

VACUNAS BASADAS EN PARTÍCULAS SIMILARES A VIRUS (VLPs)

Autora: MARÍA GARCÍA GONZÁLEZ

Facultad de Farmacia – Universidad Complutense de Madrid

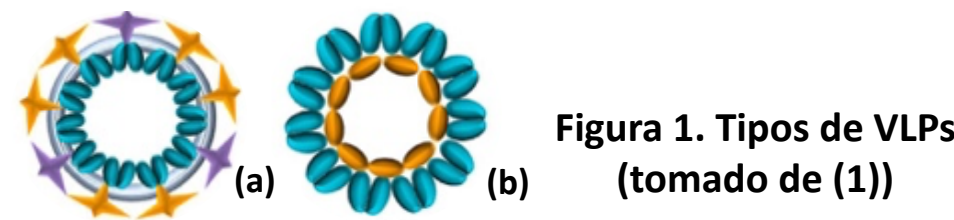


INTRODUCCIÓN

Las **partículas similares a virus** (VLPs = *virus like particles*) son complejos multiméricos de **proteínas víricas estructurales**, producidas por **tecnología de ADN recombinante**, que se ensamblan espontáneamente en los sistemas heterólogos durante la expresión de la proteína debido a que pertenecen a la **cápsida de los virus**.

Son **proteínas recombinantes**, es decir, productos terapéuticos generados a partir de organismos vivos. Esta tecnología ha supuesto un gran avance para el tratamiento de muchas enfermedades, utilizándose no solo para el desarrollo de vacunas, sino también para la producción de enzimas y hormonas.

- Carecen de material genómico
- Estimulan la respuesta celular y humoral
- Diferentes tipos, mimetizando al virus nativo, con envoltura (a) o sin envoltura (b)
- Aplicaciones: vacunas, cáncer y sistemas de administración de fármacos



¿Qué son las VLPs?

Propiedades de las VLPs

OBJETIVOS

- Conocer qué son las VLPs, sus tipos y aplicaciones.
- Comparar las vacunas tradicionales frente a las VLPs para conocer sus ventajas.
- Desarrollar las etapas de producción de las VLPs.
- Revisar las diferentes VLPs comercializadas.
- Analizar los distintos adyuvantes utilizados en la formulación de estas vacunas.
- Conocer las perspectivas de futuro de las VLPs.

Las **vacunas tradicionales (atenuadas e inactivadas)** se han desarrollado desde el año 1980, pero gracias a los avances en tecnología recombinante han surgido nuevas alternativas que presentan **ventajas significativas**, desde las **vacunas de subunidades** hasta las **vacunas VLP**.

