

Desarrollo de vacunas frente al SARS-CoV-2

Isabel Sola, Sonia Zúñiga, Melissa Belló, Jesús Hurtado, Ricardo Requena, Li Wang y Luis Enjuanes

En enero de 2020 se conoció que un nuevo coronavirus, denominado SARS-CoV-2, causaba infecciones respiratorias que podían ser mortales en los humanos. En marzo de 2020, la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró el estado de pandemia para activar y ampliar los mecanismos de respuesta frente a la transmisión del virus SARS-CoV-2 y la enfermedad causada por él (COVID-19). Mientras el virus avanzaba hasta causar más de 65 millones de infecciones y 1,5 millones de muertes (OMS, 4 de diciembre de 2020), la comunidad científica se ha enfrentado al desafío de desarrollar vacunas y terapias frente al SARS-CoV-2. Once meses después de las primeras noticias del virus, algunos de los candidatos a vacuna (Pfizer-BioNTech) están recibiendo la autorización de emergencia o condicional de las agencias reguladoras de medicamentos de Europa, los Estados Unidos y Canadá. Estas agencias han revisado los datos de seguridad y eficacia obtenidos en las distintas fases de los ensayos clínicos realizados en humanos. Además, se ha estudiado

la consistencia y la calidad de los procesos de fabricación. El conjunto de los resultados disponibles, que muestran una eficacia del 95% y la ausencia de efectos adversos graves, permite concluir que los beneficios conocidos y potenciales de la vacuna exceden los riesgos, por lo que se autoriza su uso en humanos.

En condiciones normales, el desarrollo de vacunas puede necesitar entre 4 y 15 años. La velocidad sin precedentes con que se están desarrollando vacunas frente al SARS-CoV-2 podría mirarse con cierta desconfianza y dudas sobre la calidad y el rigor científico que se están aplicando al proceso. Sin embargo, hay razones que explican por qué en menos de un año de investigación ha sido posible obtener vacunas que cumplen con los requisitos irrenunciables de eficacia y seguridad, y están ya disponibles para administrar a la población. Por una parte, se disponía de conocimientos científicos previos sobre otros coronavirus muy relacionados con el SARS-CoV-2, que han sido esenciales para orientar el diseño de los candidatos a vacuna. Por otra parte, el estado actual de

la ciencia ha permitido aplicar al desarrollo de vacunas tecnologías muy innovadoras de biotecnología y nanotecnología para obtener nuevas candidatas con un potencial todavía desconocido. Además, el esfuerzo conjunto de grupos de investigación, empresas farmacéuticas y organismos reguladores, junto con una inversión sin precedentes, han tenido un efecto sinérgico para alcanzar el objetivo de la vacuna en un tiempo mínimo.

Lecciones aprendidas sobre otros coronavirus humanos

Antes del SARS-CoV-2, en el siglo XXI emergieron otros dos coronavirus humanos altamente patógenos. El SARS-CoV apareció en China en 2002, y hasta 2004, cuando se declaró el final de la epidemia, causó unas 8000 infecciones y 800 muertes. En 2012 emergió en Oriente Medio el MERS-CoV, que causa sobre todo infecciones zoonóticas esporádicas transmitidas desde los camellos a los humanos. Desde entonces, se han confirmado más de 2200 infecciones y 850 muertes. Hasta ahora no se dispone de ninguna vacuna frente al SARS-CoV y el MERS-CoV autorizada para su uso en humanos. Sin embargo, sí existía una amplia investigación preclínica sobre estas vacunas e incluso algunas candidatas de vacunas de SARS-CoV^{1,2} y MERS-CoV^{3,4} se habían analizado en ensayos clínicos de fase 1 en

humanos. Este conocimiento previo, junto con toda la información disponible del desarrollo de vacunas frente a coronavirus animales, permitió saber que la proteína de las espículas (S) del virus era el antígeno necesario y esencial para el desarrollo de la vacuna. Esta proteína posibilita la entrada del virus en la célula, al mediar la unión al receptor celular y la fusión de las membranas viral y celular, que precede a la liberación del genoma al citoplasma celular⁵. La proteína S es la principal inductora de anticuerpos neutralizantes, que se unen al virus e impiden que entre en la célula y comience su ciclo infectivo. Un estudio mostró que la inmunogenicidad de la proteína S del MERS-CoV para inducir anticuerpos neutralizantes mejoraba al introducir en su secuencia dos cambios de aminoácido a prolina⁶. Y esta información se ha aplicado al diseño racional de vacunas candidatas frente al SARS-CoV-2.

