

Avances más recientes en el desarrollo de vacunas contra la malaria

Lázara Rojas Rivero,¹
Jorge Sarracent Pérez¹
y Luis Fonte Galindo¹

Durante las primeras siete décadas del pasado siglo se logró reducir las áreas con malaria endémica en aproximadamente un tercio. Los primeros avances se registraron en América del Norte y la mayor parte de Europa Occidental, regiones en las que el rápido desarrollo socioeconómico permitió destinar más recursos a combatir la transmisión de la infección. Durante las décadas de 1950 y 1960 se logró reducir aun más la transmisión de esta parasitosis mediante el empleo del insecticida dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) y las campañas antivectoriales realizadas entonces, como parte de un programa mundial para el control de la malaria, permitieron controlar la transmisión en grandes áreas de la India, Sri Lanka y la antigua Unión Soviética.

Posteriormente, con la erradicación de la malaria de los países industrializados y el fracaso del programa mundial para su control —fundamentalmente por la insuficiencia de recursos económicos— disminuyó el interés por la malaria, lo que se agravó por la aparición de cepas resistentes a los medicamentos antimaláricos y a los insecticidas en uso. Como consecuencia, los casos de malaria han aumentado en todo el mundo y esta enfermedad se ha convertido en uno de los problemas de salud más importantes en vastas zonas de África subsahariana, Asia y América del Sur, donde más de un millón de personas —fundamentalmente niños menores de cinco años y mujeres embarazadas— mueren anualmente a causa de ella (1).

Sin embargo, en los últimos cinco años —posiblemente debido a la grave situación creada— han aumentado los fondos públicos y privados destinados a financiar el desarrollo de investigaciones sobre la malaria. Esta mayor afluencia de recursos ha incentivado a diferentes sectores académicos e industriales a coordinar iniciativas para el desarrollo de vacunas antimaláricas. Hasta ahora, el más avanzado de esos esfuerzos es la vacuna RTS,S/AS02A, dirigida contra las fases preeritrocitarias de *Plasmodium falciparum*, desarrollada por Glaxo-SmithKline Biologicals (Rixensart, Bélgica) (2). En el presente trabajo, a partir de un breve análisis de la situación de la malaria en las Américas y de los avances más recientes en el desarrollo de posibles vacunas antimaláricas, se comentan los resultados alcanzados por esta vacuna en un ensayo clínico de fase IIb realizado en África y se esbozan algunas ideas e interrogantes acerca de su posible utilidad para el control de la malaria en nuestra Región.

Palabras clave: malaria falciparum, vacunas contra la malaria.

¹ Laboratorio de Parasitología, Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí, Ciudad de La Habana, Cuba. La correspondencia debe dirigirse a Lázara Rojas, Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí, Autopista Novia del Mediodía, km 3½, La Lisa, Ciudad de La Habana, Cuba. Correo electrónico: lrojas@ipk.sld.cu

LA MALARIA EN LAS AMÉRICAS

La malaria era una enfermedad endémica de las Américas, desde el norte de Canadá hasta el sur de Argentina y las Islas del Caribe. Como resultado de los esfuerzos realizados para combatirla —que se intensificaron después de la puesta en marcha de la estrategia mundial para su erradicación en la década de 1950—, la transmisión de la enfermedad se redujo en una gran parte de la Región y se logró erradicar de los Estados Unidos, Canadá, la mayoría de las islas del Caribe y las áreas de mayor desarrollo socioeconómico y de mejor acceso a servicios de salud en los países restantes.

Según la Organización Panamericana de la Salud, la malaria aún afecta a 21 países y territorios de las Américas (Argentina, Belice, Bolivia, Brasil, Colombia, Costa Rica, Ecuador, El Salvador, Guatemala, Guayana Francesa, Guyana, Haití, Honduras, México, Nicaragua, Panamá, Paraguay, Perú, República Dominicana, Surinam y Venezuela). Del total de 835 millones de habitantes de la Región, 293 millones viven en áreas con algún grado de riesgo de transmisión de la enfermedad y 203 millones viven en zonas donde la transmisión es frecuente (3).

