



FACULTAD DE FARMACIA

Grado en Farmacia

REVISIÓN SISTEMÁTICA SOBRE LA EFICACIA DE LA VACUNA DE NANOPARTÍCULAS FRENTE AL SARS-CoV-2

Memoria de Trabajo Fin de Grado

Sant Joan d'Alacant

Junio 2022

Autor: Ainhoa Cano Hernández

Modalidad: Revisión bibliográfica

Tutor/es: Amelia Ramón López y Ricardo Nalda Molina

ÍNDICE

1. RESUMEN	3
2. INTRODUCCIÓN	4
3. OBJETIVO	12
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	13
I. DISEÑO	13
II. FUENTE DE OBTENCIÓN DE LOS DATOS	13
III. TRATAMIENTO DE LA INFORMACIÓN	13
IV. SELECCIÓN FINAL DE LOS ARTÍCULOS.....	14
5. RESULTADOS	15
6. DISCUSIÓN	19
7. CONCLUSIONES	34
8. BIBLIOGRAFÍA.....	35



1. RESUMEN

Objetivo: Realizar una revisión sistemática sobre la eficacia de la vacuna de nanopartículas frente al virus SARS-CoV-2.

Metodología: Análisis crítico de los artículos recuperados mediante revisión sistemática. Los datos se obtuvieron al consultar directamente, vía Internet, la base de datos MEDLINE, a través de PubMed. Se seleccionaron los artículos que se adecuaban a los criterios de búsqueda (vacuna de nanopartículas), que estuvieran escritos en inglés y/o castellano y que se pudiera acceder al texto completo, independientemente de la especie animal estudiada. Se excluyeron los artículos que no se adecuaban a los criterios de búsqueda.

Resultados: Después de aplicar los criterios de inclusión y exclusión, de los sesenta y tres artículos encontrados se aceptaron para realizar la revisión ocho de ellos. Donde se observó que en muchas de las investigaciones la vacuna de nanopartículas era capaz de eliminar por completo al virus SARS-CoV-2.

Conclusión: La vacuna de nanopartículas es una muy buena opción para poner fin al virus SARS-CoV-2, pues al conseguir eliminar por completo al virus se para la cadena de transmisión y al tener un fácil almacenamiento puede ser accesible para todos los países, pero aún queda investigar más, pues en humanos se desconoce si la vacuna de nanopartículas tendría la misma eficacia.

Palabras clave: Infecciones por coronavirus, vacunas, nanopartículas, resultado del tratamiento, eficacia.

2. INTRODUCCIÓN

En diciembre de 2019 en la ciudad de Wuhan (China) se observaron casos de neumonía de origen desconocido y que era altamente contagiosa. Al virus que provocaba esta neumonía se le denominó coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV-2: Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) y a la enfermedad que producía COVID-19¹.

El virus SARS-CoV-2 es un virus de ARN monocatenario perteneciente al género *Betacoronavirus* de la familia *Coronaviridae*. Su genoma codifica cuatro proteínas estructurales: la espiga (S:Spike), la envoltura, la membrana y la nucleocápside, dieciséis proteínas no estructurales y diversas proteínas accesorias².

En España el momento de mayor incidencia de COVID-19 hasta la fecha fue en enero de 2022 (en plena sexta ola de pandemia), donde se registraron datos de incidencia acumulada de 3.418 casos / 100.000 habitantes³.

Así mismo, a fecha del 12 de enero de 2022 la prevalencia de la enfermedad era de 7.771.367 casos confirmados de COVID-19 y 90.508 personas fallecidas a causa de la COVID-19⁴.

El SARS-CoV-2 para poder empezar a replicarse debe unirse primero a las células epiteliales. Los receptores de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2: Angiotensin converting enzyme-2) y la proteasa transmembrana de la serina 2 (TMPRSS2: Transmembrane serine protease 2) son los que más involucrados están en la entrada del virus. Posteriormente, el virus avanza hasta llegar a las vías respiratorias, es en este momento donde se dan muchos de los síntomas. Después, el virus produce una inflamación sistémica, dependiendo de los síntomas que presenten los pacientes, esta inflamación puede agravar los síntomas, e incluso provocar que se requiera la

hospitalización de los pacientes. Finalmente, el estado de los pacientes puede empeorar conduciendo a fallo multiorgánico y muerte⁵.

Los síntomas y signos de la COVID-19 pueden ser leves y/o graves, estos son: fiebre, escalofríos, tos, dificultad para respirar que puede progresar al síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), fatiga, dolor muscular, dolor de cabeza, pérdida del sentido del gusto y/o del olfato, dolor de garganta, congestión o secreción nasal, náuseas y vómitos, diarrea, dolor o presión en el pecho que persiste, confusión, incapacidad para despertarse, labios o cara azulados, neumonía, daño hepático, cardíaco, renal y/o endotelial, trombosis y disfunción multiorgánica (figura 1). Destacar que las personas con COVID-19 pueden presentar alguno de estos síntomas o incluso todos, pero que muchas personas no experimentan ninguno de los síntomas anteriormente mencionados, son los llamados asintomáticos⁶.

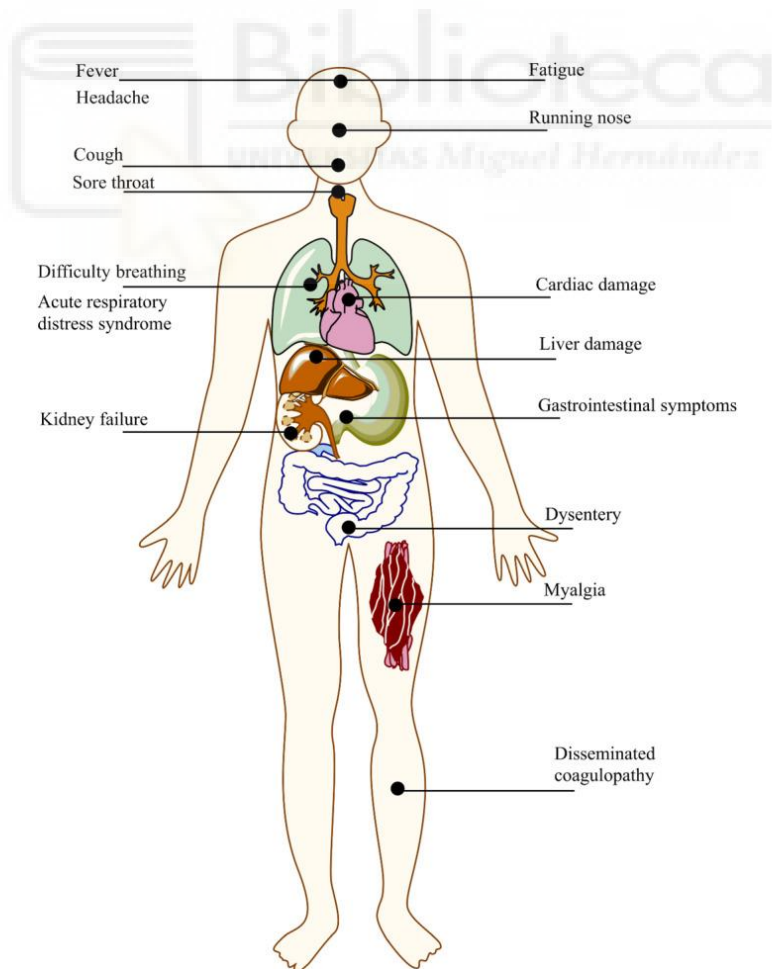


Figura 1. Síntomas principales de la COVID-19⁵.

El principal problema que se ha encontrado el mundo con este virus es la rapidez con la que han ido apareciendo nuevas variantes y es que la velocidad de las mutaciones ha sido de $1,1 \times 10^{-3}$ sustituciones por sitio por año, esto equivale a aproximadamente una sustitución cada 11 días. La gran mayoría de las mutaciones que se iban produciendo no han significado un cambio relevante, pero unas pocas mutaciones han dado lugar a nuevas variantes importantes del virus SARS-CoV-2. Estas nuevas variantes presentaban diferencias en la unión con el receptor, la eficacia de los diferentes tratamientos, la gravedad y/o la transmisibilidad de la enfermedad⁷.