La investigación previa del SARS-CoV y el MERS-CoV⁷, así como el estudio de la respuesta inmunitaria de personas recuperadas de COVID-19, indicaba que, además de los anticuerpos neutralizantes, la respuesta celular de linfocitos T también es relevante para la protección⁸, por lo que las vacunas deberían inducir ambas respuestas, tanto la de anticuerpos como la de células T. Estas células potencian la

producción de anticuerpos (T-CD4), la destrucción de las células infectadas (T-CD8) y la memoria inmunitaria. En los pacientes de COVID-19 se han identificado linfocitos T activados no solo por la proteína S, sino también por otras proteínas virales estructurales (M y N) y no estructurales (nsps), lo que sugiere que, aparte de la imprescindible proteína S, otras proteínas del virus podrían ser necesarias en las vacunas para conseguir una protección óptima. Los estudios de vacunas frente al SARS-CoV en modelos animales mostraron que algunas candidatas podían tener problemas de seguridad al potenciar la enfermedad respiratoria causada por la infección, dando lugar a inmunopatologías⁹. Estos efectos adversos, que se han asociado a respuestas inmunitarias desequilibradas¹⁰, serían inaceptables, por lo que deben vigilarse cuidadosamente en el desarrollo de vacunas frente al SARS-CoV-2.

Nuestro Laboratorio de Coronavirus del Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC) lleva estudiando desde 2002 los mecanismos de virulencia del SARS-CoV y del MERS-CoV con el objetivo de identificar antivirales y desarrollar vacunas. En los últimos años hemos trabajado en una nueva generación de vacunas

frente al MERS-CoV que consisten en replicones de RNA que son deficientes en propagación y competentes en replicación. Utilizando técnicas de ingeniería genética, se han eliminado del genoma del virus los genes implicados en la propagación y la patología viral, lo que los hace muy seguros. Sin embargo, se han conservado los genes necesarios (S, M, N y nsps) para inducir una respuesta inmunitaria potente y equilibrada. Además, los replicones tienen capacidad autorreplicativa, por lo que aumentan la dosis de antígeno dentro de la célula y evitan la necesidad de administrar varias dosis de vacuna¹¹. En ensayos preclínicos en modelos animales, estos replicones RNA han mostrado una protección del 100% frente a la infección por MERS-CoV. Además, inducen una inmunidad esterilizante, que impide que el virus se replique en los animales vacunados, por lo que no solo protegen frente a la enfermedad, sino que además impiden la transmisión del virus. Actualmente nuestro grupo está desarrollando una posible vacuna frente al SARS-CoV-2 que consiste también en replicones de RNA incapaces de propagarse, con dos formulaciones alternativas: 1) síntesis *in vitro* del RNA y formación de nanopartículas lipídicas, y 2) producción del RNA dentro de células empaquetadoras que forman partículas similares a virus (VLP).

Nuevas tecnologías aplicadas a las vacunas

Alrededor del 90% de las 200 vacunas candidatas en desarrollo utilizan nuevas tecnologías no empleadas hasta ahora en las vacunas autorizadas para uso humano (<https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>). Las vacunas tradicionales consistían fundamentalmente en virus inactivados químicamente o en virus «vivos» atenuados, que no causaban enfermedad. Aunque estas aproximaciones han resultado muy útiles históricamente para controlar las enfermedades infecciosas, tienen algunas limitaciones que las nuevas estrategias de vacunas pretenden superar. Por una parte, problemas de seguridad por la posible presencia de virus virulento en la preparación de la vacuna o bien por la reversión a la virulencia de los virus atenuados. Además, la obtención de variantes atenuadas del virus requiere mucho más tiempo del disponible actualmente.

La biotecnología actual ha permitido desarrollar de forma rápida nuevas estrategias de vacunas diseñadas racionalmente para obtener respuestas inmunitarias óptimas, de acuerdo con los conocimientos previos sobre la inmunidad frente al coronavirus¹². Aproximadamente el 40% de las vacunas en fase preclínica consisten en la producción

de proteínas recombinantes, que pueden ser la proteína S completa, su dominio de unión al receptor (RBD) o combinaciones de varias proteínas virales (S, M, E) que forman VLP. Para ello se utilizan distintos sistemas de expresión, como células de insecto o de mamífero, levaduras o plantas.

