

RUMBO AL DESARROLLO DE UNA VACUNA DE BAJO COSTO CONTRA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

TOWARDS THE DEVELOPMENT OF A LOW-COST
VACCINE AGAINST CHAGAS DISEASE

RESUMEN

La enfermedad de Chagas, causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, es una de las enfermedades tropicales desatendidas más importantes ya que afecta a 10 millones de personas, principalmente en América Latina. Actualmente no existe una vacuna contra esta enfermedad y los medicamentos disponibles no son del todo eficaces. Al presentarse mayoritariamente en países en desarrollo, la obtención de una vacuna resulta difícil de costear y poco redituable para las compañías farmacéuticas. Es por ello que se propone el desarrollo de vacunas de bajo costo, que sean de entrega oral, permanezcan a temperatura ambiente y que se produzcan rápidamente.

Las vacunas recombinantes producidas en plantas y microalgas representan una opción relevante que se discute en este artículo.

PALABRAS CLAVE: *Vacunas de bajo costo, enfermedad de Chagas, vacunas recombinantes.*

Recursos Naturales y Sociedad, 2020. Vol. 6 (2): 13-21. <https://doi.org/10.18846/renaysoc.2020.06.06.02.0002>

Abel Ramos-Vega¹, Elizabeth Monreal-Escalante^{1,2}, Carlos Angulo^{1,1}

¹Grupo de Inmunología y Vacunología, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, México.

²CONACYT-Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), Instituto Politécnico Nacional 195, La Paz, México.

*eangulo@cibnor.mx, emonreal@cibnor.mx

ABSTRACT

Chagas disease is one of the most important neglected tropical diseases, caused by *Trypanosoma cruzi* parasite and infects about 10 million people, mainly in Latin America. Current medications are not entirely effective and there is not available vaccine against this disease. Because is presented mostly in developing countries, obtaining a vaccine is difficult to pay and not very profitable for pharmaceutical companies. We propose the development of low-cost vaccines: orally delivered, remain at room temperature and produced quickly. For this, recombinant vaccines produced in plants and microalgae represent a relevant option that is discussed in this article.

KEY WORDS: *Low-cost vaccines, Chagas disease, recombinant vaccines.*

ANTECEDENTES

La enfermedad de Chagas (EC), llamada así por su descubridor Carlos Chagas (1909), es una de las enfermedades tropicales desatendidas (ETD) más importantes, ya que afecta alrededor de 10 millones de personas en todo el mundo, principalmente en América Latina (OMS, 2020a).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera las ETD como aquellas que se presentan en zonas de alta pobreza, con climas calurosos y húmedos (OMS, 2010). La EC es ocasionada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, transmitido por la picadura de los insectos conocidos como chinches besuconas (Ver Fig. 1). Nifurtimox y benznidazol son los medicamentos disponibles. Sin embargo, solo son efectivos en la etapa aguda de la infección y no en la fase crónica o avanzada, donde los pacientes pueden desarrollar alteraciones cardíacas y gastrointestinales. Actualmente no existe una vacuna que prevenga o elimine la enfermedad, debido a los altos costos y las dificultades logísticas que implican su desarrollo, producción, aplicación y transporte (Manne *et al.*, 2013). Por estas razones, es necesario el seguimiento de una ruta que nos dirija hacia la producción rápida de vacunas de bajo costo, que sean de transporte a temperatura ambiente y de entrega oral.

La vacunación se asemeja a cuando conoces gente a través de internet, pláticas y ves fotografías de la otra persona de manera que poco a poco sabes más de ella y, cuando al fin se ven frente a frente, se tratan como si ya se conocieran tiempo atrás. Es así que las vacunas actuales consisten en una fórmula que contiene al patógeno muerto o inactivado (no causan daño), con la finalidad de que el sistema inmune reconozca el agente infeccioso y genere anticuerpos y células de memoria que, al entrar en contacto con el patógeno en la vida cotidiana, actuarán en la eliminación de la bacteria o virus sin que se padezca la enfermedad (WHO, 2020b).

