

En busca de lo imprevisto

La investigación en ciencia básica indaga sobre un asunto para aumentar el conocimiento y la comprensión que tenemos de él. La ciencia básica no necesariamente produce resultados que son inmediatamente relevantes para la atención en salud. Sin embargo, el conocimiento adquirido es con frecuencia fundamental para progresar en los pasos necesarios para lograr nuevos descubrimientos relevantes, por ejemplo, para el cuidado del paciente o para la prevención de enfermedades.

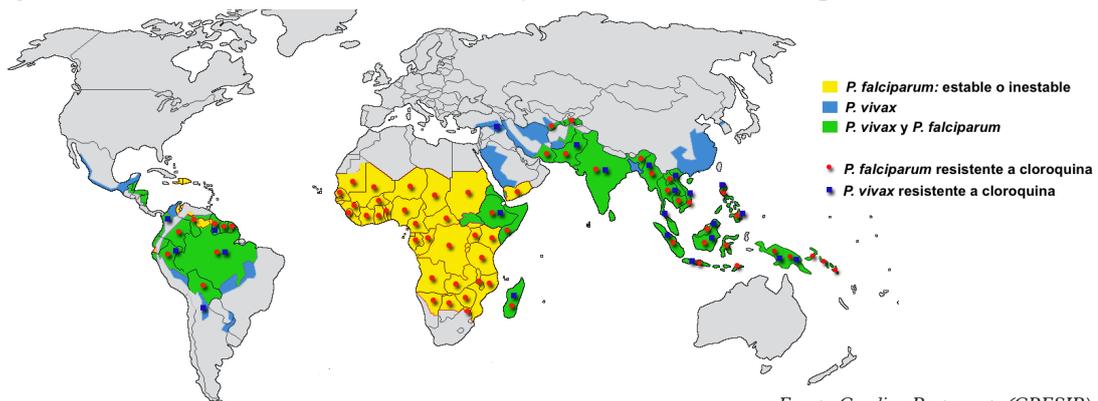
Esto es así porque la ciencia básica forma parte de un continuo de investigación que no se puede despiezar sin que devenga inútil. Si bien en medicina ha sido habitual establecer nomenclaturas por las que junto con la básica tendríamos la ciencia traslacional, la preclínica y la clínica, en realidad todas ellas constituyen un todo inseparable que se retroalimenta incesantemente.

Entonces, ¿por qué a tantas personas les cuesta reconocer el gran valor social de la ciencia básica? Varias pueden ser las razones, pero dos son las que sobresalen: una, que la fuerza motriz de la investigación fundamental es un delicado equilibrio entre la voluntad de utilidad y el deseo de curiosidad. La simple curiosidad ha proporcionado geniales hallazgos al género humano pero en la actualidad, para

La malaria y su impacto

La malaria o paludismo es una enfermedad producida por parásitos protozoarios del género *Plasmodium*. Existen cinco especies de *Plasmodium* que provocan malaria en humanos: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* y *P. knowlesi*. *P. falciparum* y *P. vivax* son responsables de la mayor parte de la carga de esta enfermedad en el mundo (Fig.1). *P. falciparum* provoca anualmente más de 200 millones de casos clínicos y un millón de muertes, especialmente en niños menores de cinco años en el África subsahariana, así como graves complicaciones en el desarrollo fetal cuando la malaria afecta a mujeres embarazadas, incluyendo muertes maternas. *P. vivax* es el parásito más frecuente y más extensamente distribuido a nivel mundial y es responsable de cerca de 100-300 millones de casos clínicos por año, incluyendo casos de enfermedad grave y muerte. La lucha contra la malaria es cada vez más difícil debido a que los parásitos se hacen resistentes a los fármacos antimaláricos, tales como la cloroquina (Fig.1) y a las complejas interacciones con otras infecciones prevalentes en las zonas donde la malaria es endémica, como el VIH.

Figura 1: Distribución mundial de la malaria y su resistencia a la cloroquina



Fuente: Carolina Bustamante (GRESIB)

muchas agencias, es percibida como no prioritaria si no ofrece resultados prácticos inmediatos; y dos, relacionado con el punto anterior, la ciencia básica es la disciplina científica en la que es menos evidente o previsible la conexión entre sus hallazgos y su aplicación práctica: no es que no exista tal conexión, es que necesita ser explicada para ser percibida.

