

Vacunas recombinantes vivas

Rubén de Dios Barranco

Resumen— Las vacunas vivas son bacterias no patógenas o patógenas atenuadas que producen el antígeno principal del agente patógeno frente al que se quiere inmunizar. Las grandes ventajas que presentan son su facilidad de producción y su bajo coste, pero su desarrollo se ve limitado por el ajuste de dosis y la capacidad de controlar el *carrier* una vez dentro del organismo. Aquí analizamos algunos ejemplos y vemos un par de variaciones curiosas de este tipo de vacunas que, se espera que próximamente, sean comercializadas económicamente y con unos resultados óptimos.

Palabras Claves—Bacteria, *Carrier*, Recombinante, Vacuna, Viva.



1. INTRODUCCIÓN

Una vacuna es un componente de un patógeno que, al introducirse en el organismo, produce una respuesta inmune específica contra dicho patógeno y hace que se desarrolle una memoria inmunológica contra éste. Las vacunas pueden ser de diversos tipos (atenuadas, inactivadas, de subunidad, etc.), pero nosotros nos vamos a centrar en una mezcla de varios de estos tipos: las vacunas recombinantes vivas, o *bacterial carriers*. Se trata en este caso de bacterias no patógenas, como las del ácido láctico, o patógenas atenuadas, como las del género *Salmonella*, modificadas genéticamente para producir dentro del organismo el antígeno principal del agente patógeno contra el que se quiere inmunizar, ya sea secretándolo o exponiéndolo en la membrana [1].

2. VENTAJAS E INCONVENIENTES

La principal ventaja de este tipo de vacuna reside en su facilidad de producción, ya que una vez desarrollado el microorganismo modificado, sólo se tiene que crecer y seleccionar (por supuesto, tomando precauciones frente a la biocontaminación). Además, al usar cepas bacterianas que colonizan el sistema digestivo, la administración puede ser oral. Lamentablemente, este tipo de vacunas presentan algunos problemas técnicos, como la dificultad en el ajuste de dosis y en el desarrollo de una cepa recombinante suficientemente segura y a la vez que produzca suficiente inmunogenicidad, ya que normalmente una mayor atenuación del microorganismo causa una menor respuesta inmune [2]. También puede ser problemática la inducibilidad del sistema, ya que el antígeno, idealmente, sólo debería producirse cuando el microorganismo coloniza los tejidos diana del hospedador, no en cualquier parte del organismo [1].

3. EJEMPLOS DE APLICACIONES Y ESTRATEGIAS

Este tema no es precisamente nuevo, ya que a finales de los años 90 se publicaron los primeros estudios sobre la inmunización de ratones con este tipo de vacunas. Por

ejemplo, en 1997 se consiguió inmunizar ratones frente a *Clostridium tetani* (causante del tétanos) mediante la administración oral de una cepa modificada genéticamente de *Lactobacillus lactis* [3], y en 1998 se consiguió igualmente una inmunización contra *Helicobacter pylori* (que puede producir en muchos casos cánceres gástricos) mediante el uso de una cepa atenuada recombinante de *Salmonella typhimurium* [4]. De esta forma, podemos comprobar la versatilidad del método, ya que permite intentar desarrollar vacunas contra casi cualquier patógeno, siempre y cuando la expresión del antígeno en el hospedador sea estable y su plegamiento, correcto, además de que no afecte a la viabilidad del *carrier*.

Este enfoque de vacuna no sólo es aplicable a patógenos bacterianos o víricos, sino que también se ha intentado aplicar al campo de las vacunas antitumorales. En este caso, el *carrier* produciría un antígeno asociado a tumores. Por ejemplo, en 2010 se publicó un estudio en el que se detalla la inmunización de ratones frente al cáncer de colon mediante el uso de una cepa atenuada de *S. typhimurium* modificada genéticamente para producir el antígeno asociado a tumores survivina (involucrado en la persistencia, la proliferación y la invasión de las células tumorales) [5]. De hecho, el microorganismo utilizado es muy apropiado, ya que posee un sistema de secreción tipo III (una “jeringa” que introduce proteínas en células hospedadoras) que inyecta en este caso la survivina, preferentemente en células presentadoras de antígenos, de forma que se produce una respuesta inmune efectiva.