Al igual que en un pastel, no es necesario probarlo todo para saber que es de chocolate o de vainilla. Lo mismo ocurre con un patógeno, ya que nuestro sistema inmune no necesita la bacteria o el virus completo sino un segmento para poder crear defensas y combatirlos. Es de lo que tratan las vacunas de nueva generación: utilizando las herramientas de la ingeniería genética y biología molecular se pueden producir segmentos

(antígenos) de los agentes infecciosos en otros organismos usándolos como pequeñas biofábricas, tales como bacterias, levaduras, microalgas o plantas (Rosales-Mendoza, 2014). Los antígenos son aquellos segmentos de los patógenos que promueven una respuesta inmune y propician que el organismo genere memoria inmunológica contra dicho agente infeccioso.

tropicales desatendidas. Por estas razones, el objetivo de este artículo es describir los esfuerzos que se están realizando para desarrollar una vacuna efectiva y de bajo costo contra la enfermedad de Chagas.

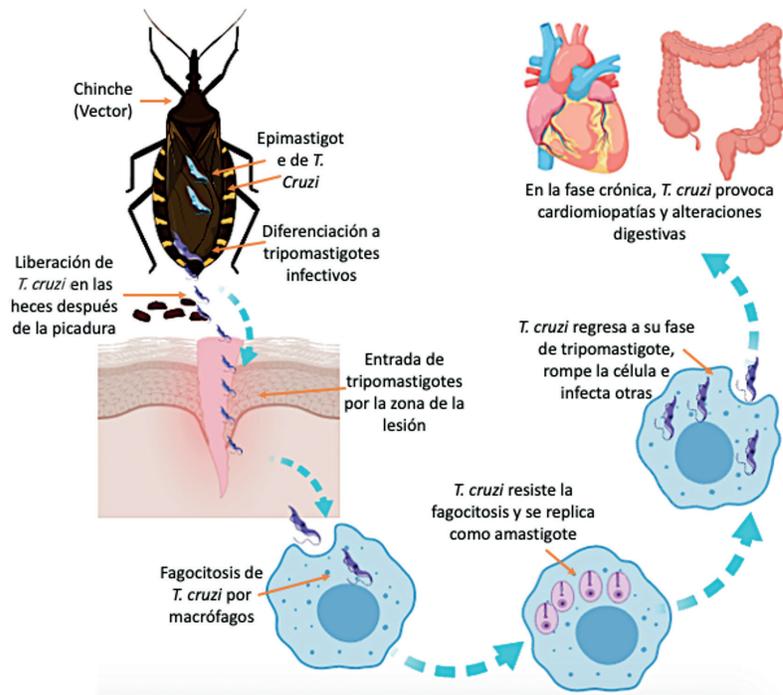


Figura 1. Esquema del mecanismo de infección de *T. cruzi* a través de la chinche besucona (Vector). Las chinches que poseen el parásito lo liberan en las heces después de realizar la picadura. *T. cruzi* ingresa por la zona de la lesión, hacia las células aledañas (incluidos los macrófagos). El parásito evade la destrucción en el interior de los macrófagos y cumple su ciclo de replicación rompiendo la célula del hospedero e infectando a otras. Después de años del inicio de la infección se puede desarrollar cardiomiopatía, megacolon o megaesófago.

Actualmente, muchas de las vacunas existentes son administradas vía parenteral (intramuscular) mediante agujas, lo que implica mayor dificultad en la distribución y aumento de los costos que limitan su uso en programas de control a nivel nacional e internacional. En efecto, dichas vacunas parenterales requieren además personal capacitado para su aplicación. Por este motivo, una vacuna administrada por vía oral podría contribuir a disminuir estas dificultades, además de eliminar el dolor asociado a una inyección con aguja y brindar una administración más segura. De esta forma la obtención de vacunas se hace más rápida y económica, y es vital en casos de pandemias y de enfermedades