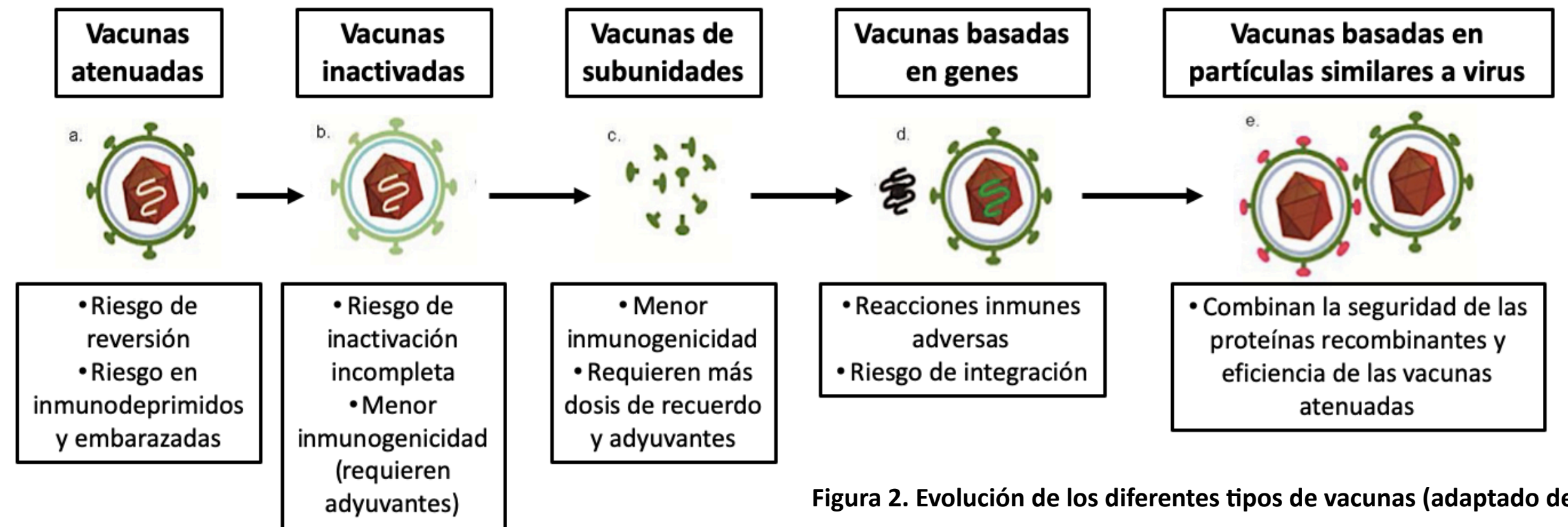


Figura 2. Evolución de los diferentes tipos de vacunas (adaptado de (2))

METODOLOGÍA

Para la recopilación de documentos se ha realizado una búsqueda bibliográfica en bases de datos: **Pubmed** y **Google Académico**, seleccionando aquellas publicaciones con texto completo disponible, publicadas en los últimos 15 años. También se han consultado páginas de la **EMA** (8) y la **FDA** (9).



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Producción de las vacunas basadas en VLPs



1. CLONACIÓN Y EXPRESIÓN DE GENES VIRALES

- Los **sistemas de expresión** más utilizados son: bacterias (*Escherichia coli*), levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*, *Hansenula polymorpha*), células de mamífero (células de ovario de hámster chino), sistemas de baculovirus.
- Para la **selección** de uno u otro se **tienen en cuenta**: velocidad de producción, requerimientos del cultivo, rendimiento, coste y modificaciones postraduccionales.

2. LISIS CELULAR

- Con la lisis se liberan **proteínas y ADN de los sistemas de expresión**, por lo que los tampones tienen agentes reductores, quelantes e inhibidores de la proteasa. También se añaden **nucleasas** (10 – 50 U/ml).

3. CLARIFICACIÓN DEL EXTRACTO

- Se realiza por: centrifugación a baja velocidad, filtración en profundidad o **filtración de flujo tangencial (FFT)**.
- Es preferible la FFT por su robustez y escalabilidad.

