



UNIVERSIDAD DE SEVILLA



FACULTAD DE FARMACIA

APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS EN VACUNACIÓN Y MODULACIÓN DEL SISTEMA INMUNITARIO



Elisa Montilla Garrido

Curso 2020/2021



GRADO EN FARMACIA

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO: FARMACIA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA

APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS EN VACUNACIÓN Y MODULACIÓN DEL SISTEMA INMUNITARIO

TRABAJO FIN DE GRADO

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

CURSO 2020/2021

ALUMNA: ELISA MONTILLA GARRIDO

TUTORA: MARÍA JOSÉ ARIAS BLANCO

RESUMEN

La vacunación se ha mostrado quizá como el mayor éxito sanitario de la historia de la medicina. En 1796 Jenner crea la primera vacuna, pero no fue hasta la década de 1950 en que los tratamientos con vacunas comenzaron a combatir enfermedades de manera efectiva. Así se ha logrado erradicar la viruela y casi se ha conseguido con la poliomielitis. Cada vez más la sociedad toma conciencia de su importancia en la salud mundial y se pide el desarrollo de nuevas vacunas capaces de modular mejor su respuesta inmune, con mayor efectividad, pero también con menor toxicidad. En 1986, llega la primera nanopartícula (VLP) al mercado, en forma de vacuna frente a la hepatitis B. A partir de ahí, la nanotecnología en vacunas va cobrando importancia, tanto que, durante la primera década del siglo XXI, han crecido exponencialmente en publicaciones, multiplicándose éstas por 25. Pero es en este año 2021, con la situación de pandemia mundial cuando realmente se manifiesta su importancia mediante su empleo en la formulación de las vacunas frente a la Covid-19. En este trabajo haremos una revisión de todas las nanopartículas que se han ido desarrollando en el campo de la vacunación con fines no sólo profilácticos, sino también terapéuticos y la aportación que la nanotecnología ha ejercido sobre ellas. Estudiaremos igualmente la actuación de los adyuvantes y cómo los sistemas de liberación de vacunas polarizan la respuesta inmune hacia la generación de respuestas celulares específicas (frente a patógenos intracelulares) o marcadores antigénicos específicos (células tumorales).

Palabras clave: nanopartícula, vacuna, nanosistema, inmunogenicidad

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| INTRODUCCIÓN | 3 |
| Sistema inmune | 3 |
| Vacunas | 4 |
| Interacción vacuna-membrana..... | 6 |
| Componentes de las vacunas | 7 |
| Adyuvantes..... | 7 |
| Nanopartículas..... | 10 |
| Factores que influyen en formulación | 11 |
| Nanosistemas | 13 |
| OBJETIVOS | 19 |
| METODOLOGÍA | 19 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 19 |
| Vacunas profilácticas..... | 19 |
| Liposomas / nanopartículas lipídicas | 19 |
| Partículas similares a los virus (VLP)..... | 24 |
| Vacunas terapéuticas | 28 |
| <i>CimaVax</i> :..... | 28 |
| CONCLUSIÓN | 32 |

INTRODUCCIÓN

Sistema inmune

El sistema inmune está formado por una compleja red de células, tejidos y órganos. Juntos ayudan al cuerpo a combatir infecciones y otras enfermedades. Se clasifica en innato y adquirido. El primero ofrece una respuesta rápida e inespecífica mientras que la respuesta del adquirido es específica, posee memoria y diversidad para actuar frente a una gran variedad de antígenos.

La primera línea de defensa del organismo es el sistema inmune innato, aunque sólo es capaz de diferenciar partes comunes de patógenos. Principalmente está compuesto por células fagocíticas, células NK, el sistema del complemento, citoquinas y receptores tipo Toll (RTT). Estos receptores se expresan en células del sistema inmune, y al reconocer estructuras de patógenos llamados patrones moleculares de agentes microbianos (PMM), se activan, relacionando la inmunidad innata y la adquirida. (Paola TP, 2012)

Las células dendríticas también son importantes y relacionan ambos tipos de inmunidad, son células presentadoras de antígeno (CPA). Las CPA inmaduras se localizan en los tejidos periféricos y reconocen microorganismos; captan antígenos y los procesan mediante la expresión de los complejos mayores de histocompatibilidad I y II, las moléculas coestimuladoras y la secreción de otras moléculas accesorias necesarias. Las maduras se encuentran en los órganos linfoides, activan a las células B y T y producen una respuesta específica. En el caso de las nanovacunas, es destacable la facilidad de las nanopartículas para que las células dendríticas las capten e internalicen debido a su tamaño. (Vicente et al., 2009)

Por otro lado, sistema inmune adaptativo, es específico y tiene memoria, mejorando la capacidad de respuesta en posteriores exposiciones. Los componentes principales son los linfocitos B y T. Encontramos dos tipos de respuestas: humoral y celular.

- La celular es especialmente importante contra microorganismos intracelulares. Principalmente, los linfocitos T destruyen estos patógenos mediante fagocitos o eliminando las células infectadas. Destacamos dos tipos dentro de los linfocitos T: los CD8, encargados de destruir células tumorales e infectadas, y los CD4, los

cuales secretan citoquinas. Las CPA, al detectar un antígeno, lo captan y lo procesan, dando lugar a péptidos que se expresarán en la membrana de las células. Entonces, los linfocitos T no activados que están circulando por los ganglios linfáticos, reconocen el antígeno a través de su receptor y se activan dando lugar a la proliferación y diferenciación a linfocitos T efectores y de memoria. Posteriormente, los linfocitos T efectores migran hacia los sitios de infección o inflamación donde encuentran el antígeno para el cual son específicos.

- La humoral es la principal defensa contra las infecciones bacterianas. Está mediada por linfocitos B los cuales producen anticuerpos, que son polipéptidos con dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras; a su vez, tienen región constante (Fc) y ésta va a determinar sus funciones biológicas y su clase (G, A, M, D y E) y una región variable (Fab), con la que se une al antígeno. Al reconocer a los patógenos, con su región variable los neutralizan y se desencadenan distintos mecanismos (p. ej. opsonización) para destruirlo. (Paola, 2012)

Vacunas

Las vacunas están muy relacionadas con el sistema inmune, ya que su mecanismo de acción se produce a través de éste. La primera vacuna de la historia fue contra la viruela (1796), y consiguió erradicar la enfermedad (Campos-Macías P et al., 2018). No fue hasta 1986 cuando surge la primera nanovacuna, contra la hepatitis B y fue de tipo VLP (partículas similares a los virus). (Vicente et al., 2009)

Se entiende por vacuna cualquier preparación destinada a generar inmunidad contra una enfermedad estimulando la producción de anticuerpos (Organización Mundial de la Salud, 2021). El objetivo final de la vacunación es erradicar enfermedades, mientras que el objetivo inmediato es evitar esas enfermedades en grupos de personas de una comunidad. (Ministerio de Salud, 2011)

Las vacunas tradicionales, aunque son eficaces, tienen limitaciones, ya que la producción puede llevar mucho tiempo y la mayoría dependen del almacenamiento en frío, lo que puede ser un problema para la distribución en países en vías de desarrollo. Además, tradicionalmente se consideraba que los títulos de anticuerpos era una medida primaria de la inmunogenicidad de una vacuna y demostró ser una estrategia exitosa para muchos patógenos. Sin embargo, cada vez tienen más protagonismo las respuestas

de las células T para mediar la eliminación de muchas infecciones y también para prevenir el establecimiento de infecciones crónicas. Por tanto, las vacunas más efectivas deberían inducir respuestas inmunes mediadas por células T CD4 y CD8. (D. Comber and Bamezai, 2015)

En cuanto a clasificación, las vacunas pueden ser profilácticas o terapéuticas. Las profilácticas consisten en exponer al sistema inmune frente a una sustancia extraña con el fin de que genere una respuesta inmune y quede una memoria inmunitaria para la próxima exposición (Ortiz Blanco, 2019), mientras que en las vacunas terapéuticas se administra una sustancia o grupo de sustancias que estimulen el sistema inmune para que destruya un tumor o determinados microorganismos como bacterias o virus. (Instituto Nacional del Cáncer, 2021)

Las vacunas pueden ser de distintos tipos según su composición, como se observa en la tabla 1.

| Vacuna | Composición |
|---|--------------------|
| Vivas atenuadas | Patógeno atenuado |
| Inactivadas | Patógeno muerto |
| Subunidad, recombinante, polisacárido y conjugada | Parte del patógeno |
| De toxoides | Toxina |
| Información genética | ADN o ARNm |

Tabla 1. Tipos de vacuna según composición. Elaboración propia a partir de Ocaña García, 2020.

Destacan las vacunas de ADN y ARNm, ya que son las más novedosas actualmente. Las primeras consisten en plásmidos de ADN circulares cerrados diseñados para que codifiquen antígenos u otras moléculas inmunomoduladoras para manipular la respuesta inmune. Tienen muchas ventajas, como la simplicidad, la facilidad de fabricación y la seguridad; además, tienen la capacidad de inducir respuestas inmunitarias específicas de tumores. Por otro lado, las vacunas de ARNm expresan proteínas en el citoplasma para estimular una respuesta inmune después de ser internalizada por las células huésped.

El término vacuna contra el cáncer puede referirse tanto a una vacuna que previene infecciones por virus que pueden causar cáncer (profiláctica) o a una que trata el cáncer existente (terapéutica). (Liu et al., 2020)

Las vacunas terapéuticas están mayoritariamente destinadas al tratamiento del cáncer, las cuales se basan en los antígenos asociados a tumores, y hay tres tipos de vacunas (Instituto Nacional del Cáncer, 2021):

1. Personalizadas a partir de las células tumorales del paciente, obteniendo así una respuesta específica.
2. A partir de un tipo de células cancerosas determinado, con su antígeno asociado, la cual valdría para cualquier enfermo que tenga un cáncer que tenga ese antígeno.
3. Estimulando el sistema inmune mediante las células dendríticas del enfermo para que reaccione a un antígeno concreto. Existe una vacuna autorizada, sipuleucel-T (Provenge®), y se usa en el cáncer de próstata avanzado.

