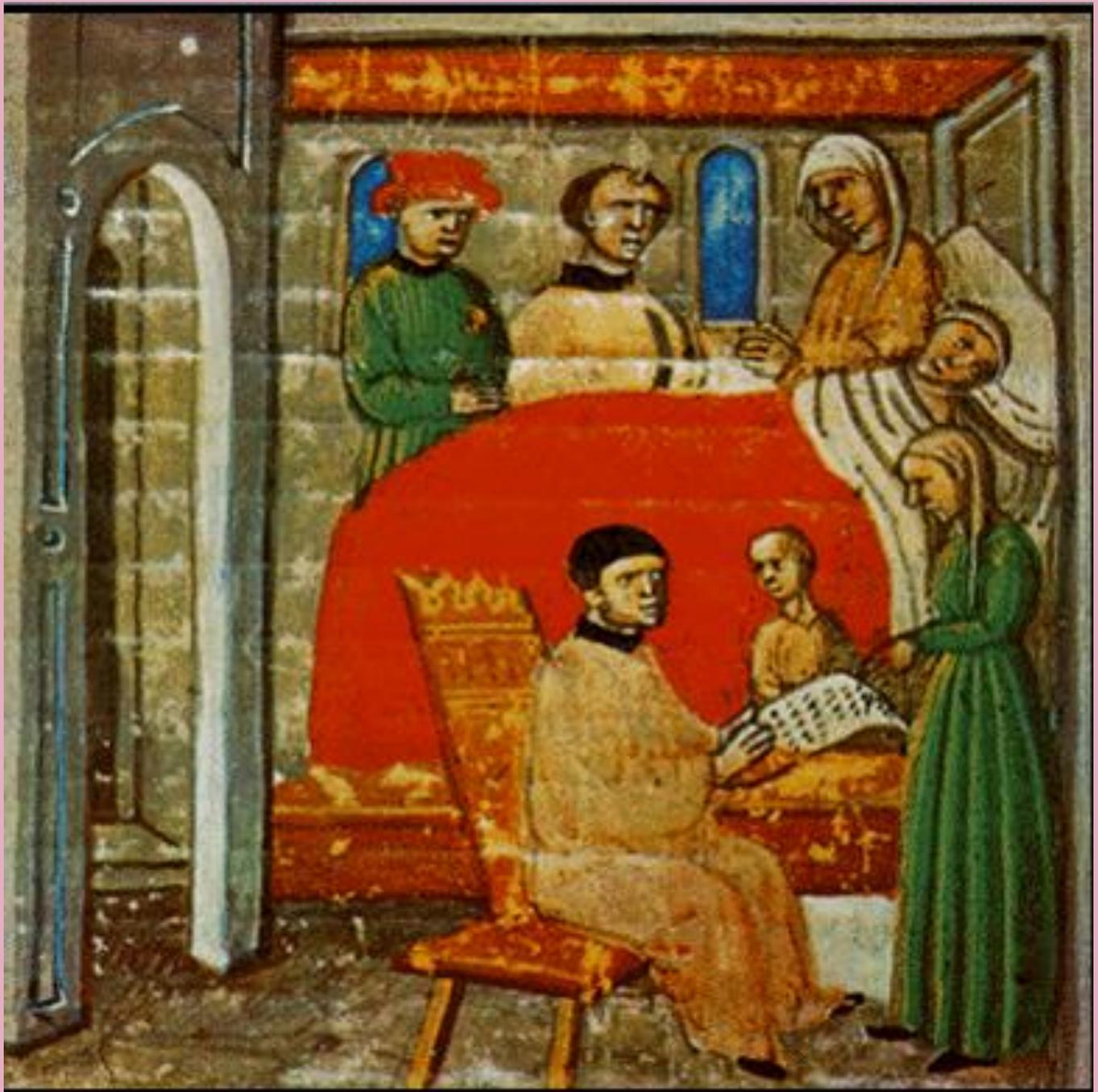


Boletín de la SPAO

SOCIEDAD DE PEDIATRÍA DE ANDALUCÍA ORIENTAL



EDITORIAL. VACUNAS Y DERECHO A LA SALUD EN EL SIGLO XXI - J. UBEROS

Conservantes en vacunas - M. Núñez-Torrón

INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO DE NUEVAS VACUNAS FRENTE A INFECCIONES BACTERIANAS ENTÉRICAS -
MC. ÁLVAREZ CASTILLO

Papel de las vacunas en el desarrollo de enfermedades autoinmunes - M^a. E. Muñoz



Boletín de la SPAO
(ISSN: 1988-3420) Órgano de
expresión de la Sociedad de Pediatría
de Andalucía Oriental

Editores Jefe

Antonio Muñoz Hoyos
José Uberos Fernández

Editor Asociado

Antonio Molina Carballo

Director honorífico

Gabriel Galdó Muñoz

Consejo editorial

Gabriel Galdó Muñoz
Carlos Ruiz Cosano
María José Miras Baldo
Manuel García del Río
Eduardo Narbona López
Carlos Roca Ruiz
Juan Manuel Fernández García
Emilio José García García
José María Gómez Vida
Francisco Giménez Sánchez
José Uberos Fernández
Antonio Muñoz Hoyos
Antonio Molina Carballo
Julio Ramos Lizana
Custodio Calvo Macías
María Ángeles Ruiz Extremera
José Miguel Ramón Salguero
Pilar Azcón González de Aguilar
José Maldonado Lozano
Carlos Trillo Belizón
David Barajas de Frutos
Natalia Cutillas Abellán
María del Mar Vázquez del Rey
Antonio Bonillo Perales
Adolfo Sánchez Marengo
Carlos Jiménez Álvarez
Ana Martínez-Cañabate Burgos
Francisco Girón Caro
José Murcia García
Emilio del Moral Romero
María Angeles Vázquez López
José Murcia García
Victor Bolivar Galiano
José Antonio Martín García
Ana María Gómez Vélez

Granada, España
Gran Vía de Colón 21-3º
contacto@spao.info

Normas de Publicación en
http://www.spao.info/Boletin/normas_publicacion.php

Publicación trimestral

CONTENIDOS

Boletín de la SPAO vol 2, 3. 2008

Editorial

Vacunas y derecho a la salud en el siglo XXI.
J. Uberos. Editor del Boletín de la SPAO.
Págs. 191-192.

Artículo de revisión

Conservantes en vacunas.
María Núñez-Torrón López. Jefe de Servicio
de Sanidad Exterior. Vigo. Págs. 193-209.

Artículo de revisión

Investigación y desarrollo de nuevas vacunas
frente a infecciones bacterianas entéricas.
María del Carmen Álvarez Castillo.
Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid. Págs.
210-229.

Artículo de revisión

Papel de las vacunas en el desarrollo de
enfermedades autoinmunes.
María Elvira Muñoz Vicente. Servicio de
Pediatría. Hospital Universitario Dr. Peset.
Valencia. Págs. 230-239.

Artículo de revisión

Vacunas terapéuticas: Utilidad en oncología.
J. Uberos. Dpto. Pediatría. Facultad de
Medicina. Universidad de Granada. Págs. 240-256.

Humanidades

Manuel de Falla y Granada.
A. M. Gómez. Dpto. de Historia del Arte.
Universidad Granada (España). Págs. 257-62.

Cubierta: La ilustración de la portada de este número es de la Biblioteca Universitaria de Bolonia. Miniatura del "Canc" de Avicena. Siglo XV.

Vacunas y derecho a la salud en el siglo XXI

José Uberos Fernández
Editor del Boletín de la SPAO

Editorial

Decía Séneca que “el trabajo y la lucha llaman siempre a los mejores” y en ésta línea el presente número de Bol. SPAO aborda temas de actualidad en vacunología moderna. En un primer artículo desarrollado por la Dra. Nuñez-Torrón, Jefe de Servicio de Sanidad Exterior de Vigo (Pontevedra) y Especialista Universitaria en Vacunas, se debate un aspecto polémico como la utilización de conservantes en vacunas. Qué duda cabe, que la utilización de conservantes ha servido de excusa a muchos grupos antivacunas para imputar supuestos efectos indeseables a la vacunación, efectos que dicho sea de paso, y a la luz de la evidencia científica han quedado en meras imputaciones sin ningún fundamento. Sin embargo, debo aprovechar esta ocasión para aclarar que la imprescindible utilización de conservantes en los viales multidosis de muchas vacunas ha permitido abaratar la distribución de vacunas entre la población de los países del tercer mundo y minimizar riesgos. La observación de una supuesta neurotoxicidad de las vacunas con tiomersal ha sido el punto de partida para exigir la progresiva presentación de las vacunas en viales monodosis que permiten prescindir del conservante, con el consiguiente incremento del precio por dosis de vacuna. No hace falta decir que los principales perjudicados en esta estrategia son, como no, los países menos desarrollados, países que además presentan la problemática de unas coberturas vacunales netamente mejorables.

La importancia que para la salud pública ha supuesto la implantación de un calendario de vacunaciones infantiles

sistemáticas esta fuera de toda duda. No obstante, los mayores avances en cuanto a disminución de morbilidad y mortalidad se han producido cuando han podido hacerse efectivas mejoras en las condiciones básicas de higiene de la población. Me refiero a distribución de aguas potables, cloración de aguas, depuración de aguas residuales y residuos sólidos. En los inicios del siglo XXI aspectos tan básicos en salud pública continúan siendo asignaturas pendientes en el tercer mundo; situación que comienza a verse agravada también en los países desarrollados, donde de la mano de la inmigración, la marginalidad y las desigualdades sociales se crean bolsas de pobreza periurbanas que reproducen condiciones de vida insalubres que atentan contra la salud pública del resto de la población. En esta línea la Dra. M^a Carmen Álvarez, Especialista Universitaria en vacunas, expone en su artículo de revisión el desarrollo de nuevas vacunas frente a infecciones bacterianas entéricas, aspecto antiguo y sobre el que se han obtenido desiguales resultados de efectividad en el transcurso de estos años. A pesar de ello, con el auge de los viajes internacionales esta línea de investigación ha recibido nuevo impulso por parte de la industria farmacéutica. Sin desechar ningún esfuerzo dirigido a mejorar el estado inmunológico de la población, que duda cabe que estos esfuerzos deben ir de la mano de otros básicos en salud pública a los que ya nos hemos referido.

Aspectos novedosos en vacunología moderna son el desarrollo de vacunas terapéuticas frente a dos grupos de patologías prevalentes como son las enfermedades autoinmunes y el cáncer. La

Dra. Elvira Muñoz, pediatra e igualmente Especialista Universitaria en vacunas revisa el estado actual del conocimiento sobre enfermedades autoinmunes y su vacunación, tanto en lo relativo a posibles indicaciones terapéuticas de las vacunas en estas patologías, como a la imputación de las vacunas en el aumento relativo de la patología autoinmune en las últimas décadas. Las afirmaciones realizadas en 1998 por E. Marshall y A. Hall de la relación existente entre un incremento de los casos de esclerosis múltiple y vacunación frente a hepatitis B, obligó al gobierno Francés a suspender la vacunación sistemática frente a hepatitis B en octubre de 1998. No deja de sorprender que vacunas que tienen un coste relativamente bajo, y que pueden tener un alto impacto sobre la salud de la población (baste recordar que más de 2 billones de personas en el mundo tienen serologías positivas a hepatitis B), se vean periódicamente envueltas en polémicas que aunque demostradas falsas, dañan su implantación en los programas de vacunación sistemáticos.

Con el aumento de la esperanza de vida en los países mas industrializados, la patología tumoral comienza a adquirir mayor protagonismo; hasta el punto que junto con la patología cardiovascular se convierten en los grandes retos para la salud pública en los países industrializados. El mayor conocimiento del funcionamiento del sistema inmune, sobre todo desde la epidemia de VIH en la década de los 80 ha llevado a materializar estrategias terapéuticas que tienen por finalidad reactivar un sistema inmune que se hace tolerante frente a antígenos tumorales. En el artículo titulado "Vacunas terapéuticas: Utilidad en oncología" se desarrollan y matizan las diferentes estrategias terapéuticas que han obtenido resultados esperanzadores en esta materia. Qué duda cabe que en los próximos años asistiremos a logros que permitirán en muchos casos ofrecer curación donde antes existía desesperanza.

De todos estos aspectos, sin duda novedosos, quiero exponer una reflexión.

El desarrollo científico, y de la vacunología moderna en particular, ha permitido dar cumplimiento en gran medida a un derecho fundamental y legítimo de la población como es el derecho a la salud. Sin embargo, el impacto económico que el mantenimiento de los programas vacunales tienen sobre los países, hace que el legítimo derecho a la salud tan sólo se haga efectivo en una minoría de la población mundial, de forma que los éxitos de las vacunas y de los programas de vacunación más ambiciosos –por consiguiente más costosos-, no han hecho sino ahondar en las diferencias entre países ricos y pobres. Mientras en países industrializados nos debatimos en la necesidad de costear con dinero público programas millonarios de vacunación, en los países en desarrollo algunas prioridades básicas en salud pública como el acceso al agua potable y la erradicación del hambre no están todavía resueltas.

Conservantes en vacunas

María Nuñez-Torrón López
Jefe de Servicio de Sanidad Exterior. Vigo.

Artículo de revisión

En julio de 1999 la Academia Americana de Pediatría, junto con el Servicio Público de Salud, lanzaba una alerta a los médicos y laboratorios fabricantes referente al uso del tiomersal como conservante en vacunas, inmunoglobulinas y algunos preparados oftalmológicos debido a la aparición de casos de neurotoxicidad tras la administración de estas vacunas a niños pequeños.

Meses más tarde diferentes organismos se plantean la posibilidad de que las vacunas no contengan tiomersal como conservante o, que éste sea reemplazado por otro sin causar alteraciones en el programa de vacunación. Este propósito no fue tarea fácil, pues era necesario tiempo para disponer de otro conservante seguro y eficaz; actualmente las nuevas estrategias son el desarrollo de vacunas que contengan múltiples antígenos con el fin de disminuir la dosis de tiomersal requerida o la sustitución de las presentaciones multidosis por vacunas monodosis a fin de eliminar la presencia de tiomersal.

Los conservantes suelen ser sustancias consideradas inertes, sin embargo, no debemos olvidar nunca que siempre que se administra un medicamento existe un riesgo potencial de reacciones adversas debidas a estos conservantes. Pequeñas dosis de una sustancia pueden ser inocuas, pero dosis

elevadas pueden ser potencialmente tóxicas.

Las precauciones deben extremarse en el caso de los niños, especialmente en recién nacidos debido a la inmadurez de sus órganos, pues no pueden metabolizar correctamente sustancias que para otros pacientes resultarían inocuas. Del mismo modo, es conveniente aplicar el mismo cuidado a mujeres embarazadas ya que este conservante y otros derivados del mercurio pueden afectar a los tejidos inmaduros del feto.

Como es sabido, las vacunas se encuentran compuestas por:

- **Componente activo:** Son los antígenos (virus, bacterias...) de la enfermedad de la que deseamos proteger. Son los responsables de la respuesta inmune protectora.
- **Líquido de suspensión:** en el que va disuelto o emulsionado el componente activo para que sea posible su administración.
- Pequeñas cantidades de tres tipos de sustancias que garantizan que las vacunas sean estériles, eficaces y seguras, estas sustancias son:
 - Los **adyuvantes:** que aumentan la capacidad de la vacuna de estimular el sistema inmunológico del organismo para combatir la enfermedad. Los coadyuvantes también promueven respuestas más

rápidas, potentes y persistentes a las enfermedades (aumentan la respuesta del individuo al componente activo de la vacuna).

- Los **estabilizantes**: que mantienen la eficacia de las vacunas, aún exponiéndolos a cambios de temperatura, luz, humedad, etc.
- Los **conservantes** también llamados preservantes: que se emplean para evitar que bacterias u hongos contaminen las vacunas, lo que podría ocasionar infecciones graves en cualquiera que recibiera la misma.

Los conservantes, son sustancias que añadidas a alimentos, productos de cosmética o vacunas, sirven para conservarlos sin alterar sus cualidades y evitando la contaminación bacteriana o fúngica de los mismos. El empleo de conservantes en vacunas, comenzó después de que, en Australia, en enero de 1928 durante una campaña de vacunación contra la difteria, dirigida por el Dr. Ewing George Thomson, de 21 niños vacunados, 12 fallecieron a las 24-48 horas por estafilococemia debido a la contaminación de frascos multidosis que no contenían conservante.

Los conservantes más empleados en vacunas son:

1- **El fenol** (fiebre tifoidea iny., neumocócica 23 val.). Es un potente fungicida, bactericida, antiséptico y desinfectante, muy empleado en la industria química, farmacéutica y clínica.

2- **2-fenoxietanol** (hepatitis A, DTPa). Bactericida eficaz, particularmente contra pseudomona aeruginosa. Muy

usado como conservante en cosmética desde 1970.

3- **Cloruro de bencetonio-Phemerol** (ántrax). Compuesto derivado del amonio cuaternario con demostrada actividad antibacteriana in vitro, utilizado como antiséptico tópico para la desinfección de la piel, en tratamientos de infecciones oculares, nasales y faríngeas y como preservativo en algunas preparaciones farmacéuticas.

4- **El timerosal o tiomersal** (DTP, influenza, hepatitis B). Conservante a base de mercurio usado desde la década de 1930 como antiséptico y conservante en medicamentos, cosméticos y vacunas para evitar la contaminación con bacterias u hongos

De estos conservantes el que más preocupa es el Tiomersal o Timerosal, por contener mercurio.

El mercurio es un tóxico persistente bioacumulativo que ha sido relacionado con numerosos efectos sobre la salud humana y la vida silvestre. El mercurio circula por la atmósfera de 3 formas distintas, pero la de mayor preocupación para los seres humanos y la naturaleza es cuando lo hace en forma de metilmercurio que se deposita en el tejido muscular.

El mercurio o azogue, es un metal que puede encontrarse en el ambiente como: a) elemento metálico (Hg elemental o vapor de Hg), b) sales inorgánicas (cloruro mercurioso o calomel), c) componentes orgánicos (etilmercurio, metilmercurio, dietilmercurio, fenilmercurio).

El tiomersal o timerosal es un compuesto organomercurial (49,6% de **mercurio** por peso), empleado desde 1930 en muy pequeñas cantidades (0.001 a 0.01%) como conservante en las vacunas, durante o después de la fabricación, para disminuir los riesgos de contaminación, especialmente en vacunas multidosis. También es empleado como fungicida o

antibacteriano (gotas oftálmicas). El tiomersal se trasforma en el organismo en tiosalicilato y etilmercurio (etil-Hg).

La concentración permitida de tiomersal para productos biológicos y farmacéuticos es de 0.001% a 0.01%. De este modo, una vacuna que contiene 0.01% de tiomersal (como conservante), contiene 50 microgramos de este compuesto en una dosis de 0.5 ml, lo que equivale a aproximadamente 25 microgramos de mercurio por 0.5 ml.

A pH ácido el tiomersal es bactericida y a pH neutro o alcalino es bacteriostático y fungistático. La molécula de tiomersal contiene un 49,6 % p/p de mercurio, que una vez administrado junto con la vacuna por vía subcutánea y una vez en el organismo se descompone en dos compuestos el tiosalicilato y el etilmercurio esta última sustancia es una forma orgánica de mercurio, también conocida como órgano mercurial ó mercurio orgánico.

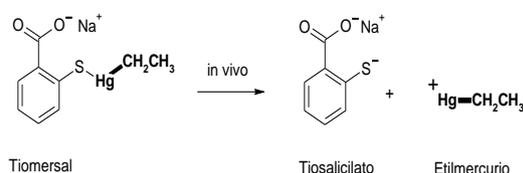


Figura 1. Estructura química del tiomersal.

Los compuestos organomercuriales se distribuyen en el organismo unidos a proteínas, atraviesan la barrera hematoencefálica por difusión pasiva o por transportadores de aminoácidos, acumulándose en cerebro y en eritrocitos; también atraviesan la barrera placentaria. Son biotransformados por desalquilación, perdiendo el grupo orgánico. La desetilación se produce en riñón, hígado y cerebro. Se elimina por vías biliar y renal, así como por leche y pelo con una vida media de unos 70 días.

Los compuestos orgánicos del mercurio son químicamente muy

inestables, siendo el MeHg, el compuesto orgánico del mercurio más estudiado por su efecto nocivo.

No se ha establecido la toxicidad comparativa entre el etil-Hg y el MeHg, pero a pesar de ello algunos expertos basándose en la información disponible, en que existe una cierta equivalencia entre el etil-Hg y el MeHg y en que ambos tienen una estructura química muy similar, por lo que se considera que el etil-Hg también se transformaría en mercurio inorgánico, concluyeron que los efectos nocivos del etil-Hg serían similares a los del MeHg (que ha sido asociado con anomalías del desarrollo neurológico a bajas dosis). Sin embargo, es importante señalar que la farmacocinética entre etil-Hg y MeHg difiere considerablemente; así por ejemplo, el tiempo de vida media de eliminación del etil-Hg es entre 5 y 8 días, mientras que el del MeHg es entre 50 a 65 días.

A altas dosis, los dos están asociados con neurotoxicidad. El MeHg se puede absorber por ingestión, inhalación y a través de la piel. Se distribuye por todos los tejidos, concentrándose en el SNC y en la sangre (eritrocitos/plasma; 20/1). El 90 % del MeHg se excreta por heces, mayormente como Hg inorgánico. Menos del 10 % aparece en orina.

El tiomersal es elaborado por el Laboratorio Eli Lilly en 1930, como preservante para vacunas por su efecto antibacteriano y antifúngico. En 1968, el Código de Regulaciones Federales de Estados Unidos estableció el uso de conservantes (incluyendo el timerosal) en frascos multidosis de vacunas, excepto para vacunas virales vivas atenuadas, como la Polio oral, F.A., Triple vírica.

El uso de conservantes en vacunas en general y en frascos multidosis en particular no elimina por completo la posibilidad de contaminación bacteriana, aunque esta probabilidad es muy baja. Hay

publicaciones de 1981 y 1993 que refieren infecciones piógenas posteriores a la administración de vacunas de DTP que contenían tiomersal, por este motivo se sugiere el manejo cuidadoso de los frascos multidosis una vez abiertos, para evitar la contaminación bacteriana.

Los compuestos organomercuriales son unos conocidos agentes tóxicos especialmente para el sistema nervioso central, y no hay duda de que estos compuestos son de una altísima toxicidad para el ser humano como numerosos estudios científicos en animales y en humanos causados por accidentes así lo avalan (Enfermedad de Minamata por consumo de pescado contaminado con MeHg en la Bahía de Minamata-Japón 1953-1960, Alamogordo-Nuevo México 1994: intoxicación de una familia por consumo de carne de cerdo alimentado con granos tratados con fungicidas que contenían MeHg, Irak en año 1972: intoxicación por consumo de pan elaborado con semillas tratadas con pesticidas que contenían MeHg).

La utilización de derivados mercuriales en las especialidades farmacéuticas y cosméticas son de declaración obligatoria y su utilización como excipientes farmacéuticos está en franco retroceso por los problemas de alérgicos y toxicidad asociados a estos compuestos.

El tiomersal es el conservante más ampliamente utilizado en vacunas. Como conservante, el tiomersal puede ser añadido al final del proceso de producción, desde el producto final a granel hasta el envase final o en el diluyente de una vacuna liofilizada). El tiomersal es usado como un agente inactivador en la fabricación de ciertas vacunas (pertussis acelulares). En este proceso, aun cuando no es usado como conservante, explica la presencia de cantidades mínimas de tiomersal en la concentración final en vacunas (»2µg/timersal/ml). También es

usado para evitar la contaminación bacteriana durante el proceso de producción de algunas vacunas (influenza) y para prevenir la contaminación bacteriana y fúngica de vacunas durante su uso, particularmente de frascos multidosis.

1. Thimerosal-free (libre de tiomersal). Indica que la vacuna no contiene tiomersal, ni como conservante ni como remanente del proceso de elaboración de la misma.

2. Preservative-free (libre de conservante). Indica que no se ha añadido tiomersal como conservante a la vacuna, sin embargo ha sido usado durante el proceso de fabricación, por lo que pueden estar presentes trazas de Hg (menores a 0,5 µg/0,5 ml) en el producto final.

3. Reducción del tiomersal. Indica que se ha logrado disminuir significativamente la cantidad de tiomersal. La vacuna no puede ser considerada como Thimerosal-free.

La tendencia es retirar los derivados mercuriales de los preparados farmacéuticos, incluso ya hay plazo para retirar los dispositivos médicos que contienen mercurio.

Uno de los problemas más importantes de la intoxicación por metales pesados en este caso el mercurio es que su toxicidad es acumulativa, esta confirmación es especialmente aplicable a las vacunas que contienen tiomersal ya que su administración se realiza consecutivamente a un niño en pleno desarrollo neuronal.

No hay límites de toxicidad establecidos para el etilmercurio compuesto generado por el tiomersal. Tampoco se conoce si las administraciones puntuales como es el caso de las vacunas comportan mayor ó menor toxicidad que la exposición crónica. Los niños tienen dos

grandes salvedades respecto a la población adulta ya que son metabólicamente inmaduros y están en pleno desarrollo neuronal, por lo cual el mercurio es más perjudicial que para los adultos.

Como no existen límites de toxicidad establecidos para el etilmercurio se debe recurrir a los límites de toxicidad del metilmercurio, aunque tampoco hay estudios de toxicidad comparativa entre ambos compuestos las autoridades sanitarias consideran en un ejercicio de imaginación que la toxicidad de ambos compuestos es equivalente, sin un dato que lo avale.

Los límites de exposición por la dieta en adultos al derivado organomercurial metilmercurio impuestos por las distintas administraciones americanas e internacionales difieren en sus valores pero todas son del mismo orden de magnitud.

Después de todas estas salvedades la única posibilidad de valorar los límites de exposición producidos por el tiomersal de las vacunas es utilizar los valores descritos para el metilmercurio

Falta de consenso en la exposición al Hg.	
Agencias Americanas é Internacionales	Límite de exposición al metilmercurio de la dieta en adulto 60Kg
Environmental Protection Agency (EPA) Agencia de protección medioambiental Americana	0,1µg/kg/día 81 µg. Acumulado máx.
Agency for Toxic Substances Disease Registry (ATSDR) Agencia para el registro de sustancias tóxica y de enfermedades	0,3 µg/kg/día 242 µg. Acumulado máx.
Food and Drug Administration (FDA) Administración de alimentación y Fármacos Americana	0,4 µg/kg/día 387 µg. Acumulados máx.
Organización Mundial de la salud (OMS)	3,3 µg/kg / semana = 0,47 µg/kg/día Embarazadas: 0,67 µg/Kg/semana

La Academia de Ciencias de Estados Unidos estableció que la dosis apropiada de referencia para el metil-Hg es la propuesta por la EPA de 0,1 µg /kg/día recomendación que se propone para evitar la exposición de mujeres en edad fértil y embarazadas a dosis de Hg que pudieran ser tóxicas para el desarrollo del sistema nervioso central del feto.

Figura 2. Consenso en exposición al mercurio.

Cálculo de límites de exposición a Hg ,usando directrices de varios organismos, para exposición a metilmercurio, en lactantes <6 meses según percentil de peso.			
Organismo	Percentil de peso		
	P ₅	P ₅₀	P ₉₅
EPA	65 µg	89 µg	106 µg
ATSDR	194 µg	266 µg	319 µg
FDA	259 µg	354 µg	425 µg
WHO	305 µg	417 µg	501 µg

Cálculo del límite de exposición a Hg = dosis /Kg peso/semana X media de peso X 26 semanas X 0.932(p.m. Hg/p.m. metilmercurio)
Ej. EPA calculo de limite de exposición =0.7µg/Kgpeso/semanaX26 semanasX2.36 Kg+5.25Kg)2X0.932= 65µg
Offit P,Jew R.Pediatrics 2003

Figura 3. Límites de exposición al mercurio.

Diversas publicaciones científicas han relacionado la mayor exposición al mercurio orgánico que sufre la población infantil proveniente de las vacunas con tiomersal, con un aumento en el número de incidencias de trastornos neuronales tales como retrasos en el lenguaje, síndrome autista y alteraciones de conducta, como la hiperactividad, debido a un calendario de vacunación, cada vez más exhaustivo con vacunas que contienen tiomersal.

Uno de los estudios más completos realizados por el Comité Inmunológico sobre la Seguridad de la Inmunización (Immunization Safety Review Committee) perteneciente al Instituto de Medicina de US (Institute of Medicine (IOM) publicado el 1 de Octubre de 2001 concluyo: que la evidencia científica era inadecuada para aceptar ó descartar una relación causa efecto entre la exposición a los niños al tiomersal presente en algunas vacunas infantiles y trastornos de desarrollo neurológico como, síndrome autista, trastornos de hiperactividad y retrasos del lenguaje. Por lo que era necesario realizar estudios adicionales para establecer o rechazar una relación causal.

