

Vacunas contra la COVID-19

Alberto J. Villena

Profesor Catedrático de Universidad jubilado del Área de Biología Celular, Departamento de Biología Molecular, Universidad de León

Alberto.Villena@unileon.es

Resumen

La pandemia de la COVID-19, causada por el betacoronavirus SARS-CoV-2, ha tenido una importante incidencia sanitaria y socioeconómica, que solo la vacunación masiva ha tenido la capacidad de mitigar. En esta revisión se abordan aspectos fundamentales de la virología del SARS-CoV-2 en relación con las bases inmunológicas de las vacunas antivirales y de las principales tecnologías vacunales de las vacunas contra la COVID-19, con especial atención a las que utilizan las “nuevas tecnologías” vacunales, derivadas de los avances biotecnológicos. Se describen en detalle algunos ejemplos de las vacunas contra la COVID-19 autorizadas por la Organización Mundial de la Salud y las agencias del medicamento de diversos países. Finalmente, se analizan los impactos sanitarios, científicos y sociales que han tenido el desarrollo de estas vacunas.

Palabras clave

Anticuerpos vacunales, inmunología, SARS-CoV-2, vacunología

Introducción

En diciembre de 2019 se detectó en Wuhan (China) un brote de una enfermedad infecciosa caracterizada por el desarrollo de un síndrome respiratorio agudo (SARS, *severe acute respiratory syndrome*), letal en los casos más graves. Como agente causal de este brote se identificó un nuevo tipo de betacoronavirus (Zhu *et al.*, 2020a), inicialmente llamado 2019-nCoV. Más tarde, este patógeno fue designado como SARS-CoV-2 y la enfermedad producida por la infección se denominó COVID-19 (*Coronavirus disease-19*) (*Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses*, 2020).

Los betacoronavirus del subgénero *Sarbecovirus* (familia *Coronaviridae*, género *Betacoronavirus*), como el SARS-CoV-2 y los causantes del SARS (SARS-CoV o SARS-CoV-1) y del síndrome respiratorio de Medio Oriente (MERS-CoV) en humanos, son agentes zoonóticos que pertenecen al grupo de los virus ARN, cuyo genoma está constituido por un ARN monocatenario de polaridad positiva. Una descripción detallada del descubrimiento, taxonomía, estructura general e impacto de los coronavirus en la salud humana y animal se puede consultar en la reciente revisión sobre coronavirus de Rubio y Carvajal (2020), publicada en esta revista.

La **Figura 1** muestra un esquema de la estructura del SARS-CoV-2 y de sus principales componentes, particularmente la de las espículas que caracterizan a los coronavirus y la organización de la proteína S que las forman.

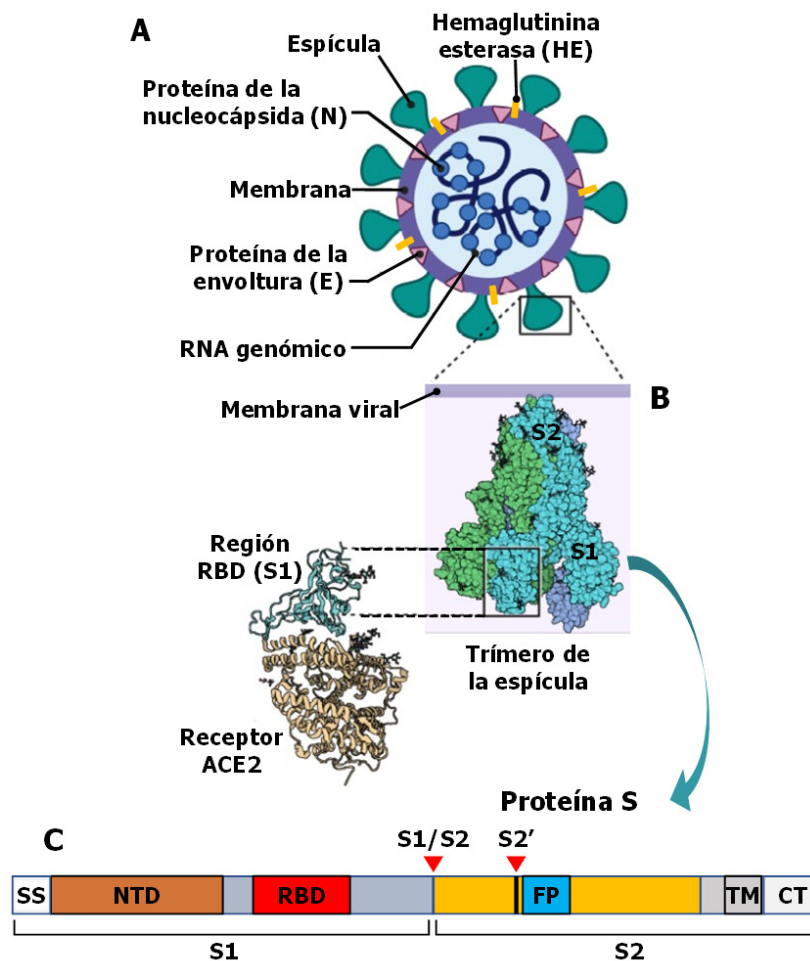


Figura 1. **A)** Estructura general del SAR-CoV-2 y detalle del trímero de proteínas S que forma una espícula y de la interacción entre la región RBD de la proteína S (del dominio S1) con el receptor ACE-2. **B)** Detalle del trímero de proteínas S que forman cada una de las espículas y de la interacción entre la región RBD del dominio S1 con el receptor celular ACE-2. El dominio S2 contiene la región de anclaje de la proteína S a la membrana viral. **C)** Regiones principales de la proteína S (Berger y Schaffitzel, 2020): S1 y S2 son los dominios principales de la proteína; SS: secuencia señal; NTD: dominio amino-terminal; RBD: dominio de unión al receptor; FP: péptido fusión; TM: región de transmembrana; CT: dominio carboxilo terminal. Las cabezas de flecha muestran los puntos de proteólisis por la furina entre S1 y S2 y el punto de corte S2'. Imágenes A y B modificadas de Rohan Bir Singh, MD, CC BY 4. (https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/57/Struktura_SARS-CoV_2.jpg).

Durante la infección (**Fig. 2**), el ARN genómico de estos coronavirus actúa como ARN mensajero (ARNm) para ciertas proteínas víricas, particularmente enzimas ARN polimerasas dependientes de ARN para la replicación del ARN genómico y la producción de ARNs subgenómicos. Estos últimos se transcriben en mARNs que darán lugar a las proteínas estructurales (de la membrana, las

espículas y las nucleoproteínas) y otras proteínas accesorias, incluyendo algunas que inhiben la síntesis de proteínas propias de la célula huésped y sus mecanismos antivirales.

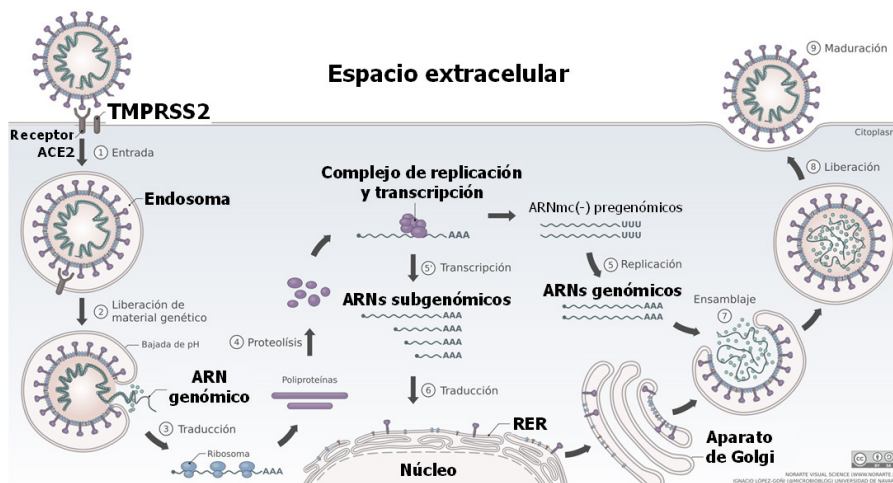


Figura 2. Ciclo reproductivo del SARS-CoV-2. Tras la unión entre la región RBD del dominio S1 de las espículas del virión y el receptor ACE-2 celular, con intervención de proteasas celulares transmembrana (TMPRSS2), el virus es internalizado. La fusión entre la membrana viral y la del endosoma libera la nucleocápsida al citosol, donde se replica el ARN genómico y se transcriben los ARNs subgenómicos. Estos son traducidos y darán lugar a las distintas proteínas de los viriones en el retículo endoplasmático rugoso. Los viriones se ensamblan en vesículas del aparato de Golgi, que acaban por fusionarse con la membrana plasmática liberándolos al espacio extracelular. Imagen de Vega Asensio y Ignacio López-Goñi, CC BY-SA 4.0 (https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/ca/SARS-CoV-2_ciclo.svg).

La temprana publicación de la secuencia del genoma del SARS-CoV-2 aislado originalmente en Wuhan (Wu *et al.*, 2020, GenBank MN908947), actualmente denominado linaje A, permitió a numerosos investigadores del campo de la vacunología iniciar y completar el desarrollo, en un tiempo increíblemente corto, de vacunas contra la COVID-19 que utilizan “nuevas tecnologías” biotecnológicas, como las de ARNm y de vectores virales que portan ADN recombinante.

El objetivo de esta revisión es proporcionar una visión general del estado actual de las vacunas en uso contra la COVID-19, con particular énfasis en las desarrolladas a partir de las nuevas tecnologías proporcionadas por la Biotecnología, comenzando por un repaso de los fundamentos inmunológicos de estas vacunas, y resaltar algunos de los aspectos de mayor impacto sanitario, científico y social de la vacunación contra la COVID-19.

Estado actual de las vacunas contra la COVID-19

Una visión general y muy simplificada de las diversas tecnologías utilizadas para el desarrollo de las vacunas contra la COVID-19, así como de otras muchas, puede consultarse en la publicación de Callaway (2020) y se resume en la **Figura 3**.

En octubre de 2021, en países occidentales y desarrollados (Unión Europea, de la Europa Occidental, América del Norte, Israel, Japón, Corea del Sur...), se están utilizando preferentemente cuatro vacunas: dos de ellas de ARNm y otras dos de adenovirus recombinantes como vector, todas las cuales fueron aprobadas para su uso, en condiciones de emergencia sanitaria, por las respectivas agencias del medicamento (agencias europea (EMA) o estadounidense (FDA) del medicamento) y la Organización Mundial para la Salud (OMS / WHO). Solo una, la vacuna de ARNm de Pfizer – BioNTech (Comirnaty), había recibido la aprobación completa por la FDA.

Pero, de forma continua, se están sumando nuevas vacunas, que son aprobadas por la OMS o las respectivas agencias nacionales, y hay muchas más en desarrollo y en testeo a través de las diferentes fases de los ensayos clínicos, que utilizan diferentes tecnologías vacunales. Un seguimiento actualizado de las mismas se puede consultar en el listado que mantiene la OMS (página web *WHO COVID-19 Vaccine Tracker and Landscape*) o en el resumen que realiza la web *COVID19 vaccine tracker*.

Aspectos básicos del funcionamiento de las vacunas

En este apartado describiremos, brevemente, los principales fundamentos inmunológicos de las vacunas, particularmente de las antivirales, incluyendo mecanismos de inmunidad adquirida (antígeno-específica) e innata.

Antígenos vacunales del SARS-CoV-2

Para desarrollar cualquier vacuna, el primer paso consiste en identificar el componente o los componentes del patógeno, es decir el antígeno (o antígenos) vacunal(es), que se incluirá(n) en ella y contra los cuales la vacunación inducirá una respuesta inmunitaria adaptativa (antígeno-específica), que proteja de la infección o, al menos, de la enfermedad causada por ella.

Hay dos requisitos fundamentales que los antígenos vacunales deben reunir: i) que sean reconocidos por el sistema inmunitario; ii) que los mecanismos inmunitarios (humorales o celulares) desplegados tras la estimulación antigénica neutralicen la capacidad infecciosa del patógeno. En el caso de los virus es, inicialmente, fácil identificarlos, porque la infectividad de estos agentes infecciosos, patógenos intracelulares obligados y generalmente específicos de un rango de tipos celulares característicos, depende de un sistema de reconocimiento “ligando viral – receptor celular” (Maginnis, 2018).

El ligando viral es una proteína superficial, más o menos compleja, que les permite reconocer y unirse al receptor de las células diana que lo expresan en su superficie celular. Por ello, las vacunas antivirales más eficaces, neutralizantes de la infección, suelen inducir la producción de anticuerpos contra la proteína que

forma el ligando viral: estos anticuerpos bloquean el proceso de reconocimiento y unión ligando – receptor.

Tipos de vacunas contra la Covid-19			
	Tipos	Componentes	Ejemplos
Nuevas tecnologías	De ARN	ARNm codificante de la proteína S SARS-CoV-2	<ul style="list-style-type: none"> • Spikevax (Moderna) • Comirnaty (Pfizer-BioN.)
	De ADN	Plásmidos ADN codificantes de la proteína S SARS-CoV-2	<ul style="list-style-type: none"> • ZyCoV-D (Zydus Cadila) • INO-4800* (Inovio)
	Vector viral no replicativo	Virus recombinantes no replicativos que contienen el gen de la proteína S SARS-CoV-2	<ul style="list-style-type: none"> • Vaxzevria / AZD1222 (Oxford - AstraZeneca) • Ad26.COV2.S (Janssen) • Sputnik V (Gamaleya)
	Vector viral replicativo	Virus recombinantes replicativos que contienen el gen de la proteína S SARS-CoV-2	<ul style="list-style-type: none"> • Brilife* (IIBR) • DelNS1-2019-nCoV-RBD-OPT* (Beijing Wantai Biol.)
	Subunidades proteicas	Proteína S SARS-CoV-2 o péptidos recombinantes de la región RBD de la proteína S	<ul style="list-style-type: none"> • RBD-Dimer, Zifivax (Anhui Zhifei Longcom) • NVX-CoV2373 (Novavax) • Vidprevtyn* (Sanofi)
	Partículas semejantes a virus (VLP)	Proteína S SARS-CoV-2 o péptidos recombinantes de RBD en estructuras de capsómeros virales	<ul style="list-style-type: none"> • CoVLP* (Medicago - GlaxoSmithKline) • VBI-2902a* (VBI Vaccines Inc.)
Clásicas	Inactivada	Viriones SARS-CoV-2 inactivados	<ul style="list-style-type: none"> • BBIBP-CorV (Sinopharm) • CoronaVac (Sinovac)
	Atenuada	Viriones SARS-CoV-2 atenuados	<ul style="list-style-type: none"> • COVI-VAC* (Codagenix Inc)

Figura 3. Tecnologías de las vacunas contra la COVID-19, sus componentes y algunos ejemplos de las mismas.