Después de que se abandonó el programa mundial para erradicar la malaria, los países de las Américas adoptaron la estrategia mundial de control de la malaria en 1992. Entre los elementos técnicos de la estrategia regional de control se encuentran el diagnóstico rápido, el tratamiento inmediato, la aplicación de medidas de protección y prevención de la enfermedad, el desarrollo de la capacidad de pronosticar y contener epidemias, y el fortalecimiento de la capacidad local en investigaciones básicas y aplicadas (3).

En 1998, con el objetivo principal de reducir de forma importante la carga de la malaria en el mundo y como parte de un esfuerzo internacional mancomunado con otras instituciones, la Organización Mundial de la Salud lanzó la iniciativa denominada Frenar la Malaria (*Roll Back Malaria*). Esta iniciativa se puso en marcha en la Región en octubre de 1999. A finales de 2001, esta estrategia mundial se fortaleció mediante el establecimiento de un fondo mundial para combatir tres enfermedades de gran impacto: el sida, la tuberculosis y la malaria. En las Américas, este fondo devino una importante fuente de financiamiento para combatir la malaria y mejorar la situación de las poblaciones afectadas mediante la participación coordinada del sector público y de la sociedad civil (3).

Como en otras regiones, la malaria en las Américas se considera una enfermedad reemergente, sobre todo debido a la propagación de la resistencia de los parásitos a los medicamentos antipalúdicos y a las dificultades para poner en marcha

y mantener los programas de control del vector transmisor.

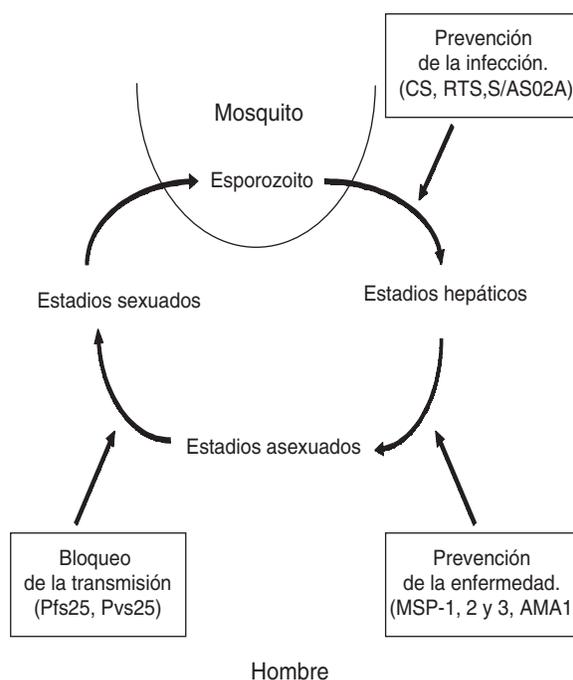
VACUNAS ANTIMALÁRICAS

Desde el clásico trabajo publicado por Ruth Nussenzweig y colaboradores en 1967, en el que informaron que la inmunización de roedores con esporozoítos de *P. berghei* tratados con rayos X los protegía de la enfermedad, quedó demostrado que la obtención de una vacuna antimalárica, además de necesaria, era factible (4). A partir de entonces se han realizado numerosos intentos por lograr la protección contra la infección por plasmodios, fundamentalmente por *P. falciparum* (5), en sus distintos estadios (figura 1). Todas las estrategias empleadas, sin embargo, convergen en tres direcciones básicas:

Vacunas dirigidas contra las fases hemáticas asexuadas

Las vacunas contra las fases hemáticas asexuadas están diseñadas para reducir la frecuencia y la gravedad de las manifestaciones clínicas de la enfermedad producida por el parásito.

Figura 1. Ciclo de vida de *Plasmodium* y algunas estrategias de vacunación ensayadas^a



^a Mayor información acerca de los preparados vacunales CS, Pfs25, Pvs25, MSP-1, MSP-2, MSP-3, AMA1 y RTS,S/AS02A pueden encontrarse en el texto.

