

Péptidos sintéticos, base de futuras vacunas

No hay duda de que el desarrollo de las vacunas ha sido uno de los logros más importantes de la medicina. En efecto, las vacunas actuales han hecho olvidar enfermedades mortales, como la viruela, que han sido prácticamente erradicadas. También son responsables de la disminución en la incidencia y mortalidad debidas a un gran número de enfermedades infecciosas tales como la polio, la rubéola y la difteria.

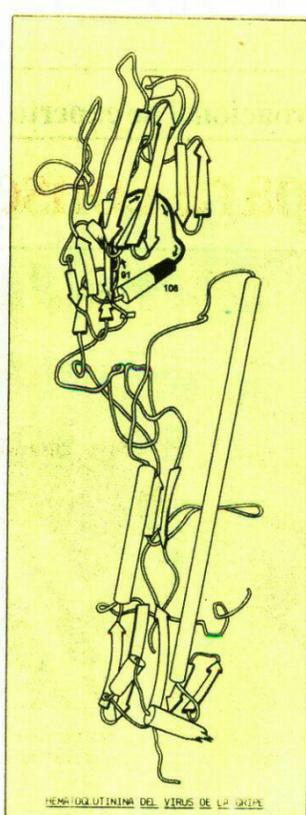
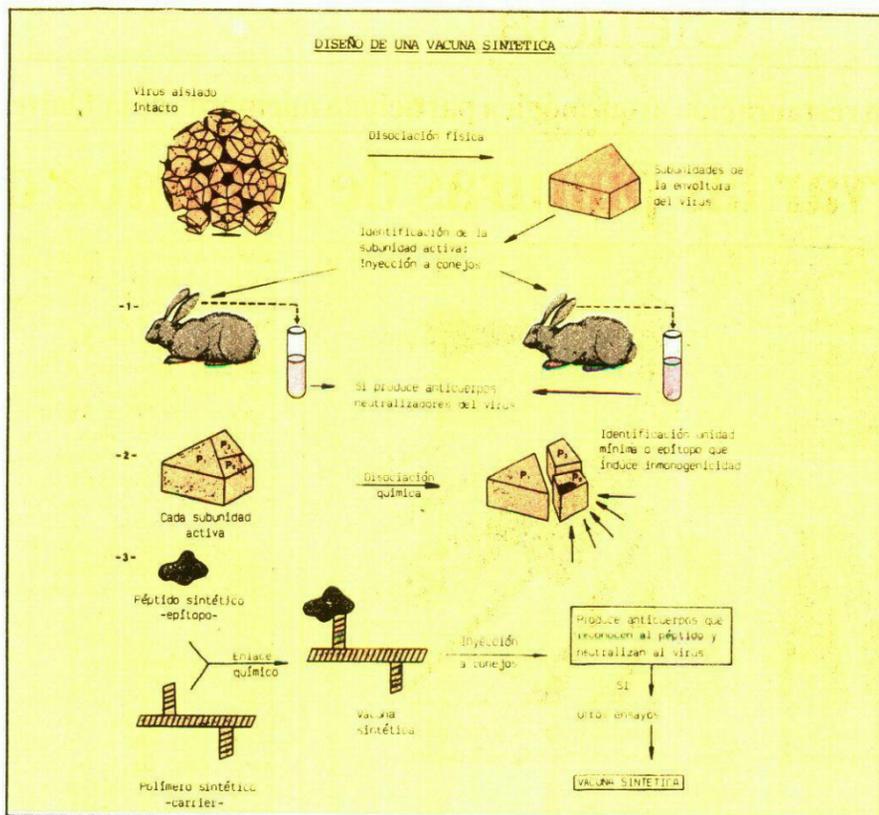
No obstante, a pesar de estos progresos, las vacunas actuales son susceptibles de mejora. En este sentido, gran parte de la problemática relacionada con el uso de las vacunas deriva de su preparación. Es realmente difícil discernir hasta qué punto una vacuna preparada a partir de un virus, por ejemplo, está todavía con vida o no suficientemente atenuada como para administrarse con plena seguridad. Por otra parte, en la producción a gran escala, un paso limitante es la consecución de grandes cantidades de virus y más en los casos en que éstos no pueden ser obtenidos por cultivo. También, las variaciones genéticas de los virus que dan lugar a nuevas especies, a menudo con especificidad serológica distinta, obligan a un continuo desarrollo de nuevas vacunas. En el caso de vacunas antiparásitos estos problemas resultan muchas veces demasiado complejos para intentar una solución. Por estas y otras razones se ha tendido al desarrollo de vacunas sintéticas.

