



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO  
*SM14/GLA-SE: PRIMERA VACUNA FRENTE  
A SCHISTOSOMA MANSONI***

Autor: Teresa Martínez-Ortiz Ollero

Tutor: Juan José Nogal Ruiz

Convocatoria: Junio 2018

# ÍNDICE

---

Resumen.....	3
1. Introducción.....	4
1.1 <i>Schistosoma mansoni</i> .....	4
1.2 Epidemiología.....	5
1.3 Tratamientos.....	6
2. Objetivos.....	7
3. Materiales y métodos.....	8
4. Resultados.....	8
4.1 FABPs: Sm14 .....	8
4.2 Adyuvante: GLA-SE.....	9
4.3 Ensayos preclínicos.....	10
4.4 Ensayo clínico de fase 1.....	12
4.5 Ensayo clínico de fase 2.....	15
4.6 Una vacuna multiespecífica.....	16
5. Conclusión.....	17
6. Revisión bibliográfica.....	18

## RESUMEN

---

Los parásitos del género *Schistosoma* son los agentes etiológicos de la esquistosomosis. Esta enfermedad parasitaria, se sitúa en el segundo puesto como la más devastadora y prevalente en el mundo.

Sm14 es una proteína de 14kDa que une ácidos grasos (FABP), involucrada en funciones de absorción, transporte y compartimentación de estas biomoléculas, es el antígeno candidato para el desarrollo de una vacuna eficaz frente a *Schistosoma mansoni*, principal responsable de la esquistosomosis en humanos, que formulado con el adyuvante glucopiranosil lípido A (GLA-SE), está demostrando dar resultados óptimos de la respuesta inmunitaria.

La vacuna Sm14/GLA-SE desarrollada en la Fundación Oswaldo Cruz (FRIOCRUZ) de Río de Janeiro bajo la coordinación de la investigadora Miriam Tandler, ha sido sometida a ensayos preclínicos demostrando una potente inducción de la respuesta celular (Th1). Tras varias formulaciones, se ha conseguido un antígeno estable que ha superado los ensayos clínicos de fase 1 y 2, donde se ha evaluado tanto su seguridad como su eficacia y se encuentra hoy en día en ensayos de fase 3.

### **ABSTRACT**

Parasites of the genus *Schistosoma* are the etiological agents of schistosomiasis. It is considered the second most devastating and prevalent parasitic disease in the world.

Sm14 is a 14kDa, fatty acid-binding protein (FABP), that seems to be involved in functions of absorption, transport and compartmentalization of these biomolecules. It is the antigen candidate for the development of an effective vaccine against *Schistosoma mansoni*, which is the main responsible for schistosomiasis in humans. This antigen formulated with the adjuvant glucopyranosyl lipid A (GLA-SE), is proving to give optimal results of the immune response.

The Sm14 / GLA-SE vaccine developed at the Oswaldo Cruz Foundation (FRIOCRUZ) in Rio de Janeiro under the coordination of the researcher Miriam Tandler, has been subjected to preclinical tests showing a powerful induction of the cellular response (Th1). After several formulations, a stable antigen has been obtained, overcoming the phase 1 and 2 of clinical

trials, where both safety and effectiveness have been evaluated. The phase 3 is currently under development.

## 1.INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

---

La esquistosomosis, también conocida como bilharziasis, es una enfermedad causada por trematodos del género *Schistosoma* transmitidos por penetración de cercarías a través de la piel. Encontramos principalmente tres agentes etiológicos: *S. mansoni*, *S. haematobium*, *S. japonicum*.

Esta infección parasitaria, es una de las más prevalentes del mundo, situándose tras la malaria como la segunda enfermedad parasitaria más devastadora debido a su impacto tanto en la salud pública como a nivel socioeconómico.<sup>[1]</sup>

Afecta a 200 millones de personas en el mundo, 120 millones de ellas sintomáticas con 20 millones de enfermos muy graves <sup>[2]</sup> distribuidos en más de 70 países de áreas tropicales y subtropicales de África, América y Asia. El riesgo de padecer esta infección asciende a más de 700 millones de personas en el mundo.

Las cifras de mortalidad son muy variables en función de las fuentes consultadas, pero se estima que la esquistosomosis produce más de 200.000 muertes al año, siendo muy pronunciada en niños en edad escolar, los cuales son un importante reservorio para estos parásitos ya que son más propensos a adquirir esta enfermedad.

La carga de enfermedad atribuible a las tres especies causantes de esquistosomosis se estima entre 1,7 y 4,5 millones de años de vida perdidos/reducidos por discapacidad.

### 1.1 SCHISTOSOMA MANSONI

*S. mansoni* es un trematodo dioico que invade al organismo humano cuando este entra en contacto con aguas frescas infestadas con larvas.

Previamente a la infección, estos parásitos necesitan un hospedador intermediario para su desarrollo, un caracol de la especie *Biomphalaria*, molusco que puede ser interesante a la hora de tomar medidas profilácticas frente la infección.

