

COVID-19 y vacunas RNA

Fuente: Post publicado en el Blog *Golpedefecto* <https://golpedefecto.blogspot.com/>
Enlace al post: <http://bit.ly/3nkHL72>

La situación actual provocada por la pandemia del SARS-CoV-2 ha provocado una movilización generalizada en distintos ámbitos para tratar de controlar la dispersión del virus. Entre ellos, el sanitario, y dentro de este, alcanzar una vacuna efectiva se ha considerado prioritario para lograr normalizar la situación sanitaria, y por ende social y económica a nivel global.

En esta entrada pretendo proporcionar una breve visión general de las vacunas que se están desarrollando para hacer frente a la COVID-19, haciendo especial incidencia en las basadas en RNAm, que es la tecnología en que se basan las vacunas de Pfizer y Moderna, de las cuales se han dado los datos preliminares de los ensayos clínicos en curso y que han sorprendido por su efectividad.

El objetivo de las vacunas, además de reducir la morbimortalidad, especialmente en grupos de riesgo, es lograr la inmunidad de grupo o de rebaño, para impedir la dispersión del agente causante de la enfermedad en la población. Aunque la inmunidad de grupo se puede lograr tanto de forma natural, al infectarse la población, como a través de la vacunación.

Y con respecto a la vacunación, y en términos epidemiológicos, es importante conocer el porcentaje de población que es necesario proteger para alcanzar esa inmunidad de grupo, que varía en función del número básico de reproducción (R_0), haciendo este referencia al número de personas a las que puede infectar un portador.

Lográndose el control de la pandemia cuando se lleva el R_0 a un valor de 1 o inferior, lo que hasta ahora se ha intentado lograr a través de medidas como el confinamiento, o el screening masivo de población, abordaje ya comentado [aquí](#) y [aquí](#).

Y para alcanzar la inmunidad de grupo, es importante determinar qué porcentaje de población es necesario proteger para lograrla, viniendo este porcentaje dado por la formula $(1-1/R_0)=\%$, de tal forma que cuanto mayor sea R_0 , será necesario vacunar a un porcentaje mayor de población.

La tecnología en la fabricación de vacunas ha ido evolucionando a lo largo de la historia, desde la lograda en 1796 contra la viruela por Edward Jenner, cuando inoculó a un niño viruela bovina protegiéndole de la viruela humana, hasta la tecnología actual basada en ingeniería genética, y especialmente, las vacunas de RNA.

En este momento se están desarrollando [distinto tipo de vacunas](#) para luchar contra la COVID-19, siendo las tecnologías empleadas:

-Virus inactivados o atenuados incapaces de causar la enfermedad pero con capacidad de generar respuesta inmune.

-Vacunas basadas en proteínas, de tal forma que la administración de estas o fragmentos de estas inducen la respuesta inmune.

-Vacunas basadas en vectores virales, que utilizan virus modificados genéticamente para que sean incapaces de generar enfermedad, al mismo tiempo que incorporan genes de proteínas del SARS-CoV-2.

-Vacunas de DNA o RNAm, que utilizan DNA o RNA modificados genéticamente para que produzcan en la célula huésped las proteínas virales por las que codifican.

Entre múltiples desarrollos de vacunas en marcha, entre las que cabe destacar las siguientes:

A full field
Selected covid-19 vaccines in phase-three clinical trials, 2020

Developer	Type	Doses	Participants*	Study location	Phase-3 start date
Johnson & Johnson	Viral vector	1	60,000	International	Sep 7th
AstraZeneca/Oxford University	Viral vector	2	50,000	International	Aug 28th [†]
Novavax	Inactivated	2	45,000	Britain, US, Mexico	Sep 28th
Pfizer/BioNTech	mRNA	2	43,998	International	Jul 27th [‡]
Gamaleya (Sputnik V)	Viral vector	2	43,600	International	Sep 7th
Moderna	mRNA	2	30,000	United States	Jul 27th
Sinovac	Inactivated	2	27,980	International	Jul 21st

