



VACUNAS VIVAS ATENUADAS: UNA ESPERANZA PARA COMBATIR ENFERMEDADES PARASITARIAS

¿A qué se debe la mayor inmunidad protectora que proporcionan las vacunas vivas atenuadas frente a una enfermedad con respecto a las vacunas en las que se utilizan fragmentos del parásito infeccioso? ¿Cómo funcionan? ¿Están disponibles para todo el mundo? Conocer los entresijos de todo avance científico requiere de estudio y observación. Ahora, tras años de trabajo de investigación, expertos españoles aguardan la autorización para los experimentos en humanos que les acerquen un poco más a las respuestas a sus preguntas.



Por **Jose M. Requena**, Departamento de Biología Molecular, Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CSIC-UAM), Universidad Autónoma de Madrid

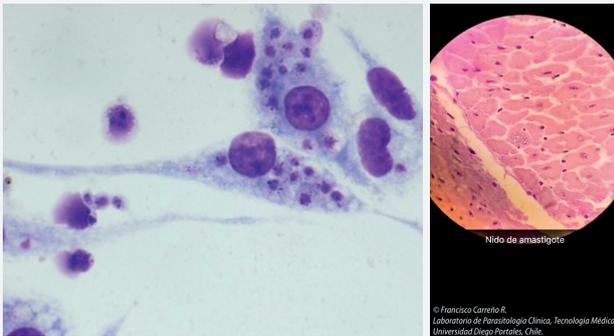
EL SIGNIFICADO DEL TÉRMINO VACUNA VIVA ATENUADA ES FÁCIL DE ENTENDER AL CONSIDERAR, desde una perspectiva histórica, cómo fueron desarrolladas las vacunas. Se atribuye al célebre microbiólogo francés Louis Pasteur (1822-1895) la acuñación del término vacuna (del latín *vaccīnus*), en honor al procedimiento empírico aplicado por primera vez por el médico inglés Edward Jenner (1749-1823) para prevenir la viruela en humanos. La observación de que las personas encargadas de ordeñar las vacas no eran afectadas por la entonces terrible viruela, le llevó a Jenner a pensar que quizás el contacto con las pústulas que con frecuencia se encontraban en las ubres de las vacas era la causa de esta protección. Tras realizar la inoculación de estas pústulas en algunas personas y observar que ninguna se vio afectada por la viruela, en 1798 reportó estos descubrimientos científicos. Rápidamente se extendió esta práctica médica, y fue la base de la, sin duda, iniciativa filantrópica más importante de la historia de la humanidad, "La Real Expedición Filantrópica de la Vacuna", conocida también como Expedición Balmis, en referencia al médico español Francisco Javier Balmis, que la encabezó. Esta expedición, sufragada con fondos públicos por el rey Carlos IV, se desarrolló durante los años 1803 y 1806, alcanzando todos los territorios del entonces Imperio español y otros lugares del mundo, y permitió salvar la vida de miles de niños. Esta práctica prolongada en el tiempo permitió finalmente **erradicar la viruela** como enfermedad en humanos, hecho que

fue protocolariamente certificado por la Organización Mundial de la Salud el 8 de mayo de 1980.

Lo más curioso de esta primera vacuna es que se desarrolló sin tener la noción de que la enfermedad era causada por un virus, una entidad biológica que tardaría más de un siglo en descubrirse y nombrarse. Ahora sabemos que la protección era generada por la infección del virus de la viruela vacuna, que se multiplica de forma poco eficiente en las células humanas pero lo suficiente como para instruir a nuestro sistema inmunitario para la generación de una respuesta inmunitaria capaz de reconocer y destruir al temible virus de la viruela humana. Esta es pues la primera vacuna viva atenuada, que podemos definir como la inoculación de una forma atenuada del agente infeccioso que (incapaz de producir enfermedad) conduce a generar una inmunoprotección frente a la forma virulenta de ese agente infeccioso. Otras vacunas vivas atenuadas con gran relevancia en sanidad humana son la vacuna BCG (*Bacillus Calmette-Guérin*) frente a la tuberculosis, la vacuna frente a la poliomielitis (vacuna Sabin) y la vacuna contra el sarampión, por citar unos ejemplos.