Interacción vacuna-membrana

Para que las nanovacunas ejerzan su acción debe producirse una interacción entre los nanosistemas y la membrana. Ésta se produce mediante internalización y se da a través de diferentes mecanismos (Sara et al., 2017):

- Macropinocitosis o endocitosis en fase fluida: internalización evitando la degradación por parte de los lisosomas mediante la formación de vesículas a través de la invaginación de la membrana.
- Endocitosis mediada por clatrina, formando endosomas a través de esta proteína de membrana mediante invaginación.
- Endocitosis mediada por caveolas, las cuales forman invaginaciones.
- Endocitosis mediada por balsas lipídicas, son microdominios (colesterol y esfingolípidos) de la membrana.

En la figura 1 observamos como se produce la endocitosis:

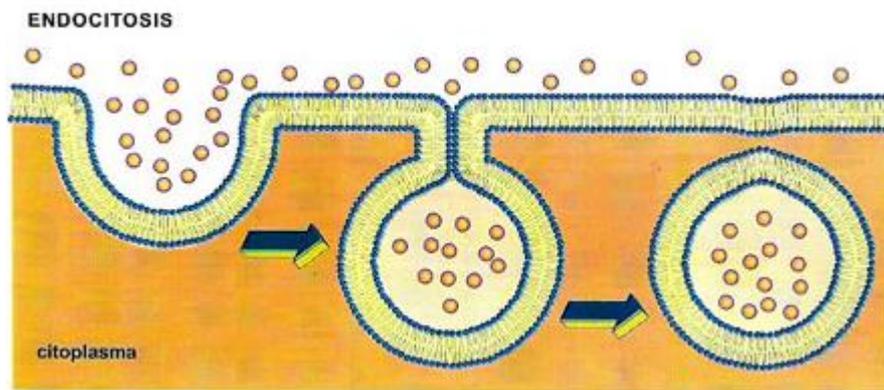


Figura 1. Representación de endocitosis. (Lorenzo Corchón A., 2021)

Componentes de las vacunas

Para formular una vacuna se necesitan distintos componentes, a saber (Comité Asesor de Vacunas, 2021):

- Antígeno inmunizante: uno o varios bien definidos. (Ministerio de Salud, 2011)
- Líquido de suspensión: solución salina, agua destilada o sustancias que se extraen de los cultivos utilizados en la obtención de las vacunas.
- Conservantes, estabilizantes y antibióticos: para estabilizar los componentes o para evitar la contaminación o degradación de la vacuna
- Adyuvantes: aumentan la inmunogenicidad (respuesta inespecífica de inmunidad innata) o prolongan el efecto estimulador.

Adyuvantes

Son sustancias que se usan para reforzar la respuesta inmune contra un antígeno administrado de manera simultánea (García Gonzalez, 2019). Así, es posible la disminución de la cantidad de antígeno y el número de inyecciones de la serie vacunal. De esta forma se pretende aumentar la eficacia de las vacunas en bebés, ancianos y personas inmunodeprimidas. Promueven la inducción de inmunidad en mucosas y potencian la inmunidad celular, aumentando los títulos de anticuerpos funcionales. (Uberos Fernandez, 2013)

Existe una amplia variedad de adyuvantes en estudio, como los toxoides bacterianos, las emulsiones, sustancias inmunoestimulantes, y cada vez más, los nanosistemas de liberación de antígenos, que se consideran como tales *per se*. Los adyuvantes más

utilizados en vacunas son: sales de aluminio (DTPa, hepatitis A, neumocócica conjugada), MF59 (escualeno) (gripe), AS04 (hepatitis B, VPH), virosomas (gripe). Las sales insolubles de aluminio, conocidas como álum, han demostrado que pueden ayudar a generar respuestas inmunológicas mayores al administrarse con el antígeno por vía parenteral, y se consideran un adyuvante aceptablemente seguro. Sin embargo, presentan la desventaja de su inestabilidad tras la congelación, debido a la destrucción del gel a temperaturas por debajo de 0 °C, lo que podría disminuir la eficacia de la vacuna.

Otro ejemplo de adyuvante es la microemulsión MF59TM, el cual se aprobó para la FludTM (vacuna de la gripe) por primera vez en Italia, en 1997. Consiste en un sistema de liberación nanoparticulado y, debido a su buena seguridad y eficacia, se fue introduciendo en otros países. (Vicente et al., 2009)

Los adyuvantes se pueden clasificar de distintas maneras. Una clasificación, basada en el mecanismo de acción es la propuesta por Schijns, (Schijns, 2000) quien los categoriza en:

- a) facilitadores de la señal 1 (presentación de antígenos)
- b) facilitadores de la señal 2 (coestimulación)
- c) facilitadores de la señal 3 (polarización a Th1/Th2)

Más recientemente, O'Hagan y Valiante (O'Hagan y Valiante, 2003) clasificaron los adyuvantes en inmunopotenciadores (IP) y sistemas de liberación (SL).

Mecanismos generales de acción de los adyuvantes:

Estimulación de la señal 1: tienen un efecto depósito, produciendo una liberación lenta y prolongada de los antígenos en el punto de inyección. Aumentando la presentación antigénica de las CPA a los linfocitos en los ganglios linfáticos. Un ejemplo son las sales de aluminio y las emulsiones oleosas.

Estimulación de la señal 2: necesita liberación de citoquinas en forma soluble o de moléculas coestimuladoras de membrana en las CPA para potenciar la respuesta inmune específica. Para esto se requiere una activación previa de las CPA, la cual puede efectuarse por 2 vías no excluyentes:

- a) Señal 0, consiste en el reconocimiento de los PMM los cuales se unen a los RTT.
- b) A través de moléculas endógenas denominadas señales de peligro, que se liberan cuando hay necrosis celular. Se plantea que para que haya estimulación inmune debe existir un daño celular. Estas moléculas endógenas también interactúan con los RTT promoviendo, al igual que los PMM, la maduración de células dendríticas e induciendo la liberación de citoquinas proinflamatorias y otros mediadores que favorecen la respuesta inmune. Algunos adyuvantes que actúan por este mecanismo son las saponinas, ciertas emulsiones y el hidróxido de aluminio, que producen citólisis.

Estimulación de la señal 3: la inmunidad innata es capaz de activar los linfocitos T auxiliares inactivados (Th0), polarizando la respuesta inmune hacia un patrón determinado por el perfil de citoquinas que se liberen y otros factores. Esta polarización depende de factores como el tipo de antígeno, la vía de inoculación y especialmente el adyuvante empleado, aunque todavía no se conocen con exactitud los mecanismos que inducen hacia uno u otro patrón. (Batista-Duharte et al., 2014)

Encontramos distintas razones por la que son importantes los adyuvantes en las vacunas:

- a) Llegar a una mejor una protección aumentando la respuesta específica, particularmente importante en inmunocomprometidos
- b) Disminuir la dosis de antígeno por vacuna aumentando la cobertura, con un mayor impacto en países en vías de desarrollo
- c) Disminuir la propagación al tener una mayor cobertura y más rápida protección
- d) Dirigir la respuesta inmune, y así, conseguir mayor efectividad en diferentes enfermedades

Además de la protección contra un patógeno, la estimulación inducida por adyuvantes en el sistema inmune puede provocar también reacciones adversas, debido a la liberación de mediadores biológicamente activos como las citoquinas proinflamatorias, con efectos locales y sistémicos que van más allá del efecto deseado. Estas reacciones son inmunotóxicas por naturaleza, ya que tienen su origen en la estimulación del sistema inmune (Batista-Duharte et al., 2014). Las vacunas adyuvadas provocan mayor

reactogenicidad local que las no adyuvadas, ya que producen una mayor inducción local de la inflamación y activación del sistema inmune. (García González, 2019)

Nanopartículas

Las nanovacunas estarían compuestas por nanopartículas que, debido a su pequeño tamaño -similar a los componentes celulares- tienen la capacidad de penetrar en las células por distintos mecanismos. En profilaxis como en terapéutica, las nanopartículas se usan como sistema de suministro para favorecer el procesamiento de antígenos y/o como adyuvantes para estimular o mejorar la inmunidad. (Zhao et al., 2014)

Por otra parte, la administración selectiva de moléculas puede ser activa o pasiva; la activa necesita se consigue con la conjugación de la nanopartícula a un ligando de células específicas, mientras que la pasiva es mediante la incorporación del agente terapéutico en una nanopartícula que pasivamente alcanza el órgano diana. (Oropesa et al., 2012)

Son destacables los nanosistemas constituidos por biomateriales, ya que podrían ser potencialmente más seguros para el organismo en cuanto biocompatibilidad y biodegradabilidad. Algunas nanopartículas poliméricas son capaces de liberar las vacunas mediante un mecanismo depot, liberando el antígeno gradualmente. También existen tipos de sistemas coloidales que tienen ventajas con respecto a la liberación de vacunas a través de las barreras mucosas.

Para la respuesta inmunitaria de las células T, es importante como entra el antígeno en la célula y como se libera de manera intracelular; al aumentar la internalización y la liberación se esperaría una respuesta potenciada. (Vicente et al., 2009)

La importancia de estos nuevos vehículos se observa en el alto número de sistemas que han surgido, a partir de un amplio abanico de biomateriales y formas de elaboración, pensados para que tengan la capacidad de acercar más fácil y eficazmente el antígeno al sistema inmune, a la vez que puedan llegar a regular la respuesta inmunológica inducida (Vicente et al., 2009). Estos sistemas han alcanzado su máximo exponente con las vacunas de la Covid-19.