Sources: PLOS; VFA; ClinicalTrials.gov; press reports *Estimated number of enrollees in phase three †US trial ‡Announcement of phase 2/3

The Economist

Figura.- ECONOMIST. [An effective covid-19 vaccine is a turning point in the pandemic](#)

Pero a lo que vamos, se trata de conocer cómo funcionan este nuevo tipo de vacunas, basadas en RNA mensajero (RNAm), que hasta la fecha son las primeras de este tipo que previsiblemente serán autorizadas. Vamos a ir de menos a más para que se pueda entender y que cada uno llegue hasta donde llegue su interés.

En las células se produce un flujo de información desde los genes (DNA) hasta las proteínas. Este flujo presenta un paso intermedio que implica la “transcripción” de los genes en el núcleo celular mediante unas enzimas denominadas RNA polimerasas DNA dependientes, sintetizándose un RNA mensajero (RNAm) que se traslada al citoplasma celular, para en este sintetizar cadenas polipeptídicas en los ribosomas, que darán lugar a las proteínas posteriormente funcionales (figura siguiente).

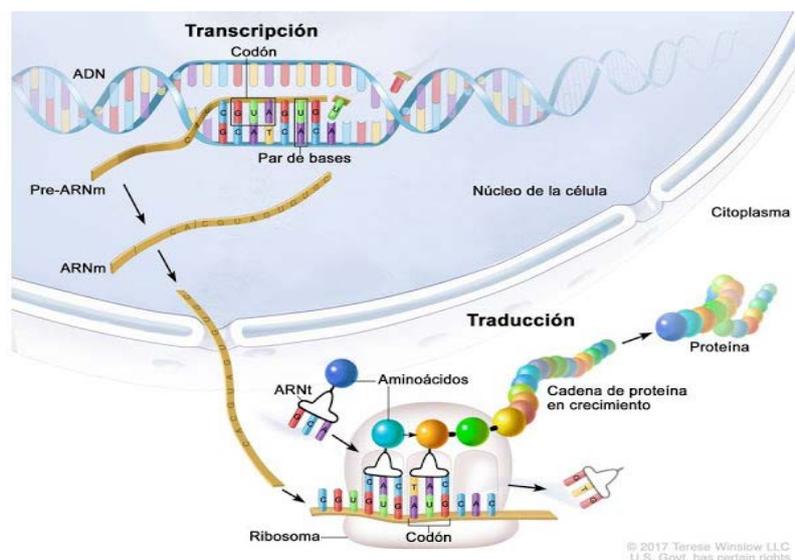


Figura.- [Instituto Nacional del Cáncer](#). Flujo de información desde los genes a las proteínas a través del RNAm.

Las proteínas están constituidas por una secuencia de aminoácidos, viniendo esta secuencia determinada por los genes. Y esta secuencia distinta es la que va a dotar a las distintas proteínas sintetizadas de diferentes funciones, ya actuando como enzimas u hormonas, o llevando a cabo una función estructural.

Las vacunas de RNA aprovechan este conocimiento de flujo de información para sintetizar un RNAm que codifique por proteínas virales con capacidad antigénica. Es decir, se trata de construir un vehículo que transporte un RNAm sintetizado con la secuencia que nosotros deseemos para introducirlo en las células del organismo. Y que estas, en su citoplasma, sinteticen la proteína del virus utilizando la maquinaria de la célula, desencadenando la respuesta inmunitaria que generará protección.

Por tanto, para adaptar las vacunas RNA a la COVID-19 es imprescindible conocer el virus. Y este, el SARS-CoV-2, pertenece a la familia coronavirusidae, caracterizándose por ser virus cuyo genoma está constituido por una cadena sencilla de RNA, concretamente de RNA+, lo que implica que codifica directamente, sin pasos intermedios, por las proteínas virales (para más información pinchar [aquí](#)).

