

Vida Científica

COLABORACIONES EN CIENCIAS DE LA NATURALEZA

VACUNAS BASADAS EN CÁPSIDAS VACÍAS (VIRUS-LIKE PARTICLES)

VACUNAS CLÁSICAS

La vacunación es uno de los métodos más eficaces para prevenir las enfermedades infecciosas. Buena parte de las vacunas empleadas en la actualidad se basan en formas atenuadas del patógeno original (vacunas vivas), o bien son vacunas inactivadas, en las que el patógeno se ha sometido a tratamientos físicos o químicos para eliminar su infectividad (vacunas muertas). Ejemplos de este tipo de vacunas son la vacuna frente a la viruela o las vacunas Sabin y Salk contra el virus de la polio, para humanos, y la vacuna contra el virus de la fiebre aftosa que se emplea en especies ganaderas. Muchas de estas vacunas convencionales, en particular las atenuadas, inducen una potente respuesta de células B o respuesta humoral (anticuerpos específicos frente al patógeno), y de células T o respuesta celular (respuesta citotóxica, que elimina las células infectadas por el patógeno), lo que se traduce en una eficaz protección frente a la infección. Esto ha permitido éxitos muy notables en el control e incluso erradicación de enfermedades, logrados gracias al empleo de este tipo de vacunas [1].

Sin embargo, el empleo de las vacunas convencionales puede plantear inconvenientes relacionados con la bioseguridad. Así, existe un riesgo, limitado aunque presente, de reversión del patógeno atenuado a un fenotipo virulento, o bien de que se produzca una inactivación incompleta o se dé un escape del patógeno durante el proceso de producción de las vacunas, que puede provocar el desencadenamiento de brotes de la enfermedad que se pretende combatir, precisamente a partir de la producción o el empleo de las vacunas frente a las mismas. Por ejemplo, la poliomielitis se considera esencialmente erradicada en los países occidentales, y los últimos casos reportados han estado por lo general ligados a la vacunación frente a la enfermedad.

De forma similar, buena parte de los últimos brotes de fiebre aftosa registrados en la cabaña ganadera de países de la actual Unión Europea (UE) durante los años 80 (antes de que se diera por erradicada la enfermedad) resultaron ser de origen vacunal. Esta observación, junto con el elevado coste de las campañas de vacunación, y la dificultad para la discriminación serológica (detección de anticuerpos específicos en sangre) entre animales vacunados con las vacunas convencionales y animales infectados por los virus patógenos circulantes llevó a la aplicación de la política de no vacunación frente a la fiebre aftosa adoptada por la UE 1991, vigente en la actualidad. Por similares razones, la UE sigue actualmente una política de no vacunación para muchas otras importantes enfermedades víricas de interés ganadero, como la peste porcina clásica o la peste porcina africana, razón por la cual la cabaña ganadera europea es altamente susceptible a dichas enfermedades, lo que conlleva un riesgo importante de reintroducción de las mismas. En estas condiciones, la prevención de las enfermedades en las zonas consideradas libres (zonas en las que no se detecta serología positiva a los virus en cuestión en las explotaciones ganaderas) se realiza mediante la restricción de las importaciones procedentes de países que las padecen y, en el caso de aparición de brotes, su control se ejerce mediante el sacrificio de los animales afectados y los existentes en las cercanías (*stamping out*). Nuestro país, debido a su proximidad y/o relación con áreas en las que este tipo de enfermedades están presentes (Magreb, Balcanes, Oriente próximo, Sudamérica) está particularmente expuesto al riesgo de su reintroducción. Este riesgo, en aumento por el proceso de globalización de la economía mundial, quedó en evidencia durante la irrupción de una cepa asiática del virus de la fiebre aftosa en el Reino Unido en el año 2001 (también se dieron focos en Francia y Holanda), la cual, además de paralizar buena parte de la actividad del país durante semanas, originó enormes costes económicos, estimados en al menos 8.000 millones de euros, tanto directos (sacrificio de más de 10 millones de animales), como indirectos (inmovilización del ganado y cierre de mercados nacionales e internacionales de animales, productos ganaderos y derivados, impacto sobre la actividad socioeconómica rural, actividades cinegéticas, el turismo, etc.) [2].