La esquistosomosis producida por *S. mansoni* cursa de forma generalizada con daño fibrótico e inflamación granulomatosa junto con anemia, desnutrición y una disminución del rendimiento afectando principalmente al intestino. Incluso cuando la infección desaparece, la enfermedad persiste.<sup>[3]</sup>

## 1.2 EPIDEMIOLOGÍA

La esquistosomosis afecta a 77 países de áreas tropicales y subtropicales de África, Asia y América. La figura 1 muestra las áreas afectadas por la esquistosomosis humana y el nivel de transmisión.<sup>[4]</sup>

Esta infección es predominante en comunidades agrícolas y rurales que afecta a países pobres y en vías de desarrollo donde las viviendas son de mala calidad, la calidad de prácticas higiénicas es inferior y hay una falta grave de asistencia sanitaria. Además un punto crítico para mantener la transmisión de *Schistosoma* es la inadecuada eliminación de aguas residuales y contaminadas con heces que encontramos en estas áreas.<sup>[5]</sup>

No solo encontramos pacientes diagnosticados en áreas endémicas, sino también en países desarrollados donde encontramos viajeros y turistas que han viajado a áreas endémicas, o inmigrantes pertenecientes a estos países.<sup>[4]</sup>

*S. mansoni* afecta principalmente al África subsahariana, el noreste de Brasil, Venezuela, El Caribe, Egipto y la península arábiga.

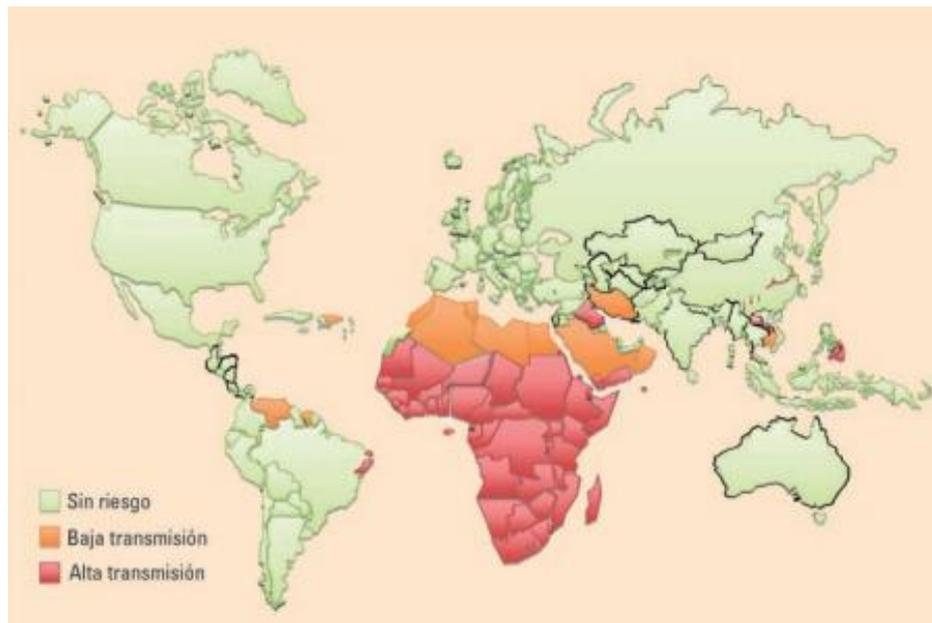


Fig.1: Distribución geográfica de la esquistosomosis.<sup>[4]</sup>

### 1.3 TRATAMIENTOS

Desde el año 1980 hasta hoy en día la quimioterapia ha sido el tratamiento de elección contra *S. mansoni*.

Praziquantel (PZQ) es el fármaco de referencia para el tratamiento. Este fármaco derivado de inoisoquinolinas es seguro, con una tasa de curación de hasta el 80%, sin embargo no es capaz de eliminar las formas juveniles de esquistosomas ni prevenir la infección y su uso extensivo puede resultar en una resistencia a los medicamentos por parte del parásito.<sup>[1]</sup>

Por otro lado, son importantes también aunque más difíciles de aplicar, las medidas profilácticas abarcando medidas higiénicas y la educación para el control y prevención de la transmisión e infección como son limitar y controlar las aguas frescas infestadas o residuales, mejoras en los suministros de agua segura, mejoras en las viviendas, controlar la reproducción del caracol *Biomphalaria* y organizar buenos programas de educación sanitaria asegurando que la población sea consciente de las diferentes medidas higiénicas que deben llevar a cabo.<sup>[3][6]</sup>

La resistencia de estos parásitos frente a los diferentes medicamentos y la dificultad de implementar las medidas profilácticas, ha creado una situación de necesidad en el desarrollo de vacunas frente a *Schistosoma* con el objetivo de prevenir, controlar y finalmente eliminar estos parásitos.