VACUNAS EXPERIMENTALES DE CÉLULAS COMPLETAS CONTRA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

El uso de las células completas del parásito, inactivadas o atenuadas, podría parecer la opción más sencilla para el desarrollo de una vacuna. Sin embargo, se ha reportado que este tipo de vacunas no protegen de manera óptima debido a la alta cantidad de antígenos que presenta *T. cruzi*, que evitan que se desarrolle una respuesta inmune específica de memoria eficaz contra el parásito. Esto es como si un guiso tuviera tal cantidad de especias que no pudieras distinguir ninguna de ellas: ¿pimienta, orégano, anís? Además, tener tan alta cantidad de "especias" podría tener más probabilidades de que alguien sea alérgico a alguna de ellas y se ponga realmente enfermo con ese guiso. Entonces, si administramos



la célula completa en una vacuna, puede que haya un gran sector de la población que desarrolle una respuesta alérgica o indeseable (Keenan and Jaffee, 2012). Es así que, aunque se ha observado que la vacunación con células completas del parásito ayuda en parte a resistir desafíos letales experimentales contra *T. cruzi* en modelos animales como ratones, perros y monos, los costos de manejo y la seguridad de la aplicación son temas que sugieren que no es lo adecuado para la prevención de la EC (Ríos et al. 2019), sobre todo porque EC se presenta con mayor frecuencia en países subdesarrollados.

VACUNAS DE SUBUNIDADES CONTRA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Las vacunas de subunidades son una alternativa que surge para evitar la administración de células completas del parásito. Estas vacunas son diseñadas principalmente a partir de componentes estructurales (antígenos) del agente patógeno y, en este caso, consisten en porciones seleccionadas del parásito con base en su inmunogenicidad (reconocimiento del antígeno por el sistema inmune) y la posible respuesta protectora ante desafíos infecciosos contra el microorganismo. Los antígenos que componen este tipo de vacunas pueden ser fragmentos de ADN, polisacáridos o proteínas. Las que se basan en ADN contienen segmentos de este ácido nucleico que codifican a cierto antígeno seleccionado previamente. Algunos antígenos utilizados contra chagas de vacunas son el Tc24, TSA-1, ASP-2, entre otros (Arce-Fonseca *et al.*, 2015). La razón por la que fueron seleccionados es que se ha observado que estimulan una respuesta inmune citotóxica (eliminación de células infectadas), la cual es crucial en la prevención de la infección por *T. cruzi*, ya que este parásito presenta un ciclo infeccioso intracelular, es decir, entra a nuestras células y allí lleva a cabo su proceso de multiplicación (Cazorla *et al.*, 2009). Entonces, ¿cómo hace el sistema inmune para encontrar y destruir al parásito si se encuentra “escondido” en el interior de las células? La respuesta es a través de la acción de las células llamadas linfocitos T citotóxicos (CD8+) a quienes se les presentan antígenos de

la clase 1 del Complejo principal de Histocompatibilidad (CMH-I). Estos linfocitos localizan péptidos que son expuestos en la superficie de las células infectadas, algo así como una sirena que hace un llamado de emergencia. Cuando las CD8+ detectan ese llamado, liberan citocinas (reguladoras de la respuesta inmune) y gránulos citotóxicos (perforinas y granzimas) que provocan la apoptosis de la célula infectada y, junto con ella, se elimina a *T. cruzi* que se encuentra dentro. Es así que con la vacunación se obtendrían linfocitos CD8+ de memoria que reconocerían y destruirían al parásito desde el inicio de la infección. Sin embargo, las vacunas de ADN presentan baja inmunogenicidad por lo que requieren ser administradas con adyuvantes, empleando esquemas de inmunización más amplios y con mayores dosis (Bivona *et al.*, 2020). La alternativa que surge ante esta dificultad es el uso de esos antígenos administrados en la presentación de proteínas recombinantes, producidas en sistemas heterólogos mediante el uso de herramientas de ingeniería genética.