VACUNAS DE SUBUNIDAD

Lo expuesto más arriba pone de manifiesto la necesidad del desarrollo de nuevas estrategias vacunales que superen los inconvenientes que presentan algunas de las vacunas convencionales. Una alternativa considerada más segura es el desarrollo de vacunas sintéticas o de subunidad, basadas en la utilización de componentes aislados y solubles de los patógenos, como proteínas recombinantes (producidas en el laboratorio mediante técnicas biotecnológicas) o péptidos sintéticos (fragmentos pequeños de proteínas con capacidad inmunogénica). Estas vacunas son intrínsecamente más seguras que las convencionales, puesto que no implican el empleo de patógenos potencialmente peligrosos, ni durante su producción ni en su administración. Sin embargo, aunque en ciertos casos este abordaje ha demostrado ser una alternativa eficaz a las vacunas convencionales, es conocido que por lo general este tipo de antígenos son débilmente inmunogénicos (en comparación con la vacunación con el patógeno completo) [3,4], por lo que se suele requerir un mayor número de dosis y/o más cantidad de inmunógeno para alcanzar la misma eficacia de protección que con las vacunas inactivadas o atenuadas clásicas. Esto puede suponer que el empleo de algunas vacunas de subunidad en programas de vacunación presente costes más elevados que el de las correspondientes vacunas convencionales. Esta circunstancia, que indudablemente presenta repercusiones en el contexto de la medicina humana (¡sobre todo en la actual coyuntura!), es crucial en el caso de las vacunas de uso veterinario, donde el coste de una vacuna debe guardar relación con el valor económico del animal vacunado (una vacuna para pollos no puede costar más que los pollos). Por lo tanto, los abordajes que incrementen la eficacia de las vacunas sintéticas o de subunidad resultan muy relevantes de cara a hacer viable la generalización de su uso.

Una de las razones por la que las infecciones virales evocan por lo general una fuerte respuesta humoral (inducción de anticuerpos específicos frente al virus en sangre) se debe a la particular estructura de la superficie de los virus, que pueden ser considerados como cristales de dos dimensiones. La disposición altamente repetitiva y estructurada de los epítomos (regiones de las proteínas reconocidas por los anticuerpos) en la superficie viral es una característica distintiva de los mismos, así como de otros microorganismos, que los diferencia en buena medida de las características que presenta la superficie de

las células eucariotas que componen el organismo. Puesto que el sistema inmune de los vertebrados ha evolucionado durante decenas de millones de años orientado a la discriminación entre lo propio (las células del organismo, que no debe dañar) y lo ajeno (los patógenos infecciosos, que debe eliminar), ha desarrollado diversos mecanismos especializados en el reconocimiento y eliminación de este tipo de estructuras repetitivas que presentan una organización cuasi-cristalina.

Por lo tanto, una alternativa plausible para tratar de potenciar la inmunogenicidad de un antígeno de interés (una proteína completa de un patógeno o bien un fragmento que contenga epítomos relevantes) es presentarlo al sistema inmune en una forma altamente repetitiva y estructurada, de modo similar a como son presentados los antígenos en la superficie de los virus.

CÁPSIDAS VIRALES VACÍAS O VLPs

Las proteínas estructurales de muchos virus presentan la capacidad de autoensamblarse espontáneamente dando lugar a la formación de las llamadas partículas similares a virus o cápsidas vacías (*virus-like particles*, VLPs) (Figura 1), que resultan altamente inmunogénicas puesto que son estructuralmente semejantes (en muchos casos idénticas) a los virus de los que proceden. Esta capacidad puede aprovecharse para el desarrollo de vacunas. Así, se pueden producir dichas proteínas en grandes cantidades en el laboratorio empleando sistemas de ex-

