Las vacunas.

Historia, desarrollo y perspectivas

Índice

Antes de las vacunas.

La primer vacuna.

La generalización de la vacuna contra la viruela en el mundo.

La primer ley de vacunación.

Pasteur.

Detractores de la vacunación.

Virus, bacterias y ... toxoides.

La edad de oro de la vacunación y los primeros problemas.

Generalidades del sistema inmune.

Tipos de Vacunas

- Vacunas de microorganismos completos

- Vacunas de subunidades antigénicas

- Las nuevas vacunas recombinantes

Factores importantes en la producción de las nuevas vacunas

- Huéspedes productores

- Proteínas fusionadas

- Péptidos sintéticos

- Los sistemas de entrega

- Adyuvantes

Hacia el futuro

- Vacunas de ADN desnudo

- Vacunas de ARN

- La retrovacunación... eliminando la experimentación en modelos vivos

¿Qué pasa cuando las personas no se vacunan?

Perspectivas

Antes de las vacunas...

En la antigüedad se creía que las enfermedades eran castigos con los que dioses caprichosos castigaba a la humanidad; sin embargo, en el lejano oriente surgió una práctica en la que se ponía en evidencia que algunos conceptos heréticos resultaban bastante saludables, y de hecho revelaban que las soluciones para algunas enfermedades pertenecían a un plano más mundano que divino.

La primera evidencia escrita relacionada con los procesos de vacunación data del siglo XI y se encuentran en la literatura china. A una monja budista se le atribuye un texto llamado "El tratamiento adecuado de la viruela", otro libro chino "El espejo dorado de la Medicina" describe diferentes formas de inoculación antivariólica en la que se explica como se puede prevenir el contagio de viruela inoculándose con pus proveniente de pacientes que habían contraído la enfermedad. Esta práctica era relativamente común y constituía una práctica surgida de la necesidad de evitar esta enfermedad que causaba terribles epidemias; sin embargo esta medida no estaba exenta de riesgos pues aproximadamente el 3% de las personas inoculadas contraían la enfermedad.

Esta práctica fue conocida en Gran Bretaña hasta 1721 pues Lady Mary Wortley Montagu, esposa de un embajador, la introdujo a este país tras su regreso de Constantinopla. Desde la corte británica, la práctica de la variolización se extendió a todo el país y, a partir del siglo XVIII al resto del continente europeo. Pero a pesar de constituir una práctica sencilla, en aquellos tiempos no se tenían medidas higiénicas como las que tenemos en la actualidad, por lo que las condiciones en las que se comenzó a practicar esta "variolización" tuvo desastrosas consecuencias en algunos lugares pues la incorrecta inoculación ocasionó que algunas personas fueran contagiadas de viruela o bien, al tomar pus de enfermos que también tenían sífilis se dispersó esta otra enfermedad.

Esta "variolización" constituye el primer intento de la humanidad por evitar las enfermedades infecciosas.

La primera vacuna.

El médico rural Edward Jenner inventó en Inglaterra la primera vacuna contra la viruela. De hecho la palabra vacuna surge precisamente de sus trabajos

La palabra "**vacuna**" proviene del latín **vacca** que significa vaca, este hecho en todo caso nos indica que las vacas estuvieron involucradas en el proceso de invención de la primera vacuna. La cuestión nos va quedando un poco más clara cuando investigamos el significado de la palabra **vacunación** que significaba inoculación con fluido de vaca y **vacunado** que era la persona a quien se le hacía la inoculación de la vacuna. Esto ya comienza a acercarnos al origen de las vacunas.

En las comunidades donde Jenner ejercía su labor como médico existía una enfermedad de las vacas llamada Vaccina o viruela de las vacas, esta enfermedad produce erupción en las ubres de estos animales semejantes a las que produce la viruela humana. Las lecheras de estos lugares raramente enfermaban de viruela pues "cogían la viruela de las vacas" y eso las protegía de la viruela humana. Jenner decidió probar este conocimiento empírico para ver si realmente era cierto.

En 1776 Jenner realizó el siguiente experimento, una lechera se había contagiado con la "viruela buena", la viruela de las vacas, con pus proveniente de una lesión de esta mujer Jenner inoculó a un niño pequeño sano y estudió como se desarrollaba el niño durante los días siguientes a la inoculación. Tras mostrar leves síntomas de molestias el niño se repuso rápidamente. Posteriormente el médico inglés inoculó al niño con pus de un enfermo de viruela humana, el resultado fue que el niño no enfermó aunque en el lugar de la inoculación si se desarrolló una lesión típica de la viruela.

Las ventajas del método de las ordeñadoras experimentado por Jenner tenía ventajas sobre la variolización como la practicaban los chinos pues esta viruela vacuna no ocasionaba riesgo de muerte ni era foco de contagio a través de las personas vacunadas. Por ello en algunos textos y cartas Jenner recomendaba esta práctica para que los padres inocularan a sus hijos pequeños.

