

Editorial

Futuro en el desarrollo de vacunas

J.J. Picazo y F. González Romo

Servicio de Microbiología Clínica, Hospital Clínico San Carlos, Universidad Complutense, Madrid

Son numerosos los campos de la medicina que se han desarrollado de forma explosiva en los últimos años, en la mayoría de los casos gracias a los avances científicos y tecnológicos puestos a su disposición. Dentro de éstos se encuentra, sin lugar a dudas, el área de las vacunas, que se ha convertido en uno de los más pujantes de la investigación biomédica. El principal objetivo de estos avances se centra no sólo en luchar contra enfermedades frente a las cuales no hay vacunas disponibles (microorganismos intracelulares, virus que mutan con frecuencia o que producen infecciones crónicas) sino en mejorar las ya disponibles, proporcionando respuestas inmunitarias más fuertes, amplias, duraderas y seguras, que puedan permitir reducir el número de dosis y emplear vías de administración más cómodas. Son tantos los avances y las nuevas ventanas abiertas, y se encuentran tan interrelacionadas, nutriéndose unas de otras, que resulta complicado clasificarlas a la hora de su exposición. Podemos afirmar, no obstante, que por un lado se dispone de nuevas técnicas y herramientas, y por otro de nuevas estrategias y enfoques.

En el primer grupo, gracias al amplio impulso de la biología molecular y de las técnicas de secuenciación, se ha producido un importante avance en el conocimiento de la genómica, o sea, la identificación y el estudio de los genes así como el conocimiento de

su función de cara a crear copias de un organismo. La recombinación genética, por ejemplo, permite crear vacunas a gran escala y bajo coste mediante la inserción del genoma que codifica un antígeno determinado en otro microorganismo, habitualmente una levadura, para que lo fabrique en grandes cantidades. Es el clásico caso de la vacuna frente a la hepatitis B, que tanto éxito ha proporcionado, pero también el de otras más recientes como la vacuna frente al virus del papiloma humano. Una variante de esta técnica consistiría en la administración directamente de un vector atenuado con el genoma que nos interesa para que, o bien se replique y exprese el antígeno, como se investiga en vacunas frente al dengue, o bien, como variante, se introduzca en las células y se exprese en el citoplasma sin llegar a replicarse.

El manejo de los ácidos nucleicos permite el desarrollo de vacunas de DNA "desnudo", que inoculan directamente DNA plasmídico bacteriano, cuya entrada en la célula permitirá la vacunación con respuestas inmunitarias celulares óptimas y una buena memoria inmunitaria. Las expectativas tras la experimentación animal en ratones se incrementaron enormemente; sin embargo, problemas en los modelos con primates y humanos han mermado la confianza que se depositó en ellas. El desarrollo de estas vacunas se está aplicando en la protección frente a la malaria y el VIH.

La genética inversa se basa en la posibilidad de generar un agente infeccioso completo a partir de la transferencia de DNA. Se incluirían o sustituirían secuencias génicas, obtenidas tras la inducción de mutagénesis, de cepas no virulentas o experimentalmente para observar su comportamiento fenotípico. Se utiliza sobre todo en investigación con virus de la gripe, parainfluenza y respiratorio sincitial. Permite, por ejemplo, el desarrollo muy rápido de vacunas frente a variantes de virus emergentes, como el de la gripe H5N1.

De forma similar a la genómica funcional, la proteómica trata la identificación de proteínas antigénicas virales y bacterianas, cuyo papel inmunizante no se había tenido en cuenta previamente, y determina la función que cada una desarrolla en el proceso patogénico. Se aplica, por ejemplo, en el desarrollo de una vacuna de péptidos sintéticos frente a la enfermedad de Lyme.

Desde hace años era un problema el hecho de que si bien las proteínas son buenos inmunógenos, los polisacáridos no lo son, lo que frenaba el desarrollo de vacunas frente a algunos patógenos cuyos antígenos protectores más relevantes tienen precisamente esta composición. La conjugación de polisacáridos a proteínas “portadoras”, que pudieran poner en marcha mecanismos de defensa frente a ambos, ha permitido su empleo especialmente en los niños menores de 2 años que no responden ni generan memoria inmunitaria frente a los inmunógenos independientes de células T, como los polisacáridos, y que sufrían enfermedades graves que ahora han disminuido enormemente, como la enfermedad invasora por *Haemophilus influenzae* tipo b, por neumococo o por meningococo C. Actualmente se intenta desarrollar estos polisacáridos de forma sintética para evitar su costoso y dificultoso proceso de purificación a partir del crecimiento del patógeno, y se investiga su aplicación en vacunas frente a *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Cuando dos virus de genomas segmentados se replican en una misma célula, genes de ambos virus pueden quedar englobados en las nuevas partículas virales por puro azar, y de éstas muchas no serán viables pero otras tendrán la capacidad de generar inmunogenicidad sin virulencia. Mediante este diseño natural de virus reensamblados (*resorted*) se desarrolla la vacuna frente a la gripe, distinta de año en año, y se continúa investigando, como en el caso de la reciente vacuna frente al rotavirus.