Factores que influyen en formulación

La efectividad de las nanovacunas depende de ciertos factores asociados a las nanopartículas. Los más influyentes en la formulación de estas vacunas son el tamaño de nanopartícula, la carga superficial, la morfología de las partículas y la hidrofobicidad (Ocaña García, 2020). Los discutiremos a continuación:

Tamaño y morfología:

Influye cuantitativa y cualitativamente en la respuesta inmune (Ortiz Blanco, 2019). Se relaciona con la capacidad de llegar a los ganglios, con la absorción y con los distintos tipos de respuesta inmune.

El tamaño nanométrico tiene la capacidad de determinar el destino biológico, la toxicidad y la distribución. A menor tamaño, mayor relación área superficie-volumen, esto hace que la molécula se libere más rápido; mientras que las partículas mayores permiten mayor cantidad de moléculas en su interior y su liberación se produce a menor velocidad. Este tamaño nanométrico permite que atraviesen poros y membranas celulares. Otra ventaja de este tamaño es que aumenta la velocidad de disolución y consigue que se alcance el límite de saturación *in situ*, lo que significa una mejor biodisponibilidad. (Oropesa et al., 2012)

Mediante la modulación del tamaño de partícula, se puede acceder directamente a las células dendríticas de los ganglios linfáticos sin que antes las capte y procesen el sistema fagocítico mononuclear (SFM). Así, la respuesta inmune se genera directamente en los órganos inductores. (Vicente and Y, 2009)

De este modo, dependiendo de su tamaño, los antígenos vehiculizados en partículas se podrán captar por los vasos linfáticos o por las CPA (Ocaña García, 2020):

- Partículas de menos de 20 nm drenarán hacia los capilares sanguíneos y posteriormente serán eliminados.
- Partículas entre 20 y 100 nm drenarán a los ganglios linfáticos y serán absorbidas por las CPA.
- Partículas de más de 100 nm permanecerán en los sitios de inyección hasta que sean captadas y transportadas a los ganglios linfáticos por las CPA.

En general, se ha demostrado que las nanopartículas tienen una mejor absorción que las micropartículas. (Alai et al., 2015)

Carga superficial:

La química de la superficie de las nanopartículas tiene un gran impacto en las partículas del epitelio absorbente. Dado que la membrana celular tiene carga negativa, las nanopartículas que estén cargadas positivamente interactuarán con el epitelio con mayor fuerza que las nanopartículas cargadas negativamente o neutras (Alai et al., 2015), reteniendo así a los nanosistemas y mejorando la absorción y prolongando el tiempo de presentación de antígeno. No obstante, también alteraría la integridad del plasma celular y las membranas vesiculares, lo que conduciría a una toxicidad celular que es dependiente de dosis. (Liu et al., 2020)

Morfología:

Este factor afectaría a la penetración celular, influyendo sobre todo en los procesos de transporte. Las nanopartículas esféricas y cilíndricas son mejor fagocitadas que las que tienen forma de disco o de elipse, mientras que las alargadas tienen más capacidad de evitar la fagocitosis durante más tiempo y, junto a las nanopartículas planas, se dirigen mejor a la diana que las esféricas. (Ortiz Blanco, 2019)

Hidrofobicidad:

El sistema inmune puede reconocer a las nanopartículas al ser fagocitadas y, por tanto, la hidrofobicidad es importante ya que determina qué componentes de la sangre se unen a la superficie, influyendo en su destino en el organismo. Para conseguir una liberación dirigida se necesita prolongar la circulación de las nanopartículas *in vivo*, y se puede lograr con recubrimientos con polímeros o surfactantes hidrofílicos, o mediante la formulación de nanopartículas con copolímeros biodegradables con características hidrofílicas, como el polietilenglicol (PEG), óxido de polietileno y polisorbato 80. (Oropesa and Jáuregui, 2012)

Composición:

Además de los factores nombrados anteriormente, es importante el peso molecular de los componentes de las nanopartículas, ya que modula la liberación del antígeno de manera inversamente proporcional. Por tanto, a mayor peso molecular, menor liberación. (Ortiz Blanco, 2019)

Nanosistemas

Las características que deben tener los nanosistemas son: alta capacidad de incorporación del principio activo, alta estabilidad y capacidad de depositarse en ciertas partes del organismo, disminuyendo los efectos adversos asociados a su distribución por el organismo. Además, deberá proteger a los agentes activos de la degradación y ser biocompatibles, biodegradables y tener un tamaño nanométrico. (Sara et al., 2017)

A continuación, pasamos a describir los más representativos empleados en nanovacunación.

Orgánicos:

Liposomas / nanopartículas lipídicas

Los liposomas están formados por lípidos y tienen una cabeza hidrofílica y una cola hidrofóbica, pueden estar en bicapas lipídicas (lamelas) o en multicapas que simulan vesículas en el interior de las células (figura 2) y se autoensamblan en agua (Diaz-Arévalo and Zeng, 2020). Por su conformación, los liposomas unilamelares se clasifican en pequeños (SUV), medianos (MUV), grandes (LUV) o gigantes (GUV). (Guevara et al., 2017)

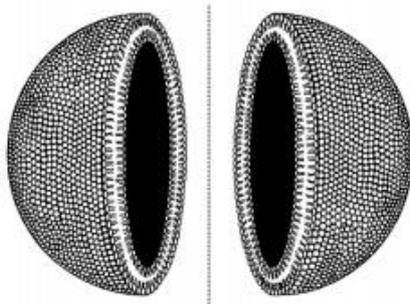


Figura 2. Representación liposoma unilamelar (Siel et al., 2014).

Por otro lado, las nanopartículas lipídicas poseen un núcleo sólido lipídico que puede solubilizar fármacos lipofílicos (aunque puede incluir sustancias hidrófilas modificándolas, como por ejemplo conjugándolas con lípidos), y para estabilizar este núcleo se usan tensoactivos o emulsificantes. Vemos en la figura 3 cómo se encuentran los lípidos en el interior del núcleo. (Villafuerte R. et al., 2008)

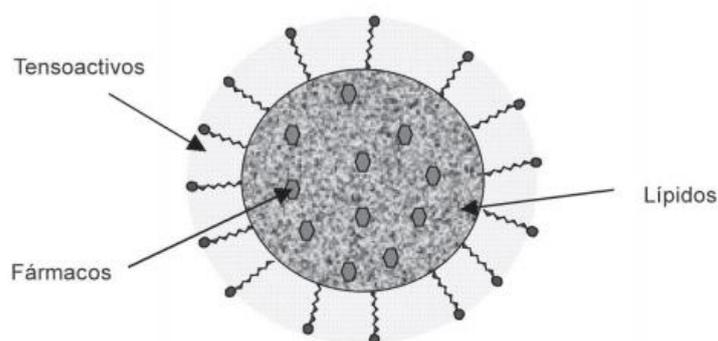


Figura 3. Representación de nanopartícula lipídica (Villafuerte R. et al., 2008).

Una de las ventajas de los liposomas y de las nanopartículas lipídicas sería la mejoría en la estabilidad fisicoquímica los compuestos encapsulados, ya que mejora su dispersabilidad en agua y, en principio no influyen en la efectividad biológica del compuesto. (Guevara et al., 2017)

Por otra parte, cuando se incorporan antígenos en la superficie de los liposomas, aumenta su inmunogenicidad, evitándose la necesidad de añadir adyuvantes (Vitas et al., 2017). De hecho, son en sí mismos adyuvantes que actúan estimulando principalmente la señal 2 en el desencadenamiento de la respuesta inmune. Esta capacidad adyuvante depende del número de capas lipídicas, de su carga eléctrica, de su composición y del método de preparación utilizado. Además, se ha observado que potencia tanto la inmunidad humoral como la celular. (Siel et al., 2014)

Virosomas

Son estructuras unilaminares compuestas por membranas lipídicas y proteínas de membranas virales (Siel et al., 2014). Por tanto, se caracterizan por ser un cruce entre liposomas y partículas similares a virus (VLP): estructuras con proteínas de la cápside viral en la superficie liposómica que les permite una fusión efectiva con la membrana de la célula diana (Bhardwaj et al., 2020). Se asocian a antígenos potenciando la inmunidad

en distintas formulaciones de vacunas y poseen una eficacia probada como adyuvantes. En la figura 4 vemos un ejemplo de un virosoma con las proteínas de membrana de la gripe. (Siel et al., 2014)

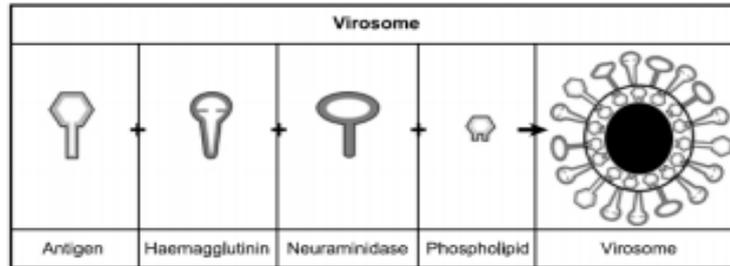


Figura 4. Virosoma con las proteínas de membrana del virus de la gripe (Siel et al., 2014).