Casi dos siglos después, en 1979 la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró erradicada la viruela en todo el mundo.

Los estudios de Jenner además de su importancia, dejaron en claro que la pre-inoculación con un agente potencialmente infeccioso podía prevenir de posteriores infecciones y en el siglo XIX este método era ya comúnmente realizado en Europa y Norte América.

Otro aspecto importante es que a partir de estos descubrimientos surgieron muchas teorías que trataban de explicar lo que estaba sucediendo, esto es muy importante pues debe recordarse que estos

conocimientos se desarrollaron antes de saber la existencia de microorganismos o la existencia del sistema inmune y los procesos de infección y contagio.

La generalización de la vacuna contra la viruela en el mundo.

La invención de Jenner fue bien acogida en el mundo, su introducción en España estuvo a cargo de Pígillem a finales del siglo XVIII y junto con la ayuda de algunos médicos españoles se habían vacunado a 3000 personas para 1801.

El entonces rey Carlos IV preocupado por la amenaza de la viruela en el continente americano decidió extender la vacunación antivariólica y organizó la "Real Expedición Marítima de la Vacuna" bajo la dirección de Francisco Xavier Balmis, (por él es que esta empresa es conocida como la Expedición Balmis) quien ideó un sistema para vacunación "brazo a brazo". Los portadores del fluido fueron veinticinco niños de La Coruña quienes durante los tres años que duro la Expedición recorrieron Canarias, Caracas, Cuba, México, Filipinas y Macao.

La primer Ley de Vacunación

En 1874 los alemanes instituyeron la primer ley de vacunación donde se introduce la obligatoriedad de la vacunación contra la viruela a todos los niños en su primer año de vida, esta medida supuso la intervención del estado para frenar las nefastas consecuencias de las epidemias de esta terrible enfermedad.

En esa misma época, durante la guerra franco-prusiana se declaró en Francia una grave epidemia que causó la muerte de cerca de 20 000 soldados franceses mientras que los soldados alemanes, bien vacunados, solo sufrieron 300 bajas por esta causa.

Todas estas experiencias dejaron en claro la importancia que la vacuna contra la viruela podía tener para la población.

A partir de la generalización de este conocimiento, pero tomó más de 100 años el desarrollo de nuevas vacunas; pues era necesario que se realizaran avances en el conocimiento que se tenía sobre la naturaleza de los diversos agentes infecciosos.

Pasteur.

Después de Jenner otro personaje importantísimo en la historia del desarrollo de las vacunas es Louis Pasteur, llamado padre de la Bacteriología.

Pasteur realizó experimentos con los que desarrolló una metodología que permitió grandes avances en el conocimiento tanto de los microorganismos como el desarrollo de algunas vacunas. En su metodología Pasteur incluía experimentos en animales, en aves para desarrollar una vacuna contra el cólera y en perros para desarrollar una vacuna contra la rabia. Además introdujo métodos de atenuación, es decir, del debilitamiento de los agentes infecciosos (cuya naturaleza exacta aún no se conocía). Él desarrolló vacunas contra el ántrax para animales de granja como ovejas, cabras y vacas.

Por si eso fuera poco, el trabajo de Pasteur permitió demostrar que se podían tener vacunas cultivables en el laboratorio por métodos experimentales.

Pero no todo en el mundo científico era "pan y miel", cuando Pasteur empleó su vacuna contra la rabia (que ya había sido probada en perros) en el niño Joseph Meister la comunidad científica se conmocionó y muchos de los trabajadores de Pasteur abandonaron su laboratorio en protesta.

Durante el siglo XIX se avanzó de manera constante en el conocimiento de los agentes infecciosos (virus y bacterias) y en el conocimiento del funcionamiento del cuerpo humano, en particular el funcionamiento general del sistema inmune que fue descrito por Erlich (Premio Nobel 1908).

Detractores de la vacunación

Junto con las campañas de vacunación surgieron también grupos que se negaban a vacunarse y se organizaron para ello. En 1899 por ejemplo se esperaba una vacunación masiva de soldados ingleses, sin embargo, estos presas del miedo arrojaron por la borda las vacunas contra el tifus y solo 14 000 soldados pudieron ser vacunados. Los resultados fueron desastrosos pues durante las guerras que hubo posteriormente se presentaron cerca de 60 000 casos de tifus. Ejemplos de estas organizaciones han existido aun en la actualidad y es importante tener claro que las consecuencias de no vacunarse pueden ser muy serias por lo que se hablará de ello más adelante.

Virus, Bacterias y ... Toxoides

El siguiente paso importante en la historia de las vacunas después del descubrimiento de los microorganismos, es decir, de los agentes que pueden causar muchas de las enfermedades humanas.