Para intentar evitar el problema de la insuficiente inmunogenicidad por la atenuación excesiva, Curtiss *et al.* [6] desarrollaron una ingeniosa estrategia. El método más común de atenuación de *Salmonella* es la mutación de genes de respuesta a estrés metabólico, fase estacionaria y genes de virulencia. La estrategia propuesta por estos autores consiste en cambiar los promotores de estos genes por el promotor P_{BAD} , activado por arabinosa mediante el activador AraC. El objetivo final de esta estrategia es conseguir una atenuación progresiva del *carrier* una vez introducido en el organismo, lo cual se consigue de la siguiente manera. Antes de la inmunización, se incuba el

carrier en un medio rico en arabinosa, de forma que los genes que se pretende atenuar se expresan en niveles altos. Una vez dentro del organismo, ya no hay arabinosa en el medio, con lo que el único inductor disponible es el que ya se había introducido en la bacteria. Esto hace que, con las sucesivas divisiones, cada vez haya menos arabinosa intracelular, reduciéndose la expresión de estos genes y aumentando la atenuación con el tiempo (Figura 1A). Con esto, se consigue una respuesta inmune fuerte y un límite de replications del *carrier*, lo que a la vez limita su viabilidad.

En la bibliografía, además, podemos encontrar alternativas y modificaciones curiosas de este método de vacunación. Por ejemplo, se ha intentado aprovechar la capacidad de algunas bacterias Gram-negativas para producir vesículas extracelulares a partir de su membrana externa, de forma que los antígenos recombinantes insertados en

secundarios, liberando así todo el antígeno acumulado en el citosol y produciendo una respuesta inmune específica adecuada. La principal ventaja de este método es la completa eliminación del *carrier* tras inducir la lisis [7]. De hecho, esta estrategia puede incluso combinarse con la propuesta por Curtiss *et al.* [6], optimizando tanto la inmunogenicidad de la vacuna como la difusión del antígeno y la eliminación del *carrier* (Figura 1B).

Por supuesto, la única opción no son las bacterias. También se está utilizando el virus vaccinia para desarrollar vacunas recombinantes vivas. Como es bien sabido, este virus se utilizó como vacuna contra la viruela, pero al no estar inactivado ni atenuado, la vacuna era muy reactogénica y provocaba la muerte de una o dos personas por cada millón de vacunados. Para evitar este problema, se desarrolló el virus vaccinia Ankara (MVA, *Modified Vaccinia virus Ankara*). Esta es una variante no patógena del virus, atenuada y deficiente en cuanto a la replicación, utilizada en las últimas campañas de vacunación contra la viruela, pero en el ámbito de las vacunas recombinantes se está intentando utilizar como *carrier* contra enfermedades infecciosas, como la malaria, y contra tumores [8].

4. CONCLUSIÓN

Como hemos visto, las vacunas vivas recombinantes poseen unas cualidades que las hacen idóneas, pese a sus limitaciones, para una producción sencilla y económica de vacunas suficientemente efectivas y que producen una memoria inmunológica apropiada. El principal problema se encuentra en la aprobación por parte de las agencias reguladoras de medicamentos de este tipo de “fármacos vivos”, que además están genéticamente modificados. Pero con la cantidad de estudios favorables que han surgido en los últimos años y sus alentadoras perspectivas de futuro, es muy posible que finalmente estas vacunas de comercialicen.

REFERENCIAS

- [1] M. Unnikrishnan, R. Rappuoli and D. Serruto, “Recombinant bacterial vaccines,” *Current Opinion in Immunology*, no. 24, pp. 337-342, Apr 2012, <http://dx.doi.org/10.1016/j.coi.2012.03.013>.
- [2] J.E. Galen, R. Curtiss III, “The delicate balance in genetically engineering live vaccines,” *Vaccine*, submitted for publication, <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.12.026>.
- [3] K. Robinson, L.M. Chamberlain, K.M. Schofield, J.M. Wells, R.W. Le Page, “Oral vaccination of mice against tetanus with recombinant *Lactococcus lactis*,” *Nature Biotechnology*, no. 15, pp. 653- 657, Jul 1997.
- [4] O.G. Gomez-Duarte, B. Lucas, Z.W. Yan, K. Panthel, R. Haas, T.F. Meyer, “Protection of mice against gastric colonization by *Helicobacter pylori* by single oral dose immunization with attenuated *Salmonella typhimurium* producing urease subunits A and B,” *Vaccine*, no. 16, pp. 460-471, Mar 1998.
- [5] G. Xiong, M.I. Hussein, L. Song, A. Erdreich-Epstein, G.M. Shackleford, R.C. Seeger, D. Jäckel, M. Hensel, L.S. Metelitsa,