El comité concluyó que la hipótesis de que el tiomersal procedente de las vacunas podría estar relacionado con trastornos en el desarrollo neuronal era biológicamente posible. Adicionalmente el comité supuso que el esfuerzo para

Características de los Estudios Epidemiológicos que examinan una posible asociación entre el Tioimersal y Desórdenes del Desarrollo Neurológico

Autores	Año de Publicación	Tipo de Estudio	País	Base de Datos	Años de estudio	Asociación con desórdenes del desarrollo neurológico
Andrews et al. ⁴	2004	Cohorte retrospectivo	Reino Unido	GPRD	1988-1997	No probada
Heron et al. ⁹	2004	Cohorte prospectivo	Reino Unido	ALSPAC, Child Health Surveillance	1991-1992	No probada
Verstraeten et al. ¹¹	2003	Cohorte retrospectivo	USA	HMO	1991-2000	No probada
Hviid et al. ¹³	2003	Cohorte retrospectivo	Dinamarca	Danish National Registries	1990-1996	No probada
Madsen et al. ¹⁴	2003	Ecológico	Dinamarca	Danish National Registries	1971-2000	No probada
Stehr-Green et al. ¹⁵	2003	Ecológico	Suecia y Dinamarca	National Inpatient Data (Suecia) National Registry (Dinamarca)	1987-1999 (Suecia) 1983-2000 (Dinamarca)	No probada
Geier and Geier ²	2006	Ecológico	USA	VAERS	1991-2004	Reclamada
Geier and Geier ¹	2006	Caso control	USA	VAERS	1994-1998	Reclamada
Geier and Geier ³	2005	Epidemiológico de dos fases	USA	VAERS, VSD	1997-2001, 1992-1997	Reclamada
Geier and Geier ⁷	2004	Cohorte retrospectivo	USA	VAERS	1997-2000	Reclamada
Geier and Geier ¹⁰	2004	Ecológico	USA	US Department of Education Report	1981-1985, 1990-1998	Reclamada
Geier and Geier ¹²	2003	Cohorte retrospectivo y ecológico	USA	VAERS, US Department of Education Report	1997-2000	Reclamada
Geier and Geier ¹⁶	2003	Cohorte retrospectivo	USA	VAERS	1992-2000	Reclamada

GPRD: General Practice Research Database
 ALSPAC: Avon Longitudinal Study of Parents and Children
 VAERS: Vaccine Adverse Events Reporting System
 HMO: Health maintenance Organization
 VSD: Vaccine Safety Datalink
 *Referencia: Expert Opin Drug Saf. 2006;5(1):17-29 / Pediatrics. 2004;114(3):793-804"
 Fecha de elaboración: Marzo 2007

eliminar el tioimersal de las vacunas era una medida prudente de sanidad pública para reducir en la medida de lo posible la exposición del mercurio a bebés y niños.

Los artículos publicados antes de 1999 consisten principalmente en estudios sobre la toxicología del metilmercurio y los síndromes clínicos asociados con la aplicación tópica de productos medicamentosos que contenían tioimersal. A partir de 1999, se incrementaron los estudios que examinan los efectos del tioimersal sobre el desarrollo neurológico. Desde ese año, existen 141 artículos indexados que utilizan el término MeSH **thiomersal** con el límite "Human". De estos artículos solamente 13 contienen datos originales, 6 de los cuales concluyen que no existe evidencia convincente de la asociación entre tioimersal y cualquier alteración del desarrollo neurológico; mientras que los 7 restantes señalan que existe una relación entre el tioimersal y las alteraciones del desarrollo neurológico.

Los primeros 6 artículos mencionados son estudios epidemiológicos de alta calidad metodológica, especialmente los estudios de cohorte, que

por causas de maduración metabólica y/o genéticas, a estos compuestos cuyos efectos son mucho más drásticos que para otros niños.

Cinco estudios realizados en tres continentes demostraron con claridad que la incidencia del autismo era igual en los niños que recibieron vacunas con tioimersal y en aquellos que recibieron vacunas sin tioimersal. El Instituto de Medicina (Institute of Medicine), una organización de investigación independiente que integra la Academia Nacional de Ciencias (National Academy of Sciences), examinó estos estudios y llegó a la conclusión de que el tioimersal no provoca autismo. Quizás el mejor estudio, publicado en julio de 2006, aprovechó un experimento natural que tuvo lugar en Montreal entre 1987 y 1998, período en el que varió la cantidad de tioimersal de las vacunas.

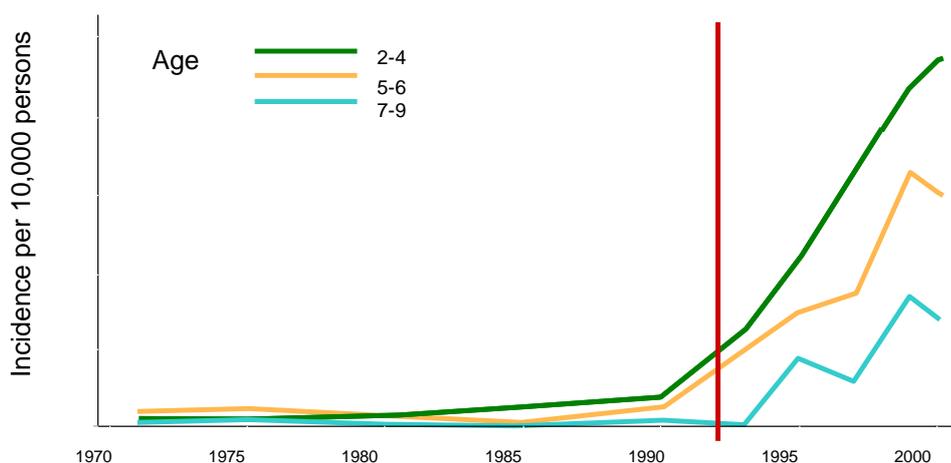


Figura 4. Incidencia de Autismo en Dinamarca después de eliminar el Timerosal Madsen et al. *Pediatrics* 2003; 112: 604.

Entre 1987 y 1991, los bebés vacunados recibieron 125 microgramos de tiomersal; entre 1992 y 1995 la cantidad ascendió a 225 y después de 1996 recibieron 0 microgramos. Si el tiomersal provocara autismo, la incidencia de autismo debería haber sido mucho más alta en los niños que nacieron entre 1992 y 1995 que en los niños que nacieron después de 1995. De hecho, sucedió lo contrario: la incidencia de autismo fue muy superior en los bebés nacidos después de 1995 que en los nacidos antes de 1995. De modo similar, Dinamarca, un país que dejó de utilizar tiomersal como conservante en 1991, tuvo un aumento del autismo que comenzó varios años después. Este aumento del autismo se debe más probablemente a una ampliación de la definición de la enfermedad que pasó a incluir el Síndrome de Asperger, el trastorno del espectro autista y el retraso generalizado del desarrollo.

Un estudio interesante también publicado por el grupo danés, año 2003, es un estudio que utiliza un número de niños de 2 a 10 años de edad con el diagnóstico de autismo en un periodo de tiempo que va desde 1971 al 2000, en este intervalo de tiempo se registró más de 900 niños con

ecológicos no soportan la correlación entre vacunas conteniendo tiomersal y la evidencia de autismo,(año 2003). Es decir, ya no hay tiomersal en las vacunas, sin embargo el número de casos se sigue incrementando.

En un estudio realizado en Dinamarca con una amplia cohorte de niños nacidos entre 1990 y 1996. Se relacionó la información sobre las vacunaciones con el diagnóstico de autismo y otros síndromes del espectro autista y con potenciales factores de confusión. Se estableció el diagnóstico de autismo en base a criterios estrictos. Se registraron todos los diagnósticos hasta el final del año 2000 de una amplia cohorte de niños nacidos entre 1990 y 1996. Alcanzando una dosis máxima de tiomersal en cada niño de 125 μ g. Se trata de un excelente estudio de lo que en realidad es un experimento antes-después en condiciones reales. El estudio es amplio y exhaustivo y cubre casi al 99% de los niños nacidos en Dinamarca en un periodo durante el cual se produjo el cambio en el uso de una vacuna que contenía tiomersal a otra que no lo contiene. Además, el diagnóstico de autismo o síndromes del espectro autista se realizó según criterios estrictos aplicados razonablemente. El

seguimiento mínimo fue de cuatro años asegurando de esta forma que prácticamente todos los casos posibles deberían haber ocurrido en ese período.

No se detectó asociación entre el uso de tiomersal y el riesgo de desarrollar autismo o síndromes del espectro autista. No se detectó un aumento en el número de casos diagnosticados de autismo asociado al uso de la vacuna con tiomersal. No se detectó relación dosis-respuesta con la exposición al etilmercurio.

Por otra parte, se ha comprobado como la administración de vacunas en los lactantes, que contienen timerosal, no elevan las concentraciones sanguíneas del mercurio por encima de los valores seguros y, además, el etilmercurio se elimina rápidamente por las heces. El "Global Advisory Committee on Vaccine Safety" de la Organización Mundial de la Salud, en reunión de 2 y 3 de diciembre de 2004, piensa que en la neuropatología del autismo, los hallazgos característicos en el sistema nervioso en esta enfermedad (aumento del peso cerebral total, del volumen cerebral, de la sustancia gris cortical y de la densidad celular neuronal del sistema límbico, junto a la disminución del número de células de Purkinje en el cerebelo y a la ausencia de gliosis) no son consistentes con un agente tóxico externo. Además, no hay evidencia de neurodegeneración en el autismo, hecho éste que cabría esperar si la causa de la enfermedad fuese debida a un tóxico (GACVS, 2005).

Nadie ha podido demostrar hasta la fecha que el tiomersal incluido en las vacunas interfiera en el desarrollo cerebral del feto o el lactante, ni que produzca autismo o trastornos del desarrollo psicomotor del niño, por lo que, al hablar de riesgos, lo hacemos desde el punto de vista meramente especulativo. Aún así, el mercurio ya ha sido retirado de la mayoría de los preparados.

Se han descrito dos **tipos de autismo:**

- **Tipo I (clásico o desde el nacimiento):** ocasionado por un desorden metabólico severo, debido a un error innato del metabolismo, con asociaciones genéticas. En los niños afectados, las características autísticas aparecen prontamente en la vida, acompañadas muchas veces de otras alteraciones clínicas, que incluso pueden ser más dramáticas. Se ha mencionado al menos dos docenas de condiciones asociadas en la literatura: síndrome de *Le cri-du-chat*, síndrome de Prader-Willi, síndrome de Angelman, síndrome de Rubenstein-Taybi, síndrome de Smith-Magenis, síndrome de Rett, histidinemia, enfermedad de Lesch-Nyhan, síndrome de fragilidad del cromosoma X, esclerosis tuberosa, neurofibromatosis tipo 1, fenilcetonuria, entre otros..
- **Tipo II (adquirido o de regresión):** forma relativamente nueva, responsable primaria del aumento exponencial de casos de autismo en el mundo. Esta variante supone una predisposición genética, pero es determinada por exposiciones tóxicas (metales pesados) e inmunológicas (vacunaciones con virus vivos atenuados). Si bien es cierto que, siempre estuvo presente en alguna medida, se ha convertido en la forma más prevalente, debido al aumento y severidad de dichos factores de exposición.

LA EVIDENCIA CIENTÍFICA INDICA CLARAMENTE QUE EL MERCURIO DE LAS VACUNAS NO CAUSA AUTISMO

- Primero, como la fibrosis quística o la anemia drepanocítica, es claro que el autismo tiene una base genética. Los investigadores descubrieron que cuando un gemelo tenía autismo, la probabilidad de que el otro gemelo lo tuviera era de alrededor del 90 por ciento; para los

hermanos mellizos, la probabilidad fue menor al 10 por ciento.

- Segundo, aunque es claro que el autismo tiene una base genética, los factores medioambientales también pueden causar la enfermedad. Por ejemplo, los niños cuyas madres tomaron talidomida durante el embarazo presentaron defectos de nacimiento, incluso orejas deformes y extremidades acortadas. Además, esos niños también tuvieron una incidencia significativamente mayor de autismo comparados con los bebés que nacieron de madres que nunca tomaron talidomida. Es claro que la talidomida causó autismo, pero sólo cuando las madres la tomaron al inicio del embarazo. Cuando las madres tomaron talidomida en el segundo o tercer trimestre de embarazo, sus bebés no tuvieron un mayor riesgo de autismo.

- Las mujeres en los Estados Unidos también recibieron mercurio ocasionalmente cuando estaban embarazadas. Esto ocurrió cuando los médicos encontraron que el tipo de sangre de la madre no era compatible con el tipo de sangre de su bebé. Para prevenir que esta incompatibilidad sanguínea dañara al bebé, las madres recibieron RhoGam, un producto que contenía timerosal como conservante. No obstante, en concordancia con la observación en Irak, los bebés expuestos al timerosal del RhoGam no tuvieron un mayor riesgo de autismo que los bebés cuyas madres nunca recibieron RhoGam.

Los diferentes estudios citados y realizados en diferentes lugares del mundo, coinciden en que según las evidencias actuales **no existe** una relación causal entre vacunas que contengan o no timerosal y el desarrollo de autismo o un desorden del espectro autístico.

MEDIDAS DE AGENCIAS REGULADORAS

A partir del año 1999 y debido a la creciente preocupación por la exposición de la población infantil a los compuestos mercuriales, principalmente el tiomersal proveniente de las vacunas, distintas agencias reguladoras han establecido una serie de medidas, algunas de las cuales son las siguientes:

1999: Después de que la Agencia del Medicamento de los Estados Unidos (FDA) realizara una investigación, sugirió que la cantidad de componentes mercuriales usados como conservantes debería reducirse y deberían reformularse las vacunas con la finalidad de eliminar el componente mercurial como conservante. La Academia Americana de Pediatría (AAP) y el Servicio de Salud Pública de Estados Unidos (PHS) acordaron “recomendar a los fabricantes de vacunas la eliminación del tiomersal en corto plazo de tiempo.

1999: El Comité de Especialidades Farmacéuticas (CPMP) de la Agencia Europea para la Evaluación de Medicamentos (EMA) publicó entre sus recomendaciones lo siguiente: “para vacunación en lactantes y niños pequeños; aún cuando no hay evidencia del daño causado por el nivel de exposición contenido en las vacunas, sería prudente promover el uso general de vacunas sin tiomersal, particularmente del tipo monodosis. Esto debería hacerse en el menor tiempo posible como medida de precaución; sin embargo, mientras esto ocurra es imperativo que la inmunización continúe de acuerdo a los esquemas nacionales de vacunación para prevenir brotes de enfermedades”.

1999: La OMS crea el Comité Consultivo Mundial sobre la Seguridad de las Vacunas Global Advisory Committee on Vaccine Safety – GACVS) totalmente independiente de ella, para responder rápida y eficazmente a problemas de

potencial importancia global relacionados con la seguridad en vacunas.

2000: Debido al impacto negativo que tuvo el cambio de política de vacunación sugerido en 1999, la FDA declaró que estaban trabajando para suprimir el tiomersal de las vacunas pediátricas y exhortó a los padres a continuar vacunando a sus hijos, ya que los riesgos de no vacunar a un niño sobrepasaban el riesgo desconocido y mucho menor, si lo había, de exposición al tiomersal.

2001: El Comité de Revisión sobre la Inmunización Segura del Instituto de Medicina de los Estados Unidos (IOM) concluyó que la evidencia para aceptar o rechazar una relación causal entre la exposición del tiomersal en vacunas y los trastornos del desarrollo neurológico – tales como autismo, síndrome de déficit de atención y retardo en el lenguaje – era inadecuada, señalando que para hacer esta afirmación son necesarios más estudios.

2002: En la sexta reunión del GACVS se concluye que no hay evidencia actual de toxicidad al mercurio en lactantes, niños o adultos expuestos a vacunas que contienen timerosal y que no había razón para cambiar las prácticas de inmunización actuales con vacunas que contienen timerosal basándose en consideraciones de seguridad.

2004: El IOM concluye basándose en estudios epidemiológicos en Estados Unidos, Dinamarca, Suecia y Reino Unido que no existe relación causal entre el tiomersal contenido en las vacunas y el autismo, y que la hipótesis sobre el mecanismo biológico de tal asociación es meramente teórico.

2004: El Comité de Especialidades Farmacéuticas (CPMP) de la EMEA concluye:

1. Los estudios epidemiológicos no demuestran ninguna asociación entre la inoculación con vacunas que contienen tiomersal y los desórdenes específicos del desarrollo neurológico.

2. El uso de vacunas que contienen tiomersal como conservante debe ser evaluado caso a caso, teniendo en consideración las necesidades de eficacia particular y de salud pública.

3. El rotulado de las vacunas debe especificar el tipo de conservante, sea o no tiomersal, y señalar la advertencia sobre el riesgo de sensibilización por este compuesto u otros conservantes.

Diciembre 2004: El GACVS en su undécima reunión establece que:

1. No existe ningún modelo animal preciso que reproduzca fielmente el autismo humano.

2. En los modelos disponibles, la predisposición a padecer trastornos neuroconductuales tiene una base genética.

3. Existen datos experimentales que sugieren una relación entre una alteración autoinmunitaria y la predisposición al autismo (aunque esto sigue siendo hipotético).

2005: El GACVS en su duodécima reunión mantiene la opinión de que no existen pruebas que demuestren una asociación causal entre las alteraciones neurológicas y del comportamiento y las vacunas que contienen tiomersal.

2006: El GACVS concluye que hasta la fecha no existe evidencia de toxicidad en infantes, niños o adultos expuestos al timerosal (etilmercurio) contenido en vacunas. La evidencia actual no establece una asociación entre el timerosal y los desórdenes del desarrollo neurológico, y el

hecho de no vacunar a nuestros niños frente a un riesgo no probado podría hacernos retroceder en una guerra para mitigar muchas enfermedades que han costado años y vidas a la humanidad. El promover una alarma no fundamentada puede traer consecuencias muy graves para el sistema de salud.

El balance del riesgo teórico del tiomersal es sobrepasado por los beneficios de la vacunación para la prevención de enfermedades graves. Esto favorece fuertemente hoy día a continuar con el uso de vacunas con tiomersal en aquellos lugares donde todavía no se dispone de vacunas libres del mismo dentro de los calendarios oficiales de inmunización, en especial en países en vías de desarrollo, en los cuales los frascos multidosis son la mejor opción para mantener y cumplir con los programas por su costo menor. Mientras tanto, la posición actual de la OMS es clara: recomienda mantener el uso de las vacunas con tiomersal, especialmente en los países en desarrollo, para continuar con el exitoso programa de control de enfermedades transmisibles, prevenibles mediante vacunación.

En este momento, aplicando las recomendaciones del Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud para el calendario vacunal español, las dosis máximas de mercurio que podría recibir un niño antes de los 14 años serían insignificantes (el contenido en las de tétanos-difteria tipo adulto y las trazas contenidas en la vacuna de hepatitis B, en caso de utilizar determinada marca comercial).

Siempre que dispongamos de alternativas libres de tiomersal, es preferible utilizarlas, especialmente en lactantes, por un principio de prudencia y por evitar alarmas sociales, aunque no hay motivo para que se rechacen las vacunas que lo contengan cuando sean necesarias, pues el beneficio de protección frente a la

enfermedad supera con creces el riesgo potencial.

REFERENCIAS

1. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. U.S. Department of Health and Human Services. Toxicological Profile of Mercury. March 1999.

2. Alma Muñoz M. et al. Safety of thimerosal containing vaccines. Statement of the Consultive Committee of Immunizations on behalf of the Chilean Infectious Diseases Society. *Rev Chil Infect* 2007; 24 (5): 372-376

3. American Academy of Family Physicians, the American Academy of Pediatrics, the Advisory Committee on Immunization Practices, and the U.S. Public Health Service. Joint Statement Concerning Removal of Thimerosal from Vaccines. Disponible en: http://www.cdc.gov/nip/vacsafe/concerns/thimerosal/joint_statement_00.htm

4. American Academy of Pediatrics, Committee on Infectious Diseases and Committee on Environmental Health. Thimerosal in vaccines – An intern Report on Clinicians. *Pediatrics* 1999;104:570-574.

5. American Academy of Family Physicians Clinical Recommendations: Thimerosal in vaccines. Joint Statement of the AAFP, AAP, ACIP and the USPHS. 2002.

6. Recommendations regarding the use of vaccines that contain thimerosal as a preservative. *MMWR* 1999;48:996-998.

7. American Pharmaceutical Association. Handbook of Pharmaceutical excipients. Fourth edition. 2003

8. Andrews A, Miller E, Grant A, Stowe J Osborne V, Taylor B. Thimerosal exposure

in infants and developmental disorders: a retrospective cohort study in the United Kingdom does not support a causal association. *Pediatrics* 2004; 114: 584-91.

9. World Health Organization guidelines on regulatory expectations related to the elimination, reduction or replacement of thiomersal in vaccines. Technical Report. Series Nº 926, 2004.

10. Assessment: Neurologic risk of immunization. Report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 1999 May 12;52(8):1546-52.

11. Autism Research Institute. Disponible en <http://www.autismwebsite.com>

12. Ball LK, Ball R, Pratt RD. An assessment of thimerosal use in childhood vaccines. *Pediatrics* 2001; 107: 1147-54.

13. Beaglohole R y Bonita R. Epidemiología básica, OMS. Washington DC. 1994. Cap. 5

14. Bernard S. Association between Thimerosal-containing vaccine and autism. *JAMA*. 2004;291:180.

15. Bigham M, Copes R. Thimerosal in vaccines: balancing the risk of adverse effects with the risk of vaccine-preventable disease. *Drug Safety* 2005; 28: 89-101.

16. Blaxill M. Concerns continue over mercury and autism. *Am J Prev Med*. 2004;26:91.

17. Boletín Informativo DIGEMID. Año 2. Edición 5, marzo 2007.

18. Braun M, Mootrey G, Salive M, et al. Infant immunization with acellular pertussis vaccines in the United States: assessment of the first two years' data

from the Vaccine Adverse Event Reporting System (VAERS). *Pediatrics*. 2000;106:E51. *An Fac Med Lima* 2006; 67(4) 365

19. Burbacher T M, Shen D D, Liberato N, Grant K S, Cernichiari E, Clarkson T. Comparison of blood and brain mercury levels in infant monkeys exposed to methylmercury or vaccines containing thimerosal. *Environmental Health Perspectives* 2005; 113: 1015-21.

20. CDC. The Safety Review of Thimerosal-containing Vaccines and Neurodevelopmental Disorders Conducted by the Institute of Medicine. 2004.

21. Cesar Cabezas Sánchez. Vacunas y timerosal: no hay evidencias científicas que muestren riesgo de autismo y desórdenes neurológicos. *An. Fac. Med. Lima* 2006; 67, 4.

22. Chen R, Rosenthal S. An errant critique that misses the mark. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 1996;150:464-5.

23. CIRCULAR Nº 1/2000, de la Agencia Española del Medicamento, sobre modificación de la información de ficha técnica y prospecto en las especialidades que contienen tiomersal u otros conservantes organomercuriales..

24. Clarkson T W. The three faces of mercury. *Environ Health Perspect* 2002; 110

25. Clements CJ. Vaccine preservatives: what is the big deal? *Indian J Med Res*. 2006;124(1):5-8.

26. Clements C J. The evidence for the safety of thimerosal in newborn and infant vaccines. *Vaccine* 2004; 22: 1854-61.

27. Clements C J, Ball L K, Ball R, Pratt R D. Thiomersal in vaccines: is removal warranted? *Drug Safety* 2001; 24: 567-74.

28. Clements CJ and McIntyre PB. When science is not enough - a risk/benefit profile of thiomersal-containing vaccines. *Expert Opin Drug Saf.* 2006;5(1):17-29.
29. Comité Consultivo Mundial sobre Seguridad de las Vacunas, 1 y 2 de diciembre de 2005. Organización Mundial de la Salud. Publicado en el parte epidemiológico semanal (WER) del 13 de enero de 2006.
30. Cox N H, Forsyth A. Thimerosal allergy and vaccination reactions. *Contact Dermatitis* 1988; 18: 229-33.
31. Dan Burton; Mercury in Medicine. Taking Unnecessary Risks. A Report Prepared by the Staff of the Subcommittee on Government Reform. United States House of Representatives. 2003.
32. DuVernoy T, Braun M. Hypotonic-hyporesponsive episodes reported to the Vaccine Adverse Event Reporting System (VAERS), 1996-1998. *Pediatrics.* 2000;106:E52.
33. EMEA/20962/99 Public Statement on THIOMERSAL containing medicinal products.
34. EMEA/CPMP/VEG/1194/04 Public Statement on Thiomersal in Vaccines for Human Use Recent Evidence supports Safety of Thiomersal-containing Vaccines clinical manifestations. *N Engl J Med* 2003; 349: 1731-7.
35. Evaluación Mundial sobre el mercurio. Informe del Programa de las Naciones Unidas para el medio ambiente. Ginebra. Suiza. Diciembre 2002.
36. FDA. Department of Health and Human Services. Statement by William Egan, Ph.D. Acting Office Director Office of Vaccine Research and Review Center for Biologics Evaluation and Review. Disponible en: <http://www.fda.gov/ola/2000/vaccines.html>
37. Fletcher R, Fletcher S and Wagner E. *Clinical Epidemiology. The Essentials.* Third ed. William and Wilkins. Baltimore, Maryland, USA, 1996. Cap. 5.
38. Fombonne, et al. Pervasive Developmental Disorders in Montreal, Quebec, Canada: Prevalence and Links With Immunizations. *Pediatrics* 2006;118;e139-e151999; 48 (26): 563-5.
39. Food and Drug Administration. Center for Biologics Evaluation and Research (CBER). Thimerosal in vaccines. www.fda.gov/cber/vaccine/thimerosal. (Accedido: 27 de julio, 2006).
40. Food and Drug Administration. Center for Drugs Evaluation and Research (CDER). Mercury compounds in drugs and food. www.fda.gov/cder/fdama/mercuryreport.htm. (Accedido: 27 de julio 2006).
41. Freed G L, Andreae M C, Cowan A E, Katz S L. The process of public policy formulation: The case of thimerosal in vaccines. *Pediatrics* 2002; 109: 1153-9.
42. Geier MR, Geier DA. Neurodevelopmental disorders after thimerosal containing vaccines: a brief communication. *Exp Biol Med* (Maywood) 2003; 228: 660-4.
43. Geier DA, Geier MR. Thimerosal in childhood vaccines, neurodevelopmental disorders, and heart disease in the United States. *J Am Phys Surg* 2003; 8: 6-11.
44. Geier DA, Geier MR. An assessment of the impact of thimerosal on childhood neurodevelopmental disorders. *Pediatr Rehabil* 2003; 6: 97-102.
45. Geier DA, Geier MR. A comparative evaluation of the effects of MMR immunization and mercury doses from

thimerosal-containing childhood vaccines on the population prevalence of autism. *Med Sci Monit* 2004; 10: PI33-9.

46. Geier DA, Geier MR. Neurodevelopmental disorders following thimerosal-containing childhood immunizations: a follow-up analysis. *Int. J Toxicol.* 2004 Nov-Dec;23(6):369-76

47. Geier DA, Geier MR. An evaluation of the effects of thimerosal on neurodevelopmental disorders reported following DTP and Hib vaccines in comparison to DTP vaccine in the United States. *J Toxicol Environ Health A.* 2006;69(15):1481-95.

48. Geier DA, Geier MR. An assessment of downward trends in neurodevelopmental disorders in the United States following removal of Thimerosal from childhood vaccines. *Med Sci Monit.* 2006;12(6):CR231-9.

49. Geier DA, Geier MR. A meta-analysis epidemiological assessment of neurodevelopmental disorders following vaccines administered from 1994 through 2000 in the United States. *Neuro Endocrinol Lett.* 2006;27(4):401-13.

50. Geier D, Geier M. A two-phased population epidemiological study of the safety of thimerosal-containing childhood immunizations: a follow-up analysis. *Med Sci Monit.* 2005;11(4):CR160-70.

51. Goldman L, Shannon M, and the Committee on Environmental Health. American Academy of Pediatrics. Technical Report: Mercury in the environment: implications for pediatricians. *Pediatrics.* 2001;108:197-205.

52. Goncalo M, Figueiredo A, Goncalo S. Hypersensitivity to thimerosal: the sensitivity moiety. *Contact Dermatitis* 1996; 34: 201-3.

53. Goodman M, Nordin J. Vaccine adverse event reporting system reporting source: a possible source of bias in longitudinal studies. *Pediatrics.* 2006;117:387-90.

54. Haber P, Chen R, Zanardi L, et al. VAERS Working Group (2004). An analysis of rotavirus vaccine reports to the vaccine adverse event reporting system: more than intussusception alone? *Pediatrics.* 2004;113:e353-9.

55. Herminio R. Hernández Díaz. Thimerosal and vaccines: ¿autisms and neurological disorders?. *Acta méd. Peruana, ene./abr.* 2007.

56. Hernández Díaz, H.R. :Vacunas y timerosal: ¿riesgo de autismo y desórdenes neurológicos? *Acta Med Per* 24(1) 2007, 53.