El parásito de la malaria se resiste...

Pese a los avances de los últimos años, la malaria es una enfermedad que se resiste a ser controlada y, en lo posible, eliminada. Todavía no disponemos de una vacuna de gran eficacia, fácil de administrar, de bajo coste y ampliamente accesible para quienes más la necesitan: personas vulnerables en situación de riesgo de infectarse. Sí que contamos con medicación eficaz para quienes ya han adquirido la enfermedad pero el patógeno que causa la malaria es capaz de desarrollar resistencia.

De la misma manera que antibióticos como la penicilina han ido perdiendo eficacia frente a muchas bacterias, el protozoo causante de la malaria ha desarrollado resistencias a todos los fármacos desplegados hasta ahora para eliminarlo. La carrera contra el reloj para ir actualizando el arsenal de compuestos antimaláricos se complica a consecuencia de la perversa fisiología del parásito y por condicionantes geo-económicos. Además de pasar la mayor parte de su existencia escondido dentro de los glóbulos rojos, parte del ciclo biológico de *Plasmodium* se desarrolla en mosquitos del género *Anopheles*, y además los grandes simios son infectados por especies de *Plasmodium* que bajo ciertas circunstancias pueden dar el salto al ser humano. Y aunque todos los esfuerzos invertidos en desarrollar una nueva arma fuesen exitosos, lamentablemente quizás con ello no bastaría: ese nuevo fármaco no sólo tiene que ser eficiente, sino también barato: prácticamente todos los casos de malaria se dan en regiones empobrecidas y de escaso atractivo para las grandes compañías farmacéuticas.

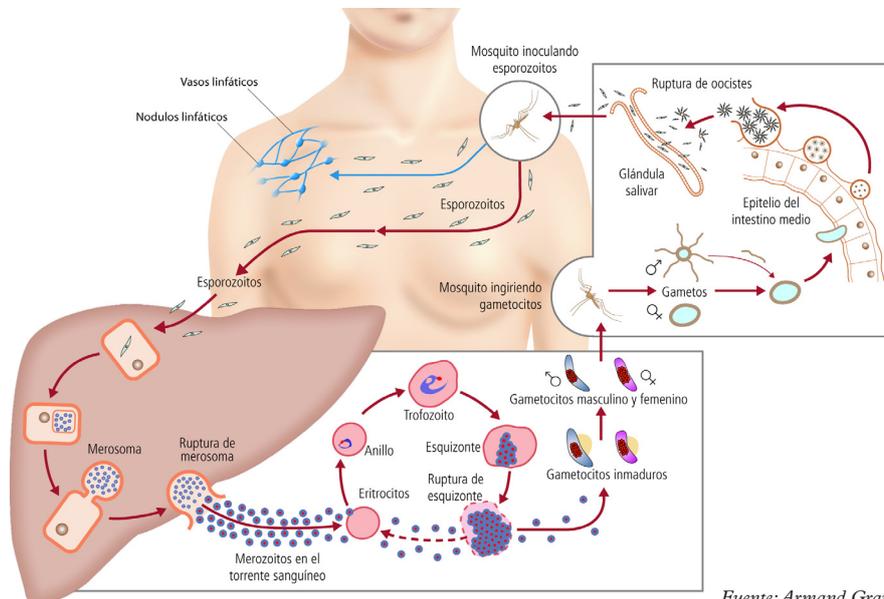
El microbio de la malaria ha desarrollado mecanismos sofisticados para evitar ser eliminado por el sistema inmunológico. A diferencia de muchas enfermedades frente a las que el cuerpo humano puede desarrollar inmunidad completa, hecho sobre el que se fundamentan las vacunas efectivas, una sola infección no nos hace resistentes a la malaria.

Se requieren repetidas infecciones para desarrollar resistencia a la malaria: los niños que viven en zonas con mucha malaria se vuelven progresivamente resistentes a diferentes manifestaciones de la enfermedad, pero la protección nunca llega a ser completa. Por tanto, para desarrollar una vacuna efectiva no basta con inducir respuestas inmunológicas que imiten las que se producen cuando se resulta infectado una vez, como ocurre con algunas otras enfermedades.