Entre la dianas farmacológicas potenciales frente *Schistosoma*, las relacionadas con la interacción con el hospedador son las más interesantes. Estas moléculas adquieren un gran interés como dianas para el desarrollo de fármacos y vacunas efectivas ya que intervienen en los mecanismos de patogenia activando o evadiendo la respuesta inmunitaria del hospedador. Encontramos tres grandes grupos de moléculas:

1. **Proteínas de superficie propias del hospedador:** con objetivo de evadir la respuesta inmune, el parásito se rodea de moléculas propias del hospedador como son las proteínas del complemento o las inmunoglobulinas.
2. **Proteínas de superficie propias del parásito:** en este grupo, encontramos proteínas que desempeñan funciones estructurales, transporte de nutrientes o actividad enzimática.
3. **Proteínas de excreción-secreción:** proteínas relacionadas con funciones propias del parásito como son la respuesta granulomatosa provocada en las últimas fases del ciclo o la penetración en la piel.<sup>[4]</sup>

## 2.OBJETIVOS

---

El objetivo de este trabajo, es profundizar en el desarrollo de la vacuna Sm14 y del adyuvante GLA-SE que ha conseguido hasta el momento que esta vacuna de unos niveles de protección óptimos para la profilaxis de una enfermedad con una morbilidad tan elevada como es la esquistosomosis.

Por otro lado, quiero dar una breve pincelada sobre el tratamiento con fármacos y las diferentes medidas profilácticas que la población debe tener en cuenta hoy en día.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

---

Este trabajo consiste en una revisión bibliográfica, centrada en primer lugar en artículos que describen *S. mansoni*, la enfermedad que produce, su clínica y su epidemiología para tener así un amplio conocimiento de la gravedad de este parásito.

Para la realización de este trabajo se han consultado diferentes fuentes bibliográficas, bases de datos como Clinical Trials donde se recogen estudios clínicos realizados, aplicaciones de búsqueda de citas y resúmenes de artículos de investigación biomédica como PubMed, MedLine, Google Scholar, Elsevier o ScienceDirect, así como revistas científicas siendo la más destacada *Vaccine*.

Las palabras claves de búsqueda fueron: *Schistosoma mansoni*, *esquistosomiasis*, *vacuna*, *Sm14*, *GLA-SE*, *ensayo clínico*.

### 4. RESULTADOS

---

Los parásitos de la género *Schistosoma*, necesitan un gran requerimiento de lípidos para realizar funciones esenciales como son la síntesis y mantenimiento de su complejo sistema de membranas, maduración sexual o la regulación en la producción de huevos por parte de la hembra adulta, sin embargo, no son capaces de sintetizar ácidos grasos y esteroides *de novo*, es por ello, que necesitan adquirir y utilizar los lípidos de las células del hospedador. Sm14 es una proteína citoplasmática de unión a ácidos grasos (FABP) de 14 kDa involucrada en el transporte de estas biomoléculas lipídicas tan necesarias para la supervivencia del parásito, es el antígeno candidato para crear la vacuna contra *S. mansoni*.

#### 4.1 FABPs: Sm14

Las proteínas que unen ácidos grasos (FABPs) pertenecen a la familia de proteínas que unen a lípidos (LBP)<sup>[7]</sup>. Encontramos una gran variedad tanto en animales vertebrados como invertebrados, y se caracterizan según su longitud (127-133AA) y su tamaño (14-16kDa).

Podemos encontrar dos grandes grupos: FABP de membrana plasmática y FABP citoplasmáticas, siendo estas últimas las únicas presentes en trematodos.<sup>[8]</sup> Los ácidos grasos son esenciales para *Schistosoma*, ya que son precursores de la síntesis de lípidos y fosfolípidos, teniendo un papel esencial para su evolución. Siendo estas FABPs, las encargadas de regular la absorción y transporte de una amplia gama de ligandos hidrófobos entre los cuales encontramos los ácidos grasos y sus esterios acil-Coa ácido palmítico, oleico o incluso ácidos biliares.

**Sm14**, es por lo tanto, una proteína citoplasmática de unión a ácidos grasos esencial para *Schistosoma* en todo su ciclo biológico, expresada en la membrana del tegumento, cuyo manejo para la elaboración de la vacuna será objeto de este trabajo.

## 4.2 ADYUVANTE: GLA-SE

Los adyuvantes, engloban toda sustancia, combinación de sustancias o procesos que aumentan de forma no específica la respuesta específica a un inmunógeno cuando se administran en combinación. Son responsables de diversas funciones:<sup>[9]</sup>

- Aumentar la inmunogenicidad
- Disminuir la toxicidad
- Permitir el uso de dosis menores de antígenos
- Obtener formulaciones estables y polivalentes
- Dirigir la respuesta del sistema inmunitario
- Inducir una respuesta inmune temprana, duradera y potente.

Tanto la selección de adyuvantes adecuados, efectivos y seguros que potencien la respuesta inmune y la inducción de anticuerpos como su forma de administración, son pasos críticos en el desarrollo de una vacuna eficaz y exitosa frente a *Schistosoma*. Para poder llevar a cabo una buena selección del coadyuvante, es necesario conocer muy bien los parámetros inmunes requeridos para una protección óptima.