Los vectores virales no replicativos representan alrededor del 10% de las vacunas candidatas en desarrollo. Consisten en virus que se han modificado mediante ingeniería genética para expresar la proteína S del SARS-CoV-2 y para eliminar genes esenciales para la replicación, lo que aumenta su seguridad. La mayoría utilizan como vectores adenovirus (Ad), el virus de la viruela Ankara modificado o el virus parainfluenza humano. Una de sus limitaciones es la existencia en humanos de inmunidad previa frente al vector viral, especialmente cuando es necesario emplear dos dosis de la vacuna, lo que podría reducir su efectividad. Para solucionarlo, se utilizan vectores de origen animal, como adenovirus de chimpancé (ChAd), o se alternan distintos serotipos humanos (Ad5-Ad26). Algunas de las candidatas más avanzadas corresponden a esta categoría de vacunas, como ChAdOx1 nCoV-19, desarrollada por la Universidad de Oxford y AstraZeneca¹³; AdV26-S, desarrollada por Janssen¹⁴; AdV5-S, desarrollada por

CanSino^{15,16}; y la combinación de Ad5-S y Ad26-S, desarrollada por el Instituto Gamaleya de Rusia¹⁷.

Una de las estrategias más novedosas y avanzadas es la de las vacunas de RNA mensajero (mRNA), que contienen la información genética mínima de los antígenos virales, como la proteína S, para expresarse dentro de la célula. Además del mRNA de la proteína S, existen RNA autorreplicativos que se multiplican en la célula, por lo que se necesitan dosis mucho más pequeñas¹¹. El mRNA es una molécula mediadora para la síntesis de las proteínas en el citoplasma celular. Su vida en la célula es relativamente breve y, además, no puede integrarse en el genoma celular de DNA, lo que aumenta su seguridad. Para su administración, el mRNA debe protegerse en nanopartículas lipídicas. Las vacunas candidatas desarrolladas por Moderna, en colaboración con los National Institutes of Health de los Estados Unidos¹⁸, y por Pfizer-BioNTech¹⁹, han obtenido resultados muy prometedores en ensayos clínicos de fase 3²⁰, mejores incluso que lo esperado, al ser una tecnología tan innovadora. En diciembre de 2020, la vacuna de Pfizer-BioNTech ha obtenido la autorización de emergencia para su administración en los Estados Unidos, Canadá y Europa. Debido a la novedad de la tecnología, no hay experiencia sobre las limitaciones que puedan aparecer

durante su producción a gran escala y la conservación a largo plazo para su distribución masiva.

Inversión y esfuerzo sin precedentes

La secuencia convencional de desarrollo de vacunas empieza con la investigación preclínica, que incluye el diseño de las candidatas, su caracterización en el laboratorio, en cultivos celulares, y la evaluación de su eficacia y seguridad en modelos animales adecuados. Si los resultados obtenidos en modelos animales son satisfactorios, la vacuna candidata avanza hacia los ensayos clínicos en humanos, mucho más costosos y complejos de llevar a cabo. El hecho de que en los primeros meses de la pandemia no hubiera todavía modelos animales que reprodujeran la enfermedad grave observada en los humanos alteró la secuencia habitual de evaluación de las vacunas. Algunas se evaluaron primero en ensayos clínicos en humanos de fase 1 antes de haberse estudiado en modelos animales en la fase preclínica. Por otra parte, para acelerar el desarrollo de las vacunas, las fases 1, 2 y 3 de los ensayos en los humanos se han realizado en paralelo en lugar de secuencialmente. Habitualmente, las fases 1 y 2, que estudian la seguridad y la inmunogenicidad, tienen una duración de más de 1 año para conocer la evolución y la

duración de la respuesta inmunitaria que inducen. En la actual situación de emergencia, si una vacuna demuestra en los primeros meses del ensayo de fase 1/2 que es segura, es decir, que no causa efectos adversos relevantes, y además induce una respuesta inmunitaria adecuada, se avanza hacia la fase 3 del ensayo. Algunas compañías farmacéuticas han asumido el riesgo de empezar la producción a gran escala de la vacuna sin la certeza de que pudiera demostrar ser eficaz en la fase 3. Al mismo tiempo, la fase 2 continuaba para completar la caracterización de la respuesta inmunitaria y su longevidad.