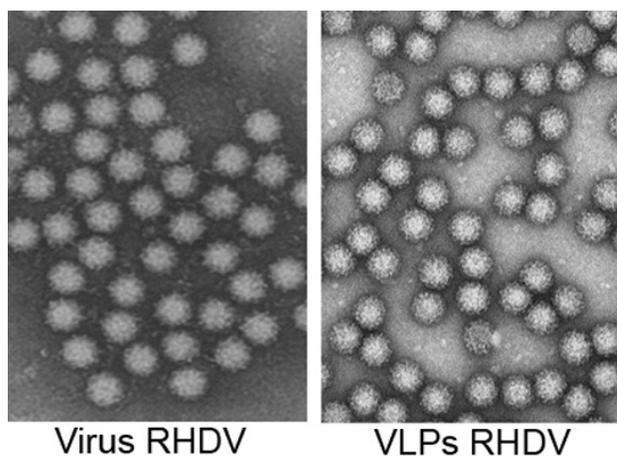


Figura 1. Comparación de partículas virales y VLPs del virus de la enfermedad hemorrágica del conejo (RHDV). En el panel de la izquierda se muestran partículas del virus RHDV, vistas al microscopio electrónico. En el panel de la derecha se muestran VLPs del mismo virus, obtenidas mediante la expresión de la proteína de la cápsida del virus en el sistema de expresión basado en baculovirus.

presión de proteínas recombinantes, como el basado en el empleo de baculovirus (virus que infectan ciertos tipos de células de insectos), obteniendo al final del proceso unas partículas (VLPs) muy semejantes a virus, pero que no son infectivas.

Así pues, las vacunas basadas en VLPs combinan importantes ventajas de las vacunas convencionales, que implican la administración de virus completos, atenuados o inactivados, y de las vacunas de subunidad, basadas en la administración de proteínas recombinantes o péptidos solubles. Las VLPs mimetizan la estructura general de las partículas virales, por lo que son muy inmunogénicas, pero no contienen material genético infeccioso del patógeno viral del que proceden (ADN o ARN), excluyendo así cualquier riesgo de reversión a virulencia (ver revisiones recientes en [5-7]). En términos prácticos, el hecho de que las VLPs mimeticen la estructura de los viriones implica que, por lo general, dosis considerablemente menores de antígeno (en comparación con el mismo antígeno suministrado en forma de proteína recombinante

soluble) son suficientes para inducir una respuesta inmune protectora. Una ventaja adicional, muy importante en el campo veterinario, es que las vacunas basadas en VLPs, al igual que ocurre en general con las vacunas de subunidad, no inducen respuesta inmune frente a proteínas no estructurales (proteínas del virus que no están presentes en las partículas virales pero sí se encuentran en las células infectadas, realizando funciones necesarias para el ciclo viral), puesto que dichas proteínas no forman parte de la formulación de la vacuna. Por el contrario, las vacunas convencionales (especialmente las vacunas atenuadas o de “virus vivo”) suelen inducir una respuesta inmune frente a todas las proteínas del virus, similar a la que induce la propia infección por el virus patógeno que circula en el campo. Por este motivo, el empleo de vacunas basadas en VLPs (y en general de vacunas de subunidad) es compatible con la diferenciación entre animales vacunados y animales infectados con el virus patógeno, mediante el empleo de ensayos de detección de serología positiva a las proteínas no estructurales. De este modo,