Se han realizado una gran cantidad de experimentos o enfoques con diferentes adyuvantes donde encontramos por ejemplo: los adyuvantes de Freund, los cuales solo pueden usarse en modelos animales, por producir efectos indeseables en humanos como lesiones inflamatorias

en la zona de inyección que pueden derivar en abscesos o granulomas crónicos. Por otro lado, han sido explorados adyuvantes menos convencionales como *Salmonella*, toxina tetánica, *Mycobacterium bovis* recombinante (BCG), nanopartículas o fagos filamentosos entre otros muchos<sup>[10]</sup>. Sin embargo, el único adyuvante que ha demostrado ser eficaz y seguro a la hora de dar una buena respuesta inmune ha sido GLA-SE el cual ha sido el fiel compañero del antígeno Sm14 hasta su situación actual.

**GLA-SE** es un derivado lipídico sintético obtenido a partir de varias formulaciones del adyuvante monofosforil lipido A (MPL), que actúa como agonista de los receptores Toll-4 (TLR-4). Consiste en una formulación de aceite en agua, obtenida al mezclar GLA acuoso con aceite de escualeno permitiendo una cesión sostenida tanto del antígeno como del adyuvante a lo largo del tiempo, lo que resulta en una respuesta inmunitaria que perdura en el tiempo. Se consiguen así dos efectos beneficiosos con este adyuvante, por un lado el efecto inmunomodulador del GLA y por otro lado, la capacidad de una liberación sostenida gracias al SE.

Hoy en día es un adyuvante muy usado en diferentes vacunas autorizadas contra la gripe estacional.

Se ha demostrado, gracias a diversos ensayos, que GLA-SE se une a la molécula MD2 del complejo TLR-4 y potencia de forma significativa la respuesta inmune celular TH1, la cual se caracteriza por la liberación de diferentes citocinas como IL-12, IL-1 o IFN- $\gamma$ , siendo esta última la clave del éxito de este adyuvante, ya que promueve una gran liberación de linfocitos, dando lugar a una respuesta inmune potenciada frente a infecciones.<sup>[11][12]</sup>

### **4.3 ENSAYOS PRE-CLÍNICOS**

El inicio del desarrollo de la vacuna contra la esquistosomosis, comenzó con la observación de modelos animales infectados, donde se contempló, que la infección inicial parecía ser una respuesta inmune parcial contra la reinfección. Los niveles de resistencia obtenidos en laboratorio de estos animales oscilaron desde un 60% en ratones hasta un 90% en conejos.<sup>[13]</sup>

Estos resultados condujeron a los investigadores a llevar a cabo estudios con extractos salinos de parásitos adultos de *S. mansoni* para establecer así si el desarrollo de la vacuna era factible.

Se crearon entonces, dos líneas de investigación en las cuales se vacunaban, con extractos de antígeno múltiple de *S. mansoni* obtenido por incubación de gusanos adultos vivos en solución salina, a modelos animales (ratones y conejos).<sup>[14]</sup>

En ambas líneas se observaron elevados niveles de resistencia.

Gracias a la incorporación de la tecnología de clonación de genes a la investigación, diferentes antígenos liberados por *S. mansoni* fueron cultivados, clonados y secuenciados. Uno de estos antígenos principales resultó ser Sm14 que mostraba una gran afinidad por los ácidos grasos. Se observó, que los anticuerpos de la proteína purificada se unían a los tubérculos, estructuras que encontramos en la superficie dorsal de gusanos adultos de *S. mansoni*. Todo esto, fue el resultado de un gran interés por la proteína Sm14 al ver que podía ser la base de la vacuna frente a este parásito.

Una serie de modificaciones sobre el prototipo experimental Sm14, se llevaron a cabo para dar lugar a un producto clínico. En primer lugar, se demostró que la forma recombinante de Sm14 (rSm14) conservaba la inmunogenicidad e incluso que se obtenían niveles de resistencia mayores tanto en ratones como en conejos en comparación con Sm14.

Mediante estudios genómicos, se observó que el polimorfismo M20, en el que Sm14 mantiene una metionina en la posición 20, era capaz de unirse a los ácidos grasos al igual que otros polimorfismos, sin embargo, este presentaba una estabilidad superior al resto por lo que fue escogido para continuar con el desarrollo de la vacuna.<sup>[13]</sup>

El antígeno recombinante se clonó y se expresó en *Mycobacterium bovis* BCG obteniendo una cepa con la que se inmunizó a modelos roedores, los cuales presentaron elevados niveles de IFN- $\gamma$ , lo que indica una potente respuesta Th1 contra el antígeno<sup>[15]</sup>

La última formulación llevada a cabo, tuvo como diana la posición Cys62 la cual tras varios estudios se observó que dicha cadena, quedaba expuesta al solvente lo que facilitaba la formación de puentes disulfuros intermoleculares, produciendo la dimerización de la proteína, dando una molécula menos estable.