Por otro lado, se puede aprovechar la sensibilidad térmica de determinados virus a temperaturas altas o bajas para la selección de mutantes atenuadas; por ejemplo, a 25 °C se seleccionan cepas para el desarrollo de vacunas adaptadas al frío frente al virus de la gripe.

El desarrollo de la genética ha coincidido con el de la informática, y el desarrollo de las vacunas se ha beneficiado de ambos. El estudio del genoma completo del microorganismo nos permite conocer todos los antígenos que puede producir, independientemente de su localización, de su cantidad y de su potencial inmunógeno. Pero esta información no se podría aplicar sin el estudio ponderado de todos los datos para poder extraer conclusiones lógicas y reproducibles, y esto, además, resultaría imposible si no contáramos con un sistema de procesamiento y simulación: la bioinformática.

Por otro lado, e íntimamente conectado con los aspectos anteriores, el tremendo empuje en el conocimiento del sistema inmunitario y de las reacciones huésped-patógeno en los diferentes estadios de la infección ha cambiado el enfoque de algunos conceptos clásicos y ha fomentado el diseño de nuevas estrategias de desarrollo de vacunas. Entre éstas destaca el papel de la vacunología inversa en la identificación de nuevos antígenos protectores. Se trata de la identificación virtual de un antígeno a partir de modelos informáticos fuera del laboratorio, gracias al conocimiento del genoma completo de un patógeno, para proponer vacunas candidatas, que se desarrollan mediante técnicas de ingeniería genética y finalmente se van descartando según los resultados en modelos animales. El desarrollo de la vacuna frente a *Neisseria meningitidis* del grupo B ha sido pionero de esta estrategia y actualmente se emplea, por ejemplo, en el diseño de vacunas frente a *Streptococcus agalactiae*. El inconveniente de su mayor diversidad génica se intenta compensar con el concepto del “pangenoma”, basado en comparar los genomas de distintas cepas e identificar los genes compartidos (*genoma core*). Con otro enfoque se encuentran en marcha varias estrategias encaminadas a la identificación de epítomos en los linfocitos T mediante el descubrimiento de genes que codifiquen péptidos que se unan a moléculas de HLA, con el propósito de estimular la respuesta de los linfocitos T.

Otra línea es mejorar o aumentar la inmunogenicidad mediante el empleo de nuevos adyuvantes que activen las células dendríticas y su capacidad para pro-

cesar y presentar antígenos, y para atraer y activar linfocitos T, sin plantear problemas de seguridad. Entre los adyuvantes en estudio se encuentran algunos como el MF59, que ha mostrado buena eficacia y seguridad en la vacuna de la gripe y se prepara para otros antígenos como el VIH y el VHC. En una de las vacunas frente a la malaria se prueba el adyuvante AS02A (emulsión de aceite en agua de monofosforil lípido A [MPL] junto a la fracción 21 de *Quillaja saponaria*), con resultados prometedores que han fomentado su empleo en otras vacunas. En otra línea, menos desarrollada, se prueban secuencias sintéticas de citidina fosfato guanosina (CpG) que mimeticen el comportamiento del DNA bacteriano y otras moléculas que estimulan la respuesta mucosa, tales como la toxina de *Vibrio cholerae*, o la toxina lábil de *Escherichia coli*. Con el mismo fin se investiga la administración de citocinas o de células dendríticas, y el desarrollo de sistemas de entrega que faciliten la presentación del antígeno al sistema inmunitario.

Las vacunas combinadas, en su clásico concepto de una misma vacuna frente a varios agentes infecciosos, se encuentran en pleno desarrollo y presentan numerosas ventajas (menos pinchazos dolorosos, menor número de visitas y más cortas a los centros de vacunación, mayor seguridad, menores costes, mejor cumplimiento y cobertura vacunal, y más fácil registro). Las tecnologías del futuro facilitarán aún más su desarrollo, más complejo de lo que podría parecer, y se cree que en breve se podrá disponer de vacunas combinadas para síndromes clínicos (meningitis, por ejemplo) más que para agentes infecciosos concretos, proporcionando una nueva concepción del acto vacunal. Pero, por otro lado, ha surgido un concepto moderno de vacuna combinada, novedoso y completamente diferente, que hace referencia a aquella vacuna que estimula varias ramas del sistema inmunitario al mismo tiempo para generar una respuesta eficaz frente a un patógeno. Estimulación y activación de células dendríticas a la vez que respuesta de linfocitos T y linfocitos B, generación de anticuerpos y fijación del complemento, todo ello junto a adyuvantes y moléculas que aumenten la inmunogenicidad, o con péptidos que inhiban el proceso infeccioso favoreciendo la formación de pseudópodos o la internalización de la bacteria en la célula.