Estas vacunas están dirigidas a evitar la invasión parasitaria de los eritrocitos una vez que las células hepáticas liberan a los merozoítos. Este proceso, que requiere de una estrecha adhesión del merozoíto al eritrocito, culmina con la fusión de las membranas plasmáticas de ambas células. En la invasión eritrocitaria participan activamente numerosas proteínas superficiales del merozoíto que quedan transitoriamente accesibles a la acción de los anticuerpos; de ellas, las mejor estudiadas son las proteínas de superficie del merozoíto (MSP, del inglés *merozoite surface protein*) MSP-1, MSP-2 y MSP-3, así como el antígeno de membrana apical 1 (AMA-1). Los anticuerpos generados contra las moléculas MSP-1, MSP-2 y AMA-1 bloquean la invasión de los merozoítos, mientras que los anticuerpos contra la MSP-3 estimulan efectos mediados por monocitos. Aunque las respuestas humorales a estos antígenos parecen ser esenciales, recientemente se demostró que algunos mecanismos mediados por células también pueden ser críticos en el desarrollo de la inmunidad adquirida en esta fase (6).

Se han desarrollado varios candidatos vacunales contra los antígenos antes mencionados y contra combinaciones de ellos (5). Sin embargo, la mayoría de esos preparados se encuentran en estudios preclínicos y muy pocos han llegado a estudios clínicos de fase I, debido en parte a la gran variabilidad que manifiestan estas moléculas en diferentes cepas. Actualmente se buscan regiones antigénicas más conservadas o, lo que también parece muy prometedor, combinaciones de dos o más antígenos o de sus formas alélicas fusionadas en una sola proteína recombinante.

Vacunas bloqueadoras de la transmisión

Estas vacunas están diseñadas para bloquear la transmisión de la enfermedad ya que estimulan la producción de anticuerpos contra antígenos de la fase sexual del parásito, que puedan impedir el desarrollo de esporozoítos infecciosos en las glándulas salivales de los mosquitos *Anopheles* (7). Teóricamente, estas vacunas podrían interrumpir el ciclo de transmisión del parásito al paso de este por el vector y serían de gran utilidad para reducir la diseminación de parásitos de cepas resistentes a otros tipos de vacunas.

Pese a lo atrayente del enfoque, estas vacunas no confieren directamente protección a la persona inmunizada y para recibir los beneficios esperados se debe vacunar masivamente a toda la comunidad durante un prolongado período de tiempo. Además, los antígenos de fase sexual seleccionados para desarrollar estas vacunas en los que más avances se registran son proteínas complejas, con plegamientos muy precisos y de difícil obtención (8).

Dos formulaciones de vacunas bloqueadoras de la transmisión —una basada en el antígeno Pv25 de *P. vivax* expresado en *Saccharomyces cerevisiae*, y otra en el antígeno Pf25 de *P. falciparum* expresado en *Picchia pastoris*— han pasado con éxito la fase de estudios preclínicos y se encuentran actualmente en estudios clínicos de fase I (5).

Vacunas preeritrocíticas

Las vacunas preeritrocíticas están dirigidas contra los esporozoítos y las formas asexuadas que se alojan en el hígado, y tienen como objetivo evitar la liberación de merozoítos primarios hacia el torrente circulatorio. Estas vacunas interrumpirían el proceso infeccioso y, en consecuencia, evitarían las manifestaciones clínicas de la enfermedad.

Los resultados obtenidos en estudios preclínicos en roedores y humanos inmunizados con esporozoítos tratados con rayos X (9) demostraron que era posible lograr una vacuna eficaz contra el estadio preeritrocitario del parásito. Esto ha llevado a la formulación de más de una vacuna contra este estadio y a su evaluación en ensayos clínicos.

De los antígenos empleados en este tipo de vacuna, la proteína circunsporozoítica es la que más claramente ha generado respuestas inmunoprotectoras. La estructura primaria y la variabilidad entre cepas de esta molécula asociada con la membrana del esporozoíto están bien caracterizadas. Esta proteína posee una región central muy repetitiva y altamente conservada, en la que se encuentran numerosos epítomos B inmunogénicos, la cual está flanqueada por zonas no repetitivas en las que se alternan fragmentos inmunogénicos muy conservados y secuencias variables y en la que se encuentran la mayoría de los epítomos T generadores de respuestas CD4⁺ y CD8⁺.

De los numerosos candidatos vacunales diseñados a partir de las secuencias de la proteína circunsporozoítica (5), el más avanzado se basa en los polipéptidos RTS,S/AS02A.