VACUNAS RECOMBINANTES CONTRA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Como se mencionó anteriormente, las proteínas recombinantes pueden producirse en sistemas heterólogos, es decir, en organismos diferentes tales como bacterias (ejemplo *Escherichia coli*), levaduras, microalgas o plantas, a través de la tecnología del ADN recombinante: un conjunto de técnicas que permiten aislar un gen de un organismo, para su posterior manipulación e inserción en otro diferente (ver Fig. 2).

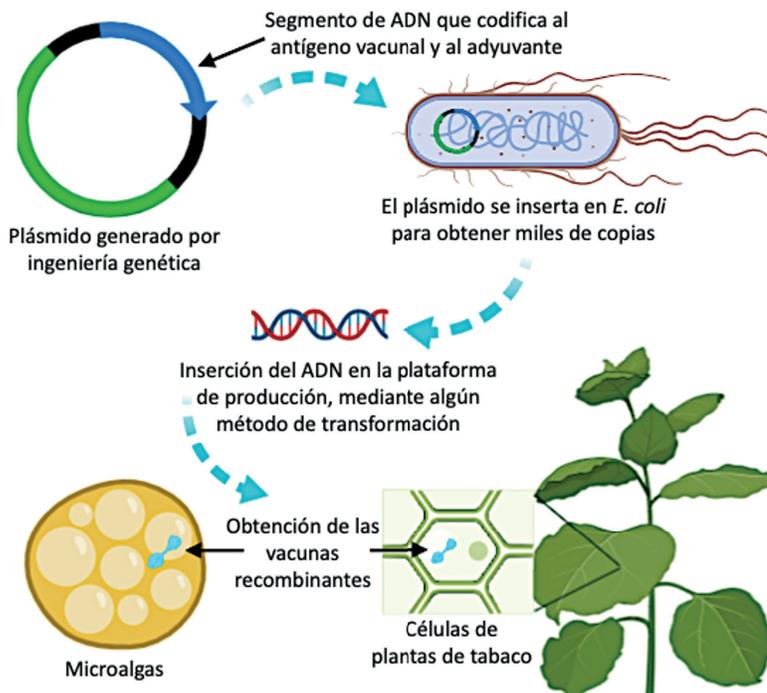


Figura 2. Esquema de la producción de antígenos vacunales recombinantes en plantas y microalgas.

Es como si alguien que habla español, aprendiera ciertas frases en otro idioma (francés, inglés, italiano). El sistema que elijamos seguirá con sus procesos metabólicos normales, pero estará produciendo el antígeno vacunal que nos interesa para inmunizar y evitar la EC. En las vacunas recombinantes también suelen requerirse adyuvantes que potencien la respuesta inmune y éstos se pueden producir al mismo tiempo, evitando añadirlos a la formulación vacunal al momento de la aplicación. En este contexto, Tc24 es una proteína de unión a calcio presente en todas las fases del parásito *T. cruzi* y es uno de los antígenos prometedores como posibles

vacunas contra la enfermedad de Chagas. En experimentos previos, se ha observado que la administración vía intraperitoneal de Tc24 en combinación con adyuvantes resulta en una disminución de la carga parasitaria y un aumento de la supervivencia en experimentos realizados en modelos de ratón y otros animales (Barry *et al.*, 2016). Sin embargo, al hablar del desarrollo de vacunas de bajo costo, la purificación de proteínas recombinantes como el Tc24 se traduce en un aumento en el costo de producción. Además, otra desventaja es la aplicación intraperitoneal a través de inyección, lo que hace necesario tener personal capacitado para su administración y tomar las medidas necesarias para el manejo y desecho adecuado de las jeringas. Es así que la entrega directa del antígeno recombinante de manera oral junto con la plataforma de producción se hace indispensable en la producción de vacunas de bajo costo.