El tratamiento de la COVID-19 se divide en: tratamiento antiviral, tratamiento antiinflamatorio, tratamiento inmunomodulador y tratamiento anticoagulante y antiplaquetario⁸.

El tratamiento antiviral está formado por:

- **Lopinavir/Ritonavir:** Lopinavir es un inhibidor de la proteasa utilizado para el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y tiene actividad *in vitro* frente al virus SARS-CoV-1. Al combinarlo con ritonavir se obtienen concentraciones plasmáticas mayores de lopinavir, pues ritonavir inhibe al citocromo P450⁵.
Efectos adversos: diarrea, náuseas, vómitos, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, pancreatitis y prolongación del intervalo QT. Además, hay tener en cuenta las posibles interacciones con otros fármacos porque se inhibe al citocromo P450⁸.
- **Remdesivir:** Profármaco que se transforma en un análogo de adenosina trifosfato que inhibe las ARN polimerasas víricas. Tiene actividad frente a los virus de la familia de los filovirus, coronavirus y paramixovirus, entre otros. Este antivírico tiene menos interacciones que otros. Además, su uso está aprobado en España para pacientes hospitalizados por COVID-19 grave⁸.
- **Hidroxiclороquina/Azitromicina:** Hidroxiclороquina es una 4-aminoquinolina antipalúdica que tiene actividad *in vitro* frente al SARS-

CoV-2. Produce una potente inhibición de la infección causada por este virus. Su combinación con azitromicina reduce significativamente la carga viral⁵.

Al combinar ambos fármacos puede producirse prolongación del intervalo QT⁸.

- **Interferón-β 1b:** Presenta actividad antivírica e inmunorreguladora. Tiene actividad *in vitro* frente al SARS-CoV-2. Ha sido utilizado en monoterapia o junto con lopinavir/ritonavir. Hay que tener en cuenta las posibles interacciones que puede haber con otros fármacos porque el Interferón-β 1b inhibe al citocromo P450.
Efectos adversos: fiebre, escalofríos, cefalea, artralgia, mialgia, hipoglucemia, diarrea, elevación de las transaminasas, anemia, trombocitopenia, entre otros⁸.
- **Favipiravir:** Profármaco que al transformarse en la forma activa inhibe la ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp: RNA-dependent RNA polymerase), que es imprescindible para la replicación del virus. Ocasiona mejoría de los síntomas de los pacientes con COVID-19. Efectos adversos: anomalías de las enzimas hepáticas, trastornos psiquiátricos, síntomas gastrointestinales y elevación del ácido úrico sérico⁵.
- **Molnupiravir:** Actúa contra la polimerasa del virus y la desvía para poder añadir adenosina o guanosina en la replicación viral, provocando así errores que hagan al virus no infeccioso⁵.
- **Nirmatrelvir/Ritonavir (Paxlovid™):** Único medicamento oral para el tratamiento y la profilaxis de la COVID-19, recientemente ha sido autorizado su uso en España (abril 2022). Nirmatrelvir se trata de un inhibidor peptidomimético de la principal proteasa del SARS-CoV-2. Ritonavir se trata de un inhibidor de la proteasa del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y de la isoforma CYP3A del citocromo P450⁹.

El tratamiento antiinflamatorio está formado por:

- **Corticoesteroides:** Metilprednisolona, dexametasona e hidrocortisona. Producen que aumente la transcripción génica de las citocinas antiinflamatorias, que disminuya la transcripción de genes de citocinas proinflamatorias, quimiocinas y moléculas de adhesión y reducen la respuesta inflamatoria. El uso de corticoesteroides está relacionado con menor mortalidad⁵.
- **Antiinflamatorios no esteroideos (AINE) y paracetamol:** El paracetamol es el tratamiento de primera línea para los casos que no son graves. Se recomienda el uso de paracetamol o AINE en pacientes con COVID-19 no grave porque ayudan a combatir los síntomas leves⁵.

El tratamiento inmunomodulador está formado por:

- **Tocilizumab:** Anticuerpo monoclonal recombinante que se une y bloquea al receptor soluble y al receptor de membrana de la interleucina-6 (IL-6).
Efectos adversos: infecciones del tracto respiratorio superior, nasofaringitis, cefalea, hipertensión, aumento de las transaminasas, infecciones graves, complicaciones de diverticulitis y reacciones de hipersensibilidad. En España se recomienda administrarlo en las fases en la que sea más probable frenar la cascada inflamatoria⁸.
- **Sarilumab:** Anticuerpo monoclonal que actúa como antagonista del receptor de la IL-6⁸.
- **Inhibidores de la proteína-quinasa 1 asociada a AP2:** Baricitinib, fedratinib, sunitinib y erlitinib⁸.
- **Anakinra:** Antagonista recombinante del receptor de la interleucina-1 (IL-1).
Efectos adversos: reacción local en el lugar de inyección, infecciones graves y disminución de los neutrófilos⁸.
- **Ruxolitinib:** Inhibidor selectivo de las quininas asociadas a Janus (JAK 1 y JAK 2). En España se puede utilizar como uso compasivo o en ensayos clínicos.

Efectos adversos: trombocitopenia, neutropenia, anemia, hematomas, mareo y cefalea⁸.

- **Siltuximab:** Inhibidor de la IL-6. En España se puede utilizar como uso compasivo o en ensayos clínicos.

Efectos adversos: infecciones, prurito, erupción, artralgia, diarrea y reacción anafiláctica⁸.

- **Eculizumab:** Anticuerpo monoclonal inhibidor de la última porción de la cascada del complemento que está implicada en la respuesta inflamatoria. Mejora la supervivencia y disminuye la hipoxia en los casos graves de COVID-19⁵.

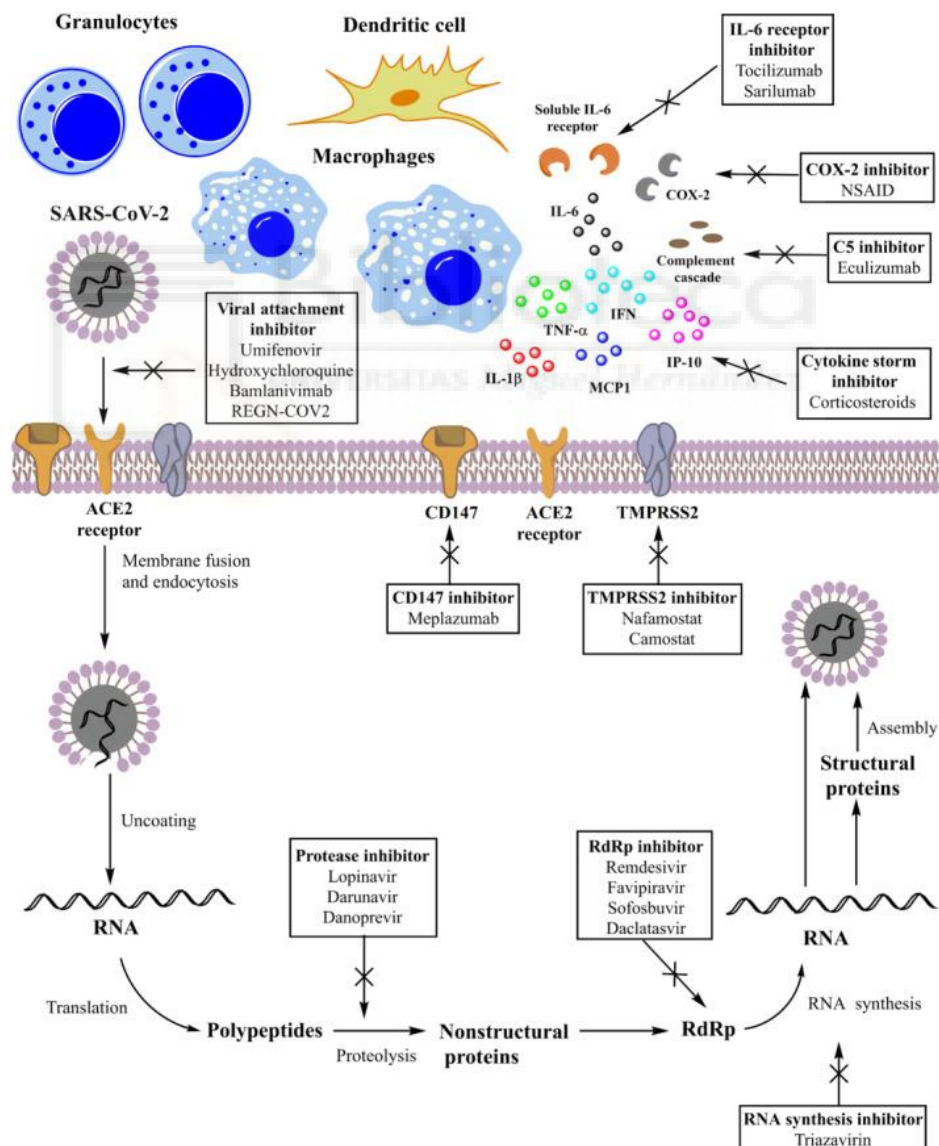


Figura 2. Posibles mecanismos de acción de los principales fármacos empleados en el tratamiento de la COVID-19⁵.