Uno de los dos tipos de vacunas sintéticas está basado en proteínas víricas obtenidas mediante la tecnología del ADN recombinante a partir de bacterias, levaduras o células animales. Un ejemplo es la vacuna desarrollada por técnicas de ingeniería genética contra la hepatitis B.

El otro tipo de vacunas sintéticas está basado en la síntesis química de péptidos que son parte integrante de la estructura de las proteínas antigénicas. A pesar de que estos péptidos imitan sólo una pequeña parte del antígeno son capaces de producir anticuerpos que neutralizan y extinguen la actividad del antígeno completo.

La idea del uso de los péptidos como vacunas es relativamente moderna y nace a partir del estudio de las bases químicas del poder antigénico de las proteínas que se llevó a cabo en la década de los 60. En realidad, aunque el planteamiento era claro desde el principio, el desarrollo de las técnicas de clonación de ADN y secuenciación de proteínas aplicadas al estudio de proteínas víricas ha dado un gran empuje al desarrollo de vacunas basadas en péptidos sintéticos.

En inmunología cabe distinguir algunos matices en torno al término antígeno. Un antígeno es toda substancia capaz de desencadenar una respuesta inmunológica o bien de reaccionar de forma específica con un anticuerpo dado. Ello no implica que el antígeno pueda desencadenar



siduos correspondiente a la secuencia de una glicoproteína de la cápsula del virus.

Los intentos de desarrollo de vacunas antiparásitos presentan problemas únicos. Así, por ejemplo, muchos parásitos no pueden ser cultivados y la larga coexistencia de muchas generaciones de parásitos con sus huéspedes ha permitido que éstos hayan desarrollado mecanismos de escape muy sofisticados para los cuales las vacunas son ineficaces. A pesar de ello, se ha comprobado recientemente la posibilidad de preparar una vacuna sintética basada en alguno de sus epítomos. El mejor candidato se ha comprobado que es una secuencia repetitiva a base del tetrapéptido Asn-Ala-Asn-Pro. Así, el dodecapéptido (Asn-Ala-Asn-Pro), se ha visto que es capaz de proteger a los primates contra la infección por este parásito.

Contraceptivos

Las aplicaciones de las vacunas sintéticas como métodos inmunológicos de contracepción están siendo investigados como alternativa a los contraceptivos químicos en vigor. El punto clave es que se piensa que la respuesta inmunitaria contra antígenos específicos relacionados con la reproducción puede conducir a un buen control de la fertilidad. En veterinaria se ha tratado, con éxito, de inducir anticuerpos contra la hormona LHRH que es un dodecapéptido que controla la síntesis de otras dos, la LH y la FSH. La administración de un conjugado de la LHRH hace bajar los niveles de testosterona y por tanto induce a la esterilidad en varios animales. Por otro lado, los estudios sobre la hormona humana del embarazo llamada gonadotropina coriónica (hCG) han puesto de manifiesto la existencia de dos fragmentos que inducen anticuerpos altamente reactivos contra la hCG intacta. Estos fragmentos corresponden a la subunidad beta (beta-hCG) y a las regiones 111-145 y 109-145. Aunque la cuestión crucial sobre si esta inmunización induce a la infertilidad efectiva y duradera está todavía por responder, los primeros resultados son alentadores.

La información aquí recogida está encaminada simplemente a mostrar el potencial de los péptidos en cuanto pueden ser la base de mejores vacunas. Evidentemente, un esfuerzo considerable es preciso para que esto se materialice; sin embargo, y en vista de los grandes progresos que se han hecho en sólo una década, las vacunas peptídicas son una esperanza muy firme de una realidad a no muy largo plazo.

GREGORIO VALENCIA
Laboratorio de Péptidos
Centro de Investigación y Desarrollo
de Barcelona (C.S.I.C.)

la síntesis de anticuerpos. Para distinguir entre estas posibilidades se utilizan los términos de inmunogenicidad y de especificidad antigénica. El primero de ellos indica la capacidad de desarrollar una respuesta inmunitaria, mientras que el segundo se refiere al reconocimiento exacto de los determinantes antigénicos que poseen los anticuerpos o las células. A pesar de ello el término antígeno es utilizado indiscriminadamente para designar moléculas, virus, bacterias u órganos contra los que se establece una respuesta inmunitaria.

Muchos antígenos y entre ellos las proteínas presentan una multitud de determinantes antigénicos, epítomos o zonas concretas de sus moléculas que configuran en conjunto su especificidad. De todos los posibles epítomos sólo un número limitado son los responsables de la inducción de inmunidad por neutralización.

Anticuerpos monoclonales

En el diseño de una vacuna sintética el primer paso es la identificación de los determinantes antigénicos más significativos de la proteína contra la que va dirigida la vacuna. Para ello se emplean distintos métodos como los basados en la fragmentación química y enzimática del antígeno, el uso de anticuerpos monoclonales con actividad neutralizadora, los estudios cristalográficos de las proteínas antigénicas y la síntesis sistemática de porciones peptídicas (mimétopos) de las proteínas antigénicas.

