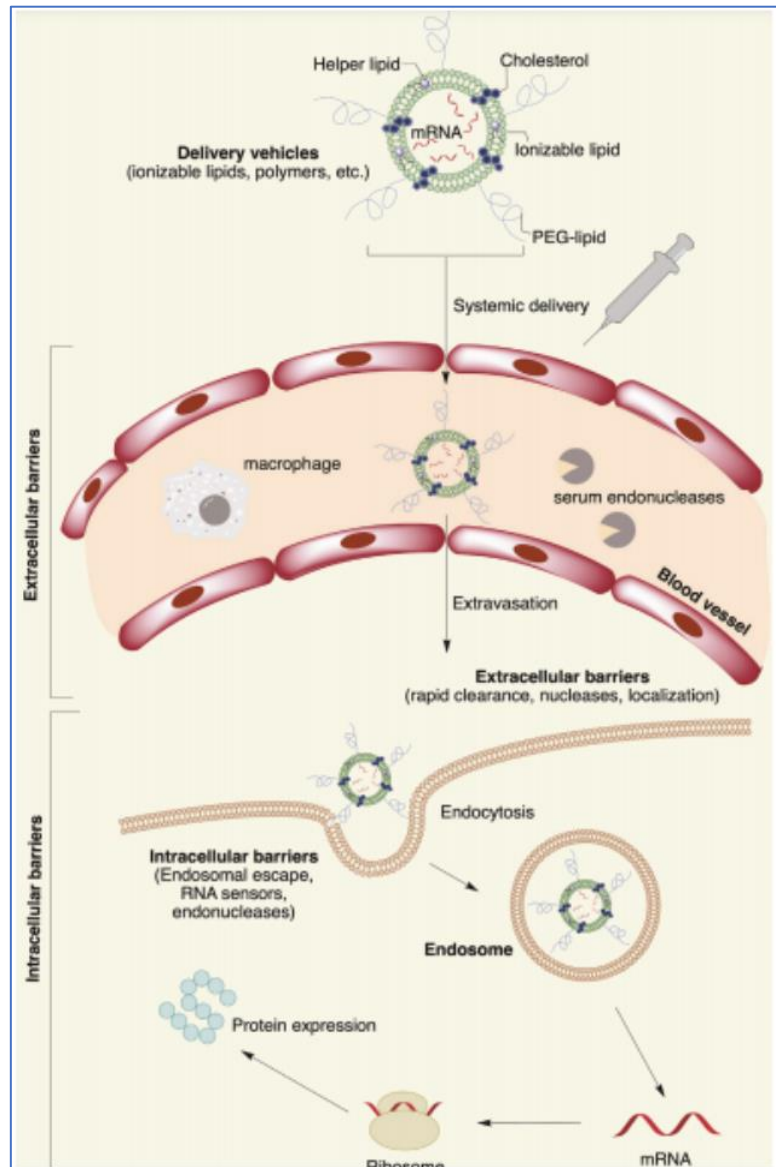


Figura 2. Representación de la administración de una vacuna de ARNm a través de la barrera extracelular e intracelular (Kowalski et al., 2019)

citoplasma; los fosfolípidos naturales sostienen las nanopartículas para formar una estructura de bicapa lipídica; el colesterol aumenta la estabilidad; y el PEG extiende la vida media de las LNP (Xu et al., 2020).

El ARNm se transporta en el núcleo de LNP para protegerse de la degradación y este complejo de ARNm se fusiona con la membrana de la célula huésped y entrega el ARNm a las células por endocitosis (Xu et al., 2020). El sistema fagocítico mononuclear (MPS),

en concreto en hígado y bazo, es un destino frecuente para las nanopartículas, puesto que su función es buscar agentes infecciosos de tamaño nanométrico (Kowalski et al., 2019).

Una de las ventajas más importante de las vacunas de ARNm sobre las vacunas convencionales es su sencilla fabricación (Sousa et al., 2021). Las etapas generales de desarrollo de esas vacunas son la construcción de la secuencia de ARNm que codifica el antígeno del patógeno; probar y elegir una combinación adecuada de ARNm, adyuvantes, materiales portadores y la vía de administración; detectar la expresión in vivo del antígeno codificado y el nivel de respuestas inmunes provocadas; proporcionando investigaciones y demostraciones de los mecanismos de inducción inmunitaria (Xu et al., 2020).

Las vacunas de ARN se han clasificado en dos subtipos: vacunas basadas en ARNm que no amplifican y vacunas de ARNm autoamplificadoras, que usan la maquinaria de traducción de la célula huésped para producir los antígenos diana y provocar adaptaciones específicas (Kowalski et al., 2019). Las vacunas de ARNm no amplificadoras contienen la estructura básica del ARNm, con un marco de lectura abierto que codifica los antígenos deseados. El tamaño del ARNm es más pequeño que el ARNm de una vacuna autoamplificadora y, además, las vacunas de ARNm no amplificadoras no tienen proteínas adicionales, lo que minimiza la posibilidad de provocar interacciones inmunogénicas con el huésped (Kowalski et al., 2019). Por otro lado, las vacunas de ARNm autoamplificadoras contienen un replicón basado en proteínas no estructurales de alfavirus para autoamplificarse en la célula huésped y tienen el potencial de inducir niveles más altos de producción de proteínas e inmunogenicidad en relación con la dosis inyectada en comparación con las vacunas de ARNm no amplificadoras (Sandbrink y Shattock, 2020).