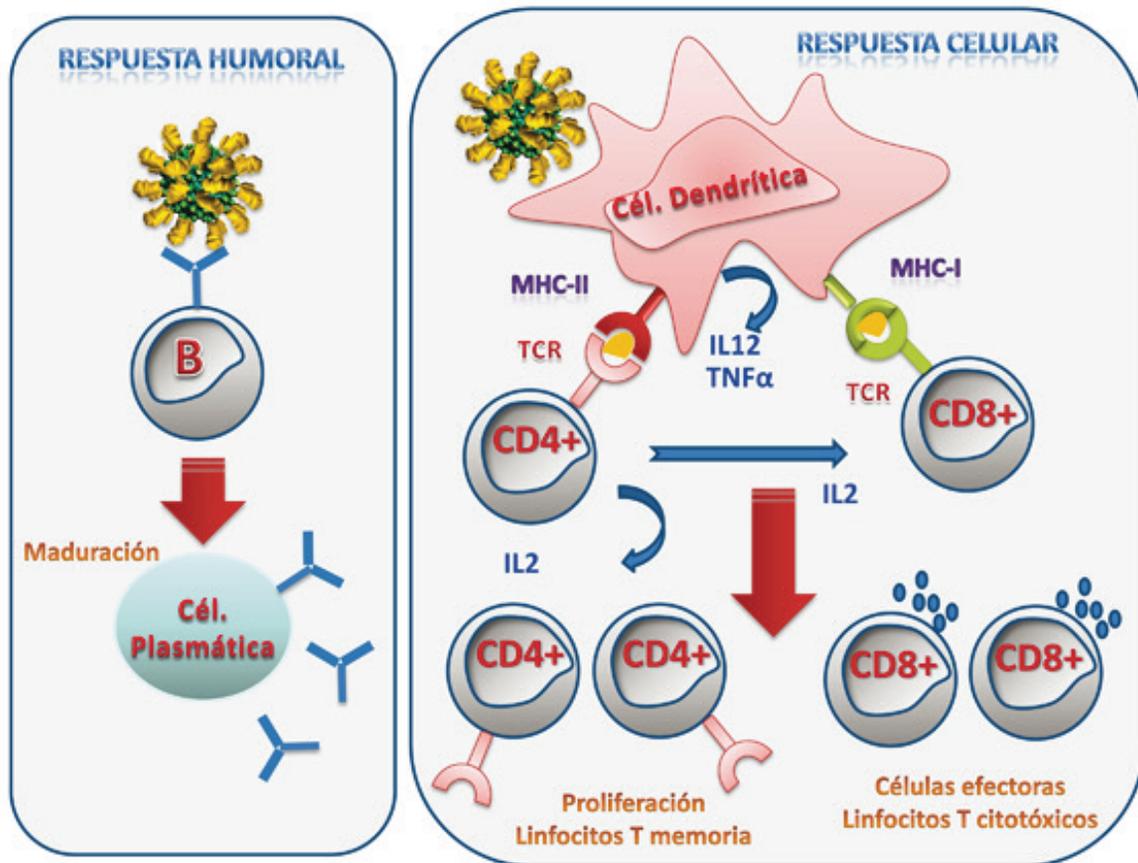


Figura 2. Esquema de la respuesta inmune inducida por las VLPs. La figura muestra cómo las VLPs son capaces de inducir las dos ramas de la respuesta inmune específica: la respuesta humoral o producción de anticuerpos en sangre (izquierda), y la respuesta celular, orientada a la eliminación de las células infectadas (derecha).

se puede vacunar a los animales, protegiéndolos de la enfermedad, y simultáneamente se puede llevar un control de la presencia del virus patógeno en campo. Así, tanto los animales vacunados como los infectados por el virus presentarán altos títulos de anticuerpos frente a las proteínas estructurales que componen la partícula viral. Sin embargo, si el animal es positivo frente a proteínas no estructurales, esto supone que ha sido infectado en alguna ocasión por el virus patógeno (y por lo tanto el virus está circulando en esa región y se deben implementar las medidas de control), mientras que si el animal es negativo quiere decir que no ha entrado en contacto con el virus. Esta discriminación generalmente no es posible con las vacunas convencionales y constituye una de las principales razones que ha llevado a la limitación de su uso.

Además de su capacidad contrastada para inducir una potente respuesta inmune mediada por células B, es decir, la inducción de anticuerpos específicos frente a los patógenos, las VLPs han demostrado ser eficaces también en la inducción de otras ramas de la respuesta inmune, que hoy se sabe son fundamentales para el desarrollo de una respuesta inmune protectora y duradera, el fin último de cualquier vacuna. Así, se ha demostrado que las VLPs son capaces de inducir la proliferación de linfocitos CD4⁺ (responsables de la llamada respuesta *T helper*), los linfocitos CD8⁺ (responsables de la respuesta T citotóxica, que elimina las células infectadas), así como la activación de células presentadoras de antígeno, tales como células dendríticas y macrófagos (Figura 2). Estas características de las vacunas basadas en VLPs, que raramente se encuentran en otro tipo de vacunas de subunidad, aportan probablemente una contribución destacada a su efectividad. Por otro lado, resulta cada vez más evidente que el empleo de pautas de vacunación mixtas (estrategias de *prime-boost* que combinan distintas formas de presentación de los inmunógenos, por ejemplo, inmunización con ADN seguida de inmunización con proteína recombinante) puede ser determinante para la efectividad de las nuevas estrategias de vacunación. Así pues, la incorporación del abordaje basado en VLPs a la panoplia de estrategias vacunales frente a una enfermedad amplía el espectro de pautas de vacunación que se pueden emplear y, consecuentemente, las probabilidades de éxito.