VACUNACIÓN ORAL: RETOS Y OPORTUNIDADES

Las vacunas orales representan un nicho de oportunidades poco explorado y se ve reflejado en que la mayoría de las vacunas actuales disponibles son de aplicación inyectable (Giudice and Campbell, 2006). Una ventaja que se le puede sumar a la administración oral es el diseño de vacunas recombinantes termoestables. Esto es, que puedan permanecer a temperatura ambiente sin necesidad de la cadena fría, la cual representa cerca del 95% del costo total de la vacuna (Yuki and Kiyono, 2009). Esto se obtiene al usar la célula (bacteria, levadura, microalga, planta) de la plataforma donde se produce la vacuna como una clase de cápsula, protegiendo la proteína de la degradación por agentes térmicos y también de la acidez del estómago. El antígeno se liberaría en el intestino delgado mediante la degradación de la membrana y/o pared celular de la plataforma en el organismo inmunizado. Es así que el reconocimiento del antígeno vacunal desde el intestino nos proporcionaría una respuesta inmune completa, obteniendo memoria inmunológica a nivel de mucosas y sistémico (todo el organismo).

PLANTAS Y MICROALGAS COMO BIOFÁBRICAS DE VACUNAS ORALES

Las plantas y microalgas, al ser organismos eucariontes, tienen una maquinaria que permite la síntesis de proteínas complejas gracias a sus sistemas de glicosilación y de modificaciones postraduccionales (ambos son cambios que algunas proteínas necesitan al ser producidas para poder ser funcionales biológicamente). Se ha observado que estas biofábricas expresan antígenos recombinantes con altos rendimientos y su pared celular puede servir como sistema de entrega oral, sin la necesidad de purificar la proteína (ver Fig. 3). Además, se podrían mantener los antígenos (encapsulados en la célula) a temperatura ambiente sin que se degraden. Hasta el momento no hay estudios que reporten el uso de estas plataformas en el desarrollo de vacunas contra la enfermedad de Chagas ni en los que se evalúe la entrega del antígeno Tc24 recombinante por vía

oral (Rosales-Mendoza *et al.*, 2012). Por ello, es de gran interés evaluar la capacidad inmunoprotectora de una vacuna oral, basada en el antígeno Tc24, producida en plantas y microalgas. Dentro de los beneficios que se pueden incluir en estas plataformas para el diseño de vacunas recombinantes es que, podemos incluir secuencias de ADN que codifiquen a proteínas de interés biológico (tales como señales de retención para que la proteína no sea secretada y se quede dentro de la célula productora), así como de importancia inmunológica (adyuvantes proteicos o ligandos que ayuden a que la vacuna sea reconocida adecuadamente). Tales ensayos preclínicos se pueden llevar a cabo en modelo de ratón, los cuales son fáciles de manipular y nos podrían dar un panorama inmunológico del funcionamiento de la vacuna en sistemas biológicos.

DISCUSIÓN ACADÉMICA:

Aunque se ve lejana la obtención de una vacuna de bajo costo contra la EC en los países en desarrollo, los esfuerzos por buscar nuevas plataformas y diseños de

vacunas nos acercan cada vez más. Aún quedan retos por superar, tales como la tolerancia inmunogénica que se puede presentar en el tracto gastrointestinal, cuando el sistema inmune no reconoce o deja de reconocer el antígeno vacunal y no desarrolla una respuesta de memoria que ayude a combatir la infección (Weiner *et al.*, 2011). Esta dificultad se puede superar con la búsqueda de adyuvantes de mucosas o con ligandos específicos para células relevantes en la respuesta inmune, tales como las células M del intestino. Otro factor por superar es el bajo rendimiento del antígeno recombinante que se puede presentar en las plataformas de producción, debido principalmente al silenciamiento génico. Es como si la célula reconociera la producción de la proteína vacunal como un gasto de energía extra, por lo que decide suspender su producción por distintos mecanismos. Para ello se busca la utilización de promotores (secuencias que promueven la expresión del gen de interés) más eficientes, así como el uso de nuevas herramientas de ingeniería genética que reduzcan lo más posible el silenciamiento génico (Bañuelos-Hernández *et al.*, 2017).