El genoma del SARS-CoV-2 está constituido por distintos genes que codifican por distintas proteínas, unas con actividad enzimática, y otras estructurales. Las que nos interesan a nosotros van a ser estas últimas, ya que las vacunas de RNAm se han creado en base a una secuencia de ribonucleótidos que va a sintetizar la proteína spike (figura siguiente), que se encuentra en la superficie del virus y mediante la cual, a través de un receptor de superficie celular ACE2, entra en las células.

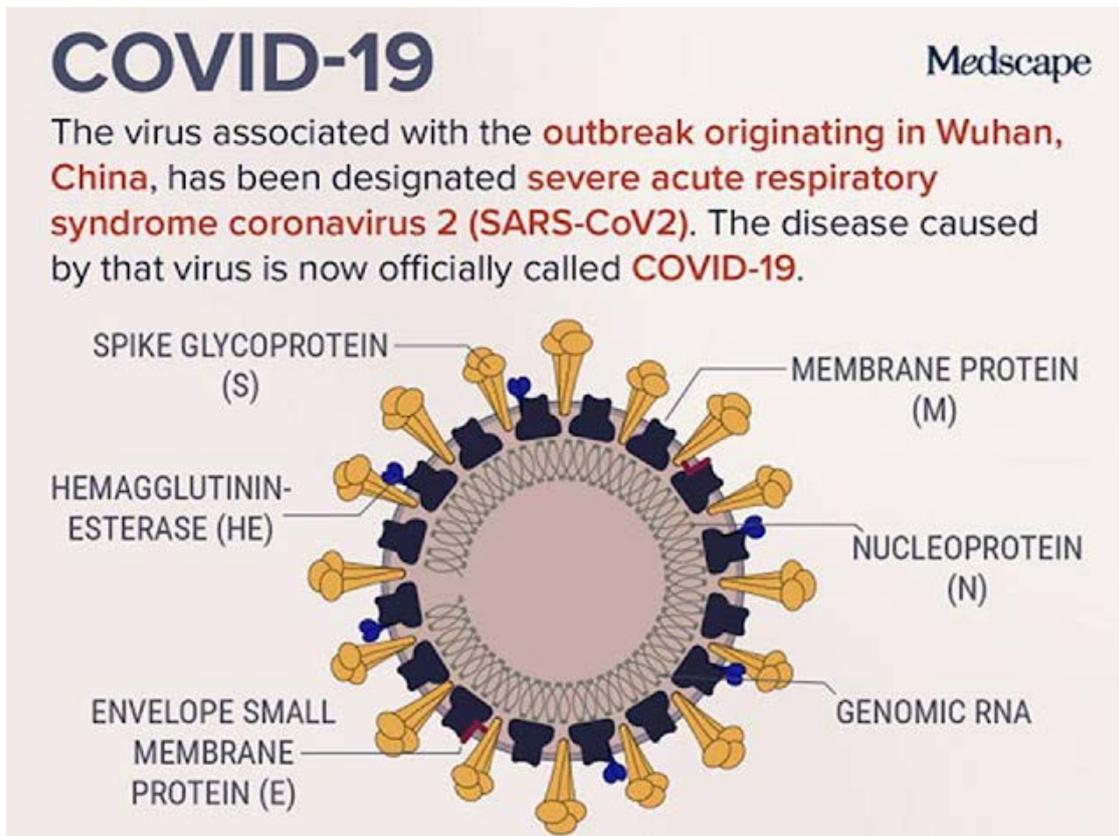


Figura.- [Entendiendo la Genética, detección y tratamiento del SARS-CoV-2](#)

Por tanto, el primer paso para crear una vacuna de RNAm es construir una estructura genética que codifique por la proteína S, lo cual no es tan difícil, porque el virus ha sido secuenciado y conocemos la secuencia de ribonucleótidos que codifica por esta proteína.