Hasta la fecha se han producido VLPs a partir de proteínas procedentes de más de 30 virus diferentes que infectan a humanos u otros animales. También se han obtenido VLPs a partir de diversos virus de plantas. Entre los virus que pueden dar lugar a la formación de VLPs

hay una importante diversidad estructural: virus cuya cápsida está compuesta por una única proteína viral, virus con cápsidas compuestas por varias proteínas, virus con envuelta lipídica (membrana) o sin ella. Esto sugiere que en principio la estructura de un virus no debe ser un factor limitante para el éxito en la obtención de VLPs. Por otro lado, no todas las VLPs son adecuadas para el desarrollo de vacunas frente al virus del que proceden. En ciertos casos las proteínas estructurales capaces de autoensamblarse en VLPs no son las proteínas que forman la cápsida viral (la envoltura externa de los virus que está expuesta al reconocimiento por el sistema inmune), sino que derivan de proteínas que se encuentran en el interior de las partículas virales, como es el caso de las llamadas nucleoproteínas. Ejemplos de dichas VLPs serían las formadas por la proteína gag de los retrovirus (familia que incluye al virus del SIDA). Esta proteína se encuentra en el interior de las partículas virales, de modo que los anticuerpos inducidos por VLPs formadas por el autoensamblaje de estas proteínas no reconocen a las proteínas que se encuentran en la superficie de los virus de las que proceden y, por tanto, no tienen capacidad neutralizante ni suelen tener valor protectoro. Muchos de estos sistemas de VLPs se han desarrollado más bien por su interés para el estudio del proceso de morfogénesis viral, o por su posible valor como reactivos de diagnóstico, para la detección de serología positiva frente a los virus de los que proceden.

De mayor interés de cara al desarrollo de vacunas son las VLPs derivadas de proteínas virales expuestas hacia la superficie en los viriones, especialmente cuando dichas proteínas son capaces de inducir anticuerpos neutralizantes. Ejemplos de estas VLPs incluyen: las derivadas del antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HbsAg), el virus del papiloma, virus de la hepatitis C, el virus del SIDA (la proteína gp120), rotavirus, parvovirus y calicivirus. Muchas de estas VLPs inducen anticuerpos neutralizantes y una inmunidad protectora en modelos animales. En la actualidad existen vacunas basadas en VLPs en varias fases de desarrollo, que abarcan desde las evaluaciones preclínicas hasta el mercado. Ya se encuentran disponibles comercialmente vacunas frente a la hepatitis B (Recombi-vax® y Engerix®) y el papilomavirus humano (Gardasil® and Cervarix™) [8]. En el campo veterinario se han obtenido resultados prometedores con VLPs derivadas del virus de la lengua azul, virus de la enfermedad hemorrágica del conejo, rotavirus y parvovirus entre otros [9].

GEN PROTEÍNA CAPSIDA

Antígeno

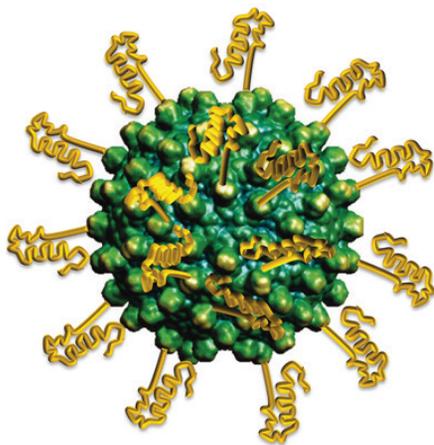


Figura 3. VLPs quiméricas. Para generar VLPs quiméricas, el ADN que codifica la secuencia antigénica a insertar se clona dentro de la secuencia del gen de la proteína que forma las VLPs. Así, cuando se expresa el gen quimérico resultante, se obtienen unas VLPs modificadas, que incorporan la secuencia antigénica foránea a una alta densidad.

VLPS COMO VECTORES VACUNALES PARA LA PRESENTACIÓN DE EPÍTOPOS B Y/O T

A la vista de las excepcionales características de las VLPs como inmunógenos, pronto surgió la idea de emplearlas como vectores vacunales para la inducción de respuesta inmune frente a antígenos foráneos, es decir, el empleo de las VLPs como “vehículo” para exponer al sistema inmune antígenos insertados, derivados de otros patógenos distintos al virus del que proceden las proteínas que componen las VLPs. Esta estrategia ha permitido trasladar a muy diversos antígenos las ventajas inherentes a las VLPs (naturaleza particulada, presentación multimérica y altamente estructurada, etc.), exponiéndolos al sistema inmune en un contexto particularmente adecuado para la inducción de una potente respuesta protectora.