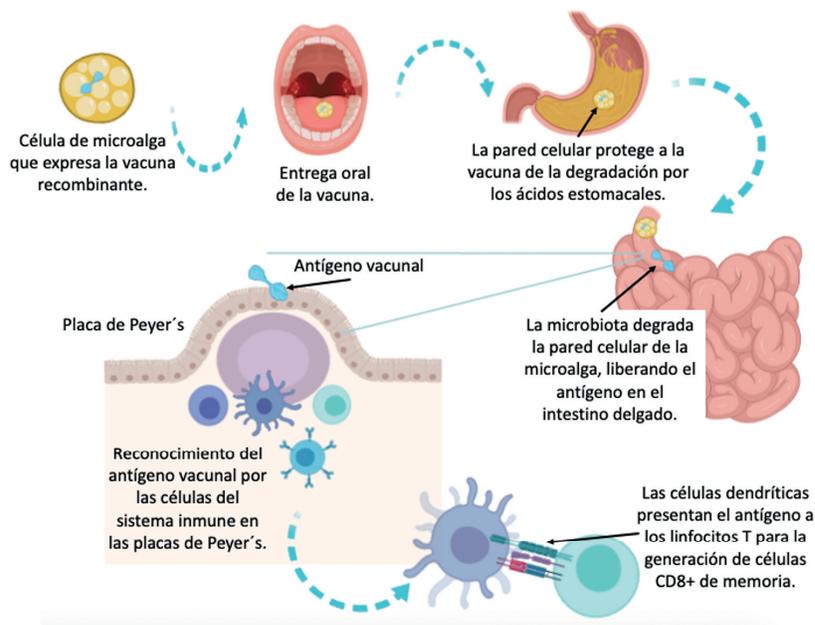


Figura 3. Esquema del reconocimiento inmunológico de la vacuna recombinante contra EC administrada vía oral dentro de la plataforma de producción. En el esquema se muestra la vacuna recombinante (Azul; dos segmentos que representan al antígeno y el adyuvante) dentro de la microalga (plataforma de producción).

El tiempo de obtención de las vacunas recombinantes es otro reto por analizar. Una posible solución es el uso del método de transformación transitoria (en horas) por *Agrobacterium tumefaciens*, el cuál consiste en el uso de esta bacteria para la inserción del gen de interés de forma transitoria en plantas o microalgas y evaluar la expresión óptima del antígeno a diferentes horas hasta encontrar el mayor rendimiento. Es así que la transformación transitoria, por ejemplo de microalgas, nos proporcionaría la vacuna recombinante en cuestión de días, reduciendo riesgos de contaminación, además de optimizar tiempo y reactivos (Márquez-Escobar *et al.*, 2018).

CONSIDERACIONES FINALES Y PERSPECTIVAS

Actualmente, en nuestro grupo de investigación se trabaja en el desarrollo de una vacuna oral de bajo costo contra la enfermedad de Chagas. La vacuna está basada en la expresión transitoria del antígeno recombinante Tc24 y el ligando de células M Co1 (como adyuvante). Se prevé producirla en



la microalga *Schizochytrium* sp. y en tabaco, utilizando sus células como sistema de entrega. Este es el primer esfuerzo del desarrollo de una vacuna oral de bajo costo contra la EC.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a los revisores y a los miembros del Grupo de Inmunología y Vacunología que hacen posible esta investigación. Se agradece al Lic. Gerardo Hernández el Diseño gráfico editorial