Sin embargo, el diseño de la secuencia de RNAm es solo el comienzo de esta aventura, ya que la eficiencia de expresión de la construcción de RNAm depende de estructuras adicionales a la región codificante (figura siguiente). Entre ellas, las de sus extremos 5´ (cap) y 3´ (poliA), así como secuencias 5´ y 3´ UTR (no traducidas-untranslated), que no van a codificar por la proteína S, situadas respectivamente entre el cap y la región codificante y entre esta y el poliA; así como también la utilización de nucleótidos modificados en la síntesis del RNAm.

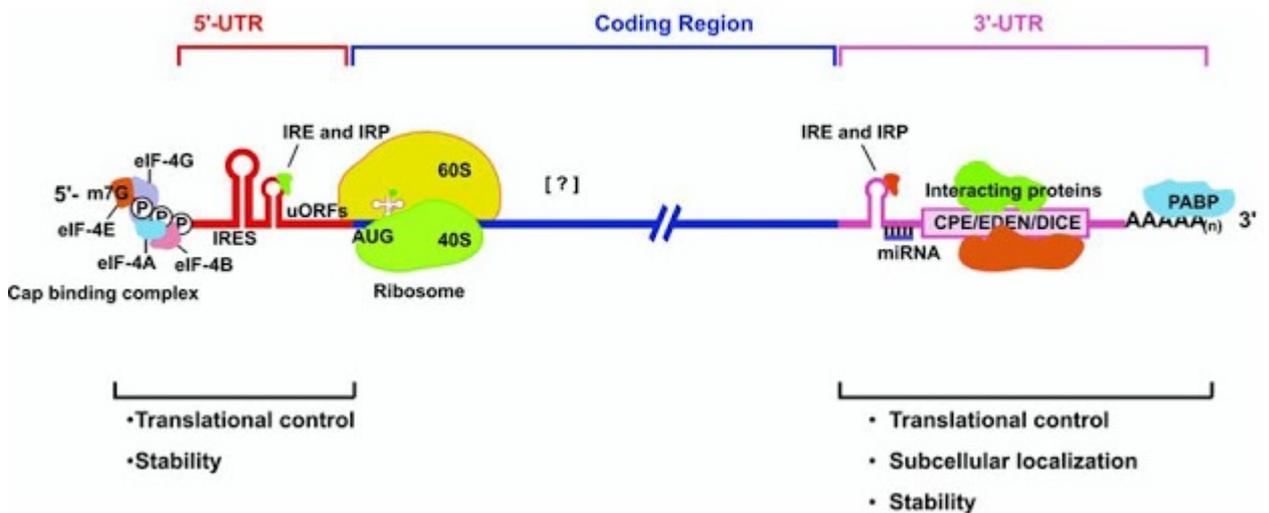


Figura.- [Role of 5´ and 3´ untranslated regions of mRNAs in human diseases.](#)

Pero las cosas se pueden complicar todavía más, ya que existen dos tipos de vacunas de RNAm. Una que incluye únicamente el gen que codifica por la proteína S (convencional, no replicativa o non replicating RNAm- NRM), y otras que adicionalmente llevan un gen que codifica por una RNA polimerasa RNA dependiente (auto-replicante o "self amplifying RNAm- SAM), normalmente de otro virus (alfavirus). Siendo este un enzima que va a hacer copias del RNAm de la proteína S para aumentar el número de copias de RNAm, con el fin de incrementar la síntesis de esta proteína en las células, ya que el nivel de síntesis de proteína será dependiente de la cantidad de RNAm presente, y cuanto mayor sea el nivel de proteína (antígeno) mayor será la respuesta inmune.

Y entre las vacunas autoreplicantes podemos diferenciar dos tipos, aquellas en que la RNA polimerasa RNA dependiente se encuentra en la misma construcción que el RNAm que el del antígeno(cis), o aquellos casos en que se construye una estructura de RNAm distinta que contiene el RNAm que codifica por la RNA polimerasa RNA dependiente (trans), lo que implicará generar, como veremos posteriormente, otra nanopartícula lipídica distinta para vehicularlo hacia las células objetivo o target simultáneamente con las nanopartículas que portan el RNAm de la proteína S.