Los resultados obtenidos en los últimos años empleando VLPs quiméricas (VLPs formadas por proteínas virales que contienen epítopos foráneos insertados) (Figura 3) derivadas de diversos sistemas: hepatitis B, papilomavirus y parvovirus entre otros, han demostrado la utilidad de este abordaje para inducir una respuesta inmune (inmunidad sistémica y/o en mucosas en función de la ruta de administración) frente a los epítopos B y T insertados [8]. La eficacia de las VLPs en la inducción de una po-

tente respuesta humoral frente a epítopos foráneos queda ilustrada por el hecho de que se han empleado con éxito para la obtención de anticuerpos autoinmunes, es decir, anticuerpos que reconocen antígenos derivados del propio organismo, que son muy difíciles de obtener puesto que su generación conlleva sortear el mecanismo de tolerancia de las células B hacia los antígenos propios (desarrollado por el sistema inmune precisamente para no dañar a las células del propio organismo). Esto abre la vía para el empleo de las VLPs no sólo como vectores para la presentación de epítopos inmunogénicos derivados de patógenos infecciosos microbianos (vacunas profilácticas), sino también como presentadoras de antígenos propios (vacunas terapéuticas), en aplicaciones dirigidas al tratamiento de enfermedades crónicas (Alzheimer, artritis), tumores, alergia o adicción al tabaco [8].

VLPS QUIMÉRICAS Y VLPS CONJUGADAS

Básicamente existen dos abordajes para incorporar antígenos foráneos a las VLPs: la inserción por fusión genética de epítopos en las proteínas virales que dan lugar a las VLPs (VLPs quiméricas) (Figura 3), o bien la conjugación química de antígenos a la superficie de VLPs previamente formadas, por uniones de tipo covalente o no covalente (VLPs conjugadas) (Figura 4).

El desarrollo de VLPs quiméricas como candidatos vacunales se viene explorando desde mediados de los años 80. Los avances en las técnicas de manipulación del ADN recombinante, combinados con el conocimiento detallado de estructuras virales emanados de los estudios de cristalografía y criomicroscopía electrónica, han permitido el diseño de centenares de VLPs quiméricas. VLPs derivadas de 14 familias virales distintas, incluyendo virus ADN o ARN de cadena simple y de doble cadena, se han empleado con éxito para la producción de VLPs quiméricas. Numerosos sistemas de VLPs diseñados para presentar epítopos B o T foráneos han sido evaluados en ensayos preclínicos y tres de estos desarrollos están actualmente en fase de estudios clínicos.

Para generar VLPs quiméricas, el ADN que codifica la secuencia del epítipo a insertar se clona dentro de la secuencia del gen de la proteína que se autoensambla para formar las VLPs (Figura 2). De este modo, cuando se expresa el gen quimérico resultante en el sistema de expresión de proteínas recombinantes correspondiente, se obtienen unas VLPs modificadas que incorporan el epítipo foráneo a una alta densidad, normalmente una

