



LA VACUNA COLOMBIANA DE LA MALARIA: DE LA PRIMERA A LA SEGUNDA GENERACION

Abril 8 de 1997

*Médicos
Manuel E. Patarroyo
Roberto Amador
Instituto de Inmunología
Universidad Nacional de Colombia*

La vacuna colombiana SPF66 contra la malaria se diseñó como parte de un programa para el desarrollo de una metodología racional en la producción de vacunas sintéticas. Así como ha sido la primera vacuna sintética, es la única evaluada extensamente en humanos comprobándose su seguridad, inmunogenicidad y una capacidad protectora del 31 al 55% contra la malaria o paludismo producido por el *Plasmodium falciparum* en Latinoamérica y África. A su vez ha permitido el diseño de una nueva generación de la vacuna denominada Colfavac. Estas experiencias se vienen implementando en el desarrollo de otras futuras vacunas como la de la tuberculosis y leishmania.

El desarrollo de SPF66 ha requerido cerca de diez años para pasar del diseño de la molécula hasta los estudios de campo. Después de los estudios para la selección de los epítopes o moléculas antigénicas más adecuados y capaces de producir una respuesta del sistema inmune de los micos *Aotus*, se llevaron a cabo evaluaciones de seguridad en ratones, conejos y otras especies menores. Una vez se completó esta fase preclínica y gracias a la colaboración de las Fuerzas Militares de Colombia, se iniciaron los estudios para evaluar la seguridad, inmunogenicidad y protección en humanos. Soldados colombianos voluntariamente dieron su consentimiento para participar en los estudios. Ingresaron jóvenes de áreas no endémicas para la enfermedad

así como pertenecientes a grupos de mestizos y negros pensando en la importancia genética y su futura aplicación en regiones del Africa donde la mortalidad de más de un millón al año, son niños recién nacidos.

La participación de la comunidad de Tumaco y su Batallón de Infantería de Marina proporcionó la información suficiente para poder realizar los estudios con los Ministerios de Salud de Ecuador, Venezuela y con el grupo de investigación de la Unidad de Epidemiología de la Universidad de Barcelona, en Africa. Con este grupo de investigadores se viene llevando a cabo en Tanzania, Africa, los estudios en menores de un año, grupo de edad de alto riesgo, donde los niños pueden haber sufrido hasta tres episodios de malaria en su primer año de vida. En este momento se está evaluando las posibles interrelaciones entre la inmunidad producida por la vacuna misma y las demás vacunas del Programa Ampliado de Inmunizaciones, PAI. Así también, con la colaboración de las Fuerzas Militares de Colombia se viene realizando el análisis de la vacuna SPF66 formulada con un nuevo adyuvante denominado QS21 el cual por estudios previos tanto en animales como en humanos ha demostrado ser un inmunomodulador superior al adyuvante tradicional de la mayoría de las vacunas, el hidróxido de aluminio. Esto podría potenciar la capacidad de protección de la vacuna.

En la producción por síntesis química se han ido implementando métodos para su caracterización fisicoquímica y biológica y hoy en día el Instituto de Inmunología cuenta con modernos métodos analíticos con una capacidad muy grande de resolución tales como la cromatografía líquida de alta presión, la espectrometría de masas, la electroforesis de proteínas, la cromatografía por exclusión de tamaño, cromatografía en fase reversa, análisis y secuencia de aminoácidos (componentes básicos de las proteínas). Adicionalmente se utilizan varias técnicas biológicas para su evaluación inmunológica. Esto ha permitido la definición de guías internacionales para futuros productos producidos por síntesis química.

Después de siete estudios de campo y cinco estudios básicos realizados en Latinoamérica y Africa donde se ha demostrado protección contra la enfermedad, estudios realizados en Tailandia por el grupo del Ejército de los Estados Unidos no llegaron a las mismas conclusiones. Desafortunadamente continúa la incógnita del comportamiento de nuestra vacuna en grupos étnicos asiáticos ya que ese grupo utilizó una vacuna producida en los Estados Unidos con características químicas diferentes pero claves en la inmunogenicidad, como son: el contenido de moléculas de bajo peso molecular en proporción mayor a las de alto peso molecular y una formulación final con alto contenido de hidróxido de aluminio, haciéndola diferente al producto colombiano utilizado en los demás estudios.

El conocimiento requerido para pasar de estudios controlados a una evaluación de rutina de cualquier vacuna, puede ser diferente de una región geográfica a otra. La interpretación de la eficacia de la vacuna debe ser entendida dentro del contexto de la cantidad de exposición a la infección y las especificaciones de los estados iniciales y finales del lugar donde se lleva a cabo la evaluación. Los requerimientos pueden ser diferentes de país a país, considerando los diferentes efectos, áreas, cepas, vectores, poblaciones o grupos de riesgo, magnitud del problema y el impacto en salud pública. Todo esto en su conjunto permitirá un enfoque coordinado para evaluar el uso potencial de la vacuna en diferentes regiones del mundo.