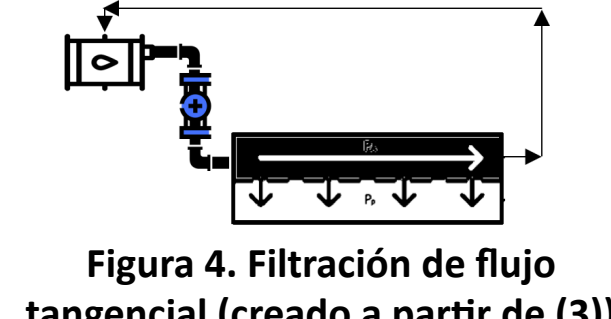
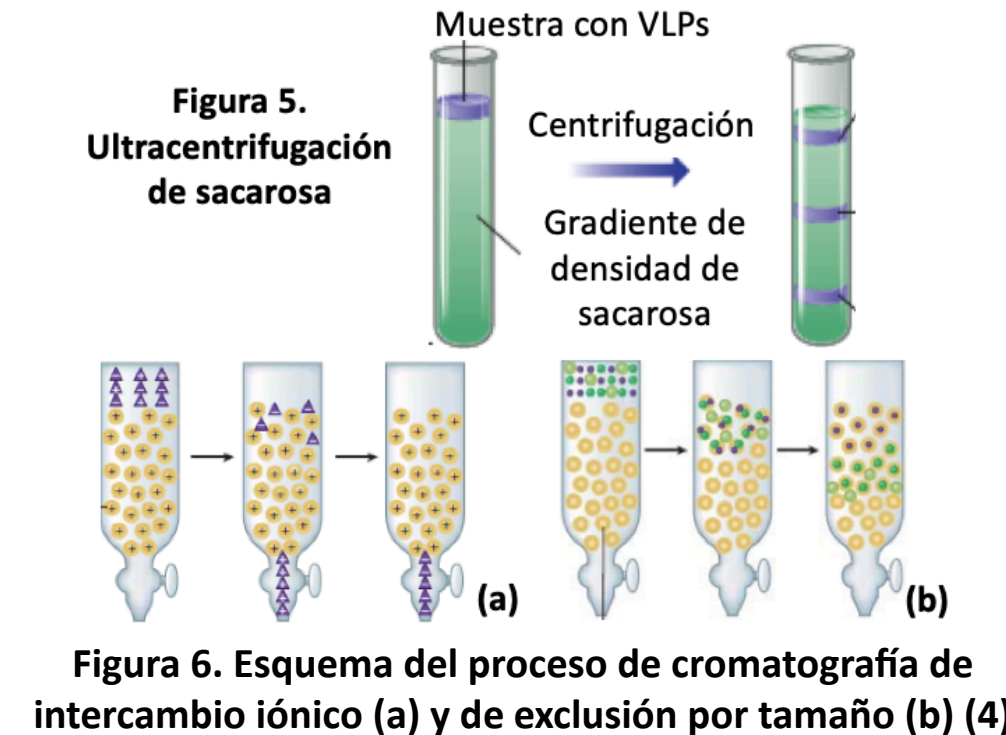


Figura 4. Filtración de flujo tangencial (creado a partir de (3))

4. CONCENTRACIÓN DE LA MUESTRA CON VLPs

- Escala de laboratorio**: ultracentrifugación de sacarosa. Las VLPs migrarán hasta alcanzar una zona de densidad similar. Forman una **banda visible entre 30-40%** de sacarosa o en la interfaz (gradiente de 20% y 60%).
- Escala industrial**: con diferentes procesos cromatográficos, dependiendo de las propiedades de las VLPs (**exclusión por tamaño, intercambio iónico o afinidad**). Ultracentrifugación → restricciones: falta de escalabilidad y aumento del coste.



5. CARACTERIZACIÓN DE LAS VLPs

Comprobar según sus propiedades:

- Bioquímicas**: composición de aminoácidos, peso molecular y pureza (Figura 7 a y b).
- Biofísicas**: autoensamblaje y morfología (Figura 7 c).
- Biológicas**: por unión a anticuerpos. (Figura 7 d).