Pero después se descubrió que algunas enfermedades eran ocasionadas no por la presencia de la bacteria como tal, sino por sustancias producidas por ella como el caso del tétanos y la difteria por lo que se desarrollaron vacunas por la inactivación química de estas toxinas. Se diferencian de las vacunas con bacterias atenuadas por el hecho de que no incluyen a la bacteria, sino solo el toxoide inactivado por algún procedimiento químico.

Otras vacunas desarrolladas en esta época fueron contra la tuberculosis (1909), la fiebre amarilla (1935), la influenza A (1936) y la rickettsia (1938).

El desarrollo de estas vacunas fue posible porque durante este tiempo se fue generando gran cantidad de conocimiento que contribuyó de manera importante a la comprensión de los mecanismos de defensa de los organismos y de la naturaleza misma de los agentes infecciosos.

La edad de oro de la vacunación y los primeros problemas.

Entre las décadas de los 30s a los 60s se desarrollaron numerosas vacunas, pero se hizo patente que estas presentaban limitaciones y muchas de ellas tuvieron que ser mejoradas. Uno de los ejemplos más notables son las vacunas contra el polio Salk y Sabin (que obtuvieron su licencia y se empleaban con regularidad en esos años) ya que estas vacunas presentaron un gran problema por los métodos empleados para su obtención.

La vacuna Salk Sabin se lograba a partir de la obtención de grandes cantidades de virus que se cultivaba en macacos para posteriormente ser inactivada por formaldehído, pero después de que se presentaron algunos problemas en los individuos que se sometían a esta vacuna. Después de mucha investigación se dieron cuenta que el virus del polio adquiría otro virus, el SV40, durante su cultivo en los macacos. Este virus adquirido presentaba resistencia a la inactivación con formaldehído y a raíz de ello tuvo que emplearse otro mono para la replicación del virus (*Cercopithecus sp*), felizmente con ello se resolvió el problema.

A partir de la década de los 50's se desarrollaron técnicas de cultivo celular y microbiología. Estas nuevas técnicas permitieron tener cantidades suficientes de muchos tipos de tejidos animales y humanos *in vitro* donde se podían producir y ensayar posibles vacunas. Músculo, fibroblastos, riñón, hígado entre otros tejidos fueron los primeros empleados.

Estos factores, los problemas que presentaron las primeras vacunas y las nuevas y potentes herramientas permitieron estudiar nuevas formas de hacer vacunas más seguras y manejables.

Generalidades del sistema inmune

El sistema inmune tiene la capacidad para proteger al cuerpo contra agentes específicos como bacterias, virus, toxinas ó células propias que se han vuelto extrañas. Pueden distinguirse dos mecanismos básicos por los cuales este sistema lleva a cabo sus funciones y ambos están basados en la función de linfocitos:

Los linfocitos B, esta parte del sistema inmune es la encargada de la producción de anticuerpos después de una primera exposición a un agente extraño. Los anticuerpos son moléculas que reconocen al agente infeccioso y "avisa" a otras células inmunes para que lo destruyan.

Los linfocitos B reciben el nombre de células plasmáticas cuando han madurado, es decir, cuando se especializan para reconocer un tipo de epítipo (región reconocida por un anticuerpo específico). La función de los anticuerpos es auxiliar a otras células a reconocer y destruir al agente extraño, para lograr este objetivo pueden realizar varias funciones: aglutinar a los agentes tóxicos, lisar células, neutralizar al agente, o bien opsonizar lo que significa hacer al agente más susceptible a la fagocitosis por células encargadas de destruir al agente, como neutrófilos y macrófagos.

En lo que respecta a los linfocitos T, estos reaccionan después de una primer exposición y forman "células sensibilizadas", estas cuentan con sitios reactivos sobres sus membranas celulares semejantes a los sitios reactivos de los anticuerpos. Así la célula T sensible se adhiere a los agentes invasores y ayudan a su eliminación.

Con estas y otras estrategias el sistema inmune nos permite defendernos contra la presencia e invasión de agentes patógenos; sin embargo, este sistema necesita primero aprender a reconocer a los agentes que generan la enfermedad (virus y bacterias). En la naturaleza, este reconocimiento ocurre en el primer ataque (contagio), pero se corre el riesgo de que este sea fatal. Así pues, si el individuo sobrevive a la primera invasión habrá aprendido, por el camino difícil, a reconocer al agente dañino y si este se presenta otra vez entonces no tendrá oportunidad de generar nuevamente la enfermedad.

Las vacunas actúan simulando el primer ataque del patógeno pero sin que se corra el riesgo de desarrollar una enfermedad fatal, de manera que el individuo aprenda a reconocer al agente infeccioso. Es interesante hacer notar que las primeras vacunas se desarrollaron de una manera totalmente empírica, ya que no se tenía conocimiento alguno sobre el sistema inmune, de hecho ni siquiera se tenía idea de la existencia de la vida microscópica.