Se sabe muy bien que la inmunidad natural se adquiere solo en áreas de alta exposición a la picadura del mosquito anofeles infectado, pero solo atenúa los efectos peligrosos de infecciones posteriores. Su adquisición se inicia temprano en la vida y aumenta con la edad. Sin embargo los individuos se vuelven susceptibles a la reinfección si dejan el área, sugiriendo que esta inmunidad natural es de corta duración y requiere exposición frecuente al parásito.

Aparentemente el parásito mismo interfiere con el desarrollo de la inmunidad a través de varios mecanismos:

1. Viviendo dentro de las células o imitando sus componentes moleculares, se camufla.
2. Por una gran diversidad de expresión fenotípica (expresión de antígenos) en la población parasitaria.
3. Supresión de los mecanismos de defensa del huésped.
4. Secuestro de los parásitos maduros en el endotelio.

Una observación importante es que los niños desarrollan anticuerpos contra las moléculas o epítopes variables mientras que los adultos desarrollan anticuerpos contra epítopes menos inmunogénicos pero conservados (menos variables). Es muy posible que las moléculas inmunodominantes actúen como distractores de la respuesta de defensa o que antígenos comunes repetidos puedan ejercer una función de supresión.

Dadas estas características únicas de la respuesta inmune, es entendible que la selección de las moléculas que van a constituir una vacuna contra la malaria sea la requerida para la supervivencia del parásito, con una tasa baja de mutación o cambio y sean epítopes conservados de múltiples o alternativos pasos en el proceso de invasión.

De las tres secuencias derivadas de la fase merozoítica de la infección, las cuales hacen parte de SPF66, dos han demostrado su gran capacidad de unión al glóbulo rojo.

Con todo este bagaje adquirido durante el desarrollo de la primera generación de la vacuna colombiana contra la malaria en nuestro laboratorio, se inició el proceso de análisis de nuevas moléculas mediante el análisis de la cinética de unión de péptidos sintéticos radiomarcados que contienen secuencias derivadas de estas proteínas naturales o de análogos creados para modificar su comportamiento inmune. Posteriormente esta capacidad inmune ha sido evaluada en micos *Aotus*, el modelo experimental más cercano al humano, de malaria por *P. falciparum*.

La selección de los componentes de la segunda generación de la vacuna ha sido entonces enfocada a los estados invasivos del parásito a nivel del merozoito y el esporozoito (estadios del parásito). Se han analizado proteínas como la MSP-1, MSP-2, EBA-175, GBP-130, RESA, SERA y AMA-1 implicadas en el proceso de invasión, la HRPI y la HRPIII, implicadas en la formación de rosetas proglóbulos rojos maduros infectados y no infectados, la secuestrina Pf-EMP-1 y la PfCSP y la PfSSP-2, proteínas del esporozoito implicadas en la invasión del hepatocito.

Péptidos secuenciales de veinte aminoácidos que cubren la secuencia total de cada una de estas proteínas fueron sintetizados químicamente. De acuerdo a los resultados de inmunogenicidad en *Aotus*, se clasificaron en inmunogénicos y no inmunogénicos. Los péptidos localizados en las regiones no conservadas de las proteínas fueron capaces de inducir una respuesta inmune pero no protectora contra la infección experimental de malaria.

Aquellos péptidos que tenían un efecto de unión específico pero que estaban dentro de la región conservada de las proteínas no eran inmunogénicos y se requirió estudios adicionales para identificar los reemplazos de aminoácidos necesarios para hacerlos inmunogénicos. Se realizaron estudios de competición entre el péptido original y sus análogos en los que se hizo cambios del aminoácido por un residuo de glicina. Residuos críticos fueron aquellos en los que una vez modificados causaban un decremento notable de más del 50% de las propiedades de unión del péptido. Fue usual encontrar más de un residuo crítico para cada péptido.

El cambio en la respuesta inmune esperada se encontró cuando ciertos residuos críticos eran empleados. Los anticuerpos generados eran capaces de reconocer el péptido original y la proteína nativa, y a su vez inducir protección en el modelo animal.

Se ha encontrado entonces un método para analizar, descubrir y modificar las moléculas que hoy en día hacen parte de la segunda generación de la vacuna de malaria. Esto permitirá en un futuro muy cercano, después de estudios exhaustivos de seguridad en diferentes especies animales, ser evaluadas como se hizo con SPF66, en humanos, en grupos pequeños de jóvenes y posteriormente en niños, mujeres y comunidades.