Salvando algunas excepciones de administración oral en gotas, la mayoría de las vacunas actuales se administran mediante punción con aguja, utilizando la vía intramuscular, la subcutánea o la intradérmica. Por

ello, dado el mayor número de vacunas que se administran hoy día, se investiga en la búsqueda de nuevas vías de administración menos invasoras, más fáciles y más seguras. De esta forma se podrán conseguir mayores coberturas vacunales y menos efectos secundarios, incluyendo la transmisión de agentes infecciosos (un problema preocupante en los países en desarrollo), así como una más cómoda infraestructura vacunal, ya que en algunos casos la estricta cadena de frío podría verse solventada, mejorando la distribución a lugares poco accesibles y evitando fallos vacunales. Además, algunas de estas nuevas vacunas podrían resultar más baratas y fáciles de fabricar, lo que aumentaría la posibilidad de ser producidas directamente en los países no desarrollados.

Desde hace tiempo existen dispositivos inyectoros sin aguja que introducen líquido a alta presión. Además de ser más seguros y cómodos, resultan más rápidos, pero parecen generar mayor número de reacciones locales y persiste la sombra de la sobreinfección. Existen también dispositivos que aprovechan pequeñas descargas (pulsos) eléctricas (electroestimulación/electroporación) para asegurar la entrada en la epidermis. Para la administración de vacunas de DNA se utilizan las denominadas "pistolas génicas", que prácticamente introducen los plásmidos en el interior de las células. En otra línea se encuentran las aplicaciones de la investigación en nanotecnología, ciencia que estudia las propiedades y utilidades de los materiales a escala nanométrica, y puede emplearse en el desarrollo de transportadores o vectores, señalado como prioritario por ejemplo por la Fundación GAVI.

La tecnología transgénica nos permite ya incluir determinados genes en los alimentos, tales como patatas, plátanos, tomates, maíz, alfalfa e incluso yogur. La ingestión del alimento crudo, que actúa como vector, permite la expresión del antígeno vacunal y la aparición de la respuesta inmunitaria. Aunque hasta el momento esta respuesta es menor que la desarrollada con los sistemas convencionales de vacunación, no hace falta subrayar el impacto que esta tecnología podría tener al permitir la llegada de la vacuna a lugares ahora prácticamente inaccesibles gracias a su barata y fácil fabricación y distribución, así como por su buena aceptación. Esta tecnología requiere todavía una mayor investigación, evaluando la estabilidad de la vacuna, el mantenimiento de la tolerabilidad de los antígenos alimentarios, así como la posible transformación del antígeno en el alimento. Para solventar estos inconvenientes se trabaja en la producción de sistemas

alimentarios alternativos, como la presentación de estos alimentos en forma de tableta deshidratada o en cápsulas de gelatina. Por otro lado, de forma indirecta existe una variedad de vacunas comestibles que consiste en la modificación de algún virus de la planta para que exprese el antígeno que nos interesa. Posteriormente el virus infectará y se replicará en las células de la planta, que serán ingeridas y producirán una respuesta inmunitaria.

Una de las principales ventajas que apoyan el desarrollo de la vía de administración mucosa es la similitud con el proceso de adquisición natural de la infección. Por otro lado, destaca su capacidad para inducir la tolerancia sistémica periférica que surge tras haber estado expuesto a un antígeno, impidiendo el desarrollo de una respuesta de hipersensibilidad posterior. Esta característica podría resultar de utilidad para prevenir infecciones crónicas, alergias y alteraciones autoinmunitarias. Entre las posibilidades de administración mucosa se encuentran las vías oral, rectal, vaginal y nasal. Esta última se emplea en una vacuna frente a la gripe, y genera respuestas inmunitarias más rápidas, amplias y duraderas que la vacuna inactivada por vía parenteral, aunque fracasa en la estimulación de altos títulos de anticuerpos.