* Vacunas en ensayos clínicos, no aprobadas en ningún país (octubre 2021). Fuentes: *COVID19 vaccine tracker*. © 2021 McGill COVID19 Vaccine Tracker Team y *WHO COVID-19 vaccine tracker and landscape*.

Así, las vacunas contra la COVID-19 de ARNm y las de adenovirus recombinantes utilizan como antígeno vacunal la glucoproteína S, que forma las espículas del coronavirus del SARS-CoV-2. Cada espícula está formada por un trímero de la glucoproteína S (**Fig. 1B**) y cada monómero comprende dos dominios principales (S1 y S2) (**Fig. 1C**) (Berger y Schaffitzel, 2020; Cai *et al.*, 2020). El dominio S1 es responsable de la unión inicial de los viriones a la superficie celular, ya que contiene el (sub)dominio de unión al receptor (*domain binding receptor*, RBD), el cual reconoce y se une al receptor para la enzima convertidora de la angiotensina 2 (ACE-2) en las células diana (**Figs. 1B y C**) (Walls *et al.*, 2020). Por su parte, el dominio S2 ancla la espícula a la envoltura viral y está implicado en la fusión de las membranas del virión y de la célula, lo que induce la internalización del virión (Tang *et al.*, 2020).

Cada espícula contiene tres regiones RBD, cada una de ellas correspondiente a uno de los monómeros S, pero generalmente solo uno o dos están accesibles a la unión con el receptor ACE-2, según las diferentes conformaciones que pueden adoptar las espículas (Berger y Schaffitzel, 2020; Cai *et al.*, 2020).

Una vez que el virión está anclado a la superficie celular, la fusión de las membranas viral y celular, que induce la internalización del virión al citoplasma celular, generalmente por vía endocítica (**Fig. 2**), es dependiente de dos procesos: i) la escisión de la unión entre los dominios S1 y S2, que puede ser realizada por dos enzimas celulares ancladas en la membrana plasmática: la furina, que actúa sobre una región situada en la interfase entre S1 y S2 (**Fig. 1C**), o por la serina proteasa de transmembrana 2 (TMPRSS2), que actúa sobre el punto de proteólisis S2' de la S2 (Bestle *et al.*, 2020); ii) El cambio conformacional de la espícula, resultado del proceso de proteólisis y separación del dominio S1, que permite la exposición del “péptido fusión”, localizado en la región S2', que es fuertemente hidrofóbico y se inserta en la membrana plasmática (Tang *et al.*, 2020).

Como se ve, la infección intracelular por el SARS-CoV-2 no es un proceso sencillo y en él intervienen, además de la unión entre el dominio RBD y el receptor ACE-2, otros mecanismos dependientes de otras regiones de la proteína S, así como cambios conformacionales derivados de procesos de su proteólisis. Por ello, la mayoría de las vacunas aprobadas para su uso incluyen como antígeno vacunal a la proteína S completa y no solo a la región RBD. Esto maximiza la oportunidad de generar una respuesta inmunitaria contra una variedad de regiones de la proteína S (determinantes antigénicos o epítomos, que son reconocidos por un anticuerpo con especificidad dada) de la proteína S.

De esa forma, la respuesta inmunitaria a la vacuna no solo puede bloquear la unión RBD – ACE-2, sino que también puede impedir la fusión entre las membranas viral y celular, al obstaculizar los mecanismos de cambios de conformación de la proteína S y de proteólisis S1/S2 y en S2' y la consecuente exposición del péptido fusión (Cai *et al.*, 2020). En definitiva, se trata de ampliar la variedad de dianas inmunológicas que impidan la entrada de los viriones a las células.

Respuestas inmunológicas a las vacunas antivirales

Las mejores vacunas simulan una infección por el patógeno contra el cual están dirigidas, pero sin necesidad de pasar la enfermedad. Las vacunas eficaces, y que proporcionan una protección duradera, estimulan principalmente los diferentes mecanismos de la inmunidad adaptativa (antígeno específicas), pero también los de la innata, que se inician más tempranamente y que tienen la capacidad de modular el tipo de respuesta adaptativa que se desarrolla posteriormente.

Las vacunas provechan una propiedad de las respuestas inmunitarias adaptativas: la memoria inmunológica. Tras la exposición y respuesta inmunitaria inicial, llamada primaria, a un antígeno dado, una segunda exposición al mismo produce una respuesta inmunitaria secundaria, que se caracteriza por desarrollarse más rápidamente y ser más potente y efectiva.

En el caso de las respuestas inmunitarias adaptativas de producción de los anticuerpos (humorales), las respuestas primarias se caracterizan por un re-

tardo en el inicio de la producción de los anticuerpos séricos, formados por inmunoglobulinas (Igs) de clase M (IgM), y un decaimiento de sus niveles pasados dos o tres semanas (**Fig. 4A**). En las secundarias no hay retraso en el inicio de la respuesta, los anticuerpos están formados por nuevas clases de Igs y las concentraciones que se alcanzan son notablemente más elevadas y se prolongan más en el tiempo (**Fig. 4A**).

En las respuestas inmunológicas adaptativas participan diversas poblaciones de células (linfocitos) -B y -T. Las primeras producen anticuerpos, mientras que las segundas realizan funciones de cooperación (células-T *helper*, Th, CD4⁺) con las células-B (**Fig. 4A**), de citotoxicidad (células-T citotóxicas, Tc, CD8⁺) y de regulación de la respuesta (células-T reguladoras, Treg). Tras la vacunación se genera una respuesta primaria, en la cual algunas células-B y -T “vírgenes” (*naive*), que no habían sido expuestas anteriormente al antígeno, pero que son capaces de reconocerlo, se activarán y darán lugar a poblaciones de células-B y -T efectoras, pero también células-T y -B de memoria específicas contra el antígeno, que participarán en las respuestas secundarias (**Fig. 4A**).

Las poblaciones de células-B y -T de memoria están formadas por un número mayor de las células capaces de responder frente al antígeno y se caracterizan por ser células de vida media muy larga, de meses a años, lo que facilita que la memoria inmunológica al antígeno perdure. Además, las células-B de memoria que se alojan en los centros germinales de los diversos tejidos linfoides, producen anticuerpos formados por nuevas clases de inmunoglobulinas (IgG, IgA, IgE), que tienen mayor afinidad (fuerza de unión) y reconocen más epítopos de la proteína antígeno (Bettini y Locci, 2021). El resultado es la producción de anticuerpos más eficaces para bloquear la infección y que están formados por inmunoglobulinas adaptadas a diferentes compartimentos del organismo como, por ejemplo, IgAs que participan en las respuestas inmunitarias mucosas (**Fig. 4B**).

Por tanto, tras la vacunación, si se produce la infección con el patógeno la respuesta secundaria contra sus antígenos será más rápida y potente, lo que facilitará la neutralización de la infección. En el caso de las vacunas cuyo protocolo de administración incluye más de una dosis, la segunda dosis y, si es el caso, las posteriores (de refuerzo o *boosters*), inducen nuevas respuestas secundarias, reforzando y prolongando en el tiempo las defensas contra la infección.

Las vacunas que pueden proporcionar la llamada “inmunidad esterilizante” contra la COVID-19 son las que puedan inducir una protección inmunológica de las mucosas que recubren las diversas regiones del aparato respiratorio, ya que estas son la puerta de entrada del SARS-CoV-2. La defensa inmunológica de las mucosas, constituidas por el conjunto de epitelio de revestimiento y el tejido conjuntivo subyacente (conocido como lámina propia) (**Fig. 4B**), depende de los tejidos linfoides mucosos (MALT, *mucous associated lymphoid tissues*) localizados en la mucosa, así como los ganglios linfáticos regionales (Chavda *et al.*, 2021). Las células, los anticuerpos (específicamente, IgA) y otros factores antimicrobianos innatos se distribuyen en el tejido conjuntivo, en el epitelio y en el mucus que recubre su superficie (**Fig. 4B**).

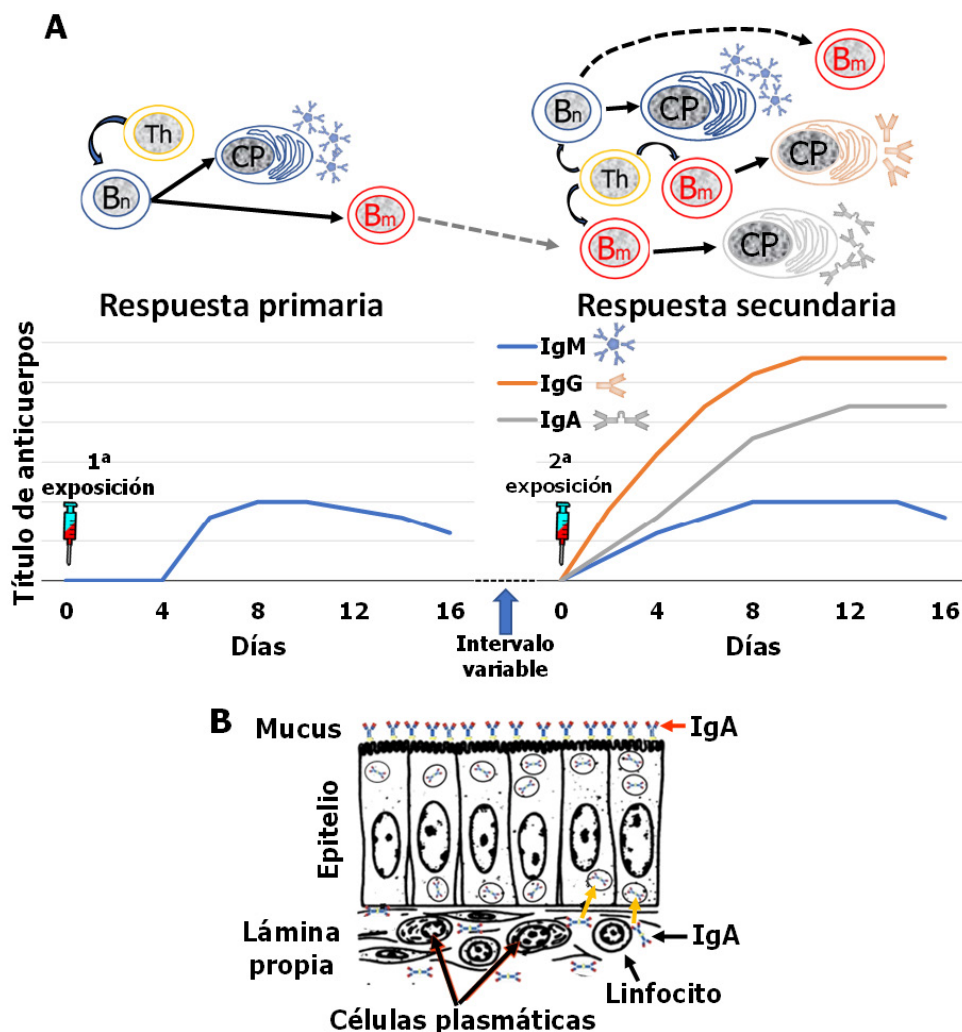


Figura 4. A. Cinética y características de la producción de anticuerpos en las respuestas inmunitarias adaptativas primaria y secundaria a un antígeno. En las respuestas primarias, tras el reconocimiento del antígeno, las células-B vírgenes (*naive*, B_n), asistidas por células-T *helper* (Th), se diferencian en células plasmáticas (CP), productoras de anticuerpos de la clase M (IgM), y de células-B de memoria (B_m). En la respuesta secundaria, las células-B de memoria se diferencian hacia nuevas células plasmáticas que producen nuevos anticuerpos de las clases IgG y IgA. También se generan nuevas células-B de memoria, que pueden activarse tras nuevas exposiciones al antígeno. **B.** Esquema de la inmunidad mucosa, caracterizada por la participación de tejidos linfoides localizados en la lámina propia (tejido conjuntivo) que soporta al epitelio, la síntesis de anticuerpos de la clase de IgA y su transporte transepitelial al mucus que recubre el polo apical expuesto al medio externo.

La eficacia de las vacunas depende, en gran medida, de su capacidad para inducir respuestas inmunitarias de producción de anticuerpos y citotóxicas, es necesario que induzcan la activación antigénica de poblaciones de células-B y

células-T (-Th y -Tc). En el caso de las células-T esto requiere, generalmente, un proceso inicial de captura de la proteína antígeno, su proteólisis para dar lugar a péptidos y la presentación de estos a las células-T por parte de células presentadoras de antígenos (APC, *antigen presenting cells*), como las células dendríticas. Estas expresan en su membrana plasmática proteínas del Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHC, *Major Histocompatibility Complex*) de las clases I (MHC-I) y II (MHC-II) (Rock *et al.*, 2016). Es un proceso complejo, resumido para una vacuna de ARNm en la **Figura 5**.