Se obtuvo así, una molécula que en opinión de los investigadores era ideal para la optimización, producción a gran escala y formulación de la vacuna anti-*Schistosoma*.<sup>[16]</sup>

Esta molécula final, se expresó en la levadura *Pichia pastoris*, empleada como vector de expresión y clonación para la producción de proteínas y demostró diversas ventajas con respecto a otros sistemas, como *Escherichia coli*, ventajas como la facilidad de su uso y la ausencia de endotoxinas. El antígeno Sm14 producido por *P. pastoris* junto con el adyuvante GLA-SE indujo una buena respuesta inmune sin efectos adversos exceptuando las posibles reacciones en el sitio de administración.<sup>[17]</sup>

Una vez finalizadas las fases de desarrollo y preclínicas, gracias a todos los resultados obtenidos los investigadores no dudaron en llevar a cabo las fases previas a la comercialización en las que se evaluaría la eficacia y seguridad de la vacuna, si esta era aceptada por los organismos reguladores.

Sin embargo, antes de llevar a cabo los ensayos de fase 1, otro grupo de investigación, se centró en el estudio de desarrollo de resistencias a la infección, ya que hay pacientes en zonas endémicas que adquieren resistencia natural a la infección, y en la naturaleza de la respuesta inmune.

Se analizaron sueros de pacientes infectados con *S. mansoni* demostrando que estos pacientes tenían cantidades significativas de IgG y bajos niveles de IgE. Por otro lado, se midió la respuesta inmune celular (Th1) en pacientes crónicos tratados y en pacientes no infectados que vivían en áreas endémicas. Estos análisis mostraron en todos los pacientes una significativa proliferación de linfocitos siendo aún mayor en los individuos no infectados, con lo que se dedujo que adquirirían una resistencia natural a la infección. Esta proliferación en masa de linfocitos, se asoció a la liberación de IFN- $\gamma$  mediada en la respuesta Th1<sup>[13]</sup>. Es importante tener en cuenta estos datos a la hora de evaluar la inmunogenicidad inducida por la vacuna.

#### **4.4 ENSAYOS CLÍNICOS DE FASE 1**

Una vez que la vacuna fue aprobada por el Comité Ético Local y la Agencia Reguladora Brasileña (ANVISA), comenzaron los ensayos en humanos voluntarios.

Para llevar a cabo los ensayos de fase 1, se ofrecieron voluntarios 34 varones de un área no endémica de Brasil los cuales sufrieron una pre-selección teniendo en cuenta ciertos criterios:

- Criterios de inclusión:
  - ✓ Estar disponible para un seguimiento continuado en el tiempo
  - ✓ No haber sufrido o estar sufriendo en ese momento una enfermedad grave o crónica
  - ✓ No sufrir una infección aguda
  - ✓ Un buen funcionamiento de diferentes órganos y sistemas incluyendo el cardio-respiratorio, el cerebro y la función neurológica, los órganos abdominales, la piel y el sistema linfático.
  
- Criterios de exclusión:
  - ✗ Sufrir una infección en ese momento
  - ✗ Sufrir VIH
  - ✗ Padecer una enfermedad crónica
  - ✗ Resultados anormales a nivel sanguíneo (en la química de la sangre o hematología anormal)
  - ✗ Abuso de alcohol y/o drogas
  - ✗ Historial de medicación no compatible con los ensayos
  - ✗ Vacunación en el último mes

Tras llevar a cabo este examen crítico, fueron seleccionados para la vacunación 20 varones con una edad comprendida entre los 18-49 años.

Estos 20 pacientes, fueron vacunados vía intramuscular tres veces, un vez cada 30 días (0,30,60 días), y se les hizo un seguimiento de 120 días para observar tanto la inmunogenicidad específica (liberación de Ac séricos y citocinas) como los posibles efectos adversos.

El seguimiento de los pacientes, se llevo a cabo en diferentes momentos. En primer lugar, estos pacientes eran observados durante una hora tras la vacunación y recibían una llamada telefónica a las 20-28 horas para saber si sufrían algún efecto adverso o molestia. A los 7 días tras la vacuna, se les realizaba una inspección clínica y un test de laboratorio.

Por último se realizaron dos exámenes físicos y otros dos test de laboratorio, uno a los 90 días tras la primera toma de contacto con la vacuna y otra a los 120 días.

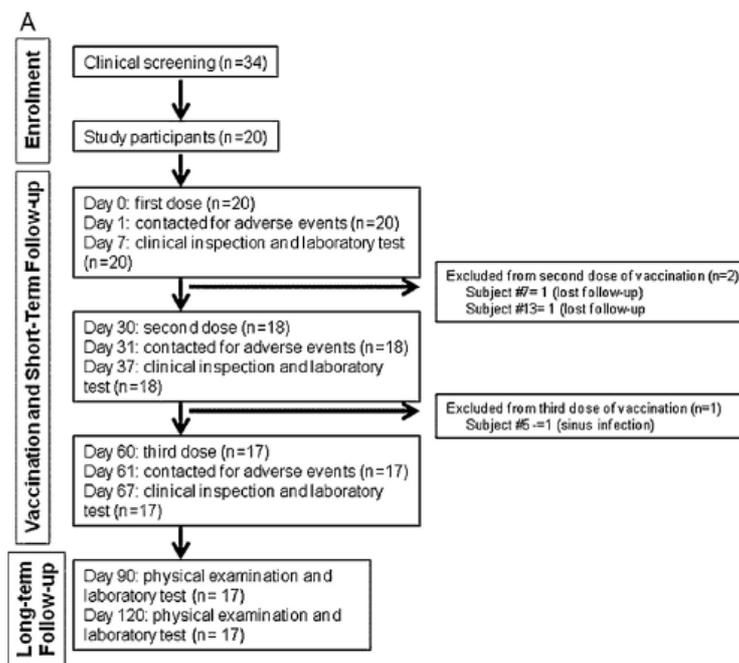


Fig2: Esquema desarrollo de ensayo clínico fase 1. [18]

Gracias a estos ensayos se sacaron conclusiones con respecto a los efectos adversos que podía producir la vacuna y se confirmaron si los resultados en la inmunología eran tan satisfactorios como en los modelos animales.