La primera vacuna contra la malaria

RTS,S es la vacuna experimental de la malaria más avanzada. Desarrollada por GlaxoSmithKline en colaboración con numerosas instituciones de investigación internacionales (entre las cuales CRESIB) y PATH-MVI, esta vacuna ha demostrado ser segura y eficaz frente a la malaria con un nivel de protección de alrededor del 50% en numerosos estudios clínicos de fase I y II. Actualmente está siendo testada en un gran ensayo multicéntrico de fase III en Africa en su última etapa antes de su posible registro. A pesar de lo esperanzador de estos resultados, la eficacia de la vacuna es todavía parcial, la duración de su protección limitada, y todavía se desconoce su modo de acción.

Figura 2: Explicación del ciclo reproductivo del patógeno de la malaria



Fuente: Armand Gran (CRESIB)

El genoma del parásito contiene más de 5000 genes que codifican una proteína cada uno, mientras que algunos otros patógenos, como los virus, contienen muy pocos genes, o algunas bacterias codifican una sola toxina responsable de los síntomas clínicos. Esto implica que el *Plasmodium* es un microorganismo de una gran complejidad. Sin un conocimiento profundo del funcionamiento del parásito, es casi imposible seleccionar qué proteínas pueden ser el talón de Aquiles del parásito para desarrollar vacunas contra ellas. ¡No podemos probarlas todas, ni elegir las que vamos a testar al azar!

Indudablemente se necesitará un conocimiento más profundo de la biología del parásito y las respuestas inmunes contra él para conseguir una vacuna altamente eficaz contra la malaria o para desarrollar nuevos fármacos. Este conocimiento profundo sólo puede alcanzarse mediante la investigación básica.

...pero nosotros seguimos hurgando en su interior

El Centro de Investigación en Salud Internacional de Barcelona (CRESIB), el centro de investigación de ISGlobal, tiene abiertas varias líneas de investigación en ciencia básica que buscan comprender mejor los puntos débiles del parásito de la malaria.

Una diana muy dulce

Las proteínas que son secretadas o mostradas en la superficie de las células suelen tener azúcares unidos a ellas. La unión de estos azúcares mediante un proceso al que denominamos glicosilación, es necesaria para el correcto funcionamiento de dichas proteínas. Hasta ahora, la única estructura glicosilada descrita en *P. falciparum* son unos glicolípidos que anclan algunas proteínas esenciales a la superficie del parásito y que, según algunos estudios, actúan como una toxina sobre el huésped. Sin embargo, en el genoma de *Plasmodium* se hallan conservadas las rutas metabólicas responsables de la síntesis de precursores (azúcares) ignorados hasta ahora en el parásito, que posiblemente estén involucrados en nuevas glicosilaciones aún no descritas.

En CRESIB estamos trabajando en la reconstrucción de las vías de síntesis de estos precursores, que permitiría identificar nuevas dianas terapéuticas: reacciones que son esenciales para el parásito y que, si son inhibidas, posibiliten su eliminación¹.

¡Atrapa a ese *Plasmodium*!

Una de las dificultades principales en la lucha contra la malaria es la capacidad del parásito de evolucionar y adaptarse a cambios en su entorno. Trabajos recientes llevados a cabo por CRESIB indican que esto ocurre en gran medida como consecuencia de diferencias heredables entre organismos genéticamente idénticos²: es lo que llamamos epigenética. En concreto, estas investigaciones muestran que en una población de parásitos donde todos ellos tienen los mismos genes (como si fueran todos gemelos), no todos los parásitos utilizan los mismos genes. Esta es la base de un mecanismo para adaptarse a cambios naturales en el entorno, e incluso a la presencia de algunos fármacos o potenciales vacunas. Entender cómo el parásito puede evolucionar y adaptarse a nuevas situaciones es importante para adelantarse en el parásito y diseñar herramientas de control a las que no se pueda adaptar. Por lo tanto, este trabajo puede ayudar a priorizar qué fármacos y vacunas se deberían llevar a la fase de desarrollo clínico, ahorrando tiempo y dinero. En CRESIB también estamos estudiando cómo interferir en la capacidad del parásito para adaptarse.