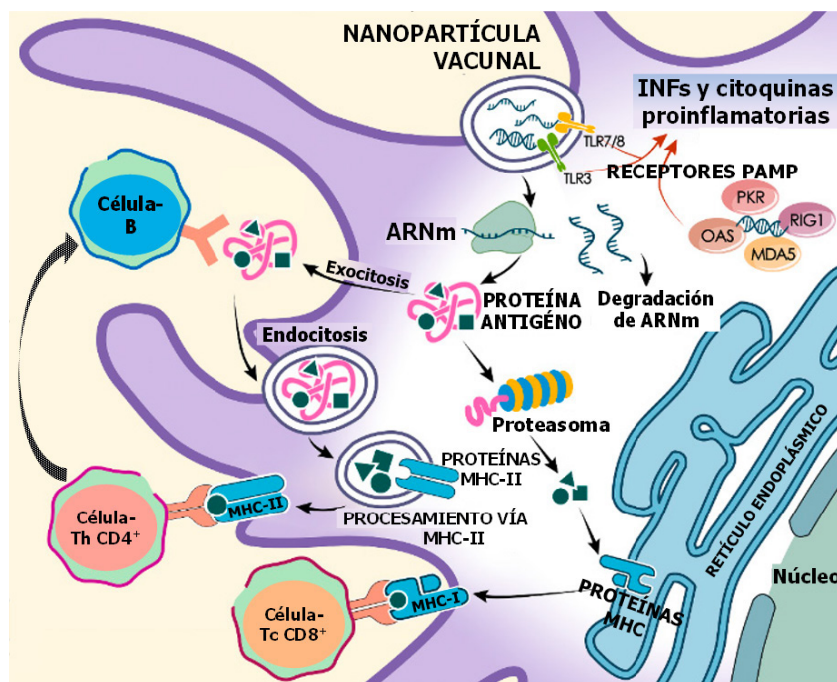


Figura 5. Procesamiento celular típico de un antígeno en una célula dendrítica (APC profesional) en el caso para una nanopartícula de una vacuna de ARNm. La proteína antígeno se forma a partir de la traducción del ARNm de la vacuna. La presentación antigénica de los epítomos de la proteína antígeno a las células-T sucede en forma de complejos péptido–MHC-I y –MHC-II en la superficie de la célula dendrítica. Las células-B pueden reconocer directamente epítomos de la proteína antigénica, pero requieren de la colaboración con las células-Th. También se muestran receptores de PAMPs intracelulares (TLR3, TLR7, TLR8 y tipo RIG-I) para ácidos nucleicos de origen exógeno (en este caso, ARNs mono- y bicatenarios de la vacuna), que inducen la activación de la inmunidad innata (imagen modificada de Shuqin Xu, Kunpeng Yang, Rose Li, y Lu Zhang, CC BY 4.0 (<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/od/Ijms-21-06582-g002.webp>)).

Las proteínas MHC-I y MHC-II se unen a péptidos derivados de la proteólisis intracelular de la proteína antígeno, en el citosol en el caso de las MHC-I y en vesículas, derivadas de la captura por endocitosis de productos extracelulares, para las MHC-II. Los complejos “péptido–proteína MHC-I” o “péptido–proteína MHC-II”

son transportados a la superficie celular, donde son presentados a las células-T (**Fig. 5**): las células-Th CD4⁺ reconocen los complejos “péptido – MHC-II”, mientras que las células-Tc CD8⁺ reconocen los complejos “péptido – MHC-I”.

En el caso de la activación de la respuesta de citotoxicidad específica tras la vacunación, la mayoría de las células humanas pueden expresar complejos péptidos virales - MHC-I en su superficie y, por tanto, cualquier célula que capte y procese el antígeno vacunal podrá presentarlos a las células-Tc, activando así a estas células, cuya función es lisar a las células infectadas.

Por último, un breve comentario sobre los mecanismos que median las respuestas inmunitarias innatas contra las infecciones víricas. Estos mecanismos defensivos, de carácter humoral (factores solubles) y celular (granulocitos, macrófagos, células-NK), tienen una función primordial en la defensa antiviral, aunque no estén dirigidas específicamente contra un virus determinado, pero también en las respuestas a las vacunas.

La inmunidad innata se activa en respuesta a la presencia en el medio interno o en el interior de las células de moléculas características de diversos grupos de patógenos microbianos o parasitarios, tales como lipopolisacáridos, flagelinas bacterianas o ácidos nucleicos víricos, que en su conjunto son conocidos como “patrones moleculares asociados a patógenos” (PAMPs, *pathogen associated molecular patterns*) (Zhu *et al.*, 2012).

Cada tipo de PAMP es reconocido por familias de receptores específicos, que se localizan en la superficie celular o intracelularmente. Los PAMPs víricos más característicos son los asociados a su genoma, tales como ADNs con GpG no metilados o ARNs mono o bicatenarios de origen viral, que son detectados por una variedad de receptores intracelulares, incluyendo los TLRs (*Toll-like receptors*) 3, 7 y 8, y de la familia de proteínas RLRs (*retinoic acid-inducible gene-I like receptors*), como RIG-I y MDA5 (Carty *et al.*, 2021).

El reconocimiento de ácidos nucleicos virales por esos receptores en el citosol induce la activación de la producción de factores solubles como los interferones (INFs) innatos (INF-I, INF-III) y de interleuquinas (IL) proinflamatorias (IL-1 y IL-18). Los INFs innatos provocan un estado de defensa antiviral en las células infectadas y en las células vecinas y activan otros mecanismos de la inmunidad innata. La producción de IL-1 tiene un efecto proinflamatorio y origina diversas manifestaciones sistémicas, como incremento de la permeabilidad vascular y edema, dolor y fiebre. Por su parte, la producción de IL-18 moviliza y atrae al punto de infección a los leucocitos, incluyendo granulocitos, monocito–macrófagos, células asesinas naturales (NK) y otras células con actividad antiviral de la inmunidad innata, así como también a las células de la adaptativa (APCs profesionales, células-Th y -Tc).

De esa forma, la respuesta inmunitaria innata sirve, primero, como un mecanismo de defensa temprana contra los patógenos, pero también para activar las fases iniciales de la respuesta adaptativa, facilitando las interacciones entre las diferentes poblaciones celulares que participan en ella.

Pero las respuestas innatas mediadas por receptores de PAMPs de genomas víricos se activan también tras la vacunación con vacunas que contengan dichos PAMPs (**Fig. 5**). Y este efecto proinflamatorio y de producción de INFs

innatos es parte del mecanismo de actuación de algunas vacunas. En algunos casos, como en las vacunas de ARNm, se incorporan modificaciones de estos ácidos nucleicos para que no sean reconocidos como PAMPs y evitar que sobreestimulen la respuesta proinflamatoria (Karikó *et al.*, 2008).

Adyuvantes

Con el fin de aumentar la potencia de las vacunas, junto con el antígeno se suele incluir en el producto vacunal uno o más “adyuvantes”, que contribuyen a la estimulación de las respuestas inmunitarias, comenzando por la innata (Del Giudice *et al.*, 2018). Estos productos, de naturaleza muy variada, tienen dos actividades: i) unos son PAMPs, de forma que, a través de sus correspondientes receptores extra o intracelulares, estimulan la inmunidad innata; ii) otros evitan la dispersión del antígeno, reteniéndolo en el punto de administración, para aumentar así la disponibilidad para su captura para la presentación antigénica.

El uso de adyuvantes es, prácticamente, de uso obligado en las vacunas de patógenos muertos (inactivados, en el caso de virus) y en las que utilizan proteínas o péptidos purificados o recombinantes (subunidades proteicas). Sin embargo, las vacunas de ARNm y ADN, así como de vectores virales, contienen productos que son PAMPs, tales como los ácidos nucleicos de origen microbiano o sintético (Bode *et al.*, 2011; Carty *et al.*, 2021) y las propias proteínas estructurales de los vectores virales (Atasheva y Shayakhmetov, 2016).

La contrapartida al incremento de la inmunogenicidad por parte de los adyuvantes reside en su actividad proinflamatoria, actuando a través de los receptores de PAMPs y por su composición oleosa y viscosa para la retención del antígeno en los tejidos. Por ello, varios de los efectos secundarios de las vacunas, tales como reacciones locales (inflamación, dolor y enrojecimiento en el punto de inyección) y sistémicas (fiebre, neuralgia, mialgia, linfadenopatías), pueden ser atribuidos a los adyuvantes.

Vacunas autorizadas para su uso contra la COVID-19

A continuación, describiremos las tecnologías, mecanismos de funcionamiento y protocolos de inmunización de las principales vacunas en uso, casi todas ellas de “nuevas tecnologías”, que han sido aprobadas para su uso por la OMS y por las autoridades sanitarias de los países con sistemas sanitarios más garantistas de la calidad y eficacia de los medicamentos.

Vacunas de ácidos nucleicos

Las vacunas autorizadas de ácidos nucleicos incluyen las de ARNm Spikevax (ARNm-1273, Moderna) y Comirnaty (BNT162b2 o Tozinameran, Pfizer-BioNtech) y una vacuna de ADN (ZyCov-D, Zydus Cadila) (**Fig. 3**).

Spikevax y Comirnaty son vacunas de ácidos nucleicos encapsulados, que están constituidas por nanopartículas lipídicas, formadas por una cubierta de fosfolípidos con colesterol y polietilenglicol, mientras que su interior contiene un cierto número de moléculas de ARNm en una matriz de lípidos ionizables, catiónicos y con carga neutra a pH neutro (**Fig. 6**).

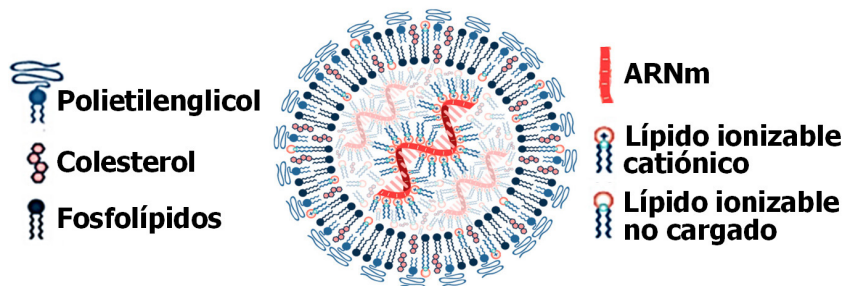


Figura 6. Estructura y composición de una nanopartícula lipídica de una vacuna de ARNm, determinada a partir de estudios de criomicroscopía electrónica y dispersión de bajo ángulo de neutrones y de rayos X (Buschmann *et al.*, 2021). La cubierta externa está formada por una bicapa lipídica, con fosfolípidos, colesterol y polietilenglicol. El interior contiene las moléculas de ARNm mensajero en una matriz de lípidos ionizables catiónicos (ALC-0315 en la de Pfizer y SM-102 en la de Moderna Tx) y no cargados a pH neutro. Cada nanopartícula contiene un número variable, se calcula que entre 1 y 10, de moléculas de ARNm (imagen modificada de Buschmann *et al.*, 2021, reproducida bajo licencia Creative Commons).

En ambas vacunas, el ARNm codifica la proteína S completa del SARS-CoV-2 (linaje A, aislado originalmente en Wuhan), incluyendo las regiones RBD y de proteólisis por furina, que permite la separación de los dominios S1 y S2, pero con las sustituciones de una lisina (posición 986) y una valina (posición 987) por prolina (P) (**Fig. 7**), cuyo fin es la estabilización de la proteína traducida en la conformación de prefusión, exponiendo al menos un dominio RBD (Wrapp *et al.*, 2020).

También en las dos vacunas, el ARNm está modificado, para evitar que sea reconocido como un PAMP vírico por receptores TLR y semejantes a RIG-I (**Fig. 5**), mediante la sustitución de las uridinas por N1-metil-seudouridina (m1Ψ), lo que además favorece la estabilización y transcripción del ARNm vacunal y, en consecuencia, incrementa la inmunogenicidad de la vacuna (Karikó *et al.*, 2008; Pardi *et al.*, 2018). No obstante, algunos de los efectos secundarios de las mismas, tales como inflamación y dolor en el área de inyección, adenopatía o miocarditis están asociados a la reacción innata inducida por el ARNm vacunal.

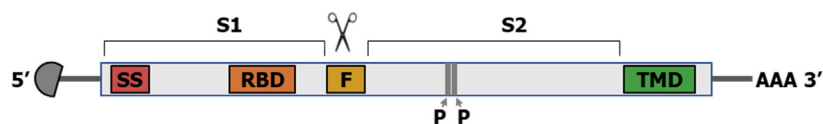


Figura 7. Esquema del ARNm modificado utilizado para la expresión de la proteína S completa en la vacuna Comirnaty (Pfizer – BioNTech). El ARN codifica los dos dominios (S1 y S2) de la proteína y de proteólisis por furina (F) e incluye dos sustituciones por prolina (P). El extremo 5' termina en un “cap” y el 3' en una secuencia poliA. SS: secuencia señal; RBD: dominio de unión al receptor; TMD: dominio de transmembrana (imagen modificada de Bettini y Locci, 2021, reproducida bajo licencia Creative Commons).

Una de las principales ventajas de este tipo de vacunas es que su ruta de procesamiento simula muy bien la infección por el SARS-CoV-2 (compárese las **Figs. 2 y 5**), lo que permite una eficaz la presentación antigénica por las vías del MHC-I y MHC-II, con la subsiguiente activación de las células-T. En el caso de Comirnaty, los estudios han demostrado que la vacunación induce respuestas de células-Th eficaces para colaborar con células-B que produzcan anticuerpos neutralizantes (Sahin *et al.*, 2020) y la generación de poblaciones de células-Tc específicas contra epítomos de la proteína S del SARS-CoV-2 (Sahin *et al.*, 2021).

La principal desventaja de las vacunas de ARNm es su inestabilidad: el ARNm se degrada con gran facilidad a temperatura ambiente y en el entorno habitual se encuentran abundantes enzimas con actividad ARNasa. Por ello, deben almacenarse a muy baja temperatura (-80°C) y una vez descongeladas utilizarse en un breve plazo, lo que complica su distribución y gestión de la vacunación.

La **Tabla 1** muestra las características de formulación, prescripción y eficacia de las dos vacunas, según los datos reportados a la FDA y la EMA. La vacuna Comirnaty ha sido recientemente autorizada para su uso pediátrico, a partir de 12 años por la EMA y de 5 años por la FDA.