Las vacunas de ARNm son una plataforma novedosa y prometedora, con el potencial de ser altamente versátiles, potentes y económicas. Este tipo de vacunas tienen un gran potencial respecto a las vacunas convencionales debido a su velocidad y el inferior costo de descubrimiento y desarrollo (Maruggi et al., 2019). La pandemia provocada por el SARS-CoV-2 es la primera prueba a la que se someten este tipo de vacunas y podrá determinar si estas vacunas se pueden desarrollar, aprobar y producir rápidamente frente a una crisis sanitaria (Sandbrink y Shattock, 2020).

NUEVAS ESTRATEGIAS DE POTENCIACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD

Vacunómica

Existen numerosos datos que muestran que los polimorfismos genéticos de un individuo actúan como determinantes en la inmunidad innata y adaptativa a las vacunas, por tanto, comprender las relaciones entre las variantes del gen de la respuesta inmune y la inmunidad específica de la vacuna pueden ayudar a diseñar nuevas vacunas (Ovsyannikova y Poland, 2011).

En el año 2005 surgió el concepto de vacunómica, una técnica para la potenciación de la inmunidad, que comprende diferentes ramas: genética, epigenética y otros factores individuales que contribuyen a variaciones en la respuesta inmune a las vacunas (González-Romo y Picazo, 2015); por tanto, la vacunómica aborda el campo de la vacunación predictiva o individualizada aplicada a una comprensión de los sistemas genéticos e inmunológicos responsables de las diferentes respuestas inmunitarias inducidas por vacunas (Ovsyannikova y Poland, 2011). En 2010, la revista *Scientific American* declaró esta idea como uno de los conceptos científicos más innovadores de la década (González-Romo y Picazo, 2015).

Los avances en los campos de la inmunogenética, la inmunogenómica, la bioinformática y la farmacogenómica han sido el origen de la vacunómica. La farmacogenómica es una rama de la medicina que proporciona la base científica y los resultados clínicos causantes de la práctica de terapias farmacológicas personalizadas, es decir, realizar una prescripción personalizada a cada paciente, maximizando así la eficacia y seguridad (Omersel and Karas Kuželički, 2020). Esta estrategia explora la influencia de la regulación genética y no genética en la heterogeneidad de las respuestas inmunitarias inducidas utilizando enfoques de biología de alto rendimiento y alta dimensión. Con la vacunómica se pretende identificar a los individuos con mayor riesgo de contraer determinadas infecciones, el nivel de riesgo que existe con una inmunogenicidad deficiente y/o eventos adversos graves, y el tipo de vacuna necesaria para la protección de cada persona (Poland et al., 2018).

La evidencia de esta estrategia proviene de estudios que comparan las respuestas inmunes inducidas por la vacuna en gemelos monocigóticos y dicigóticos, lo que proporciona una estimación de la contribución de los factores genéticos al estimar la heredabilidad de la

varianza total que se debe a factores genéticos en lugar de ambientales (Ovsyannikova y Poland, 2011). Otro estudio realizado también con gemelos monocigóticos y dicigóticos, se analizó que la heredabilidad de los niveles de IgG para las vacunas contra el sarampión, las paperas y la rubéola fue 88,5%, 38,8% y 45,7%, respectivamente. En otros estudios de gemelos, se observó una alta heredabilidad para la respuesta de anticuerpos para las vacunas contra la hepatitis B (77%), la poliomielitis oral (60%), el toxoide tetánico (44%) y la difteria (49%). Estos datos apoyan la idea de que los genes desempeñan una función definitoria en la variación interindividual de las respuestas de los anticuerpos después de la vacunación (Ovsyannikova y Poland, 2011).

Aunque los logros producidos por las vacunas prácticamente han hecho desaparecer numerosas enfermedades infecciosas, la población ha prestado atención a sus efectos adversos. Al administrarse a individuos sanos con el fin de prevenir una infección en lugar de tratarla, los parámetros de seguridad que se les exigen son mayores a los de otros fármacos o productos biológicos (González-Romo y Picazo, 2015). Mientras que la vacunómica se refiere a la eficacia de las vacunas, la adversómica se refiere a sus efectos secundarios (Omersel y Karas Kuželički, 2020). La adversómica trata de la aplicación de la inmunogenómica y la biología de sistemas al entendimiento de las complejas interacciones que conduce a las reacciones adversas a vacunas (Poland et al., 2018) (González-Romo y Picazo, 2015). La adversómica utiliza herramientas parecidas a las utilizadas en vacunómica para identificar, caracterizar y predecir respuestas inmunitarias adversas o desadaptativas a las vacunas (Poland et al., 2018).

Este campo tiene un enorme potencial para atender a las preocupaciones de la población sobre la seguridad de las vacunas con el fin de aportar una mayor confianza al público, mejorar las tasas de vacunación y reducir los efectos adversos graves en personas genéticamente predisuestas (Omersel y Karas Kuželički, 2020). De este modo, a pesar de ser un campo reciente, la investigación ya ha revelado asociaciones entre genes concretos y resultados inmunitarios adversos. Para ejemplificar tal investigación, se ha observado una asociación entre la expresión de genes de citocinas y fiebre después de la administración de la vacuna contra la viruela (Poland et al., 2018).