VACUNA ANTIMALÁRICA RTS,S/AS02A

Recientemente, un grupo de investigadores encabezados por Pedro L. Alonso dieron a conocer los alentadores resultados de un ensayo clínico de fase IIb realizado en Mozambique con esta vacuna preeritrocítica contra la malaria (2).

Esta vacuna está dirigida contra la proteína circunsporozoítica de la cepa NF54, clon 3D7 de *P. falciparum*. Sus dos componentes, RTS y S, se expresaron simultáneamente mediante técnicas de recombinación de ADN en la levadura *S. cerevisiae*. El primero es un polipéptido de cadena simple corres-

pondiente a los aminoácidos 207–395 de la proteína circunsporozoítica, que se fusionó al extremo amínico del antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) del serotipo *adw*. El segundo componente es un polipéptido de 226 aminoácidos que corresponde también al antígeno de superficie del virus de la hepatitis B. Durante la purificación los dos polipéptidos se ensamblan espontáneamente y forman una partícula (10).

El adyuvante que se utilizó en la formulación de la vacuna, denominado AS02A, es una emulsión de aceite en agua, que tiene incorporado como inmunostimulantes el monofosforil lípido A y un derivado de la saponina denominado QS21. La formulación de los dos polipéptidos con el adyuvante AS02A estimuló altas concentraciones de anticuerpos contra la zona repetitiva de la proteína circunsporozoítica y desencadenó la respuesta celular de los linfocitos T auxiliares 1, caracterizada por su especificidad y por una elevada producción de interferón gamma (11). La dosis vacunal para adultos es de 50 µg del principio activo liofilizado reconstituido en 500 µL del adyuvante.

En el ensayo realizado en Mozambique participaron 2 022 niños de 1 a 4 años de edad que se vacunaron con la mitad de la dosis vacunal prevista para adultos (25 µg del polipéptido liofilizado en 250 µL del adyuvante AS02A). A los niños se les aplicaron tres dosis de la vacuna en la región deltoidea, con intervalos de un mes. Como los niños menores de 24 meses participantes en el estudio ya habían sido vacunados contra la hepatitis B, se utilizó como control para la primera y tercera dosis una vacuna conjugada contra *Pneumococcus*, mientras que para la segunda dosis se empleó una vacuna contra *Haemophilus influenzae* tipo B, producidas por GlaxoSmithKline. En los niños mayores de 24 meses se empleó como control la variante pediátrica de la vacuna contra la hepatitis B. En total, 941 niños recibieron las tres dosis de la vacuna RTS,S/AS02A y 935 las vacunas de control. Las pruebas de eficacia se realizaron en 841 niños vacunados contra la malaria y en 838 niños del grupo testigo.

Los resultados de este estudio demostraron que la vacuna evaluada es segura y bien tolerada. No se encontraron diferencias significativas entre los efectos adversos provocados por la vacuna evaluada y las vacunas de control; la mayoría de ellos fueron de intensidad ligera o moderada y de corta duración. De los 429 eventos adversos de intensidad grave registrados, 180 (17,8%) se presentaron en el grupo que recibió la vacuna en estudio y 249 (24,7%) en el grupo que recibió las vacunas de control.

Este ensayo también demostró la inmunogenicidad de la vacuna RTS,S/AS02A. La media geométrica de los títulos de anticuerpos contra la proteína circunsporozoítica a los 30 días de la vacunación fue elevada, tanto en los niños menores de 24 meses

(274; intervalo de confianza de 95% [IC95%]: 229 a 328) como en los mayores de 24 meses (158; IC95%: 142 a 176). La media geométrica de los títulos de anticuerpos se mantuvo elevada a los 180 días de la última dosis en ambos grupos (52 [IC95%: 43 a 63] y 40 [IC95%: 35 a 45], respectivamente).

En cuanto a la protección generada, 11 de los 745 niños que recibieron la vacuna en estudio tuvieron al menos un episodio de malaria, lo que equivale a una eficacia de 27,4% (IC95%: 6,2 a 43,8), frente a 26 de los 745 niños del grupo testigo (eficacia de 57,7%; IC95%: 16,2 a 80,6).