La vacunación por vía transcutánea, de reciente desarrollo, consiste simplemente en la administración tópica de la vacuna, para lo cual se requiere su aplicación en piel intacta, hidratada y previamente lavada, en una cantidad suficiente. La vacuna se reabsorbe y entra en contacto en seguida con las células dendríticas, y provoca una adecuada respuesta inmunitaria, tanto primaria como secundaria, aunque es necesaria la administración concomitante de un adyuvante. Presenta ventajas tales como su comodidad, un tiempo de liberación sostenido y la autoadministración. Además, parece que podría disminuir las reacciones locales. Se plantea la posibilidad de su administración en forma de parches, pomada o microagujas autoinyectables.

BIBLIOGRAFÍA

- Adu-Bobie, J., Capecci, B., Serruto, D. y cols. *Two years into reverse vaccinology*. *Vaccine* 2003; 21: 605-610.
- Azad, N., Rojanasakul, Y. *Vaccine delivery – Current trends and future*. *Curr Drug Deliv* 2006; 3: 137-146.
- Blackstock, W.P., Weir, M.P. *Proteomics: Quantitative and physical mapping of cellular proteins*. *Trends Biotechnol* 1999; 17: 121-127.
- Brusci, V., August, J.T., Petrovsky, N. *Information technologies for vaccine research*. *Expert Rev Vaccines* 2005; 4: 407-417.
- Chargelegue, D., Obregon, P., Drake, P.M. *Transgenic plants for vaccine production: Expectations and limitations*. *Trends Plant Sci* 2001; 6: 495-496.
- Clements, C.J., Wesselingh, S.L. *Vaccine presentations and delivery technologies – What does the future hold?* *Expert Rev Vaccines* 2005; 4: 281-287.
- Cusi, M.G., Terrosi, C., Savellini, G.G. y cols. *Efficient delivery of DNA to dendritic cells mediated by influenza virosomes*. *Vaccine* 2004; 22: 735-739.
- Dhiman, N., Bonilla, R., O., Kane, D.J. y cols. *Gene expression microarrays: A 21st century tool for directed vaccine design*. *Vaccine* 2001; 20: 22-30.
- Ellis, R.W. *Technologies for the design, discovery, formulation and administration of vaccines*. *Vaccine* 2001; 19: 2681-2687.
- Fraser, C.K., Diener, K.R., Brown, M.P., Hayball, J.D. *Improving vaccines by incorporating immunological adjuvants*. *Expert Rev Vaccines* 2007; 6: 559-578.
- Hammond, S.A., Walwender, D., Alving, C.R. y cols. *Transcutaneous immunization: T cell responses and boosting of existing immunity*. *Vaccine* 2001; 19: 2701-2707.
- Holmgren, J., Czerkinsky, C., Eriksson, K. y cols. *Mucosal immunisation and adjuvants: A brief overview of recent advances and challenges*. *Vaccine* 2003; 21 (Suppl. 2): S89-95.
- Kaeck, S.M., Wherry, E.J., Ahmed, R. *Effector and memory T-cell differentiation: Implications for vaccine development*. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 251-262.
- Laddy, D.J., Weiner, D.B. *From plasmids to protection: A review of DNA vaccines against infectious diseases*. *Int Rev Immunol* 2006; 25: 99-123.
- Lal, P., Ramachandran, V.G., Goyal, R., Sharma, R. *Edible vaccines: Current status and future*. *Indian J Med Microbiol* 2007; 25: 93-102.
- Lavelle, E.C., O'Hagan, D.T. *Delivery systems and adjuvants for oral vaccines*. *Expert Opin Drug Deliv* 2006; 3: 747-762.
- Liu, M.A., Wahren, B., Karlsson Hedestam, G.B. *DNA vaccines: Recent developments and future possibilities*. *Hum Gene Ther* 2006; 17: 1051-1061.
- Lotkin, S.A. *Vaccines: Past, present and future*. *Nat Med* 2005; 11: S5-11.
- Rappuoli, R., Covacci, A. *Reverse vaccinology and genomics*. *Science* 2003; 302: 602.
- Rayner, J.O., Dryga, S.A., Kamrud, K.I. *Alphavirus vectors and vaccination*. *Rev Med Virol* 2002; 12: 279-296.
- Steinman, R.M., Pope, M. *Exploiting dendritic cells to improve vaccine efficacy*. *J Clin Invest* 2002; 109: 1519-1526.
- Tettelin, H., Saunders, N.J., Heidelberg, J. y cols. *Complete genome sequence of Neisseria meningitidis serogroup B strain MC58*. *Science* 2000; 287: 1809-1815.
- Wack, A., Rappuoli, R. *Vaccinology at the beginning of the 21st century*. *Curr Opin Immunol* 2005; 17: 411-418.