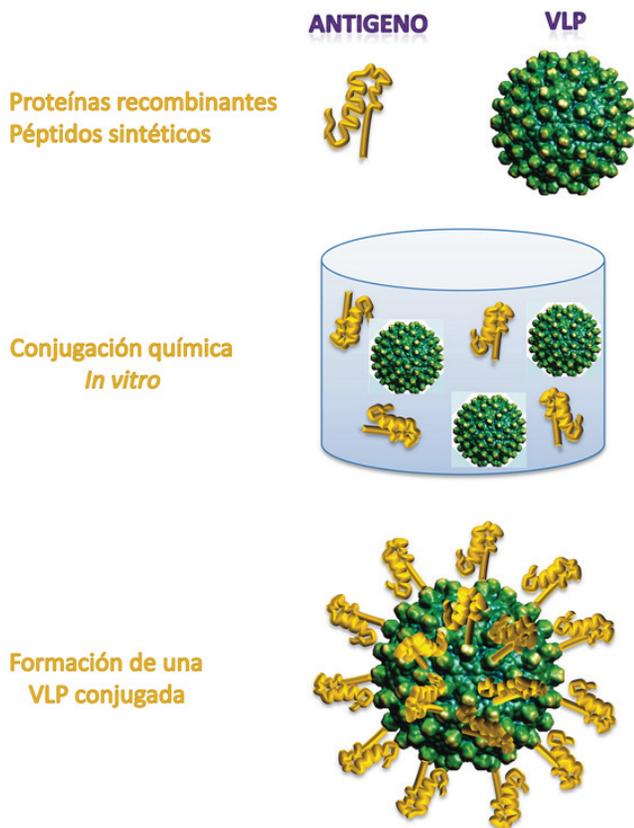


Figura 4. VLPs conjugadas. En esta aproximación, las VLPs y los antígenos de interés se sintetizan separadamente y posteriormente se conjugan *in vitro*, uniendo mediante un enlace covalente (o una unión de tipo no covalente) el antígeno a la superficie de VLPs previamente formadas.

copia por cada uno de los monómeros que conforman las VLPs. Así, una VLP formada por 180 copias de una proteína de la cápsida viral, como las derivadas de los calicivirus, presentará 180 copias del epítipo insertado, en una partícula de apenas 36 nm de diámetro.

Las VLPs quiméricas pueden inducir altos títulos de anticuerpos frente al epítipo insertado si éste se expone de forma eficiente al sistema inmune. Por tanto, una de las claves en la generación de VLPs quiméricas es la selección de sitios adecuados para la inserción de los epítipos foráneos dentro de la estructura de las proteínas virales que forman las VLPs. Idealmente, los sitios de inserción deben localizarse en zonas que queden hacia la superficie de las VLPs (para que queden así accesibles a la interacción con los anticuerpos) y, además, en lugares donde la inserción de una secuencia peptídica extraña no interfiera con el plegamiento normal de la proteína y, por ende, con su capacidad para autoensamblarse formando VLPs. En general, la inserción de epítipos en los extremos N- o C-terminales de las proteínas virales suele

plantear menos problemas de ensamblaje que las inserciones en localizaciones internas de la proteína, pero, en estos casos, la respuesta inmune inducida puede ser limitada si el epítipo no queda al final adecuadamente expuesto en la superficie de las VLPs. Por este motivo, es muy conveniente contar con un conocimiento previo detallado de la estructura de las proteínas virales que se pretende modificar para seleccionar *a priori* sitios de inserción potencialmente adecuados (normalmente bucles expuestos de la proteína). Sin embargo, hoy por hoy, la generación de VLP quiméricas es un proceso en buena medida empírico, ya que no es posible predecir con total seguridad si un epítipo concreto podrá incorporarse en determinado sitio de inserción sin interferir con la formación de VLPs o si la VLP quimérica resultante inducirá una respuesta inmune eficiente frente a dicho epítipo foráneo. Por lo tanto, suele ser necesario ensayar un cierto número de sitios de inserción alternativos y evaluar la respuesta inmune inducida por las construcciones correspondientes para seleccionar la más adecuada. Otra limitación a tener en cuenta a la hora de aplicar este abordaje es una cierta restricción del tamaño del inserto que se puede incorporar. Con frecuencia la inserción de epítipos mayores de 15-20 aminoácidos interfiere con la formación de las VLPs, lo que limita el número de epítipos que pueden incorporarse en una determinada construcción, aunque se han obtenido VLPs quiméricas con inserciones de gran tamaño, por ejemplo los 238 aminoácidos de la proteína autofluorescente GFP, lo que pone de manifiesto una notable variabilidad de versatilidad entre unos sistemas y otros de VLPs.

La incorporación de epítipos a VLPs mediante conjugación química resulta un abordaje en principio más flexible (Figura 3). En esta aproximación, las VLPs y los antígenos de interés se sintetizan separadamente y posteriormente se conjugan *in vitro*, uniendo mediante un enlace covalente (o una unión de tipo no covalente) el antígeno a la superficie de VLPs previamente formadas. Una ventaja de esta aproximación es que el tamaño y la estructura del antígeno recombinante no se ven constreñidos por las exigencias del plegamiento correcto de los monómeros constituyentes de las VLPs ni los requerimientos del autoensamblaje de las partículas. Numerosos ejemplos en la literatura avalan la utilidad y versatilidad de este abordaje modular, habiéndose descrito más de medio centenar de conjugados de VLPs con polipéptidos antigénicos, que inducen altos niveles de anticuerpos frente a los respectivos antígenos, algunos de los cuales

incorporan dominios funcionales o proteínas completas con tamaños comprendidos entre 6,6-63 kDa [10].