El ensayo realizado en niños de Mozambique mostró mejores resultados que los logrados en un estudio previo realizado en adultos en Gambia (12). Según los autores, esto puede deberse a que la vacuna resultó mucho más inmunogénica en la población estudiada en Mozambique que en la de Gambia, ya sea por la diferencia de edades de los participantes en esos estudios y el diferente grado de desarrollo de su sistema inmune, por las diferencias entre las cepas circulantes en ambos países o porque la respuesta a la vacuna depende del fondo genético de la población estudiada.

A pesar del nivel relativamente bajo de protección de la vacuna RTS,S/AS02A en comparación con vacunas existentes contra otras enfermedades, los resultados de este estudio refuerzan el criterio de que en los próximos años se podrá contar con una vacuna eficaz contra la malaria.

COMENTARIOS FINALES

Aunque *P. vivax* es la especie de *Plasmodium* que con mayor frecuencia se encuentra en las Américas, la infección por *P. falciparum* también constituye un importante problema de salud, por lo que disponer de una vacuna contra la malaria por *P. falciparum* resultaría de mucha utilidad para la Región.

Sin embargo, aún quedan interrogantes por esclarecer, especialmente si se analizan estos resultados desde el punto de vista de nuestra Región. ¿Qué nivel de protección puede brindar la vacunación en niños menores de un año, que constituyen un sector altamente sensible a la enfermedad en los países americanos afectados? En los estudios realizados en Gambia y Mozambique no participaron niños de ese grupo de edad.

¿Será eficaz la vacuna en los países latinoamericanos, donde las cepas de *P. falciparum* circulantes difieren de las de África? Si bien este preparado demostró ser eficaz en África, independientemente de las cepas allí presentes, existe el antecedente de otro candidato, la vacuna SPf66 —basada en péptidos sintéticos construidos a partir de secuencias conocidas de proteínas de los estadios

asexuados y de la fase circunsporozoítica de *P. falciparum* (13)— que originó cierto grado de protección en América del Sur (14), pero no en todos los ensayos realizados en África y Asia (15–17).

Por otra parte, para el diseño de la vacuna RTS,S/AS02A se utilizó la información existente sobre la proteína circunsporozoítica de una sola cepa, ¿no se corre el riesgo de que se seleccionen variantes de escape cuando la vacunación sea masiva?

El nivel de exposición a los esporozoítos de la población en el estudio de Mozambique, considerando 38 picaduras infectantes por persona en un año, permite que continuamente se esté estimulando la respuesta inmunitaria protectora, sin que esto necesariamente se refleje en un aumento de las concentraciones de anticuerpos. ¿Qué podría ocurrir en una población sometida a un nivel de exposición menor, como ocurre en nuestro continente?

La inmunoprotección alcanzada con la administración de la vacuna fue solo parcial, por lo que se deben continuar las investigaciones para optimizarla. Pese a su nivel relativamente bajo de inmunoprotección, las posibilidades que ofrece la vacuna RTS,S/AS02A a la población que vive en zonas con malaria endémica justifican su ensayo en las Américas, a manera de poder dar respuesta a las

interrogantes planteadas y evaluar su eficacia en las condiciones clínicas y epidemiológicas específicas de la Región.

SYNOPSIS

The most recent advances in developing vaccines against malaria

According to reports of the Pan American Health Organization, malaria transmission continues to occur in 21 countries of the Americas. Of the 835 million inhabitants of the Region of the Americas, 293 million live in areas with some possibility of transmission of the disease. The most advanced of the candidate vaccines that have been designed based on the sequences of the circumsporozoite protein, is one based on the RTS,S/AS02A polypeptides of *Plasmodium falciparum*. A test of that vaccine was conducted in Mozambique with children from 1 to 4 years old. The test proved the vaccine to be safe, well tolerated, and immunogenic, but the level of protection reached was still low. However, the advantages that the RTS,S/AS02A vaccine offers to people who live in malaria-endemic areas justifies its being tested in the Americas in order to evaluate its effectiveness in the clinical and epidemiological conditions specific to the Region.

Key words: malaria, falciparum; malaria vaccines.