Tipos de Vacunas.

Vacunas de Microbios completos.

La vacuna en que se emplea al agente patógeno completo son las denominadas vacunas vivas atenuadas. Una de sus principales características es que inducen una fuerte inmunidad, duradera y de tipo tanto humoral (anticuerpos) como celular (células T sensibilizadas). Sin embargo, presentan riesgos de reversiones al estado virulento. Los métodos de atenuación varían de acuerdo al tipo de patógeno del que se trate y en algunas ocasiones son necesarios varios pasos de atenuación para tener un rango de seguridad aceptable para su empleo en humanos.

Otro tipo de vacunas son las que utilizan a los microorganismos muertos, estas tienen la ventaja de no presentar la posibilidad de reversión a la patogenicidad pero son menos efectivas y generalmente requieren que se administren adyuvantes que son sustancias que mejoran su capacidad de producir una respuesta inmune.

En lo que respecta a la hepatitis, a principios de los años 60s Hillman y colaboradores se dieron a la tarea de fabricar una vacuna contra las hepatitis tipos A y B. Como resultado de sus trabajos en 1973 obtuvieron una línea del virus de la hepatitis A (VHA) y en 1978 se

obtuvo una vacuna con virus inactivados con formaldehído, esta vacuna obtuvo el permiso para venta en 1994 (vacuna de virus inactivo).

Vacunas de Subunidades antigénicas.

Las bacterias y los virus son entes complejos que están constituidos de muchos tipos de moléculas, y en su parte más externa están aquellos componentes que son los que serán reconocidos por el sistema inmune. En las bacterias existen los polisacáridos que son muy diferentes para cada tipo de bacteria y estas moléculas son las que el sistema inmune puede reconocer, en los virus la parte más externa suele estar conformada de proteínas, estas también son muy específicas para cada tipo viral; es precisamente esta especificidad la que permite al sistema inmune reconocer a un agente productor de una enfermedad.

Considerando que al usar vacunas con microorganismos completos se corre el riesgo de reversión al estado patogénico, este conocimiento fue muy importante pues se planteó la siguiente pregunta, ¿será posible tomar solo las moléculas que el sistema inmune reconoce para hacer una vacuna? Esto tendría un gran potencial pues se evitaría el gran riesgo de las vacunas que se habían producido hasta ese momento. Así fue como se intentó producir vacunas no de virus o bacterias completas sino basadas en porciones de estos, porciones que desencadenen una respuesta del sistema inmune, es decir, una respuesta antigénica. Las porciones que pueden funcionar de esta manera son "azúcares" (polisacáridos) para las bacterias o proteínas de la capa exterior de los virus.

A pesar de la gran ventaja de estas vacunas también hay grandes problemas en su producción pues las subunidades antigénicas deben primero purificarse y su producción requiere cultivos a gran escala de los organismos patógenos lo que no solo es costoso y además, no está exento de riesgos.

En 1965 Blumberg y Prince estudiando la enfermedad de la hepatitis B descubrieron una proteína externa del virus que puede producir respuesta inmune (antígeno de superficie) en células sanguíneas de humanos portadores de la infección y comenzaron los trabajos de purificación, inactivación así como estudios de eficiencia y seguridad de la posible vacuna. Estos procedimientos fueron exitosos ya que demostraron que el virus no se propagaba *in vitro* pues solo era una porción del virus y en cuanto a las pruebas de inactivación se realizaban varios pasos para aumentar su seguridad; finalmente fue probada en

humanos y aprobada para su uso en 1981, esta fue la primera vacuna reconocida que empleaba subunidades virales y no un virus completo.

Pero este tipo de vacunas resultan difíciles de fabricar ya que el suministro de humanos portadores del virus que pudieran servir para satisfacer las necesidades de producción de la vacuna no era suficiente y por ello los doctores Rutter y Gall iniciaron otra serie de estudios en 1975 para desarrollar un sistema de expresión recombinante para la producción del antígeno de hepatitis B.

Las nuevas vacunas recombinantes.

La primera vacuna frente a la hepatitis B fue obtenida a partir de plasma de portadores de la enfermedad, esto involucra dos problemas: el primero de ellos es que la obtención de grandes cantidades de plasma de pacientes es sumamente complicado y desgastante para los propios enfermos; el segundo problema es que el momento de la aprobación de esta vacuna coincidió con la aparición del SIDA, por lo cual todos los productos derivados de plasma humano pasaron a ser considerados potencialmente peligrosos.

Un problema en la producción a gran escala de vacunas es que existen microbios que no pueden cultivarse o que se cultivan con dificultad de manera que se aumentan los costos y disminuyen la viabilidad de la producción de las vacunas.