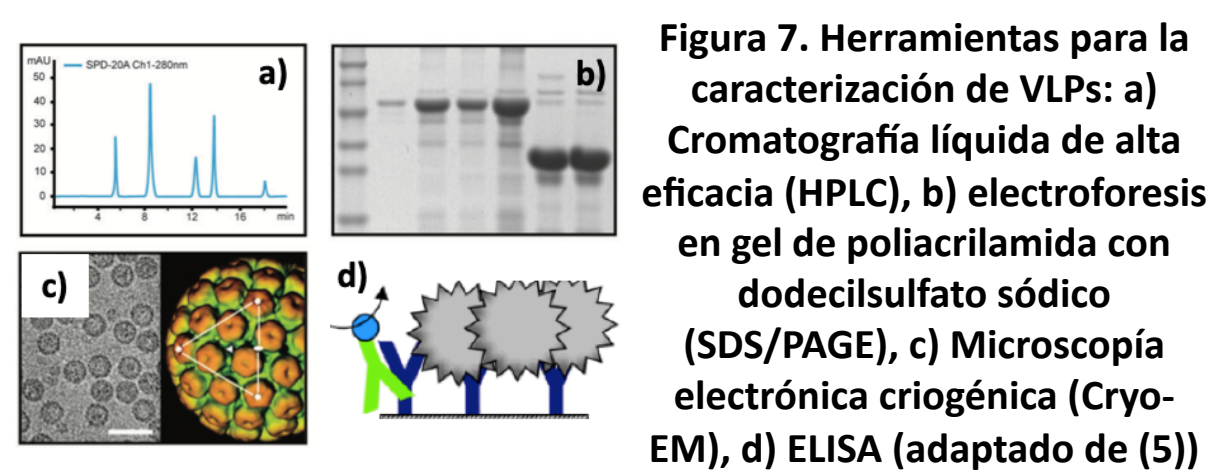


Figura 7. Herramientas para la caracterización de VLPs: a) Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), b) electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (SDS/PAGE), c) Microscopía electrónica criogénica (Cryo-EM), d) ELISA (adaptado de (5))

6. FORMULACIÓN DE LAS VACUNAS VLP

- Incluye los componentes que forman la **solución administrable final (adyuvantes y excipientes)**, para que el producto sea **eficaz, seguro y estable**.
- El producto final **se filtra de forma estéril** utilizando un filtro de 0,22 µm.

Adyuvantes más utilizados en las vacunas VLP

- Permiten **incrementar la respuesta inmune** → mayor beneficio en **población con capacidad reducida de inmunorrespuesta**: lactantes, ancianos y personas inmunodeprimidas.
- Hacen que se **reduzcan las cantidades de antígeno** en una vacuna → **mayor cobertura** de personas vacunadas, **mejor aceptación y el coste-beneficio**.

COMPUESTOS DE ALUMINIO	Se emplean: hidróxido (Al(OH) ₃), fosfato (Al ₃ (OHPO ₄) ₃) y sulfato hidroxifosfato (Al(OHPO ₄) ₂ SO ₄) de aluminio. Mecanismo de acción: depende del efecto de depósito y de un efecto citolítico en el sitio de inoculación. Inducen: respuesta inmune Th2.
MPL	Se emplea: forma parte de adyuvantes AS01, AS02 y AS04. Endotoxina extraída de <i>Salmonella Minnesota</i> R595. Mecanismo de acción: agonista del receptor TLR4. Inducen: respuesta inmune Th1 y producción de anticuerpos.
AS0X	AS01: MPL + QS21 (con liposomas) y AS02: MPL + QS21 (en emulsión). QS21: saponina extraída de la corteza del árbol <i>Quillaja saponaria</i> Molina. Inducen: generación de anticuerpos y activación de células T CD8 ⁺ . AS04: MPL + sal de aluminio (fosfato o hidróxido)
CpG	Oligodesoxinucleótidos sintéticos de 18–25 bases compuestos de motivos CpG no metilados reconocidos por los receptores TLR9. Inducen: activación de células B y respuesta inmune de Th1 sobre Th2.

Tabla 1. Principales adyuvantes utilizados en la formulación de las vacunas VLP.

CONCLUSIONES

- Las VLPs presentan múltiples ventajas frente a las vacunas tradicionales: estimulan la inmunidad innata y adaptativa, no producen la enfermedad, y por ello, son más seguras a la hora de su producción.
- Hay diferentes tipos de VLPs, lo que permite mimetizar cada uno de los virus nativos a los que se quiere hacer frente.
- Conociendo las características de cada uno de los sistemas de expresión, se puede seleccionar aquel que mejor se adapte a las cualidades que queremos darle a la vacuna en cuestión.
- Las técnicas de purificación y caracterización cada vez son más eficaces y numerosas debido a la gran importancia que suponen estas etapas en la producción de las vacunas VLP.
- La adición de adyuvantes es necesaria para mejorar la inmunogenicidad de este tipo de vacunas.
- Los virus emergentes son un campo de investigación interesante, ya que aún no hay vacunas VLP comercializadas que los puedan combatir.
- Desde finales del siglo XX se han comercializado más de 20 vacunas VLP, y muchas otras se encuentran en desarrollo, por lo que se espera que en las próximas décadas el número de vacunas de este tipo aumente rápidamente.