Una vez han sido identificados los epítomos importantes, éstos pueden ser sintetizados químicamente para determinar sus propiedades inmunológicas. Los epítomos hasta ahora sintetizados

han demostrado claramente que, en muchos casos, inducen anticuerpos capaces a su vez de reaccionar con la proteína antigénica global. El tamaño mínimo para que estos péptidos sean capaces de inducir inmunogenicidad está en función de que puedan adoptar una conformación espacial semejante a la que tienen en la proteína original. Así los epítomos con capacidad de conformación suelen ser péptidos relativamente largos de entre 15 y 25 aminoácidos. Otros péptidos más pequeños han probado también ser capaces de producir anticuerpos; sin embargo, se ha visto que éstos corresponden a zonas de la proteína antigénica que presentan una gran movilidad. De cualquier manera, está claro que la capacidad de los péptidos sintéticos para producir respuesta inmunológica depende de que sean capaces de adoptar conformaciones parecidas a las que tienen en la proteína global.

Según estos principios, es posible hoy por hoy el diseño de péptidos sintéticos y usarlos como vacunas para inducir inmunidad contra infecciones tanto por bacterias, virus e incluso parásitos. Además, es posible inducir inmunidad contra hormonas peptídicas con fines tales como la contracepción.

Las vacunas antibacterianas sintéticas se están desarrollando mediante el estudio de las proteínas bacterianas conocidas como toxinas. De entre las más estudiadas está, en primer lugar, la vacuna contra la proteína M del streptococo pirógeno. Para ello se han sintetizado varios fragmentos peptídicos de entre 14 y 35 aminoácidos que han demostrado ser capaces de conferir protección contra varios tipos de estreptococos. Las aplicaciones de

esta vacuna se concretan en la lucha contra las fiebres reumáticas y las enfermedades de corazón. En el mismo sentido, se está trabajando en una vacuna contra la toxina de la difteria que consiste en un epítomo de 14 aminoácidos. También las investigaciones sobre la toxina del cólera están dando buenos resultados. Dos fragmentos sintéticos de la cadena B de esta toxina, los que corresponden a los residuos entre las posiciones 8-20 y 50-64, no sólo han probado ser efectivos contra el cólera sino contra la toxina del E. Coli. Ello abre grandes esperanzas para una futura vacuna anti-Coli/cólera y otras que, de modo general, se pueden llamar antienfermedades diarreicas.

Hepatitis B

Las vacunas antiviricas sintéticas están siendo investigadas mediante el estudio de las proteínas víricas. Uno de los sistemas más importantes en los que las vacunas sintéticas pueden aportar una solución es el caso del virus de la hepatitis B. De su antígeno superficial llamado HB_sAg se han sintetizado fragmentos peptídicos correspondientes a la casi totalidad de su secuencia y se ha comprobado que los péptidos más prometedores corresponden a las secuencias 117-137 y 139-147. Esta posible vacuna puede ser una alternativa a la que ya se obtiene por ADN recombinante.

El virus de la gripe presenta como proteína responsable de su especificidad serológica la hemaglutinina (HA). De ella se han estudiado algunas regiones tales como la 140-146 y la 138-164; sin embargo, los mejores resultados se han obtenido con un péptido

de 18 residuos (91-108) y otro de 36 (75-110). Estos últimos tienen la ventaja de que estas secuencias no varían en algunas cepas del virus tipo A y, por tanto, podrían dar lugar a una vacuna polivalente. En este sentido, la obtención de una vacuna multivalente sería muy deseable para este caso dada la gran capacidad de mutación de este virus.

Aunque ya existe una vacuna efectiva contra el virus, de la glosopoda, éste es un buen candidato para una vacuna sintética, ya que periódicamente surgen brotes de esta enfermedad provocados por fallos en el proceso de desactivación del virus base de la vacuna. La proteína antigénica más importante es la VP1 y el segmento más activo encontrado hasta ahora es un péptido de 20 residuos (141-160). Una notación idéntica que en el caso anterior se ha usado para designar la proteína más antigénica del virus de la polio. De la proteína VP1 se han investigado cinco fragmentos, entre ellos el 93-103, todos ellos con buenos resultados.

En los exactamente cien años de su existencia la vacuna contra el virus de la rabia sigue preparándose tal y como ya lo hizo por primera vez Louis Pasteur. Los estudios para reemplazarla por una vacuna sintética se están haciendo por medio de la síntesis de mimétopos, es decir, por síntesis sistemática de los posibles péptidos de la proteína antigénica.