En la actualidad se emplea tecnología genética para transferir genes de diferentes moléculas que pueden producir respuesta inmune (antígenos) en organismos de fácil crecimiento como bacterias, por ello el nombre de recombinantes, por la combinación de genes en dos organismos diferentes el gen de interés del agente patógeno y los genes de la bacteria.

Esta posibilidad rápidamente encontró una aplicación en la vacuna contra el virus de la hepatitis B (VHB), en donde se purifican partículas virales carentes del material genético del virus lo que involucra que no es capaz de producir infección o daño. El sistema de producción se desarrolló en levaduras de la especie *Saccharomyces cerevisiae* (Valenzuela 1982) en las que se optimizó el cultivo, la expresión de la proteína viral así como la purificación de la misma. En la actualidad las fuentes del antígeno plasmático han sido sustituidas por fuentes recombinantes en vez de usar el plasma sanguíneo de pacientes infectados. La vacuna obtuvo el permiso en 1986 y se creó así la primer

vacuna recombinante, esta vacuna es reconocida además por su capacidad para prevenir el cáncer hepático resultante de la presencia del virus en el individuo.

Aunque esta nueva posibilidad es de muy reciente hechura, ya existe otra vacuna recombinante contra el mal de Lyme y se espera que en los siguientes años se desarrollen vacunas contra la hepatitis C, el SIDA y algunos tipos de cáncer.

Las ventajas de este tipo de vacuna es que puede inducirse a las bacterias recombinantes a que aumenten la producción de las proteínas deseadas facilitando así la purificación del antígeno recombinante. Además, estas proteínas recombinantes mucho más seguras ya que no hay posibilidad de contaminación con los elementos que brindan la facultad de iniciar la enfermedad.

Sumándose a estas ventajas tenemos otra que resulta muy interesante, ya que existe la posibilidad de hacer que la administración de estas vacunas se realice vía diferentes mucosas empleándose los portadores adecuados de la vacuna (vectores), entre los que se han propuesto bichos muertos que no sean de tipo tóxico (bacterias y virus), bacterias disfrazadas del "bicho malo" en cuestión, partículas de materiales sintéticos cubiertas con la vacuna e incluso plantas transgénicas que puedan simplemente ser ingeridas.

Para lograr que estas vacunas pasen de ser meros pasatiempos de biólogos y aficionados a terapias exitosas, deben tomarse en cuenta las diferentes variables que deben optimizarse tanto en los sistemas de producción como en los vectores de entrega.

Factores importantes en la producción de las vacunas.

Huéspedes productores.

La necesidad de estudiar diversos sistemas productores se deriva del hecho de que diferentes grupos de organismos realizan las funciones celulares de manera diferente. Uno de los procesos celulares que pueden llevarse a cabo de manera diferente es la producción de proteínas.

Para entender esto es importante tener una idea general de las diferencias entre procariontes y eucariontes. Los seres vivos pueden ser divididos en dos grupos: un grupo "primitivo" cuya característica más importante es que no tienen núcleo celular, los llamados procariontes y

otro grupo, en el que los organismos tienen núcleo celular. Las bacterias son procariontes mientras que desde las levaduras (hongos unicelulares) hasta el humano son eucariontes. En estos tipos diferentes de células (nucleadas y anucleadas) se pueden llevar a cabo funciones celulares de manera muy diferente, uno de estos procesos y que es muy importante para comprender el tema que aquí tratamos es el de la producción de las proteínas. La relevancia radica en lo siguiente, si nosotros tomamos una proteína de un virus que se reproduce en un humano, se llevarán a cabo muchos pasos en su producción, pero si esta misma proteína se produce ahora de manera artificial en una bacteria, esta la producirá de manera diferente por lo que la proteína recombinante será diferente.

Si nosotros inoculamos ahora a un humano con esta proteína recombinante, tal vez se produzca una respuesta inmune, pero esto no nos asegura que la proteína sea lo suficientemente parecida a la de un virus en el medio ambiente que haya sido producido en un humano infectado (virus "salvaje"). Entonces es importante considerar que para que estas proteínas presenten una antigenicidad adecuada deben estar debidamente producidas, tienen que ser muy similares; esto lo diría un bioquímico de la siguiente manera, debemos esperar que la estructura terciaria (espacial) sea muy similar además de que se requiere que las modificaciones post-transcripcionales tales como patrones de glicosilación, deben ser las correctas. De no ser así, la proteína resultante dará lugar a una respuesta inmune, pero esta no brindará protección contra el patógeno original, ya que las proteínas recombinantes y salvajes serán diferentes.

La vacuna de VHB se produce en *S. cerevisiae* pero se estudian otros hospederos que ofrecen según sus características diferentes ventajas y limitaciones.

Las bacterias como *E. coli*, *Salmonella typhimorium*, *Vibrio cholera* *Bacillus brevis* entre otras, se estudian en la actualidad como posibles productores del antígeno del VHB. Estos modelos presentan una gran desventaja ya que al ser procariontes no llevan a cabo las modificaciones que usualmente presentan las proteínas eucariotes o de virus que invaden células eucariotes, pero se emplean porque son sumamente eficientes en la producción.