- Efectos adversos: con respecto a los efectos no deseados, fue usado el manual creado por el Centro Internacional de Investigación de Enfermedades Tropicales, el cual clasifica las reacciones adversas en 4 niveles, desde reacciones fácilmente tolerables que no influyen en la vida cotidiana, hasta reacciones que amenazan la vida humana. Ningún efecto observado fue grave siendo el más prevalente, el dolor local.
- Inmunogenicidad: a nivel de respuesta humoral y celular, la vacuna resultó inmunogénica, observando un aumento progresivo de anticuerpos IgG en los sueros de los pacientes a medida que se administraba la vacuna siendo muy significativos los niveles a partir de la segunda administración. Se observó también un aumento en la inducción y liberación de citocinas IL-2, IL5, IFN, TNF. Es importante recalcar, que los días 30, 60 y 90, tras la administración de la vacuna se observó un aumento en la estimulación de células que liberaban el IFN- $\gamma$  era mayor, lo que indica que las vacunas adicionales, aumentaban las respuestas celulares. No se observó aumento de

IgE, siendo ausentes reacciones de hipersensibilidad, lo cual es un punto a favor para la vacuna. [18]

Haciendo una vista general de esta fase 1, no se observaron efectos adversos graves después de la administración de 3 dosis. Se observaron respuestas mediadas tanto por el sistema celular, donde es importante el IFN- $\gamma$  por su papel en la inducción de linfocitos, como humoral sin observarse IgE. Estos resultados apoyan de manera consistente que Sm14/GLA-SE es efectiva frente a *S. mansoni*. Sin embargo estos resultados no son suficientes para la comercialización de la vacuna, por lo que el desarrollo continuó con la fase 2.

## 4.5 ENSAYOS CLÍNICOS DE FASE 2

La fase 2, está diseñada para evaluar tanto la seguridad de la vacuna, como la inmunogenicidad en pacientes sanos con antecedentes de infección por esquistosomiasis urinaria e intestinal de un área altamente endémica. Esta fase cobra gran importancia, ya que es considerada el paso preliminar para evaluar la seguridad de la vacuna antes de llevar a cabo estudios en la población objeto, niños de poblaciones endémicas.

Como en los ensayos de fase 1, este se realizó con varones sanos de 18-49 años con los antecedentes nombrados anteriormente. Dentro de los criterios de preselección encontramos:

- Criterios de inclusión:
  - ✓ Vivir en la región de Saint-Louis (Senegal), zona seleccionada para el estudio
  - ✓ No sufrir infecciones graves
  - ✓ Antecedentes de infección con *S. mansoni*
- Criterios de exclusión:
  - ✗ Administración crónica con fármacos inmunosupresores u otros fármacos inmunomoduladores.
  - ✗ Hipersensibilidad conocida a cualquier componente de la vacuna
  - ✗ Padecer una enfermedad crónica no infecciosa

Se llevaron a cabo dos estudios paralelos con la misma dosis de Sm14 y distinta dosis de GLA-SE (2,5 y 5  $\mu$ g), ambos grupos de pacientes recibieron una dosis de praziquantel tres semanas antes de la vacunación.

Se administraron tres dosis intramusculares los días 0, 28 y 56. Al igual que en el ensayo anterior, los pacientes fueron objeto de exámenes médicos antes y a las pocas horas tras vacunación además de evaluaciones de seguridad a las 24-48 horas y diversos análisis como funcionamiento renal y hepático o recuentos hematológicos.

Posteriormente se evaluaron los efectos adversos en diferentes períodos de tiempo donde se examinaban síntomas locales en la zona de inyección, pesadez o dolor al realizar movimiento en la misma zona, exámenes físicos completos, síntomas generales donde se incluye dolor de cabeza, fiebre, pérdida del apetito y test de laboratorio donde se examinaba el funcionamiento hepático y recuento hematológico.