Las vacunas como forma de prevención frente a una enfermedad infecciosa se fundamentan en la existencia de un **sistema inmunitario**. Este sistema nace como necesidad impuesta por el modo de vida parásito, una forma cómoda (y exitosa, pues ha surgido en todas las ramas evolutivas) de vivir de unos organismos a expensas de otros; estos segundos, denominados huéspedes

u hospedadores, han desarrollado herramientas para limitar el parasitismo, entre ellas cabe destacar al sistema inmunitario. A lo largo de la evolución, el sistema inmunitario ha ido perfeccionándose hasta alcanzar su máximo de sofisticación en los mamíferos. Entre otras facultades, el sistema inmunitario es capaz de generar, una vez vencida una infección, una memoria que le permite responder de forma aún más rápida y eficaz frente a sucesivas infecciones del agente infeccioso. En consecuencia, en muchas infecciones, cuando una persona supera una enfermedad infecciosa se genera un estado de inmunoprotección prolongada frente a ese agente infeccioso. El objetivo de las vacunas es pues generar ese estado de inmunidad pero sin la necesidad de sufrir la enfermedad, que en muchos casos podría ser mortal.



Entre los **parásitos con más incidencia en salud humana** encontramos a los protozoos, organismos unicelulares eucariotas pertenecientes al reino de los protistas. Entre ellos hay tres grupos especialmente patógenos, siendo *Plasmodium* el indiscutible número uno. Así, varias especies de *Plasmodium* causan cada año alrededor de 200 millones de casos clínicos de malaria y unas 600.000 muertes. Las leishmaniosis, producidas por una veintena de especies de *Leishmania*, ocupan una segunda posición entre las enfermedades parasitarias y producen una gran variedad de cuadros clínicos, desde lesiones cutáneas autocurantes a afecciones sistémicas de mal pronóstico sin un tratamiento adecuado. Otra grave enfermedad parasitaria es la enfermedad de Chagas, producida por *Trypanosoma cruzi*, que se caracteriza por períodos asintomáticos muy largos (hasta de 30 años) y por la desgraciada facultad de transmitirse de madre a hijo durante la gestación. Estas dos características (infección crónica asintomática y transmisión vertical) han permitido una expansión de la enfermedad más allá de los dominios geográficos de *T. cruzi* (Centro y Sudamérica).

El tratamiento de estas infecciones se realiza mediante quimioterapia, en algunos casos con baja

eficacia y con importantes efectos secundarios. Frente a ninguna de estas parasitosis existe una vacuna aprobada, a pesar de los muchos esfuerzos científicos invertidos en lograrlas. Solo para malaria existe una vacuna, denominada RTS,S (Mosquirix) y desarrollada por GSK, que, habiendo mostrado cierta protección en niños (alrededor del 30%), está prevista pueda ser aplicada en varios países por UNICEF.

Estos tres géneros de parásitos tienen una **larga historia evolutiva**, ya existían cuando los vertebrados aparecieron y han evolucionado (y se han especializado) junto a las líneas evolutivas que condujeron a la aparición del *Homo sapiens*. Es decir, los parásitos y sistema inmunitario han co-evolucionado durante decenas de millones de años. Como resultado, estos parásitos han desarrollado estrategias para atenuar al sistema inmunitario y el sistema inmunitario ha aprendido a limitar la multiplicación del parásito hasta niveles que resultan inocuos para el organismo. A partir de que estos parásitos fueron identificados (a principios del siglo XX) y al poder cultivarlos de forma axénica, se han llevado a cabo un gran número de ensayos de vacunación basados en el empleo de parásitos muertos o, más recientemente, con el uso de proteínas recombinantes. Sin embargo, aquellos que llegaron a fases clínicas fueron descartados por su baja o nula eficacia. La explicación posiblemente está en que estas vacunas generan respuestas inmunitarias fácilmente eludibles por el parásito y, algo importante, una memoria inmunológica de corta duración.

Pero hay datos científicos que sugieren que una **vacunación eficaz frente a estas parasitosis** podría alcanzarse. Por ejemplo, a lo largo de muchas centurias, en zonas de Oriente medio, era una práctica habitual el inocular en las ingles de las niñas material procedente de las lesiones cutáneas producidas en personas por la infección de *Leishmania*. Esta inoculación producía lesiones limitadas autocurantes que tenían el beneficio de inmunizar frente a futuras infecciones por el parásito, evitando procesos lesionales visibles en la cara o brazos, lugares donde el flebotomo transmisor del parásito suele picar. Estas lesiones, aunque terminan resolviéndose, van a dejar cicatrices desfigurantes visibles (y ser causa de estigma). Con la identificación del parásito y la posibilidad de producirlo en masa en cultivos axénicos, se generalizó esta práctica, bautizada como leishmanización, en varias repúblicas de la extinta Unión Soviética e incluso en Israel, que realizó varias campañas de leishmanización en su ejército. Actualmente, este

procedimiento está prácticamente en desuso, debido a la falta de estandarización de los inóculos y el hecho de que se dieron algunas complicaciones en personas con algún grado de inmunosupresión.