Nuevos adyuvantes

Desde los años 20 no se aprobó una vacuna que no contuviera un adyuvante distinto a las sales de aluminio, hasta que en 1990 se aprobó una vacuna contra el virus influenza que contenía un nuevo adyuvante: el MF59 (Del Giudice et al., 2018), que está compuesto de escualeno, polisorbato 80, trioleato de sorbitán y citrato trisódico deshidratado (Shi et al., 2019). Este adyuvante se empezó a probar a finales de la década de 1980, cuando se observó que la mayoría de los antígenos recombinantes parecían ser débilmente inmunogénicos cuando se combinaban con las sales de aluminio tradicionales (Shi et al., 2019). Por tanto, se empezó a estudiar emulsiones para ser usadas como adyuvantes. Primero se vio que las emulsiones de agua en aceite tenían efectos secundarios indeseables y comenzaron a estudiar las emulsiones de aceite en agua (como el MF59), que mejoraron claramente la tolerabilidad y la facilidad de uso (Shi et al., 2019).

Otro adyuvante con base de emulsión de aceite en agua es el AS03, que fue autorizado por primera vez en 2009 por la Comisión Europea, y desde entonces ha sido utilizado en vacunas contra la influenza y la malaria (Shi et al., 2019). Este adyuvante está compuesto por escualeno, polisorbato 80 y α -tocoferol (vitamina E), que es un inmunoestimulante (Del Giudice et al., 2018).

Como no se conocen al completo los mecanismos de actuación, los adyuvantes usados en la actualidad son limitados y se basan en una baja toxicidad y una inmunidad aceptable. Sin embargo, existen varios adyuvantes novedosos con mejor potencia y duración. A día de hoy, varios adyuvantes de vacunas están siendo sometidos a distintas etapas de ensayos clínicos (Shi et al., 2019). Este lento desarrollo de nuevas vacunas con adyuvante se debe a varios factores, como por ejemplo, el deseo de componentes más puros para conseguir vacunas más seguras o la demostración del efecto adicional para validar el uso del adyuvante, lo que aumenta el tiempo de desarrollo de la vacuna (Del Giudice et al., 2018).

Recientemente se ha demostrado que los adyuvantes moleculares podrían estimular una respuesta inmunitaria eficaz, especialmente en las vacunas subunidades. Se probaron citocinas, por ejemplo, IL-2 y factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos. Se piensa que su efecto es estimular la diferenciación y proliferación de macrófagos, activar las células presentadoras de antígenos (Shi et al., 2019), modular la respuesta hacia el tipo celular o humoral y mejorar la memoria inmunológica (González-Romo y Picazo, 2015).

IL-12 e IL-15 se han usado como adyuvantes en la vacuna contra el VIH que está en fase 1 de ensayos (Shi et al., 2019), y además, se ha observado que IL-15 e IL-7 favorecen la proliferación de linfocitos T CD8 (González-Romo y Picazo, 2015).

SITUACIÓN ACTUAL DEL DESARROLLO DE VACUNAS DE ENFERMEDADES HISTÓRICAS

Virus de la Inmunodeficiencia Humana

El virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) es un retrovirus causante de la epidemia mundial del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Desde que se identificó por primera vez a principio de la década de 1980, se han infectado alrededor de 70 millones de personas, ocasionando 35 millones de muertes (Gao et al., 2018). Se estima que, en 2016 el VIH afecta a 36,7 millones de personas en todo el mundo y que en 2015 se produjeron 2,1 millones de nuevos casos. En 2015, 17 millones de personas con VIH estaban en tratamiento antirretroviral (TAR), lo que ha hecho reducir la morbilidad y mortalidad de los individuos infectados y, además, puede prevenir la transmisión del virus (Hsu y O'Connell, 2017).

A pesar de décadas de investigación, todavía no existe una vacuna eficaz y tolerable contra el VIH-1. Entre los principales obstáculos para lograr el objetivo está la diversidad de secuencias de la envoltura (Env) del VIH-1 para provocar anticuerpos protectores ampliamente neutralizantes (bnAbs) y respuestas humorales y celulares no neutralizantes (Jones et al., 2020), puesto que las cepas que pertenecen a diferentes subtipos pueden diferir hasta en un 35% en las proteínas de su envoltura (Hsu y O'Connell, 2017).

Aunque la infección por VIH se asocia con disfunción de células B y una respuesta atenuada de anticuerpos, se ha observado que surgen anticuerpos neutralizantes autólogos dentro de los 3 a 12 meses posteriores a la infección. Además, se ha observado que la infección natural por VIH induce bnAbs en un 20-50% de los individuos positivos (Gao et al., 2018), lo que ha provocado el estudio del uso de combinaciones de bnAbs como método profiláctico mediante inmunización pasiva (Burton, 2019).

Los resultados prometedores de bnAb como inmunoterapia pasiva han provocado un gran interés en el diseño de vacunas contra el VIH-1 capaces de inducir bnAb (Hsu y O'Connell, 2017). Poco después de descubrir que el VIH era el agente causal del SIDA, se empezó a buscar una vacuna eficaz, pero tras investigaciones con primates quedó claro

que era poco probable que la estrategia de vacuna viva atenuada fuera aceptable, puesto que el virus mostró un gran poder de reparación por delección y mejora de la aptitud viral (Gao et al., 2018).