En cuanto a la evaluación de la inmunogenicidad, se evaluaron diferentes aspectos donde encontramos la producción de citoquinas intracelulares, los anticuerpos producidos de forma específica frente a rSm14 y la correlación entre el desarrollo y la magnitud de la respuesta humoral con respecto a la proteína Sm14 usando diferentes técnicas de diagnóstico como el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) o análisis de luminex de células mononucleares presentes en sangre periférica (PBMC).<sup>[19]</sup>

#### **4.6 UNA VACUNA MULTIESPECÍFICA**

*Fasciola hepática* es un trematodo que causa una zoonosis parasitaria conocida como fasciolosis que afecta principalmente al ganado bovino, ovino, porcino y equino entre otros animales herbívoros y de manera accidental al hombre.<sup>[20]</sup> Es un parásito que causa enormes pérdidas económicas, se estiman pérdidas anuales que superan los mil millones de euros en la producción ganadera y en la industria alimentaria,<sup>[2]</sup> principalmente porque afecta a la producción de leche y carne.

Esta zoonosis puede controlarse mediante medicamentos, sin embargo existe una gran preocupación por los residuos químicos restantes que pueden quedar en la carne consumida posteriormente por los humanos.

Ya en las fases tempranas del descubrimiento de Sm14, se descubrió una protección cruzada entre *S. mansoni* y *F.hepatica*.

*F. hepática* presenta un antígeno denominado Fh15, y gracias a diferentes técnicas de clonación, secuenciación y análisis moleculares, se descubrió que este antígeno correspondía al antígeno Sm14 en *S. mansoni* ya que ambos adquirirían la misma estructura tridimensional básica y que tenían epítomos compartidos.

Esto desembocó en diversos ensayos que demostraron que ratones vacunados con la vacuna recombinante Sm14, presentaban una protección completa frente a la infección con *F. hepática*.

Posteriormente se realizaron estudios en huéspedes naturales de este trematodo y se observó que ovejas vacunadas con Sm14 presentaban una potente respuesta inmune frente a *F. hepática* y que estaban completamente libres del daño hepático relacionado con la infección de este trematodo.

Esto ha llevado a diferentes grupos de investigación a realizar estudios para evaluar el potencial de Sm14 en diversas enfermedades causadas por helmintos además de *S. mansoni* y *F. hepática* como *S. japonicum*, *Echinococcus granulosus* o *Clonorchis sinensis*. Los informes publicados, aportan una gran cantidad de datos que demuestran la eficacia potencial generalizada de la vacuna Sm14 frente a diferentes helmintos.<sup>[13]</sup>

## 5. CONCLUSIÓN

---

La esquistosomiasis es una enfermedad parasitaria crónica que afecta a 200 millones de personas, y pone en riesgo a más de 700 millones, es un problema importante para la salud pública debido a la elevada morbilidad que causa en diversas áreas del mundo como Asia, África y América.

Hoy en día, el tratamiento es dependiente de la quimioterapia, siendo el fármaco de referencia el praziquantel, sin embargo, la quimioterapia no es capaz de eliminar los esquistosomas en sus formas juveniles ni prevenir la infección además de que estos parásitos han desarrollado mecanismos de resistencia. Esto, junto con el hecho de que las medidas profilácticas son difíciles de implantar, surgió la urgente necesidad de desarrollar una vacuna cuyo objetivo principal fuese la prevención y control de la infección con *Schistosoma*.

Gracias a diferentes estudios, se descubrió la proteína Sm14 en el tegumento del parásito, que sufrió diferentes formulaciones y combinaciones hasta obtener la vacuna recombinante Sm14/GLA-SE la cual mediante diversos ensayos ha demostrado inducir una buena respuesta celular (Th1) en el organismo humano, que supone una inducción de IFN- $\gamma$ , produciendo una proliferación de linfocitos consiguiendo una respuesta inmune potenciada frente a infecciones.

Se han intentado desarrollar vacunas con otro tipo de adyuvantes, pero ninguno de ellos ha demostrado las dos ventajas principales de GLA-SE: el efecto inmunomodulador de GLA, potenciando la respuesta inmunitaria, y la capacidad de SE de proporcionar una liberación sostenida en el tiempo, dando así, una respuesta inmune más duradera y persistente.

El desarrollo de la vacuna, ha resultado ser costoso y desafiante, sin embargo, los resultados en las fases preclínicas y clínicas (fase 1 y 2) realizadas hasta el momento han demostrado unos buenos resultados inmunogénicos y no ser un peligro para la salud. Si los ensayos de fase 3 resultan ser positivos, el beneficio para la población y la salud pública será inmenso, y se evitarán los diversos problemas que está dando la quimioterapia hoy en día.

Sm14/GLA-SE es también eficaz frente a la fasciolosis gracias a su potencial multivalente y seguramente en un futuro pueda ser usada para la prevención de otras enfermedades infecciosas causadas por parásitos helmintos.

En resumen, esta vacuna proporcionará una nueva herramienta valiosa y necesaria para ayudar en el control de la transmisión de enfermedades de gran importancia económica y para la salud pública, disminuyendo el número de muertes y controlando la transmisión de estos parásitos mejorando así la calidad de vida en muchas áreas del mundo.