Proteínas biomiméticas

Son proteínas de origen viral autoensambladas sin material genético. Los nanosistemas que forman se denominan partículas similares a virus (VLP). (Bhardwaj et al., 2020) Se producen por tecnología de ADN recombinante, se ensamblan espontáneamente durante el ciclo viral o en sistemas heterólogos durante la expresión de la proteína viral (figura 5), ya que pertenecen a la cápsida de los virus. (García Gonzalez, 2019)

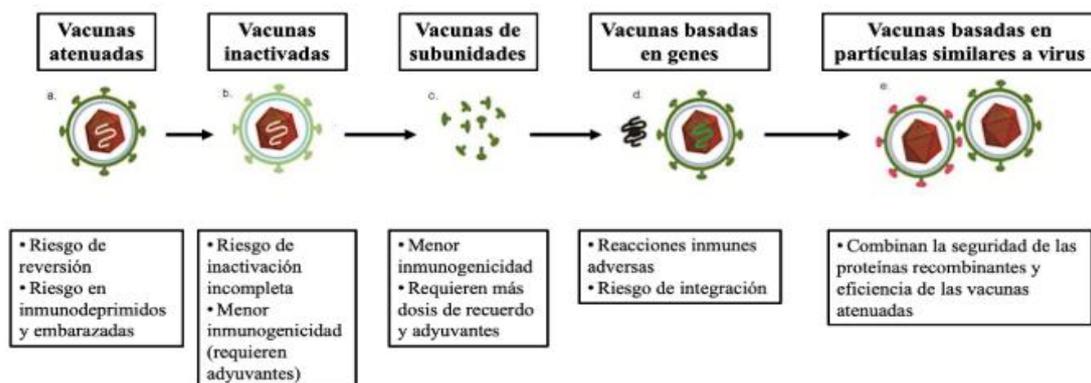


Figura 5. Esquema proceso desarrollo VLP (García González, 2019).

No pueden replicarse en la célula, pero son capaces de estimular el sistema inmune mediante el reconocimiento de subunidades repetitivas, lo que produce una elevada respuesta inmunitaria celular y humoral.

Estas VLP pueden estar recubiertas o no (figura 6). Las recubiertas obtienen la membrana lipídica de la célula huésped donde se expresan y pueden tener una o varias proteínas distintas, siendo estas el antígeno inmunológico objetivo para generar anticuerpos neutralizantes en el organismo donde se administran. (García Gonzalez, 2019)

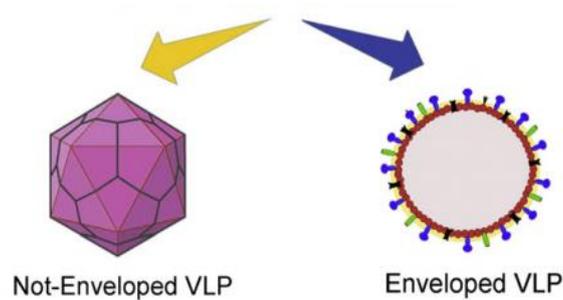


Figura 6. Representación de VLP no recubierta y recubierta (Cimica and Galarza, 2017).

Micelas

Están constituidas por copolímeros anfifílicos que se autoensamblan en agregados nanométricos por encima de la concentración micelar crítica (CMC). La parte hidrófoba de la cadena forma el núcleo, mientras que la hidrófila forma la corona. Las micelas poseen una estructura dinámica donde los unímeros del copolímero anfifílico son intercambiables. (Alai et al., 2015)

Nanopartículas poliméricas

Están formadas por monómeros naturales o sintéticos que son biodegradables, no inmunogénicos, tienen baja citotoxicidad y son fáciles de preparar. Hay varios polímeros que se utilizan con más frecuencia, como quitosano, PLGA, polietilenglicol (PEG), policaprolactona y dextrano. (Diaz-Arévalo and Zeng, 2020)

Las nanopartículas poliméricas pueden ser nanoesferas y nanocápsulas. Las primeras son sistemas matriciales esféricos y el principio activo se encuentra disperso en una matriz polimérica de manera homogénea; y las nanocápsulas son sistemas vesiculares que cubren al agente en su interior rodeado por una cubierta polimérica, controlando su liberación (figura 7). Estas diferencias hacen que ambos tipos de nanopartículas tengan distintas propiedades en cuanto a la forma de liberar su contenido. (Urrejola et al., 2018)

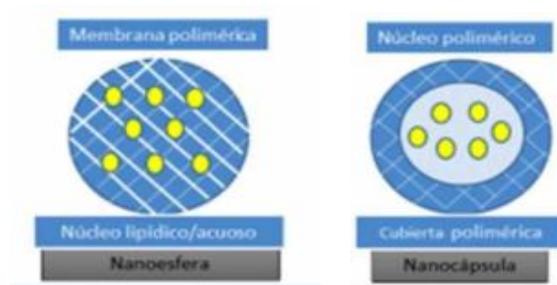


Figura 7. Representación de nanoesfera y nanocápsula (Urrejola et al., 2018).

Inorgánicas

El desarrollo de la síntesis inorgánica ha permitido la fabricación de nanopartículas metálicas con diferentes tamaños, formas y composición. (Jeong et al., 2014)

Nanotubos de carbono

Son alótropos del carbono. Pueden ser de pared sencilla o múltiple. Los principales problemas observados para su aplicación son su baja solubilidad en agua y su toxicidad. Este inconveniente se ha podido resolver parcialmente con la modificación de la superficie de los nanotubos, mejorando su dispersión en agua, que se encuentra directamente relacionada con su biocompatibilidad. El interés del uso de los nanotubos surge de la capacidad de éstos de, modificados con péptidos y proteínas, poder introducirse dentro de la célula espontáneamente. (Marlene Lariza Andrade Cuel, Lluvia Itzel López López, 2020)

Nanopartículas de oro

Tienen una relación superficie-volumen elevada, de forma que incluso los de tamaño pequeño presentan áreas de superficie grandes, disponibles para la unión de diversas biomacromoléculas. Además, se utilizan ampliamente para la administración de ADN plasmídico en la transfección.

Muestran excelentes propiedades físicas, químicas y biológicas, intrínsecas a su tamaño nanométrico, como otras formadas por metales nobles. Además, se pueden producir en distintos tamaños y formas y pueden ser muy versátiles al unirse a distintos ligandos (anticuerpos, polímeros, sondas de diagnóstico, fármacos, material genético, etc. (Mateo et al., 2013)

Otros:

Nanoemulsiones

Son dispersiones coloidales termodinámicamente inestables, aunque pueden presentar una estabilidad cinética alta si el tamaño de gota es suficientemente pequeño y la capa de emulgente consigue estabilidad estérica y/o electrostática. Están compuestas por, al menos, dos líquidos inmiscibles, donde uno de ellos se dispersa en pequeñas gotas esféricas -de diámetros de entre 20 a 200 nm- en el otro líquido.

Son capaces de mejorar la efectividad y disponibilidad de un compuesto cuando se emplean como vehículo de liberación, y además, pueden aumentar la solubilidad de un compuesto activo con baja solubilidad. (Guevara et al., 2017)

Para comparar entre las nanopartículas orgánicas e inorgánicas podemos ver las ventajas e inconvenientes de cada tipo en el siguiente cuadro resumen (figura 8):

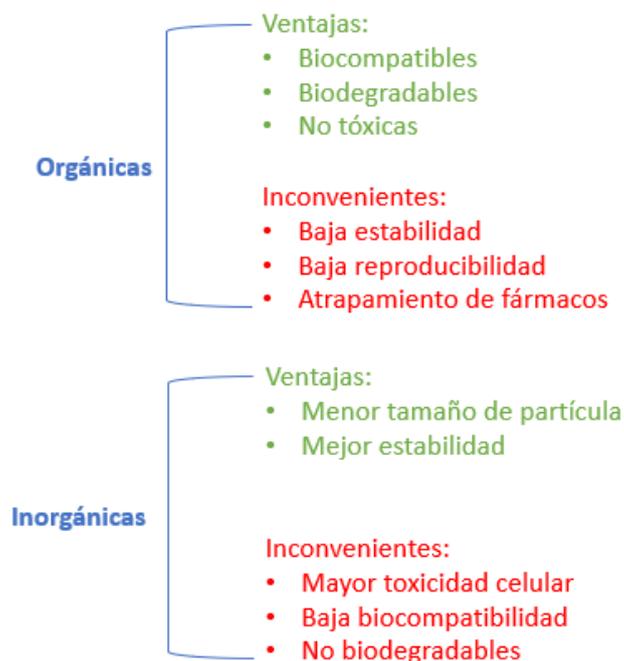


Figura 8. Esquema comparando nanopartículas orgánicas e inorgánicas. Elaboración propia con información de (Poon and Patel, 2020).

OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es llevar a cabo una revisión bibliográfica de las vacunas basadas en nanopartículas que están actualmente comercializadas y en fase de desarrollo, sean profilácticas o terapéuticas, para estudiar tanto qué ventajas ofrece la vacunación en forma de nanosistemas como cómo influye esta formulación en la respuesta inmune, describiendo los avances de la nanotecnología en este sector y qué aporta en cada caso.

METODOLOGÍA

Para la realización de este trabajo se consultaron distintas bases de datos tales como Pubmed, Google Académico, Catálogo Fama, Elsevier y ScienceDirect, así como el portal web de la Biblioteca de la Universidad de Sevilla (<http://fama.us.es>). En éstas encontramos libros, artículos científicos y sitios web que nos ayudaron a recopilar la información necesaria para llevarlo a cabo.

En la búsqueda inicial utilizamos palabras más generales como nanopartículas, vacunas, nanotecnología, sistema inmune... Y a medida que recopilábamos información, concretamos más y buscábamos los nombres de las vacunas que conocíamos que se llevaban a cabo por un proceso nanotecnológico.