Tabla 1. Características de las vacunas de ARNm Comirnaty y Spikevax

	Comirnaty (Pfizer-BioNTech)	Spikevax (Moderna TX)
Formulación de la vacuna	ARNm y nanopartículas lipídicas	ARNm y nanopartículas lipídicas
Antígeno codificado	Proteína S del SARS-CoV-2	Proteína S del SARS-CoV-2
Cantidad de ARN / dosis	30 µg	100 µg
Ruta de administración	Intramuscular	Intramuscular
Nº de dosis / días entre ellas	2 / 21	2 / 28
EFICACIA:		
7 días después de la 1ª dosis	82,0 %	80,2 %
7 días después de la 2ª dosis	Global: 94,6 % Entre 5 y 12 años: 90,7 % Entre 12 y 15 años: 100 % Entre 16 y 55 años: 95,0 % Mayores de 55 años: 93,8 % Con comorbilidades*: 95,3 %	Global: 94,1 % Entre 18 y 64 años: 95,6 % Mayores de 64 años: 86,4 % Con comorbilidades*: 95,9 %
Para prevenir la COVID-19 grave	96,3 %	100 %

Fuente de los datos: informes de la FDA – VRBPAC y la EMA - EPAR sobre las vacunas Comirnaty (<https://www.fda.gov/media/144245/download>; https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/comirnaty-epar-product-information_en.pdf) y Spikevax (<https://www.fda.gov/media/144434/download>; https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/comirnaty-epar-product-information_en.pdf).

* Cualquier edad con enfermedades crónicas cardiopulmonares, enfermedad hepática, hipertensión, obesidad, diabetes o hiperalergias, que aumentan el riesgo de padecer un curso grave de la COVID-19.

La vacuna de ADN ZyCoV-D (ZyduS Cadila) contra la COVID-19 es la única de este tipo que, hasta este momento, ha sido aprobada para su uso en la India (*Indian Central Drugs Standard Control Organization, COVID-19 vaccines approved for Restricted Use in Emergency Situation in the country*). Sin embargo, el desarrollo y testeo de vacunas de ADN tiene un largo historial experimental y de ensayos clínicos en humanos (Hobernik y Bros, 2018), incluyendo algunas contra los coronavirus causantes del SARS y del MERS (Silveira *et al.*, 2021), y hay algunas aprobadas para uso veterinario (Fomsgaard y Liu, 2021).

Las vacunas de ADN están constituidas por plásmidos circulares bacterianos de ADN bicatenario, en los que se ha insertado el gen para la proteína antígeno y un promotor de un gen eucariótico (por ejemplo, miosina o una inmunoglobulina), que induce la transcripción del gen de interés (Silveira *et al.*, 2021). Para que tenga lugar la expresión de la proteína antígeno los plásmidos deben ingresar en el núcleo, donde – tras la activación del promotor – serán transcritos y los ARNm resultantes transportados al citoplasma (citosol o retículo endoplásmico rugoso) para ser traducidos. La proteína antígeno será luego procesada por las vías MHC-I y MHC-II, de forma similar a lo indicado para las vacunas de ARNm (**Fig. 5**).

La vacuna ZyCoV-D contra la COVID-19 está constituida por numerosas copias (5 mg de ADN por cada 0,5 mL de preparado) del plásmido pVAX-1 (Thermo Fisher Scientific™) de ADN bicatenario, producido en *E. coli*, que contiene el gen de la proteína S del SARS-CoV-2 (Dey *et al.*, 2021). El plásmido incluye una secuencia líder de la inmunoglobulina E en la región inicial del gen de la proteína S, lo que dirige la expresión de la proteína hacia la superficie celular. Y también contiene numerosos tándems de dinucleótidos citosina – guanina no metilados, que actúan como PAMPs (Bode *et al.*, 2011) y potencian las respuestas inmunitarias innatas a la vacuna.

Una característica particular de esta vacuna, derivada de la estabilidad del ADN, es que puede ser administrada intradérmicamente mediante un inyector “sin aguja”, que libera un fino chorro del preparado con potencia suficiente para atravesar la epidermis.

Los resultados experimentales en animales (Dey *et al.*, 2021) y de los ensayos clínicos en fases I y II en humanos (Momin *et al.*, 2021), estos últimos incluyendo la administración intradérmica de hasta 3 dosis, de 1 o 2 mg de ADN, separadas por 28 días, mostraron que esta vacuna de ADN induce respuestas inmunitarias adaptativas de anticuerpos y celulares contra la proteína S del SARS-CoV-2 y que en humanos es bien tolerada, con efectos secundarios leves o moderados.

A pesar de su moderada eficacia (la empresa reportó un 66,6 % frente a la COVID-19 sintomática), el uso de esta vacuna de ADN, y de otras que están en desarrollo, podría ser ventajoso en países en desarrollo, puesto que su producción masiva en fermentadores bacterianos es fácil y barata, su estabilidad es alta, incluso a temperatura ambiente, su administración intradérmica se puede realizar sin utilizar agujas y presentan efectos secundario leves (Silveira *et al.*, 2021).

Vacunas de vectores virales

Las vacunas contra la COVID-19 actualmente autorizadas por la OMS que usan esta tecnología (**Fig. 3**) son no replicativas. Están formadas por adenovirus recombinantes en los que su ADN genómico se ha modificado para incluir el gen (transgén) de la proteína S del SARS-CoV-2 (**Fig. 8A**) y para impedir que se repliquen.

Los adenovirus pertenecen a la familia *Adenoviridae*, están constituidos por una cápsida icosaédrica proteica compleja, sin membrana (desnudos), y poseen un genoma formado por una molécula lineal de ADN bicatenario (Gallardo *et al.*, 2021). Su ciclo replicativo se completa en el núcleo celular y, generalmente, son líticos (es decir, su liberación se produce rompiendo la célula infectada).

En las vacunas contra la COVID-19 se están utilizando adenovirus humanos, como los serotipos Ad5 (vacuna de Cansino, Zhu *et al.*, 2020b) y Ad26 (vacuna de Janssen, Bos *et al.*, 2020) o de chimpancé ChAdOx1 (vacuna de Oxford-AstraZeneca, van Doremalen *et al.*, 2020). La infección por adenovirus humanos o de simios suele ser asintomática o producir enfermedades leves en humanos. No obstante, para mayor seguridad, en las vacunas aprobadas hasta ahora, no replicativas, los genomas de los adenovirus usados como vectores están mutados mediante la delección de las regiones génicas *Early-1* (E1), lo que impide la replicación del virus, y *Early-3* (E3) que evita la producción de factores que interfieren con las respuestas inmunitarias innatas. Estos vectores mutados mantienen la capacidad infectiva y de expresión de la proteína recombinante antigénica (Shiver *et al.*, 2002).

El genoma de los adenovirus vacunales contiene el gen completo de la proteína S del SARS-CoV-2, con la secuencia líder del gen de la enzima serín proteasa “activador tisular del plasminógeno” (tPA) (**Fig. 8A**). El gen de la proteína S contiene mutaciones para que su expresión se haga en la forma de prefusión y en el caso de la vacuna de Janssen una mutación en la región de proteólisis por la furina (Bos *et al.*, 2020). La proteína S es transportada y expresada en la superficie celular (**Fig. 8B**), donde podrá ser reconocida por las células inmunitarias.

Las vacunas de adenovirus no replicativas se producen en cultivos de líneas celulares de mamífero recombinantes, que expresan constitutivamente los genes de la región E1 del adenovirus, lo que permite la replicación del adenovirus mutante (E1⁻). Por ejemplo, la vacuna Vaxzevria se produce en células in T-REx-293, derivadas de la línea celular HEK293, que fue transformada mediante la inserción de la región E1 del adenovirus humano Ad5.

Estas vacunas inducen respuestas inmunitarias innatas y adaptativas y protectoras contra la COVID-19 (Bos *et al.*, 2020; Logunov *et al.*, 2020; Sadoff *et al.*, 2021; Swanson *et al.*, 2021; Voysey *et al.*, 2021). No obstante, su eficacia vacunal es moderada (típicamente alrededor del 60 % de protección frente a la COVID-19 sintomática, según los datos de la EMA) y presentan algunos problemas específicos, unos intrínsecos a la infección por el adenovirus vector y otros derivados de su conocido efecto protrombótico.

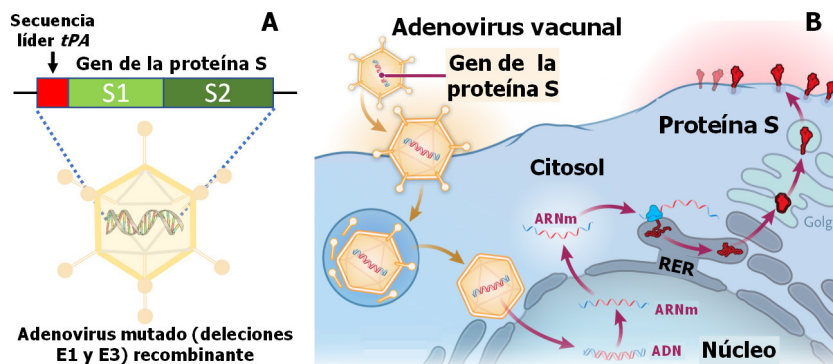


Figura 8. A) Representación esquemática de un adenovirus recombinante utilizado como vacuna no replicativa, cuyo genoma carece de los genes E1 y E3 y contiene el gen completo de la proteína S del SARS-CoV-2 con la secuencia líder del gen de la tPA humana (modificada de Lundstrom *et al.*, 2021). **B)** Esquema del mecanismo de expresión de la proteína recombinante del SARS-CoV-2 para vacunas formadas por adenovirus. Los adenovirus penetran hasta el núcleo celular, donde su ADN se transcribe a ARNm, que son transportados al citoplasma para su traducción en el retículo endoplásmico rugoso. La proteína S, en la forma estabilizada prefusión, se transporta hasta la membrana plasmática (modificada de Sadoff *et al.*, 2021). Ambas imágenes reproducidas bajo licencia Creative Commons.

En el primer caso, junto con la expresión del antígeno vacunal específico (la proteína S del SARS-CoV-2), también se expresan proteínas estructurales del adenovirus, que son reconocidas como antígenos. Así, la eficiencia de la expresión de la proteína S disminuye, al mismo tiempo que se generan respuestas inmunitarias adaptativas contra varios tipos de antígenos del adenovirus, lo que puede interferir con la protección contra la COVID-19.

Por otra parte, los humanos solemos tener anticuerpos neutralizantes contra adenovirus a los que previamente hemos estado expuestos. Por ello es posible que la eficacia de vacunas con adenovirus humanos se vea disminuida por la actividad de anticuerpos preexistentes, que bloquean la infección necesaria para la expresión de la proteína antígeno (Alhashimi *et al.*, 2021).

Pero, también, la primera dosis de la vacuna es suficiente para inducir la producción de anticuerpos contra el adenovirus vacunal, por lo que la eficacia de la segunda dosis también se ve afectada. Para evitarlo, en algunas vacunas, como la Sputnik V (Gam-COVID-Vac, Centro Nacional de Epidemiología y Microbiología Gamaleya, Rusia) se utilizan dos serotipos de adenovirus distintos para la primera (Ad26) y segunda (Ad5) dosis (Logunov *et al.*, 2020).

En cuanto a los efectos secundarios trombóticos de estas vacunas, es bien conocido que los adenovirus tienen esos efectos, asociados a su capacidad de adherirse a la superficie de plaquetas y del endotelio, especialmente en el caso de adenovirus a los que no estamos generalmente expuestos, como el de chimpancé ChAdOx1 utilizado en la vacuna Vaxzevria (Alhashimi *et al.*, 2021; Lundstrom *et al.*, 2021).

La **Tabla 2** muestra las características de formulación, prescripción y eficacia de las dos vacunas de vectores no replicativos aprobadas por la EMA.

Respecto a las vacunas de vectores virales replicativas contra la COVID-19, en el momento de redactar este artículo había dos en las fases I / II de ensayo clínico (**Fig. 3**), pero ninguna aprobada para su uso. Estas vacunas usan como vectores virus que mantienen su capacidad de infección y replicación en las células, pero que se han atenuado mediante la eliminación de los factores de virulencia que causan la enfermedad (Afrough *et al.*, 2019). Por ejemplo, el virus vaccinia modificado (Ankara), que utiliza el grupo del Departamento de Biología Molecular y Celular del Centro Nacional de Biotecnología (CNB), dirigido por el Dr. M. Esteban, para desarrollar una vacuna replicativa contra la COVID-19 (García-Arriaza *et al.*, 2021).

Tabla 2. Características de vacunas de vectores virales no replicativos

	Vaxzevria (Oxford -AstraZeneca)	Ad26.COV2.S (Janssen)
Formulación de la vacuna	Adenovirus ChAdOx1-S recombinante	Adenovirus AD26 recombinante
Antígeno codificado	Proteína S del SARS-CoV-2	Proteína S del SARS-CoV-2
Dosis	0,5 mL con al menos 2,5x10 ⁸ unidades infecciosas	0,5 mL con al menos 8,92x10 ¹⁰ unidades infecciosas
Ruta de administración	Intramuscular	Intramuscular
Nº de dosis / días entre ellas	2 / 4 – 12 semanas	1 / -
EFICACIA:		
Después de la 1ª dosis	44 % - 73,2 % a las dos semanas*	66,9 % a las dos semanas y 66,1 % a los 28 días
Después de la 2ª dosis	36,5% - 61,5 %* Global: 59,5 %	n.a.
Para prevenir la COVID-19 grave	100 % a los 15 días tras la 2ª dosis	76,7 % a las dos semanas y 85,4 % a los 28 días

Fuente de los datos: informes de la EPAR de la EMA las vacunas Vaxzevria (EMA: https://www.ema.europa.eu/documents/assessment-report/vaxzevria-previously-covid-19-vaccine-astrazeneca-epar-public-assessment-report_en.pdf) y Ad26.COV2.s (EMA: https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/covid-19-vaccine-janssen-epar-product-information_en.pdf).
* Variabilidad encontrada en los cuatro ensayos clínicos realizados en distintos países.
n.a.: no aplicable.