## 6. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

---

- [1] Sarvel AK, Oliveria AA, Silva AR, Lima AC, Katz N. Evaluation of a 25-year-program for the control of schistosomiasis mansoni in a endemic area in Brazil. *PloS Negl Trop Dis*. 2011;5(3):e990
- [2] Miriam Tendler, Andrew J.G. Simpson. The biotechnology-value chain: Development of Sm14 as a schistosomiasis vaccine. *Acta Tropica* 108 (2008) 263-266

- [3] Charles H.King, M.D. Toward the Elimination of Schistosomiasis. *N ENGL J MED* 360;2 (2009)
- [4] A. Muro L. Pérez del Villar, V. Velasco y J.L. Pérez-Arellano. Infecciones por trematodos. *Medicine*. 2010;10(55):3717-28
- [5] G. WEBBE. Schistosomiasis: some advances. *British Medical Journal* volumen 283. 1981
- [6] Preventive chemotherapy in human helminthiasis: coordinated use of anthelmintic drugs in control interventions: a manual for health professionals and programme managers. Geneva: World Health Organization, 2006
- [7] Agata Chmurzynska. The multigene family of fatty acid-binding proteins (FABPs): Function, structure and polymorphism. *J Appl Genet* 47(1), 2006, pp. 39–48
- [8] C.F.A. Brito, G.C. Oliveira, S.C. Oliveira, M. Street, S. Riengrojpitak, R.A. Wilson, A.J.G. Simpson and R. Correa-Oliveira. Sm14 gene expression in different stages of the *Schistosoma mansoni* life cycle and immunolocalization of the Sm14 protein within the adult worm. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* (2002) 35: 377-381
- [9] S.M. Sivakumar, Mohammed M. Safhi, M. Kannadasan, N. Sukumaran. Vaccine adjuvants – Current status and prospects on controlled release adjuvancity. *Saudi Pharmaceutical Journal* (2011) 19, 197–206
- [10] Donald P.McManus y Alex Loukas. Current Status of Vaccines for Schistosomiasis. *Clinical Microbiology Reviews* 2008, 21(1):225
- [11] Coler RN, Baldwin SL, Shaverdian N, Bertholet S, Reed SJ, Raman VS, et al. A Synthetic Adjuvant to Enhance and Expand Immune Responses to Influenza Vaccines. *PLoS ONE* 5(10): e13677 (2010)
- [12] Behzad H, Huckriede AL, Haynes L, Gentleman B, Coyle K, Wilschut JC, et al. GLA-SE, a synthetic toll-like receptor 4 agonist, enhances T-cell responses to influenza vaccine in older adults. *J Infect Dis* 2012;205(3):466–73.
- [13] Miram Tendler, Marilia Alemida y Andrew Simpson. Development of the Brazilian anti Schistosomiasis vaccine basedon the recombinant fatty acid binding protein Sm14 plus GLA-SE adjuvant. *Front Immunol*. 6.218 2015
- [14] Tendler M, Pinto RM, Lima Ade O, Savino W, Katz N. Vaccination in murine schistosomiasis with adult worm-derived antigens: variables influencing protection outbred mice. *Int J Parasitol* (1991)21(3):299–306. doi:10.1016/ 0020-7519(91)90031-2
- [15] Varaldo PB, Leite LC, Dias WO, Miyaji EN, Torres FI, Gebara VC, et al. Recombinant Mycobacterium bovis BCG expressing the Sm14 antigen of *Schistosoma mansoni* protects

mice from cercarial challenge. *Infect Immun* (2004) 72(6):3336–43.  
doi:10.1128/IAI.72.6.3336-3343.2004

[16] Celso R.R. Ramos, Alberto Spisni, Sérgio Oyama Jr., Mauricio L.Sforça, Henrique R. Ramos, Mônica M. Vilar, Adriana C. Alves, Rita C.R. Figueredo, Míriam Tendler, Nilson I.T. Zanchin, Thelma A. Pertinhez, Paulo Lee Ho. Stability improvement of the fatty acid binding protein Sm14 from *S. mansoni* by Cys replacement: Structural and functional characterization of a vaccine candidate. *Biochimica et Biophysica Acta* 1794 (2009) 655–662

[17] Leonardo Damasceno, Gerd Ritter, Carl A. Batt. Process development for production and purification of the *Schistosoma mansoni* Sm14 antigen. *Protein Expression and Purification* 134 (2017) 72e8.

[18] Marilia Santini-Oliveira, Rhea N.Coler, Juçara Parra, Valdilea Veloso, Lakshmi Jayashankar, Patricia M.Pinto, Marcia A.Ciol, Robert Bergquist, Steven G.Reed, Miriam Tendler (2016): Schistosomiasis vaccine candidate Sm14/GLA-SE: Phase 1 safety and immunogenicity clinical trial in healthy, male adults. *Vaccine* 34 (2006) 586-594

[19] Oswaldo Cruz Foundation (2016) Safety and Immunogenicity Evaluation of the Vaccine Candidate Sm14 in Combination With the Adjuvant Glucopyranosyl Lipid A (GLA-SE) in Adults Living in Endemic Regions for *S. Mansoni* and *S. Haematobium*.

[20] Teodoro Carrada-Bravo. *Fasciola hepática*: ciclo biológico y potencial biótico. *Rev Mex Patol Clin*, Vol. 54, Núm. 1, pp 21-27 • Enero - Marzo, 2007