Para los artículos consultados, nos hemos centrado en una franja temporal que comprende aproximadamente los últimos diez años. Aunque se ha tenido en cuenta toda la información relevante, hemos podido conseguir una visión actual de la nanotecnología debido a su creciente evolución.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Vacunas profilácticas

Liposomas / nanopartículas lipídicas

Inflexal[®]V:

Es una nanovacuna formada por liposomas con virosomas (figura 9) y está destinada a proteger frente al virus de la influenza. Inflexal[®]V está compuesta por una mezcla de tres grupos de virosomas monovalentes como sistema de transporte/adyuvante, cada uno de los cuales está formado por una hemaglutinina y neuraminidasas específicas de

la cepa que se trate del virus de la gripe. Las cepas de influenza se eligen en función de las recomendaciones anuales de la OMS y la Agencia Europea de Medicamentos. (Herzog et al., 2009)

Además, el liposoma consiste en una doble membrana compuesta por los fosfolípidos lecitina (fosfatidilcolina) y cefalina (fosfatidiletanolamina) y por antígenos virales (Cárdenas-Vargas et al., 2016). Este liposoma, al llevar el antígeno incorporado en superficie aumenta significativamente su eficacia inmunológica haciendo innecesaria la adición de un adyuvante.

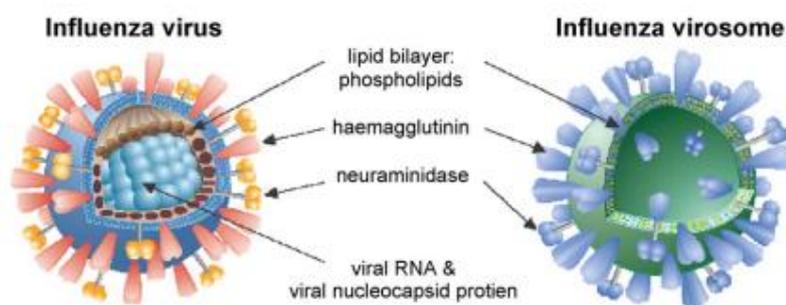


Figura 9. Representación del VLP que imita al virus de la influenza (Herzog et al., 2009).

Contiene además como excipientes cloruro sódico, fosfato sódico dibásico dihidratado/fosfato potásico monobásico, cloruro de calcio dihidrato y cloruro de magnesio hexahidrato para isotonzar (ClNa), regular el pH (tampón fosfato) y crioproteger la fórmula (resto), respectivamente.

Presenta mejor inmunogenicidad que las vacunas tradicionales contra la gripe debido a (Mischler and Metcalfe, 2002):

- una alta pureza de las glicoproteínas de la influenza intercaladas en la bicapa de fosfolípidos;
- preserva la actividad biológica de la molécula de hemaglutinina y
- permite una presentación natural de antígenos mucho más eficaz.

Comirnaty[®]:

Aunque los primeros estudios de vacunas de ARNm datan de 1990 (Wolf), no es hasta el 2020, con la pandemia debida al Covid-19 cuando se consigue llevar la primera vacuna de ARNm, *Comirnaty*[®], al mercado para la prevención del síndrome respiratorio agudo severo acusado por este virus.

Este tipo de vacunas entran en las células y hace que éstas se encarguen de producir partes de la cubierta del virus, dando lugar a sustancias extrañas para el cuerpo y que se active la respuesta inmune. Vacunas así se han desarrollado de manera experimental contra Zika, ébola, rabia e influenza A, con la ventaja de que la estabilidad del ARNm aumenta al usar el encapsulamiento en lípidos como ocurre en ARNm-1273 de esta vacuna.

Comirnaty® se presenta como una vacuna de ARNm monocatenario modificado, con caperuza (CAP) en el extremo 5', que codifica la proteína S (espícula) del SARS-CoV-2. Esta es la proteína de pico de superficie que el virus utiliza para unirse y fusionarse con las células huésped. Este ARNm viene encapsulado en nanopartículas lipídicas, formulación que le permite superar la inactivación del material genético por las endonucleasas celulares (figura 10).

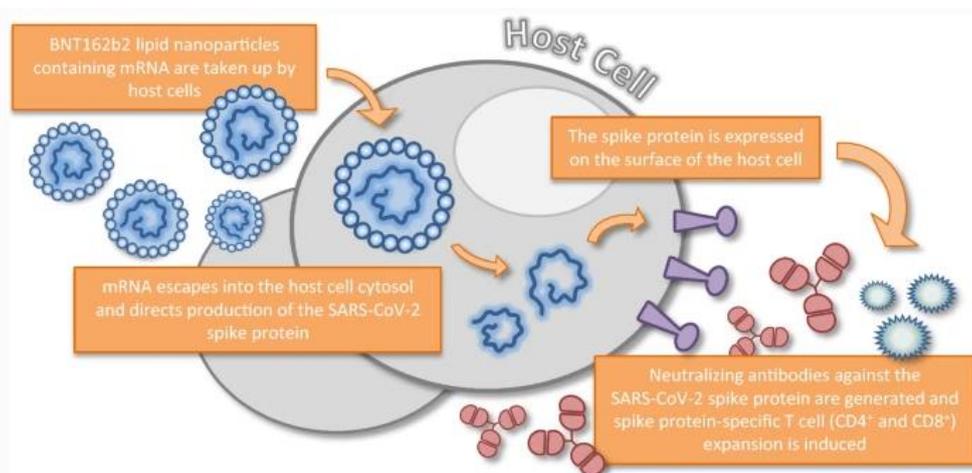


Figura 10. Representación del mecanismo de acción de Comirnaty®. (Lamb, 2021)

Contiene como excipientes ALC-0315=((4-hidroxibutil)azanodiil)bis(hexano-6,1-diil)bis(2-hexildecanoato) (ALC-0315), ALC-0159=2-[(polietilenglicol)-2000]-N,N-ditetradecilacetamida (ALC-0159), 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC) y colesterol (Ficha técnica AEMPS, 2021), que constituyen las nanopartículas lipídicas, y que protegen el ARNm de la degradación. La pegilación del sistema le permite llegar a las células huésped por difusión pasiva de manera más efectiva, ya que la protege de su degradación, y por ende, recircula durante más tiempo por el organismo. La entrada a la célula se produce a través de endocitosis, una vez dentro, el ARNm se traduce en la proteína espiga del SARS-CoV-2, que se expresa en la superficie de las células

hospedadoras. La expresión transitoria de este antígeno induce anticuerpos neutralizantes y respuestas inmunes contra él, lo que puede conferir protección contra la Covid-19. (Lamb, 2021)

También contiene cloruro sódico y cloruro potásico, fosfato dihidrogenado de potasio/hidrógeno fosfato disódico dihidrato y sacarosa (Ficha técnica AEMPS, 2021) para isotonzar, regular el pH y crioproteger la fórmula, respectivamente.

Covid-19 Vaccine Moderna® (ARNm-1273):

La vacuna ARNm-1273 es, al igual que la anterior, una vacuna basada en ARNm encapsulada en nanopartículas lipídicas SM-102, que codifica la proteína pico de longitud completa estabilizada por prefusión del coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo 2 (SARS-CoV-2). La diferencia con Comirnaty® es la conformación de la proteína que codifican, siendo la de moderna la conformación prefusión. (Baden et al., 2021)

Los excipientes que contiene esta vacuna serían lípido SM-102, colesterol, 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfolina (DSPC), 1,2-dimiristoil-rac-glicero-3-metoxipolietileno glicol-2000 (PEG2000 DMG) (Ficha técnica AEMPS, 2021), que constituyen la nanopartícula lipídica. Destacamos el lípido SM-102, patentado por el laboratorio fabricante (Informe técnico de aprobación, EMA 2021) y consistente en una amina terciaria unida a dos cadenas hidrocarbonadas esterificadas y con un grupo hidroxilo.

Al igual que en el caso anterior estas nanopartículas lipídicas pegiladas protegen el material genético de su degradación extracelular, mejoran la biodistribución y permiten su liberación plasmática por acción de las esterasas intracelulares.

También contiene trometamol, hidrocloreto de trometamol, ácido acético, acetato sódico trihidrato y sacarosa (Ficha técnica AEMPS, 2021), como excipientes isotonzar, regular el pH y crioproteger la formulación.

Vacuna contra Covid-19 Curevac:

Actualmente no está comercializada, está en fase III de estudios clínicos. Es una vacuna contra la Covid-19 y está producida por la misma tecnología que Comirnaty y Moderna, de ARNm que codifica para la proteína Spike en su forma prefusión. No utiliza nucleósidos modificados, pero sí una secuencia optimizada enriquecida en GCs, lo que modularía la respuesta inmune innata inducida por esta vacuna (Ministerio de Ciencia e Innovación, 2021). Además, este laboratorio tiene un tipo de liposoma patentado, que observamos en la figura 11:

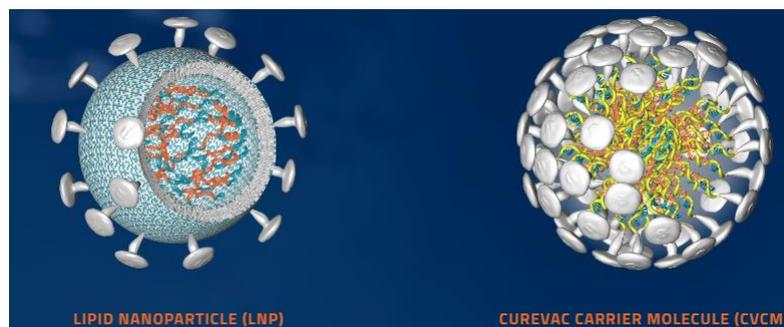


Figura 11. Liposoma (izquierda) y nanopartícula lipídica patentada por Curevac (derecha) (<https://www.curevac.com/en/technology/>).

No obstante, la aparición de nuevas cepas de la Covid-19 parecen las causantes de que los resultados de los ensayos preclínicos con esta vacuna no hayan sido los esperados, llegando sólo a una eficacia cercana al 47 %.