Entre las diversas aproximaciones para obtener una vacuna frente a la malaria, los resultados más espectaculares fueron reportados por Ruth Nussenzweig y colaboradores en 1967 en la revista *Nature*. Estos autores encontraron que la inoculación de **esporozoitos de Plasmodium irradiados con rayos-X** en voluntarios confería una inmunidad protectora frente a la infección posterior con esporozoitos virulentos. Sin embargo, la dificultad de obtener los esporozoitos (que debían aislarse de las glándulas salivares del mosquito *Anopheles*) y la clara influencia de la dosis de irradiación llevaron al abandono de esta línea de investigación. Como alternativa se empezaron a emplear parásitos atenuados de forma química, es decir, los parásitos virulentos, en los ensayos de vacunación, son inoculados junto a algún fármaco antimalárico (cloroquina o atovaquona/proguanil) o previamente incubados *in vitro* con estos fármacos. De esta forma se produce un debilitamiento (atenuación) de la virulencia pero manteniendo cierta capacidad del parásito para infectar hepatocitos e inducir una respuesta inmunitaria protectora. Para los ensayos clínicos en humanos se sigue el protocolo denominado CHMI (del inglés *Controlled Human Malaria Infection*), en el que tras la inoculación del parásito mediante jeringuilla o a través de la picadura de mosquitos infectados los voluntarios son monitorizados, y si la parasitemia aumenta hasta niveles alarmantes, las personas son tratadas con fármacos para bloquear la multiplicación del parásito. Se han reportado varios estudios clínicos de este tipo con buenos resultados de protección. Sin embargo, al igual que con la irradiación de esporozoitos, la atenuación farmacológica tiene cierto grado de irreproducibilidad, por lo que actualmente se está apostando por el empleo de **parásitos genéticamente atenuados**, es decir, parásitos en los que se inactivan genes particulares que conducen a una atenuación en la virulencia del parásito, pero manteniendo cierta capacidad de multiplicación *in vivo*. Por ejemplo, en este mes de agosto se han publicado los resultados de un ensayo CHMI en el que 16 voluntarios fueron expuestos a la picadura de mosquitos infectados con una cepa de *P. falciparum* deficiente en tres genes (denominada PfCAP3KO). Un mes después, estas personas fueron expuestas a la infección con una cepa virulenta del parásito, y en la mitad de los voluntarios no

se detectaron parásitos en sangre en ningún momento durante los seis meses de seguimiento.

En 2009, nuestro grupo de investigación, al observar la disminución en infectividad de un mutante de *Leishmania* al que se le había delecionado uno de los genes HSP70 (importante para la adaptación del parásito al crecimiento intracelular en el hospedador mamífero), decidimos explorar sus características como vacuna atenuada en modelos animales. Los resultados fueron espectaculares y, apoyados por la Universidad Autónoma de Madrid, registramos bajo patente la utilización como vacuna atenuada de la cepa mutante. Posteriormente, hemos profundizado en el estudio de la respuesta inmunitaria asociada a la inducción de inmunidad protectora en varios modelos animales. Durante estos años hemos mantenido reuniones con compañías farmacéuticas con intereses en el ámbito veterinario, pues la leishmaniosis es un problema veterinario muy importante en España; sin embargo, hasta ahora no hemos obtenido apoyo para avanzar con nuevos ensayos. Más éxito está teniendo la vacuna atenuada basada en una cepa de *Leishmania* deficiente en el gen codificante de la proteína centrina, obtenida por el grupo de Hira L. Nakhasi (NIH, USA). La utilización de esta cepa en ensayos en varios modelos animales, incluidos perros, han mostrado una gran capacidad para inducir inmunidad protectora. Todo indica que en pocos años se podrían autorizar ensayos en humanos.