Los trabajos destinados a desarrollar una vacuna eficaz contra el VIH que induzca bnAbs se han centrado en estrategias secuenciales de múltiples inmunógenos, es decir, una secuencia de inmunizaciones con diferentes antígenos para guiar las respuestas de anticuerpos de las células B inmaduras a los bnAbs (Burton, 2019). Las estrategias más prometedoras incluyen: diseñar inmunógenos basados en plantillas de bnAbs conocidos (vacunología inversa 2.0); activar precursores de células productoras de bnAbs particulares y guiar su maduración; usar trímeros de envoltorio de VIH estabilizados recombinantes como base para muchos inmunógenos (Burton, 2019). Tras varios estudios de posibles vacunas con vectores de expresión, con proteínas recombinantes o con distintas rutas de administración, se ha visto que es relativamente sencillo provocar una respuesta inmunitaria apreciable en las personas, pero que la inmunidad generada no llega a proteger (Gao et al., 2018).

El diseño racional del antígeno de la vacuna se ha basado en el aislamiento de bnAbs contra la proteína Env del VIH (Gao et al., 2018) y la búsqueda de los sitios de unión de bnAbs identificados en la proteína Env del VIH, como el sitio de unión a CD4 y la región gp120-gp41 (Burton, 2019). El uso de dominios variables de cadena pesada y ligera de un bnAb nos diría el uso de la familia de genes de anticuerpos de la línea germinal, pero para el VIH se ha demostrado que los ancestros de la línea germinal no se unen a la Env del VIH porque sufren numerosas mutaciones (Gao et al., 2018), lo que requiere el diseño de inmunógenos para activar las células B precursoras de bnAb. Para guiar la respuesta de anticuerpos hacia bnAbs maduros, se utilizan una serie de inmunógenos con características crecientes de tipo trímero nativo (Burton, 2019), por lo tanto, un régimen de vacuna eficaz puede requerir el diseño de más inmunógenos (Gao et al., 2018).

Una alternativa para provocar bnAb es el diseño de una vacuna de linaje de células B. Los receptores de las células B podrían dirigirse con antígenos de Env para desencadenar la maduración de la afinidad seguida de un impulso para desarrollar amplitud. Un antígeno de la proteína gp120 fue capaz de producir células B de memoria e inducir anticuerpos en un modelo de ratón. Estos datos mostraron que el diseño de la vacuna de linaje de células B tiene potencial para inducir bnAbs, sin embargo, la obtención de bnAbs a través de la vacunación se encuentra en las primeras etapas de desarrollo y es poco

probable que avance a un ensayo de eficacia en un futuro próximo (Hsu y O’Connell, 2017).

Malaria

La malaria es una enfermedad causada por los parásitos del género *Plasmodium*, en concreto por cinco especies de protozoos: *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* y *P. knowlesi* (Frimpong et al., 2018); siendo la hembra del mosquito *Anopheles* la única especie que puede transmitir el parásito. La malaria sigue siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad (Mahmoudi y Keshavarz, 2018), con una estimación de 3.300 millones de personas en riesgo en 97 países, donde se acumulan 200 millones de casos y 600.000 muertes aproximadamente (Cowman et al., 2016).

No obstante, las medidas preventivas de control e intervención han ayudado a reducir la carga entre los años 2000 y 2015. Por ejemplo, la incidencia de nuevos casos de malaria se redujo en un 37% en todo el mundo y en un 42% en el continente africano. Además, la mortalidad en ese mismo período de tiempo se redujo en un 60% a nivel mundial y un 66% en África. Sin embargo, la malaria sigue produciendo enormes pérdidas económicas a las personas en África y es necesario ampliar las medidas (Frimpong et al., 2018).

La producción de una vacuna eficaz puede proporcionar una importante estrategia de control de la enfermedad. Desafortunadamente, el desarrollo de una vacuna se ha visto obstaculizado por la complejidad de la biología de los parásitos (Mahmoudi y Keshavarz, 2018) y la capacidad para evadir las respuestas inmunitarias (Frimpong et al., 2018).

El desarrollo de vacunas para la malaria sigue siendo un desafío, puesto que generan baja inmunidad y en su mayoría necesitan adyuvantes adecuados y la mayoría de los antígenos de la malaria escogidos muestran un polimorfismo genético significativo (Mahmoudi y Keshavarz, 2018). Los avances recientes en vacunología a través del descubrimiento de alto rendimiento de correlatos inmunitarios de protección, la secuenciación del repertorio de linfocitos y el diseño estructural de inmunógenos, proporcionan un enfoque integral para identificar y diseñar una vacuna altamente eficaz para la malaria (Frimpong et al., 2018).

Después de décadas de intensa investigación, se ha autorizado la vacuna “RTS,S / AS01” en etapa preeritrocítica y se ha demostrado que la vacuna es segura e inmunogénica sin eventos adversos tras su evaluación (Frimpong et al., 2018). Está compuesta por 18 copias de la repetición central y el dominio C-terminal de una proteína recombinante de la

proteína del circumsporozoito de *P. falciparum* fusionada al antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (Draper et al., 2018).