El tratamiento anticoagulante y antiplaquetario está formado por⁵:

- **Heparina de bajo peso molecular (HBPM):** Enoxaparina. Se utiliza en pacientes hospitalizados por COVID-19 a modo de prevención del tromboembolismo venoso. De elección, pues presenta menos interacciones que el resto de fármacos. Además, se puede emplear en embarazadas.
- **Ácido acetilsalicílico:** Inhibe las plaquetas de forma irreversible. Presenta acción antiinflamatoria y antitrombótica. Se ha visto que tiene actividad antiviral frente a virus de ADN y ARN.
- **Anticoagulantes orales u otros agentes antiplaquetarios:** Apixabán, rivaroxabán, warfarina, clopidogrel y prasugrel. Se utilizan, pero presentan muchas interacciones con los fármacos antivirales e inmunomoduladores utilizados en el tratamiento de la COVID-19.

Otras terapias:

- **Plasma convaleciente:** Está formado por un conjunto de compuestos inorgánicos y orgánicos, agua y proteínas. Los donantes de plasma convaleciente tienen que cumplir una serie de criterios específicos⁵.
- **Inmunoglobulina intravenosa (IgIV)**⁸.

La prevención frente a la COVID-19 consiste en mantener la distancia de seguridad, que es de mínimo un metro, utilizar mascarilla, lavarse las manos frecuentemente con agua y jabón o con gel hidroalcohólico, evitar aglomeraciones, ventilar bien los interiores y vacunarse¹⁰.

Las vacunas actualmente autorizadas frente al SARS-CoV-2 son cinco¹¹:

- **Cominarty de BioNTech/Pfizer:** Está formada por una molécula de ARNm (ARN mensajero) que tiene las instrucciones para producir la proteína espícula (*spike protein*) que está presente en la superficie del virus y la necesita para poder entrar en las células del cuerpo.
- **Spikevax de Moderna:** Prepara al cuerpo para defenderse de la enfermedad. Está formada por ARNm que proporciona las instrucciones necesarias para producir la proteína espicular.
- **Vaxzevria de AstraZeneca:** Prepara al cuerpo para defenderse de la enfermedad. Está formada por adenovirus modificado para contener el gen encargado de la formación de la proteína espícula.
- **Jcovden de Janssen:** Prepara al cuerpo para defenderse de la enfermedad. Está formada por adenovirus modificado para contener el gen encargado de la formación de la proteína espícula.
- **Nuvaxovid de Novavax:** Es la única vacuna de nanopartículas que está comercializada. Prepara al cuerpo para defenderse de la enfermedad. Presenta una versión de la proteína espícula, que se ha creado en el laboratorio, y un adyuvante, que ayuda a reforzar la respuesta inmunitaria.

3. OBJETIVO

Realizar una revisión sistemática sobre la eficacia de la vacuna de nanopartículas frente al virus SARS-CoV-2.



4. MATERIAL Y MÉTODOS

La realización de este trabajo ha sido autorizada por la Oficina Evaluadora de Proyectos de la Universidad Miguel Hernández con número de autorización: TFG.GFA.ARL.ACH.220505.

I. DISEÑO

Se trata de un análisis crítico de los artículos recuperados mediante revisión sistemática.

II. FUENTE DE OBTENCIÓN DE LOS DATOS

Los datos se obtuvieron al consultar directamente, vía Internet, la base de datos MEDLINE, a través de PubMed.

III. TRATAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

Para buscar los artículos se realizó la búsqueda siguiendo la estructura PICO y se consultó el DeCS para obtener los descriptores de ciencias de la salud.

La ecuación de búsqueda básica en MEDLINE fue: "Coronavirus Infections"[MeSH Terms] AND "Vaccines"[MeSH Terms] AND "Nanoparticles"[MeSH Terms] AND "Treatment Outcome"[MeSH Terms].

Como todo lo que se utilizó en la búsqueda básica fueron descriptores se decidió ampliar la búsqueda para recoger más información. La ecuación de búsqueda ampliada fue: (("Coronavirus Infections"[MeSH Terms] OR "Coronavirus Infection*"[Title/Abstract]) AND ("Vaccines"[MeSH Terms] OR "Vaccine*"[Title/Abstract]) AND ("Nanoparticles"[MeSH Terms] OR "Nanoparticle*"[Title/Abstract]) AND ("Treatment Outcome"[MeSH Terms] OR "Treatment Outcome"[Title/Abstract] OR "Efficacy"[Title/Abstract])).

Posteriormente se decidió utilizar el filtro de COVID-19 que ofrece PubMed para refinar la búsqueda y también se decidió filtrar por la categoría de COVID-19.

Todas las búsquedas descritas se realizaron en mayo de 2022.

IV. SELECCIÓN FINAL DE LOS ARTÍCULOS

Para este trabajo de fin de grado se seleccionaron los artículos que se adecuaban a los criterios de búsqueda (vacuna de nanopartículas), que estuvieran escritos en inglés y/o castellano y que se pudiera acceder al texto completo, independientemente de la especie animal estudiada. Se excluyeron los artículos que no se adecuaban a los criterios de búsqueda.



5. RESULTADOS

Aplicando los criterios de búsqueda descritos en el apartado anterior se recuperaron sesenta y tres artículos de la base de datos MEDLINE. Después de aplicar los criterios de inclusión y exclusión (figura 3), de los sesenta y tres artículos encontrados se aceptaron para realizar la revisión ocho de ellos (tabla 1).