57. Heron J, Golding and ALSPAC Study team. Thimerosal Exposure in Infants and Developmental Disorders: A Prospective Cohort Study in the United Kingdom Does Not Support a Causal Association. *Pediatrics* 2004; 114: 577 – 583.

58. Hviid A, Stellfeld M, Wohlfahrt J, et al. Association Between Thimerosal – containing Vaccine and autism. *JAMA* 2003; 290: 1763 – 1766.

59. Immunization Safety Review Committee. Board on Health Promotion and Disease Prevention. Institute of Medicine of the National Academies. Immunization Safety Review. Vaccines and Autism. The National Academic Press. 2004.

60. Institute of Medicine (US). Immunization Safety Review: Thimerosal-Containing Vaccines and Neurodevelopmental Disorders. Washington, D.C.: National Academy Press; 2001.

62. Institute of Medicine (US). Immunization Safety Review: Vaccines and autism. Washington, D.C.: National Academy Press; 2004.
63. Institute of Medicine (US). Vaccine Safety Research, Data Access, and Public Trust. Washington, D.C.: National Academy Press; 2005.
64. Kreesten M. Madsen et al. Thimerosal and the Occurrence of Autism: Negative Ecological Evidence From Danish Population-Based Data. *Pediatrics*. 2003 sep;112(3):604-606.
65. Lloyd J, Haber P, Mootrey G, et al. VAERS Working Group. Adverse event reporting rates following tetanusdiphtheria and tetanus toxoid vaccinations: data from the Vaccine Adverse Event Reporting System (VAERS), 1991-1997. *Vaccine*. 2003;21:3746-50.
66. Madsen K, Hviid A, Vestergaad, et al. A population-based study of measles, mumps, and rubella vaccination and autism. *NEJM* 2002 ; 347: 1477 – 1482..
67. Madsen K, Lauritsen M, Pedersen C, et al. Thimerosal and Occurrence of Autism: Negative Ecological Evidence From Danish Population – Based Data. *Pediatrics* 2003; 112: 604 – 606.
68. Magos L, Brown W, Sparrow S, et al. The comparative toxicology of ethyl- and methylmercury. *Arch Toxicol*. 1985;57:260-7.
69. Marques R, Dórea J, Fonseca M et al. Hair mercury in breast-fed infants exposed to thimerosal-preserved vaccines. *Eur J Pediatr*. 2007; DOI:10.1007/s00431-006-0362-2.
70. Marszalek J, Lodish H. Docosahexaenoic acid, fatty acidinteracting proteins, and neuronal function: breastmilk and fish are good for you. *Annu Rev Cell Des Biol*. 2005;21:633-57.
71. Maya L, Luna F. El timerosal y las enfermedades del neurodesarrollo infantil. *An Fac Med Lima*. 2006;67(3):255-74.
72. McMahon A, Iskander J, Haber P, et al. Adverse events after inactivated influenza vaccination among children less than 2 years of age: analysis of reports from the vaccine adverse events reporting system, 1990-2003. *Pediatrics*. 2005;115:453-60.
73. Offit P, Coffin S. Communicating science to the public: MMR vaccine and autism. *Vaccine* 2003; 22: 1 -6.
74. Organización Mundial de la Salud. Comité Consultivo Mundial sobre Seguridad de las Vacunas. Comité Consultivo Mundial sobre Inocuidad de las Vacunas, 20-21 de junio de 2002 Disponible en: http://www.who.int/vaccine_safety/reports/june2002_es.pdf
75. Parker SK, Schwartz B, Todd J and Pickering L. Thimerosal-Containing Vaccines and Autistic Spectrum Disorder: A critical Review of Published Original Data. *Pediatrics*. 2004;114(3):793-804. Erratum in: *Pediatrics*. 2005;115(1):200.
76. Peltola H, Patja A, Leinikki P et al. No evidence for measles, mumps, and rubella vaccine – associated inflammatory bowel disease or autism in a 14 year prospective study. *Lancet* 1998; 351: 1327 – 1328.
77. Pichichero M, Cernichiari E, Lopreiato J, et al. Mercury concentrations and metabolism in infants receiving vaccines containing thiomersal: a descriptive study. *Lancet*. 2002;360:1737-41.

78. Pool V, Braun M, Kelso J, et al. Prevalence of anti-gelatin IgE antibodies in people with anaphylaxis after measlesmumps-rubella vaccine in the United States. *Pediatrics*. 2000;110:E71.
79. Rimland B. Association between Thimerosal-containing vaccine and autism. *JAMA*. 2004;291:180.
80. Rosenthal S, Chen R, Hadler S. The safety of acellular pertussis vaccine vs whole-cell pertussis vaccine. A postmarketing assessment. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 1996;150:457-60
81. Segura Bedmar, M. et al. The evaluation of safety in vaccines for their thimerosal content.. *Pharmaceutical Care España* 2000;2:432-439.
82. Singleton J, Lloyd J, Mootrey G, et al. An overview of the vaccine adverse event reporting system (VAERS) as a surveillance system. VAERS Working Group. *Vaccine* 1999;17:2908-17.
83. Smeeth L., Cook C., Fombonne E, et al. MMR vaccination and pervasive developmental disorders: a case – control study. *Lancet* 2004; 364: 963 – 969.
84. Stajich G V, Lopez G P, Harry S W, Sexson W R. Iatrogenic exposure to mercury after hepatitis B vaccination in preterm infants. *J Pediatr* 2000; 136: 679-81.
85. Stehr-Green P, Tull P, Stellfeld M, Mortenson PB, Simpson D. Autism and thimerosal-containing vaccines: lack of consistent evidence for an association. *Am J Prev Med*. 2003 Aug;25(2):101-6.
86. Stratton K, Gable A, McCormick M, Editors. Immunization Safety Review: Thimerosal-Containing Vaccines and Neurodevelopmental Disorders. Immunization Safety Review Committee, Board on Health Promotion and Disease Prevention Institute of Medicine of the National Academies. The National Academic Press. 2001.
87. Vaccine Education Center at the Children's Hospital of Philadelphia. P&R, volumen 5, primavera 2007.
88. Verstraeten T, Davis RL, De Stefano F, Lieu TA, Rhodes PH, Black SB, Shinefield H, Chen RT; Vaccine Safety Datalink Team. Safety of thimerosal-containing vaccines: a two-phased study of computerized health maintenance organization databases. *Pediatrics*. 2003;112(5):1039-48. Erratum in: *Pediatrics*. 2004;113(1):184.
89. Verstraeten T, Davis R, DeStefano F, et al. Safety of thimerosal-containing vaccines: a two-phased study of computerized Health maintenance organization databases. *Pediatrics*. 2003;112:1039-48.
90. Vaccines and autism. Report of the Institute of Medicine of the National Academies. Immunization Safety Review Committee Board on Health Promotion and Disease Prevention. The National Academies Press. Washington D. C. Mayo 2004.
91. Wakefield, A.J., et al. Ileal-lymphoid-nodular hyperplasia, non-specific colitis, and pervasive developmental disorder in children. *Lancet* 1998; 351: 637 – 641.
92. Wattigney W, Mootrey G, Braun M, et al. Surveillance for poliovirus vaccine adverse events, 1991 to 1998: impact of a sequential vaccination schedule of inactivated poliovirus vaccine followed by oral poliovirus vaccine. *Pediatrics*. 2001;107:E83.
93. WHO Informal Meeting on Removal of Thiomersal from Vaccines and its Implications for Global Vaccine Supply. Ginebra. Suiza. Mayo 2002

94. William W. Thompson, et al. Early Thimerosal Exposure and Neuropsychological Outcomes at 7 to 10 Years. *N Engl J Med* 2007;357:1281-92.

95. World Health Organization. Thimerosal as a vaccine preservative. *WER* 2000; 75: 126.

96. World Health Organization. Meeting Report. Thimerosal in vaccines: A regulatory perspective. Geneva, 15-16 April 2002.

97. World Health organization. Global Advisory Committee on Vaccine Safety. Global Advisory Committee on Vaccine Safety, 2–3 December 2004. Disponible en: <http://www.who.int/wer/2005/wer8001.pdf>

98. World Health organization. Global Advisory Committee on Vaccine Safety Global Advisory Committee on Vaccine Safety, 9–10 June 2005. Disponible en: <http://www.who.int/wer/2005/wer8028.pdf>

99. World Health organization. Global Advisory Committee on Vaccine Safety. Statement on Thiomersal. July 2006. Disponible en: http://www.who.int/vaccine_safety/topics/thiomersal/statement200308/en/

100. Yasbak F. Autism seems to be increasing worldwide, if not in London. *BMJ Letter*. 2004;328:226-7

101. Zambrano B. Consideraciones generales sobre el mercurio, el timerosal y su uso en vacunas pediátricas. *Rev. Med. Uruguay* 2004; 20:4-11.

Investigación y desarrollo de nuevas vacunas frente a infecciones bacterianas entéricas

M^a Carmen Álvarez Castillo
Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid

Artículo de revisión

RESUMEN

La importancia de las enfermedades diarreicas a nivel mundial radica en la alta mortalidad producida por estas enfermedades que se estima en aproximadamente 2 millones de muertes por año, ocurriendo la mayoría en niños pequeños, y ocupando el tercer lugar de todas las causas a nivel mundial (1). En algunos países en vías de desarrollo, los niños tienen más de 12 episodios de diarrea por estas enfermedades al año y justifican el 15–34% de todas muertes. La amplia variedad de infecciones víricas y bacterianas que pueden causar diarrea complican la vigilancia y el diagnóstico exactos, especialmente en países en desarrollo con escaso o ningún acceso a los procedimientos modernos de laboratorio y, por tanto, conocer la carga específica de la enfermedad atribuible a un agente contagioso concreto es especialmente compleja. Por otro lado, aunque los diferentes patógenos capaces de producir enfermedades diarreicas apenas suponen una docena (incluyendo adenovirus, astrovirus, calicivirus, rotavirus, Campylobacter, E. Coli, Shigella, Salmonella y V. Cholerae), la diversidad de cepas y de antígenos son el principal obstáculo para el diagnóstico etiológico y para el desarrollo de vacunas eficaces.

El desarrollo de las vacunas frente a los patógenos entéricos es, un desafío dada la amplia variedad de patógenos y la necesidad de inducir inmunidad efectiva en el intestino (2), idealmente, la vacuna debería administrarse por vía mucosa para conseguir protección de la mucosa. En algunas ocasiones, se ha observado alta efectividad administrando la vacuna, mediante vectores virales o no virales, por vía oral. Actualmente se han diseñado adyuvantes de mucosa para uso humano como por ejemplo, las toxinas de cólera y E. coli (3). También se han desarrollado estrategias usando bacterias vivas, atenuadas, para administrar antígenos vacunales por vía mucosa y así proteger frente infecciones por microbios heterólogos (4) y se ha desarrollado la posibilidad de plantas recombinantes o plantas transgénicas que ofrecen una estrategia nueva para el desarrollo de vacunas de subunidades seguras por vía oral frente la infección por E. coli, cólera o calicivirus. Esta posibilidad basada en plantas transgénicas sería una ventaja, especialmente, para su uso en países en desarrollo (5), pero es necesario la realización de estudios medioambientales antes de poder utilizar esta tecnología.

Seguramente, el mayor impacto frente a las enfermedades diarreicas radica en el acceso a la depuración del agua, la mejora de la higiene, la nutrición adecuada y la mejora de las medidas sanitarias en los países del tercer mundo, pero son conquistas a largo plazo por lo que, a corto y medio plazo, la única esperanza radica en las inmunizaciones frente a este tipo de

enfermedades. Esto es especialmente cierto para enfermedades víricas tales como las producidas por rotavirus, presente en países con niveles de higiene tanto altos como bajos.

Dentro de las bacterias que producen altas tasas de incidencia y de mortalidad por procesos diarreicos tanto en países en vías de desarrollo como en viajeros de países desarrollados hay que considerar *Escherichia Coli*, *Shigella*, y *Campylobacter Jejuni*. A continuación se presenta una revisión de la situación en la que se encuentra la investigación y desarrollo de vacunas frente a estas enfermedades.

CAMPYLOBACTER JEJUNI

Campylobacter jejuni es la causa más común de diarreas bacterianas tanto en países desarrollados como en desarrollo, estimándose en 400 millones los casos anuales a nivel mundial (solo en EEUU se estima 1,5 millones de casos) (6), y representa también la segunda causa de diarrea del viajero después de *E. coli* enterotoxigénico (ECET). En países en desarrollo, es una infección casi universal en los niños pequeños (7), pero quizás lo más importante es su asociación con casos con síndrome de Guillain-Barré (GBS) (8), que en general se resuelven espontáneamente, pero que pueden ser mortales, sobre todo si el manejo clínico no es óptimo.

Epidemiología

Las bacterias del género *Campylobacter* son comensales frecuentes del tracto intestinal de los animales (sobre todo pájaros) y están implicados con frecuencia en enfermedades diarreicas relacionadas con los alimentos. La transmisión ocurre generalmente por el consumo de agua contaminada, leche cruda o carne poco cocinada, especialmente pollo. Los principales factores de riesgo son la falta de higiene en

el lavado de manos y en los utensilios de cocina, por ejemplo después de cortar un pollo crudo. La transmisión también puede ocurrir en aguas de recreo contaminadas. También es frecuente la excreción asintomática del patógeno por sujetos inmunes (9).

En los países en vías de desarrollo, las especies de *Campylobacter* pueden causar varias infecciones a cada niño al año, aunque los afectados son casi exclusivamente lactantes. En regiones endémicas, las reinfecciones son lo habitual y típicamente son más leves. Lo característico es que los niños mayores de 5 años y los adultos permanezcan asintomáticos.

La infección por *C. jejuni* empieza típicamente con una fase de diarrea acuosa, tras un período de incubación de uno a tres días. Se manifiesta con frecuencia con signos de inflamación: fiebre, dolor abdominal y diarrea sanguinolenta. En los países en desarrollo, la diarrea suele ser acuosa, sin sangre visible en las heces. La infección no tratada cede después de un lapso de tres a siete días, aunque la enfermedad persistente no es rara.

Desarrollo de la vacuna

La inmunidad a *Campylobacter* parece ser específica de cepa y los antígenos que confieren inmunidad no son bien conocidos. La incertidumbre con respecto al mecanismo del síndrome de Guillain-Barre es otro obstáculo para el desarrollo de la vacuna frente a *Campylobacter*. Se ha demostrado que los anticuerpos frente a lipopolisacáridos de *C. jejuni* tienen reacción cruzada con los gangliosidos humanos (10); por ello las vacunas de células enteras, vivas o muertas, es posible que produzcan SGB.

El Instituto Médico de Investigación de la Armada de EEUU ha desarrollado una vacuna candidata que consiste en células

enteras inactivadas combinadas con la toxina TL de *E. coli* como adyuvante de mucosa (11). Una única dosis de esta vacuna, administrada a ratones, tuvo una eficacia del 87% en la protección homóloga frente a la colonización intestinal. En la actualidad, se está probando en seres humanos y los resultados preliminares sugieren que esta vacuna se tolera bien y es eficaz, aunque para lograr la protección se requieren varias dosis orales. Aún no se han dado a conocer datos sobre las tasas de protección homóloga y heteróloga.

Se están desarrollando otras estrategias de vacunación teniendo en cuenta que la flagelina de *C. jejuni* es una posibilidad atractiva porque sus propiedades antigénicas se conservan más que los antígenos de superficie LPS y LOS. Se ha evaluado una vacuna recombinada de la subunidad flagelina en ratones y con una sola dosis intranasal con toxina TL, indujo respuestas de anticuerpos anti-flagelos y una protección de más del 80% frente a la enfermedad sintomática y la colonización por una cepa heteróloga de *C. jejuni* (12). La vacuna con flagelos tiene la ventaja de que se espera que no induzca el SGB.

Consideraciones sanitarias e indicaciones de la vacunación

La vacunación frente a *C. jejuni* es una prioridad en países en desarrollo donde la enfermedad diarreica, potencialmente mortal, por este microorganismo afecta frecuentemente a los lactantes. Sin embargo, es importante señalar que para que una vacuna sea efectiva, debería ser aplicable y eficaz a una edad temprana. Estos requisitos son un obstáculo en países en desarrollo, donde muchos niños carecen de acceso regular a la atención médica. También la vacunación frente a *C. jejuni* puede ser beneficiosa para las personas que viajan a países en vías de desarrollo, sobre todo para los viajeros y militares que permanecen en ellos por períodos

prolongados. La infección por *C. jejuni*, aunque menos frecuente que las causadas por *E. coli* y *Shigella* spp, aumenta el riesgo de SGB.

La vacunación generalizada frente a *C. jejuni* disminuiría el riesgo de muerte secundaria a la diarrea del lactante en países en desarrollo pero es improbable que disminuyera en grado sustancial la presencia de este microorganismo en la comunidad, por la existencia de reservorios ambientales y la prevalencia de excreción sintomática de la bacteria por personas inmunes. Más aún, la vacunación podría llevar a un aumento en la edad de distribución de la infección sintomática, lo cual podría ser beneficioso porque los niños mayores y los adultos tienen una probabilidad mucho más alta de sobrevivir a la enfermedad por esta bacteria.

ESCHERICHIA COLI

Escherichia coli es el anaerobio facultativo predominante en el intestino del ser humano, lo que genera un grado importante de tolerancia inmunitaria al mismo. Dentro de esta masiva población microbiana de comensales, al menos, se han identificado seis patotipos de *E. coli* productores de diarrea en seres humanos (13). Dentro de las cepas patógenas podemos distinguir:

1) *E. coli* enteropatógena (ECEP): ciertos serotipos se encuentran comúnmente asociados con diarrea en niños. Produce destrucción de las microvellosidades intestinales sin invasión del microorganismo, lo cual sugiere que es importante la adherencia. Clínicamente se observa fiebre, diarrea, vómitos y náuseas. Normalmente no se presenta sangre en las heces.

2) *E. coli* enterotoxigénica (ECET) produce una diarrea parecida al cólera pero en grado mucho más leve. Estas cepas causan también la "diarrea del viajero".

Producen dos tipos de toxinas codificadas en plásmidos:

a) Toxinas lábiles al calor o termolábiles (TL) que activan a la adenilciclasa produciendo AMP-cíclico con un incremento en la secreción de agua y de iones.

b) Toxinas termo estables (TS) que activan a la guanilato ciclase con inhibición de la incorporación de iones desde el lumen intestinal.

En ambos casos el resultado es diarrea acuosa, fiebre y náuseas.

3) *E. coli* enteroinvasiva (ECEI) produce una disentería (indistinguible clínicamente de la shigelosis).

4) *E. coli* enterohemorrágica (ECEH). Estas usualmente son del serotipo O157:H7 y producen colitis hemorrágica (caracterizada por una copiosa diarrea sanguinolenta con pocos leucocitos en pacientes afebriles). Asimismo, estos microorganismos se pueden diseminar a sangre produciendo el síndrome sistémico urémico-hemolítico (anemia hemolítica, trombocitopenia y fallo renal). La producción de la Vero-toxina (bioquímicamente similar a la toxina shiga (por tanto también llamada "shiga-like") se asocia con este grupo de microorganismos; la toxina está codificada por un fago lisogénico. También son importantes en la patogénesis las hemolisinas (codificadas por plásmidos). Estas bacterias están adquiriendo cada vez más importancia al identificarse en brotes causados por carne contaminada en la preparación de hamburguesas.

Según la cepa implicada se producen enfermedades etiológicamente diferentes; sin embargo, en el diagnóstico de laboratorio los grupos generalmente no se diferencian y el tratamiento clínico, por tanto, se basa en la sintomatología.

No sólo hay distintas especies que causan la mayor parte de las enfermedades diarreicas, sino que además, lo habitual es que distintas cepas de un microorganismo determinado tengan antígenos diferentes. A pesar de estas dificultades, se han seleccionado algunos microorganismos de origen entérico para el desarrollo de vacunas, aunque con un éxito limitado.

***Escherichia coli* productora de toxina shiga**

Ciertas cepas de *E. coli* productoras de diarrea se han hecho lisógenas, con fagos que codifican la toxina shiga (TxS), caracterizada inicialmente en *Shigella dysenteriae* (14). Estas cepas colonizan la mucosa colónica y causan daño local sin una invasión significativa. El clon más importante de *E. coli* productora de toxina shiga pertenece al serotipo O157:H7. Este microorganismo expresa no sólo TxS, sino, además, una enorme variedad de factores de virulencia como factores de adherencia y proteínas segregadas nocivas para el ser humano. La infección se acompaña de diarrea acuosa que a menudo progresa a colitis hemorrágica franca (15, 16) La absorción por vía general de TxS causa graves secuelas, como el síndrome urémico-hemolítico (SHU), que afecta hasta al 20% de los niños con infección por *E. coli* O157:H7. Otras complicaciones potencialmente mortales son la perforación intestinal y el accidente cerebrovascular.

Puede ser difícil identificar la infección por *E. coli* O157:H7 porque muchos pacientes llegan a la consulta con una enfermedad diarreica inespecífica, sobre todo durante la fase inicial de la afección. La bacteria, tras su aislamiento en el laboratorio, se puede identificar merced a la detección de los antígenos O (somático) y H (flagelar). Sin embargo, muchas veces no se sospecha el diagnóstico hasta que el paciente presenta la tríada característica del SHU: trombocitopenia, anemia hemolítica e

Tabla 1. Estrategias para la vacunación frente a cepas de E. coli productoras de toxina shiga (ECTS) según el antígeno (20).

	Ventajas	Desventajas
ANTIGENO		
Polisacárido 0157	Es el tipo capsular más importante El antígeno O es inmunógeno y posiblemente protector	No protege frente a todos los ECTS
Toxina shiga	Responsable de todos los casos graves La toxina se puede inactivar por mutación	No se conoce la vía de administración óptima Riesgo de reacciones inadvertidas porque aún no se han caracterizado los efectos secundarios
Proteína de la membrana externa íntima	Presente en 0157 y muchas otras cepas de ECTS Inmunógena	La respuesta puede no ser protectora

Tabla 2. Estrategias para la vacunación frente a cepas de E. coli productoras de toxina shiga (ECTS) según la vía de administración (20).

VIA DE ADMINISTRACIÓN		
Oral	Protege en el sitio de infección Facilidad de administración Posibilidad de menor coste de producción Posibilidad de una buena presentación de múltiples antígenos	Respuesta general variable a los antígenos
Parenteral	No requiere estabilización frente a la acidez gástrica Posibilidad de estimular una respuesta general óptima a la TxS Facilidad de desarrollo	Administración más costosa y complicada No protege las mucosas

insuficiencia renal aguda. No hay un medio eficaz para prevenir el SHU, ni siquiera en sus estadios precoces y, además, la antibioterapia puede exacerbar la enfermedad y aumentar el riesgo de precipitar o empeorar el SHU (17).

Epidemiología

El serotipo 0157:H7 es endémico en los EEUU. La red de vigilancia multicéntrica que coordina FoodNet ha calculado una incidencia preliminar de 2,1 casos por cada 100.000 personas en todos los lugares

de administración óptima. Los candidatos para la vacuna que se están estudiando en modelos animales son toxoides derivados de las subunidades B o de A y B de la toxina (21).

La dificultad para controlar la infección por ECTS ha originado un lógico interés por desarrollar vacunas seguras y efectivas frente a esta bacteria, pero también se han planteado importantes consideraciones sanitarias con respecto a la vacunación de seres humanos frente a ECTS; teniendo en cuenta la baja incidencia de infecciones graves y de SHU, una vacuna

debería ser altamente efectiva y extraordinariamente segura.

La vacunación del ganado para prevenir el estado de portador del microorganismo es una alternativa viable ya que no plantearía el mismo requisito de seguridad total pero debería ser factible en términos económicos (20).

***E. coli* enterotoxigénica (ECET)**

E. coli enterotoxigénica es la causa más importante de diarrea infantil en países en desarrollo y es también la causa número uno de diarrea del viajero, que afecta a individuos de países industrializados que viajan a estas zonas (22).

Epidemiología

La enfermedad ocurre tras la ingestión de alimento o agua contaminado y se caracteriza por diarrea profusa durante varios días. Puede llevar a la deshidratación y la desnutrición en niños pequeños en países en desarrollo. ECET es el enteropatógeno aislado más frecuentemente en estudios de base poblacional en niños menores de 5 años en el mundo en vías de desarrollo, y probablemente produzca aproximadamente 200 millones de episodios de diarrea y 380.000 muertes al año (23). El pico de incidencia de diarrea por ECET en estos lugares ocurre en los dos primeros años de la vida y la incidencia va disminuyendo con la edad. La vigilancia de casos hospitalizados de diarrea por ECET ha, sin embargo, mostrado que al menos la mitad de los casos ocurren en individuos más de 10 años de edad. En los niños, la tendencia de ECET para causar deshidratación es más baja (aproximadamente 5% de episodios) que rotavirus (aproximadamente 36% de episodios). Sin embargo, ya que la incidencia de diarrea por ECET en niños es considerablemente más alta que la diarrea por rotavirus, el número absoluto de

episodios de diarrea con deshidratación debido a ECET son, alrededor del 70% de aquellos debidos a rotavirus.

Vacunas anti-*Escherichia coli* enterotoxigénica

Para el desarrollo de una vacuna candidata frente a esta enfermedad es necesario tener en cuenta algunas consideraciones:

✓ ECET se une a receptores específicos en la superficie de los enterocitos de la pared intestinal por sus fimbrias (parecidos a pelo), lo que le confiere antigenicidad específica de cadena; se han descrito más de 20 tipos de antígenos de fimbrias, llamados antígenos de superficie *E. coli* (CSs) o antígenos de factor de colonización (CFAs). Las respuestas inmunitarias frente a fimbrias son protectoras pero las respuestas producidas frente a un tipo de fimbrias no protegen de los otros tipos. Una vacuna efectiva frente a un amplio espectro de infecciones debería incluir múltiples tipos de fimbrias.

✓ Una vez unido al epitelio intestinal, ECET elabora una toxina termolábil (TL), que induce la diarrea acuosa y una toxina termoestable (TS). La toxina TL es semejante a la toxina del cólera (TCB) que está compuesta por una subunidad catalítica A y cinco subunidades B idénticas. Por ello se ha documentado protección a corto plazo contra la enfermedad por ECET en personas inmunizadas con vacuna de subunidades de la toxina del cólera B (reactividad inmunitaria cruzada entre la toxina del cólera y las subunidades TL-B)

✓ La mayoría de los individuos con diarrea por ECET generan respuestas anti-TL.

✓ Historia natural de infección de ECET en niños en países en vías de desarrollo sugieren que estas infecciones inmunizan ya que las tasas de diarrea de ECET disminuyen con la edad y además existe relación protectora entre las

M^a Carmen Álvarez Castillo. Investigación y desarrollo de nuevas vacunas frente a infecciones bacterianas entéricas

Tabla 3. Seguridad e Inmunogenicidad de vacunas candidatas frente ECET actualmente en estudio clínico²⁵.

Vacuna	Inmunización			Respuesta Inmune		
	Vía	Número	Cantidad	Reacciones Adversas Significativas	Antitoxina sérica IgG (%)	Anti-CF IgA ASC (%)
Inactivada						
CTB o LTB purificada	Oral	2	1 mg	No	90-100	4/5 (80)
CS6 purificada en microcapsulas	Oral	2	1mg	No	-	0
CS6	Transcutánea	3	0,25-2 mg CS + 0,5 mg LT	No	100	42
CS6 + LT	Transcutánea	3	0,5 mg	Rash local (74%)	90-100	65-80
rCTB-CF-ETEC	Oral	3	10 ¹¹ bacteria + 1 mg rCTB	No		
Viva atenuada genéticamente						
PTL002	Oral	1	5x10 ⁹ cfu	60% (3/5 moderadas)	100	100 (5/5)
PTL003	Oral	1	5x10 ⁹ cfu	33% (2/6 media)	100	100 (5/5)

infecciones iniciales de ECET y las infecciones subsiguientes que tienen una toxina y/o fenotipos del factor de colonización semejante.

✓ Los grupos de población objetivo de la vacunación serán los niños de países en vías de desarrollo en los primeros años de la vida y los que viajan desde países industrializados a estos países (incluidas las tropas militares).

Por todo ello, una vacuna que confiriera una protección de amplio espectro debería contener antígenos de fimbrias representativos de los patógenos de ECET más prevalentes, es decir, CFA/I y CS1-CS6 que se encuentran entre 50-80% de los aislamientos clínicos, en particular de las cadenas productoras de TL/TS o TS solo. Una vacuna multivalente compuesta de CFA/I, CS1-6 y toxoide TL protegería el 80% de las cepas de ECET a nivel mundial (25).

Tipos de Vacunas en estudio (Tabla 3):

Vacunas de células enteras inactivadas.

Vacunas bivalentes anti-Shigella spp-Escherichia coli enterotoxígena de microorganismos vivos atenuados.

El desarrollo de esta estrategia está impulsado por la eficacia observada tras la vacuna de células muertas del cólera WC/RB (Dukoral®) que prevenía un 23% de todos episodios de diarrea y un 52% de episodios debidos a ECET en turistas finlandeses que visitaron Marruecos; esta protección no dura más que unos pocos meses (26).