La desventaja que presentan las bacterias puede resolverse empleando sistemas eucarióticos para la producción de las proteínas recombinantes, las levaduras, las líneas celulares de mamíferos así como animales transgénicos son recientemente exploradas como posibilidades.

Otra propuesta es el empleo de plantas transgénicas que además funcionarían como un sistema combinado de producción y entrega de los antígenos (las plantas también son eucariontes). El antígeno de superficie de la hepatitis B y una proteína de cubierta del virus Norwalk se han expresado en plantas de tabaco y de papas las cuales se ha demostrado forman partículas semejantes a los virus con las proteínas recombinantes. Estas partículas pseudovirales producen una respuesta inmunogénica en ratones. La inmunización oral por alimentación papas transgénicas que contienen subunidades de toxinas de *E coli* y de cólera desarrollan respuesta inmune y la formación de anticuerpos en ratones. Por otro lado, se ha demostrado que mediante la alimentación con papas transgénicas que producen antígenos de *E coli* es posible inducir una respuesta inmune en humanos. Esto significa que pronto podríamos tener campañas de vacunación en las que en vez de una inyección nos dieran una manzana recombinante.

Proteínas fusionadas

Otro de los problemas al que tuvieron que enfrentarse los investigadores con las vacunas contra enfermedades bacterianas, es que dichas vacunas se basan en el reconocimiento de polisacáridos presentes en las bacterias; sin embargo, estas vacunas no inmunizan a niños pequeños ya que su sistema inmune aun no es maduro y no es capaz de reconocer algunos tipos de polisacáridos. Una de las estrategias que se llevaron a cabo para resolver este problema fue la unión o conjugación del polisacárido con otras proteínas que facilitan la respuesta inmune.

Además de ayudar a que la molécula en cuestión sea más fácilmente reconocida por el sistema inmune, la posibilidad de hacer estas uniones nos permite hacer otras cosas interesantes como unir dos moléculas de dos patógenos diferentes en una sola vacuna, como en una quimera (animal mitológico que era un león con alas y patas de gallo).

Con este precedente, se ha fusionado genéticamente la secuencia para diferentes proteínas de manera que pueden obtenerse antígenos quiméricos los cuales presentan propiedades interesantes para servir como antígenos.

Por un lado, pueden construirse antígenos quiméricos en los que se proteja la parte antigénica. Esto es importante porque cuando se expresa un gene en un huésped diferente a la especie original (recombinación heteróloga) es posible que la proteína resultante sea muy susceptible a la degradación, es decir a la ruptura de la proteína. A

este respecto también resultaría posible modificar la parte antigénica para impedir que se realicen modificaciones heterólogas del huésped.

En el diseño del antígeno quimérico el gen que nos interesa puede ponerse una "marca" para que la proteína sea exportada al exterior celular facilitando así su purificación o bien puede crearse un gen quimérico que se produzca muy rápido al poner al gen bajo el control de una secuencia promotora de la transcripción adecuada para incrementar la producción. Además pueden incluirse sitios de rompimiento enzimático, esto brinda la posibilidad de incluir una región que facilite la purificación y que pueda ser eliminada en un paso posterior.

Por otro lado, se pueden fusionar proteínas para mejorar la inmunogenicidad de un antígeno dado o se puede mejorar la solubilidad y estabilidad del mismo, esto es importante si se toma en cuenta que algunas vacunas deben ser llevadas a regiones de difícil acceso bajo condiciones extremas de calor y humedad.

También es posible adaptar a los antígenos quiméricos para la posterior incorporación de adyuvantes por ejemplo, con regiones que reconozcan a la albúmina sérica que es una proteína que se encuentra en nuestra sangre y que sirve para transportar algunas moléculas sin que sean degradadas y además se sabe que esta proteína tiene propiedades inmunopotenciadoras inherentes.

Otra gran aplicación es que estos antígenos quiméricos podrían contener varios sitios inmunoreactivos, de la misma especie o de otro patógeno. En la actualidad se ha construido un antígeno quimérico para *E coli* y *V cholera*.

Finalmente, pueden fusionarse antígenos con secuencias que sirvan como sitios de unión a receptores a células, lo que sería de interés para vacunas que se administren por mucosas.

Péptidos sintéticos

Los péptidos son pequeños pedazos de proteína y se empleaban como herramientas para definir la función y mecanismos de acción de pequeñas porciones de algunas proteínas, pero hoy día se están investigando como vacunas experimentales. Algunos de ellos ya se están probando en humanos como es el caso de péptidos con regiones antigénicas de proteínas involucradas en el proceso de enfermedad de la malaria.