LITERATURA CITADA

- Arce-Fonseca, M., M. Rios-Castro, S. del Carmen Carrillo-Sánchez, M. Martínez-Cruz and O. Rodríguez-Morales. 2015. *Prophylactic and therapeutic DNA vaccines against Chagas disease*. Parasites & vectors 8 (1): 121.
- Bañuelos-Hernández, B., E. Monreal-Escalante, O. González-Ortega, C. Angulo and S. Rosales-Mendoza. 2017. *Algevir: an expression system for microalgae based on viral vectors*. Frontiers in microbiology 8: 1100.
- Barry, M. A., Q. Wang, K. M. Jones, M.J. Heffernan, M.H. Buhaya, C.M. Beaumier, P. Keegan, C.P. Brian, E. Dumonteil, M.E. Bottazzi and P.J. Hotez. 2016. *A therapeutic nanoparticle vaccine against Trypanosoma cruzi in a BALB/c mouse model of Chagas disease*. Human vaccines and immunotherapeutics 12 (4): 976-987.
- Bivona, A.E., A.S. Alberti, N. Cerny, S.N. Trinitario and E. L. Malchiodi. 2020. *Chagas disease vaccine design: the search for an efficient Trypanosoma cruzi immune-mediated control*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease 1866 (5): 165658.
- Cazorla, S.I., F.M. Frank and E.L. Malchiodi. 2009. *Vaccination approaches against Trypanosoma cruzi infection*. Expert review of vaccines 8 (7): 921-935.
- Giudice, E. L., and J. D. Campbell. 2006. *Needle-free vaccine delivery*. Advanced drug delivery reviews 58(1): 68-89.
- Keenan, B. P., and E. M. Jaffee. 2012, (June). *Whole cell vaccines—past progress and future strategies*. In Seminars in oncology 39(3): 276-286.
- Manne, J.M., C.S. Snively, J.M. Ramsey, M.O. Salgado, T. Bañrighausen, M.R. Reich. 2013. *Barriers to Treatment Access for Chagas Disease in Mexico*. PLoS neglected tropical diseases 7 (10): e2488.
- Márquez-Escobar, V.A., B. Bañuelos-Hernández and S. Rosales-Mendoza. 2018. *Expression of a Zika virus antigen in microalgae: towards mucosal vaccine development*. Journal of biotechnology 282: 86-91.
- Rios, L.E., J.C. Vázquez-Chagoyán, A.O. Pacheco, M.P. Zago and N.J. Garg. 2019. *Immunity and vaccine development efforts against Trypanosoma cruzi*. Acta Tropica 200: 105168.
- Rosales-Mendoza, S., D.O. Govea-Alonso, E. Monreal-Escalante, G. Fragoso and E. Sciutto. 2012. *Developing plant-based vaccines against neglected tropical diseases: where are we?*. Vaccine 31 (1): 40-48.

- Rosales-Mendoza, S. and J.A. Salazar-Gonzalez. 2014. *Immunological aspects of using plant cells as delivery vehicles for oral vaccines*. Expert review of vaccines 13 (6): 737-749. Weiner, H. L., A.P. da Cunha, F. Quintana and H. Wu. 2011. *Oral tolerance*. Immunological reviews 241 (1): 241-259.
- WHO, 2010. *Enfermedades tropicales desatendidas: preguntas más frecuentes*. In: https://www.who.int/topics/tropical_diseases/qa/faq/es/.
- WHO, 2020a. *La enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana)*. In: [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)).
- WHO, 2020b. *Vaccine Standardization*. In: <https://www.who.int/biologicals/vaccines/en/>.
- Yuki, Y. and H. Kiyono. 2009. *Mucosal vaccines: novel advances in technology and delivery*. Expert Review of Vaccines 8 (8): 1083–1097.

CITA DE ARTICULO:

- A. Ramos-Vega, E. Monreal-Escalante^{1,2}; C. Angulo¹. 2020. Rumbo al desarrollo de una vacuna de bajo costo contra la enfermedad de Chagas. Recursos Naturales y Sociedad, 2020. Vol. 6 (2): 13-21. <https://doi.org/10.18846/renaysoc.2020.06.06.02.0002>

Sometido: 17 de julio de 2020

Revisado: 21 de agosto de 2020

Aceptado: 18 de octubre de 2020

Editora asociada: Dra. María Antonia Guzmán-Murillo

Diseño gráfico editorial: Lic. Gerardo Hernández