Se han propuesto varias aproximaciones utilizando factores de colonización, toxoides de LT o ST-LT o plantas transgénicas que expresen la subunidad B de la toxina del cólera. El más exitoso se ha desarrollado por la Universidad de Göteborg (Suecia) basado en CTB recombinante combinado con cuatro cepas de células de ECET inactivadas con formalina que expresan factores de colonización de mayor importancia epidemiológica en países en desarrollo (fimbrias CFA/1 y de CS1 a CS6) (27,28). Una de las vacunas más estudiadas ha sido la combinación de CTB recombinante y bacterias ECET inactivadas que expresan CFA/I y CS1-CS5 y alguno de los antígenos O de ECET más prevalentes (rCTB-CF ETEC) que proporciona una amplia protección frente la enfermedad por ECET (29). La vacuna rCTB-CF ETEC se ha demostrado que es segura y proporciona una respuesta significativa de respuesta inmune IgA

intestinal en la mayoría de sujetos suecos vacunados (70-90%) (30). Sobre esta estrategia se ha realizado distintos estudios (30-37): a) estudios de Fase II con 2 dosis en Bangladesh, Egipto, Israel, Nicaragua, EEUU y Europa, observando que la vacuna es segura e inmunogénica; b) ensayo piloto de eficacia en turistas europeos que viajan a países en desarrollo observando un 80% de protección frente diarrea por ST-EPEC (el único fenotipo de la toxina detectado en este estudio); c) ensayos de Fase III de eficacia en viajeros de EEUU a Iberoamérica, viajeros europeos a Kenia, reclutas del ejército israelí, y a niños y jóvenes egipcios. En este último grupo la vacuna fue poco eficaz; d) finalmente, se ha estudiado la inmunogenicidad, eficacia y seguridad de esta vacuna en niños de entre 6 y 17 meses en Bangladesh en un estudio en Fase II que mostró una importante respuesta inmunitaria en el grupo vacunal y una excelente tolerancia.

Vacunas bivalentes anti-Shigella spp-Escherichia coli enterotoxígena de microorganismos vivos atenuados

La aproximación con vacunas vivas está siendo probada por el Centro para el Desarrollo de Vacunas (CVD), de la Universidad de Maryland (EEUU). Su estrategia es utilizar como vector *Shigella* viva atenuada para expresar fimbrias de ECET y antígenos del toxoide LT. Esta unión podría proteger tanto frente a *Shigella* como a ECET (38,39). El mismo enfoque se está desarrollando por Microscience utilizando su spi-VEC de la vacuna tifoidea oral viva atenuada como vector para la presentación de antígenos de ECET. También en EEUU se está desarrollando otra vacuna viva oral recombinante frente a las enfermedades diarreicas del viajero debidas a *Campylobacter*, *Shigella* y ECET.

Vacuna de microorganismos vivos atenuados anti-Escherichia coli enterotoxígena

Acambis Ltd. (Cambridge, Inglaterra) ha desarrollado dos cepas de ECET no toxigénicas que expresan CS1 y CS3 como posible vacuna de células vivas atenuadas de administración oral, denominadas PTL002 y PTL003. Se realizó un estudio Fase I en el que se habían introducido mutaciones en los genes amC y ompR o en los genes amC, ompC y ompF de una cepa no toxígena de ECET obteniéndose cepas vacunales que resultaron ser seguras y con buena tolerabilidad en voluntarios a dosis de 10⁷ a 10⁹ unidades formadoras de colonias (cfu) (40). En un ensayo aleatorizado, doble ciego en Fase II (voluntarios adultos sanos) se compararon ambas vacunas: se administraron una o dos dosis (separadas por diez días) de ambas vacunas (41) y se observó mejor inmunogeneicidad con la vacuna PTL003, que indujo mayor respuesta IgA de forma estadísticamente significativa sin que la respuesta fuera superior con dos dosis que con una. La vacuna PTL003 fue bien tolerada, y únicamente produjo diarrea leve en un 6% de los vacunados.

Vacunas con antígenos purificados

Los primeros intentos de vacunación con fimbrias purificadas en preparaciones para administración oral no llegaron a buen término debido a la degradación de los antígenos en el tracto gastrointestinal. Más tarde, se encapsularon las fimbrias CFA/II en microesferas con el propósito de aumentar la captación por el tejido linfático en el intestino; un estudio en voluntarios sanos mostró que era modestamente inmunógena, pero poco protectora frente a cepas primigenias de ECET. Guereña-Burguena y cols. observaron que la preparación con fimbrias CS6 purificadas y la toxina TL también purificada inducía respuestas frente a ambos componentes en aproximadamente la mitad de los voluntarios que recibieron la vacuna administrada en parches transdérmicos (42). Esta estrategia resulta muy prometedora por la facilidad de administración y porque permite

administrar varios antígenos simultáneamente. Actualmente se están llevando a cabo estudios de Fase II/III (43) con una vacuna producida por Iomai Corporation que utiliza la toxina termolábil (TL) por medio de la novedosa tecnología de inmunización transcutánea. El estudio de fase II para demostrar la eficacia en la diarrea del viajero observó que de los 59 sujetos que recibieron la vacuna-parche solo 3 padecieron una diarrea moderada o severa frente a 23 de los 111 sujetos que recibieron la vacuna mediante administración clínica, lo que supone un 75% de reducción ($p=0,007$); solo 1 de los 59 vacunados sufrió diarrea severa frente a 12 de los 111 no vacunados, con una reducción del 84% ($p=0,033$). Actualmente se va a iniciar un estudio Fase III con el propósito de evaluar la respuesta inmune frente a diferentes dosis y la seguridad del parche en la piel de diferentes localizaciones.

Vacunas peptídicas de subunidades o de protección cruzada

Ya que varias subunidades fimbrias, aunque antigénicamente diferentes, comparten aminoácidos homólogos, sobre todo CFA/I, CS1, CS2 y CS4 se ha propuesto que subunidades o epítomos derivados de las regiones homólogas podrían inducir respuestas de protección cruzada frente a cepas de ECET que tienen fimbrias relacionadas. Se han probado varias estrategias para presentar las subunidades o epítomos fimbrias con fines inmunógenos, como por ejemplo, la incorporación a la estructura flagelar de *Salmonella* spp, la expresión en plantas comestibles (44) o maíz, la expresión de TL en patatas transgénicas que induce anticuerpos-TL en animales y humanos (45) y la inmunización con vacunas de ADN (46).

SHIGELLA

La shigelosis es una enfermedad endémica mundial siendo responsable de unos 165 millones de casos de disentería

severa con sangre y moco en heces y se estima que más de un millón de personas fallecen por infección de *Shigella* cada año. La mayoría de los casos ocurren en países en vías desarrollo e implica a niños menores de cinco años de edad (47, 48). Además, entre viajeros y personal militar de países industrializados se producen unos 580.000 casos de shigelosis. Desde finales de la década de los sesenta, han ocurrido ondas pandémicas de disentería por *Shigella* en África sub-Sahariana, América Central y del Sur y sudeste de Asia, a menudo en áreas con problemas políticos y con desastres naturales. Durante el genocidio en Ruanda en 1994, murieron en el primer mes, aproximadamente, 20.000 refugiados ruandeses que habían huido a la región del norte de Kivu de Zaire de disentería causada por *Shigella* resistente a todos los antibióticos comúnmente utilizados.

Epidemiología

Las cuatro especies de *Shigella* que son causa importante de enfermedad en los seres humanos son: *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. sonnei* y *S. boydii*. Estas especies se subdividen en serotipos según la especificidad antigénica de la porción O-polisacárido de su LPS (48). *S. flexneri* es la especie aislada más frecuentemente en todo el mundo y endémica en países en desarrollo (60% de todos los aislamientos). *S. sonnei* provoca la mayoría de los casos de shigelosis en España, EEUU y en otros países altamente industrializados, donde representa el 77% de las cepas, frente al 15% de los países menos desarrollados. *S. dysenteriae* no es una causa común de enfermedad endémica (con algunas excepciones), pero puede provocar brotes muy graves en poblaciones confinadas, muy especialmente en campamentos de refugiados. *S. boydii*, si bien sigue causando infección en algunos países menos desarrollados, representa típicamente el 6% o menos de los casos de shigelosis.

No hay reservorios animales de *Shigella spp*, de modo que la infección siempre es secundaria a la contaminación con materia fecal de los seres humanos. La fuente de la infección se debe típicamente a la ingestión de comida o agua contaminadas. Ya que la dosis infectiva es muy baja para todas las especies de *Shigella* es frecuente la transmisión de persona a persona y es la característica predominante de los brotes ocurridos en poblaciones confinadas o residentes en instituciones.

La infección por *Shigella spp*, al igual que la causada por ECET, es frecuente en viajeros y personal militar. Los brotes infecciosos afectan principalmente a las tropas enviadas a países menos industrializados o que viven en campamentos, donde las condiciones de higiene no son óptimas (6).

Las especies de *Shigella* invaden el epitelio del colon a través de las células M y después se diseminan lateralmente de célula a célula. El hallazgo característico de sangre y moco en las heces de las personas infectadas se debe al desprendimiento de células epiteliales invadidas por contigüidad y a la respuesta inflamatoria inducida por las bacterias. La capacidad de invasión, el principal factor de virulencia de *Shigella spp*, depende de factores especializados codificados por un plásmido de virulencia de alto peso molecular. *Shigella dysenteriae* tiene otro factor de virulencia, la toxina Shiga (TxS), que inhibe la síntesis proteica en las células eucarióticas al inactivar el ARN ribosómico, lo cual lleva a la muerte celular; esta toxina es responsable de las secuelas de la infección por *S. dysenteriae*, incluido el SHU.

Vacunas frente *Shigella*

Aunque aún no se ha conseguido una licencia para vacunas frente a *Shigella spp*, la investigación realizada en los últimos 50 años ha permitido identificar los

mecanismos patógenos y conocer preliminarmente las condiciones que requiere una respuesta inmunitaria protectora. Estudios epidemiológicos y en voluntarios sugieren que la inmunidad protectora está dirigida contra el antígeno O somático del polisacárido LPS de *Shigella* (49) y que es específico de tipo. Las cuatro especies de *Shigella* se dividen en más de cuarenta y siete serotipos, pero algunos tipos específicos se consideran los agentes etiológicos más importantes de la enfermedad en seres humanos (47). Por consiguiente, una vacuna dirigida a los LPS con un amplio espectro de eficacia protectora debería incluir múltiples serotipos.

Tipos de Vacunas en estudio (Tabla 4²⁵):

Se han ensayado las siguientes: vacunas con bacterias vivas atenuadas, vacunas inactivadas, vacunas combinadas y cepas transportadoras vivas.

*Vacunas orales vivas frente *Shigella**

Vacuna viva bivalente de *S. flexneri* 2a y *S. sonnei* (FS) desarrollada en el Instituto Lanzhou de Productos Biológicos. Los estudios de campo en China han demostrado una protección del 61–65% frente *S. flexneri* 2a, del 57–72% frente *S. sonnei*, y un 48–52% de eficacia protectora frente especies heterologas de *Shigella*. Sin embargo, la pauta de 3 dosis con altas cantidades de vacuna es problemática. Son necesarios más estudios de la vacuna FS en lactantes y niños para definir la aplicación sanitaria de esta vacuna en China.

Cepa viva atenuada de *S. flexneri* 2a (SC602) y una cadena de *S. dysenteriae* tipo 1 (SC599) llevando mutaciones en los genes *icsA*, *iuc*, *int* y *toxA* y desarrollada en el Instituto Pasteur (París). La vacuna SC602 se probó en voluntarios adultos de EEUU y en adultos y niños en Bangladésh en colaboración con WRAIR y IVI (50). Se observó una alta reactogeneidad en

Tabla 4. Vacunas frente *Shigella* actualmente en estudio (25).

Vacuna	Dosis	Reacciones Adversas significantes (%)	Porcentaje de voluntarios con respuesta anti-LPS (%)
Inactivada			Ig suero
<i>Shigella</i> Sonnei O-antígeno+ proteína conjugada (rEPA)	25µg polisacarido + 75 µg proteína	0	90
Viva Atenuada			IgA ASC
SFL 1070	10 ⁸ cfu	0	89
CVD 1203	10 ⁸ cfu	12	91
CVD 1207	10 ⁸ cfu	0	67
SC 602	10 ⁴ cfu	20	66

adultos a altas dosis y una eficacia notable en los voluntarios de EEUU. Sin embargo, los resultados de inmunogenicidad desilusionaron en lactantes debido a que carecen de la colonización del intestino (presencia de anticuerpos maternos desde la lactancia) o debido a la sobre-atenuación de la vacuna candidata para esta población.

Vacuna viva atenuada de *Shigella* que incorporan *S. flexneri* tipos 2a, 2b y 3a, *S. sonnei*, y *S. dysenteriae* tipo 1 cada una portando genes adicionales de fimbrias de ETEC y en desarrollo en el CVD. Se estudio una serie de cepas con deleciones progresivas de genes de virulencia culminando en la cadena CVD1208S, que actualmente debe entrar en Fase I de ensayos clínicos (51-54).

Vacunas estreptomycin-dependiente (SMD) que han demostrado ser seguras para *S. flexneri* 1, 2a, y 3a y *S. sonnei*. Estudios en la antigua Yugoslavia mostraron protección en el 75-90% de casos. Sin embargo, se observaron efectos secundarios y no continuo el desarrollo de la vacuna (55).

Vacuna de *S. sonnei* (WRSS1) desarrollada con una deleción del gen *VirG* estudiada en Fase I por CVD y de la que se observó que era medianamente

(59). A partir de estos datos, actualmente se está llevando a cabo un estudio aleatorizado doble-ciego de Fase III en niños de 1-4 años en Israel (NICHD) mediante la administración de *S. sonnei*-CRM9 o de *S. flexneri* type 2a-rEPAsucc

Vacuna nuclear de proteína/ribosoma, desarrollada por el Instituto Internacional de Vacunas (IVI) y el Walter Reed Army Institute of Research (WRAIR) en una etapa pre-clínica

Vacuna administrada por vía nasal de proteosoma que consiste en LPS *Shigella* unido a micelles de la proteína de la membrana externa de *N. meningitidis* de grupo B.

Antex (EEUU) está desarrollando una vacuna inactivada de células completas conteniendo antígenos de *Campylobacter*, *Shigella* y ETEC que debería comenzar en fase de ensayo clínico.

Vacunas combinadas *Shigella*

Mediante genética molecular se consiguió que una cepa atenuada de *S. flexneri* expresara el antígeno específico O de *S. dysenteriae*. Los animales que recibieron esta vacuna mostraron respuestas inmunitarias tanto frente a *S. dysenteriae* como a *S. flexneri* (60-62).

Noriega y cols. propusieron que la combinación de 3 de los 14 serotipos de *S. flexneri* que expresara todos los antígenos específicos de tipo y de grupo presentes en los otros serotipos generaría protección cruzada frente todas las cepas de *S. flexneri* (63). La vacunación de animales con combinación de cepas atenuadas de *S. flexneri* 2a y *S. flexneri* 3a confirió protección (tasa 20% al 92%) frente los serotipos 1a, Y, 1b, 4b, 2b y 5b. En opinión de estos autores, con el añadido de cepas atenuadas de *S. flexneri* 6, *S. dysenteriae* tipo 1 y *S. sonnei* se lograría protección frente la mayoría de las enfermedades causadas por las especies de *Shigella*.

Estos estudios avalan la hipótesis de que desarrollar una vacuna polivalente es un objetivo lógico para lograr amplia protección frente a las especies de *Shigella*.

Vacunas de cepas transportadoras vivas

Se trata de obtener otra especie bacteriana modificada genéticamente de manera que exprese determinantes específicos de *Shigella* spp. La cepa híbrida EcSf2a-2 de *E. coli/Shigella* spp. comprende una cepa enteroinvasiva de *E. coli* con eliminación del gen *aroD* que expresa el LPS de *S. flexneri* 2a. Estudios en voluntarios que recibieron diferentes números de dosis o diferentes esquemas posológicos han mostrado buena tolerabilidad de la vacuna. La vacuna protegió en algún grado frente a la infección natural pero la protección no fue estadísticamente significativa (64, 65). Ensayos de campo posteriores con la cepa híbrida EcSf2a-2 en un campamento militar israelí confirmó que la vacuna se toleraba bien, pero no se generaron datos sobre su eficacia porque no se produjeron casos de enfermedad por *S. flexneri* 2a mientras duró el ensayo (66).

Actualmente se están llevando a cabo estudios (67) por WRAIR (Walter Reed

Army Institute of Research. Clinical Trials Center) de la vacuna llamada Invaplex 50, en concreto un estudio Fase I de seguridad e inmunogeneicidad de la vacuna *Shigella Flexneri* 2a Invaplex 50 por vía intranasal y un estudio de Fase I/II para seleccionar la dosis protectora.

INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO DE VACUNAS PARA PAÍSES EN VÍAS DE DESARROLLO. EL INSTITUTO INTERNACIONAL DE VACUNAS (IVI) Y EL PROYECTO DOMI

El Instituto Internacional de Vacunas (68) (IVI) se fundó bajo la creencia de que las vacunas son la mejor herramienta para estrechar las diferencias entre países ricos y pobres. Es la única organización internacional dedicada exclusivamente a la investigación de nuevas vacunas para los países en vías de desarrollo.

El Programa para las enfermedades de los más empobrecidos (69) (The Diseases of the Most Impoverished, DOMI) comenzó a principios de 2000 después de recibir una generosa financiación de la fundación Bill & Melinda Gates. Se creó para la investigación y el desarrollo de vacunas frente tres enfermedades entéricas importantes, cólera, shigelosis, y fiebre tifoidea, que explican la muerte de centenares de miles de personas cada año, sobre todo niños.

Se trata de un programa coordinado en ocho países (Bangladesh, China, India, Indonesia, Mozambique, Paquistán, Tailandia, y Vietnam) y se ha centrado en el desarrollo e introducción en países en vías de desarrollo de vacunas frente a estas enfermedades.

Los objetivos principales de DOMI son:

- Generar y difundir la evidencia necesaria dirigida a los políticos para introducir racionalmente las vacunas

existentes, de nueva generación y con licencia frente cólera y fiebre tifoidea.

- Ayudar a asegurar vacunas adecuadas y coste-competitivas de cólera oral inactivado de células enteras y vacunas tifoideas del polisacárido Vi transfiriendo la tecnología de la producción a fabricantes cualificados en Asia y proporcionando entrenamiento en la producción y la regulación de vacunas.

- Asegurar los tramites para que las vacunas experimentales de nueva generación frente a cólera, fiebre tifoidea, y shigelosis sean evaluadas en zonas endémicas y generen evidencia de la necesidad de estas vacunas.

- Ayudar al desarrollo de un consenso a nivel nacional, regional, e internacional en el uso de vacunas contra estas tres enfermedades.

Además de la financiación de la fundación Gates, el programa de DOMI también ha recibido ayuda de: la república de Corea, la agencia internacional sueca de la cooperación del desarrollo, el gobierno de Kuwait, AusAID, la agencia internacional de la cooperación de Japón, la fundación Rockefeller, la fundación UBS Optimus, Wellcome Trust, Institute for Biological Standards and Controls (Reino Unido), Medecins Sans Frontieres, la universidad de Göteborg, GlaxoSmithKline Biologicals, Sartorius AG, Emergent Product Development (formerly Microscience), AVANT Immunotherapeutics, y de laboratorios bacteriológicos suecos.

Programa DOMI para *Shigella*

El objetivo final del programa de shigelosis de DOMI es acelerar el desarrollo y la introducción de una vacuna segura y protectora frente *Shigella* para controlar la enfermedad epidémica y endémica. Para alcanzar este objetivo, el programa del shigelosis de DOMI se ha centrado en proporcionar apoyo a las evaluaciones clínicas de las vacunas experimentales de nueva-generación y en facilitar la introducción de estas vacunas a partir de

los datos obtenidos sobre carga de enfermedad, epidemiología y coste de la enfermedad, las opiniones de la población sobre la enfermedad y la posible demanda para una vacuna. Por ello, los objetivos específicos del programa son:

- Medir la carga de enfermedad de shigelosis en seis lugares de Asia mediante vigilancia de base poblacional.

- Explorar la percepción de las comunidades a riesgo y de los proveedores del cuidado médico sobre la shigelosis y sobre una vacuna potencial frente esta enfermedad.

- Estimar el coste de shigelosis y las implicaciones económicas al introducir una vacuna frente *Shigella*.

- Acelerar el desarrollo y la evaluación de vacunas frente *Shigella*.

Figura 1. Zonas de Asia donde se ha implantado el programa DOMI frente *Shigella*



Figura 1. Zonas de Asia donde se ha implantado el programa DOMI frente *Shigella*.

El desarrollo de estos objetivos se ha plasmado en los siguientes proyectos:

Estudios prospectivos de vigilancia de base poblacional.

Para determinar la magnitud de la carga de la enfermedad en Asia, se han realizado estudios prospectivos de base poblacional en seis países asiáticos (Dhaka, Bangladesh; Zhending, China; Jakarta Del

norte, Indonesia; Provincia De Saraburi, Tailandia; Karachi y aldeas rurales en Paquistán; y Nha Trang, Vietnam). Los resultados de este estudio multi-país han sido publicados en 2006 (70) y los resultados del estudio en Tailandia fueron publicados en 2005 (71).

Los principales resultados de estos estudios son los siguientes:

- Los índices más altos de shigelosis, confirmados mediante cultivo de heces, se observaron en niños menores de cinco años de edad en los seis sitios del estudio. Las tasas anuales en niños de 0-4 años variaron de 46/1.000 en Dhaka, Bangladesh a 16-19/1.000 en Hebei, China y a 4-5/1.000 en las zonas de Tailandia y de Vietnam. Las tasas de incidencia para todas las edades variaron de 8/1.000 en Dhaka a 0.6/1.000 en Tailandia y Vietnam.

- La detección mediante PCR del DNA de *Shigella* de una sub-muestra de las muestras recogidas en los seis países también encontró evidencia de *Shigella* en más el de 40% de las muestras con cultivo negativo. Esto sugiere que la incidencia proporcionada mediante cultivo subestima enormemente la proporción verdadera de todos los episodios tratados de diarrea que sean debido a *Shigella*, que, en el caso de Vietnam, podría ser tan alta como del 35%.

- Aunque los menores de 10 años de edad, y especialmente los de 0-4 años, tienen el riesgo más alto de adquirir la enfermedad, la incidencia del shigelosis aumenta constantemente a partir de los 40 años de edad. Las personas de 70 y más tuvieron la segunda tasa más alta en la población total del estudio después de los de 0-4 años. Los ancianos en China y Vietnam fueron especialmente vulnerables a la enfermedad. Estos resultados sugieren que, únicamente la vacunación de los niños no disminuirá totalmente la carga de shigelosis en países en vías de desarrollo y que puede ser necesaria la vacunación paralela de niños jóvenes y de ancianos en algunos países como China.

- Se observó una considerable heterogeneidad de las especies y serotipos de *Shigella* entre los distintos lugares del estudio. En cinco sitios, *S. flexneri* fue la especie aislada con más frecuencia mientras que en Tailandia el 80% de casos de shigelosis fueron causados por *S. sonnei*. En Bangladesh, más del 20% de *Shigella* aisladas pertenecieron a la especie *S. boydii*, que comúnmente no se observa ni en países en vías de desarrollo ni en los desarrollados. Los estudios también detectaron diferencias significativas en la distribución de los serotipos de *S. flexneri* de país a país al igual que de un año a otro año en el mismo país, planteando un desafío significativo para el desarrollo de las vacunas eficaces frente *Shigella*. Puesto que la inmunidad frente *Shigella* se piensa que es específica de especie y de serotipo, una vacuna candidata frente *Shigella* necesitará abarcar un amplio "cocktail" de diversos organismos de *Shigella* para tener un impacto epidemiológico importante.

- Entre 35-80% de los aislamientos de *Shigella*, en los seis lugares, resultaron ser resistentes a los antibióticos de primera línea, ampicilina y cotrimoxazol. El aumento de las tasas de *Shigella* resistente a antibióticos, aumenta la dificultad y los costes de tratar a pacientes con shigelosis y consolida el hecho para la vacunación de poblaciones endémicas.

- El curso clínico de la enfermedad aparecía menos severo que en estudios anteriores, la mayoría de ellos realizados en el ámbito hospitalario. De hecho, solo un tercio de casos confirmados mediante cultivo se presentó con disentería. Sin embargo, también se encontró que la shigelosis era considerablemente más común en poblaciones asiáticas empobrecidas de lo que se pensó previamente. El estudio concluyó que la prevención de la shigelosis mediante vacunación y otras medidas podrían ejercer una ventaja inmediata reduciendo sustancialmente la carga total de la diarrea en la región y previniendo la extensión de las cepas resistentes de *Shigella*.

M^a Carmen Álvarez Castillo. Investigación y desarrollo de nuevas vacunas frente a infecciones bacterianas entéricas

Estudios sociales del conocimiento, opiniones y creencias de la población con respecto a la disentería

En el marco de los estudios de vigilancia de la enfermedad en los seis lugares del estudio, se realizaron estudios de base poblacional sobre la percepción de la comunidad respecto a la disentería y al interés en futuras vacunas. Un análisis descriptivo del país (72) encontró que habría demanda uniformemente alta para una vacuna frente a la disentería para los niños en los lugares del estudio y que también era considerable el interés en la vacunación del adulto aunque varió según la localización. Los resultados del estudio en China fueron publicados en 2006 (73).

Estudios económicos de shigelosis

Se han llevado a cabo estudios para estimar el coste de enfermedad de shigelosis confirmada por cultivo en los seis sitios del estudio aunque el informe con los resultados aún no se han publicado.

Ensayos clínicos de las vacunas candidatas frente Shigella

DOMI apoyó la evaluación clínica de una vacuna oral viva, genéticamente atenuada, de *S. flexneri* 2a desarrollada por el instituto Pasteur que había demostrado resultados prometedores en adultos norteamericanos. El centro internacional para la investigación de enfermedades diarreicas de Bangladesh (ICDDR, B) llevó a cabo un ensayo de fase II de la vacuna en niños preescolares pero se observó pobre colonización e inmunogenicidad en niños pequeños. Estos resultados indican que las vacunas orales vivas de *Shigella* pueden ser menos eficaces en inducir respuesta inmune fuerte en poblaciones endémicas para *Shigella* ya que probablemente tienen altos niveles de inmunidad natural preexistente, lo cual puede prevenir la colonización intestinal por el organismo vacunal.

Desarrollo de la vacuna frente Shigella

IVI ha estado desarrollando en sus laboratorios una vacuna de subunidades de *Shigella* mediante la purificación de los ribosomas de la bacteria con el ánimo de desarrollar y transferir la tecnología de una vacuna barata capaz de estimular la respuesta inmune de células T-dependientes similar a aquella estimulada por las vacunas conjugadas.

REFERENCIAS

1. OMS. Changing History, in The World Health Report World Health Organ, 2004.
2. Dougan G, Huett a, Clare S. Vaccines against human enteric bacterial pathogens. Br Med Bull. 2002;62:113–123.
3. Eriksson K, Holmgren J, Recent advances in mucosal vaccines and adjuvants. Curr Opin Immunol. 2002;14:666–672.
4. Roland KL, Tinge SA, Killeen KP, Kochi SK. Recent advances in the development of live, attenuated bacterial vectors. Curr Opin Mol Ther. 2005;7:62–72.
5. Tacket CO. Plant-derived vaccines against diarrhoeal diseases. Expert Opin Biol Ther. 2004;4:719–728.
6. Nataro JP, Barry EM. Diarrheal Disease Vaccines. In: Plotkin SA, Orenstein WA, Editors. Vaccines (fourth ed.), Saunders, Philadelphia 2004:1209–1217.
7. Coker AO, Isokpehi RD, Thomas BN, Amisu KO, Obi CL. Human campylobacteriosis in developing countries. Emerg Infect Dis. 2002;8:237–244.