Estos péptidos pueden emplearse para dar una respuesta predominantemente celular o humoral y se pueden construir con los mismos sistemas de producción pero diseñados para expresar solo subfragmentos inmunodominantes es decir, regiones que sean reconocidas por el sistema inmune y que "dominen" el proceso de reconocimiento.

Sin embargo, debe considerarse que un péptido basado en una región única puede no ser muy efectivo si existe una diversidad amplia de esta región en la población del patógeno, por ello deben construirse vacunas con múltiples variantes de estas regiones que representen al total de la población salvaje.

Otro nuevo campo de investigación son los péptidos denominados "retro inversos", estos se caracterizan por contener enlaces peptídicos invertidos que no son exactamente iguales a los de los péptidos normales y presentan por ello una mayor resistencia a la degradación (proteólisis).

Los sistemas de entrega.

Para poner en contacto los antígenos recombinantes con el sistema inmune necesitamos de sistemas de entrega. Se han empleado bacterias tanto Gram negativas como positivas además de una gran variedad de virus atenuados.

Las bacterias Gram- tienen la ventaja de que contienen lipopolisacáridos (LPS) que sirven como adyuvantes (aunque también pueden causar efectos tóxicos como inflamación, ya que activan a los macrófagos). Un ejemplo de este sistema de entrega lo constituye una sepa de *S typhimurium* que puede sintetizar el antígeno contra hepatitis B, cuando esta bacteria se administra oralmente a ratones se desarrolla una respuesta inmune.

El mecanismo por el que estos sistemas de entrega funcionan se describe a continuación, las bacterias contienen fragmentos circulares de material genético de ácido desoxirribonucleico o ADN (cuyo nombre es plásmidos de ADN) que codifican para el antígeno. Cuando las bacterias se administran por mucosas, el antígeno se pone en contacto con los diferentes componentes del sistema inmune y se induce la respuesta.

La presencia de bacterias podría generar un problema en el organismo y entonces se corre el riesgo de que resulte peor el remedio que la

enfermedad, para evitar este problema se ha sugerido diseñar bacterias "kamikase", que permanezcan vivos y expresando la proteína viral y luego desencadenen mecanismos de muerte celular, como un suicidio bacteriano.

Los virus son otro tipo de sistemas de entrega que tienen la ventaja de ser tejido-específicos; sin embargo, ya que existen los consabidos riesgos de reversión (ya que necesariamente se emplean virus atenuados), solo se ha explorado su uso veterinario. En la actualidad el antígeno del virus de la hepatitis B se expresa y ensambla en partículas de algunos virus. Este sistema de entrega tiene la ventaja de que desarrolla inmunidad celular y humoral.

Adyuvantes.

Es bien sabido que las proteínas en solución son menos inmunogénicas que las proteínas en forma de partículas, es por ello que se emplean diferentes sustancias que permiten su agregación a fin de facilitar el reconocimiento. Algunos de los adyuvantes que se emplean son los fosfatos de calcio y alumgel que se administran con toxoides de difteria y tétanos. Por otro lado, la presentación de sustancias como LPS o dipéptido muramil también favorecen la respuesta inmune aunque se sabe que causan problemas locales o reacciones adversas generalizadas en algunos casos.

Recientemente se ha validado una vacuna contra hepatitis A que contiene adyuvantes que permiten la formación de un virosoma (partícula semejante a virus). El adyuvante contiene hemaglutinina y neuraminidasa del virus de la influenza.

Hacia el futuro

Vacunas de ADN desnudo.

Este constituye un nuevo campo de investigación desde 1993, año en el que Lui y sus colaboradores reportaron que inyecciones directas de un gen del virus de la influenza producía protección inmune en ratones.

Las vacunas de ADN consisten en plásmidos de *E coli* que codifican para el antígeno o antígenos de interés bajo un promotor viral que permite que la proteína se produzca rápidamente y que es reconocido por el mamífero hospedero (infectado). Cuando el plásmido se administra, el antígeno se expresa *in situ* dando inmunidad específica contra este.

Las ventajas son muchas, se puede producir mucho antígeno contra uno o varios patógenos, puede inducir respuesta celular a través de presentación de MHC clase I, y se pueden manipular la respuesta a través de la coexpresión de moléculas inmunológicamente relevantes como citocinas.

La administración puede realizarse por inyecciones directas o con partículas de oro cubiertas con el ADN que se introducen con microproyectiles (tecnología gene gun y jet gun).

Otras vías de administración de los plásmidos son las siguientes: pueden inyectarse intramuscularmente en preparaciones salinas, también es posible inyectar intravenosamente en complejos liposomales o administrar intranasalmente usando vectores bacterianos nebulizados (como algunas medicinas para el asma), finalmente, el ADN microencapsulado puede administrarse oralmente.