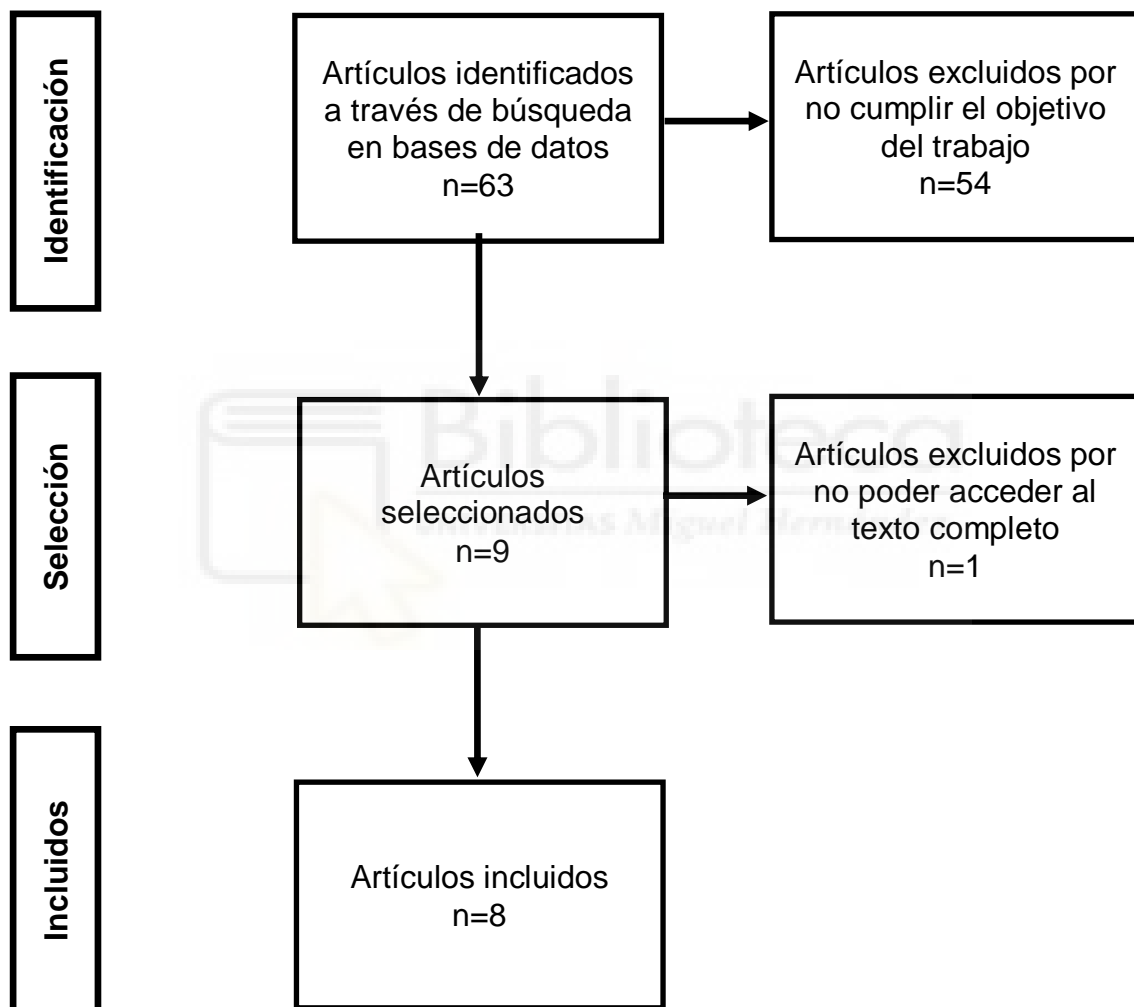


Figura 3. Esquema explicativo de cómo se ha realizado la identificación y selección de los registros.

Características de los artículos seleccionados				
Autor, año	Tipo de animal	Número de animales	Periodo del estudio	Resultados principales
Guidenn Sulbaran, 2022 ¹²	Macacos cynomolgus	4	22 semanas	<p>Se observó que no había restos de ARN viral ni en el tracto respiratorio superior ni en el tracto respiratorio inferior en los macacos vacunados con la glicoproteína sintética SARS-CoV-2 pico recubierta en vesículas lipídicas (S-LV: S coated onto lipid vesicles).</p> <p>La vacunación con S-LV podría producir una inmunidad esterilizante, que podría interrumpir la cadena de transmisión del virus.</p> <p>La vacunación con S-LV provocó una fuerte neutralización contra las variantes Alfa, Beta y Gamma.</p>
Hui Zhao, 2021 ²	Macacos cynomolgus	10	59 días	<p>Se demostró que la vacuna ARCoV previno la secreción viral tanto en el tracto respiratorio superior como en el inferior de los macacos vacunados.</p> <p>Se concluyó que la vacuna servía para eliminar la replicación del virus en las vías respiratorias.</p> <p>La vacunación con ARCoV consiguió neutralizar las variantes Beta y Delta, y, además, presentó un perfil de estabilidad ideal.</p>
Mohamad-Gabriel Alameh, 2021 ¹³	Ratones BALB/c	30	20 semanas	<p>Se vio que las nanopartículas lipídicas (LNP: Lipid nanoparticle) tienen una gran actividad adyuvante y mejoran la eficacia de las vacunas de subunidades de proteínas, pero el mecanismo de acción de esta vacuna se desconoce.</p> <p>La vacuna con adyuvante de LNP originó títulos de IgG específicos del dominio de unión al receptor (RBD: receptor-binding domain) duraderos que fueron significativamente más superiores que los que originó la vacuna con AddaVax.</p> <p>El lípido ionizable es el causante de que la formulación LNP tenga actividad adyuvante y, además, la formulación de nanopartículas lipídicas vacías (eLNP: Empty lipid nanoparticle) activa una fuerte producción de IL-6.</p>

Tabla 1. Características de los artículos seleccionados.

Características de los artículos seleccionados				
Autor, año	Tipo de animal	Número de animales	Periodo del estudio	Resultados principales
Golamabbas Mohammadi, 2021 ¹⁴	Ratones BALB/c y humanos con COVID-19	20 y 10	6 semanas	<p>Se observó que los niveles de anticuerpos de los ratones vacunados y de los pacientes recuperados de COVID-19 eran muy similares.</p> <p>Los anticuerpos que producían los ratones vacunados con LNP de ARN autorreplicante (saARN: Self-replicating ARN) neutralizaban de manera lineal y dependiente de la dosis a las variantes Alfa y Delta.</p> <p>Se vio que la vacuna oral de saRNA LNP podría activar una respuesta sesgada de linfocitos T helper 1 (Th1) para generar una gran cantidad de anticuerpos IgG e IgA específicos contra el virus SARS-CoV-2.</p>
Qibin Geng, 2021 ¹⁵	Ratones	14	70 días	<p>Se concluyó que las vacunas de partículas similares al virus-dominio de unión al receptor (VLP-RBD: virus-like nanoparticle - receptor-binding domain) provocan respuestas de anticuerpos neutralizantes de títulos más elevados e inhiben de forma más potente la infección por SARS-CoV-2 y estas respuestas de anticuerpos se vieron reforzadas con la segunda dosis.</p> <p>Se pudo demostrar que la vacuna VLP-RBD brindó a los ratones una protección casi completa contra el virus SARS-CoV-2. Los anticuerpos producidos por la vacuna en los ratones eran capaces de neutralizar a las variantes Alfa y Beta.</p>
Oscar A. Ortega-Rivera, 2021 ¹⁶	Ratones BALB/c	15	12 semanas	<p>La administración de la dosis de refuerzo produjo los mismos niveles de anticuerpos que la administración del implante de una sola dosis de ácido poli(láctico-co-glicólico) (PLGA/3Qβ: Poly(lactic-co-glycolic acid)), con estos resultados quedó demostrado que con la administración del implante es suficiente.</p> <p>Se observó que las vacunas candidatas originaban respuestas de anticuerpos que eran capaces de reconocer a la proteína S del virus y que estos anticuerpos eran capaces de inhibir las interacciones RBD-ACE2.</p>

Tabla 1. Características de los artículos seleccionados.

Características de los artículos seleccionados				
Autor, año	Tipo de animal	Número de animales	Periodo del estudio	Resultados principales
Hannah AD King, 2021 ¹⁷	Macacos rhesus	23	10 semanas	<p>Se vio que la vacuna de nanopartículas de ferritina (RFN: Ferritin nanoparticle) fue capaz de generar fuertes anticuerpos de unión específicos de RBD con una fuerte actividad neutralizante capaz de bloquear la interacción entre el RBD y el receptor ACE2 del huésped.</p> <p>Se observó que la vacuna RFN con adyuvante activó células T CD4+ polifuncionales polarizadas Th1 robustas que son eficaces en la eliminación del virus y tienen capacidad de ayudar a las células B.</p> <p>La vacuna con RFN demostró ser capaz de generar anticuerpos neutralizantes de las variantes Alfa y Beta del SARS-CoV-2.</p>
Yongjun Sui, 2021 ¹⁸	Macacos rhesus indios	12	20 semanas	<p>Los animales vacunados con la vacuna sistémica presentaron respuestas de células Th1 superiores en las células mononucleares de sangre periférica (PBMC: Peripheral blood mononuclear cells) que los animales vacunados con la vacuna mucosa.</p> <p>Los animales vacunados no presentaron replicación viral, lo que sugirió que la vacuna les confirió una protección total.</p> <p>Los animales no vacunados tuvieron puntuaciones de inflamación mucho más altas que los vacunados.</p>

Tabla 1. Características de los artículos seleccionados.