Las principales ventajas de las vacunas de vectores virales replicativos es que pueden ser administradas en dosis bajas, que no necesitan de adyuvantes y que el mantenimiento de la expresión del antígeno, durante un cierto tiempo, incrementa la potencia de la respuesta inmunitaria (Afrough *et al.*, 2019). Estas propiedades las hacen muy convenientes para la inmunización vía nasal, lo que estimularía la inmunidad mucosa, potencialmente esterilizante (Chavda *et al.*, 2021). Su mayor inconveniente reside en la posibilidad de reversión al estado virulento, por recombinación genética con estirpes silvestres.

Vacunas de subunidades proteicas

Las vacunas constituidas por subunidades proteicas contra la COVID-19 contienen como antígeno la proteína S del SARS-CoV-2 recombinante

o péptidos recombinantes de la misma (**Fig. 3**), que en este último caso se corresponden con el dominio RBD de unión al receptor ACE-2 (Valdes-Balbin *et al.*, 2021).

La proteína o péptido recombinante se obtiene a partir de ADN clonado de la región correspondiente del genoma del coronavirus, que es amplificado y utilizado para la expresión de la proteína o del péptido en sistemas apropiados para la producción masiva de la subunidad proteica. Esta se realiza en cultivos de células eucariotas, bien levaduras, células animales o de plantas, para que la proteína sintetizada sea procesada de tal forma que mantenga la conformación deseada y la glucosilación, ya que generalmente esto es un requisito importante para mantener su antigenicidad.

Ya existían numerosos precedentes de vacunas experimentales de este tipo, algunas contra los coronavirus causantes del SARS y del MERS (Wang *et al.*, 2020b) y a mediados de octubre de 2021 había cinco vacunas de subunidades proteicas en uso contra la COVID-19 (web *COVID19 Vaccine Tracker*), pero ninguna autorizada por la OMS, la EMA o la FDA, aunque la agencia europea estaba evaluando la vacuna Vidprevtyn (Sanofi Pasteur - GlaxoSmithKline) (página web *EMA starts rolling review of COVID-19 vaccine Vidprevtyn*).

La vacuna Vidprevtyn utiliza la proteína S completa recombinante del SARS-CoV-2, cuya secuencia está modificada para mantener la conformación de prefusión, mediante dos sustituciones por prolina en la región terminal del dominio S2 (Goepfert *et al.*, 2021), de forma similar a lo mostrado en la **Figura 7**. Esta proteína recombinante se obtiene por el sistema de expresión “baculovirus – células de insecto SF+” (Beljelarskaya, 2011) (**Fig. 9A**).

Todas las vacunas de subunidades proteicas contienen adyuvantes, ya que por si mismas son poco inmunogénicas (Wang *et al.*, 2020b). En el caso de la vacuna Vidprevtyn, en la vacuna candidata en evaluación por la EMA se utiliza el adyuvante ASO3 (GlaxoSmithKline), constituido por α -tocoferol, esqualeno y polisorbato 80, que forma una emulsión de aceite en agua con la proteína (Goepfert *et al.*, 2021).

Un sistema similar se utiliza en la vacuna NVX-CoV2373 (Novavax), pero en este caso el antígeno recombinante está formado por trímeros de la proteína S completa recombinante, que forman nanopartículas en una matriz del adyuvante Matrix-M1, derivado de saponinas (Tian *et al.*, 2021). Los resultados de los ensayos clínicos en fase I y II indican que la vacuna, con régimen de administración de 2 dosis de 5 μ g, separadas por 21 días, es segura y que induce una respuesta inmunitaria de perfil Th1, con generación de anticuerpos neutralizantes y células Tc CD8⁺ (Keech *et al.*, 2020; Formica *et al.*, 2021).

La vacuna RBD-dimer (o Zifivax, Anhui Zhifei Longcom Biopharmaceutical), autorizada para su uso en China, contiene un dímero de un péptido que corresponde a la región RBD de la proteína S con diversas modificaciones, que incluyen la estabilización del dímero mediante puentes disulfuro entre los monómeros y la repetición en tándem de los dos monómeros que se unen por los extremos C' y N' contiguos (Dai *et al.*, 2020) (**Fig. 9B**). Esta vacuna usa como adyuvante hidróxido de aluminio (Yang *et al.*, 2021).

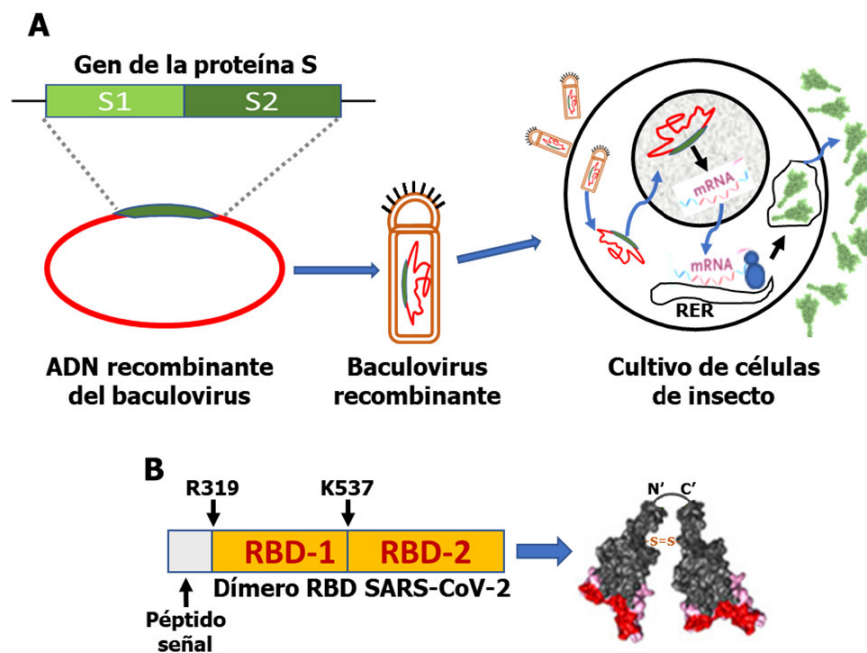


Figura 9. A. Esquema de mecanismo de expresión de la proteína S recombinante del SARS-CoV-2 en el sistema de “baculovirus – células de insecto” para producir vacunas de subunidades proteicas. Los baculovirus recombinantes, cuyo genoma contiene el gen de la proteína S, infectan a las células de insecto SF y su genoma se transporta al núcleo. Los ARNm generados son traducidos en el retículo endoplásmico rugoso (RER) y las proteínas recombinantes liberadas al medio de cultivo. **B.** Esquema de la estructura del dímero RBD de la vacuna RBD-Dimer / Zifivax (Dai *et al.*, 2020). Cada monómero está formado por la secuencia de aminoácidos de la proteína S del SARS-CoV-2 comprendida entre las posiciones arginina 319 y lisina 537, que incluye el dominio RBD. El péptido señal dirige la expresión del dímero hacia el RER. Los monómeros están unidos entre si por un puente disulfuro intermolecular y el enlace covalente entre el extremo amino terminal (N') de una y el carboxilo terminal (C') de la otra. La parte coloreada en rojo muestra la zona de interacción entre el monómero RBD y el receptor ACE-2 (imagen modificada de Valdes-Balbin *et al.*, 2021, reproducida bajo licencia Creative Commons).

La inmunización con la vacuna RBD-dimer, cuyo protocolo incluye tres dosis intramusculares, separadas por 30 días, induce anticuerpos neutralizantes contra las principales variantes de preocupación del SARS-CoV-2 (alfa, B.1.1.7; beta, B.1.351, gamma, P.1 y delta, B.1.617.2) (Zaho *et al.*, 2021). Los resultados en animales de las vacunas Vidprevtyn (Francica *et al.*, 2021) y NVX-CoV2373 (Tian *et al.*, 2021), así como de esta última en humanos (Keech *et al.*, 2020), demostraron que inducían respuestas inmunológicas protectoras.

La ventaja de la producción barata de las vacunas de subunidades proteicas y de su estabilidad se ve contrarrestada por las dificultades de asegurar la

cantidad de proteína antígeno producida y la homogeneidad entre lotes de producción. Así, un informe del ensayo clínico en fase I / II de Vidprevtyn (dos dosis separadas por 21 días), que resultó fallido por los bajos títulos de anticuerpos neutralizantes, atribuyó el problema a una baja concentración de la proteína antígeno en el preparado (Goepfert *et al.*, 2021).

Vacunas de partículas semejantes a virus

Dado que en el momento de redactar esta revisión no había ninguna vacuna de este tipo autorizada para su uso contra la COVID-19, aunque sí en ensayos clínicos (**Fig. 3**), solamente reseñaremos algunos aspectos importantes de ellas.

Las partículas semejantes a virus (VLP, *virus-like particles*) son estructuras multiméricas, desnudas o rodeadas de membrana, formadas por múltiples monómeros de glucoproteínas de tipo capsómero viral, que se autoensamblan en estructuras poliédricas semejantes a virus (**Fig. 10**), pero que carecen de material genómico (Nooraei *et al.*, 2021). Las VLPs pueden obtenerse de diferentes sistemas de expresión de glucoproteínas virales, incluyendo cultivos de celulares de mamífero o de insecto, bacterianos, así como en plantas (Rosales-Mendoza *et al.*, 2020; Nooraei *et al.*, 2021). Se utilizan sistemas de transformación de las células con vectores apropiados, que portan plásmidos conteniendo los genes para las proteínas (generalmente, poliproteínas) de la cápsida de la VLP y los genes de la proteína que interesa obtener.

Las vacunas constituidas por VLPs que contienen glucoproteínas virales son altamente inmunogénicas (D'Aoust *et al.*, 2010) y se han desarrollado numerosas vacunas candidatas contra diferentes enfermedades infecciosas (Nooraei *et al.*, 2021).

En el caso de la COVID-19, la vacuna candidata CoVLP (Medicago) (Gobeil *et al.*, 2021; Ward *et al.*, 2021) se encuentra en las fases II/III de ensayo clínico (NCT04636697). Las VLPs de esta vacuna poseen membrana y su estructura, exponiendo en la superficie una corona de la proteína S, se asemeja a la de los viriones del SARS-CoV-2 (**Fig. 10**). Las VLPs de esta vacuna se expresan en la planta *Nicotiana benthamiana* de VLPs y la proteína antígeno incluye la proteína S completa, con modificaciones semejantes a las descritas para las vacunas de ARNm (**Fig. 7**), pero en la que también se sustituye el péptido señal del coronavirus por uno de plantas y los dominios de transmembrana y citoplásmico de la proteína S por los del virus de la gripe H5 A/Indonesia (D'Aoust *et al.*, 2010).

La formulación de la vacuna CoVLP, utilizada en las fases II/III del ensayo clínico (Gobeil *et al.*, 2021), es una emulsión de aceite en agua de las VLPs con el adyuvante Aso3 (GlaxoSmithKline), que contiene α -tocoferol y esqualeno. La pauta de administración es de dos dosis intramusculares, separadas por 21 días. Los estudios experimentales en animales (Ward *et al.*, 2021) y en la fase II del ensayo clínico (Gobeil *et al.*, 2021) demuestran que esta vacuna es inmunogénica, que induce anticuerpos neutralizantes y que tiene pocos efectos secundarios en humanos, pero aún no hay datos de eficacia.

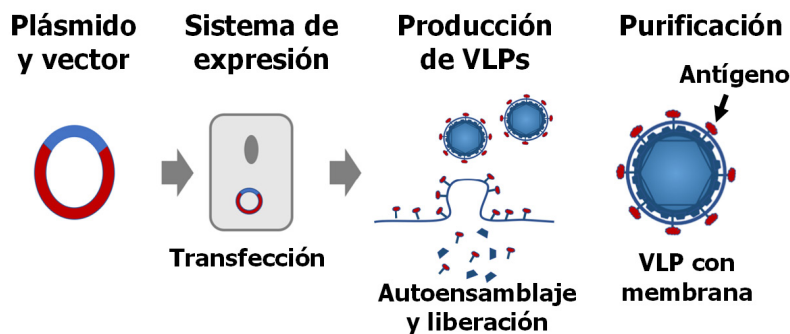


Figura 10. Producción de VLPs con membrana para la vacuna CoVLP (Medicago). Los plásmidos contienen las secuencias de las proteínas de la cápsida viral y de la proteína S del SARS-CoV-2, para tranfectar las células del sistema de expresión (*N. benthamiana*). Las células sintetizan las proteínas de la cápsida y de la proteína S, que se autoensamblan de forma que la proteína S se expresa en la membrana. Las VLPs se liberan al medio externo, de donde son purificadas (imagen modificada de Ong *et al.*, 2017, reproducida bajo licencia Creative Commons).

Las ventajas del uso de vacunas de VLPs residen en que concentran el antígeno en su superficie y lo muestran de forma similar a como sucede en el virus patógeno, lo que facilita su captura por células presentadoras de antígenos (Nooraei *et al.*, 2021). Por otra parte, no son infecciosas, lo que las hace seguras, pero no simulan una infección real y necesitan de adyuvantes.

Vacunas clásicas

Actualmente, de las producidas por tecnologías clásicas, solo están en uso vacunas inactivadas contra la COVID-19 como, por ejemplo, las vacunas BBIBP-CorV (Sinopharm) y CoronaVac (Sinovac Life Sciences Co., Ltd) (**Fig. 3**). Estas vacunas están formadas por viriones obtenidos en cultivos celulares e inactivados y formuladas con adyuvantes (**Fig. 11**).

La vacuna BBIBP-CorV se produce en cultivos de la línea celular Vero (de riñón de mono), infectada con la cepa HBo2 del SARS-CoV-2, procedente del aislado original de Wuhan (Wang *et al.*, 2020a). Los viriones se recogen del medio de cultivo y son inactivados por tratamiento con β -propiolactona y en la formulación final se incluye hidróxido de aluminio como adyuvante.

La elección de la línea celular Vero para producir la vacuna BBIBP-CorV se fundamenta en que estas células son competentes para la replicación del SARS-CoV-2 y en que esta línea está certificada por la OMS y muchas agencias del medicamento para la producción de vacunas virales (Barrett *et al.*, 2009).