En lo que respecta a los adyuvantes que se utilizan con estas vacunas uno de los más novedosos son las secuencias CpG, estas consisten en una secuencia del mismo ADN en la que citocinas están seguidas de guaninas; se ha demostrado que dichas secuencias cuando se presentan sin mutar funcionan como adyuvantes ya que activan linfocitos T auxiliares tipo 1. Otros adyuvantes son moléculas como B7-2 o CD86 que incrementan las respuestas de los tipos celulares inmunes denominados Th y CTL.

En lo que respecta a la hepatitis B y C, así como el SIDA, se han realizado estudios con un modelo de ratas con estas enfermedades, y se ha observado que cuando estos individuos son vacunados con ADN desnudo mostraban una baja en la expresión del gene viral en hepatocitos lo que induce una mejoría en su salud. Estos plásmidos no se replican en las células animales, pero pueden permanecer en ellas por semanas o meses lo que provee una producción continua del antígeno.

Aunque los resultados obtenidos demuestran los potenciales usos de las vacunas de ADN desnudo como inmunoterapia aun se tienen que realizar más estudios ya que no se cuenta con experiencia en humanos lo que significa que tenemos una comprensión fragmentaria del proceso por el cual los plásmidos son internalizados y como se presentan los antígenos a las células competentes. Por otro lado debe considerarse el papel de las citocinas en el ambiente y su efecto en la respuesta inmune.

Además existen preocupaciones teóricas acerca de la interacción del ADN extranjero sobre el genoma del huésped. El ADN probablemente no interactúe debido a la falta de homología, sin embargo, dado que las cantidades de ADN que se requieren son altas habrá que tomar este punto en cuenta.

Por otro lado, mucho trabajo a de realizarse para saber cuales son las formulaciones óptimas, los adyuvantes, las dosis y los esquemas de vacunación. Necesita trabajarse sobre estos factores para cada tipo de antígeno y además es necesario hacer la evaluación de la respuesta inmune.

Vacunas de ARN

En cuanto al potencial para generar respuesta inmune se sabe que este también activa a las CTL cuando se usa en liposomas. El ácido ribonucleico (ARN) tiene la desventaja de que es de vida media muy corta y es menos efectivo, pero no se corre el riesgo de integración al genoma, además si se van a emplear genes con actividad importante en la regulación de la división celular conviene su uso ya que de esta forma no se corre el riesgo de transformaciones malignas como consecuencia de la expresión prolongada de la onco-proteína.

Además, al usar ARN puede incluirse productos de la replicación viral y de la maquinaria de traducción los que nos daría una expresión muy alta en un tiempo corto, hasta que la célula productora muera.

La retrovacunación... eliminando la experimentación en modelos vivos

La retrovacunación se refiere a una nueva modalidad en el diseño de vacunas en las que se pretende realizar simulaciones sobre la interacción entre los productos de diferentes genes y el sistema inmune de manera que no sea necesaria la experimentación con animales para encontrar las proteínas con capacidad antigénica. Todo se realizaría desde una computadora para luego generar la vacuna. Este es un campo totalmente nuevo y se desarrolla en laboratorios con colaboración de grandes compañías por lo que no es sencillo acceder a los resultados de estas investigaciones.

¿Qué pasa cuando las personas no se vacunan?

Dos son los grandes avances tecnológicos que han tenido un impacto masivo en la salud de la humanidad: la potabilización del agua, y la vacunación.

Sin embargo, las epidemias han sido olvidadas en muchos países, esto junto con los escándalos surgidos por la falta de ética de muchas compañías farmacéuticas que venden productos inútiles, han promovido la aparición de grupos que rechazan la vacunación.

El rechazo a las vacunas útiles (no el rechazo a las vacunas y medicamentos inútiles) ha tenido serias consecuencias en algunas poblaciones y para ejemplificarlo se señalara que en Japón en 1975 la población rechazó la vacuna contra la tos ferina por los efectos adversos de esta, el resultado fue que mientras en 1973 solo se presentaron 361 casos, para 1978 se presentaron 135 105 casos.

Este hecho y otros por el estilo nos dejan ver la importancia de continuar con los esquemas de vacunación a toda la población sin excepciones y al desarrollo de vacunas mejores para todas las enfermedades que sea posible.

Perspectivas.

Los nuevos usos de las vacunas incluyen no solo la cura de la infección o su prevención, sino la prevención de secuelas serias que se presentan como resultado de dicha enfermedad, la vacuna de VHB es un buen ejemplo, ya que su uso esta motivado también por la prevención del cáncer hepático. Además se trabaja en la fabricación de vacunas contra el *Helicobacter pylori*, agente involucrado en la aparición de cáncer de estómago y del Papillota virus, agente altamente relacionado con el cáncer cérvico-uterino respectivamente.

Se propone que otra aplicación de estas vacunas será prevenir enfermedades debidas a problemas de autoinmmunidad o bien a inmunidad hiperreactiva como la que propicia el asma y las alergias.