Otra ventaja de este abordaje modular es que puede emplearse para incorporar a la superficie de las VLPs no solamente péptidos o proteínas completas, sino una gran diversidad de sustancias químicas como glicanos o haptenos (pequeñas moléculas capaces de inducir anticuerpos cuando se conjugan a proteínas "portadoras"). Así por ejemplo, se encuentra en fase de desarrollo una vacuna antitabaco basada en VLPs conjugadas a nicotina, que en ensayos clínicos de Fase I ha demostrado ser bien tolerada e inducir elevados títulos de anticuerpos anti-nicotina en los sujetos inmunizados.

La unión covalente entre la VLP y el antígeno se consigue mediante el empleo de compuestos químicos heterobifuncionales, como el sulfo-MBS, que contienen dos grupos reactivos distintos, uno que reacciona con la VLP (con aminoácidos con carga eléctrica como la lisina, que se encuentren bien expuestos a la superficie) y el otro con el antígeno que se pretende acoplar. Para incorporar antígenos mediante uniones no covalentes existen diversas estrategias, una de las más empleadas consiste en la utilización de puentes de biotina/estrep-tavidina.

PUNTOS CLAVE

- Las características inherentes a las VLPs (naturaleza particulada, presentación multimérica y altamente estructurada de epítomos), muy semejantes a las de los virus, las hacen particularmente efectivas en la inducción de una potente respuesta inmune humoral (producción de anticuerpos).
- Las VLPs son capaces de inducir también respuesta inmune celular (proliferación de linfocitos CD4⁺ y CD8⁺), así como de activar las células presentadoras de antígeno (células dendríticas y macrófagos).
- Pueden emplearse como vectores vacunales para la presentación multimérica de epítomos foráneos (vacunas profilácticas), que se incorporan a las VLPs bien mediante fusión genética o por conjugación química.
- Las VLPs pueden emplearse para la presentación de antígenos propios (vacunas terapéuticas) en aplicaciones dirigidas al tratamiento de enferme-

dades crónicas (Alzheimer, artritis), tumores, alergia o adicción al tabaco.

REFERENCIAS

- [1] Plotkin, S.A. Vaccines: past, present and future. *Nat. Med.*, 11(4 Suppl), S5-11 (2005, Apr).
- [2] James, A.D. & Rushton, J. The economics of foot and mouth disease. *Rev. Sci. Tech.*, 21(3), 637-44 (2002, Dec).
- [3] Clark, T.G. & Cassidy-Hanley, D. Recombinant subunit vaccines: potentials and constraints. *Dev. Biol. (Basel)*, 121, 153-63 (2005).
- [4] Rogan, D. & Babiuk, L.A. Novel vaccines from biotechnology. *Rev. Sci. Tech.*, 4(1), 159-74 (2005, Apr).
- [5] Jennings, G.T. & Bachmann, M.F. The coming of age of virus-like particle vaccines. *Biol. Chem.*, 389(5), 521-36 (2008, May).
- [6] Scheerlinck, J.P. & Greenwood, D.L. Virus-sized vaccine delivery systems. *Drug. Discov. Today*, 13(19-20), 882-7 (2008, Oct).
- [7] Plummer, E.M. & Manchester, M. Viral nanoparticles and virus-like particles: platforms for contemporary vaccine design. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.*, 24 (2010, Sep).
- [8] Chackerian, B. Virus-like particles: flexible platforms for vaccine development. *Expert. Rev. Vaccines*, 6(3), 381-90 (2007, Jun).
- [9] Brun, A., Barcena, J., Blanco, E., Borrego, B., Dory, D., Escribano, J.M., *et al.* Current strategies for subunit and genetic viral veterinary vaccine development. *Virus Res.*, 157(1), 1-12 (2011, Apr).
- [10] Bachmann, M.F. & Jennings, G.T. *Virus-Like Particles: Combining Innate and Adaptive Immunity for Effective Vaccination. Novel Vaccination Strategies: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, 415-32 (2004).

Esther Blanco Lavilla y Juan Bárcena del Riego
*Investigadores titulares del Centro de Investigación en
Sanidad Animal (CISA)
Instituto Nacional de Investigación Agraria
y Alimentaria (INIA)*