M^a Carmen Álvarez Castillo. Investigación y desarrollo de nuevas vacunas frente a infecciones bacterianas entéricas

8. Lang DR, Allos BM, Blaser MJ. Workshop summary and recommendations regarding the development of Guillain-Barre syndrome following Campylobacter infection. *J Infect Dis.* 1997;176:(Suppl. 2):S198–S200.
9. Girard MP, Steele D, Chaignat CL, Kieny MP. A review of vaccine research and development: human enteric infections. *Vaccine* 2006;24:2732-2750.
10. Ang CW, Laman JD, Willison HJ, et al., Structure of Campylobacter jejuni lipopolysaccharides determines antiganglioside specificity and clinical features of Guillain-Barre and Miller Fisher patients. *Infect Immun.* 2002;70:1202–1208.
11. Baqar S, Applebee LA, Bourgeois AL. Immunogenicity and protective efficacy of a prototype Campylobacter killed whole-cell vaccine in mice. *Infect Immun.* 1995;63:3731–3735.
12. Lee LH, Burg E, Baqar S, Bourgeois AL, Burr DH, Ewing CP, et al. Evaluation of a truncated recombinant flagellin subunit vaccine against Campylobacter jejuni. *Infect Immun.* 1999;67:5799–5805.
13. Nataro P, Kaper JB. Diarrheagenic Escherichia coli. *Clin Microbiol Rev.* 1998;11:142–201.
14. Sandvig K. Shiga toxins. *Toxicon* 39:1629-1635,2001.
15. Slutsker L, Ries AA, Greene KO, et al. Escherichia coli O157:H7 diarrhea in the United States: clinical and epidemiologic features. *Ann Intern Med.* 1997;126:505-513.
16. Tarr PI, Neill MA. Escherichia coli O157:H7. *Gastroenterol Clin Nonh Am.* 2001;30:735-751.
17. Wong CS, Jelacic S, Habeeb RL, et al. The risk of the hemolytic-uremic syndrome after antibiotic treatment of Escherichia coli O157:H7 infections. *N Engl J Med.* 2000;342:1930-1936.
18. Centers for Disease Control and Prevention. Preliminary FoodNet data on the incidence of foodborne illnesses-selected sites, United States, 2000. *JAMA* 2001;285:2071-2073.
19. Tilden J Jr, Young W, McNamara AM, et al. A new route of transmission for Escherichia coli: infection from dry fermented salami. *Am J Public Health* 1996;86:1142-1145.
20. Nataro JP, Barry EM. Vacunas frente a la diarrea de origen bacteriano. En: Plotkin SA, Orenstein WA, Picazo JJ. Vacunas. (cuarta edición) Ed. Médica AWWE S.L., Madrid, 2004:1257-1266
21. Marcato P, Mulvey G, Read RJ, Van der Helm K, Nation PN, Armstrong GD. Immunoprophylactic potential of cloned Shiga toxin 2 B subunit. *J Infect Dis.* 2001;183:435–443.
22. Jiang ZD, Mathewson JJ, Ericsson CD, Svennerholm AM, Pulido C, DuPont HL. Characterization of enterotoxigenic Escherichia coli strains in patients with travelers' diarrhea acquired in Guadalajara, Mexico. *J Infect Dis.* 2000;181:779–782.
23. Abu-Elyazeed R, Wierzba TF, Mourad AS, Peruski LF, Kay BA, Rao M, et al. Epidemiology of enterotoxigenic Escherichia coli diarrhea in a pediatric cohort in a periurban area of lower Egypt. *J Infect Dis.* 1999;179:382–389.
24. Black RE. Epidemiology of diarrhoeal disease: implications for control by vaccines. *Vaccine* 1993;11:100–106.
25. Svennerholm AM. Progress in enteric vaccine development. *Best Practice*

& Research Clinical Gastroenterology. 2004;18:421-445.

26. Peltola H, Siitonen A, Kyronseppä H, Simula I, Mattila L, Oksanen P, et al. Prevention of travellers' diarrhoea by oral B- sub unit/whole-cell cholera vaccine. *Lancet* 1991;338(8778):1285-1289.

27. Qadri AM, Svennerholm AS, Faruque, Sack RB. Enterotoxigenic *Escherichia coli* in developing countries: epidemiology, microbiology, clinical features, treatment, and prevention. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18:465-483.

28. Wenneras C, Erling V. Prevalence of enterotoxigenic *Escherichia coli*-associated diarrhoea and carrier state in the developing world. *J Health Popul Nutr.* 2004;22:370-382.

29. Svennerholm AM, Savarino SJ. Oral inactivated whole cell B subunit combination vaccine against enterotoxigenic *Escherichia coli*. In: Levine MM, et al. *New Generation Vaccines* (3rd edn.), Marcel Decker, New York 2004

30. Åhrén C, Jertborn M, Svennerholm AM. Intestinal immune responses to an inactivated oral enterotoxigenic *Escherichia coli* vaccine and associated immunoglobulin A responses in blood. *Infection and Immunity* 1998;66:3311-3316.

31. Savarino SJ, Brown FM, Hall F, et al. Safety and immunogenicity of an oral, killed enterotoxigenic *Escherichia coli*-cholera toxin B subunit vaccine in Egyptian adults. *Journal of Infectious Diseases* 1998;177:796-799.

32. Qadri F, Wennerås C, Ahmed F, et al. Safety and immunogenicity of an oral, inactivated enterotoxigenic *Escherichia coli* plus cholera toxin B subunit vaccine in Bangladeshi adults and children. *Vaccine* 2000;18:2704-2712.

33. Savarino SJ, Hall ER, Bassily S, et al. Introductory evaluation of an oral, killed whole cell enterotoxigenic *Escherichia coli* plus cholera toxin B subunit vaccine in Egyptian infants. *Pediatric Infectious Diseases* 2002;21:322-330.

34. Qadri F, Ahmed T, Ahmed F, et al. Safety and immunogenicity of an oral, inactivated enterotoxigenic *Escherichia coli* plus cholera toxin B subunit vaccine in Bangladeshi children 18-36 months of age. *Vaccine* 2003;21:2394-2403.

35. Wiedermann G, Kollaritsch H, Kundi M, Svennerholm AM, Bjare U. Double-blind, randomised, placebo controlled pilot study evaluating efficacy and reactogenicity of an oral ETEC B-subunit-inactivated whole cell vaccine against travelers diarrhea (preliminary report). *Journal of Travel Medicine* (2000):727-729.

36. Sack DA, Shimko J, Torres O, et al. Safety and efficacy of a killed oral vaccine for enterotoxigenic *E. coli* diarrhea in adult travelers to Guatemala and Mexico. *Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. San Diego, CA. 2002.

37. Boedeker EC. Vaccines for enterotoxigenic *Escherichia coli*: current status. *Curr Opin Gastroenterol.* 2005;21:15-19.

38. Altboum Z, Barry EM, Losonsky G, et al. Attenuated *Shigella flexneri* 2a Delta *guaBA* strain CVD 1204 expressing enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) CS2 and CS3 fimbriae as a live mucosal vaccine against *Shigella* and ETEC infection. *Infection and Immunity* 2001;69:3150-3158.

39. Barry EM, Altboum Z, Losonsky G, Levine MM. Immune responses elicited against multiple enterotoxigenic *Escherichia coli* fimbriae and mutant LT

M^a Carmen Álvarez Castillo. Investigación y desarrollo de nuevas vacunas frente a infecciones bacterianas entéricas

expressed in attenuated *Shigella* vaccine strains. *Vaccine* 2003;21:333–340.

40. Turner AK, Terry TO, Sack DA, et al. Construction and characterization of genetically defined aro omp mutants of enterotoxigenic *Escherichia coli* and preliminary studies of safety and immunogenicity in humans. *Infect Immun* 2001;69:4969–4979.

41. CDC. Future directions for research on enterotoxigenic *Escherichia coli* vaccines for developing countries. *Wkly Epidemiol Record*. 2006;81:97–104.

42. Guarena-Burgueno, E.R. Hall, D.N. Taylor, F.J. Cassels, D.A. Scott and M.K. Wolf et al. Safety and immunogenicity of a prototype enterotoxigenic *Escherichia coli* vaccine administered transcutaneously. *Infect Immun* 2002;70:1874–1880.

43. Iomai Corporation. Disponible en: <http://www.iomai.com/>

44. Yu J, Langridge WH. A plant-based multicomponent vaccine protects mice from enteric diseases, *Nat Biotechnol*. 2001;19:548–552.

45. Tacket CO, Mason HS, Losonsky G et al. Immunogenicity in humans of a recombinant bacterial antigen delivered in a transgenic potato. *Nat Med*. 1998;4:607–609.

46. Alves AM, Lasaro MO, Almeida DF, Ferreira LC. DNA immunisation against the CFA/I fimbriae of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC). *Vaccine* 2000;19:788–795.

47. Kotloff KL, Winickoff JP, Ivanoff B, Clemens JD, Swerdlow DL, Sansonetti PJ, et al. Global burden of *Shigella* infections: implications for vaccine development and implementation of control strategies. *Bull World Health Organ*. 1999;77:651–666.

48. Niyogi SJ. Shigellosis. *J Microbiol*. 2005;43:133–143.

49. Cohen D, Ashkenazi S, Green M, et al. Safety and immunogenicity of investigational *Shigella* conjugate vaccines in Israeli volunteers. *Infection and Immunity*. 1996;64:4074–4077.

50. Coster TS, Hoge CW, VanDeVerg LL, Hartman AB, Oaks EV, Venkatesan MM, et al. Vaccination against shigellosis with attenuated *Shigella flexneri* 2a strain SC602. *Infect Immun*. 1999;67:3437–3443.

51. Kotloff KL, Noriega F, Losonsky GA, Sztein MB, Wasserman SS, Nataro JP, et al. Safety, immunogenicity and transmissibility in humans of CVD 1203, a live oral *Shigella flexneri* 2a vaccine candidate attenuated by deletions in aroA and virG. *Infect Immun*. 1996;64:4542–4548.

52. Kotloff KL, Noriega FR, Samandari T, Sztein MB, Losonsky GA, Nataro JP, et al. *Shigella flexneri* 2a strain CVD 1207 with specific deletions in virG, sen, set, and guaBA, is highly attenuated in humans. *Infect Immun*. 2000;68:1034–1039.

53. Kotloff KL, Pasetti MF, Barry EM, Nataro JP, Wasserman SS, Sztein MB, et al. Deletion in the *Shigella* enterotoxin genes further attenuates *Shigella flexneri* 2a bearing guanine auxotrophy in a phase 1 trial of CVD 1204 and CVD 1208. *J Infect Dis*. 2004;190:1745–1754.

54. Noriega FR, Losonsky G, Lauderbaugh C, Liao FM, Wang JY, Levine MM. Engineered delta_{guaB-A}, delta_{virG} *Shigella flexneri* 2a strain CVD 1205 construction, safety, immunogenicity, and potential efficacy as a mucosal vaccine. *Infect Immun*. 1996;64:3055–3061.

55. Mel DM, Terzin AL, Vuksic L. Studies on vaccination against bacillary dysentery 3. Effective oral immunization against

Shigella flexneri 2a in a field trial. Bull World Health Organ. 1965;32:647–655.

56. Hartman AB, Venkatesan MM. Construction of a stable attenuated *Shigella sonnei* deltavirG vaccine strain, WRSS1, and protective efficacy and immunogenicity in the guinea pig keratoconjunctivitis model. Infect Immun. 1998;66:4572–4576.

57. Kotloff kl, Taylor DN, Sztein MB, Wasserman SS, Losonsky GA, Nataro JP, et al. Phase I evaluation of deltavirG *Shigella sonnei* live, attenuated, oral vaccine strain WRSS1 in healthy adults. Infect Immun. 2002;70:2016–2021.

58. Cohen D, Ashkenazi S, Green MS, Gdalevich M, Robin G, Slepov R, et al. Double-blind vaccine-controlled randomised efficacy trial of an investigational *Shigella sonnei* conjugate vaccine in young adults. Lancet 1997;349:155–159.

59. Passwell JH, Harlev E, Ashkenazi S, Chu C, Miron D, Ramon R, et al. Safety and immunogenicity of improved *Shigella* O-specific polysaccharide-protein conjugate vaccines in adults in Israel. Infect Immun. 201;69:1351–1357.

60. Klee SR, Tzschaschel BO, Singh M, et al. Construction and characterization of genetically-marked bivalent anti-*Shigella dysenteriae* 1 and anti-*Shigella flexneri* Y live vaccine candidates. Microb Pathog. 1997;22:363-376.

61. Klee SR, Tzschaschel BO, Falt 1, et al. Construction and characterization of a live attenuated vaccine candidate against *Shigella dysenteriae* type I. Infect Immun. 1997;65:2112-2118.

62. Klee SR, Tzschaschel BO, Timmis KN, Guzman CA. Influence of different *rol* gene products on the chain length of *Shigella dysenteriae* type 1 lipopolysaccharide O

antigen expressed by *Shigella flexneri* carrier strains. J Bacteriol. 1997;179:2421-2425.

63. Noriega FR, Liao FM, Maneval OR, et al. Strategy for cross-protection among *Shigella flexneri* serotypes. Infect Immun 1999;67:782-788.

64. Korloff KL, Herringron DA, Hale TL, et al. Safety, immunogenicity, and efficacy in monkeys and humans of invasive *Escherichia coli* K-12 hybrid vaccine candidates expressing *Shigella flexneri* 2a somatic antigen. Infect Immun 1992;60:2218-2224.

65. Korloff KL, Losonsky GA, Nataro JP, et al. Evaluation of the safety, immunogenicity, and efficacy in healthy adults of four doses of live oral hybrid *Escherichia coli-Shigella flexneri* 2a vaccine strain EcSf2a-2. Vaccine 1995;13:495-502.

66. Cohen O, Ashkenazi S, Green MS, et al. Safety and immunogenicity of the oral *E. coli* K12-S. *flexneri* 2a vaccine (EcSf2a-2) among Israeli soldiers. Vaccine 1994;12:1436-1442.

67. Walter Reed Army Institute of Research. Clinical Trials Center: Disponible en: <http://www.wrairclinicaltrials.com/>

68. International Vaccine Institute. Disponible en: <http://www.ivi.org/main.asp>

69. Programa DOMI (IVI). Disponible en: http://www.ivi.org/program/tr_domi_program.html

70. von Seidlein L, Kim DR, Ali M, Lee H, Wang X, Thiem VD, Canh DG, Chaicumpa W, Agtini MD, Hossain A, Bhutta ZA, Mason C, Sethabutr O, Talukder K, Nair GB, Deen JL, Kotloff K, Clemens J. A multicentre study of *Shigella* diarrhoea in six Asian countries: disease burden, clinical manifestations, and

microbiology. PLoS Med. 2006;3(9):1556-69.

71. Lee H, Kotloff K, Chukaserm P, Samosornsuk S, Chompook P, Deen JL, Von Seidlein L, Clemens JD, Wanpen C. Shigellosis remains an important problem in children less than 5 years of age in Thailand.. Epidemiol Infect. 2005; 133(3): 469-74.

72. Pack R, Wang Y, Singh A, von Seidlein L, Pach A, Kaljee L, Butraporn P, Youlong G, Blum L, Bhutta Z, Santoso SS, Trach DD, Waluyo I, Nyamete A, Clemens J, Stanton B. Willingness to be vaccinated against Shigella and other forms of dysentery: a comparison of three regions in Asia.. Vaccine. 2006; 24(4): 485-94.

73. Chen X, Stanton B, Wang X, Nyamette A, Pach A, Kaljee L, Pack R, von Seidlein L, Clemens J, Gong Y, Mao R. Differences in perception of dysentery and enteric fever and willingness to receive vaccines among rural residents in China.. Vaccine. 2006; 24(5): 561-71.

Papel de las vacunas en el desarrollo de enfermedades autoinmunes

María Elvira Muñoz Vicente

Servicio de Pediatría. Hospital Universitario Doctor Peset. Valencia
Dirección para correspondencia: Avda. Gaspar Águilar 90. 46097 Valencia.
elvimuvi@hotmail.com

Artículo de revisión

RESUMEN

Las enfermedades autoinmunes son producto de la ruptura de la tolerancia inmunológica, que provoca la activación de las células inmunes contra el propio organismo. En nuestro repertorio inmune todos poseemos células autoinmunes pero sólo en los individuos genéticamente predisuestos se desarrolla la enfermedad. Los mecanismos de tolerancia tienen lugar tanto para linfocitos T como B, a nivel central y periférico, gracias sobre todo a procesos de delección y anergia de clones linfocitarios. Sin embargo, en determinadas circunstancias se producen alteraciones de los mecanismos de tolerancia, desencadenadas por infecciones, sustancias químicas, factores hormonales y otras condiciones. Los principales mecanismos estudiados para explicar el fenómeno autoinmune pueden ser antígeno específicos (mimetismo molecular) o inespecíficos (activación del espectador).

*El papel que desempeñan las vacunas en el desarrollo de una enfermedad autoinmune ha sido estudiado en diferentes patologías, entre ellas el síndrome de Guillain-Barré (SGB), la púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), la diabetes mellitas (DM) y la esclerosis múltiple (EM). Sólo en las dos primeras se ha podido establecer una relación consistente. Así pues bajo la luz de los conocimientos actuales aún quedan muchas cuestiones sin resolver pero la historia de las vacunas sigue inclinando la balanza claramente a favor del gran beneficio que suponen. **Palabras Clave:** vacunas,*

autoinmunidad, Guillain-Barré, púrpura, diabetes, esclerosis múltiple.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades autoinmunes son el resultado de la ruptura de la tolerancia inmunológica, que conduce a la activación de una respuesta inmune contra las células del propio organismo. No obstante, la idea de autoinmunidad patológica lleva implícita la de autoinmunidad fisiológica o natural. En efecto, todos los individuos tenemos linfocitos T y linfocitos B con potencialidad autorreactiva, ya que un sistema en el que todos los leucocitos autorreactivos fueran destruidos sería incapaz de luchar contra todo tipo de amenazas. Existen una serie de mecanismos que permiten que aquellos linfocitos autorreactivos potencialmente peligrosos sean eliminados física o funcionalmente, de forma que la enfermedad autoinmune sólo se desarrollará en un individuo predisuesto genéticamente a padecerla. Aproximadamente un 3% de la población europea y norteamericana sufre enfermedades autoinmunes; y de ésta un 75% son mujeres. Aun así se cree que la prevalencia está infraestimada por falta de estudios epidemiológicos de muchas de estas enfermedades.

FUNCIONAMIENTO DEL SISTEMA INMUNE

La distinción entre lo propio y lo ajeno se produce a través de unos complejos mecanismos que dependen del reconocimiento de moléculas presentes en la superficie de las células inmunocompetentes, especialmente linfocitos B y T.

Las **células T** reconocen antígenos que les presentan las células asociadas a las proteínas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de la membrana. Hay dos tipos de MHC, MHC clase I se expresan en la superficie de todas las células nucleadas del organismo, mientras que las moléculas MHC-II se expresan sólo en la superficie de las células especializadas en la presentación de antígenos. El linfocito T a través de su receptor (TCR) reconoce el antígeno unido al MHC.

La función del **linfocito B** es producir anticuerpos, pero también actúa como célula presentadora de antígenos. Las células B reconocen los antígenos a través de su receptor de membrana o inmunoglobulina de membrana. La unión del antígeno inicia una cascada de señales intracelulares que unidas a la estimulación de citoquinas conducen a la activación y proliferación del linfocitos B, que se diferencian en células plasmáticas productoras de anticuerpos.

TOLERANCIA INMUNOLÓGICA

En los años 40, Medawar demostró mediante la experimentación con ratones que la tolerancia hacia los tejidos propios se adquiere en edades tempranas de la vida. Medawar observó que un injerto de piel realizado de un ratón adulto a otro también adulto con distintas moléculas de histocompatibilidad es rechazado de manera sistemática, pero cuando el injerto es realizado de un ratón adulto a otro recién nacido, el injerto no sufre este rechazo. Demostró también que si repetía

el injerto de piel en el ratón recién nacido que había aceptado el trasplante cuando ya se había convertido en ratón adulto, éste seguía manteniendo la propiedad de no rechazarlo. Esto indicaba que el proceso de tolerancia permanece en el tiempo y es resultado de un proceso de aprendizaje.

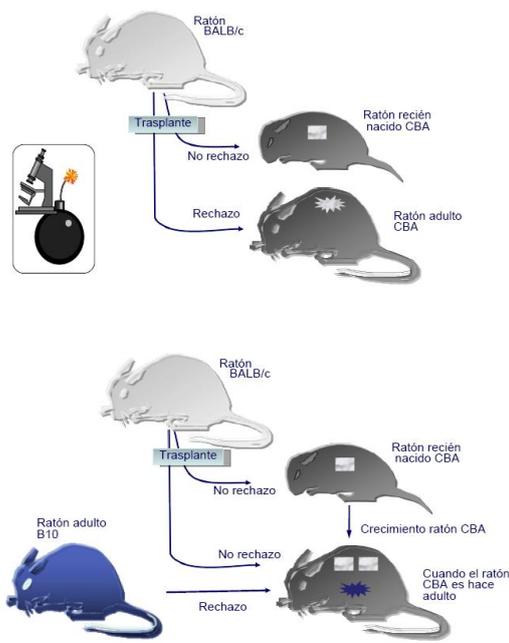


Figura 1. Esquema de los experimentos de Medawar en ratones Balb-c.

En consecuencia, la tolerancia se trata de un proceso de naturaleza inmunológica, específico frente a cada antígeno, adquirido y duradero tras un contacto previo e inducible más fácilmente en linfocitos inmaduros.

Actualmente se sabe que se desarrollan mecanismos de tolerancia por separado tanto para linfocitos T como para linfocitos B, a nivel central en el timo y médula para los linfocitos T y B respectivamente y a nivel periférico para ambos.

LINFOCITOS T

TOLERANCIA CENTRAL

En el timo, en la corteza, los linfocitos T que no reconocen las propias

moléculas MHC son destruidos mediante apoptosis, mientras que aquellos que son capaces de unirse a las MHC sobreviven (SELECCIÓN POSITIVA) y se diferencian a linfocitos colaboradores Th (reconocen MHC I y expresan CD4) o linfocitos citotóxicos Tc (reconocen MHC II y expresan CD8). Después pasan a la médula tímica, donde son expuestos a autoantígenos. Aquéllos que reconocen autoantígenos con gran afinidad son destruidos vía TCR-apoptosis (SELECCIÓN NEGATIVA). Los linfocitos T autorreactivos que no han sido destruidos en el timo (por uniones de baja afinidad o por falta de respuesta a antígenos crípticos) son generalmente anergizados en los tejidos linfoides periféricos. El mecanismo predominante en la adquisición de tolerancia a nivel central es la **delección clonal**.

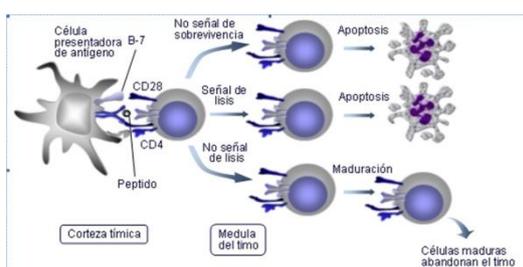


Figura 2. Esquema de las funciones del timo en el proceso de maduración de linfocitos.

TOLERANCIA PERIFÉRICA

En el timo el proceso de delección de clones autorreactivos no es exhaustivo ya que se reduciría dramáticamente el repertorio de linfocitos T disponible, por lo que se mantienen en circulación clones capaces de reconocer antígenos propios de los tejidos "periféricos".

Normalmente estos clones autorreactivos no responden a los antígenos periféricos gracias a distintos mecanismos:

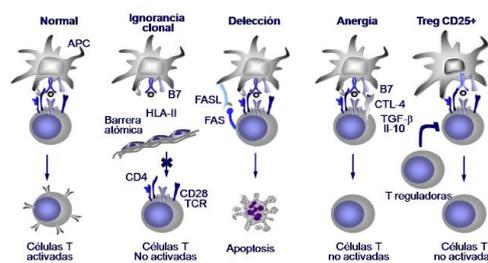


Figura 3. Esquema de los mecanismos de respuesta de linfocitos frente a antígenos periféricos.

1. Ignorancia clonal a linfocitos T.

Existen barreras anatómicas interpuestas entre las propias células autorreactivas del organismo y los linfocitos T de forma que los clones autorreactivos se mantendrán indiferentes frente a células periféricas que si bien contienen antígenos reconocibles por ellos, los mantienen en forma inmunológicamente irreconocibles.

2. Anergia clonal a linfocitos T.

Los linfocitos para su completa activación requieren, además de reconocer el complejo MHC-péptido apropiado (primera señal), otras señales de activación que se han denominado señales coestimuladoras (segunda señal) y que normalmente son proporcionadas por las células presentadoras de antígeno (macrófagos y células dendríticas). Esta segunda señal sólo ocurre cuando las células presentadoras de antígenos entran en contacto con determinadas moléculas presentes en agentes patógenos, de modo que si esto no sucede y están presentando exclusivamente antígenos propios, no expresarán moléculas coestimuladoras y los linfocitos que reconozcan los péptidos propios en ausencia de moléculas coestimuladoras no sólo no responderán sino que quedarán en una situación de no respuesta ante posteriores estímulos.

LINFOCITOS B

TOLERANCIA CENTRAL

Los linfocitos B inmaduros que no reconocen antígenos propios, emigran de la médula ósea para continuar el proceso de maduración en el bazo. Por el contrario, los linfocitos B inmaduros que reconocen los antígenos propios son silenciados y mueren por apoptosis. Sin embargo, no todos los antígenos propios del individuo pueden alcanzar la médula ósea e inducir tolerancia central de los linfocitos B. Así un grupo importante de linfocitos B que abandonan la médula ósea expresan receptores con capacidad para reconocer moléculas propias. Estas células son controladas mediante mecanismos de inducción de tolerancia en los tejidos periféricos.

TOLERANCIA PERIFÉRICA

Los linfocitos B autorreactivos para activarse requieren señales (citocinas y contacto directo) de las células T cooperadoras cuyo repertorio es mucho menos autorreactivo y está mucho más regulado. Este sistema falla cuando se enfrenta a un autoantígeno que contiene determinantes antigénicos B asociados a determinantes T no propios (un fármaco unido a una proteína propia). En este caso, la célula B autorreactiva puede entonces ser estimulada por una célula T que reconoce un epítipo ajeno para producir autoanticuerpos. La alta frecuencia de linfocitos B autorreactivos se explica porque el proceso de selección en la médula no es tan exhaustivo como en el caso de los linfocitos T y por la gran generación de diversidad de los receptores B gracias a la hipermutación somática. Por esto son necesarios mecanismos de delección clonal y de anergia clonal de células B para asegurar un grado de tolerancia B.

MECANISMOS DE ESCAPE A LA TOLERANCIA

A pesar de los múltiples mecanismos centrales y periféricos encargados de mantener un estado de tolerancia inmunológica, en muchos casos fallan y se producen enfermedades autoinmunes. Existen diversas circunstancias que explican que se produzca una ruptura de la tolerancia:

- El grado de expresión del autoantígeno en el timo.
- El contacto del sistema inmune con autoantígenos que normalmente no son accesibles (daño tisular).
- La activación de un gran número de clones mediante superantígenos.
- La inducción de citocinas activadoras y moléculas coestimuladoras por infecciones intercurrentes.
- La similitud estructural de antígenos de patógenos y autoantígenos (mimetismo molecular).

MIMETISMO MOLECULAR: los antígenos de los microorganismos infecciosos son reconocidos por el sistema inmune como antígenos semejantes a antígenos propios. Este mecanismo es usual y conduce al desarrollo de numerosas manifestaciones neuropáticas asociadas a infecciones (Guillain-Barré asociado a infección por *Campylobacter jejuni*). En el caso de los linfocitos el mimetismo debe abarcar al antígeno bacteriano o vírico unido a la molécula MHC apropiada

ACTIVACIÓN DEL ESPECTADOR: mecanismo antígeno no específico. La infección microbiana causa la liberación de autoantígenos previamente secuestrados o estimula la respuesta del sistema inmune

innato, resultando la activación de células presentadoras de antígeno de autoantígenos.

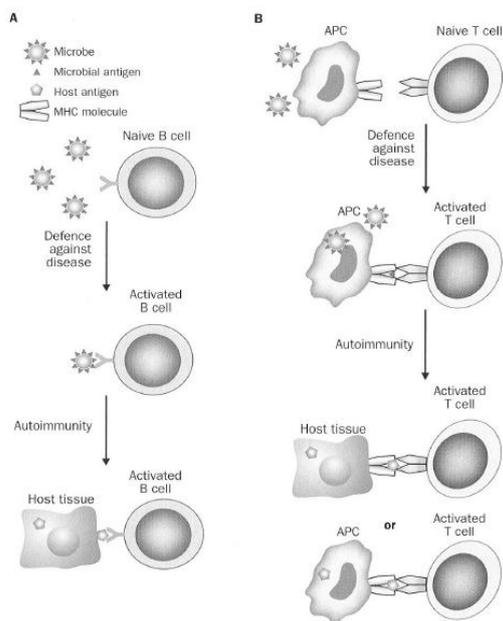


Figura 4. Esquema del mecanismo de mimetismo molecular (A) y de activación del espectador (B).

Las células T necesitan la presentación de antígenos por las células presentadoras. Los productos microbianos se unen a Receptores Toll-like de las células dendríticas y otras APC promoviendo la expresión de MHC y moléculas co-estimuladoras y la secreción de citoquinas, promoviendo la activación celular T.

Los agentes infecciosos pueden poner en marcha una enfermedad autoinmune actuando como superantígenos, causando la modificación de un autoantígeno o infectando linfocitos reguladores. Por ello, es frecuente que una enfermedad autoinmune venga precedida de una enfermedad infecciosa. Los anticuerpos y/o linfocitos T generados en una respuesta inmune contra componentes de un agente infeccioso, pueden reaccionar en forma cruzada con componentes del propio huésped, al presentar estos últimos ciertos epítomos compartidos con el componente microbiano.