Fusogenix (Covigenix® VAX-001):

Es una vacuna muy novedosa con una formulación de lípidos neutros (liposomas) con alta eficacia de la tecnología de administración controlada por proteínas fusogénicas y vehículo proteo-lipídico (PLV). Se encuentra en fase I de estudios clínicos. Contiene ADN plasmídico, que permite diseñar y optimizar la carga útil que codifica múltiples epítopos de proteínas a partir de proteínas inmunogénicas clave del SARS-CoV-2, y se introduce en las células por fusión con la membrana (Tecnología contra Covid-19: Ideas Nano Innovadoras sobre Prevención, Diagnóstico y Tratamiento, 2021). En la figura 12 podemos observar una representación de la entrada de la nanopartícula de Fusogenix® a la célula por el novedoso mecanismo de fusión con la membrana celular.

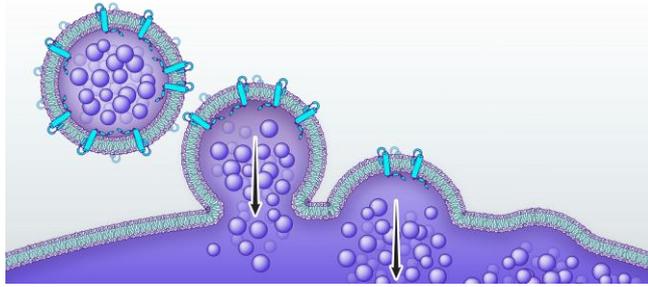


Figura 12. Representación de la entrada de Fusogenix a la célula por fusión (Entospharma, 2021).

Nanopartículas similares a los virus (VLP)

Epaxal®:

Es una nanovacuna tipo VLP contra el VHA. Es la única vacuna de virus inactivados que no lleva coadyuvantes de aluminio disponible en el mercado, y es altamente inmunogénica. (Lim et al., 2014)

Las partículas de virus se adsorben por virosomas como sistema adyuvante (figura 13). Éstos están compuestos por antígenos de superficie del virus de la gripe (hemaglutinina y neuraminidasa de la influenza cepa A/Singapore/6/68/H1N1) y los fosfolípidos lecitina y cefalina (Ficha técnica AEMPS, 2021), cuya función es facilitar la presentación del virión de hepatitis A al sistema inmune y su rápido procesamiento. Contiene además cloruro sódico como único excipiente, añadido como isotonzante.

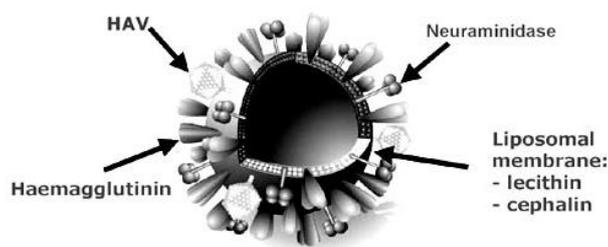


Figura 13. Vacuna virosomal contra la hepatitis A (Ibarra H, 2007).

Engerix®:

Es una vacuna de ADN recombinante no infeccioso que contiene el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) adsorbido en hidróxido de aluminio hidratado (como coadyuvante) (Keating et al., 2003). Contiene además cloruro de sodio como

isotonizante y Fosfato de sodio dihidrato/Fosfato de sodio dibásico como regulador del pH. (Ficha técnica AEMPS, 2021)

Ambirix®:

Vacuna contra los virus de la hepatitis A y B. Está formada por virus de la hepatitis A inactivados adsorbido en hidróxido de aluminio hidratado y antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (producido por ADN recombinante) adsorbido en fosfato de aluminio. En este caso las sales de aluminio además actúan de coadyuvantes. Adicionalmente, contiene cloruro de sodio como isotonzante. (Ficha técnica AEMPS, 2021)

Gardasil® y *Cervarix*®:

Son vacunas contra algunas cepas del virus del papiloma humano (VPH) que además previenen el cáncer de útero ya que estas cepas son las principales causantes de este tipo de cáncer.

Consisten en partículas similares a virus (VLP) de la principal proteína de la cápside del virus del papiloma L1. Dado que las VLP son simplemente proteínas y no contienen genoma viral, éstas se consideran no infecciosas y no oncogénicas y, por lo tanto, son más seguras que las vacunas atenuadas por VPH.

Cervarix comprende las proteínas L1 de las cepas HPV16 y 18, monofosforil lípido A (MPL) e hidróxido de aluminio (AS04) como adyuvante (Ficha técnica AEMPS, 2021). MPL es un agonista del receptor 4 tipo toll (TLR4) que puede inducir altos niveles de anticuerpos, en comparación con Gardasil y Gardasil 9, los cuales contienen solo hidróxido de aluminio como adyuvante. Por el contrario, éstas últimas protegen frente a un mayor número de cepas (Ficha técnica AEMPS, 2021). La tasa de protección de Cervarix es de un 70% frente a la de Gardasil un 70-75% y la de Gardasil 9 de un 90%. (Cheng et al., 2020)

Gardasil es un ejemplo de que las VLP son particularmente ventajosas para la formulación de vacunas multivalentes ya que proporciona protección simultánea contra 9 cepas diferentes de VPH (Velasco et al., 2017). En la figura 14 podemos observar una representación esquemática de estas VLP.

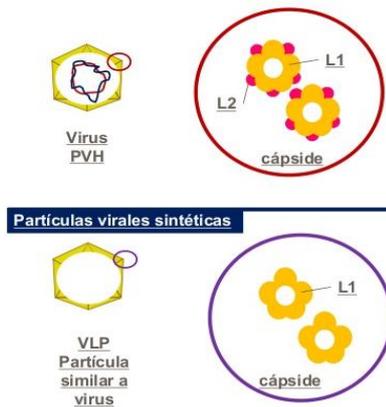


Figura 14. Representación de VLP en vacuna contra el VPH (Santos Ortiz C., 2012).

Las próximas vacunas expuestas, están basadas en VLP, pero todavía siguen en fase de ensayos preclínicos, mientras que las anteriores están comercializadas.

Nanovacuna contra SARS-CoV-2 de la Universidad Nacional Autónoma de México:

Es una vacuna de ADN en un nanosistema VLP, de administración nasal, y se encuentra en fase I de estudio. Como novedad, está formada por nanocristales de proteína, son estructuras muy rígidas y resistentes a las temperaturas o al daño por enzimas, que es lo que destruye a las vacunas. Además, no requieren adyuvante y, por tanto, no producen inflamación. (Tecnología contra Covid-19: Ideas Nano Innovadoras sobre Prevención, Diagnóstico y Tratamiento, 2021)

GV-MVA-VLPTM®:

Es una vacuna de ADN recombinante de VLP constituida por el MVA (virus Vaccinia Ankara Modificado), es un virus grande muy atenuado, capaz de transportar varios antígenos de la vacuna, que expresan proteínas que se ensamblan en los inmunógenos internos de la VLP (*in vivo*) de la persona que recibe la vacuna, aunque todavía se encuentra en fase pre-clínica. (Tecnología contra Covid-19: Ideas Nano Innovadoras sobre Prevención, Diagnóstico y Tratamiento, 2021)

Nanovacuna contra SARS-CoV-2 de de Mediphage Research Group:

Es una vacuna de ADN que llegaría a las células y allí se producirían VLP que imitan la estructura del SARS-CoV-2, aunque sería inofensiva ya que no contienen material genético y no podrían replicarse. (Tecnología contra Covid-19: Ideas Nano Innovadoras sobre Prevención, Diagnóstico y Tratamiento, 2021)

Medicago GSK:

Esta vacuna está formada por VLP que imitan la estructura del SARS-CoV-2 (en lugar de llevar el ADN que lo produce como la anterior) y llevaría el adyuvante GSK. Es muy novedosa ya que sería la primera vacuna contra Covid-19 derivada de una planta, y se encuentra en ensayo en fase III. Utilizan plantas de *Nicotina benthamiana* que es el hospedador experimental más utilizado en virología vegetal, debido principalmente a la gran cantidad de virus que pueden infectarlo con éxito. Su sistema inmunológico debilitado, permite que el material genético pueda ser alojado con éxito por la planta y sin rechazarlo.

España también está investigando vacunas contra Covid-19, una es la MVA-CoV-2-S (vehículo el MVA para transportar la proteína S del SARS-CoV-2) y es la que más avanzada se encuentra (Esteban M et al., 2021) y otra es una nanovacuna de replicón sintético de ARNm procedente de la manipulación genética del SARS-CoV-2. Ésta sería autoamplificable (por tanto, se necesitaría menor dosis para una alta inmunogenicidad) y esterilizante (evita la enfermedad y la transmisión), además, se administraría vía nasal. (Tecnología contra Covid-19: Ideas Nano Innovadoras sobre Prevención, Diagnóstico y Tratamiento, 2021)

NVX-CoV2373® de Novavax:

Es una vacuna de nanopartículas de proteína recombinante que aún se encuentra en fase de III estudio. Está constituida por proteínas recombinantes autoensambladas formando nanopartículas aproximadamente del tamaño del virus (Villatoro, 2020). Contiene una proteína Spike de prefusión de longitud completa y el adyuvante Matrix-M, basado en saponina, que se une al receptor hACE2 de la célula. Los adyuvantes a base de saponina actúan favoreciendo la llegada de las CPA al sitio de inoculación y la presentación de los antígenos. (Tecnología contra Covid-19: Ideas Nano Innovadoras sobre Prevención, Diagnóstico y Tratamiento, 2021)

Spike Ferritin Nanoparticle (SpFN)®:

Esta vacuna consiste en nanopartículas de ferritina de la proteína pico (o espiga) del Covid-19. Actualmente se encuentra en fase I de estudio. La proteína pico se une selectivamente al punto de entrada humano del virus (denominado dominio de unión al receptor o RBD). Cuando el SARS-CoV-2-RBD se une a la proteína ACE2 (enzima convertidora de angiotensina 2), el virus puede ingresar a la célula huésped y comenzar

a replicarse. (Joyce et al., 2021)

La ferritina es una proteína de la sangre capaz de almacenar y transportar hierro y, es termolabile a temperatura ambiente. Se observan niveles altos de ferritina en presencia de virus y bacterias y, están asociadas a infecciones graves por Covid-19. Además, la ferritina puede activar los macrófagos, por tanto, se activa la inmunidad innata y se secretan citoquinas. (Deng F et al., 2021)

Para terminar con las vacunas profilácticas y debido a su importancia, explicamos brevemente dos vacunas contra el Ébola y otras destinadas a terminar con la crisis sanitaria por Covid-19 que, aunque no están formuladas con nanopartículas, tienen una parte nanotecnológica.