6. DISCUSIÓN

Aunque existen múltiples tratamientos y vacunas para intentar prevenir y minimizar la enfermedad, ninguno de ellos va dirigido específicamente hacia el SARS-CoV-2.

En esta revisión sistemática se van a exponer los tratamientos que van dirigidos específicamente al virus y que utilizan nanopartículas.

Según Guidenn Sulbaran et al¹² las vacunas antivirales protegen porque generan anticuerpos neutralizantes. El virus tiene como principal objetivo la glicoproteína S para poder inducir anticuerpos neutralizantes. La glicoproteína S está formada por la subunidad S1 que tiene el RBD y por la subunidad S2 que se encarga de anclar al trímero S a la membrana del virus. El virus necesita que el RBD se una al receptor celular ACE2 para poder unirse y después necesita que S2 se funda con la membrana para producir la infección.

Se formó la estructura entrecruzada de la glicoproteína S con formaldehído al 4% (FA-S) porque la glicoproteína S por sí sola presentó baja termoestabilidad. Después, este complejo se incubó con liposomas, formándose el complejo S-LV.

A continuación, se vacunaron a macacos cynomolgus para poder determinar la inmunogenicidad y la obtención de anticuerpos neutralizantes. Para ello, se vacunaron, por vía intramuscular (IM), a cuatro macacos cynomolgus con 50 µg de S-LV que estaba adyuvado con liposomas de monofosfolípido A (MPLA: Monophospholipid A) en las semanas 0, 4, 8 y 19. Cada dos semanas se evaluaban los sueros de los macacos para determinar la unión a S, FA-S y RBD.

Se llegó a la conclusión de que la inmunización con S-LV indujo anticuerpos específicos de RBD principalmente, después de la primera y segunda inmunización, sin embargo, la tercera inmunización incrementó significativamente la generación de anticuerpos no RBD. Además, la cuarta inmunización aumentó los títulos de neutralización de la misma manera que la tercera inmunización.

Para determinar la protección producida por la vacunación con S-LV se infectó con el virus SARS-CoV-2 tanto a los animales vacunados como a los no vacunados (grupo control) con una dosis de 1×10^5 unidades formadoras de placa (PFU: Plaque-forming units).

En los animales vacunados se observó ausencia total de ARN viral en el tracto respiratorio superior e inferior, lo que sugirió que la vacunación produjo una inmunidad esterilizante. Por el contrario, en el grupo de los no vacunados se detectó ARN viral hasta 10 días después de la exposición al virus.

Además, se vio que los animales vacunados no mejoraron su sistema inmunológico en comparación con los no vacunados, pero que los vacunados presentaron en los fluidos nasofaríngeos inmunoglobulinas G y A (IgG e IgA) que eran específicas de S y RBD, lo que sugirió que la vacunación con S-LV provocó inmunidad en las mucosas lo que probablemente hizo la esterilización que se observó.

Por otro lado, los animales no vacunados presentaron lesiones pulmonares leves y monocitosis que no presentaron los animales vacunados. La respuesta anti-S Th1 CD4+ se incrementó para los del grupo control y ningún grupo tenía células T anti-S CD8+. La vacunación con S-LV provocó una fuerte neutralización contra las variantes Alfa, Beta y Gamma. Se llegó a la conclusión de que la vacunación con S-LV podría producir una inmunidad esterilizante, que podría interrumpir la cadena de transmisión del virus.

Hui Zhao et al² desarrollaron una vacuna contra la COVID-19 que tenía ARNm encapsulado en LNP a la que denominaron ARCoV. Esta vacuna estaba diseñada para que transportara el ARNm que codifica el RBD del virus y se observó que con dos dosis se conseguía una protección total en modelos murinos.

Para conocer la inmunogenicidad de ARCoV en primates que no fueran humanos, se vacunaron a macacos cynomolgus. Los animales recibieron 50 o 200 µg de la vacuna y los del grupo placebo recibieron 200 µg de LNP vacías.

Al analizar el suero después de la segunda dosis, se observó que los títulos de anticuerpos de neutralización aumentaron mucho en los animales vacunados, en comparación con la primera dosis. Se analizó la capacidad de neutralizar, además, otras cepas del virus, observándose que se conseguía neutralizar las variantes Beta y Delta.

Mediante ensayos de mancha inmunoabsorbente ligada a enzimas (ELISpot: Enzyme-linked immunosorbent spot) se vio que los animales vacunados producían más secreción de interferón γ (IFN- γ) en PBMC que los del grupo placebo. Sin embargo, no hubo diferencias significativas en cuanto a la secreción de interleucina-4 (IL-4). Se concluyó que la vacuna ARCoV era capaz de producir respuesta inmune de células humorales y Th1 contra el virus en los macacos cynomolgus.

Se observó menor e incluso ausencia de carga viral en los animales vacunados que en los animales no vacunados después de ser sacrificados, por tanto, se demostró que la vacuna ARCoV previno la secreción viral tanto en el tracto respiratorio superior como en el inferior de los macacos vacunados.

Además, en las secreciones de los pulmones de los animales vacunados se detectaron pocas células positivas en virus, pero en las del grupo placebo se detectaron muchas proteínas del virus. Con estos resultados, se concluyó que la vacuna servía para eliminar la replicación del virus en las vías respiratorias. También se observó que la vacuna protegía frente a las lesiones pulmonares, pues los vacunados presentaron lesiones pulmonares mucho más leves que los del grupo placebo.

Al analizar las citocinas y quimiocinas séricas en ambos grupos se vio que en el grupo placebo se produjo una regulación positiva de muchas citocinas y quimiocinas y, sin embargo, en el grupo vacunado no hubo ningún cambio en la regulación.

Por último, se evaluó la estabilidad de la vacuna ARCoV y se determinó que los anticuerpos que se producían después de estar la vacuna seis meses almacenada entre 2-8°C era igual que los de la vacuna sin almacenar, por lo que tiene un perfil de estabilidad ideal.

Según Mohamad-Gabriel Alameh et al¹³, las vacunas más prometedoras son las que tienen ARNm modificado con nucleósidos que ha sido encapsulado en nanopartículas lipídicas (ARNm-LNP), pues se ha visto que este tipo de vacuna produce potentes respuestas de células T auxiliares foliculares (Tfh: T folicular helper) y de células B de centros germinales (GC: Germinal centers) y además, produce respuesta de anticuerpos protectores (Ab: Antibody) sostenida en el tiempo, es decir, las vacunas de ARNm-LNP pueden generar respuestas inmunitarias celulares y humorales muy fuertes.

En este estudio se vio que las LNP tienen una gran actividad adyuvante y mejoran la eficacia de las vacunas de subunidades de proteínas. Sin embargo, el mecanismo de acción de esta vacuna se desconoce, puede ser por el ARNm, por las LNP o por ambos.

Se administró la vacuna de LNP a un grupo de ratones BALB/c y se administró la vacuna con AddaVax (adyuvante similar a MF59) a otro grupo de ratones para comparar. Al medir los títulos de inhibición de la hemaglutinación sérica (HAI: Hemagglutination inhibition) se vio que los títulos HAI que fueron inducidos por la vacuna con LNP fueron más elevados que los que inducía la vacuna con el adyuvante AddaVax.

Para confirmar inequívocamente que la vacuna de LNP es mejor adyuvante que la vacuna con AddaVax se administró a ratones la proteína recombinante de hemaglutinina (rHA: Hemagglutinin recombinant protein) sola, combinada con AddaVax, combinada con eLNP y la vacuna HA mRNA-LNP. Se observó que los ratones empezaron a perder peso y tuvieron que ser sacrificados, salvo los animales a los que se les había administrado la rHa con eLNP y la vacuna de mRNA-LNP.

En cuanto a la respuesta de anticuerpos, la vacuna rHA con eLNP presentó títulos significativamente más elevados de IgG total y de todas las subclases de IgG que los que presentó la vacuna rHA con AddaVax. Con todos estos datos, se concluyó que la formulación con LNP que se empleó en este estudio presenta una propiedad adyuvante intrínseca y que podría usarse como un adyuvante independiente para las vacunas de subunidades de proteínas.