Una vez realizado el diseño, es necesario proceder al proceso de fabricación, que comienza con la creación de un plásmido de DNA (doble cadena de DNA circular) que contiene un inserto complementario a la secuencia de RNAm que queremos crear precedida de un promotor de una RNA polimerasa DNA dependiente (sintetiza RNA a partir de un molde de DNA). El plásmido es

linearizado para facilitar la transcripción y obtención del RNAm y posteriormente tratado con una DNAsa (enzima que degrada el DNA) dejando intacto el RNAm recién sintetizado.

A continuación es necesario realizar una purificación del material obtenido, que se puede realizar mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC). La purificación del producto puede reducir la inmunogenicidad, como veremos posteriormente, provocada por subproductos del proceso de síntesis, como por ejemplo cadenas más cortas o dobles cadenas de RNA, siendo el beneficio derivado de la purificación [menor en el caso de vacunas basadas en RNA autoreplicativo](#).

Como anticipaba, el RNAm debe ser vehiculizado hacia las células, para lo cual se sintetizan nanopartículas lipídicas (LNP) que portarán el RNAm en su interior. Estas [nanopartículas](#), además de contribuir a estabilizar el RNAm protegiéndolo de la degradación por nucleasas, facilitan la captación del RNAm por las células target y el escape de la vía de los endosomas, que podría degradar el RNAm, facilitando por tanto que el RNAm sea traducido en el citoplasma.

La construcción de estas LNP es otro paso importante en el diseño de la vacuna. Siendo importante el valor de la constante de disociación (PKa), que determina las propiedades de fusión con la membrana celular. Pudiendo este paso complicarse más en la próxima generación de LNPs, en las que se pretende incluir [proteínas específicas sobre su superficie](#) para que sean reconocidas por receptores celulares específicos dirigiendo las LNPs a las células objetivo, como pueden ser presentadoras de antígeno como las dendríticas.

En la síntesis de las LNPs, también es importante incidir en la relación de masa LNP:RNAm, que debe ser del orden [10:1-30:1](#), lo que limita el tamaño del RNAm a incluir en la LNP, por lo que fabricar una vacuna con distintos RNAm para generar respuesta a distintos antígenos se ve limitada. Cuando además, las LNPs poseen [propiedades adyuvantes](#) que potencian la respuesta siendo esta [independiente de la inmunogenicidad](#).

Una vez sintetizadas las LNP que llevan el RNA de interés en su interior, se inocula al sujeto. Estas LNP deben llegar hasta las células, con las cuales se fusiona (figura siguiente-paso 1). Una vez captado el RNAm por la célula, penetra en la vía endocítica (paso 3), permitiendo el escape del endosoma la liberación del RNAm en el citoplasma celular interaccionando con los ribosomas (paso 4) y produciéndose la síntesis de la proteína S viral, que sufre las modificaciones postraduccionales correspondientes (paso 7) como si el virus hubiera infectado la célula, para expresarse posteriormente en su superficie o liberarse al exterior (paso 8).