Eviten las aglomeraciones

Otro objetivo de los equipos de CRESIB es investigar cómo hace el parásito de la malaria para unirse a moléculas presentes en órganos del huésped humano (por ejemplo, el cerebro o la placenta en mujeres embarazadas) permitiéndole así alcanzar altas densidades. La acumulación de *P. falciparum* en estos órganos causa formas graves de la enfermedad como el coma cerebral, anemia grave o partos prematuros. La identificación de los mecanismos moleculares implicados en estas interacciones, así como de las respuestas inmunológicas capaces de bloquear estas adhesiones, podrían ayudar a desarrollar nuevas estrategias para reducir la gravedad de la infección por malaria, salvando millones de vidas cada año³⁻⁴.

Cambio de chaqueta

Para entender las bases moleculares de la patología de *P. vivax* estudiamos los genes variantes de esta especie, los cuales son en buena parte responsables de su patología. El desafío a la hora de estudiar estos genes radica en su naturaleza variante. Para entender el problema basta imaginar que un empleado de una oficina tenga el encargo de ir a la

¹ L. Izquierdo, B.L. Schulz, J.A. Rodrigues, M.L.S. Guther, J.B. Procter, G.J. Barton, M. Aebi and M.A.J. Ferguson, 2009, "Distinct donor and acceptor specificities of Trypanosoma brucei oligosaccharyltransferases", The EMBO Journal, 28:2650-61.

² N. Rovira-Graells, A.P. Gupta, E. Planet, V.M. Crowley, S. Mok, L. Ribas de Pouplana, P.R. Preiser, Z. Bozdech and A. Cortés, 2012, "Transcriptional variation in the malaria parasite Plasmodium falciparum", Genome Res., 22:925-38 (destacado en Nat. Rev. Genet. 2012, 13:298-9).

³ Bernabeu M, Lopez FJ, Ferrer M, Martin-Jaular L, Razaname A, Corradin G, Maier AG, Del Portillo HA, Fernandez-Becerra C. "Functional analysis of Plasmodium vivax VIR proteins reveals different subcellular localizations and cytoadherence to the ICAM-1 endothelial receptor". Cell Microbiol. 2012 Mar;14(3):386-400.

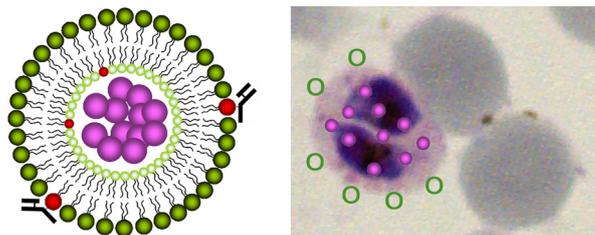
⁴ Mayor A, Hafiz A, Bassat Q, Rovira-Vallbona E, Sanz S, Machevo S, Aguilar R, Cisteró P, Sigauque B, Menéndez C, Alonso PL, Chitnis CE. "Association of severe malaria outcomes with platelet-mediated clumping and adhesion to a novel host receptor". PLoS One. 2011 Apr 29;6(4):e19422.

calle e identificar a un visitante vestido con una chaqueta roja. La persona va, lo identifica y regresa con los datos. A continuación, se le pide a una segunda persona que con los datos conseguidos por la primera vaya a buscar y traiga al mismo visitante, quien durante ese lapso de tiempo transcurrido ha cambiado su chaqueta por otra de color verde. Esto es lo que sucede con nuestro sistema inmune: cada vez que logramos una respuesta inmunológica contra uno de estos genes, el parásito se cambia de chaqueta y todo el esfuerzo de identificación llevado a cabo debe empezar de nuevo. En CRESIB investigamos para entender los mecanismos que llevan a estos cambios de chaqueta, de manera que podamos identificar definitivamente al parásito e intentar destruirlo.

La bala mágica

El parásito de la malaria infecta a los glóbulos rojos en cuya superficie deja marcas de su presencia. Si estas marcas, o cerraduras, pueden ser reconocidas por una llave, se pueden diseñar pequeñas cápsulas llenas de fármaco contra el parásito a las que se pueden pegar las llaves. Al juntar una pequeña cápsula (o nanocápsulas) y una llave tenemos un nanovector.