Vacunas terapéuticas

Las principales son las vacunas terapéuticas contra el cáncer, que están formuladas con el objetivo de estimular la actividad inmunitaria para atacar y destruir las células cancerosas. Conseguir una respuesta inmune antitumoral endógena es complicado y no suele ser eficaz. Además, la activación específica de las CPA mediante vacunas oncológicas es difícil. Si se lograra, ocurriría que las CPA activadas presentarían el antígeno a las células efectoras, y éstas identificarían y destruirían las células tumorales (Filipczak et al., 2020). Existen actualmente comercializadas varias vacunas contra el cáncer: sipuleucel-T (Provenge®), para el tratamiento del cáncer de próstata y talymogene (Imlygic®) para el melanoma metastásico), pero sólo CimaVax®, para el tratamiento del cáncer de pulmón, emplea un nanosistema en su formulación.

CimaVax®:

Es una nanoemulsión que se forma a partir de la unión de la molécula del Factor de Crecimiento Epidérmico humano recombinante (EGFhr) con la proteína P64k recombinante, como fase interna, y Montanide ISA 51 como adyuvante oleoso. Estimula el sistema inmune para que produzca anticuerpos contra el EGF sobreexpresado en enfermos con ciertos tipos de tumores de pulmón. (Saavedra and Crombet, 2017)

El Montanide ISA 51 forma un tipo de emulsión A/O (Cárdenas-Vargas,2016), y podemos ver en la figura 15 el aspecto de este tipo de formulaciones:

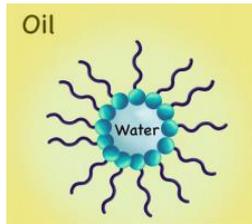


Figura 15. Representación de una nanoemulsión A/O. (Lamb, 2021)

Además, contiene como excipientes cloruro de sodio y de potasio (isotonizantes), fosfato de sodio dibásico anhidro y fosfato de potasio monobásico (reguladores de pH). (Ficha técnica AEMPS, 2021)

Dentro de este tipo de vacunas terapéuticas, se están empezando desarrollar vacunas contra el cáncer basada en ARN mensajero (ARNm) que codifica antígenos tumorales y, donde la nanopartícula tiene un efecto adyuvante al estimular la respuesta inmune innata para impulsar la activación completa de la inmunidad adaptativa (Zhang and Xia, 2021). Igualmente se están estudiando vacunas de ARNm que codifiquen proteínas cuya carencia o malformación causa enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer y el Parkinson. (Fessel J., 2020)

Para resumir, hemos presentado en la tabla 2 las distintas vacunas actualmente asociadas a sus correspondientes nanosistemas:

| Nombre de la Vacuna | Tipo de Nanosistema | Fase estudio | Enfermedad |
|--------------------------------------|----------------------------|---------------------|---|
| Inflexal® | Liposoma con virosomas | Autorizada | Virus de la gripe |
| Comirnaty® | Liposoma | Autorizada | Covid-19 |
| Moderna® | Liposoma | Autorizada | Covid-19 |
| Curevac® | Liposoma | Fase III | Covid-19 |
| Covigenix® | Liposoma con PLV | Fase I | Covid-19 |
| Epaxal® | VLP | Autorizada | Hepatitis A |
| Engerix® | VLP | Autorizada | Hepatitis B |
| Ambirix® | VLP | Autorizada | Hepatitis A y B |
| Gardasil® | VLP | Autorizada | Virus del papiloma humano |
| Cervarix® | VLP | Autorizada | Virus del papiloma humano |
| Nanovacuna UNA México (nasal) | VLP | Fase I | Covid-19 |
| GV-MVA-VLPTM® | VLP | Fase pre-clínica | Covid-19 |
| Medicago GSK | VLP | Fase III | Covid-19 |
| NVX-CoV2373® Novavax | VLP | Fase III | Covid-19 |
| Spike Ferritine Nanoparticle (SpFN)® | VLP | Fase I | Covid-19 |
| CimaVax® | Nanoemulsión | Autorizada | Cáncer de pulmón de células no pequeñas |

Tabla 2. Resumen vacunas-nanosistemas autorizadas o bajo estudio (elaboración propia).

Poco a poco el desarrollo de vacunas se orienta hacia composiciones "minimalistas", menos inmunogénicas y se buscan formulaciones que refuercen la eficacia del antígeno. Las nanopartículas en las vacunas permiten mejorar la estabilidad del antígeno, la inmunogenicidad, la liberación dirigida y la liberación lenta. (Zhao et al., 2014)

En la siguiente imagen (figura 16) se muestran sus ventajas e inconvenientes:

| VENTAJAS | INCONVENIENTES |
|--|---|
| Tiene un amplio rango de tamaños, formas y componentes. | Para su producción requiere maquinaria costosa. |
| Mejor biodisponibilidad, seguridad y estabilidad, mejorando el sistema inmune humoral y celular. | La composición de nanomateriales son difíciles de cambiar y algunos producen toxicidad. |
| Mejoras en la administración (sin agujas o disminuyendo el dolor) | Su pequeño tamaño a veces desencadena una eliminación rápida del organismo. |

Figura 16. Ventajas e inconveniente que presentan las nanovacunas. Elaboración propia a partir de Ocaña García, 2020.

CONCLUSIONES

1. El empleo de la nanovacunas permite obtener respuestas más específicas, amplificadas y eficientes en comparación con las vacunas tradicionales. Además, se están logrando sistemas de baja toxicidad y que permiten una excelente penetración en el tejido diana donde deben ejercer su acción.
2. Las nanovacunas pueden marcar un antes y un después en la prevención y erradicación de enfermedades ya que, como hemos visto, amén de las mejoras biofarmacéuticas que proporcionan, son muy adecuadas para la fabricación a gran escala y distribución a países en vías de desarrollo.
3. Aunque hasta ahora la nanotecnología había aportado mucho en el área de la vacunación, es durante la crisis sanitaria actual causada por el Covid-19 cuando ha jugado un papel fundamental, ya que, como hemos visto, se han aprobado y se están desarrollando una gran cantidad de vacunas que utilizan este tipo de formulaciones.
4. Se ha ampliado el concepto de vacunación profiláctica a vacunación terapéutica. Ya se encuentra comercializada una vacuna terapéutica para el tratamiento de tumores y se espera que el número de estas vacunas aumente significativamente en un futuro próximo.
5. También vemos que crece la importancia de las vacunas de ARNm, que necesitan incorporarse en nanopartículas para su administración, en terapias tanto profilácticas como terapéuticas, para el tratamiento no sólo del cáncer, sino de enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson o el Alzheimer, de gran interés en la sociedad actual.
6. Hay grandes esperanzas puestas en las nanovacunas para prevenir y curar enfermedades que nos asolan hoy en día y de hecho, son muchos los estudios en nanovacunación que se están llevando a cabo en todo el mundo. De hecho, aunque hay sólo algunas nanovacunas comercializadas, son numerosas las que están en fase de estudio clínico, que esperan ser aprobadas más pronto que tarde.

BIBLIOGRAFÍA

Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios. CIMA: Centro de Información Online de Medicamentos de la AEMPS [en línea]. [Consultado en junio 2021]. Disponible en: <https://cima.aemps.es/cima/publico/home.html>

Agencia Europea del Medicamento. Europa.eu. [citado Jun 24 2021]. Disponible en: <https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information>

Alai MS, Lin WJ, Pingale SS. Application of polymeric nanoparticles and micelles in insulin oral delivery. *J Food Drug Anal.* 2015; 23:351–8.

Baden LR, El Sahly HM, Essink B, Kotloff K, Frey S, Novak R, et al. Efficacy and Safety of the ARNm-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *N Engl J Med.* 2021; 384:403–16.

Batista-Duharte A, Lastre M, Pérez O. Adyuvantes inmunológicos. Determinantes en el balance eficacia-toxicidad de las vacunas contemporáneas. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2014; 32:106–14.

Bhardwaj P, Bhatia E, Sharma S, Ahamad N, Banerjee R. Journal Pre-proof Advancements in Prophylactic and Therapeutic Nanovaccines. *Acta Biomater.* 2020.

Campos-Macías P, Vargas-Origel A. La vacunación de un niño. La vacuna de la viruela. Parte 1. *Dermatol Rev Mex.* 2018;62(4):367-370.

Cárdenas-Vargas, Albertina, Pedroza-Roldán, César, Elizondo-Quiroga, Darwin. Adyuvantes para vacunas: tipos, aplicaciones y modos de acción. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* [Internet]. 2016; 47(3):29-47. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57956611003>

Cheng L, Wang Y, Du J. Human papillomavirus vaccines: An updated review. *Vaccines.* 2020; 8:1–15.

Cimica V, Galarza JM. Adjuvant formulations for virus-like particle (VLP) based vaccines. *Clin Immunol* 2017;183:99–108. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2017.08.004>.