REFERENCIAS

1. Snow RW, Craig M, Deichmann U, Marsh K. Estimating mortality, morbidity, and disability due to malaria among Africa's non-pregnant population. *Bull World Health Organ*. 1999;77:624–40.
2. Alonso PL, Sacarlal J, Aponte JJ, Leach A, Macete E, Milman J, et al. Efficacy of the RTS,S/AS02A vaccine against *Plasmodium falciparum* infection and disease in young African children: randomised controlled trial. *Lancet*. 2004;364:1411–20.
3. Organización Panamericana de la Salud. Informe de la situación de los programas de malaria en las Américas. Organización Panamericana de la Salud. 26.^a Conferencia Sanitaria Panamericana, septiembre 23–26 de 2002; Washington, D.C.: OPS; 2002. (CSP62/INF/3 [Esp]).
4. Nussenzweig RS, Vanderberg J, Most H, Orton C. Protective immunity produced by the injection of X-irradiated sporozoites of *Plasmodium berghei*. *Nature*. 1967;216:160–2.
5. Ballou WR, Arévalo-Herrera M, Carucci D, Richie TL, Corradin G, Diggs C, et al. Update on the clinical development of candidate malaria vaccines. *Am J Trop Med Hyg*. 2004;71:239–47.
6. Good MF. Towards a blood-stage vaccine for malaria: are we following all the leads? *Nat Rev Immunol*. 2001;1:117–25.
7. Carter R, Mendis KN, Miller LH, Molineaux L, Saul A. Malaria transmission-blocking vaccines—how can their development be supported? *Nature Med*. 2000;6:241–4.
8. Gozar MM, Muratova O, Keister DB, Kensil CR, Price VL, Kaslow DC. *Plasmodium falciparum*: immunogenicity of alum-adsorbed clinical-grade TBV25–28, a yeast-secreted malaria transmission-blocking vaccine candidate. *Exp Parasitol*. 2001;97:61–9.
9. Hoffmann SL, Goh LM, Luke TC, Schneider I, Le TP, Doolan DL, et al. Protection of humans against malaria by immunization with radiation-attenuated *Plasmodium falciparum* sporozoites. *J Infect Dis*. 2002;185:1155–64.
10. Gordon DM, McGovern TW, Krzych U, Cohen JC, Schneider I, LaChance R, et al. Safety immunogenicity and efficacy of a recombinantly produced *Plasmodium falciparum* circumsporozoite protein-hepatitis B surface antigen subunit vaccine. *J Infect Dis*. 1995;171: 1576–85.
11. Sun P, Schwenk R, White K, Stoute JA, Cohen J, Ripley Ballou W, et al. Protective immunity induced with malaria vaccine RTS,S is linked to *Plasmodium falciparum* circumsporozoite protein-specific CD4⁺ and CD8⁺ T cells producing IFN γ . *J Immunology*. 2003;171:6961–7.
12. Bojang KA, Milligan PJ, Pinder M, Vigneron L, Allouche A, Kester KE, et al. Efficacy of RTS,S/AS02 malaria vaccine against *Plasmodium falciparum* infection in semi-immune adult men in the Gambia: a randomised trial. *Lancet*. 2001;358: 1927–34.
13. Patarroyo ME, Amador R, Calvijo P, Moreno A, Guzmán F, Romero P, et al. A synthetic vaccine protects humans against challenge with asexual blood stages of *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature*. 1988;332:158–61.
14. Valero MB, Amador LR, Galindo C, Figueroa J, Bello MS, Murillo LA, et al. Vaccination with SPf66, chemically synthesized vaccine against *P. falciparum* malaria in Colombia. *Lancet*. 1993;341: 705–10.
15. Alonso PL, Smith T, Schellenberg JRMA, Masanja H, Mwanukysre S, Urassa H, et al. Randomised trial of efficacy of SPf66 vaccine against *P. falciparum* malaria in children in Southern Tanzania. *Lancet*. 1994;344:1175–81.
16. D'Alexandro U, Leach A, Drakeley CI, Bennett S, Olaleye BO, Fegan GW, et al. Efficacy trial of malaria vaccine SPf66 in Gambian infants. *Lancet*. 1995;346: 462–67.
17. Nosten F, Luxemburger C, Kyle DE, Ballou WR, Wittes J, Wah E, et al. Randomised double-blind placebo-controlled trial of SPf66 malaria vaccine in children in north-western Thailand. *Lancet*. 1997;346:701–7.