En el ensayo clínico de fase III en los que participaron más de 15.000 niños africanos (Cowman et al., 2016) se observó que la eficacia de la vacuna después de 4 dosis era del 43,9% en niños de 5 a 17 meses y del 27,8% en bebés de 6 a 12 semanas (Frimpong et al., 2018). Sin embargo, esta protección es parcial, disminuye con el tiempo y depende de la edad, puesto que los bebés de 6 a 12 semanas tienen una protección menor (Draper et al., 2018). En consecuencia, se están evaluando otros regímenes de vacunación, como el número de dosis o el momento de la inmunización (Frimpong et al., 2018).

Se ha demostrado que los esporozoitos atenuados por radiación confieren protección en humanos cuando se han administrado con las picaduras de los mosquitos, por lo que se ha aislado un producto purificado aséptico y crioconservado de estos esporozoitos para ensayos clínicos (Draper et al., 2018). Este producto se ha convertido en la vacuna “PfSPZ”, que se ha visto que brinda protección (Cowman et al., 2016) y se asocia a respuestas sólidas de células T CD8 (Draper et al., 2018). Los ensayos clínicos con PfSPZ en áreas endémicas con seguros y bien tolerados, pero inducen un nivel bajo de respuestas inmunitarias en comparación con individuos sin experiencia (Frimpong et al., 2018).

La vacuna de PfSPZ podría ser mejorada con otras estrategias, como son la atenuación genética de los parásitos, que puede ser beneficios para el control de calidad; o la quimioprolifaxis con esporozoitos, donde se necesitan menor número de parásitos para inducir inmunidad, aunque requiere tratamiento con cloroquina después de cada dosis de vacunación. Sin embargo, todos comparten el reto de inducir una protección ante todas las cepas (Cowman et al., 2016).

Dado que el desarrollo de vacunas altamente efectivas basadas en una sola etapa del ciclo de vida no tuvo éxito, se sugiere encarecidamente la introducción de vacunas efectivas que incluyan antígenos de más de una etapa del ciclo de vida del parásito (Mahmoudi y Keshavarz, 2018). Esta combinación de antígenos expresados en múltiples etapas del ciclo de vida es una estrategia prometedora porque la adición de un componente de la etapa eritrocítica reduciría el riesgo de morbilidad y mortalidad y proporcionaría protección inmunológica mientras la transmisión disminuye (Cowman et al., 2016).

También se ha aplicado la vacunología inversa en la malaria para identificar proteínas del parásito como posibles vacunas candidatas. La secuencia genómica de *Plasmodium*

falciparum está disponible desde 2002 y también se han publicado las secuencias de otras especies del parásito. Se ha visto que los genes Pf48/45 y PfHAP2 tienen un papel importante en la reducción de la fertilidad de los gametos masculinos, nominándolos como candidatos a posible vacuna, que actualmente se encuentra en la etapa preclínica (Frimpong et al., 2018).

Para patógenos como *Plasmodium falciparum*, la vacunología estructural también puede ayudar a superar la variación antigénica. Se han identificado dominios estructurales a partir de la etapa eritrocítica asexual del parásito examinando su genoma y se ha seleccionado un péptido no estructurado que se despliega en conformación nativa. El péptido P27A fue el objetivo de los anticuerpos humanos que fueron capaces de restringir la replicación del parásito, por lo que se ha desarrollado una vacuna candidata a partir de este péptido que ha sido declarada inmunogénica y segura con efectos adversos leves tras los ensayos clínicos de fase 1 (Frimpong et al., 2018).

SARS-CoV-2

En diciembre de 2019, se notificaron los primeros casos de infecciones humanas por un coronavirus zoonótico en la región de Wuhan (China). El virus causa una enfermedad respiratoria denominada ‘enfermedad por coronavirus 2019’ o ‘COVID-19’ (Karpiński et al., 2021), aunque posteriormente fue nombrado ‘síndrome respiratorio agudo severo por coronavirus 2’ o ‘SARS-CoV-2’. La Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró el brote de emergencia de salud pública el 30 de enero de 2020 y pandemia el 11 de marzo de 2020 (Li and Li, 2021). Para el 4 de noviembre de 2020, se habían notificado 47.594.234 casos de COVID-19 y 1.215.892 muertes por la enfermedad (Karpiński et al., 2021).

El SARS-CoV-2 pertenece a la familia de los coronavirus y es miembro del subgénero Sarbecovirus. Existen 7 especies de la familia que tienen la capacidad de infectar a los seres humanos, y tres de ellos causan enfermedades respiratorias graves, incluido el virus del SARS (SARS-CoV-1) y el coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV) (Li and Li, 2021). La secuencia genética del SARS-CoV-2 fue publicada el 11 de enero de 2020 y los estudios han mostrado un 80% de similitud en el genoma de ARN de SARS-CoV-2 y SARS-CoV, aunque se informan variaciones notables en el genoma de ambos virus, al igual que con el genoma de MERS-CoV (Rawat et al., 2021).