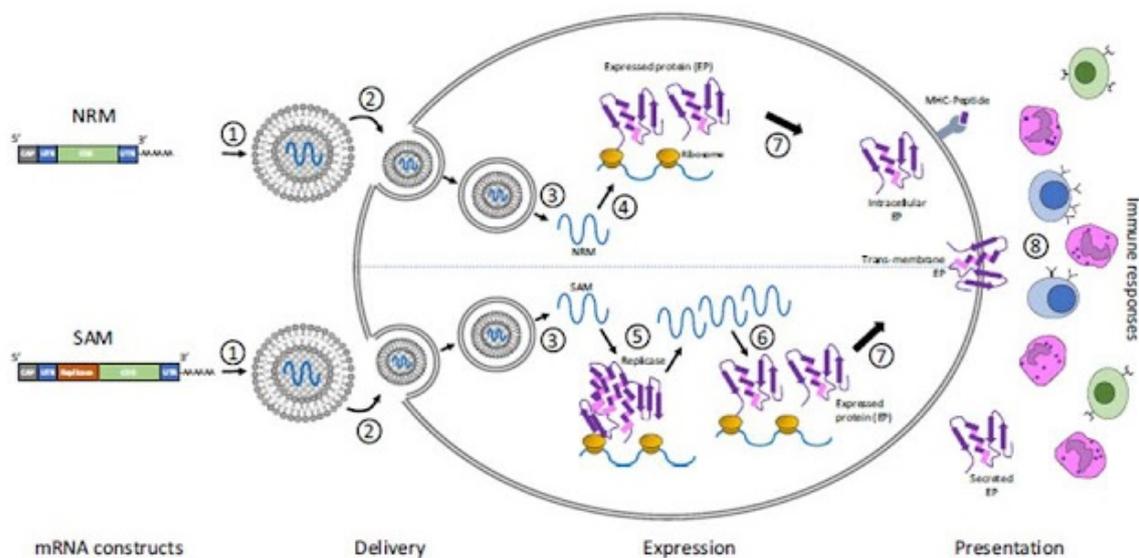


Figura.- [The promise of RNA vaccines: a biotech and industrial perspective](#)

Pero lo mencionado anteriormente es válido para vacunas de RNAm convencionales. En el caso de vacunas autoreplicantes, el RNAm puede ser traducido inmediatamente por los ribosomas, sintetizándose una replicasa viral que hace múltiples copias del RNAm que codifica por la proteína S (paso 5 de la figura anterior). Y como la expresión del antígeno es proporcional al número de transcritos, esta tecnología podría sustituir a las vacunas RNA "convencionales", que pueden necesitar [mayores o varias dosis](#).

Una vez liberado el RNAm en el citoplasma de la célula huésped y sintetizado el antígeno, este es presentado al sistema inmune para generar la correspondiente respuesta inmunológica. En este sentido, se ha tratado de maximizar la expresión génica. Siendo para ello importante el grado de purificación del RNAm, ya que los subproductos de la reacción de síntesis del RNAm podrían inducir la respuesta inmune innata como resultado de la activación de [interferón tipo I o citocquinas](#). Motivo similar al que justifica la utilización de nucleósidos modificados en la síntesis del RNAm, que impiden la activación de PKR, que es [inducida por interferón](#) para inhibir la síntesis de proteínas.

Resumiendo, las vacunas de RNA suponen una estrategia distinta que aprovecha los avances en ingeniería genética para generar inmunidad, suponiendo un proceso más limpio y rápido en la creación de vacunas, pero que no deja de tener cierta complejidad, tanto en el diseño del RNA como las nanopartículas lipídicas, como en evitar la respuesta inmune del huésped.

Siendo importante resaltar dos ventajas importantes con respecto a las vacunas DNA: no requieren un vector viral para su administración, y al ser de RNA, su acción es citoplasmática sin entrar en el núcleo, al contrario de lo que ocurre con las vacunas de DNA, que potencialmente podrían [integrarse en el DNA genómico](#).

Cuando además, la utilización de vectores virales, de forma análoga a la terapia génica, puede generar inmunogenicidad por el propio vector, generando una respuesta inmune del huésped frente al vector que impide la utilización posterior de dicho vector para posteriores dosis, además del hecho de que una inmunidad preexistente hacia el vector haría la vacunación inefectiva.

Por tanto, estamos ante una forma nueva y diferente de generar artificialmente inmunidad. Indudablemente se trata de una técnica no utilizada anteriormente en humanos que genera ciertos recelos en la población que reduce la intención de vacunarse. En cualquier caso, no parece que se puedan producir efectos secundarios importantes derivados del RNAm, ya que es bastante inestable y permanece en el citoplasma celular, debiendo considerarse además el equilibrio existente entre beneficio/riesgo y la administración/no administración de la vacuna.

Fuente: Post publicado en el Blog *Golpedefecto* <https://golpedefecto.blogspot.com/>

Enlace al post: <http://bit.ly/3nkHL72>