Su pauta de administración es de dos dosis, separadas por 21 días, cada dosis de 0,5 mL conteniendo 4 μ g del producto inactivado. En un ensayo clínico en fase II, que incluía personas de más de 60 años, se demostró que la vacuna inducía anticuerpos neutralizantes en el 100 % de los participantes vacunados (Xia *et al.*, 2020), mientras que los efectos secundarios fueron leves.

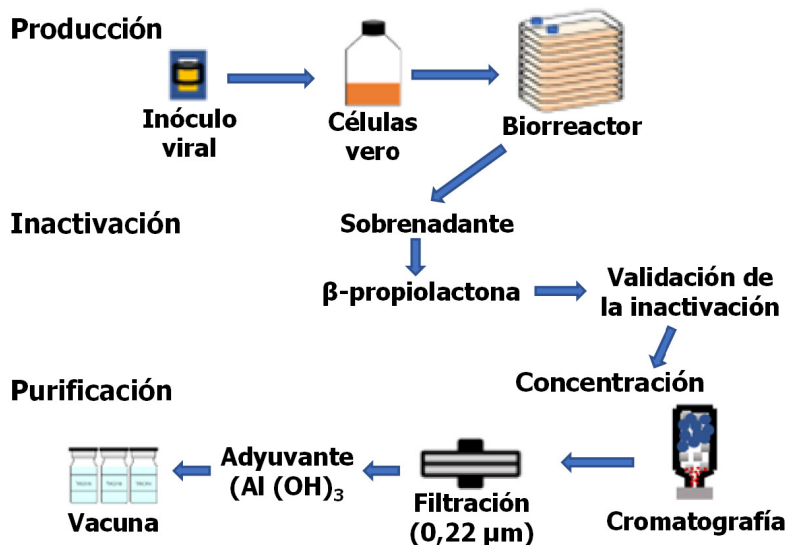


Figura 11. Producción de vacunas inactivadas contra la COVID-19. Un frasco de cultivo de células Vero es inoculado con una muestra del SARS-CoV-2, para obtener un número suficiente de viriones. Estos se utilizan para amplificar la producción un biorreactor, que también contiene células Vero. El sobrenadante del biorreactor se recoge y los viriones se inactivan por tratamiento con β -propiolactona. Tras comprobar que los viriones están inactivados, estos se concentran por cromatografía y ultrafiltración. Finalmente, la vacuna se formula añadiendo el adyuvante (hidróxido de aluminio). Imagen modificada de Gao *et al.*, 2020, reproducida bajo licencia Creative Commons).

En el documento de autorización de la OMS, con datos de ensayos clínicos en fase III, la vacuna BBIBP-CorV tiene una eficacia global contra la COVID-19 sintomática del 78,1 %, pero no hay datos de eficacia contra la COVID-19 grave (página web [WHO/2019-nCoV/vaccines/SAGE_recommendation/BIBP/background/2021.1](https://www.who.int/publications/m/item/2019-nCoV-vaccines-SAGE-recommendation-BIBP-background-2021.1)).

La vacuna CoronaVac (Sinovac) es semejante a la anterior (Gao *et al.*, 2020), está también aprobada por la OMS y según su informe, tras la vacunación con dos dosis separadas por 14 días, la eficacia contra la COVID-19 sintomática fue desde el 49,6 % al 67 % y del 95 % al 100 % para la COVID-19 grave (página web [WHO/2019-nCoV/vaccines/SAGE_recommendation/Sinovac-CoronaVac/background/2021.1](https://www.who.int/publications/m/item/2019-nCoV-vaccines-SAGE-recommendation-Sinovac-CoronaVac-background-2021.1)).

Dado que la eficacia real contra la COVID-19 grave y, sobre todo, la duración de la inmunidad protectora de este tipo de vacunas, son inciertas (Mallapaty, 2021), así como por motivos regulatorios de la calidad de producción, en la UE y Estados Unidos no hay ninguna vacuna inactivada autorizada, aunque la EMA estaba evaluando la vacuna CoronaVac en el momento de redactar esta revisión.

No obstante, la tecnología para la producción de este tipo de vacunas ya estaba muy consolidada, lo que permitió iniciar pronto su producción en China tras la declaración de la pandemia. Probablemente por este motivo y porque son relativamente baratas de producir y fáciles de conservar y distribuir han recibido

la autorización de la OMS y son de uso muy extendido en países asiáticos, africanos y sudamericanos (Mallapaty, 2021).

Respecto a las vacunas atenuadas, en las que se ha modificado la virulencia del virus para que, siendo infectivo, no cause enfermedad, hasta este momento solo había una (COVI-VAC, Codagenix, Inc.) contra la COVID-19 que estuviera en la fase I de ensayo clínico (**Fig. 3**).

Clásicamente, la atenuación de las vacunas virales se ha realizado por pases sucesivos en cultivos celulares, seleccionando aquellos viriones que, manteniendo la capacidad infectiva, muestran una menor virulencia (Okamura y Ebina, 2021). En el caso de la vacuna COVI-VAC se han utilizado técnicas de Ingeniería Genética para la atenuación del SARS-CoV-2, por el método de “desoptimización de pares de codones” (Wang *et al.*, 2021), consistente en la introducción de mutaciones puntuales aleatorias en el genoma del virus. Estos virus mutados mantienen la expresión y estructura de las proteínas virales (y por tanto la capacidad infecciosa del virus y la antigenicidad), pero sus ARNs son defectuosos, lo que lleva a que su expresión disminuya y tengan una vida media corta, lo que reduce la síntesis de proteínas virales. En definitiva, a que se atenúe la virulencia (Groenke *et al.*, 2020).

Actualmente, esta vacuna COVI-VAC está en fase I de ensayo clínico (NCT04619628), siendo administrada por vía nasal, sin que se hayan publicado todavía resultados.

Aunque las vacunas atenuadas son, teóricamente, las que mejores respuestas inmunitarias y protectoras podrían inducir, su uso está muy restringido por el riesgo de reversión de la virulencia. Incluso en el caso de las vacunas atenuadas por desoptimización de pares de codones se han descrito casos de reversión por complementación con genomas del virus silvestre (Le Nouën *et al.*, 2021). Por ello, es poco probable que se autoricen para uso masivo contra la COVID-19.

Impacto sanitario

A mediados de octubre de 2021, según la base de datos de la web *Our World in Data*, se habían administrado en el mundo más de 6.000 millones de dosis. Un seguimiento, casi en tiempo real, de este parámetro puede realizarse en la dirección la web de *Our World in Data: Coronavirus Pandemic (COVID-19)*, así como del número de personas totalmente vacunadas, que en esas mismas fechas ascendían a 2.860 millones.

Ya nadie pone en duda que, en los países con altas tasas de vacunación, las vacunas autorizadas contra la COVID-19 han permitido mitigar, en un periodo de tiempo que no parecía posible, la enorme crisis sanitaria, social y económica que esta pandemia ha causado. Las razones sanitarias del éxito de las vacunas son varias, pero cabe destacar las siguientes:

1. Las vacunas aprobadas, aún por vía de urgencia, por la OMS y las agencias del medicamento de muchos países con sistemas garantistas de su calidad y eficacia, basados en el conocimiento científico y en contraste entre las opiniones de expertos, son seguras y efectivas.

Su desarrollo, a través de las distintas fases de los ensayos clínicos y de seguimiento de su seguridad, comparando el efecto de la vacuna frente a un placebo y de tipo doble ciego (los implicados no conocen quiénes reciben la vacuna o el placebo), garantizan que cumplen esos requisitos (por ejemplo, los establecidos por la EMA: página web *COVID-19 vaccines: development, evaluation, approval and monitoring*).

A nivel poblacional, los beneficios de la aplicación masiva de las vacunas autorizadas superan con creces los riesgos asociados a los efectos secundarios que, como sucede con todos los medicamentos, son inevitables y su severidad está asociada a tipologías individuales. En una pandemia como la actual, las vacunas son, fundamentalmente, un método de protección de la Salud Pública, pero también individual. Así, el establecimiento de programas de farmacovigilancia sirve para identificar aquellos efectos secundarios graves que puedan originar y tomar las medidas correctoras, que pueden ir desde modificar las pautas de vacunación y los grupos de población a los que se les puede administrar, hasta la retirada de la vacuna (Di Pasquale *et al.*, 2016).

La información actualizada de los efectos secundarios atribuibles a las vacunas contra la COVID-19 es pública y se puede consultar en las webs de las agencias del medicamento de los diferentes países (por ejemplo, en el caso de la página de la EMA: *Safety of COVID-19 vaccines*).

2. La mayoría de las vacunas en uso son efectivas contra las variantes de preocupación (VOCs, *variants of concern*) hasta ahora detectadas. La **Tabla 3**, tomada de Tao *et al.* (2021), recoge datos disponibles de efectividad de las principales vacunas contra las variantes circulantes.

Tabla 3. Eficacia de las vacunas para prevenir la COVID-19 sintomática por infección con variantes de preocupación del SARS-CoV-2

Variantes	Comirnaty (Pfizer)	Vaxzevria (AstraZeneca)	Ad26.COVS.2.S (Janssen)	CoronaVac (Sinovac)
Aislado original de Wuhan (A1)	95 %	70 %	72 %	51 %
Alfa	92 % - 97 %	66 % - 81 %	86 %	s.d.
Beta	75 %	10 %*	51 %	s.d.
Gamma	s.d.	s.d.	s.d.	42%
Delta	83 % - 88 %	60 % - 61 %	s.d.	s.d.

* El 10 % de efectividad de la vacuna Vaxzevria contra la variante beta se encontró en un ensayo en el que se utilizó una dosis baja de la vacuna. Fuente de los datos: Tao *et al.*, 2021. s.d.: sin datos.

El mantenimiento de la efectividad contra las VOCs es debido a que: i) la neutralización de los anticuerpos generados no solo depende de los que bloquean la unión RBD – receptor ACE-2. Otras especificidades antigénicas de los anticuerpos también tienen efectos antivirales, bloqueando, por ejemplo, la exposición del péptido fusión. Además, el bloqueo y eliminación del virus también se realizan por otras funciones ejercidas por los anticuerpos, como por ejemplo lo de su región Fc (fracción cristalizante), que incluyen

la activación de la actividad citolítica del complemento y la citotoxicidad y fagocitosis mediadas por anticuerpos (Van Erp *et al.*, 2019); ii) la actividad de la inmunidad adquirida celular, en la que las células-Th de memoria colaboran para la formación de los centros germinales, en los que se generan células plasmáticas de vida media larga que producen “mejores” anticuerpos, mientras que un número incrementado de las células-Tc eliminan a las células infectadas, independientemente de la variante del SARS-CoV-2 de que se trate (Geers *et al.*, 2021; Tarke *et al.*, 2021).

3. El decaimiento a lo largo del tiempo posvacunación de los títulos de anticuerpos neutralizantes, que se ha observado para todas las vacunas, no tiene una correlación directa con el grado de protección frente a la COVID-19 sintomática y grave, aunque sí con la infección leve (Antonelli *et al.*, 2021). Ese decaimiento es un efecto normal tras la aplicación de la mayoría de las vacunas y la protección depende de la permanencia de las poblaciones de células-B y -T de memoria de los centros germinales, que puede prolongarse durante años, y cuya presencia se ha detectado tras la vacunación contra la COVID-19 con la vacuna de ARNm Comirnaty (Turner *et al.*, 2021).

Una preocupación creciente, relacionada con lo expuesto en el párrafo anterior, es la necesidad o no de proporcionar dosis de recuerdo (*booster doses*) o de incluir una dosis adicional en los protocolos establecidos para las diferentes vacunas, a fin de evitar las infecciones en los vacunados (Krause *et al.*, 2021; página web *WHO Interim statement on booster doses for COVID-19 vaccination*).

Lo cierto es que las infecciones en la mayoría de los vacunados, cuyo sistema inmunitario no está comprometido, causan una COVID-19 asintomática o leve (Antonelli *et al.*, 2021). Por ello, la OMS ha recomendado que la pauta de las vacunas inactivadas CoronaVac y BBIBP-CorV, que presentan menor eficacia, incluya una tercera dosis adicional y que se administren dosis de recuerdo a las personas inmunocomprometidas, particularmente las mayores de 60 años (página web *WHO SAGE October 2021 meeting highlights*). Pero en ese mismo documento la OMS recomienda que, mientras que la necesidad de dosis de recuerdo de otras vacunas para la población general siga en estudio, se priorice la extensión de las vacunas entre las poblaciones no vacunadas.

Como perspectivas futuras, a corto y medio plazo, se plantean dos necesidades. Primero, desarrollar vacunas más eficaces, adaptadas a las variantes de preocupación actuales y que puedan aparecer. En este caso, las vacunas de ácidos nucleicos y las de vectores virales son las herramientas más apropiadas, puesto que el diseño y fabricación de esas vacunas es mucho más rápido y sencillo. Así, ya se encuentran en ensayos clínicos la modificación AZD2816 (Spencer *et al.*, 2021) de la vacuna Vaxzevria (AstraZeneca, adenovirus ChAdOx1) y la modificación RNAm-1273.211 (Choi *et al.*, 2021) de la vacuna Spikevax (Moderna), ambas conteniendo secuencias que codifican para las mutaciones de la variante beta (B.1.351) del SARS-CoV-2. En segundo lugar, desarrollar vacunas que provean inmunidad esterilizante, es decir, aquella que impide la entrada del virus al

organismo, bloqueándolo a través de la inmunidad mucosa. Hasta el momento, no hay estudios que indiquen que alguna de las vacunas autorizadas contra la COVID-19 sea capaz de inducir una respuesta inmunitaria mucosa potente (Russell *et al.*, 2020). Las esperanzas están puestas en las vacunas que puedan administrarse vía orofaríngea o nasal (Travis *et al.*, 2020), tanto de ácidos nucleicos como de vectores virales.

Impacto científico

La pandemia de COVID-19 ha provocado un profundo cambio en el mundo científico, que ha permitido el desarrollo acelerado y la disponibilidad de test de detección del SARS-CoV-2 por métodos de Biología Molecular y de las vacunas contra la COVID-19.