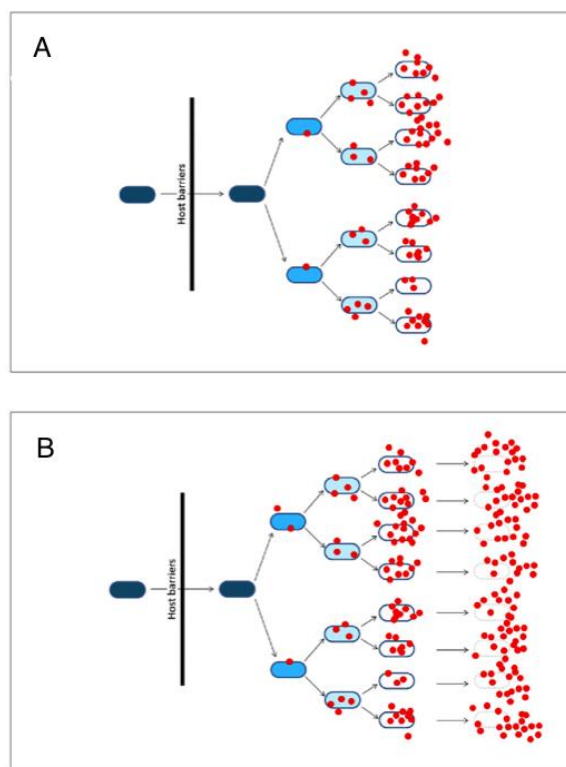


Fig. 1. Esquema del desarrollo de la atenuación del *carrier* según la estrategia de Curtiss *et al.* [6]. Con el tono de azul se esquematiza el nivel de atenuación (cuanto más pálido, mayor atenuación). Los puntos rojos simbolizan el antígeno. A) Estrategia simple de atenuación progresiva. B) Estrategia de atenuación progresiva combinada con la lisis programada del *carrier* [2].

la membrana externa difundan más fácilmente [1], aunque surge la dificultad del ajuste de dosis, ya que la tasa de producción de vesículas difiere de unas cepas a otras.

Otra forma de aplicación curiosa de las vacunas vivas recombinantes es la liberación de antígenos por lisis programada del *carrier*. El objetivo de este método consiste en inducir la lisis bacteriana una vez el *carrier* ha colonizado el organismo, preferentemente, los órganos linfoides

- "Novel cancer vaccine based on genes of *Salmonella* pathogenicity island 2," *International Journal of Cancer*, no. 126, pp. 2622-2634, Jun 2010, doi:10.1002/ijc.24957.
- [6] R. Curtiss III, S.Y. Wanda, B.M. Gunn, W. Zhang, S.A. Tinge, V. Ananthnarayan, H. Mo, S. Wang, W. Kong, "*Salmonella enterica* serovar typhimurium strains with regulated delayed attenuation *in vivo*," *Infection and Immunity*, no. 77, pp. 1071-1082, Mar 2009, doi:10.1128/IAI.00693-08.
- [7] W. Kong, S.Y. Wanda, X. Zhang, W. Bollen, S.A. Tinge, K.L. Roland, R. Curtiss III, "Regulated programmed lysis of recombinant *Salmonella* in host tissues to release protective antigens and confer biological containment," *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, no. 105, pp. 9361-9366, Apr 2008, doi: 10.1073/pnas.0803801105.
- [8] S.C. Gilbert, "Clinical development of Modified Vaccinia virus Ankara vaccines," *Vaccine*, no. 31, pp. 4241-4246, Mar 2013, <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.03.020>.



pertenece a la Junta Directiva de la Asociación de Biotecnólogos de Andalucía (AsBAN).

Rubén de Dios Barranco es estudiante de 4º curso de Grado en Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla en el curso 2013-14. Desde 2013, es alumno interno en el Departamento de Biología Molecular e Ingeniería Bioquímica con la Dra. Francisca Reyes Ramirez y compagina sus prácticas en externas con la Beca de Colaboración del Ministerio de Educación en Centro Andaluz de Biología del Desarrollo. Actualmente,