El virión del SARS-CoV-2 es generalmente esférico con un diámetro de 60 a 140 nm y con una longitud de pico de 9 a 12 nm en la superficie de la partícula del virus. Está compuesto por cuatro proteínas estructurales y no estructurales; así pues, son las primeras las que tienen un papel importante en el ensamblaje viral y en la infección del huésped (Li and Li, 2021). Los cuatro tipos de proteínas estructurales son la proteína S (proteína pico, que proviene del inglés 'spike'), la proteína E (envoltura), la proteína M (glicoproteína de membrana) y la proteína N (proteína de la nucleocápsida) (Rawat et al., 2021). Los trímeros de la proteína S están glicosilados y forman picos en la superficie de los virus que son responsables de unirse a receptores de la célula huésped y permitir que el coronavirus invada las células del huésped (Li and Li, 2021).

Actualmente, no hay medicamentos disponibles para tratar la enfermedad causa por el virus; por ello, la única estrategia que se sigue para combatir la enfermedad es aliviar los síntomas del paciente (Rawat et al., 2021). Se ha afirmado que las vacunas, si se desarrollan con éxito, serán la estrategia más eficaz en la lucha mundial contra la pandemia por el SARS-CoV-2 (Karpiński et al., 2021).

A 4 de noviembre de 2020, se estaban realizando ensayos clínicos para 52 vacunas contra el SARS-CoV-2: 9 en Fase 3, 3 en la Fase 2, 18 en la Fase 1/2 y 22 en la fase 1. Entre estas candidatas a vacuna, 13 son vacunas subunidad, 11 vacunas de vectores virales no replicantes, 6 vacunas inactivadas, 6 de ARN, 4 de ADN, 4 de vectores virales replicantes, 2 de proteína similar a virus (VLP) y 6 con otro mecanismo (Karpiński et al., 2021).

Respecto a las vacunas de ARN, una de las vacunas candidatas es la vacuna basada en ARNm encapsulado en nanopartículas lipídicas denominada BNT162b1 desarrollada por BioNTech, Fosun Pharma y Pfizer (Rawat et al., 2021). Está compuesta por ARN mensajero modificado con nucleósidos que codifica el dominio de unión al receptor de la proteína S del SARS-CoV-2 y está encapsulada en una nanopartícula lipídica (Tabla 1) (Li and Li, 2021).

En los ensayos se mostró que las dosis de 1 y 50 µg de vacuna indujeron una fuerte respuesta de las células T CD4+ y CD8+, mostrando las células T Th1 CD4+ una reacción fuerte, las células T CD4 + y CD8 + específicas de RBD se amplificaron significativamente (Li and Li, 2021). Al mismo tiempo, se vio que la vacuna presenta una mayor reactogenicidad tras una dosis de refuerzo, que el perfil de seguridad es aceptable

(Rawat et al., 2021), a pesar de que algunos pacientes presentarían dolor leve a moderado en el lugar de la inyección y otras reacciones adversas leves (Li and Li, 2021).





Nombre de la vacuna	Compañía productora	Tipo de vacuna	Número de dosis
BNT162b1	<ul style="list-style-type: none"> - BioNTech - FosunPharma - Pfizer 	Vacuna de ARNm en LNP	
mRNA-1273	<ul style="list-style-type: none"> - Moderna TX - Instituto Nacional de Alergia y Enfermedades Infecciosas de Estados Unidos 	Vacuna ARNm en LNP	
AZD-1222	<ul style="list-style-type: none"> - Universidad de Oxford - AstraZeneca - Instituto Suero de India 	Vector viral no replicativo de adenovirus	
Ad26.COV2.S	<ul style="list-style-type: none"> - Laboratorios Janssen 	Vector viral no replicativo de adenovirus	

Tabla 1. Vacunas contra el virus SARS-CoV-2 (Elaboración propia)

La vacuna mRNA-1273, desarrollada por la compañía Moderna TX y el Instituto Nacional de Alergias y Enfermedades Infecciosas de Estados Unidos (Karpíński et al., 2021) está compuesta por ARN mensajero modificado con nucleósidos y está encapsulada en nanopartículas lipídicas (LNP) (Tabla 1). Esta vacuna codifica la proteína S presente en la superficie del SARS-CoV-2 (Rawat et al., 2021) y es por esta razón que existe una fuerte respuesta de anticuerpos anti-S tras la primera y segunda dosis; asimismo, tras los ensayos se observó que todos los sujetos tenían suero neutralizante tras la segunda inyección y un título de anticuerpos igual o mayor que los títulos de anticuerpos de los pacientes positivos ya recuperados (Li and Li, 2021).

De las tres dosis evaluadas de 250 µg, 100 µg y 50 µg, la dosis de 100 µg provocó una alta respuesta de neutralización y un perfil de reactogenicidad más favorable que el de la dosis más alta y esta inmunogenicidad se atribuye a la conformación plegada de la proteína S como antígeno acoplado a LNP (Rawat et al., 2021).

Los efectos secundarios de la inyección incluyeron dolor en inflamación en el lugar de la inyección, fatiga, escalofríos, dolor de cabeza y mialgia. Los efectos adversos sistémicos después de la primera vacunación se notificaron como leves a moderados, no obstante fueron más graves y frecuentes tras la segunda dosis (Karpíński et al., 2021).

Al mismo tiempo, la Universidad de Oxford, el laboratorio AstraZeneca y el Instituto Suero de India, han desarrollado la vacuna ChAdOx1 nCoV-19/ AZD-1222 (Tabla 1) (Karpíński et al., 2021) basada en un vector no replicativo de adenovirus de chimpancé, el cual incluye un gen de la proteína S con codones optimizados (Li and Li, 2021).