Figura 3: Esquema de una bala mágica contra la malaria⁵



Fuente: *J. Control. Release* 2011

En CRESIB trabajamos para construir nanovectores que lleven y liberen su contenido de fármaco antimalárico sólo a los glóbulos rojos infectados, y no a los sanos ni a ninguna otra célula del cuerpo: una bala mágica. Si conseguimos esto podremos administrar a las personas enfermas de malaria cantidades de fármaco suficientemente bajas como para no tener efectos secundarios nocivos, pero lo suficientemente elevadas localmente como para no dejar ningún parásito vivo.⁶

El caballo de Troya

En CRESIB queremos descubrir nuevas dianas y desarrollar una nueva plataforma de vacunas contra *P. vivax*. Para ello, buscamos utilizar la propia

biología del parásito a nuestro favor. *P. vivax* invade glóbulos rojos inmaduros conocidos como reticulocitos. Para madurar a glóbulos rojos, los reticulocitos se desprenden de su membrana a través de la formación de pequeñísimas nanovesículas extracelulares. Sospechamos que el parásito utiliza estas nanovesículas para enviar señales a diferentes órganos del ser humano y establecer infecciones crónicas. Ya hemos identificado proteínas del propio parásito en estas nanovesículas. Cuando aislamos estas nanovesículas y las usamos como vacuna en modelos de roedores, las mismas son capaces de proteger a los ratones de un desafío letal. En este momento, estamos investigando qué proteínas del parásito están asociadas con esta protección y estamos desarrollando un método que pueda ser escalable para la producción de dichas nanovesículas. Éstas podrían usarse al igual que un “caballo de Troya” contra el propio parásito, un modelo que incluso en un futuro podría emplearse para abordar otras enfermedades distintas a la malaria⁷.

Perpetuar la memoria

Una pregunta clave para diseñar la segunda generación de vacunas de la malaria es caracterizar las respuestas inmunes protectoras que induce la candidata a vacuna RTS,S y los factores que afectan a la longevidad de la inmunidad. Para abordar esta cuestión es imprescindible redirigir nuestra atención a la ciencia básica. En CRESIB, investigamos cuáles son los procesos fisiológicos que necesitan ser estimulados para combatir al parásito. El sistema inmune de una persona eficazmente vacunada funciona como una compleja red de células y cascada de señales que se activan cada vez que se reinfecta, de manera que recuerda de qué parásito se trata y lo ataca más rápidamente, evitando así el desarrollo de la enfermedad. En CRESIB tratamos de identificar cuáles son las células (linfocitos T y B) y mediadores inmunes (anticuerpos⁸, citocinas y quimiocinas) que circulan en la sangre de niños vacunados con RTS,S que perpetúen la memoria inmunológica. Este conocimiento nos permitiría manipular, llegado el caso, la inducción de respuestas inmunes mediante formulaciones y adyuvantes mejorados que propicien la duración de respuestas identificadas como protectoras.

La investigación básica es en definitiva uno de los pilares fundamentales para el avance de la medicina y el abordaje de los grandes retos en salud que afronta la humanidad. En CRESIB contribuimos con pasión a reforzar dicho pilar con el deseo de erradicar la malaria de la faz de la tierra.

⁵ A la izquierda se muestra una cápsula (en verde) que contiene un fármaco (en rosa) que está recubierto por moléculas que reconocen los glóbulos rojos infectados por *Plasmodium*. A la derecha, se muestra la actividad deseable para una bala mágica: sólo las células infectadas reciben el fármaco, no las sanas.

⁶ P. Urbán, J. Estelrich, A. Cortés and X. Fernández-Busquets, 2011, “A nanovector with complete discrimination for targeted delivery to *Plasmodium falciparum*-infected versus non-infected red blood cells in vitro”, *J. Control. Release*, 151:202-11.

⁷ Martín-Jaular L, Nakayasu ES, Ferrer M, Almeida IC, Del Portillo HA. “Exosomes from *Plasmodium yoelii*-infected reticulocytes protect mice from lethal infections”. *PLoS One*. 2011;6(10):e26588. (Patente n° 10800764.2).

⁸ Campo JJ, Dobaño C, Sacarlal J, Guinovart C, Mayor A, Angov E, Dutta S, Chitnis C, Macete E, Aponte JJ, Alonso PL. “Impact of the RTS,S malaria vaccine candidate on naturally acquired antibody responses to multiple asexual blood stage antigens”. *PLoS One*. 2011;6(10):e25779.