Para determinar la respuesta de las células Tfh, se inmunizaron a ratones, vía intramuscular o vía intradérmica (ID), con una dosis de rHA+eLNP o rHa+AddaVax y, además se inmunizó con el virus influenza PR8 HA mRNA-LNP. Se observó que los ratones que habían sido inmunizados con rHA+eLNP o HA mRNA-LNP presentaron más cantidad de células Tfh. Con lo cual, se demuestra que la formulación de LNP activa eficazmente las células Tfh y GC B.

Por otra parte, se observó que la vacuna rHA+eLNP originó respuestas de células plasmáticas de larga vida secretoras de anticuerpos protectores (LLPCs: Long-live plasma cells) y de células B de memoria de alta afinidad (MBCs: Memory B cells) específicas de PR8 más potentes que la vacuna rHA+AddaVax. También se vio que la vacuna rHA+eLNP genera un número mayor de múltiples clones de MBCs que se unen a la HA con un grado de mutación somática superior que los que genera la vacuna rHA+AddaVax.

Una vez demostrado lo que puede hacer una vacuna con LNP, la investigación se centró en demostrar lo que la formulación de LNP puede hacer contra el SARS-CoV-2. Se inmunizaron ratones con una dosis del dominio de unión al receptor de la proteína de la punta del SARS-CoV-2 recombinante (rRBD: Recombinant receptor binding domain) junto con eLNP o AddaVax y, el control positivo eran ratones inmunizados con RBD mRNA-LNP modificado con nucleósidos. Como resultado se obtuvo que la vacuna con adyuvante de LNP originó títulos de IgG específicos de RBD duraderos que fueron significativamente más superiores que los que originó la vacuna con AddaVax.

Para intentar averiguar de dónde provenía la actividad adyuvante de la formulación de LNP, crearon el eLNP con y sin lípido ionizable que se administraron a ratones y se observó que el eLNP que no tenía lípido ionizable no presentaba actividad adyuvante. Además, se formuló con 1,2-dioleoiloxi-3-(trimetilamonio) propano (DOTAP), pero no originó la misma adyuvancia, con lo que se concluyó que el lípido ionizable es el causante de que la formulación LNP tenga actividad adyuvante y que no todos los lípidos catiónicos son adyuvantes.

También demostraron que los receptores que emiten señales mediante vías que dependen de MyD88, pero no de señalización antiviral mitocondrial (MAVS: Mitochondrial anti-viral signaling) son capaces de detectar el ARNm purificado con celulosa y que está modificado con 1-metilpseudouridina, que es el ARNm que usan las vacunas de este estudio. Esto podría sugerir un efecto complementario de la detección de ARNm en la adyuvancia de las vacunas de ARNm-LNP.

Además, se vio que la formulación de eLNP activa una fuerte producción de IL-6, que se trata de una citocina importante para la activación eficiente de las células Tfh.

Según Golamabbas Mohammadi et al¹⁴, existen dos tipos de vacunas de ARN, las vacunas de ARNm convencional y las vacunas de ARN autorreplicante.

Para poder sintetizar el saARN utilizaron un plásmido bacteriano que posteriormente se convirtió en *E. coli*. Después, los plásmidos se cultivaron, se purificaron y se linealizaron. Una vez conseguido el saARN lineal se procedió a encapsularlo en LNP y se aseguraron de que la proteína S se expresaba.

A continuación, se procedió a inmunizar a dos grupos formados por diez ratones cada uno a los que se les extrajo suero. También se extrajeron muestras de suero de diez pacientes que habían pasado la COVID-19. Se determinó los niveles de anticuerpos de todos los sueros extraídos, tanto de los ratones como de los humanos y se procedió a evaluar la capacidad que tenían dichos sueros de neutralizar al virus.

Al analizar los sueros se observó que los niveles de anticuerpos de los ratones vacunados y de los pacientes recuperados de COVID-19 eran muy similares, pero los ratones vacunados con saARN LNP y LNP de control positivo tuvieron respuesta sesgada por Th1.

Además, se aislaron y cultivaron en células Caco2 las variantes Alfa y Delta del SARS-CoV-2. Se determinó que los anticuerpos que producían los ratones vacunados con saARN LNP neutralizaban de manera lineal y dependiente de la dosis y, además, conseguían neutralizar a ambas variantes. Del mismo modo, que los anticuerpos de los pacientes recuperados de la enfermedad también conseguían neutralizar a las dos variantes estudiadas.

Se estudiaron las respuestas celulares, observando que los esplenocitos reestimulados de ratones vacunados presentaban gran secreción de interferón gamma (IFN- γ) de forma lineal y dependiente de la dosis. También se vio que los sobrenadantes de esplenocitos reestimulados y los sueros de los ratones vacunados presentaban niveles elevados de IL-6 y de factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α : Tumor necrosis factor α), es en estos dos parámetros donde se encontraron diferencias significativas al compararlos con el suero de los pacientes recuperados de COVID-19.

Finalmente, se llegó a la conclusión de que la vacuna oral de saARN LNP podría activar una respuesta sesgada de Th1 para generar una gran cantidad de anticuerpos IgG e IgA específicos contra el virus SARS-CoV-2.

Qibin Geng et al¹⁵ llevaron a cabo una vacuna RBD basada en vacunas de partículas similares a virus para ello construyeron la lumazina sintasa y el RBD del SARS-CoV-2. La lumazina sintasa purificada se transformó espontáneamente en una gran nanopartícula de VLP. Por su parte, también se purificó el RBD del SARS-CoV-2, que formó un oligómero.

Posteriormente, se formó el complejo VLP-RBD que se incubó en suero de ratón. El resultado de esto fue que las moléculas de RBD quedaron asociadas a la VLP después de ser incubadas, por lo que se pudo decir que el complejo VLP-RBD fue estable en presencia de anticuerpos competidores.

Para conocer la potencia de la vacuna VLP-RBD se inmunizaron a ratones con VLP-RBD-E (con la proteína de nanopartículas expresada a partir de bacterias) y con VLP-RBD-M (con la proteína de nanopartículas expresada a partir de células de mamíferos).

Los sueros de ratón inmunizados con la vacuna VLP-RBD presentaban 5 veces más anticuerpos IgG específicos de RBD y pico, consiguieron neutralizar de forma más potente los pseudovirus SARS-CoV-2. Las VLP-RBD-E y VLP-RBD-M presentaron una potencia similar en la producción de anticuerpos neutralizantes, lo que muestra que las nanopartículas creadas a partir de células de mamíferos y de bacterias actúan de manera similar a la vacuna VLP-RBD. Por el contrario, la vacuna RBD provoca una menor respuesta de anticuerpos. Con estos datos, se concluyó que las vacunas de VLP-RBD provocan respuestas de anticuerpos neutralizantes de títulos más elevados e inhiben de forma más potente la infección por SARS-CoV-2 y estas respuestas de anticuerpos se vieron reforzadas con la segunda dosis.

Para determinar si la vacuna también era efectiva contra las variantes Alfa y Beta del SARS-CoV-2 se crearon pseudovirus de dichas variantes y se inmunizaron a los ratones. Se vio que el suero de los ratones era capaz de neutralizar la entrada del virus de forma similar al pseudovirus salvaje.

Para conocer el mecanismo de acción de la vacuna VLP-RBD se observaron las interacciones entre el SARS-CoV-2 RBD y la ACE2 humana cuando estaba presente el suero de ratón inmunizado con la vacuna. Se concluyó que la vacuna VLP-RBD produce gran cantidad de anticuerpos que son capaces de bloquear la unión del SARS-CoV-2 RBD a la ACE2 humana y que además son capaces de neutralizar la infección de las células diana causada por el virus.

Para determinar la eficacia de la vacuna en modelos animales, a los ratones inmunizados con la vacuna se les infectó con dosis altas del virus para representar los casos de COVID-19 grave. Se observó que los ratones vacunados con la vacuna VLP-RBD no presentaron una pérdida de peso significativa, no tenían virus infecciosos detectables en el tejido pulmonar y apenas desarrollaron cambios patológicos en el pulmón. Sin embargo, los ratones vacunados con la vacuna RBD sí que hubo ratones que desarrollaron signos clínicos de enfermedad. Con estos resultados, se pudo demostrar que la vacuna VLP-RBD brindó a los ratones una protección casi completa contra el virus SARS-CoV-2.