Sustancias químicas. Ciertas drogas como hidralazina y procainamida, pueden inducir la aparición de Lupus eritematoso sistémico (LES) y de determinados anticuerpos antinucleares. Otras como la alfa-metil-dopa pueden inducir anemia hemolítica por anticuerpos de la clase IgG. Por otra parte la administración de cloruro de mercurio a animales de experimentación les induce cuadro de LES con neuropatía y anticuerpos antinucleares. En este momento no se conoce con certeza el mecanismo de actuación de dichas sustancias en el desarrollo del fenómeno, pero una posibilidad es que modifiquen determinadas proteínas creando neoantígenos y que éstos intervengan en la ruptura de la tolerancia para los antígenos propios.

Factores hormonales. Las hormonas sexuales femeninas intervienen de forma aún no aclarada en la aparición de enfermedades autoinmunes. De hecho las enfermedades autoinmunes son en general mucho más frecuentes en mujeres que en varones.

¿CÓMO DEMOSTRAR LA RELACIÓN ENTRE VACUNAS Y REACCIÓN AUTOINMUNE?

No existen criterios generales para establecer este tipo de relación. No obstante, el riesgo debería ser comparado con el riesgo que supone padecer la infección natural, tanto a nivel poblacional como en un grupo concreto.

Los criterios bajo los cuales debe establecerse una relación entre un efecto adverso y la vacunación han sido establecidos por la OMS:

Consistencia: los hallazgos deben ser los mismos si la vacuna se administra a diferentes grupos de población, por diferentes investigadores, e independientemente del método de estudio.

Fuerza: la relación se considera fuerte cuando la evidencia está basada en los resultados de ensayos clínicos cuidadosamente llevados a cabo y diseñados específicamente para demostrar esa asociación. En orden descendente: ensayo clínico controlado y aleatorizado, estudio de cohortes, estudio caso-control o análisis de series de casos.

Especificidad: la asociación debe ser distintiva y relacionada única y específicamente con la vacuna en cuestión. Debe existir una definición lo más estricta posible del suceso adverso autoinmune, tanto a nivel clínico como anatomopatológico o bioquímico.

Relación temporal: debe existir una relación temporal clara entre la administración de la vacuna y el efecto adverso, en la que la recepción de la vacuna preceda a las manifestaciones más precoces. Para que un efecto adverso sea considerado secundario a la vacunación la frecuencia de ese efecto adverso en la población inmunizada debe ser sustancialmente diferente de la frecuencia encontrada en la población no inmunizada.

ENFERMEDADES AUTOINMUNES Y VACUNAS.

Existen cada vez más enfermedades de etiología autoinmune o en cuya patogenia se ven implicados fenómenos autoinmunes. De entre ellas (Miastenia gravis, síndrome de Guillain-Barré, enfermedad de Crohn, artritis reumatoide, dermatomiositis, celiacía...) algunas han sido relacionadas con la administración de las vacunas, mediante mecanismos similares a los que desencadenarían las infecciones naturales.

SÍNDROME GUILLAIN-BARRÉ (SGB)

Se trata de uno de los casos confirmados de enfermedad autoinmune relacionada con vacunas. Esta

polirradiculoneuritis fue asociada con la vacunación contra la gripe en la campaña de 1976-77 en la que se utilizó la cepa A/New Jersey/8/76. La relación entre este síndrome y la vacuna antigripal llevó a detener la campaña de vacunación masiva en EEUU. El riesgo atribuido estimado de SGB relacionado con la vacunación en la población adulta era menos de un caso por 100.000 vacunaciones y el periodo de riesgo incrementado en las vacunados frente a los no vacunados se concentraba en las 5 semanas postvacunación (RR 7.60).

En el estudio de Lasky y cols., llevado a cabo en las campañas de 1992-1993 y 1993-1994 en EEUU se mostró un pequeño aumento de casos en individuos adultos inmunizados que representó un caso por un millón de personas inmunizadas. No se observaron casos en menores de 45 años. Los autores atribuyeron el aumento de casos en la temporada 93-94 a un incremento en la cobertura vacunal y en la declaración de casos de SGB, pero no a un aumento del riesgo de la vacuna. No se ha asociado la vacunación antigripal a SGB en niños⁶.

En el estudio llevado a cabo por Geier y cols. analizan los casos de SGB atribuidos a la vacunación antigripal en comparación con los casos aparecidos tras la administración de la vacuna de tétanos-difteria para adultos (Td) según los registros obtenidos del VAERS (Vaccine Adverse Events Reporting System) en el periodo de 1991 a 1999 en Estados Unidos. Como resultados observan un aumento significativo de la incidencia del SGB siguiendo a la vacunación antigripal en comparación con el grupo control vacunado con la Td, con un riesgo relativo desde 2.0 a 12.5 según la temporada de vacunación.

La incidencia estimada sería de 9,5 casos por 10 millones de vacunados contra la gripe frente a 2,2 casos por 10 millones de vacunas Td. Consideran que dado que

se trata de una vacunación opcional para pacientes de riesgo, se debería administrar tras la obtención de un consentimiento informado, en el que el paciente comprenda cuáles son los beneficios potenciales de la vacunación, las limitaciones y asuma los riesgos de la misma⁷.

De cualquier forma, hay que destacar que el riesgo de sufrir un SGB tras la vacunación es significativamente menor que el riesgo de presentar las complicaciones de una gripe, tal como refiere el Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) de los servicios de Salud Pública estadounidenses en sus recomendaciones en el año 1997: "Aunque el SGB fuera un efecto adverso de la vacunación en años subsiguientes, el riesgo estimado para SGB de 1 a 2 casos por millón de vacunados es substancialmente menor que para una gripe grave, que podría prevenirse por la vacunación en todos los grupos de edad, especialmente en las personas de 65 años o más y en aquellos que tienen indicaciones médicas para la vacunación antigripal."

Más recientemente, el Comité Consultivo Mundial de Seguridad Vacunal (Global Advisory Committee on Vaccine Safety –GACVS-) de la Organización Mundial de la Salud (OMS) establece en su informe del año 2007 que no existe una evidencia clara de la relación entre la vacunación antigripal salvo la que se estableció en la campaña de 1976-77 y las vacunas antirrábicas derivadas de tejido nervioso. Consideran que la existencia de una posible relación causal debería ser demostrada mediante estudios a gran escala sobre la incidencia del SGB antes y después de un programa vacunal⁸.

PÚRPURA TROMBOCITOPÉNICA IDIOPÁTICA (PTI)

Otro ejemplo de efecto adverso confirmado en relación con la

administración de vacunas es la aparición de trombocitopenia tras la vacunación contra la rubéola, sarampión y parotiditis. La frecuencia de trombocitopenia en niños estaba alrededor de 1 de 30.000 vacunados. Sin embargo, hay que destacar que el riesgo de trombocitopenia tras padecer rubeola natural es de 1 de 3000 ó 1 de 6000 en el caso de sarampión².

Las primeras publicaciones y descripciones clínicas de la relación entre la aparición de PTI y la vacunación triple vírica (TV) fueron hechas en trabajos escandinavos en los años 60⁹. Pero fueron Oski y Naiman en el año 1966, los primeros en demostrar la asociación entre la administración de la vacuna de sarampión de virus vivos atenuados (cepa Schwartz) y la aparición de trombocitopenia. Los casos descritos eran transitorios y leves, indicando que las hemorragias y complicaciones tras la vacunación eran improbables.

En 1993, Nieminen y cols., publican un estudio finlandés en el que relacionan la vacunación con la triple vírica (Virivac®, cepa Moraten de sarampión) con la aparición de trombocitopenia, 1 caso/30.000 vacunados. A diferencia de los primeros, refieren casos con complicaciones hemorrágicas y recuentos inferiores a 20.000 plaquetas¹⁰.

En EEUU, el VAERS realizó una revisión de todos los casos de trombocitopenia referidos durante los años 1990-1994. Encontraron 56 casos entre los 8581 vacunados contra el sarampión. El 55% de los mismos eran menores de 2 años. En 2 casos hubo complicaciones graves (hemorragia gastrointestinal y pulmonar). Concluyen que aunque no pueden demostrar una relación causal entre PTI y la vacunación con TV, la vacuna era el único factor de riesgo declarado en la mayoría de los casos. Así pues, el "Institute of Medicine Report" aceptó una relación causal entre la inmunización con TV y la aparición de trombocitopenia¹¹.

En 1996, se publicó un estudio realizado en Francia de los casos de PTI tras la vacunación, con cualquiera de las siete vacunas disponibles contra sarampión, parotiditis o rubeola, espontáneamente comunicados al Centro de Farmacovigilancia Regional Francés o a la industria Pasteur-Mérieux Sérums et Vaccins durante los años 1984-1992. La incidencia variaba desde 0,17/100.000 dosis de vacuna anti-rubeola, 0,23/100.000 dosis de vacuna anti-sarampión, 0,87/100.000 dosis de vacuna combinada sarampión-rubeola ó 0,95/100.000 dosis de TV. 1-3 semanas postvacunación. Sostienen que aunque no es posible estimar un riesgo relativo de desarrollar PTI tras la vacunación, existen suficientes argumentos que apoyan una relación causal plausible entre ambos acontecimientos, sobre todo 1 - 3 semanas tras la vacunación. Con una incidencia estimada de 0,5-3 casos/100.000 dosis de TV, consideran que la posible asociación de este efecto adverso no modifica la relación riesgo-beneficio continuando la recomendación a nivel mundial de la vacunación¹².

El Comité Asesor de Vacunas de la Asociación Española de Pediatría afirma en su Manual de vacunas del año 2005 que el riesgo de trombocitopenia asociada a la vacunación es mayor en las personas con antecedentes de trombocitopenia, sobre todo si ésta ocurrió temporalmente asociada a una vacunación previa con la triple vírica. La decisión de vacunar incluye la valoración de los beneficios de la vacunación en cuanto a la prevención de sarampión y los riesgos de recidiva de la trombocitopenia tras la vacuna.

DIABETES MELLITUS (DM)

En las últimas décadas se ha observado un aumento de la incidencia de DM, que ha sido atribuido a múltiples causas, entre otras la administración de diferentes vacunas. Esto puede explicarse debido a la coincidencia en el tiempo de ambos sucesos, ya que el periodo en que

suele debutar esta enfermedad es la infancia-adolescencia, momento en el que se administra mayor número de vacunas en la vida de un individuo habitualmente. Además, la DM se ha relacionado también con la aparición de diferentes enfermedades y existen modelos murinos en los que la administración de algunas vacunas contribuye a la protección o a la aparición de esta enfermedad.

Classen y Classen^{13,14,15,16}, son los principales defensores de estas teorías. En sus publicaciones afirman que la administración de diferentes vacunas en el primer mes de vida previene frente a la DM en modelos animales, mientras que la vacunación a partir de los dos meses de edad se asocia con un aumento del riesgo de DM. Sin embargo, la metodología de sus estudios ha sido discutida en numerosos artículos.

En un ensayo clínico finlandés¹⁷, de 10 años de seguimiento de 245.288 niños, distribuidos en 3 cohortes (no vacunados [1], vacunados de *Haemophilus influenzae* tipo b a los 3, 4, 6 meses y booster a los 14-18 m [2] y vacunados sólo a los 24 m [3]), con un total de 886 casos de DM, los autores no encuentran diferencias significativas entre las cohortes 1 y 3, de modo que la probabilidad de cada niño de sufrir diabetes no se ve influenciada por la vacunación contra el Hib ni por el momento de la misma.

En respuesta a las teorías expuestas por Classen y cols., Graves¹⁸ lleva a cabo un estudio de casos y controles en el que evalúa el efecto de las dosis o el tiempo de administración de las vacunas contra la hepatitis B, Hib, polio y DTP (difteria-tétanos-pertussis) a niños de ≤ 12 años, familiares de primer grado de diabéticos tipo 1. Los casos eran niños con autoinmunidad positiva para células β pancreáticas. No encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los casos y los controles, de forma que el

riesgo de autoinmunidad no se ve afectado por el momento de la vacunación.

Hviid¹⁹ y cols., siguieron una cohorte de todos los niños daneses nacidos durante la década 1990-2000, a través de registros nacionales de vacunación, hospitalización y registro civil, hasta el año 2001. Incluyeron 739.694 niños, entre los que se detectaron 681 casos de DM. Tampoco encontraron relación estadística entre la vacunación, dosis o tiempo de administración y el desarrollo de la enfermedad diabética.

Como conclusión, actualmente no existe evidencia de una asociación causal entre las vacunas y la DM-1.

ESCLEROSIS MÚLTIPLE (EM)

La posibilidad de asociación entre la vacunación contra la hepatitis B y la EM fue descrita por primera vez en Francia, después de informar sobre la aparición de 35 casos de desmielinización primaria en un hospital en París entre 1991 y 1997, en las 8 semanas que transcurrieron tras la administración de una vacuna recombinante contra la hepatitis B. Estas alteraciones neurológicas sucedieron en personas que presentaban factores de riesgo de EM: mujeres, edad media 30 años, HLA-DR2, historia familiar de EM. El sistema francés de farmacovigilancia respondió rápidamente a estas observaciones, y desde 1993 a 1999 se identificaron cientos de casos. Desde los casos iniciales al menos 10 estudios se centraron en este sentido pero la asociación entre vacunación contra la hepatitis B y estos procesos desmielinizantes no fue demostrada en ninguno de ellos². Destacan entre ellos dos estudios hechos a gran escala que no demostraron una relación significativa entre ambos sucesos.

En el primero²⁰ se estudia el riesgo relativo de recaída en los dos meses siguientes a la vacunación a partir de los datos obtenidos de la Base de Datos

Europea de EM entre los años 1993 y 1997. Se encontró un RR de 0.71 (0.40-1.26 IC 95%). 643 pacientes incluidos en la European Database for Multiple Sclerosis sufrieron una recaída entre 1993 y 1997, pero las vacunaciones no incrementaron el riesgo de sufrirla.

El segundo²¹, es un estudio anidado de dos cohortes poblacionales de enfermeras incluidas en el Nurses Health Study I y II en USA. Se estudiaron 190 casos apareados con 534 controles sanos y 111 casos apareados con 111 controles con cáncer de mama. El riesgo relativo del análisis multivariante de EM asociado a la vacunación fue de 0.9 (0.3-1.8 IC 95%).

Estos datos resultan consistentes con el hecho de que la introducción de la vacunación contra la hepatitis B en calendarios vacunales infantiles está aprobada en más de 125 países, ha sido utilizada en más de 500 millones de personas, demostrando ser una de las vacunas más seguras.

CONCLUSIONES

La autoinmunidad es un hecho fisiológico, que puede llegar a ser patológico en individuos predispuestos. ¿Podremos identificar a los individuos especialmente susceptibles de sufrir enfermedades autoinmunes? En ese caso, ¿qué haremos después? ¿Los individuos susceptibles desarrollarían la enfermedad si no son vacunados pero sufren la enfermedad natural? En cuanto a las nuevas vacunas, ¿tendrán mayores riesgos en cuanto a autoinmunidad?

En cualquier caso, a pesar del gran número de vacunas disponibles en la actualidad, sólo en dos patologías (SGB y PTI) se ha establecido una relación con la administración de vacunas. En cuanto a los beneficios y riesgos de la vacunación en general deberíamos tener en cuenta que las alarmas sociales son fáciles de iniciar y difíciles de controlar, una vez instaurado el

miedo a un peligro real o imaginario las consecuencias no siempre son previsibles. Considerando el enorme beneficio que ha supuesto la introducción de las vacunas en la lucha contra la enfermedad posiblemente la balanza seguirá inclinada a favor de la vacunación.

REFERENCIAS

1. Smith DA, Germolec DR. Introduction to immunology and autoimmunity. *Environ Health Perspect.* 1999 Oct; 107 Suppl 5:661-5.
2. Wraith DC, Goldman M, Lambert PH. Vaccination and autoimmune disease: what is the evidence? *Lancet* 2003; 362: 1659-66.
3. Inmunología en línea.
4. Rubinstein E. Vaccination and autoimmune diseases: the argument against. *Isr Med Assoc J.* 2004; 6: 433-435.
5. Tishler M, Shoenfeld Y. Vaccination may be associated with autoimmune diseases. *Isr Med Assoc J.* 2004; 6: 430-432.
6. Lasky T, Terracciano GJ, Magder L, et al. The Guillain-Barré syndrome and the 1992-1993 and 1993-1994 influenza vaccines. *N Engl J Med* 1998; 339: 1797-802.
7. Geier MR, Geier DA, Zahalsky AC. Influenza vaccination and Guillain-Barré syndrome. *Clin Immunol* 2003; 107: 116-21.
8. Weekly Epidemiological Record. OMS. 25 January 2008, 83er year
9. Miller E, Waight P, Farrington P, Andrews N, Stowe J, Taylor B. Idiopathic thrombocytopenic purpura and MMR vaccine. *Arch Dis Child* 2001; 84: 227-229.
10. Nieminen U, Peltola H, Syrjala MT, Makiperna A, Kekomaki R. Acute thrombocytopenic purpura following measles, mumps and rubella vaccination: a report on 23 patients. *Acta Paediatr* 1993; 82: 267-70
11. Beeler J, Varrichio F, Wise R. Thrombocytopenia after immunization with measles vaccines: review of the Vaccine Adverse Events Reporting System (1990 to 1994). *Pediatr Infect Dis J* 1996; 15:88-90.
12. Jonville-Bera AP, Autret E, Galy-Eyraud C, Hessel L. Thrombocytopenic purpura after measles and rubella vaccination: a retrospective study by the French Regional Pharmacovigilance Centres and Pasteur-Mérieux Sérums et Vaccins. *Pediatr Infect Dis J* 1996; 15: 44-48.
13. Classen JB, Classen DC. Hemophilus vaccine associates with increased risk of diabetes. *Casuality likely.* *Diabetes Care* 2000;23:872.
14. Classen JB, Classen DC. Immunization in the first month of life may explain decline in incidence of IDM in The Netherlands. *Autoimmunity* 1999;31:43-5.
15. Classen DC, Classen JB. The timing of pediatric immunization and the risk of insulin-dependent diabetes mellitus. *Infect Dis Clin Pract* 1997; 6:449-454.
16. Classen JB, Classen DC. Public should be told that vaccines may have long term adverse effects (letter). *BMJ* 1999; 318: 193.
17. Karvonen M, Cepaitis Z, Tuomilehto J. Association between type 1 diabetes and Haemophilus influenzae type b vaccination: birth cohort study. *BMJ* 1999; 318: 1169-72.
18. Graves PM, Barriga KJ, Norris JM, Hoffman MR, Liping Y, Eisenbarth GS, Rewers M. Lack of association between early childhood immunizations and β -cell autoimmunity. *Diabetes care* 1999; 22: 1694-1697.
19. Hviid A, Stellfeld M, Wohlfahrt J, Melbye M. Childhood vaccination and type 1 Diabetes. *N Engl J Med* 2004; 350: 1398-404.
20. Confavreux C, Suissa S, Saddier P, Bourdes V, Vukusic S. Vaccinations and the risk of relapse in multiple sclerosis. *Vaccines in Multiple sclerosis Study Group.* *N Engl J Med* 2001; 344: 319-26.
21. Ascherio A, Zhang SM, Hernan MA, et al. Hepatitis B vaccination and the risk of multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2001; 344:327-32.

Vacunas terapéuticas: Utilidad en oncología

José Uberos Fernández
Departamento de Pediatría. Universidad de Granada

Artículo de revisión

La vacunación terapéutica fue ensayada en primer lugar por Louis Pasteur en 1885, en individuos infectados con rabia. Por fortuna, el lento crecimiento del virus permitía inducir inmunidad antes de que la enfermedad estuviese muy avanzada y por tanto fuese irreversible. Se establece, desde este momento, el principio de vacunación como opción terapéutica aplicable como luego veremos también al campo de la oncología.

La historia de la vacunación frente al cáncer es larga y controvertida, durante mucho tiempo ha estado marcada por la ausencia de bases científicas sólidas. Esta situación cambia drásticamente en la pasada década cuando se retoma el concepto de inmunovigilancia tumoral y se describen antígenos tumorales específicos para cada tipo de tumor. El concepto de inmunovigilancia tumoral ya había sido desarrollado en los años 50 por Lewis Thomas y Macfarlane Burnet, dicho concepto fue posteriormente desechado cuando no se pudo demostrar en ratones inmunodeficientes mayor facilidad para desarrollar tumores. Hace pocos años Bob Schreiber y cols., describen mayor incidencia de tumores en ratones con defectos aislados de inmunidad innata y adaptativa (15).

Sin duda, la piedra angular en el desarrollo de vacunas frente al cáncer es el descubrimiento en diversos tumores de antígenos sobreexpresados, este hallazgo

abre la posibilidad del reconocimiento del tumor por el sistema inmune y el desarrollo de una respuesta inmunológica específica. No es casualidad que la búsqueda de antígenos tumorales haya sido en los últimos años una de las líneas fundamentales de estudio en investigación sobre el cáncer. Por otro lado, la correcta valoración de la situación inmunitaria del huésped permite aproximar un pronóstico más exacto sobre el desarrollo del tumor; hoy sabemos que la infiltración por células T CD8+ en los cánceres de colon, vejiga y ovario tiene una repercusión favorable y que los niveles de interferón- γ pueden tener una fuerte relación inversa con la expresión de genes relacionados con la transformación neoplásica. Por último, destacar algunas observaciones como las referidas por William B. Coley sobre el efecto beneficioso de algunas infecciones bacterianas concomitantes sobre la reactivación del sistema inmune y el rechazo de algunos tipos de tumores. Pueden ser buenos ejemplos de ello, la respuesta observada en el cáncer de vejiga superficial al tratamiento repetido con BCG, o la observación de que la administración de anticuerpos frente al receptor de membrana CTLA-4 puede originar la regresión total de melanoma avanzado (15).

Si a priori, tuviésemos que resaltar algunas de las ventajas de la vacunación terapéutica en oncología diríamos que puede ser altamente específica para las células cancerosas y que se le supone baja toxicidad para las células sanas del huésped. Otra ventaja sería la posibilidad de reconocer y eliminar las células

cancerosas indiferentemente de la fase y ciclo celular en que se encuentren, lo que sugiere que la vacunación terapéutica podría ser un tratamiento complementario tanto de quimioterapia como de radioterapia. Además, al menos en el plano teórico, las vacunas, en virtud del desarrollo de memoria inmunológica, ejercen un efecto duradero anti-tumor, evitando la necesidad de repetidos ciclos de quimioterapia, y ofrecen la posibilidad de prevenir determinados tumores en sujetos de alto riesgo (11).

A pesar de todas estas teóricas ventajas hay que decir que la respuesta real a la vacunación terapéutica en sujetos con cáncer es, hasta el presente, menor a la teórica esperada. Existiendo una tendencia general a desarrollar tolerancia frente a los antígenos tumorales, siendo este efecto más marcado en los estadios tumorales más avanzados. Uno de los mayores problemas derivados de la utilización de antígenos tumorales como blanco para generar una respuesta antitumoral efectiva, radica en el hecho de que la gran mayoría de estos antígenos se han expresado durante el periodo fetal y han desencadenado tolerancia inmunológica en el huésped. Por tanto, a diferencia de los tratamientos tradicionales frente al cáncer, las vacunas terapéuticas son agentes biológicos que tienen por finalidad activar el sistema inmune frente a antígenos expresados por las células tumorales, con alta especificidad y habitualmente de forma segura y bien tolerada.

ENTENDIENDO LA PATOGENIA DEL CÁNCER

Hasta bien entrada la década de los 80, coexistían dos teorías que pretendían explicar la patogenia del cáncer: la teoría somática y la teoría viral. Ambas teorías fundamentadas en observaciones puntuales confluían en la existencia de alteraciones genéticas como mecanismo común a todas las células cancerosas (21).

Una serie de observaciones, darían respaldo a la teoría somática del cáncer, a saber:

- Existencia de mutaciones somáticas, que explicarían una mayor agregación neoplásica en animales de laboratorio expuestos a radiación ionizante, que se sabe altera la estructura del DNA. El desarrollo de cáncer se debe básicamente a errores en los procesos de copia y reparación del DNA celular. Dichos errores pueden resultar de la exposición de las células a la influencia de mutágenos como pueden ser las radiaciones ionizantes.

- Naturaleza clonal de los cánceres, que ratifica el hecho de que todas las células cancerosas proceden de una sola célula mutada. Esta observación tiene interés ya que en todas las células cancerosas de un mismo individuo algunos genes son deprimidos en dos vías: las células no responden a las señales inhibitorias de replicación celular, y todas las células expresan determinadas proteínas que normalmente sólo se expresaban durante la etapa fetal del desarrollo, lo que supone que determinados genes inactivos se ven activados al ponerse en marcha el desarrollo tumoral.

La observación de que determinados cánceres podían desencadenarse tras exposición a sustancias de forma crónica, sin que se pudiese demostrar la intervención de infección viral alguna, ponía en entredicho la validez de la teoría viral, a pesar de que en el laboratorio algunos virus eran claramente oncogénicos.

El programa de estudio que dio soporte a la teoría viral del cáncer data de 1964, fecha en que se aprobó destinar en el Congreso Norteamericano la suma de 549 millones de dólares al desarrollo de esta vía de estudio. Pronto se demostró que algunas citocinas en relación con las infecciones virales, como el interferón,

podían alterar el desarrollo de las células cancerosas, a la vez que comenzaron a describirse una serie de virus que de forma constante daban lugar al desarrollo de cáncer, los denominados virus oncogénicos. Al menos 4 grupos de virus se han relacionado con el desarrollo de cáncer, los dos primeros grupos están muy estrechamente relacionados: papovavirus, adenovirus, oncornavirus y herpesvirus. Sin embargo, hay un hecho que quedó patente desde el inicio de estas investigaciones: el periodo de latencia desde la infección viral hasta el desarrollo de la degeneración neoplásica dependían del huésped infectado, existían por tanto variantes individuales que modularían la respuesta tumoral. Tales diferencias se concretaron posteriormente en variaciones genéticas e inmunológicas individuales. El rasgo común de todos los virus oncogénicos es que son portadores de un oncogen que en determinadas circunstancias se tornaría activo en el huésped.

Tabla 1. Algunos tipos de oncogenos y los cánceres con que se relacionan.

Oncogen	Neoplasia
EGFR	Carcinoma espinocelular
H-RAS	Cáncer de colon, pulmón y páncreas
K-RAS	Leucemia mieloide aguda, cáncer de tiroides, melanoma
L-MYC	Cáncer de pulmón
NEU	Neuroblastoma, cáncer de mama
N-MYC	Neuroblastoma
RET	Cáncer de tiroides
SRC	Cáncer de colon
v-fos	Osteosarcoma
v-jun	Sarcoma

Si nos movemos en el terreno de la causalidad, la presencia de un oncogén es una condición necesaria para el desarrollo de cáncer, pero no suficiente. Se han descrito distintos oncogenes activos dependiendo del cáncer de que se trate.

Tiene también interés, de cara a futuros abordajes terapéuticos, el tipo de oncogen activado, ya que los marcadores tumorales expresados van a ser distintos y permiten un reconocimiento diferencial por parte del sistema inmunológico del huésped.

De igual forma que se conoce la existencia de virus oncogénicos desde la década de los 60; la descripción de efectos antitumorales por otros virus data también de esta fecha. Estos virus que se han denominado oncolíticos se replican de forma selectiva en las células cancerosas, por consiguiente su utilidad en el tratamiento del cáncer como vectores de otras terapias génicas podría resultar interesante. Las características de la transformación celular que acompaña a la degeneración neoplásica y las características del medio interno celular derivadas de un aumento de la actividad del ciclo celular constituyen un medio idóneo para la replicación de algunos virus (17). Los virus oncolíticos se consideran no patógenos o de baja patogenicidad para el hombre, se incluyen en este grupo los reovirus, virus de Newcastle y el virus de la estomatitis vesicular; en todos los casos son virus para los que el hombre no es el huésped habitual.

El propio proceso de carcinogenesis implica inestabilidad genética, las células cancerosas progresan gracias a la ventaja que les confiere un ciclo celular acelerado, pero esas mutaciones que permiten una proliferación celular acelerada resulta en muchas ocasiones en unos mecanismos de defensa antiviral alterados, expresión de receptores alterados, expresión de nuevos receptores y alteración de las vías de señalización intracelular. En vista de estos hechos, las vías que se han desarrollado para aumentar por ingeniería genética la especificidad antitumoral de los virus se han clasificado en 5 categorías:

- Defectos de la respuesta antiviral: Los mecanismos defensivos frente a las

infecciones virales se alteran en algunos tumores, es común observar un defecto en la producción de IFN- α e IFN- β que es aprovechado por algunos virus para su proliferación.

- Expresión selectiva de receptores por el tumor. La cepa Edmonton del sarampión utiliza el receptor CD46 que es sobreexpresada por algunos tumores para incorporarse a las células. En otros ensayos la hemaglutinina del sarampión ha sido alterada para actuar como ligando a algunas proteínas expresadas por la célula tumoral.