El informe preliminar publicado por el grupo de investigación muestra que la vacuna candidata es segura y tolerada, asimismo, se observaron respuestas celulares 14 días después de la primera dosis y el día 28 se encontró que las respuestas humorales a la proteína S estaban en un su punto máximo. La segunda dosis administrada tras 28 días de la primera dosis indujo anticuerpos neutralizantes en todos los participantes (Rawat et al., 2021).

Por último, cabe destacar la vacuna Ad26.COV2.S, desarrollada por los laboratorios Janssen, que también utiliza un adenovirus Ad26 como vector viral no replicativo (Karpíński et al., 2021) y sólo necesita una dosis para la inmunización completa (Tabla 1), puesto que indujo altos títulos de anticuerpos neutralizantes tras 2-4 semanas después de la inmunización (Li and Li, 2021).

Según los resultados de los ensayos clínicos preliminares publicados, la vacuna fue más segura en personas de edad avanzada que en personas más jóvenes y más del 80% de los sujetos de edad avanzada y jóvenes fueron positivos para citocinas Th1 con respuestas de células T CD4+ específicas contra la proteína S (Li and Li, 2021).

CONCLUSIONES

En virtud de lo examinado en esta revisión bibliográfica, donde se ha estudiado las nuevas estrategias de desarrollo de vacunas y el pronóstico de tres importantes enfermedades infecciosas, se pueden obtener las siguientes conclusiones:

- En primer lugar, los progresos en tecnología y los nuevos conocimientos sobre la inmunidad auguran un futuro prometedor respecto a nuevas técnicas. En el caso de la vacunología inversa, una técnica muy reciente, ya se pueden observar estudios de “vacunología inversa 2.0” y es fruto de los avances de una investigación ininterrumpida.

- Las vacunas basadas en ARNm han demostrado un gran avance respecto a las vacunas tradicionales. La rápida creación de las vacunas de ARNm contra el SARS-CoV-2 y sus buenos resultados presagian una nueva era de producción de vacunas.
- La vacunómica puede ser la base de una nueva época de producción de vacunas, puesto que nunca se había considerado una vacuna personalizada según la respuesta inmunitaria de cada individuo. Este concepto puede maximizar la eficacia de la vacuna y mejorar la seguridad de cada persona, además de identificar a individuos con riesgo de sufrir los síntomas más graves de una enfermedad.
- La vacuna del VIH sigue un lento proceso de desarrollo, aunque los últimos ensayos en ratones con un antígeno de la proteína gp120 produjeron células B de memoria e indujeron anticuerpos. Es una candidata a vacuna que aún tendrá que esperar unos años más.
- Las vacunas “RTS,S/AS01” y “PfSPZ” contra la malaria son un gran avance en la investigación para frenar esta enfermedad, sin embargo, no han inducido la inmunidad suficiente. Gracias a las nuevas estrategias, como la vacunología inversa y la vacunología estructural, existen candidatos a vacuna en ensayos clínicos y preclínicos que arrojan esperanza a la investigación.

BIBLIOGRAFÍA

Anasir MI, Poh CL. Structural vaccinology for viral vaccine design. *Front Microbiol.* 2019; 10(738): 1–11.

Bidmos FA, Siris S, Gladstone CA, Langford PR. Bacterial vaccine antigen discovery in the reverse vaccinology 2.0 Era: Progress and challenges. *Front Immunol.* 2018; 9(2315): 1–7.

Burton D. What are the most powerful immunogen design vaccine strategies? Reverse vaccinology 2.0 shows great promise. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2017; 9(11): 1–7.

Burton DR. Advancing an HIV vaccine; advancing vaccinology. *Nat Rev Immunol.* 2019; 19(2): 77–78.

Cowman AF, Healer J, Marapana D, Marsh K. Malaria: Biology and Disease. *Cell.* 2016; 167(3): 610–624.

Draper SJ, Sack BK, King CR, Nielsen CM, Rayner JC, Higgins MK, Long CA, Seder RA. Malaria Vaccines: Recent Advances and New Horizons. *Cell Host Microbe.* 2018; 24(1): 43–56.

Finco O, Rappuoli R. Designing vaccines for the twenty-first century society. *Front Immunol.* 2014; 5(12): 1–6.

Francis MJ. Recent Advances in Vaccine Technologies. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2018; 48(2): 231–241.

Frimpong A, Kusi KA, Ofori MF, Ndifon W. Novel strategies for malaria vaccine design.