La razón más obvia que explica que una vacuna viva atenuada puede inducir una inmunidad protectora mayor que una vacuna en la que se utiliza el parásito muerto o fragmentos del mismo es que en la vacuna atenuada, el parásito es presentado al sistema inmunitario en el **mismo contexto que en la infección natural**. Pero lo que aún es motivo de disputa es la razón por la que las vacunas vivas atenuadas producen una inmunidad de larga duración, claramente mayor que la inducida al inocular fragmentos del agente infeccioso. Una posibilidad, que suscribo, es que la memoria inmunológica se fortalece y su duración se alarga debido a la presencia continuada en bajos números del agente infeccioso. La **capacidad de establecer persistencia** ha sido documentada en los tres parásitos mencionados en este artículo, *Plasmodium*, *Leishmania* y *T. cruzi*. Y es precisamente en este último parásito donde mayor número de evidencias experimentales se han acumulado. La mayoría de las personas que resultan infectadas por *T. cruzi* tras la infección (a menudo totalmente asintomática) entran en un periodo denominado fase indeterminada de la enfermedad de

Chagas es la que el parásito no es detectable en frotis de sangre y las personas son asintomáticas, solo la presencia de anticuerpos permite el diagnóstico de esta fase. Sin embargo, algunas personas, tras 15-30 años después de la infección, experimentan problemas cardiacos y digestivos. Muchos autores sugirieron que estas alteraciones patológicas, con cierta similitud con procesos de autoinmunidad, eran el resultado de alteraciones inmunológicas gestadas durante la infección primaria y mantenidas en el tiempo (sin ya estar presente el parásito) las que conducían a que algunas personas sufrieran un fallo cardiaco. Posteriormente, al emplear técnicas diagnósticas más sensibles (amplificación por PCR), se ha podido demostrar que el parásito persiste en las personas en fase indeterminada de la enfermedad de Chagas. Una tercera razón que explicaría la mayor eficacia de las vacunas atenuadas se encontraría en la co-evolución que los parásitos y nuestro sistema inmunitario vienen manteniendo desde nuestras raíces evolutivas, por las que nuestro sistema inmunitario haya podido optar por una estrategia de **favorecer la presencia de un bajo número**

de parásitos para mantener continuamente entrenado y en alerta a los componentes inmunológicos más adecuadas para combatir e impedir la multiplicación en un alto número de parásitos, que sería patogénica ●

Bibliografía adicional

- **EPR News:** UNICEF signs first ever malaria vaccine supply contract with GSK. <https://emails.europeanpharmaceuticalreview.com/russellpublishing/lz.aspx?pl=MOuDU4Mzc4ODJTODUSM-DE6QUQ5RkFCMjc1NjUwQOJERTNGOEUIMzgONUEyQkU2M-TA%3d-8rCC=8r-w=433985>
- **Karmakar, S. et al.** (2021). Preclinical validation of a live attenuated dermatropic Leishmania vaccine against vector transmitted fatal visceral leishmaniasis. *Commun. Biol.* 4, 929.
- **Murphy S.C. et al.** (2022) A genetically engineered Plasmodium falciparum parasite vaccine provides protection from controlled human malaria infection. *Sci Transl Med.* 14(659), eabn9709.
- **Nussenzweig, R. et al.** (1967). Protective Immunity produced by the Injection of X-irradiated Sporozoites of Plasmodium berghei. *Nature* 216, 160-162.
- **Solana, J.C. et al.** (2017). Vaccination with a Leishmania infantum HSP70-II null mutant confers long-term protective immunity against Leishmania major infection in two mice models. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 11, e0005644.
- **Solana, J.C. et al.** (2022). Live attenuated vaccines, a favorable strategy to provide long-term immunity against protozoan diseases. *Trends Parasitol.* 38, 316-334.

soluciones innovadoras para su laboratorio



conozca nuestras marcas



compre en nuestra tienda online

www.nbsscientific.es

NBS SCIENTIFIC ESPAÑA

Les presentamos NBS Scientific Spain. Somos distribuidores de equipos y consumibles de laboratorio de alta tecnología y contamos con diferentes delegaciones en toda Europa. Estamos especializados en la obtención, procesamiento, gestión y almacenamiento de todo tipo de muestras.

OBTENCIÓN DE MUESTRAS



PROCESAMIENTO DE MUESTRAS



GESTIÓN DE MUESTRAS



ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS



escanee el código qr



para más info

FARMAFORUM 2022

Venga a conocer a nuestro equipo de especialistas en la feria FarmaForum en Madrid. Podrá encontrar nuestro stand en el **número F29 del pabellón 14** de IFEMA. Le invitamos a visitarnos los días 5 y 6 de octubre. Estamos deseando mostrarle nuestra gama de productos.