- Reconocimiento de receptores tumorales por el virus. Se han modificado adenovirus para reconocer de forma específica antígeno carcinoembrionario o alfafetoproteína y de esta forma actuar de forma lítica sobre estas células.

- Virus modificados genéticamente para replicarse en células tumorales. El ejemplo clásico lo constituye el adenovirus modificado ONYX-015; este virus ha sido diseñado para replicarse en células tumorales que no expresan la proteína p53, resultando en un aumento de la apoptosis.

- Procesado de los virus en un entorno tumoral. Por regla general, el entorno tumoral y el metabolismo celular acelerado origina un aumento de las proteasas, que aumenta la diseminación del virus.

La vía clásica de administración de los virus oncolíticos ha sido intratumoral; sin embargo, en otros estudios se han utilizado con éxito la administración intravenosa con buenos resultados. El efecto oncolítico en algunos casos ha sido la causa directa de la muerte, de forma similar a lo que acontece en los tratamientos tradicionales con quimioterapia, lo que pone en evidencia la necesidad de ajustar la dosis de virus administrada.

Además, del papel oncolítico obvio de estos virus, no debe perderse de vista que la lisis de las células tumorales origina

un entorno proinflamatorio con liberación de citokinas que favorece la respuesta inflamatoria frente al tumor.

Hasta un 10-20% de los cánceres tienen una etiología viral conocida, de forma que las medidas profilácticas encaminadas a evitar tales infecciones originarán también una disminución de la incidencia de cáncer. Son ejemplo de ello la disminución de la incidencia de carcinoma hepatocelular después de la vacunación frente a hepatitis B o la esperada disminución de la incidencia de cáncer de cérvix tras la vacunación frente al papilomavirus humano.

Los antígenos tumorales tienden a ser débilmente inmunogénicos, una vez que se ha iniciado la respuesta inmune rápidamente se induce tolerancia. La naturaleza de los antígenos tumorales determina la respuesta inmunitaria; así, las inmunoglobulinas pueden ser efectivas para eliminar células por el reconocimiento de las glicoproteínas de superficie. Este es el mecanismo utilizado por los anticuerpos monoclonales frente a CD-20 en el tratamiento de los linfomas no Hodgkin. El reconocimiento de antígenos intracelulares requiere del concurso de la inmunidad celular. El principal problema que plantea el desarrollo de estrategias inmunológicas de tratamiento frente al cáncer es el estrecho margen existente entre el ataque a las células tumorales y el desarrollo de autoinmunidad.

Otro elemento, al que hasta hace tan solo algunos años no se había prestado suficiente atención es la contribución del telómero a la carcinogénesis. Se trata de una estructura morfológica de los cromosomas de naturaleza nucleoproteica, que se corresponde con la región terminal de los cromosomas. Hace algunas décadas se definió como "material genético basura", por presuponérsele nula utilidad. El telómero ayuda a mantener la integridad estructural del cromosoma, evitando la fusión entre porciones terminales de

cromosomas contiguos, se previene de esta forma la degradación del ADN por las nucleasas; participa en el anclaje de los cromosomas a la matriz nuclear e interviene en la regulación del ciclo celular durante la meiosis y la recombinación homóloga (2).

Estructuralmente el telómero representa el final de la cadena de ADN, constituida por una repetición de nucleótidos donde predomina la guanina, en humanos el ADN telomérico está constituido por repeticiones hexaméricas de tipo TTAGGG que se repiten de 150 a 2000 veces. Esta cadena de ADN terminal se encuentra anclada a proteínas como la TRF1, TRF2 y telomerasa que le sirven a la vez de protección frente a la degradación enzimática por nucleosidasas e intervienen en la reparación del ADN.

Diversos estudios han demostrado que a lo largo de la vida celular se van perdiendo en el telómero de 10 a 200 bases por año, de forma que con el paso del tiempo los telómeros se van acortando (2). El acortamiento del telómero se ha relacionado con los procesos de envejecimiento celular, de forma que en cierta medida la longitud del telómero podría considerarse como un reloj biológico de la vida de la célula. Pero, con el acortamiento del telómero disminuye la superficie de anclaje de las proteínas estructurales que impiden la degradación del ADN, con lo que este se hace más susceptible a la degradación enzimática, favoreciéndose la aparición de fusiones entre cromosomas y mutaciones.

La telomerasa es una ribonucleoproteína que se ha involucrado en los procesos de replicación celular y elongación del telómero, de forma que las células con alta actividad celular (como las cancerosas) tienen una elevada actividad telomerasa y por el contrario durante la senescencia celular la actividad de la telomerasa se vuelve casi indetectable. Esta observación ha llevado a diseñar

estrategias para disminuir la actividad de la telomerasa y de esta forma frenar el crecimiento celular incontrolado de algunos tumores. Diversas señales intra y extracelulares como el interferón, citokinas, estrógenos, zinc o la radiación ultravioleta afectan a la actividad de la telomerasa. Otros factores transcripcionales, algunos de ellos relacionados con oncogenes como el gen *myc*, se han relacionado con aumento de la actividad telomerasa. En los seres humanos el gen hTERT encargado de la transcripción de la telomerasa se encuentra en el cromosoma 5p15.33 en una sola copia, ocupando 37kb con 16 hexones. Las enzimas de tipo proteína quinasa aumentan la actividad de la telomerasa mediante la fosforilación de la subunidad hTERT, de forma inversa la fosfatasa A2 inhibe la actividad de la telomerasa. Estas observaciones han dado pie a múltiples trabajos que plantean el control del cáncer a través de una regulación de la actividad de la telomerasa alterada. C. B. Harley (6) plantea la existencia de una longitud crítica de los telómeros a partir de la cual la célula en crecimiento y desarrollo normal llegaría a la senescencia, con una longitud crítica inferior se favorecería la aparición de mutaciones, de forma que la activación de la telomerasa llevaría a la célula a la degeneración neoplásica. Se ha propuesto el desarrollo de inhibición de la actividad telomerasa a través del desarrollo de inmunidad selectiva frente a la subunidad hTERT, para ello se han diseñado diversos vectores plasmídicos que integran esta cadena de ADN para inmunización terapéutica de sujetos con cáncer.

La actividad de la telomerasa se ha intentado controlar inhibiendo directamente la actividad enzimática, pertenecen a este grupo los análogos de los nucleósidos como la azidotimidina (AZT) con actividad sobre la transcriptasa inversa que la convierte útil en las infecciones por retrovirus. Otro grupo de sustancias, como los L-enantiómeros poseen potente actividad inhibidora de la telomerasa.

CÁNCER Y RESPUESTA INMUNE

Un aspecto desconocido hasta hace pocos años es por qué los intentos de inmunizar frente a antígenos tumorales a los pacientes con cáncer originaban respuestas de menor intensidad a la esperada, o no producían respuesta inmune alguna. La clave de este dilema parece estar en una célula conocida desde hace varias décadas, aunque hasta hace poco no se ha relacionado con los mecanismos de tolerancia inmunológica, estas células se denominan *myeloid-derived suppressor cells* (MDSC).

Las vacunas terapéuticas frente al cáncer, utilizadas como monoterapia han mostrado tan sólo mínimos efectos clínicos, tal vez debido al hecho de que las células tumorales producen moléculas inmunoregulatoras capaces de anergizar los linfocitos T. Además, la expresión de los antígenos de histocompatibilidad de clase I (MHC-I) puede reducirse, limitando el efecto de los linfocitos T citotóxicos frente a las células tumorales. Por otro lado, aspectos como la vasculatura, arquitectura y presión intersticial en la masa tumoral van a influir en la penetración de los linfocitos T en el tumor; por este motivo algunos autores sostienen que las vacunas terapéuticas tendrían sobre todo valor como adyuvantes de los tratamientos convencionales del cáncer.

En los pacientes con cáncer existe un número aumentado de las células MDSC y parecen estar relacionado con el crecimiento del tumor o con el fracaso de la inmunoterapia. Este tipo células, que se conocen desde la década de los 70, se encuentran también aumentadas en los pacientes con inflamación crónica, de forma que las células MDSC podrían convertirse en el nexo de unión entre los procesos inflamatorios crónicos y la carcinogénesis. J. Marx (13), revisa el estado actual del conocimiento de las células MDSC y sostiene que este tipo celular se podría relacionar con los fracasos

de sensibilización frente a antígenos tumorales en los ensayos vacunales y hasta cierto punto serían responsables de la tolerancia desarrollada frente a tales antígenos. Como opción terapéutica se ha sugerido la utilización de sustancias que promueven la maduración de las formas mieloides inmaduras hacia formas maduras. Esta estrategia ha sido utilizada con éxito en la leucemia mieloide promielocítica, el ácido transretinoico se utiliza con este fin. Otros investigadores han relacionado el papel regulador de los linfocitos T con la disponibilidad del aminoácido arginina en el plasma, de hecho en las situaciones de sepsis y estados postraumáticos donde se hace patente cierta inmunosupresión se detectan niveles bajos de arginina en sangre; se ha visto así, que las células MDSC contienen arginasa y óxido nítrico sintetasa, enzimas que como se sabe metabolizan la arginina. Ensayos realizados en el ratón demuestran que el tratamiento con inhibidores de la arginasa disminuyen el crecimiento de tumores de pulmón en el ratón. La utilización de sildenafil (Viagra®) disminuye la producción de arginasa y óxido nítrico sintetasa en las células MDSC y en consecuencia parece mejorar la respuesta de los linfocitos T. Las células MDSC promueven la actividad de los macrófagos tipo 2, responsables del mantenimiento de la respuesta inflamatoria a través de la secreción de IL-10; así como la actividad de los macrófagos tipo 1, responsables de promover la respuesta de los linfocitos T-Killer.

Una proteína liberada por las células MDSC denominada factor de crecimiento endotelial garantiza el crecimiento y vascularización del tumor, el factor de crecimiento endotelial se encuentra también aumentado en las situaciones de inflamación crónica. La secreción de factor de crecimiento vascular requiere la presencia del enzima 9-metaloproteinasa, estudios preliminares indican que la inhibición de esta enzima mejorara la respuesta de las vacunas frente al tumor.

Estos hallazgos implican a otras rutas metabólicas, de hecho un mediador inflamatorio como es la prostaglandina E2 estimula la producción de arginasa, lo que explicaría como los inhibidores de la COX2 y antiinflamatorios tienen efectos protectores en diversos tipos de cáncer, en especial en el carcinoma de colon.

La especificidad de la respuesta inmune a un antígeno está determinada por el reconocimiento del antígeno en el contexto del complejo mayor de histocompatibilidad en la membrana citoplasmática de las células presentadoras de antígeno. Sin embargo, la inducción de una completa respuesta de las células T requiere una segunda señal expresada por las células presentadoras de antígeno y mediada por las moléculas coestimuladoras. Las moléculas coestimuladoras mas frecuentemente expresadas son el CD80 (B7-1) y CD86 (B7-2). Estas moléculas coestimuladoras tienen como ligandos las moléculas CD28 y CTLA-4, expresadas en la superficie de los linfocitos T CD4+ y CD8+. El reconocimiento conjunto del antígeno y de la molécula coestimuladora, son necesarias para que el linfocito T proliferare e inicie sus funciones efectoras como la producción de interleukinas. La caracterización de las relaciones entre CD80 y CD86 con CD28 y CTLA-4 han permitido definir el sentido de la respuesta efectora, en el sentido de que la unión de CD80 o CD86 con CD28 del linfocito, induce activación tanto de células CD4+ como CD8+. Por el contrario, su unión con CTLA-4 induce inhibición de la respuesta proliferativa de las células T e induce tolerancia. Este hecho explica la observación de que los ratones genéticamente deficientes en CTLA-4 muestran excesiva proliferación de células T y frecuentemente desarrollan una enfermedad linfoproliferativa a las pocas semanas de nacer (16).

La reedición en nuestros días del modelo de inmunovigilancia, unido a la observación de que algunos cánceres

humanos evolucionan mejor cuando se comprueba una histología tumoral compatible con infiltración linfocitaria, ha provocado que se depositen renovadas esperanzas de tratamiento del cáncer mediante la inmunoterapia. Uno de los mecanismos propuestos para aumentar la respuesta inmunitaria frente a los antígenos tumorales ha sido el bloqueo o inhibición de los mecanismos reguladores inhibitorios de tal respuesta. Dado que los receptores CTLA-4 originan inhibición de la respuesta inmune e inmunotolerancia se ha desarrollado la hipótesis de que la utilización de anticuerpos monoclonales frente a CTLA-4 puede inducir un aumento de la respuesta inmune y eliminación de la inmunotolerancia frente a los antígenos tumorales. Tanto los estudios preclínicos como los ensayos clínicos realizados en humanos han demostrado que la administración de anti-CTLA-4 es insuficiente utilizada como monoterapia; sin embargo, se han obtenido resultados esperanzadores en el tratamiento del melanoma avanzado utilizado anti-CTLA-4 en combinación con quimioterapia o en combinación con una vacuna con un lisado peptídico del melanoma. En el momento actual se han desarrollado 2 anticuerpos monoclonales frente a CTLA-4 y que se han denominado en los ensayos clínicos realizados hasta la fecha como MDX-010 y CP-675,206.

TIPOS DE VACUNAS FRENTE AL CÁNCER

Los estudios preclínicos que se han realizado tanto en modelos animales como en el hombre, pretenden evaluar la utilidad de las vacunas terapéuticas en el tratamiento del cáncer. Las diversas formulaciones incluyen la elaboración de **vacunas de células tumorales** con:

- Transfección de genes de IL-2, IL-7, IL-12, GM-CSF e INF- α .
- Transfección de genes del HMC clase I.

- Transfección de genes de moléculas coestimuladoras (B7.1 y B7.2) de la activación T.

- Oncolisados virales. Infección de células con virus de vaccinia modificado.

- Proteínas de shock térmico (HSP) extraídas de tumores autólogos.

- Células tumorales administradas conjuntamente con el bacilo de Calmet-Guerin.

De todos estos planteamientos emergen dos puntos fundamentales: la vacunación terapéutica origina un beneficio para el huésped, estimando tal beneficio como rechazo del tumor, estabilización del crecimiento del tumor y mejora del tiempo de supervivencia. En segundo lugar, la eficacia es mayor para la enfermedad poco evolucionada que para la enfermedad en estadios terminales.

Los estudios clínicos indican que las vacunas terapéuticas en oncología son habitualmente seguras y bien toleradas. J. Stebbing y cols. (19), revisan el estado actual de la evidencia sobre la utilidad de las vacunas terapéuticas en el cáncer. Varias décadas de investigación en este campo permiten en el momento actual disponer de algunas evidencias que merece la pena considerar.

Vacunas de Ag purificados no proteicos (vacunas de carbohidratos, mucinas, o gangliósidos). Son vacunas basadas en antígenos no proteicos, se han utilizado como antígeno el gangliósido GM2 purificado y administrándolo por la vía subcutánea, solo o combinado con diferentes adyuvantes, a pacientes con melanoma en estadio III ó IV. El gangliósido solo no resulta inmunogénico, unido covalentemente a KLH o asociado con BCG muestra una inmunogenicidad moderada y cuando se administra conjugado con KLH en compañía de la saponina QS-21 como adyuvante, resulta un inmunógeno potente (vacuna GM2-KLH-QS21 en melanoma + INF alfa) (19).

Vacunas de proteínas/péptidos específicos. El péptido o proteína puede administrarse purificado o sintetizado formando parte del preparado vacunal o puede inducirse la síntesis del péptido o antígeno tumoral dentro de la célula blanco (transfección). La mayoría de los antígenos tumorales sobre los que se ha desarrollado experimentación activa son el antígeno carcinoembrionario (CEA) y el antígeno prostático específico (PSA). El CEA es una glicoproteína de 180.000 d, de homoadhesión, implicada por tanto en los procesos metastásicos. El CEA se sobreexpresa en mas del 95% de los carcinomas pancreáticos, colorrectales y gástricos; en mas del 70% de los carcinomas de pulmón de células pequeñas y en el 50% de los carcinomas de mama. Esta diferente sobreexpresión en el tejido tumoral, puede constituir una ventaja terapéutica para el diseño de vacunas dirigidas frente al CEA.

Vacunas de vectores virales. Con esta estrategia se pueden liberar antígenos tumorales y activar el sistema inmune. El mayor inconveniente deriva de la existencia de inmunidad específica previa frente al virus vector, ya que se puede bloquear el proceso. Los virus vaccinia recombinante desencadenan respuestas inmunes hasta 2 veces más potentes que los virus de la viruela de las aves, que en consecuencia se han propuesto como vectores en las dosis *booster* (8).

La utilización de un vector viral u otro deriva de la cantidad de DNA extraño que admite cada virus; así un poxvirus, como puede ser el virus de la viruela de las aves, puede admitir hasta 30 kB de DNA extraño; otros virus que se han utilizado son los adenovirus que admiten cadenas de DNA de menor tamaño. Una vez preparados, los poxvirus recombinantes son estables a -20º-70º durante varios años. La utilización de diferentes vectores virales es una opción para desencadenar respuestas inmunitarias más intensas y duraderas frente a antígenos tumorales. La

figura reproduce la respuesta inmunitaria a una dosis *booster* de un antígeno utilizando el mismo vector viral y la respuesta cuando se utilizan vectores virales diferentes (1).

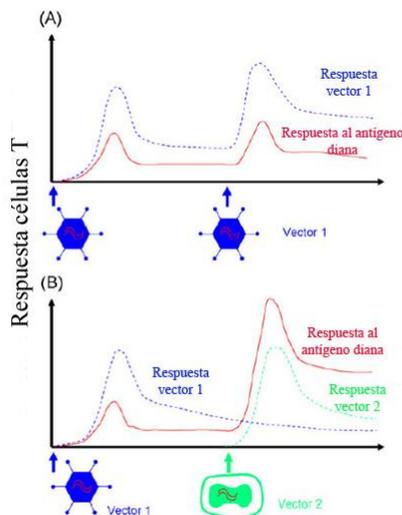


Figura 1. Los virus *vaccinia* recombinante desencadenan respuestas inmunes hasta 2 veces más potentes que los virus de la viruela de las aves, que en consecuencia se han propuesto como vectores en las dosis *booster* (1).

Vacunas de DNA. Constituidas por plásmidos en los que inserta la información genética relativa a la síntesis de Ag tumorales y moléculas coestimuladoras (vacunas de DNA de fusión). En la actualidad se desarrollan nuevas estrategias para este tipo de vacunas a través de la fusión de genes (8).

- Vacunas con plásmidos DNA. Tienen la ventaja de su seguridad, simplicidad y escasa manipulación. Estas vacunas contienen la secuencia de CpG en la cadena del plásmido que estimula la inmunidad innata.

- Vacunas DNA de fusión. El plásmido admite incorporar en su cadena genes de otras proteínas y amplificar la respuesta inmune. Se han obtenido buenas respuestas en el linfoma de células B, utilizando genes de la región variable de inmunoglobulinas del linfoma folicular unidas a secuencias derivadas de la toxina tetánica.

Vacuna de células. Estas vacunas parecen ser muy efectivas para la generación de una respuesta celular específica contra el tumor. Al incubar células dendríticas con el antígeno tumoral y posteriormente administrarlas en el huésped, los antígenos se incorporan a las moléculas del MHC o son sintetizados en el citoplasma entrando en la ruta de presentación antigénica de MHC clase I. Por tanto, el uso de células dendríticas en preparaciones vacunales constituye un arma importante en la inmunidad antitumoral.

Las células dendríticas son células especializadas en la captura y procesamiento de antígenos *in vivo*, convirtiendo péptidos y proteínas que son presentados conjuntamente con las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad y reconocidos por las células T. La importancia de estas células deriva de la prominente expresión de moléculas coestimuladoras y de adhesión necesarias para la activación de los linfocitos T. Varios aspectos deben tenerse en cuenta:

- Utilización de células dendríticas autólogas activadas con proteínas, aminoácidos o RNA del tumor, con efectos clínicos diferentes.

Las células dendríticas de individuos sanos pueden tener mayor actividad funcional que las células dendríticas de individuos con cáncer y reconocer de forma más eficaz los antígenos tumorales.

Las células dendríticas, originariamente ubicadas en dermis y submucosa, migran a las áreas de los ganglios linfáticos con mayor densidad de células T, de su interacción resulta selección clonal del linfocito T. Las células dendríticas reaccionan con un receptor específico del linfocito T, existen billones de linfocitos T con receptores antigénicos diferentes, resultado de la combinación aleatoria de sus moléculas. Mediante la

selección clonal las células dendríticas pueden modular muchas y diferentes respuestas en los linfocitos T. Una vez seleccionado el antígeno por las células T, tiene lugar una expansión clonal a un ritmo de 2-3 ciclos celulares por día.

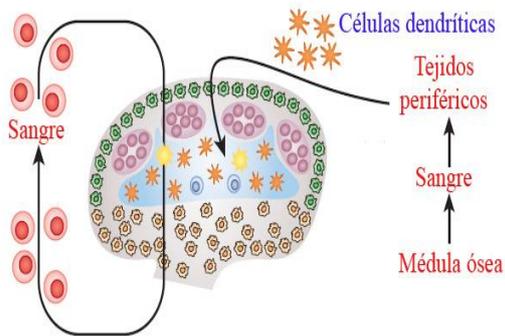


Figura 2. Esquema de la circulación de las células dendríticas.

Los clones de células T también son susceptibles de ser eliminados o bloqueados por acción de las células dendríticas tolerogénas (20). Algunos tumores a través de la producción de IL-6 like, factor de crecimiento endotelial vascular e IL-10, suprimen a las células dendríticas a través de la señal STAT3, de esta forma las células tumorales se libran de la respuesta inmunitaria que conduciría la erradicación del tumor. Aunque este campo de tratamiento esta poco desarrollado hasta el presente, las observaciones derivadas del terreno experimental demuestran que las células dendríticas pueden tener un papel destacado en la prevención y tratamiento del cáncer por varias razones:

- Los tumores tienen multitud de potenciales antígenos que podrían ser presentados por las células dendríticas y desencadenar una respuesta inmunitaria específica.

- Las células dendríticas pueden activar y potenciar las diferentes ramas de respuesta mediada por células como son las células natural killer, NKT, $\gamma\delta T$ y $\alpha\beta T$, cada una de ellas reconoce diferentes alteraciones en las células tumorales.

- Las células dendríticas generadas *in vitro* de progenitores sanguíneos, probablemente mantengan su capacidad inmunizante en los pacientes con cáncer.

En la actualidad existen dos tratamientos que utilizan células dendríticas en el tratamiento del cáncer:

1. Las células dendríticas generadas *in vitro* se mezclan con antígenos tumorales y se inyectan en el torrente sanguíneo, desde aquí las células dendríticas migran a los órganos linfoides del huésped donde desencadenan potentes reacciones inmunológicas frente a las células tumorales.

2. Otra posibilidad de tratamiento contempla la movilización de células dendríticas del paciente hacia el tumor y a los ganglios linfáticos. Algunos ensayos realizados en el ratón utilizan células tumorales irradiadas que se inyectan intravenosamente con el objeto de que las células dendríticas capten antígenos tumorales y estimulen la proliferación clonal de linfocitos frente a tales antígenos.

El desarrollo de tolerancia inmune es debido a que los antígenos tumorales son presentados al sistema inmune en ausencia de señales coestimuladoras adecuadas. Uno de los aspectos más novedosos del tratamiento del cáncer mediante inmunoterapia consisten revertir este proceso de anergia mediante la creación de hibridomas entre células tumorales y células dendríticas. Esta estrategia, es útil para crear linfocitos T policlonales que respondan a múltiples antígenos tumorales con lo que aumenta la posibilidad de eliminación del tumor. Por otro lado, la presentación de varios determinantes antigénicos a la vez disminuye el riesgo de aparición de variantes del tumor resistentes (8).

Un ensayo muy ilustrativo es el desarrollado por Kass E. y cols. (10); estos

autores utilizan ratones transgénicos capaces de producir antígeno carcinoembrionario (CEA). Los intentos de inmunización directa con CEA no originan ninguna respuesta de autoinmunidad frente al CEA; sin embargo, la utilización del virus vaccinia como vector viral y una vacuna DNA de fusión con moléculas coestimuladoras origina una respuesta inmunitaria frente a CEA.

Vacunas anti-idiotipo. Un idiotipo es el conjunto de determinantes antigénicos que expresa cada molécula de inmunoglobulina, determinado por la estructura de sus regiones variables. Estos anticuerpos pueden tener capacidad de mimetizar antígenos asociados al tumor.

VACUNAS TERAPÉUTICAS EN DESARROLLO

Enomoto Y y cols. (3), publican este trabajo que evalúan el efecto sobre el tamaño tumoral de las células dendríticas de fusión con expresión de antígenos tumorales. Para ello se induce un adenocarcinoma en ratones transgénicos MUC-1 inoculándolos con la línea células de adenocarcinoma MC38.

Se prepara un extracto de lisado tumoral purificado en una columna de agarosa, que se utiliza

a) Para inocular a los ratones afectados.

b) Se incuban con células dendríticas autólogas, obtenidas de la médula ósea de los ratones, observándose su maduración y se inoculan a los ratones.

Los autores determinan la disminución del tamaño tumoral que es significativamente mayor en los ratones inoculados con lisado purificado de células tumorales e incubado con células dendríticas.

Otra evidencia disponible la extraemos de E. J. Small y cols. (18) en ella

se hace referencia al tratamiento con células dendríticas sensibilizadas con PSA (Sipeleucel-T) del cáncer de próstata no andrógeno dependiente en 129 pacientes con metástasis, reclutados en 19 centros hospitalarios de USA. El tiempo medio de supervivencia fue de 25.9 meses para los pacientes que reciben Sipeleucel-T, frente a 21.4 meses de los que reciben placebo, lo que supone un tiempo medio de supervivencia significativamente mayor en los pacientes tratados con inmunoterapia.

Las células dendríticas de individuos sanos pueden tener mayor actividad funcional que las células dendríticas de individuos con cáncer y reconocer de forma más eficaz los antígenos tumorales. Diversos modelos de cáncer animal se utilizan como aproximación al comportamiento de algunos cánceres en humanos. Como ejemplo de ello H. Tamai y cols. (22); publican un estudio donde se inocula al ratón Balb/c con 0.05×10^7 células de una línea celular purificada de cáncer de mama (4T1) procedentes de este tipo de ratón, de esta forma los ratones desarrollan metástasis tumorales en pulmón, hígado o cerebro. Se seleccionan procedentes de punción de médula ósea del ratón células dendríticas que se extraen por selección negativa con anticuerpos monoclonales frente a linfocitos T y B, con cultivo celular en presencia de factor estimulantes de colonias de granulocito macrófagos (GM-CSF) e interleukina 4 (IL-4). Las células dendríticas se incuban además con la línea tumoral 4T1 y se procede a la fusión celular aplicando una corriente continua de 180 v/cm durante 10 sg. Los autores observan que el número de células de fusión inoculadas al ratón es proporcional a la respuesta clínica de eliminación de las metástasis experimentalmente inducida (22).

Otros estudios han evaluado la utilidad de la infusión de células tumorales autólogas en sujetos con cáncer renal no metastásico. En el ensayo publicado por D. Jocham y cols. (9) reclutan 558 pacientes

sometidos a nefrectomía radical tras carcinoma renal, que se aleatorizan antes de realizar cirugía para recibir inmunoterapia consistente en 6 inyecciones subdérmicas a intervalos de 4 semanas o no tratamiento. Los autores evalúan el riesgo de progresión del cáncer o el éxitus. Tras la cirugía se extrae de cada paciente una muestra de 10 g del tejido tumoral que se transporta al laboratorio de referencia en medio de cultivo celular. En el laboratorio las células se separan por gradiente de densidad y se incuban con interferon- γ para mejorar la expresión de MHC-II, finalmente se preparan alícuotas de 1 ml conteniendo una densidad celular de 5×10^6 células. El riesgo de progresión del tumor a los 5 años fue de 77.4% vs 67.8% respectivamente en los pacientes que no recibieron inmunoterapia y en los que la recibieron.

C. A. Uyl-de Groot y cols. (23) publican un ensayo multicéntrico realizado en pacientes con cáncer de colon en estadios II y III a los que se les administra inmunoterapia activa con células tumorales autólogas más el bacilo de Calmet-Guerin (BCG) como inmunomodulador (OncoVax). Hay que recordar que el cáncer de colon es la segunda causa de cáncer más frecuente en USA, aumentando su riesgo de forma significativa a partir de los 40 años y duplicándose a partir de los 55 años. Este ensayo clínico recluta a 254 pacientes con cáncer de colon en estadio II y III; a los pacientes después de realizarse cirugía electiva, se les asigna de forma aleatoria tratamiento con OncoVax o no tratamiento. El tratamiento con OncoVax se administra a los 25 días después de cirugía y otra dosis una semana más tarde, la dosis equivale a 10^7 células tumorales irradiadas y 10^7 células de BCG. A las 3 semanas y a los 6 meses los pacientes reciben una dosis por vía intradérmica de 10^7 células tumorales irradiadas sin BCG. Las dosis de vacuna se administran en cada una de las 4 dosis en puntos distantes. Los pacientes tratados con OncoVax en estadio II tienen un riesgo de recurrencia

significativamente menor 79% vs 62% (RR: 0.49; IC 95%: 0.27-0.89), los pacientes con cáncer de colon en estadio III presentan un riesgo de recurrencia tras tratamiento con OncoVax similar al grupo control (RR: 1.05; IC 95%: 0.55-2.07). La supervivencia a los 5 años es significativamente mayor en los pacientes tratados con OncoVax en estadio II; sin embargo, cuando ampliamos el periodo de seguimiento a 5-10 años estas diferencias no son estadísticamente significativas (RR: 0.54; IC 95%: 0.27-1.07).