Vacunas VLP comercializadas

Vacuna	Sistema de expresión	Antígeno	Adyuvante	Laboratorio	Aprobación
Frente al virus hepatitis B (VHB)					
Ambirix [®]	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	HBsAg S	Al ₃ (OHPO ₄) ₃	GSK	2002, U.E.
Engerix-B [®]			Al(OH) ₃	GSK	1989, EE.UU. 2000, U.E.
Fendrix [®]			AS04	GSK	2005, U.E.
HBvaxPro [®]			Al(OHPO ₄) ₂ SO ₄	MSD	2001, U.E.
Hepisav-B [®]			CpG 1018	Dynavax	2017, EE.UU.
Hexacima [®]			Al(OH) ₃	Sanofi Pasteur	2013, U.E.
Hexyon [®]			Al(OH) ₃	Sanofi Pasteur	2013, U.E.
Infanrix hexa [®]			Al ₃ (OHPO ₄) ₃	GSK	2000, U.E.
Pediarix [®]			Sales de aluminio	GSK	2002, EE.UU.
Recombivax HB [®]	Al(OH) ₃	MSD	1986, EE.UU.		
Sci-B-Vac [®]	CHO	HBsAg S, pre-S1 y pre-S2	Al(OH) ₃	VBI	2009, Israel
Vaxelis [®]	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	HBsAg S	Al(OHPO ₄) ₂ SO ₄	MCM Vaccine B.V.	20XX, EE.UU. 2016, U.E.
Twinrix [®] pediátrica			Al ₃ (OHPO ₄) ₃	GSK	1997, U.E.
Twinrix [®] adultos			Al ₃ (OHPO ₄) ₃	GSK	1996, U.E. 2001, EE.UU.
Frente al virus hepatitis E (VHE)					
Hecolin [®]	<i>Escherichia coli</i>	HEV 239	Al(OH) ₃	Xiamen Innovax Biotech Co. Ltd.	2012, China
Frente al virus del papiloma humano (VPH)					
Cervarix [®]	Baculovirus - <i>Trichoplusia ni</i>	L1 VPH tipo 16 y 18	AS04	GSK	2007, U.E. 2009, EE.UU.
Gardasil [®]	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	L1 VPH tipo 6, 11, 16 y 18	Al(OHPO ₄) ₂ SO ₄	MSD	2006, U.E. y EE.UU.
Gardasil9 [®]	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	L1 VPH tipo 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 y 58	Al(OHPO ₄) ₂ SO ₄	MSD	2014, EE.UU. 2015, U.E.
Frente al virus de la varicela-zóster (VVZ)					
Shingrix [®]	CHO	gE	AS01	GSK	2017, EE.UU. 2018, U.E.
Frente al virus de la gripe					
Flublok [®]	Baculovirus - <i>Spodoptera frugiperda</i>	HA	-	Protein Sciences Corporation	2013, EE.UU.

Tabla 2. Vacunas basadas en VLPs comercializadas.

Abreviaturas. HBsAg: antígeno de superficie del VHB; CHO: células de ovario de hámster chino; Al₃(OHPO₄)₃: fosfato de aluminio; Al(OH)₃: hidróxido de aluminio; Al(OHPO₄)₂SO₄: sulfato hidroxifosfato de aluminio; MPL: 3-O-desacil-4'-monofosforil lípido A; CpG: oligodesoxinucleótidos de citosina fosfoguanosina; AS04: MPL + [Al(OH)₃ o Al₃(OHPO₄)₃]; gE: glicoproteína E del VVZ; AS01: MPL + QS21; HA: hemaglutinina.

Información obtenida de (6 - 11)

Perspectivas de futuro de las VLPs

- Mosquirix[™]**
 - Primera candidata como vacuna VLP frente a la malaria** (enfermedad parasitaria producida por *Plasmodium falciparum*), dirigida contra la etapa preeritrocítica. Produce protección parcial en niños pequeños.
 - Actualmente, no hay vacunas comercializadas contra la malaria en Europa o EE.UU.