La fase 3 del ensayo, que implica decenas de miles de voluntarios y tiene una duración de unos 2 años, evalúa la seguridad y la eficacia de la vacuna. Si los resultados intermedios de esta fase han sido suficientemente positivos en cuanto a seguridad y eficacia (50% como mínimo), las agencias reguladoras de medicamentos han acelerado el proceso de evaluación, que en condiciones normales podría durar 1 o 2 años. Esta autorización de emergencia o condicional no implica que el ensayo se interrumpa, sino que podría continuar para completar el análisis y responder a preguntas fundamentales como la duración de la inmunidad y de la protección.

En diciembre de 2020 había unas 200 vacunas candidatas en

desarrollo, 50 de ellas en fase clínica y aproximadamente una decena en fase 3. Un esfuerzo de estas proporciones en la investigación de una vacuna, en cuanto a financiación y movilización de recursos humanos, no tiene precedentes en la historia de la ciencia y aumenta enormemente la probabilidad de alcanzar con éxito el objetivo de obtener una vacuna segura y eficaz frente al SARS-CoV-2 en un plazo de tiempo mínimo.

Desafíos e incertidumbres sobre las vacunas

El desarrollo simultáneo de cientos de posibles vacunas frente al SARS-CoV-2 se ha descrito a veces como una carrera. Esta percepción excluiría a la mayoría de los participantes que no lleguen en los primeros puestos a la fase 3 de ensayos clínicos y a su autorización. Sin embargo, a pesar de los resultados optimistas que estamos conociendo sobre las vacunas más avanzadas, todavía hay bastantes incertidumbres respecto a su potencial real para terminar con la pandemia. Las cifras de eficacia conocidas de algunas vacunas de mRNA exceden el 90%, algo ciertamente prometedor. Sin embargo, todavía no se sabe si la protección que proporcionan estas vacunas consiste en reducir los síntomas clínicos de la enfermedad o si son lo suficientemente potentes como para impedir incluso la replicación inicial del virus y, con ello, la transmisión. Responder a esta

pregunta es muy importante para adoptar medidas complementarias que protejan de la infección a las personas no vacunadas o que no responden favorablemente a la vacunación.

En relación con esta posibilidad, prácticamente todas las vacunas candidatas en desarrollo se administran por vía intramuscular, por lo que inducen fundamentalmente una inmunidad sistémica de anticuerpos IgG, que protege sobre todo las vías respiratorias bajas. Sin embargo, la inmunidad natural frente al SARS-CoV-2 incluye también anticuerpos IgA, que se secretan en las mucosas y protegen las vías respiratorias altas, que son la puerta de entrada del virus. Para conseguir una inmunidad esterilizante, que impida la transmisión del virus, muy probablemente será necesario inducir, además de la inmunidad sistémica, una inmunidad secretora IgA que actúe en la mucosa nasal por la que entra el virus. Para ello podrían necesitarse nuevas generaciones de vacunas que se administren por

vía intranasal para proporcionar inmunidad en las mucosas²¹.

Por otra parte, todavía se desconoce la duración de la inmunidad frente al SARS-CoV-2, tanto la que resulta de la infección natural como la inducida por las vacunas. Con el tiempo, si se confirma que la inmunidad declina, como se ha observado con otros coronavirus²², será necesario seguir revacunando para mantener la protección.

Se sabe que la inmunosenescencia (el deterioro del sistema inmunitario asociado a la edad) reduce la capacidad de responder eficazmente a las infecciones y también a la vacunación. Por tanto, uno de los mayores desafíos del desarrollo de vacunas es demostrar que son seguras y eficaces en las personas mayores, que son las más vulnerables al SARS-CoV-2. Igualmente, debe confirmarse que las vacunas protegen a personas con enfermedades de base (diabetes, obesidad, enfermedades cardiovasculares...), que son también poblaciones en riesgo de sufrir formas graves de la infección.

Que exista una diversidad de vacunas candidatas frente al SARS-CoV-2, distintas en su naturaleza y mecanismo de acción, es una oportunidad de disponer de estrategias complementarias para conseguir una protección óptima del conjunto de la población. Por otro lado, el hecho de que utilicen distintos sistemas de producción y tengan diferentes requerimientos de almacenamiento y distribución permite multiplicar las opciones de acelerar la vacunación masiva.

Dado que los coronavirus son patógenos emergentes que se transmiten a los humanos desde los animales, y que en este siglo el SARS-CoV-2 es el tercer coronavirus mortal que ha aparecido, es bastante probable que un nuevo coronavirus pueda causar otra pandemia en el futuro. Todos los avances en el conocimiento de las vacunas frente al SARS-CoV-2 realizados hasta ahora serán de gran utilidad para enfrentarnos con mayor eficacia y rapidez a nuevos coronavirus pandémicos.