- Front Immunol. 2018; 9(2769): 1–14.
- Gao Y, McKay PF, Mann JFS. Advances in HIV-1 vaccine development. *Viruses*. 2018; 10(4): 1–26.
- Del Giudice G, Rappuoli R, Didierlaurent AM. Correlates of adjuvanticity: A review on adjuvants in licensed vaccines. *Semin Immunol*. 2018; 39: 14–21.
- González-Romo F, Picazo JJ. El desarrollo de nuevas vacunas. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2015; 33(8): 557–568.
- Greenwood B. The contribution of vaccination to global health: Past, present and future. *Philos Trans R Soc B Biol Sci*. 2014; 369(1645): 1-9.
- Hsu DC, O’Connell RJ. Progress in HIV vaccine development. *Hum Vaccines Immunother*. 2017; 13(5): 1018–1030.
- Jeyanathan M, Afkhami S, Smaill F, Miller MS, Lichty BD, Xing Z. Immunological considerations for COVID-19 vaccine strategies. *Nat Rev Immunol*. 2020; 20(10): 615–632.
- Jones LD, Moody MA, Thompson AB. Innovations in HIV-1 Vaccine Design. *Clin Ther*. 2020; 42(3): 499-514.
- Karch CP, Burkhard P. Vaccine technologies: From whole organisms to rationally designed protein assemblies. *Biochem Pharmacol*. 2016; 120: 1–14.
- Karpiński TM, Ożarowski M, Seremak-Mrozikiewicz A, Wolski H, Włodkowiec D. The 2020 race towards SARS-CoV-2 specific vaccines. *Theranostics*. 2021; 11(4): 1690–1702.
- Kowalski PS, Rudra A, Miao L, Anderson DG. Delivering the Messenger: Advances in Technologies for Therapeutic mRNA Delivery. *Mol Ther*. 2019; 27(4): 710–728.
- Li DD, Li QH. SARS-CoV-2: vaccines in the pandemic era. *Mil Med Res*. 2021; 8(1): 1–15.
- Lundstrom K. Application of Viral Vectors for Vaccine Development with a Special Emphasis on COVID-19. *Viruses*. 2020; 12(11): 1-27.
- Mahmoudi S, Keshavarz H. Malaria vaccine development: The need for novel approaches: A review article. *Iran J Parasitol*. 2018; 13(1): 1–10.
- Maruggi G, Zhang C, Li J, Ulmer JB, Yu D. mRNA as a Transformative Technology for Vaccine Development to Control Infectious Diseases. *Mol Ther*. 2019; 27(4): 757–772.
- Minor PD. Live attenuated vaccines: Historical successes and current challenges. *Virology*. 2015; 479–480: 379–392.
- Mohammadzadeh M, Mamishi S, Pourakbari B, Mahmoudi S. Recent approaches in whole cell pneumococcal vaccine development: A review study. *Iran J Microbiol*. 2017; 9(6):381–388.
- Morais V, Texeira E, Suarez N. Next-Generation Whole-Cell Pneumococcal Vaccine. *Vaccines*. 2019; 7(4): 151.

- Omersel J, Karas Kuželički N. Vaccinomics and Adversomics in the Era of Precision Medicine: A Review Based on HBV, MMR, HPV, and COVID-19 Vaccines. *J Clin Med*. 2020; 9(11): 3561.
- Ovsyannikova IG, Poland GA. Vaccinomics: Current findings, challenges and novel approaches for vaccine development. *AAPS J*, 2011; 13(3): 438–444.
- Pichichero M. Pneumococcal whole-cell and protein-based vaccines: Changing the paradigm. *Expert Rev Vaccines*. 2017; 16(2): 1181–1190.
- Plotkin S. History of vaccination. *Proc Natl Acad Sci*. 2014; 111(34): 12283–12287.
- Plotkin SA, Plotkin SL. The development of vaccines: How the past led to the future. *Nat Rev Microbiol*. 2011; 9(12): 889–893.
- Poland GA, Ovsyannikova IG, Kennedy RB. Personalized vaccinology: A review. *Vaccine*. 2018; 36(36): 5350–5357.
- Pollard AJ, Bijker EM. A guide to vaccinology: from basic principles to new developments. *Nat Rev Immunol*. 2021; 21(2): 83–100.
- Rappuoli R, Bottomley MJ, D’Oro U, Finco O, De Gregorio E. Reverse vaccinology 2.0: Human immunology instructs vaccine antigen design. *J Exp Med*. 2016; 213(4): 469–481.
- Rauch S, Jasny E, Schmidt KE, Petsch B. New vaccine technologies to combat outbreak situations. *Front Immunol*. 2018; 9(1963): 1-24.
- Rawat K, Kumari P, Saha L. COVID-19 vaccine: A recent update in pipeline vaccines, their design and development strategies. *Eur J Pharmacol*. 2021; 892(2021): 1-12.
- Sandbrink JB, Shattock RJ. RNA Vaccines: A Suitable Platform for Tackling Emerging Pandemics? *Front Immunol*. 2020; 11: 1–9.
- Shi S, Zhu H, Xia X, Liang Z, Ma X, Sun B. Vaccine adjuvants: Understanding the structure and mechanism of adjuvanticity. *Vaccine*. 2019; 37(24): 3167–3178.
- Sousa S, Prazeres DMF, Azevedo AM, Marques MPC. mRNA vaccines manufacturing; Challenges and bottlenecks. *Vaccine*. 2021; 39(16): 2190-2200.
- Ura T, Okuda K, Shimada M. Developments in viral vector-based vaccines. *Vaccines*. 2014; 2(3): 624–641.
- Weiss RA, Esparza J. The prevention and eradication of smallpox: A commentary on Sloane (1755) ‘An account of inoculation.’ *Philos Trans R Soc B Biol Sci*. 2015; 370(1666): 1-11.
- Xu S, Yang K, Li R, Zhang L. Mrna vaccine era—mechanisms, drug platform and clinical prospection. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(18): 1-35.