En cuanto al virus del sida y dada la necesidad social urgente de disponer de una vacuna y la gran cantidad de recursos económicos que a ello se están dedicando, constituirá una prueba irrefutable de la viabilidad de las vacunas sintéticas. En la actualidad, por ejemplo, se está trabajando ya con un péptido de 18 re-

La investigación en Biología muestra de forma continua con nuevos habitantes la galaxia de las moléculas biológicas. Y aparecen interesantes e inesperadas conexiones entre ellas que abren nuevas perspectivas a nuestra comprensión de los fenómenos de la vida. Así, recientemente, del estudio de patógenos de plantas como son los virus y los viroides y de cómo se procesan ciertos RNAs de anfibios han aparecido interesantes correlaciones que han abierto grandes interrogantes sobre la función y el origen de estas nuevas moléculas.

Junto a preguntas básicas sobre su origen los nuevos resultados tienen consecuencias inesperadas para comprender la estructura de los genes de los organismos superiores, para la consecución de plantas resistentes a virus e incluso para el diagnóstico y comprensión de importantes enfermedades humanas como la hepatitis.

Los viroides fueron descubiertos hace pocos años y aparecieron como los más pequeños elementos patológicos que se conocen. Se trata de patógenos de plan-

tas que en algunos casos, como en árboles frutales, pueden llegar a ser de gran importancia económica.

Lo extraordinario de ellos es que se componen únicamente de una molécula de RNA circular muy pequeña (alrededor de 250 o 300 nucleótidos) que es posible se pliegue en forma de bastón. No se sabe cómo ejercen su actividad patológica ya que no parece que codifiquen por ninguna proteína ni cómo se reproducen en la célula aunque hay buenas hipótesis para ello.

Otros importantes patógenos de plantas son virus que están compuestos de RNA. Muchos de ellos poseen varias moléculas de RNA algunas de las cuales son muy pequeñas y su presencia no es esencial para que el virus pueda infectar las plantas. Se denominan RNAs satélites. Se ha visto que estos RNAs cuando son sintetizados en las plantas se procesan hasta dar lugar a pequeños fragmen-

tos. Lo interesante es que este procesamiento lo produce la molécula de RNA ella sola, sin necesidad de ninguna actividad externa.

Desde el punto de vista de las aplicaciones futuras se sabe que la presencia de estos RNAs satélites puede tener como consecuencia el disminuir los efectos patológicos de los virus. Experimentos recientes acaban de demostrar que si se introducen genes de RNAs satélites en plantas, de manera que éstos se hallen siempre presentes, las plantas se vuelven resistentes a la infección vírica. Ello abre desde luego un campo interesantísimo para conseguir variedades de plantas resistentes a virus.

El virus delta

Si vamos más lejos en la escala evolutiva llegamos al hombre. Y en nuestra especie se han encontrado también RNAs

de importantes efectos patológicos. En infecciones prolongadas de hepatitis se ha observado la presencia de un nuevo tipo de virus, el llamado virus delta. Su presencia es un importante dato para el diagnóstico de la gravedad de la enfermedad. El virus de la hepatitis delta ha sido clonado y secuenciado. La sorpresa ha sido que se trata de un nuevo tipo de virus humano y que si alguna similitud se encuentra con otros virus ésta es con los viroides de vegetales. Por tanto nos encontramos ante elementos biológicos como ejemplos muy extendidos en la escala evolutiva.

Las correlaciones que se han encontrado entre distintos tipos de RNAs tanto en la forma cómo se procesan estas moléculas como por la comparación de su secuencia se extienden también a los intrones, fragmentos de DNA que a menudo interrumpen la secuencia de los genes y en secuencias repetidas, llama-

das también satélites, de los anfibios, los cuales también se procesan para dar lugar a pequeñas moléculas de RNA.

Nos hallamos por lo tanto ante una serie de fenómenos de carácter universal y de consecuencias no siempre patológicas. ¿Se trata de elementos ancestrales, fósiles vivientes que perduran en distintos sistemas? ¿Se trata de elementos de importancia para el funcionamiento de la célula que en algunos casos se han desviado hacia efectos patológicos?, o quizás ¿estamos en presencia de elementos sin función celular precisa que se auto-perpetúan en las células de forma neutra dando a veces efectos patológicos? En realidad hace ya tiempo que se había pensado que este tipo de moléculas poseen los requisitos para ser las más primitivas moléculas con actividad biológica. Los resultados que se están obteniendo extienden el interés por ellas al demostrar su universalidad y sus efectos biológicos a diferentes niveles.

PERE PUIGDOMÈNECH
Departamento de Genética Molecular
CID-CSIC

Satélites y viroides