En la investigación de Oscar A. Ortega-Rivera et al¹⁶, se caracterizaron a los candidatos vacunales basados en el virus del mosaico del caupí (CPMV: Cowpea Mosaic virus). Para ello se seleccionaron 13 epítomos de células B que se encontraban en sueros de pacientes recuperados de COVID-19. Estos epítomos se conjugaron y se obtuvieron conjugados estables, que eran los candidatos a la vacuna, posteriormente se purificaron.

Se administraron los 13 candidatos, se observó que todos generaban anticuerpos contra sus respectivos epítomos. CPMV1159, CPMV820 y CPMV460 fueron los que consiguieron niveles más elevados de anticuerpos.

Por otra parte, se analizaron otros candidatos: CPMV570, CPMV636 y CPMV826. Se vio que las vacunas que estaban basadas en CPMV producían respuestas sesgadas Th1. Con los datos del estudio se pudo decir que es el propio epítomo el que influye en la respuesta inmunitaria resultante y que solo el CPMV570 es el que produce un sesgo Th2.

Después se probó el plasma de ratón contra la proteína S, pero no se encontró correlación directa entre los niveles de anticuerpos frente a la proteína S. Esto podría deberse a la ubicación relativa y la disponibilidad superficial de los epítomos en el estudio.

A continuación, se quiso conocer la capacidad de neutralización del virus. Para ello se hicieron dos ensayos: prueba de neutralización del virus sustituto del SARS-CoV-2 (sVNT: Surrogate virus neutralization test) y ensayo de neutralización del SARS-CoV-2 con células Vero 76.

El sVNT consiste en la unión del receptor RBD a ACE2. De este ensayo, hay que destacar que CPMV1154 presentó mayor interacción con la proteína S que el resto de los candidatos, pero esto no se pudo correlacionar con un efecto inhibitorio superior.

El ensayo de neutralización del SARS-CoV-2 destacó que los candidatos CPMV570, CPMV636 y CPMV826 consiguieron neutralizar al virus y tener efecto inhibitorio. Los tres consiguieron títulos neutros muy elevados, siendo el CPMV826 el que consiguió los títulos más superiores siendo comparables incluso con los que consigue la vacuna ARNm-1273 de Moderna, y estos niveles de títulos neutros los consiguieron sin necesidad de un adyuvante.

A continuación, se procedió a validar que los tres epítopos se pudieran transferir a otra plataforma: CPMV570, CPMV636 y CPMV826. Para ello, se utilizaron las VLP del bacteriófago Q β , pues las VLP de Q β se han usado mucho como plataforma para vacunas. Finalmente se produjeron candidatos a vacunas COVID-19 basadas en Q β intactas: Q β 570, Q β 636 y Q β 826. Después, se inmunizaron a ratones y se observó que los epítopos mantenían la inmunogenicidad incluso cuando se presentaban en Q β . Por lo que se pudo concluir que tanto CPMV como Q β son plataformas aptas para la presentación de péptidos.

Se siguió investigando y se formuló una candidata a vacuna contra la COVID-19 basada en Q β trivalente de dosis única que será administrada mediante un implante de polímero sintético PLGA. Se formuló la vacuna Q β COVID-19 con los tres epítopos candidatos: Q β 570, Q β 636 y Q β 826 como si fuese un parche de microagujas (MN: Microneedle).

En cuanto a la administración, se crearon dos tipos de MN, la activa y la tradicional o pasiva. Se estudiaron y se vio que la activa no conseguía mayor eficacia que la tradicional, por lo que se decidió utilizar la tradicional. El parche de MN era estable a temperatura ambiente, conservaba la antigenicidad y permitía administrar la vacuna sin residuos, pues fue diseñado para disolverse al contacto con la piel.

Después se procedió a comparar la vacuna monovalente con la vacuna trivalente. Se observó que ambas vacunas originaron títulos de anticuerpos similares. Además, la administración de la dosis de refuerzo produjo los mismos niveles de anticuerpos que la administración del implante de una sola dosis de PLGA/3Q β , con estos resultados quedó demostrado que con la administración del implante era suficiente.

A continuación, se quiso averiguar qué isotipos de inmunoglobulina se generaban. Se observó que las vacunas candidatas originaron una respuesta inmunitaria balanceada Th1/Th2, salvo para el grupo activo 3 Q β MN que presentó una respuesta sesgada de Th2. Se detectó niveles similares de IgG2b y de IgG2a lo que se traduce en un pequeño sesgo de Th1, se detectó también IgM en todos los grupos y, por último, no se detectó IgE que tiene que ver con las enfermedades alérgicas lo que proporciona seguridad.

Se confirmó que las vacunas candidatas contra la COVID-19 que estaban basadas en Q β , ya sean monovalentes o trivalentes, y que se administraban como vacuna soluble o mediante dispositivo originaban respuestas de anticuerpos que eran capaces de reconocer a la proteína S del virus y, además, también se confirmó que estos anticuerpos eran capaces de inhibir las interacciones RBD-ACE2.

A pesar de que no se vio un efecto sinérgico, esta investigación planteó que podría ser que la vacuna trivalente tuviera efectos de neutralización sinérgicos o mejorados *in vivo*, pero para saberlo con certeza es necesario realizar más experimentos *in vivo*.

En el estudio que llevaron a cabo Hannah AD King et al¹⁷, se diseñó una vacuna de RFN SARS-CoV-2 RBD. Con esta vacuna y un adyuvante con ALFQ (monofosforil 3-desacil lípido A sintético y QS-21) se inmunizó a veintitrés macacos rhesus con diferentes dosis: una dosis baja y una dosis elevada.

Se observaron respuestas inmunitarias humorales, que aumentaron cuando se les administró la segunda dosis. Además, los animales vacunados presentaron IgG específica de RBD. No hubo diferencias entre los animales vacunados con la dosis más pequeña y los vacunados con la dosis más alta. También se vio que la respuesta neutralizante aumentó después de administrar la dosis de refuerzo, pero disminuyó a las 6 semanas de la segunda dosis.

Por otra parte, se compararon los títulos neutralizantes originados por los animales vacunados con el suero de los pacientes convalecientes de COVID-19 y se vio que los títulos neutralizantes eran superiores en los animales vacunados que en los pacientes. Con estos datos, se concluyó que la vacuna RFN fue capaz de generar fuertes anticuerpos de unión específicos de RBD con una fuerte actividad neutralizante capaz de bloquear la interacción entre el RBD y el receptor ACE2 del huésped.

Ambas dosis de vacuna consiguieron funciones efectoras mediadas por la fracción constante (Fc), pero las respuestas de deposición de complemento dependiente de anticuerpos (ADCD: Antibody-dependent complement deposition) fueron superiores en la vacuna con dosis más elevada.

Se evaluó la respuesta de las células T específicas del virus. Se observó que todos los animales vacunados con RFN tenían una fuerte respuesta de células T CD4+ Th1 y dependiente de la dosis. Se vio que la vacuna RFN con adyuvante activó células T CD4+ polifuncionales polarizadas Th1 robustas que son eficaces en la eliminación del virus y tienen capacidad de ayudar a las células B. Sin embargo, las respuestas de Th2 eran bajas e incluso indetectables y las respuestas de células T CD8+ eran débiles.

Evaluaron también la eficacia de la vacuna RFN, para ello a los animales se les administró el virus. Los animales no vacunados presentaron claros signos de infección, sin embargo, los animales vacunados con RFN en pocos días redujeron la magnitud y la duración de la replicación viral y a la semana los vacunados no tenían presencia de virus en las vías respiratorias, excepto dos animales.

Además, también evaluaron la eficacia de la vacuna mediante análisis histopatológico del tejido pulmonar donde se observó que todos los animales no vacunados presentaban neumonía intersticial multifocal con gravedad leve a moderada. En contraposición, en el grupo vacunado no se observó neumonía intersticial, solamente infiltrados celulares mononucleares a mixtos de gravedad mínima a leve. Con lo que se pudo afirmar que la vacuna previno la enfermedad moderada.