El más notable, a mi parecer, es la implantación generalizada de la colaboración internacional entre laboratorios de investigación, siguiendo el modelo de “Ciencia abierta”. Por una parte, a través de la Publicación en Abierto (*Open Access*) de los resultados, tanto en la forma de publicaciones en revistas científicas y médicas “tradicionales”, con revisión por pares, como en repositorios de (pre)publicaciones no revisadas (por ejemplo, todos los artículos científicos referenciados en esta revisión se pueden consultar libremente). Y por otra con la creación de redes científicas para la colaboración en proyectos y para compartir datos, técnicas, programas informáticos y otras herramientas “en directo”.

Ejemplos de colaboración en el modelo de Ciencia Abierta, aplicados a la COVID-19, pueden consultarse en la página *Open Science Coronavirus Collection* de la web SPARC (*Scholarly Publishing and Academic Resources Coalition*) Europa. También, recursos colaborativos público-privados abiertos y existentes antes de la pandemia, como GISAID (<https://www.gisaid.org/>), dedicado inicialmente al seguimiento de virus gripales, establecieron secciones para las variantes del SARS-CoV-2 y dieron lugar a plataformas de análisis y seguimiento de sus mutaciones (Nextstrain, <https://nextstrain.org/>).

En segundo lugar, se encuentra la cooperación entre gobiernos y empresas, que se establecieron con el fin de financiar las últimas fases de desarrollo de las vacunas candidatas, particularmente los ensayos clínicos en fases II y III, y el establecimiento de las fábricas de producción. La operación *Warp Speed* del gobierno estadounidense (Slaoui y Hepburn, 2020) o los programas de I+D de la UE para el desarrollo de vacunas contra la COVID-19 (web *EU Vaccines*), que han invertido miles de millones de euros en esa colaboración, son demostrativos del efecto tan beneficioso que la inversión en Ciencia y Tecnología puede tener.

Y es que, realmente, las vacunas de nuevas tecnologías (de ácidos nucleicos y de vectores virales recombinantes) ya existían antes del inicio de la pandemia de COVID-19. Por ejemplo, las bases de conocimiento, métodos y ensayos preclínicos de vacunas de ADN y de ARNm se establecieron en las últimas décadas del siglo XX (Hobernik y Bros, 2018; Dolgin, 2021). Tras las epidemias de SARS y de MERS, se realizaron ensayos clínicos en fase I en humanos con vacunas de esos tipos y se habían aprobado algunas vacunas veterinarias (Afrough *et al.*, 2019).

Pero fue la falta de previsión de los gobiernos, que desoyeron las advertencias emitidas por la *Coalition for Epidemic Preparedness Innovations* (CEPI) sobre la posibilidad real de tener que afrontar una pandemia viral (Røttingen *et al.*, 2017), y la pusilanimidad de las agencias de regulatorias frente al uso de las herramientas de la Biotecnología, particularmente el miedo a los organismos modificados genéticamente y a la palabra “transgénico”, las que habían evitado su completo desarrollo. Solo la urgente necesidad de detener la pandemia de COVID-19 desbloqueó la autorización para la aplicación de estos nuevos tipos de vacunas antiinfecciosas en humanos.

El impacto que esas medidas ha tenido en el conocimiento sobre el SARS-CoV-2, las respuestas inmunitarias contra este patógeno y el desarrollo de las vacunas contra la COVID-19 se resume en la publicación de Carvalho *et al.*, 2021: desde la secuenciación del genoma del aislado original de Wuhan hasta la autorización de uso de las primeras vacunas pasaron solamente 12 meses.

Impacto social

El impacto de la pandemia de COVID-19 en la sociedad, tanto sanitario como económico, con los cambios que ello ha supuesto en el modelo de vida cotidiana, que la mayoría de ciudadanos de los países desarrollados teníamos por “normal”, ha llevado a un nivel de concienciación sin precedentes sobre la importancia de la Ciencia y de la inversión en I+D.

En particular, el desarrollo y aplicación de las vacunas de nuevas tecnologías contra la COVID-19 ha sido seguido, a través de numerosos programas divulgativos en los medios de comunicación y en las redes sociales, por una mayoría de los ciudadanos de los países occidentales. Y ello ha repercutido en el conocimiento que los ciudadanos han adquirido en el campo de la Vacunología, de forma que ya no resulta tan sorprendente oír hablar a personas no iniciadas acerca de tipos de vacunas, ensayos clínicos y sus fases, ARNs, células-B y -T, anticuerpos...

La masiva aceptación de las nuevas vacunas contra la COVID-19 (Lobera y Cabrera, 2021) revela una amplia confianza en el trabajo científico y médico en esta pandemia. Pero es muy posible que, también, haya cambiado la percepción pública que se tenía frente a la Biotecnología y sus aplicaciones (Woźniak *et al.*, 2021). No obstante, se mantiene un porcentaje significativo de personas con ideologías conspirativas (negacionistas) frente a la pandemia o antivacunas. Estas ideologías no son nuevas, pero ahora se ven amplificadas a través de las redes sociales y, en la mayoría de los casos, esconden posiciones políticas o económicas (Ortiz-Sánchez *et al.*, 2020).

Solamente una adecuada divulgación, con implicación de médicos y científicos expertos, que dé a conocer los métodos y precauciones regulatorias que se toman para la aprobación de las vacunas, incluso para las que se autorizan por motivos de urgencia, como todavía sucede en la mayoría de la aprobadas contra la COVID-19, podrá mantener el alto nivel de aceptación pública de la vacunación (Bahri y Castillon Melero, 2018).

Bibliografía

- Afrough, B., Dowall, S. y Hewson, R., 2019. Emerging viruses and current strategies for vaccine intervention. *Clinical and experimental immunology*, 196: 157–166.
- Alhashimi, M., Elkashif, A., Sayedahmed, E. E. y Mittal, S. K., 2021. Nonhuman adenoviral vector-based platforms and their utility in designing next generation of vaccines for infectious diseases. *Viruses*, 13: 1493.
- Antonelli, M., Penfold, R. S., Merino, J., Sudre, C. H. *et al.*, 2021. Risk factors and disease profile of post-vaccination SARS-CoV-2 infection in UK users of the COVID Symptom Study app: a prospective, community-based, nested, case-control study. *The Lancet*, S1473-3099(21)00460-6.
- Atasheva, S. y Shayakhmetov, D. M., 2016. Adenovirus sensing by the immune system. *Current opinion in virology*, 21: 109–113.
- Bahri, P. y Castillon Melero, M., 2018. Listen to the public and fulfil their information interests - translating vaccine communication research findings into guidance for regulators. *British journal of clinical pharmacology*, 84: 1696–1705.
- Barrett, P. N., Mundt, W., Kistner, O. y Howard, M. K., 2009. Vero cell platform in vaccine production: moving towards cell culture-based viral vaccines. *Expert review of vaccines*, 8: 607–618.
- Beljelarskaya S. N., 2011. Baculovirus expression systems for production of recombinant proteins in insect and mammalian cells. *Molecular biology*, 45: 123–138.
- Berger, I. y Schaffitzel, C., 2020. The SARS-CoV-2 spike protein: balancing stability and infectivity. *Cell research* 30: 1059–1060.
- Bestle, D., Heindl, M. R., Limburg, H., Van Lam van, T. *et al.*, 2020. TMPRSS2 and furin are both essential for proteolytic activation of SARS-CoV-2 in human airway cells. *Life science alliance*, 3: e202000786.
- Bettini, E. y Locci, M., 2021. SARS-CoV-2 RNAm Vaccines: Immunological mechanism and beyond. *Vaccines* 9: 147.
- Bode, C., Zhao, G., Steinhagen, F., Kinjo, T. y Klinman, D. M., 2011. CpG ADN as a vaccine adjuvant. *Expert review of vaccines*, 10: 499–511.
- Bos, R., Rutten, L., van der Lubbe, J., Bakkers, M., Hardenberg, G. *et al.*, 2020. Ad26 vector-based COVID-19 vaccine encoding a prefusion-stabilized SARS-CoV-2 Spike immunogen induces potent humoral and cellular immune responses. *NPJ vaccines*, 5: 91.
- Buschmann, M. D., Carrasco, M. J., Alishetty, S., Paige, M. *et al.*, 2021. Nanomaterial delivery systems for RNAm vaccines. *Vaccines*, 9: 65.
- Cai, Y., Zhang, J., Xiao, T., Peng, H., Sterling, S. M. *et al.*, 2020. Distinct conformational states of SARS-CoV-2 spike protein. *Science*, 369: 1586–1592.
- Callaway, E., 2020. The race for coronavirus vaccines: a graphical guide. *Nature*, 580: 576–577.
- Carvalho, T., Krammer, F. y Iwasaki, A., 2021. The first 12 months of COVID-19: a timeline of immunological insights. *Nature reviews. Immunology*, 21: 245–256.
- Carty, M., Guy, C. y Bowie, A. G., 2021. Detection of Viral Infections by Innate Immunity. *Biochemical pharmacology*, 183: 114316.
- Chavda, V. P., Vora, L. K., Pandya, A. K. y Patravale, V. B., 2021. Intranasal vaccines for SARS-CoV-2: From challenges to potential in COVID-19 management. *Drug discovery today*, S1359-6446:00331-7.

- Choi, A., Koch, M., Wu, K., Chu, L., Ma, L. *et al.*, 2021. Safety and immunogenicity of SARS-CoV-2 variant RNAm vaccine boosters in healthy adults: an interim analysis. *Nature medicine*, 27: 2025–2031.
- Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses, 2020. The species *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature microbiology*, 5: 536–544.
- Dai, L., Zheng, T., Xu, K., Han, Y. *et al.*, 2020. A universal design of Betacoronavirus vaccines against COVID-19, MERS, and SARS. *Cell*, 182: 722–733.e11.
- D'Aoust, M. A., Couture, M. M., Charland, N., Trépanier, S. *et al.*, 2010. The production of hemagglutinin-based virus-like particles in plants: a rapid, efficient and safe response to pandemic influenza. *Plant biotechnology journal*, 8: 607–619.
- Dey, A., Chozhavel Rajanathan, T. M., Chandra, H., Pericherla, H. *et al.*, 2021. Immunogenic potential of ADN vaccine candidate, ZyCoV-D against SARS-CoV-2 in animal models. *Vaccine*, 39: 4108–4116.
- Del Giudice, G., Rappuoli, R. y Didierlaurent, A. M., 2018. Correlates of adjuvanticity: A review on adjuvants in licensed vaccines. *Seminars in immunology*, 39: 14–21.
- Di Pasquale, A., Bonanni, P., Garçon, N., Stanberry, L. R. *et al.*, 2016. Vaccine safety evaluation: Practical aspects in assessing benefits and risks. *Vaccine*, 34: 6672–6680.
- Dolgin, E. 2021. The tangled history of RNAm vaccines. *Nature*, 597: 318–324.
- Fomsgaard, A. y Liu, M. A., 2021. The key role of nucleic acid vaccines for one health. *Viruses*, 13: 258.
- Formica, N., Mallory, R., Albert, G., Robinson, M. *et al.*, 2021. Different dose regimens of a SARS-CoV-2 recombinant spike protein vaccine (NVX-CoV2373) in younger and older adults: A phase 2 randomized placebo-controlled trial. *PLoS medicine*, 18: e1003769.
- Francica, J. R., Flynn, B. J., Foulds, K. E., Noe, A. T. *et al.*, 2021. Vaccination with SARS-CoV-2 spike protein and AS03 adjuvant induces rapid anamnestic antibodies in the lung and protects against virus challenge in nonhuman primates. *bioRxiv*, 2021.03.02.433390.
- Gallardo, J., Pérez-Illana, M., Martín-González, N. y San Martín, C., 2021. Adenovirus structure: What is new? *International journal of molecular sciences*, 22: 5240.
- Gao, Q., Bao, L., Mao, H., Wang, L. *et al.*, 2020. Development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2. *Science*, 369: 77–81.
- García-Arriaza, J., Garaigorta, U., Pérez, P., Lázaro-Frías, A. *et al.*, 2021. COVID-19 vaccine candidates based on modified vaccinia virus Ankara expressing the SARS-CoV-2 spike induce robust T- and B-cell immune responses and full efficacy in mice. *Journal of virology*, 95: e02260-20.
- Geers, D., Shamier, M. C., Bogers, S., den Hartog, G. *et al.*, 2021. SARS-CoV-2 variants of concern partially escape humoral but not T-cell responses in COVID-19 convalescent donors and vaccinees. *Science immunology*, 6: eabj1750.
- Gobeil, P., Pillet, S., Séguin, A., Boulay, I., Mahmood, A. *et al.*, 2021. Interim report of a phase 2 randomized trial of a plant-produced virus-like particle vaccine for Covid-19 in healthy adults aged 18–64 and older adults aged 65 and older. *medRxiv*, 2021.05.14.21257248.