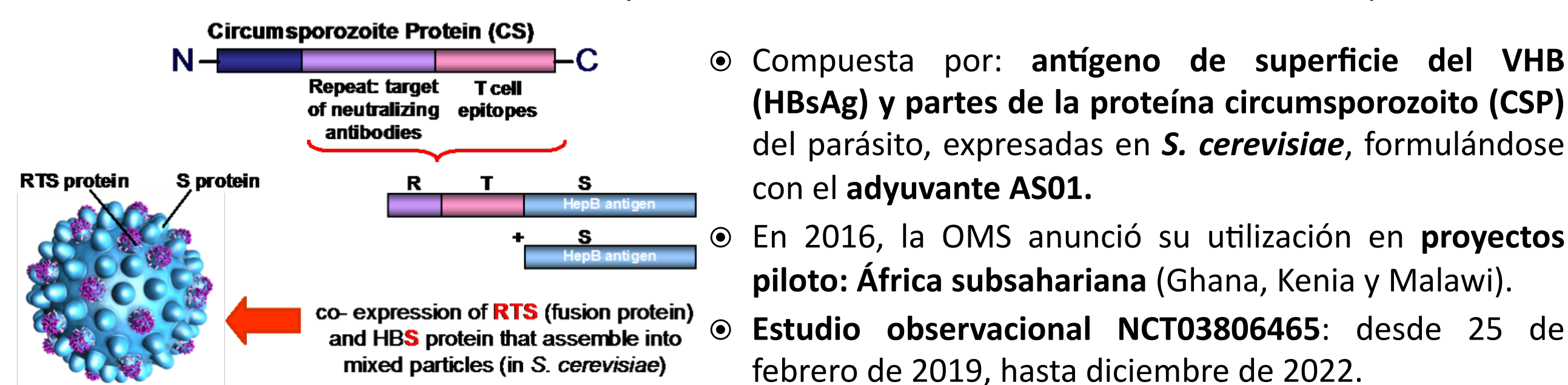


Figura 8. Vacuna RTS,S VLP (tomada de (12))

- Otras en desarrollo**
 - Frente al virus de la hepatitis C.
 - Frente al virus de la inmunodeficiencia humana.
 - Frente al virus de la gripe.
 - Frente al virus de Norwalk y otros virus emergentes.

BIBLIOGRAFÍA

A continuación se recoge la bibliografía citada en el póster. El resto de la bibliografía utilizada (30 referencias más) se puede consultar a través del código QR:

- Ding X, Liu D, Booth G, Gao W, Lu Y. Virus-Like Particle Engineering: From Rational Design to Versatile Applications. *Biotechnology Journal*. 2018;13(5):1-7.
- Fuenmayor J, Gòdia F, Cervera L. Production of virus-like particles for vaccines. *New Biotechnology*. 2017;39:174-80.
- Flatiron - FreepikCompany [Internet]. 2019 [citado 10 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://www.flatiron.es>
- Karp G. Técnicas en biología celular y molecular. En: McGraw-Hill Interamericana. *Biología celular y molecular*. 7ª edición. México; 2014.
- Lua LHL, Connors NK, Sainsbury F, Chuan YP, Wibowo N, Middelberg APJ. Bioengineering virus-like particles as vaccines. *Biotechnology and Bioengineering*. 2014;111(3):425-40.
- VBI. VBI Vaccines Inc. [Internet]. 2019 [citado 10 de abril de 2019]. Disponible en: <https://www.vbivaccines.com>
- EMA. European Medicines Agency [Internet]. 2019 [citado 18 de abril de 2019]. Disponible en: <https://www.ema.europa.eu/en>
- FDA. Food and Drug Administration [Internet]. 2019 [citado 15 de abril de 2019]. Disponible en: <https://www.fda.gov>
- CIMA - Centro de Información de Medicamentos [Internet]. 2019 [citado 14 de abril de 2019]. Disponible en: <https://cima.aemps.es/cima/publico/home.html>
- GSK. GlaxoSmithKline [Internet]. 2019 [citado 18 de abril de 2019]. Disponible en: <https://www.gsk.com/en-gb/>
- Dynavax [Internet]. 2019 [citado 15 de abril de 2019]. Disponible en: <http://www.dynavax.com>
- EMA. Mosquirix[™] - European Public Assessment Report (EPAR). 2015.