Finalmente, se ha de destacar que la vacuna con RFN demostró ser capaz de generar anticuerpos neutralizantes de las variantes Alfa y Beta del SARS-CoV-2.

En la investigación que llevaron a cabo Yongjun Sui et al¹⁸, probaron en dos grupos de macacos rhesus la inmunogenicidad de dos vacunas: una sistémica y una mucosa.

La vacuna sistémica originó anticuerpos específicos de S1 después de la segunda dosis, estos anticuerpos incluían IgG sérica, IgG e IgA. Por el contrario, la respuesta de IgG sérica que se observó de la vacuna mucosa fue mucho menor. Además, se observó, que ambas vacunas, producían títulos elevados de anticuerpos cuando se administraba la dosis de refuerzo, aunque los de la vacuna sistémica eran superiores a los de la vacuna mucosa. Pese a esto, se observó que la última vacunación tuvo un papel esencial en el aumento de los títulos de anticuerpos neutralizantes (Nab: Neutralizing antibody).

Aunque se desconoce, se cree que las células T CD4+ específicas del SARS-CoV-2 podrían ayudar a la inducción y maduración de las células B y de los anticuerpos. Es por ello, que se evaluó la respuesta de las células T específicas de S1 activadas por la vacuna.

Los animales vacunados con la vacuna sistémica presentaron respuestas de células Th1 superiores en las PBMC que los animales vacunados con la vacuna mucosa. En ambos grupos se observaron respuestas de células Th1 similares en líquido de lavado broncoalveolar (BAL: Bronchoalveolar lavage) al principio, pero después disminuyeron significativamente en el grupo de vacunados con vacuna mucosa.

Después, se procedió a evaluar la eficacia, para ello se infectó con el virus a dos grupos de macacos: vacunados y no vacunados. Los animales no vacunados presentaron signos de replicación viral. Por el contrario, los animales vacunados no presentaron replicación viral, lo que sugirió que la vacuna les confirió una protección total.

Por último, se evaluaron histológica e inmunohistoquímicamente secciones del pulmón y de los ganglios linfáticos para ver si había inflamación provocada por el virus. Los animales no vacunados tuvieron puntuaciones de inflamación mucho más altas que los vacunados.

7. CONCLUSIONES

Retomando el objetivo principal del trabajo que era la eficacia de la vacuna de nanopartículas frente al SARS-CoV-2 se puede afirmar que en animales esta vacuna ha dado muy buenos resultados, siendo capaz en muchas de las investigaciones, anteriormente explicadas, de eliminar al virus por completo, pero habría que extrapolar estas investigaciones a humanos para averiguar si da los mismos resultados o no.

Por otra parte, también se ha visto que esta vacuna presenta una plataforma de fabricación escalable y que por sus sencillas características de almacenamiento podría distribuirse a todos los países del mundo fácilmente.

Por tanto, para concluir este trabajo de fin de grado, se puede decir que la vacuna de nanopartículas es una muy buena opción para poner fin al virus SARS-CoV-2, pues al conseguir eliminar por completo al virus se para la cadena de transmisión y al tener un fácil almacenamiento puede ser accesible para todos los países, pero aún queda investigar más, pues en humanos se desconoce si la vacuna de nanopartículas tendría la misma eficacia.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Serrano-Cumplido A, Antón-Eguía Ortega PB, Ruiz García A, Olmo Quintana V, Segura Fragoso A, Barquilla Garcia A, et al. COVID-19. La historia se repite y seguimos tropezando con la misma piedra. *Med Fam SEMERGEN*. 2020;46:48-54.
2. Zhao H, Wang TC, Li XF, Zhang NN, Li L, Zhou C, et al. Long-term stability and protection efficacy of the RBD-targeting COVID-19 mRNA vaccine in nonhuman primates. *Signal Transduct Target Ther*. 2021;6(1):438.
3. Todos los datos de la evolución diaria de la COVID-19 en España [Internet]. DATADISTA. 2022 [citado 11 de abril de 2022]. Disponible en: <https://www.datadista.com/coronavirus/datos-evolucion-diaria-pandemia-covid19-en-espana/>
4. Coronavirus (COVID-19) - 12 de enero 2022 | DSN [Internet]. [citado 11 de abril de 2022]. Disponible en: <https://www.dsn.gob.es/es/actualidad/sala-prensa/coronavirus-covid-19-12-enero-2022>
5. Scavone C, Mascolo A, Rafaniello C, Sportiello L, Trama U, Zoccoli A, et al. Therapeutic strategies to fight COVID-19: Which is the *status artis*? *Br J Pharmacol*. 2022;179(10):2128-48.
6. Síntomas de COVID-19: MedlinePlus enciclopedia médica [Internet]. [citado 11 de abril de 2022]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/007770.htm>
7. Fernandes Q, Inchakalody VP, Merhi M, Mestiri S, Taib N, Moustafa Abo El-Ella D, et al. Emerging COVID-19 variants and their impact on SARS-CoV-2 diagnosis, therapeutics and vaccines. *Ann Med*. 2022;54(1):524-40.

8. Díaz E, Amézaga Menéndez R, Vidal Cortés P, Escapa MG, Suberviola B, Serrano Lázaro A, et al. Tratamiento farmacológico de la COVID-19: revisión narrativa de los Grupos de Trabajo de Enfermedades Infecciosas y Sepsis (GTEIS) y del Grupo de Trabajo de Transfusiones Hemoderivados (GTTH). *Med Intensiva*. 2021;45(2):104-21.
9. Lamb YN. Nirmatrelvir Plus Ritonavir: First Approval. *Drugs*. 2022;82(5):585-91.
10. Preguntas y respuestas sobre la transmisión de la COVID-19 [Internet]. [citado 11 de abril de 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/questions-and-answers/item/coronavirus-disease-covid-19-how-is-it-transmitted>
11. Información de vacunas autorizadas [Internet]. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. [citado 11 de abril de 2022]. Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/la-aemps/ultima-informacion-de-la-aemps-acerca-del-covid%e2%80%9119/vacunas-contra-la-covid%e2%80%9119/informacion-de-vacunas-autorizadas/>
12. Sulbaran G, Maisonnasse P, Amen A, Effantin G, Guilligay D, Dereuddre-Bosquet N, et al. Immunization with synthetic SARS-CoV-2 S glycoprotein virus-like particles protects macaques from infection. *Cell Rep Med*. 2022;3(2):100528.
13. Alameh MG, Tombácz I, Bettini E, Lederer K, Sittplangkoon C, Wilmore JR, et al. Lipid nanoparticles enhance the efficacy of mRNA and protein subunit vaccines by inducing robust T follicular helper cell and humoral responses. *Immunity*. 2021;54(12):2877-2892.e7.
14. Mohammadi G, Sotoudehnia Koranni Z, Jebali A. The oral vaccine based on self-replicating RNA lipid nanoparticles can simultaneously neutralize both SARS-CoV-2 variants alpha and delta. *Int Immunopharmacol*. 2021;101:108231.

15. Geng Q, Tai W, Baxter VK, Shi J, Wan Y, Zhang X, et al. Novel virus-like nanoparticle vaccine effectively protects animal model from SARS-CoV-2 infection. Subbarao K, editor. *PLOS Pathog.* 2021;17(9):e1009897.
16. Ortega-Rivera OA, Shin MD, Chen A, Beiss V, Moreno-Gonzalez MA, Lopez-Ramirez MA, et al. Trivalent Subunit Vaccine Candidates for COVID-19 and Their Delivery Devices. *J Am Chem Soc.* 2021;143(36):14748-65.
17. King HAD, Joyce MG, Lakhali-Naouar I, Ahmed A, Cincotta CM, Subra C, et al. Efficacy and breadth of adjuvanted SARS-CoV-2 receptor-binding domain nanoparticle vaccine in macaques. *Proc Natl Acad Sci.* 2021;118(38):e2106433118.
18. Sui Y, Li J, Zhang R, Prabhu SK, Andersen H, Venzon D, et al. Protection against SARS-CoV-2 infection by a mucosal vaccine in rhesus macaques. *JCI Insight.* 2021;6(10):e148494.