Bibliografía

1. Martin JE, Louder MK, Holman LA, et al. A SARS DNA vaccine induces neutralizing antibody and cellular immune responses in healthy adults in a phase I clinical trial. *Vaccine*. 2008;26:6338-43.
2. Lin JT, Zhang JS, Su N, et al. Safety and immunogenicity from a phase I trial of inactivated severe acute respiratory syndrome coronavirus vaccine. *Antivir Ther*. 2007;12:1107-13.

3. Modjarrad K, Roberts CC, Mills KT, et al. Safety and immunogenicity of an anti-Middle East respiratory syndrome coronavirus DNA vaccine: a phase 1, open-label, single-arm, dose-escalation trial. *Lancet Infect Dis*. 2019;19:1013-22.
4. Folegatti PM, Bittaye M, Flaxman A, et al. Safety and immunogenicity of a candidate Middle East respiratory syndrome coronavirus viral-vectored vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, uncontrolled, phase 1 trial. *Lancet Infect Dis*. 2020;20:816-26.
5. Enjuanes L, Gorbalenya AE, de Groot RJ, et al. The Nidovirales. En: Mahy BWJ, Van Regenmortel M, Walker P, Majumder-Russell D, editores. *Encyclopedia of Virology*. 3rd ed. Oxford: Elsevier; 2008. p. 419-30.
6. Pallesen J, Wang N, Corbett KS, et al. Immunogenicity and structures of a rationally designed prefusion MERS-CoV spike antigen. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2017;114:E7348-57.
7. Sariol A, Perlman S. Lessons for COVID-19 immunity from other coronavirus infections. *Immunity*. 2020;53:248-63.
8. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, et al. Targets of T cell responses to SARS-CoV-2 coronavirus in humans with COVID-19 disease and unexposed individuals. *Cell*. 2020;181:1489-501 e15.
9. Liu L, Wei Q, Lin Q, et al. Anti-spike IgG causes severe acute lung injury by skewing macrophage responses during acute SARS-CoV infection. *JCI Insight*. 2019;4:e123158.
10. Tseng CT, Sbrana E, Iwata-Yoshikawa N, et al. Immunization with SARS coronavirus vaccines leads to pulmonary immunopathology on challenge with the SARS virus. *PLoS One*. 2012;7:e35421.
11. Almazan F, DeDiego ML, Sola I, et al. Engineering a replication-competent, propagation-defective Middle East respiratory syndrome coronavirus as a vaccine candidate. *MBio*. 2013;4:e00650-13.
12. Krammer F. SARS-CoV-2 vaccines in development. *Nature*. 2020;586:516-27.
13. Voysey M, Clemens SAC, Madhi SA, et al. Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK. *Lancet* 2021;397:99-111.
14. Mercado NB, Zahn R, Wegmann F, et al. Single-shot Ad26 vaccine protects against SARS-CoV-2 in rhesus macaques. *Nature*. 2020;586:583-8.
15. Zhu FC, Li YH, Guan XH, et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial. *Lancet*. 2020;395:1845-54.
16. Zhu FC, Guan XH, Li YH, et al. Immunogenicity and safety of a recombinant adenovirus type-5-vectored COVID-19 vaccine in healthy adults aged 18 years or older: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet*. 2020;396:479-88.
17. Logunov DY, Dolzhikova IV, Zubkova OV, et al. Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia. *Lancet*. 2020;396:887-897.
18. Jackson LA, Anderson EJ, Roupael NG, et al. An mRNA vaccine against SARS-CoV-2 – preliminary report. *N Engl J Med*. 2020;383:1920-31.
19. Mulligan MJ, Lyke KE, Kitchin N, et al. Phase I/II study of COVID-19 RNA vaccine BNT162b1 in adults. *Nature*. 2020;586:589-93.
20. Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, et al. Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine. *N Engl J Med*. 2020;383:2603-15.
21. Hassan AO, Kafai NM, Dmitriev IP, et al. A single-dose intranasal ChAd vaccine protects upper and lower respiratory tracts against SARS-CoV-2. *Cell*. 2020;183:169-184 e13.
22. Tang F, Quan Y, Xin ZT, et al. Lack of peripheral memory B cell responses in recovered patients with severe acute respiratory syndrome: a six-year follow-up study. *J Immunol*. 2011;186:7264-8.