Comité Asesor de Vacunas (CAV-AEP). Manual de Vacunas en línea de la AEP [Internet]. Madrid: AEP; 2021. [consultado el 30/mayo/2021]. Disponible

en: <http://vacunasaep.org/documentos/manual/manual-de-vacunas>

D. Comber J, Bamezai A. Gold Nanoparticles (AuNPs): A New Frontier in Vaccine Delivery. *J Nanomedicine Biotherapeutic Discov.* 2015; 05:6–10.

Diaz-Arévalo D, Zeng M. Nanoparticle-based vaccines. *Nanopharmaceuticals.* 2020; 135–50.

Deng F, Zhang L, Lyu L, Lu Z, Gao D, Ma X, et al. El incremento de ferritina sérica durante el ingreso predice la mortalidad de los pacientes de Covid-19 en Cuidados Intensivos. *Med Clin (Engl Ed).* 2021; 156(7): 324–331.

Esteban M, García-Arriaza J, Gabinete de Presidencia CSIC; Departamento de Comunicación CSIC. La vacuna del CSIC más adelantada para la covid-19 muestra una eficacia del 100% en ratones. 2021. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10261/227794>

Fessel J. A vaccine to prevent initial loss of cognition and eventual Alzheimer's disease in elderly persons. *Alzheimers Dement (N Y).* 2021; 7(1): e12126.

Filipczak N, Pan J, Yalamarty SSK, Torchilin VP. Recent advancements in liposome technology. *Adv Drug Deliv Rev* 2020; 156:4–22.

García Gonzalez M. Vacunas basadas en partículas similares a virus (VLPs). TFG. Universidad Complutense de Madrid. 2019.

Guevara DEA, Guerrero DAR, Martínez KMS, Aguirre JAR, Díaz DSOM, Cruz DNUG, et al. Tecnologías de nano/microencapsulación de compuestos activos. 1st ed. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco. 2017.

Handy CE, Antonarakis ES. Sipuleucel-T for the treatment of prostate cancer: Novel insights and future directions. *Futur Oncol.* 2018; 14:907–17.

Herzog C, Hartmann K, Künzi V, Kürsteiner O, Mischler R, Lazar H, Glück R. Eleven years of Inflexal® V-a virosomal adjuvanted influenza vaccine. *Vaccine.* 2009; 27:4381–7.

Ibarra V Humberto. Cambios en la epidemiología de las hepatitis virales en Chile y consideraciones en estrategias de prevención. *Rev. méd. Chile.* 2007; 135(2): 229-239.

Instituto Nacional del Cáncer. [Consultado en junio 2021]. Disponible en línea en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario->

cancer/def/terapia-de-vacuna

Jeong EH, Jung G, Hong CA, Lee H. Gold nanoparticle (AuNP)-based drug delivery and molecular imaging for biomedical applications. *Arch Pharm Res* 2014; 37:53–9.

Joyce MG, Chen W, Sankhala RS, Hajduczki A, Paul V, Choe M, et al. SARS-CoV-2 ferritin nanoparticle vaccines elicit broad SARS coronavirus immunogenicity. *bioRxiv*. 2021.

Keating GM, Noble S, Averhoff FM, Belloni C, Duval B, Goldwater PN, et al. Recombinant hepatitis B vaccine (Engerix-B®): A review of its immunogenicity and protective efficacy against hepatitis B. *Drugs*. 2003; 63:1021–51.

Kürsteiner O, Moser C, Lazar H, Durrer P. Inflexal® V-The influenza vaccine with the lowest ovalbumin content. *Vaccine*. 2006; 24:6632–5.

Lamb YN. BNT162b2 ARNm Covid-19 Vaccine: First Approval. *Drugs*. 2021; 81:495–501.

Lim J, Song YJ, Park WS, Sohn H, Lee MS, Shin DH, et al. The immunogenicity of a single dose of hepatitis A virus vaccines (Havrix® and Epaxal®) in Korean young adults. *Yonsei Med J*. 2014; 55:126–31.

Liu J, Miao L, Sui J, Hao Y, Huang G. Nanoparticle cancer vaccines: Design considerations and recent advances. *Asian J Pharm Sci*. 2020; 15:576–90.

Lorenzo Corchón, A. Transporte de membrana. *Macromoléculas*. Asturnatura.com [en línea] Num. 490, [consultado el 26/6/2021]. Disponible en <https://www.asturnatura.com/articulos/envoltura-celular/membrana-plasmatica-endocitosis-fagocitosis-pinocitosis.php> ISSN 1887-5068.

Marlene Lariza Andrade Cuel, Lluvia Itzel López López ASC. Carbon nanotubes: Functionalization and biological applications. *Int J Pharm Res*. 2020; 12:9–18.

Ministerio de Ciencia e Innovación, Gobierno de España. Una visión global de la pandemia Covid-19: Qué sabemos y qué estamos investigando desde el CSIC. Marzo 2021. Consultado en junio 2021. Disponible en: https://pti-saludglobal-Covid19.corp.csic.es/wp-content/uploads/2021/03/informe_vision-global_pandemia_Covid19.pdf

Ministerio de Salud. Procedimientos de Vacunas e inmunización. Programa Nac Inmunizacion. 2011; 1–96.

Mischler R, Metcalfe IC. Inflexal[®]V a trivalent virosome subunit influenza vaccine: Production. *Vaccine*. 2002; 20:5–11.

O'Hagan DT, Valiante NM. Recent advances in the discovery and delivery of vaccine adjuvants. *Nat Rev Drug Discov*. 2003; 2:727–35.

Ocaña García A. Vacunas Basadas En Nanotecnología. TFG. Univ de Sevilla. 2020.

Organizacion Mundial de la Salud. Consultado en junio 2021. Disponible en línea en: <https://www.who.int/es>

Oropesa R, Jáuregui U. Las nanopartículas como portadores de fármacos: características y perspectivas Nanoparticles as drug carriers : characteristics and perspectives. *CENIC Ciencias Biológicas*. 2012; 43:1–20.

Ortiz Blanco A. Nanomateriales para el desarrollo de nuevas vacunas. TFG. Univ Complut Madrid. 2019.

Paola TP. Visión panorámica del sistema inmune. *Rev Médica Clínica Las Condes*. 2012; 23:446–57.

Poon C, Patel AA. Organic and inorganic nanoparticle vaccines for prevention of infectious diseases. *Nano Express*. 2020; 1:012001.

Saavedra D, Crombet T. CIMAvax-EGF: A new therapeutic vaccine for advanced non-small cell lung cancer patients. *Front Immunol*. 2017; 8:1–7.

Santos Ortiz C. Prevención Primaria Cáncer de Cérvix. Vacunas VPH Profilácticas. Instituto de Enfermedades Neoplásicas. 2012.

Sara A, Cieza A, Ana T, Carballido F. Nanosistemas en la terapia oncológica. TFG. Univ Complut de Madrid. 2017.

Schijns VE. Immunological concepts of vaccine adjuvant activity. *Curr Opin Immunol*. 2000; 12:456–63.

Siel D, Vidal S, Sáenz L. Principales sistemas de entrega de antígenos en Medicina Veterinaria y Humana. *Av En Ciencias Vet* 2014; 29: Pág.50-69-69.

Tecnología contra Covid-19: Ideas Nano Innovadoras sobre Prevención, Diagnóstico y Tratamiento, 2021. [Consultado en junio 2021]. Disponible en línea en:

<https://statnano.com/tecnolog%C3%ADa-contr-Covid-19-nano-ideas>

The Challenge: Effective Nucleic Acid Delivery. Entospharma. 2021. [Consultado en junio 2021]. Disponible en línea en: <https://www.entospharma.com/fusogenix>

Uberos Fernández J. Adyuvantes en vacunas. 2013:5.

Urrejola MC, Soto L V, Zumarán CC, Peñaloza JP, Álvarez B, Fuentevilla I, et al. Sistemas de Nanopartículas Poliméricas II: Estructura, Métodos de Elaboración, Características, Propiedades, Biofuncionalización y Tecnologías de Auto-Ensamblaje Capa por Capa (Layer-by-Layer Self-Assembly). *Int J Morphol*. 2018; 36:1463–71.

Velasco Cimica, Jose M. Galarza. Adjuvant formulations for virus-like particle (VLP) based vaccines. *Clinical Immunology*. Volume 183. 2017. Pages 99-108, ISSN 1521-6616.

Vicente S, Y AS. 9. Nanovacunas. *Nanotecnología Farm Real y Posibilidades Farmacoter*. 2009; 313–44.

Villafuerte R. L, García F. B, Garzón S. MDL, Hernández L. A, Vázquez R. ML. Solid lipid nanoparticles | Nanopartículas lipídicas sólidas. *Rev Mex Ciencias Farm*. 2008; 39:38–52.

Villatoro FR. Cómo se une el coronavirus SARS-CoV-2 al receptor ACE2 de la célula huésped. *El blog de Francisco Villatoro*. 2020.

Vitas AU de N, Díaz R, Gamazo C. Liposomas. Aplicaciones en terapia antimicrobiana y en inmunoprofilaxis. *Rev Med Univ Navarra*. 2017; 0:30.

Yuvraj Singh, Jaya Gopal Meher, Kavita Raval, Farooq Ali Khan, Mohini Chaurasia, Nitin K. Jain, Manish K. Chourasia. Nanoemulsion: Concepts, development and applications in drug delivery. *Journal of Controlled Release*. Volume 252. 2017. Pages 28-49, ISSN 0168-3659.

Zhang H, Xia X. ARN cancer vaccines: developing ARNm nanovaccine with self-adjuvant property for cancer immunotherapy. *Hum Vaccin Immunother*. 2021.

Zhao L, Seth A, Wibowo N, Zhao CX, Mitter N, Yu C, et al. Nanoparticle vaccines. *Vaccine*. 2014; 32:327–37.