- Goepfert, P. A., Fu, B., Chabanon, A. L., Bonaparte, M. I., Davis. *et al.*, 2021. Safety and immunogenicity of SARS-CoV-2 recombinant protein vaccine formulations in healthy adults: interim results of a randomised, placebo-controlled, phase 1-2, dose-ranging study. *The Lancet. Infectious diseases*, 21: 1257–1270.
- Groenke, N., Trimpert, J., Merz, S., Conradie, A. M. *et al.*, 2020. Mechanism of virus attenuation by codon pair deoptimization. *Cell reports*, 31: 107586.
- Hobernik, D. y Bros, M., 2018. ADN vaccines-how far from clinical use? *International journal of molecular sciences*, 19: 3605.
- Karikó, K., Muramatsu, H., Welsh, F.A., Ludwig, J. *et al.*, 2008. Incorporation of pseudouridine into RNAm yields superior nonimmunogenic vector with increased translational capacity and biological Stability. *Molecular Therapy*, 16: 1833–1840.
- Keech, C., Albert, G., Cho, I., Robertson, A. *et al.*, 2020. Phase 1-2 Trial of a SARS-CoV-2 recombinant spike protein nanoparticle vaccine. *The New England journal of medicine*, 383: 2320–2332.
- Krause, P. R., Fleming, T. R., Peto, R., Longini, I. M. *et al.*, 2021. Considerations in boosting COVID-19 vaccine immune responses. *Lancet*, 398: 1377–1380.
- Le Nouën, C., McCarty, T. yang, L., Brown, M. *et al.*, 2021. Rescue of codon-pair deoptimized respiratory syncytial virus by the emergence of genomes with very large internal deletions that complemented replication. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118: e2020969118.
- Lobera, J. y Cabrera, P., 2021. Evolución de la percepción social de aspectos científicos de la COVID-19 (julio 2020 – enero 2021). Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología, FECYT, 2021. E-nipo: 831210196.
- Logunov, D. Y., Dolzhikova, I. V., Zubkova, O. V., Tukhvatulin, A. I. *et al.*, 2020. Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia. *Lancet*, 396: 887–897.
- Lundstrom, K., Barh, D., Uhal, B. D., Takayama, K. *et al.*, 2021. COVID-19 Vaccines and thrombosis-roadblock or dead-end street? *Biomolecules*, 11: 1020.
- Maginnis M. S., 2018. Virus-Receptor interactions: The key to cellular invasion. *Journal of molecular biology*, 430: 2590–2611.
- Mallapaty, S., 2021: China's COVID vaccines have been crucial – now immunity is waning. *Nature*, 598: 398-399.
- Momin, T., Kansagra, K., Patel, H., Sharma, S. *et al.*, 2021. Safety and Immunogenicity of a ADN SARS-CoV-2 vaccine (ZyCoV-D): Results of an open-label, non-randomized phase I part of phase I/II clinical study by intradermal route in healthy subjects in India. *EClinicalMedicine*, 38: 101020.
- Nooraei, S., Bahrulolum, H., Hoseini, Z. S., Katalani, C. *et al.*, 2021. Virus-like particles: preparation, immunogenicity and their roles as nanovaccines and drug nanocarriers. *Journal of nanobiotechnology*, 19: 59.
- Okamura, S. y Ebina, H., 2021. Could live attenuated vaccines better control COVID-19? *Vaccine*, 39: 5719–5726.
- Ong, H. K., Tan, W. S. y Ho, K. L., 2017. Virus like particles as a platform for cancer vaccine development. *PeerJ*, 5: e4053.

- Ortiz-Sánchez, E., Velando-Soriano, A., Pradas-Hernández, L., Vargas-Román, K. *et al.*, 2020. Analysis of the anti-vaccine movement in social networks: A systematic review. *International journal of environmental research and public health*, 17: 5394.
- Pardi, N., Hogan, M. J., Naradikian, M. S., Parkhouse, K. *et al.*, 2018. Nucleoside-modified ARNm vaccines induce potent T follicular helper and germinal center B cell responses. *The journal of experimental medicine*, 215: 1571–1588.
- Rock, K. L., Reits, E. y Neefjes, J., 2016. Present yourself! By MHC class I and MHC class II Molecules. *Trends in immunology*, 37: 724–737.
- Rosales-Mendoza, S., Márquez-Escobar, V. A., González-Ortega, O., Nieto-Gómez, R. y Arévalo-Villalobos, J. I., 2020. What does plant-based vaccine technology offer to the fight against COVID-19? *Vaccines*, 8: 183.
- Røttingen, J. A., Gouglas, D., Feinberg, M., Plotkin, S. *et al.*, 2017. New vaccines against epidemic infectious diseases. *The New England journal of medicine*, 376: 610–613.
- Rubio, P. y Carvajal, A., 2020. Coronavirus. *AmbioCiencias*, 18: 5-18.
- Russell, M. W., Moldoveanu, Z., Ogra, P. L. y Mestecky, J., 2020. Mucosal immunity in COVID-19: A neglected but critical aspect of SARS-CoV-2 infection. *Frontiers in immunology*, 11: 611337.
- Sadoff, J., Gray, G., Vandebosch, A., Cárdenas, V. *et al.*, 2021. Safety and efficacy of single-dose Ad26.COV2.S vaccine against Covid-19. *The New England journal of medicine*, 384: 2187–2201.
- Sahin, U., Muik, A., Derhovanessian, E., Vogler, I. *et al.*, 2020. COVID-19 vaccine BNT162b1 elicits human antibody and T_H1 T cell responses. *Nature*, 586: 594–599.
- Sahin, U., Muik, A., Vogler, I., Derhovanessian, E. *et al.*, 2021. BNT162b2 vaccine induces neutralizing antibodies and poly-specific T cells in humans. *Nature*, 595: 572–577.
- Shiver, J. W., Fu, T. M., Chen, L., Casimiro, D. R. *et al.*, 2002. Replication-incompetent adenoviral vaccine vector elicits effective anti-immunodeficiency-virus immunity. *Nature*, 415: 331–335.
- Silveira, M. M., Moreira, G. y Mendonça, M., 2021. ADN vaccines against COVID-19: Perspectives and challenges. *Life sciences*, 267: 118919.
- Slaoui, M. y Hepburn, M., 2020. Developing safe and effective Covid vaccines - operation warp speed's strategy and approach. *The New England journal of medicine*, 383: 1701–1703.
- Spencer, A.J., Morris, S., Ulaszewska, M., Powers, C. *et al.*, 2021. The ChAdOx1 vectored vaccine, AZD2816, induces strong immunogenicity against SARS-CoV-2 Beta (B.1.351) and other variants of concern in preclinical studies. *bioRxiv*, 2021.06.08.447308.
- Swanson, P. A., Padilla, M., Hoyland, W., McGlinchey, K. *et al.*, 2021. AZD1222/ChAdOx1 nCoV-19 vaccination induces a polyfunctional spike protein-specific Th1 response with a diverse TCR repertoire. *Science translational medicine*, eabj7211.
- Tang, T., Bidon, M., Jaimes, J. A., Whittaker, G. R. y Daniel, S., 2020. Coronavirus membrane fusion mechanism offers a potential target for antiviral development. *Antiviral research*, 178: 104792.

- Tao, K., Tzou, P. L., Nouhin, J., Gupta, R. K. *et al.*, 2021. The biological and clinical significance of emerging SARS-CoV-2 variants. *Nature reviews. Genetics*, 1–17.
- Tarke, A., Sidney, J., Methot, N., Zhang, Y. *et al.*, 2021. Negligible impact of SARS-CoV-2 variants on CD4⁺ and CD8⁺ T cell reactivity in COVID-19 exposed donors and vaccinees. *bioRxiv*, 2021.02.27.433180.
- Tian, J. H., Patel, N., Haupt, R., Zhou, H. *et al.*, 2021. SARS-CoV-2 spike glycoprotein vaccine candidate NVX-CoV2373 immunogenicity in baboons and protection in mice. *Nature communications*, 12: 372.
- Travis C. R., 2020. As plain as the nose on your face: The case for a nasal (mucosal) route of vaccine administration for Covid-19 disease prevention. *Frontiers in immunology*, 11: 591897.
- Turner, J. S., O'Halloran, J. A., Kalaidina, E., Kim, W. *et al.*, 2021. SARS-CoV-2 RNAm vaccines induce persistent human germinal centre responses. *Nature*, 596: 109–113.
- Valdes-Balbin, Y., Santana-Mederos, D., Paquet, F., Fernandez, S. *et al.*, 2021. Molecular aspects concerning the use of the SARS-CoV-2 receptor binding domain as a target for preventive vaccines. *ACS central science*, 7: 757–767.
- van Doremalen, N., Lambe, T., Spencer, A., Belij-Rammerstorfer, S. *et al.*, 2020. ChAdOx1 nCoV-19 vaccine prevents SARS-CoV-2 pneumonia in rhesus macaques. *Nature*, 586: 578–582.
- van Erp, E. A., Luytjes, W., Ferwerda, G. y van Kasteren, P. B., 2019. Fc-mediated antibody effector functions during respiratory syncytial virus infection and disease. *Frontiers in immunology*, 10: 548.
- Voysey, M., Clemens, S., Madhi, S. A., Weckx, L. Y. *et al.*, 2021. Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK. *Lancet*, 397: 99–111.
- Walls, A. C., Park, Y. J., Tortorici, M. A., Wall, A. *et al.*, 2020. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell*, 181, 281–292.e6.
- Wang, H., Zhang, Y., Huang, B., Deng, W. *et al.*, 2020a. Development of an inactivated vaccine candidate, BBIBP-CorV, with potent protection against SARS-CoV-2. *Cell*, 182: 713–721.e9.
- Wang, N., Shang, J., Jiang, S. y Du, L., 2020b. Subunit vaccines against emerging pathogenic human coronaviruses. *Frontiers in microbiology*, 11: 298.
- Wang, Y. yang, C., Song, Y., Coleman, J. R. *et al.*, 2021. Scalable live-attenuated SARS-CoV-2 vaccine candidate demonstrates preclinical safety and efficacy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118: e2102775118.
- Ward, B. J., Gobeil, P., Séguin, A., Atkins, J., Boulay, I. *et al.*, 2021. Phase 1 randomized trial of a plant-derived virus-like particle vaccine for COVID-19. *Nature medicine*, 27: 1071–1078.
- Woźniak, E., Tyczewska, A. y Twardowski, T., 2021. A shift towards biotechnology: Social opinion in the EU. *Trends in biotechnology*, 39: 214–218.
- Wrapp, D., Wang, N., Corbett, K. S., Goldsmith, J. A. *et al.*, 2020. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*, 367: 1260–1263.

- Wu, F., Zhao, S. yu, B., Chen, Y. M. *et al.*, 2020. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 579: 265–269.
- Xia, S., Duan, K., Zhang, Y., Zhao, D. *et al.*, 2020. Effect of an inactivated vaccine against SARS-CoV-2 on safety and immunogenicity outcomes: Interim analysis of 2 randomized clinical trials. *JAMA*, 324: 951–960.
- Yang, S., Li, Y., Dai, L., Wang, J., He, P. *et al.*, 2021. Safety and immunogenicity of a recombinant tandem-repeat dimeric RBD-based protein subunit vaccine (ZF2001) against COVID-19 in adults: two randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1 and 2 trials. *The Lancet. Infectious diseases*, 21: 1107–1119.
- Zhao, X., Zheng, A., Li, D., Zhang, R. *et al.*, 2021. Neutralisation of ZF2001-elicited antisera to SARS-CoV-2 variants. *The Lancet. Microbe*, 2: e494.
- Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Li, X. *et al.*, 2012. PAMPs and DAMPs: signal os that spur autophagy and immunity. *Immunological reviews*, 249: 158–175.
- Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Li, X. *et al.*, 2020a. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *The New England journal of medicine*, 382: 727–733.
- Zhu, F. C., Li, Y. H., Guan, X. H., Hou, L. H. *et al.*, 2020b. Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial. *Lancet*, 395: 1845–1854.

Páginas web consultadas

- Covid19 vaccine tracker. © 2021 McGill COVID19 Vaccine Tracker Team: <https://covid19.trackvaccines.org> (acceso 17/10/2021).
- EMA - Ad26.COV2.s: https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/covid-19-vaccine-janssen-epar-product-information_en.pdf (acceso 18-10-2021).
- EMA - COVID-19 vaccines: development, evaluation, approval and monitoring: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/public-health-threats/coronavirus-disease-covid-19/treatments-vaccines/vaccines-covid-19/covid-19-vaccines-development-evaluation-approval-monitoring> (acceso 18-10-2021).
- EMA - Safety of COVID-19 vaccines: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/public-health-threats/coronavirus-disease-covid-19/treatments-vaccines/vaccines-covid-19/safety-covid-19-vaccines> (acceso 18-10-2021).
- EMA starts rolling review of COVID-19 vaccine Vidprevtyn: <https://www.ema.europa.eu/en/news/ema-starts-rolling-review-covid-19-vaccine-vidprevtyn> (acceso 15-10-2021).
- EU Vaccines: https://ec.europa.eu/info/research-and-innovation/research-area/health-research-and-innovation/coronavirus-research-and-innovation/vaccines_en (acceso 15-09-2021).
- EMA - Vaxzevria (previously COVID-19 Vaccine AstraZeneca) EPAR - Product information: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/vaxzevria-previously-covid-19-vaccine-astrazeneca-epar-product-information_en.pdf (acceso 15/09/2021).

- FDA - VRBPAC informe sobre la vacuna BNT162b2: <https://www.fda.gov/media/144245/download> (acceso 15/09/2021).
- FDA - VRBPAC informe sobre la vacuna ARNm-1273: <https://www.fda.gov/media/144434/download> (acceso 15/09/2021).
- Indian Central Drugs Standard Control Organization. COVID-19 vaccines approved for Restricted Use in Emergency Situation in the country: https://cdsco.gov.in/opencms/opencms/system/modules/CDSCO.WEB/elements/download_file_division.jsp?num_id=NzY2OQ== (acceso 14/10/2021).
- NCT04636697, Study of a Recombinant Coronavirus-Like Particle COVID-19 Vaccine in Adults: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04636697> (acceso 16/10/2021).
- NCT04619628, Safety and Immunogenicity of COVI-VAC, a Live Attenuated Vaccine Against COVID-19: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04619628> (acceso 15/10/2021).
- Our Word in Data: Coronavirus Pandemic (Covid-19): <https://ourworldindata.org/coronavirus> (acceso: 18/10/2021).
- SPARC (*Scholarly Publishing and Academic Resources Coalition*) Europa: <https://sparseurope.org/coronaopensciencereadsandusecases/> (acceso: 15/09/2021).
- WHO COVID-19 vaccine tracker and landscape: <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines> (acceso 15/10/2021).
- WHO/2019-nCoV/vaccines/SAGE_recommendation/BIBP/background/2021.1: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1346944/retrieve> (acceso 18/10/2021).
- WHO/2019-nCoV/vaccines/SAGE_recommendation/Sinovac-CoronaVac/background/2021.1: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1348684/retrieve> (acceso 18/10/2021).
- WHO SAGE October 2021 meeting highlights: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/immunization/sage/2021/october/sage_oct2021_meetinghighlights.pdf?sfvrsn=3dcae610_15 (acceso 18/10/2021).
- WHO Interim statement on booster doses for COVID-19 vaccination: <https://www.who.int/news/item/04-10-2021-interim-statement-on-booster-doses-for-covid-19-vaccination> (acceso 20/10/2021).