El trabajo de JL Marshal y cols. (12), es un ejemplo de la utilización de todas las posibilidades en su conjunto en una sola terapia. Se incluyen pacientes con altos niveles de CEA en suero a consecuencia de tumores metastásicos de diferente origen, todos ellos con el rasgo común de producir CEA. En todos los casos los pacientes reciben 6 dosis de vacuna a intervalos de 1 mes. Se utilizan de forma varios vectores virales para reforzar la respuesta frente a los antígenos tumorales (CEA). Se asocia una dosis de Factor estimulante de colonias GM, observándose un aumento de la supervivencia.

El PSA es una proteína relacionada con las calicreinas, una serina proteasa que se sobreexpresa en las células de los acini y túbulos de la glándula prostática tumoral, circunstancia que lo convierte en blanco ideal para los intentos de inmunoterapia frente al tumor. En diversos estudios se ha observado que una disminución del PSA mayor del 50% de los valores previos a tratamiento se asocia con mejor pronóstico, lo que lo convierte en un buen marcador de la evolución del tumor. B. Hildenbrand, y Cols. (7), publican un ensayo clínico donde a 50 pacientes con cáncer de próstata refractario a tratamiento hormonal confirmado histológicamente se les administra tratamiento inmunoterápico con células dendríticas autólogas sensibilizadas con PSA-1, PSA-2 y PSA-3. Se administra una dosis de $50 \text{ mcg/m}^2 \text{ sc}$ de interferón- γ seguido por tres dosis administradas por

vía subdérmica de 2×10^6 células dendríticas en puntos anatómicos distintos a intervalos de 3 semanas. Los autores confirman que esta pauta es bien tolerada y se confirma la regresión y necrosis de los ganglios linfáticos metastásicos paraaórticos.

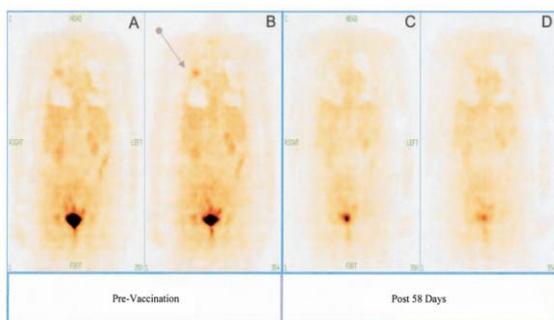


Figura 3. Se muestra un PET de un paciente antes de recibir la vacunación y 2 meses después, se aprecia una atenuación de la lesión metastásica pulmonar (12).

Mathevet P, y cols. (14) desarrollan una vacuna DNA que contiene codificación de los antígenos E6 y E7 del papilomavirus humano (HPV) tipo 16, que se sabe se relaciona con el desarrollo de cáncer de cuello uterino, junto los genes responsables de la codificación de IL-2, tal y como veíamos en las vacunas DNA de fusión y utilizan un virus aviar como vector viral. Se seleccionan 31 mujeres con lesiones CIN 2/3 (lesiones precancerosas de moderado, alto grado) que se aleatorizan en dos grupos para ensayar dos dosis diferentes de vacuna (5×10^6 y 5×10^7 pfu de MVA-E6/7-IL-2). Tras la vacunación se realiza conización como opción terapéutica a las 6 semanas y se evalúa el estado de las lesiones. En el 33.3% de las pacientes tratadas con bajas dosis y en un 43.7% de las mujeres tratadas con altas dosis se observa regresión de las lesiones CIN.

La resistencia a los citostáticos representa una de las principales causas del fallo de la quimioterapia en el tratamiento del cáncer. Dicha resistencia a

las líneas celulares tumorales puede ser intrínseca o adquirida en el transcurso de la quimioterapia; para evitarla, muchas pautas quimioterápicas han asociado además de nuevos quimioterápicos, la combinación de varios de ellos, mejorando espectacularmente los resultados. En otros casos se ha propuesto utilizar la inmunoterapia como mecanismo para regular la resistencia a la quimioterapia en el transcurso del tratamiento de muchos tumores (11). Las ventajas que a priori podrían destacarse de la utilización de vacunas terapéuticas en el cáncer son:

- Son altamente específicas para las células cancerosas por los que a priori puede suponerse baja toxicidad para las células no cancerosas.
- Reconocen y eliminan las células cancerosas indiferentemente de la fase y ciclo celular.
- Los tumores que desarrollan resistencia a la quimioterapia podrían ser convenientemente tratados con inmunoterapia.
- Las vacunas, en virtud del desarrollo de memoria inmunológica, ejercen un efecto duradero anti-tumor, evitando la necesidad de repetidos ciclos de quimioterapia.
- Ofrece la posibilidad de prevenir determinados tumores en sujetos de alto riesgo.

Vacunas y radioterapia. La radioterapia es el estándar para la mayoría de los cánceres, utilizada tanto como tratamiento como con fines paliativos. Debido a la propia toxicidad de la radiación algunos tumores no pueden recibir más que dosis subletales de radiación, sin embargo con esta dosis de radiación se modulan gran cantidad de genes resultando en alteraciones fenotípicas de las células tumorales que las hacen más fácilmente reconocibles y eliminables por los linfocitos T.

Uno de los mecanismos por los que el tumor puede escapar a la destrucción por las células del sistema inmune es la menor expresión de los antígenos del sistema mayor de histocompatibilidad. La administración de dosis subletales de radiación a un tumor puede modular la expresión de muchos genes, modificando sustancialmente la expresión antigénica del tumor, haciéndolo más fácilmente reconocible por las células del sistema inmune. El ensayo publicado por J. L. Gulley, y cols. (4), fue el primero que combinó el tratamiento con vacuna terapéutica frente al cáncer y radioterapia, comparando los resultados de respuesta de linfocitos T PSA específicos. En este ensayo los pacientes con carcinoma de próstata se agrupan en dos ramas de tratamiento, en una rama se administra radioterapia locoregional (n=11) y en otra rama radioterapia + Vacuna (n=90). La inmunización incluye una primovacuna que utiliza como vector virus recombinante de vaccinia que incorpora los genes de la molécula completa de PSA y virus de la vaccinia con los genes de la molécula coestimuladora B7.1; posteriormente se administran 6 dosis *booster* mensuales utilizando como vector el virus de la viruela del pollo (fowlpox) que incorpora por recombinación genética los genes de la molécula completa de PSA. Los autores observan que los pacientes que reciben el tratamiento combinado tienen respuestas de células T específicas para el PSA, evaluadas mediante prick test (test cutáneo) 3 veces mayores que los que reciben radioterapia sola.

Vacunas y quimioterapia. Algunos fármacos quimioterápicos pueden modular la expresión de los antígenos tumorales. El 5-fluoruracilo regula la expresión del antígeno carcinoembrionario y MHC-I. En un modelo experimental de melanoma, la inyección intratumoral de ciclofosfamida y células dendríticas (presentadoras de antígeno) consigue la erradicación del tumor y en modelos preclínicos experimentales los quimioterápicos

ciclofosfamida, doxorubicina, paclitaxel aumentan la respuesta inmune antitumoral. La quimioterapia parece tener un efecto depresor sobre los linfocitos T reguladores (CD4/CD25) que se han encontrado aumentados en los pacientes con cáncer. La depleción de los linfocitos T reguladores a través de la quimioterapia podría mejorar la actividad de las vacunas terapéuticas frente al cáncer. Sin embargo, la combinación de quimioterapia con vacunas terapéuticas tendría su mayor utilidad en las fases terminales de la enfermedad, en las fases más precoces del cáncer el sistema inmunológico es todavía altamente funcional y las vacunas pueden ser efectivas como monoterapia. Además, no todos los quimioterápicos pueden ser compatibles con la vacunación. Evidentemente son precisos estudios que aclaren estos puntos.

El glioblastoma multiforme es uno de los cánceres cerebrales más letales. A pesar de las mejoras en las técnicas de cirugía, radioterapia y quimioterapia, su pronóstico no ha mejorado sustancialmente en las últimas décadas. Diversos estudios sugieren que el glioblastoma es infiltrado por linfocitos T citotóxicos y macrófagos, que son ineficaces para eliminar el tumor. Estudios recientes demuestran que la inmunoterapia con células dendríticas del paciente sensibilizadas con péptidos del tumor pueden mejorar los resultados terapéuticos obtenidos con quimioterapia. Para mejorar los resultados obtenidos con la inmunoterapia es fundamental que las células tumorales aumenten la expresión de antígenos que las células del sistema inmune van a reconocer y utilizar para marcar y destruir las células del tumor. La mayoría de las células tumorales, también las del glioblastoma, no expresan los antígenos de histocompatibilidad de clase II, por ello la respuesta inmune antitumoral es desarrollada a través de los linfocitos T CD8, a través del HLA de tipo I. El interferón- γ puede regular la activación crecimiento y diferenciación de los

linfocitos B, linfocitos T, células NK, células endoteliales, macrófagos y fibroblastos. De igual forma, el interferón- γ que puede inducir un aumento de la expresión de HLA de tipo II en una variedad de células, incluyendo las células del glioblastoma; y dependiendo de la dosis podría inducir apoptosis en las células tumorales. Se sabe que los tumores malignos producen una variedad de citocinas como la IL-4, IL-10 y el factor de crecimiento tumoral que inhiben las respuestas inmunes antitumorales a través de la inhibición funcional de las células dendríticas, esta situación puede ser revertida en parte con la utilización de interferón- γ .

El ácido transretinoico es un modulador de algunos procesos biológicos, suprime la proliferación celular e induce la diferenciación y maduración celular; estas acciones han llevado a ensayarlo en el tratamiento de algunos tumores de células muy indiferenciadas como la leucemia promielocítica. En las células tumorales el ácido transretinoico origina un aumento de los niveles de proteínas p21, p27 y p53, deteniendo el ciclo celular en la fase G1. El tratamiento con ácido transretinoico origina un aumento de la sensibilidad de los tumores al efecto citotóxico mediado por linfocitos y células NK. En A. Haque y cols. (5), se exponen los beneficios de la utilización combinada de interferón- γ y ácido transretinoico en el tratamiento del glioblastoma.

REFERENCIAS

1. Anderson RJ and Schneider J: Plasmid DNA and viral vector-based vaccines for the treatment of cancer. *Vaccine* 2007, 25 Suppl 2: B24-B34.
2. Arvelo, F. and Morales, A. Telómero, telomerasa y cáncer. *Acta Cient Venez.* 55, 288-303. 2004.
3. Enomoto Y, Bharti A, Khaleque AA, Song B, Liu C, Apostolopoulos V, Xing PX, Calderwood SK, and Gong J: Enhanced immunogenicity of heat shock protein 70 peptide complexes from dendritic cell-tumor fusion cells. *J Immunol* 2006, 177: 5946-5955.
4. Gulley JL, Arlen PM, Bastian A, Morin S, Marte J, Beetham P, Tsang KY, Yokokawa J, Hodge JW, Menard C, Camphausen K, Coleman CN, Sullivan F, Steinberg SM, Schlom J, and Dahut W: Combining a recombinant cancer vaccine with standard definitive radiotherapy in patients with localized prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2005, 11: 3353-3362.
5. Haque A, Banik NL, and Ray SK: Emerging role of combination of all-trans retinoic acid and interferon-gamma as chemoimmunotherapy in the management of human glioblastoma. *Neurochem Res* 2007, 32: 2203-2209.
6. Harley CB: Telomerase and cancer therapeutics. *Nat Rev Cancer* 2008, 8: 167-179.
7. Hildenbrand B, Sauer B, Kalis O, Stoll C, Freudenberg MA, Niedermann G, Giesler JM, Juttner E, Peters JH, Haring B, Leo R, Unger C, and Azemar M: Immunotherapy of patients with hormone-refractory prostate carcinoma pre-treated with interferon-gamma and vaccinated with autologous PSA-peptide loaded dendritic cells--a pilot study. *Prostate* 2007, 67: 500-508.
8. Hodge JW, Greiner JW, Tsang KY, Sabzevari H, Kudo-Saito C, Grosenbach DW, Gulley JL, Arlen PM, Marshall JL, Panicali D, and Schlom J: Costimulatory molecules as adjuvants for immunotherapy. *Front Biosci* 2006, 11: 788-803.
9. Jocham D, Richter A, Hoffmann L, Iwig K, Fahlenkamp D, Zakrzewski G, Schmitt E, Dannenberg T, Lehmacher W,

von WJ, and Doehn C: Adjuvant autologous renal tumour cell vaccine and risk of tumour progression in patients with renal-cell carcinoma after radical nephrectomy: phase III, randomised controlled trial. *Lancet* 2004, 363: 594-599.

10. Kass, E., Schlom, J., Thompson, J., Guadagni, F., Graziano, P., and Greiner, J. W. Induction of protective host immunity to carcinoembryonic antigen (CEA), a selfantigen in CEA transgenic mice, by immunizing with a recombinant vaccinia-CEA virus. *Cancer Research* 59, 676-683. 1999.

11. Liu G and Yu JS: Cancer vaccines: a novel strategy to sensitize malignant glioma to chemotherapy. *Expert Rev Neurother* 2007, 7: 1235-1237.

12. Marshall JL, Gulley JL, Arlen PM, Beetham PK, Tsang KY, Slack R, Hodge JW, Doren S, Grosenbach DW, Hwang J, Fox E, Odogwu L, Park S, Panicali D, and Schlom J: Phase I study of sequential vaccinations with fowlpox-CEA(6D)-TRICOM alone and sequentially with vaccinia-CEA(6D)-TRICOM, with and without granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, in patients with carcinoembryonic antigen-expressing carcinomas. *J Clin Oncol* 2005, 23: 720-731.

13. Marx J: Cancer immunology. Cancer's bulwark against immune attack: MDS cells. *Science* 2008, 319: 154-156.

14. Mathevet, P., Bory, JP, Huynh, B., Bonnier, P., LÉcuru, F., and Riethmuller, D. Phase II study of MVA expressing E6 and E7 of HPV16 in patients with CIN2/3. 2004. 7th Annual Meeting, American Society of Gene Therapy.

15. Old LJ: Cancer vaccines: an overview. *Cancer Immun* 2008, 8 Suppl 1: 1.

16. Peggs KS, Quezada SA, Korman AJ, and Allison JP: Principles and use of anti-CTLA4 antibody in human cancer immunotherapy. *Curr Opin Immunol* 2006, 18: 206-213.

17. Prestwich, Robin J., Errington, F., Harrington, Kevin J., Pandha, Hardev S., Selby, Peter, and Melcher, A. Oncolytic Viruses: Do They Have a Role in Anti-Cancer Therapy? *Clinical Medicine: Oncology* 2, 83-96. 2008.

18. Small EJ, Schellhammer PF, Higano CS, Redfern CH, Nemunaitis JJ, Valone FH, Verjee SS, Jones LA, and Hershberg RM: Placebo-controlled phase III trial of immunologic therapy with sipuleucel-T (APC8015) in patients with metastatic, asymptomatic hormone refractory prostate cancer. *J Clin Oncol* 2006, 24: 3089-3094.

19. Stebbing J, Wood C, Atkins M, Bukowski R, Litwin S, Bower M, Parsa A, and Levitsky H: Cancer vaccines: Clinical development challenges and proposed regulatory approaches for patient access to promising treatments. *Cancer* 2008, 112: 955-961.

20. Steinman RM and Banchereau J: Taking dendritic cells into medicine. *Nature* 2007, 449: 419-426.

21. T-W-Fiennes RN: Infectious cancers of animals and man. London Academic Press, 1982.

22. Tamai H, Watanabe S, Zheng R, Deguchi K, Cohen PA, Koski GK, and Shu S: Effective treatment of spontaneous metastases derived from a poorly immunogenic murine mammary carcinoma by combined dendritic-tumor hybrid vaccination and adoptive transfer of sensitized T cells. *Clin Immunol* 2008, in press.

23. Uyl-de Groot CA, Vermorken JB, Hanna MG, Jr., Verboom P, Groot MT,

Bonsel GJ, Meijer CJ, and Pinedo HM: Immunotherapy with autologous tumor cell-BCG vaccine in patients with colon cancer: a prospective study of medical and economic benefits. *Vaccine* 2005, 23: 2379-2387.

Manuel de Falla y Granada

Ana M^a Gómez Vélez
Facultad de Filosofía y Letras. Departamento de Historia del Arte. *Universidad de Granada (España)*

Humanidades

INTRODUCCIÓN HISTÓRICA

El final del siglo XIX y el comienzo del siglo XX se caracterizaron por unos años convulsos y de reestructuración de ideas en el ámbito nacional. Esta situación no dejó ajena a una ciudad de provincias como fue Granada, así el contexto histórico en el período en el que vivió Manuel de Falla en Granada estaba marcado por un sentimiento latente de renovación que se respiraba en todo el país, en el caso de Granada de eclosión cultural.

Se parte de una fecha mítica 1898 y se enlaza directamente con la Granada de Ángel Ganivet, es el resurgir de lo propio siendo las nuevas generaciones que trabajan en la ciudad las que conseguirán dar un tono vital a la ciudad despertándola del letargo en que se hallaba adormecida.

Son los años en los que la Universidad se renueva física y espiritualmente iniciando nuevas vías de pensamiento y actuación e influyendo en la vida ciudadana ya que está presente en las actividades sociales.

Es la Granada de las tertulias en “El Polinario”, cuando Falla, cautivado por el encanto, todavía tranquilo y

recoleta de Granada, se asienta primero en la Alhambra y luego en el Carmen de la Antequeruela. Son los años en que Federico García Lorca publica su primera composición en el Boletín del Centro Artístico (enero 1917) y nace la tertulia de “El Rinconcillo” en una plaza del Campillo. Nombres como Manuel Angeles Ortiz, Ruiz Almodóvar, Ángel Barrios, Gallego Burín, Fernández Montesinos,... y tantos otros configuran las nuevas generaciones que dinamizan la vida cultural granadina. Tal y como decía García Lorca “*no hubo persona que descollase en las letras o las artes granadinas que no hubiese desfilado por aquella reunión*”.

Son los años del Concurso de Cante Jondo en la Plaza de los Aljibes en la Alhambra y los años en que se inaugura el “Ateneo Científico, Literario y Artístico”, en el que la ciudad lleva a cabo el homenaje a Góngora y en que los restos de Ganivet vuelven a su ciudad natal. En estos mismos años aparece la revista *Gallo*, que este verano del 2008 ha sido recordada en una exposición temporal en el Palacio de Carlos V. Asimismo se estrena Mariana Pineda en el teatro Cervantes y se abren las puertas de la Casa de los Tiros.

Son años de contactos fructíferos con otros grupos culturales del país, los catalanes fundamentalmente. Incluso un cierto aire regionalista se viviría por entonces reflejado en la revista *Renovación*.

Etapa en la que se celebran los actos de conmemoración de la fundación de la Universidad, la recuperación de la ciudad y de sus monumentos en los trabajos de Torres Balbás, arquitecto innovador que participó en la Conferencia de Expertos para la Protección y Conservación de Monumentos de Arte e Historia en Atenas, de la que surgió la famosa Carta de Atenas. Estas nuevos principios y criterios con respecto a la restauración y conservación de monumentos se reflejaron en la primera Ley de Patrimonio de 1933, durante la II República.

Todos estos acontecimientos reflejaban una actividad aperturista de la ciudad a nivel nacional e internacional, pero con el estallido de la guerra civil española se cierra un ciclo que se inició en el 1898, año de referencia para delimitar un periodo dentro del cual se enmarca la estancia de Manuel de Falla en Granada, siendo un referente intelectual en la ciudad durante este período.

BREVE APROXIMACIÓN A LA CARRERA DE FALLA

Aunque su contacto con la ciudad se inició antes de 1920, fue en este año cuando se instaló en la ciudad

hasta que partiera para Argentina, lugar donde murió.



Figura 1. Casa-Museo Manuel de Falla en Granada.

La primera formación musical le fue impartida por su madre, pianista excelente que influyó sobremanera en su carrera, y posteriormente tuvo varios profesores de piano que contribuyeron a afianzar la vocación musical de Falla. Junto a su pasión por la música manifestó desde su infancia interés por otras disciplinas como la literatura y la pintura.

Su trayectoria vital y profesional hasta llegar a Granada hizo que en su música confluyeran las nuevas corrientes musicales e intelectuales con la tradición del pueblo español. Antes de su período granadino se instaló en Madrid inscribiéndose en el Real conservatorio de Música bajo la dirección del catedrático D. José Tragó. Pero la figura de Felipe Pedrell fue decisiva para su carrera, ya que Falla aseguró en varias ocasiones que su camino artístico se lo debió a él.

Posteriormente se trasladó a París, donde conoció y fue amigo de figuras tan consagradas como Paul Dukas, M. Ravel, Claude Debussy, Stravinsky y otros, maestros y

compositores que luego le visitarían en Granada y que dedicaron obras suyas a España.

Falla estuvo en París desde 1907 a 1914, cuando estalla la guerra europea no tiene más remedio que salir de allí. Estos siete años constituyeron uno de los periodos más fecundos de su labor profesional.

Desde París marcha a Barcelona y vive allí prácticamente hasta 1920, en estos años viven allí repatriados un grupo de artistas de distintas nacionalidades que tenían su residencia en París. Es en Barcelona donde estrenará alguna de sus obras y desde donde hará frecuentes viajes al extranjero para dar conciertos o para dar a conocer su obra.



Figura 2. Sala de estar de la casa museo Manuel de Falla en Granada.

Sus años de residencia en Granada que comienzan a partir de 1920, estuvieron precedidos por una serie de visitas que se iniciaron aproximadamente hacia 1915, siendo en 1919 cuando tras una estancia de un mes a instancias de Ángel Barrios, decide establecer su residencia en esta ciudad. En un primer momento residió en la Pensión Carmona, luego ocupó provisionalmente un pequeño carmen propiedad de Ángel Barrios, situado en la misma calle de la Alhambra, próximo

a la Pensión Carmona. Por último, se mudó al número 11 de la Antequeruela Alta, donde vivió desde el año 1921 hasta su marcha de Granada para irse a Argentina el día 28 de Septiembre de 1939.

Durante su estancia en Granada se reconocen dos etapas diferenciadas cuyo punto de inflexión entre una y otra sería el año 1930 aproximadamente. La primera etapa se caracterizó por la tranquilidad, el respeto y la consideración de los amigos que venían a visitarle; en esta etapa se sintió verdaderamente a gusto en Granada. Pero a partir de 1930-31 la situación cambia pues coincidiendo con el advenimiento de la República, que es pronto truncado, su situación personal experimenta una progresiva debilidad física y psíquica. Entre sus amigos destacan el ya mencionado guitarrista Ángel Barrios, Fernando Vílchez, hombre de singular cultura, Miguel Cerón, conocedor y practicante de la música, la pintura o la escultura, Hermenegildo Lanz, Fernando de los Ríos, Gallego Burín, Torres Balbás, etc., destacando la amistad que le unió a Federico García Lorca.



Figura 3. Dormitorio de la casa Museo Manuel de Falla en Granada.

Sin duda alguna la gran obra que concluye en Granada es el *Retablo de Maese Pedro* en el año 1922, en la cual hay claras referencias a la amistad que tuvo con Federico García Lorca debido a la influencia que este debió ejercer sobre la realización de la obra ya que Lorca tenía gran habilidad para montar teatros de guiñol o títeres. La obra se estrenó en el año 1923, primero en Sevilla, en versión de concierto, y más tarde, en forma representada, en el palacio de la princesa de Polignac.

A pesar de haber abandonado en su música el lenguaje andalucista, Manuel de Falla defiende la conservación del “cante jondo” en su forma más pura. Para contribuir a ello organiza en Granada, en colaboración con García Lorca, Zuloaga, Andrés Segovia y otras personalidades, el Concurso de “Cante primitivo andaluz”, que alcanza resonancia nacional e internacional; hasta Granada se trasladaron críticos y musicólogos de distintos países.

Manuel de Falla fue nombrado hijo adoptivo de Granada el 26 de febrero de 1927, aunque fue acordado por el Ayuntamiento en la sesión del Pleno Municipal del día 15 de diciembre de 1926.

En la primavera de 1926, durante el viaje de Falla a Zurich para tomar parte en el Festival de la Sociedad Internacional de Música Contemporánea, se define en el ánimo de don Manuel la creación de “Atlántida”, en ella colaborarían personalidades como el poeta Paul Claudel que escribiría el argumento o

José María Sert que realizaría la escenografía. Se trataba en principio de una obra de no grandes proporciones, pero la idea fue creciendo y transformándose.



Figura 4. Cartel del concurso de Cante Jondo.

Hacia el año 1928 Falla tiene preparados algunos fragmentos de su “Atlántida”, pero es a partir de este momento cuando el compositor inicia su etapa más difícil ya que su constante falta de salud, la realización de otros trabajos que no quería desatender, la difícil situación político-social de España y la larga guerra civil hicieron lento el nacimiento de “Atlántica”, que fue terminada por su discípulo Ernesto Halffter, que posteriormente, en 1976, haría una nueva versión.

Después de terminada la guerra civil española, Manuel de Falla acepta la invitación de la Institución Cultural Española de Buenos Aires para dar unos conciertos de música española en el Teatro Colón de Buenos Aires y el 2 de octubre de 1939 sale para la República Argentina.

Ya en América, en su residencia de Alta Gracia “Los Espinillos”, provincia de Córdoba en Argentina, continúa trabajando en “Atlántida” en la medida que le permiten su falta de salud y otras dedicaciones ineludibles.

El 14 de noviembre de 1946 muere en Alta Gracia a los setenta años de edad, sus restos son trasladados a España y reciben cristiana sepultura, según deseo del propio Falla, en la cripta de la catedral de Cádiz, cerca del Atlántico.

CASA-MUSEO DE MANUEL DE FALLA

El Ayuntamiento adquirió en 1962, el carmen granadino donde viviera Manuel de Falla y Matheu (1876-1946), desde 1921 hasta los comienzos de la II Guerra Mundial. Se constituyó por acuerdo municipal de la misma fecha de creación el Patronato de esta Casa-Museo y se le confió su conservación. La inauguración tuvo lugar el 3 de Julio de 1965, después de haberse ejecutado las obras de restauración necesarias para recrear el ambiente vivido en esa época. La instalación de su interior pudo llevarse a cabo gracias a los enseres y muebles donados por los herederos de Falla.

Para la reinstalación de los muebles y objetos personales de Falla se siguió un criterio exclusivamente documental, prefiriendo mantener la distribución que el compositor tenía en el año 1939 cuando dejó su casa, según un dibujo de

En relación a otros aspectos de la vivienda como solerías, algunas ventanas, se mantuvo la transformación realizada por la anterior inquilina, entre otras razones, porque al tener Falla en arriendo la casa, ni su economía, ni demasiadas exigencias personales de confort, le permitieron obras grandes intervenciones.

Es esta Casa de Manuel de Falla, el más auténtico documento de la vida del músico en sus mejores años, dejó al partir hacia Argentina trajes, ropas íntimas y demás enseres que quedaron y permanecen allí.

Junto a este carmen, el Ayuntamiento adquirió en 1969, otros tres para construir el “Centro Manuel de Falla”, cuyo destino cultura es actualmente polivalente, pero principalmente destinado a la música. El proyecto y ejecución se deben al arquitecto J. M^a García Paredes, vinculado a la familia del músico por su matrimonio con D^a Isabel de Falla, único familiar directo del compositor. Fue inaugurado en Junio de 1979.

Un incendio destruyó totalmente dos salas del Auditorio y produjo importantes daños en otras dependencias el día 11 de Agosto de 1986. Tramitado el expediente de obras para su reparación, fue reinaugurado el 4 de Julio de 1987. El 28 de Septiembre de 1987 se incoa el expediente de declaración de monumento como bien de interés cultural a favor del carmen “Ave María” (Casa-Museo Manuel de Falla).

En 1988 se crea la Fundación “Archivo Manuel de Falla” y por acuerdo, en 1989, entre dicha fundación y el Ayuntamiento de Granada se traslado el Archivo de Falla de Madrid a Granada y con tal motivo se inició la construcción de un edificio junto a la Casa-Museo. El musicólogo Antonio Gallego terminó en 1988 la catalogación de toda la obra musical de Falla existente en este Archivo.

Actualmente los medios proporcionados por las nuevas tecnologías nos permiten acceder a la Casa-Museo Manuel de Falla mediante una visita virtual, aunque nunca comparable con una visita presencial en donde el espíritu queda impregnado de la delicadeza y sencillez de la personalidad del compositor que transmitía a través de su música.