

## Sección: De la literatura médica

### Una vacuna sintética protege a los seres humanos contra el reto con los estadios sanguíneos asexuados de malaria por *Plasmodium falciparum*<sup>1</sup>

Manuel E. Patarroyo<sup>2</sup>, Roberto Amador<sup>2</sup>,  
Pedro Clavijo<sup>2</sup>, Alberto Moreno<sup>2</sup>,  
Fanny Guzmán<sup>2</sup>, Pedro Romero<sup>2</sup>,  
Ricardo Tascón<sup>2</sup>, Antonio Franco<sup>2</sup>,  
Luis A. Murillo<sup>2</sup>, Gabriel Pontón<sup>3</sup>,  
Gustavo Trujillo<sup>3</sup>

Hemos demostrado antes que una mezcla de 3 péptidos sintéticos (83.1, 55.1, 35.1) que corresponden a fragmentos de masa molecular relativa 83,000 (83k), 55K y 35K de las proteínas merozoito-específicas de *Plasmodium falciparum*, induce la protección en micos *Aotus trivirgatus* infectados experimentalmente con *P. falciparum*<sup>1,2</sup>. El presente trabajo describe 3 proteína híbridas poliméricas sintéticas, basadas en esos péptidos, que demoran o evitan por completo el desarrollo de parasitemia en voluntarios humanos inmunizados.

En la búsqueda de una vacuna contra los diferentes estadios infecciosos de malaria causada por *P. falciparum* se diseñaron 2 polímeros proteínicos híbridos (Figura 1). Los polímeros contienen epítopes que se sabe inducen una protección completa o parcial en mico *A. trivirgatus* experimentalmente infectados o que eran buenos candidatos para una vacuna antimalárica<sup>1-5</sup>. Estas moléculas eran puras según se observó en la cromatografía líquida de alta presión (CLAP, Figura 2) y se polimerizaron en proteínas sintéticas por la adición de cisteínas en los terminales N y C y glicina y prolina como espaciadores. La masa molecular relativa (M) de SPf(66)30 fue 150K y la de SPf(105)20 fue 100K, lo que indicaba que los polímeros eran de 30 y 20 unidades, respectivamente.

La seguridad, inmunogenicidad y la protectividad de SPf(66)30 así como la de sus péptidos individuales se ensayaron previamente en micos *Aotus* sin que se observaran anomalías histopatológicas, clínicas, de laboratorio o de comportamiento en ninguno de los micos inmunizados y sacrificados (estos datos no se presentan en este trabajo). La inmunogenicidad y la protectividad de algunos de los péptidos individuales de SPf(105)20 ya habían sido previamente examinadas en micos por Patarroyo *et al*<sup>1</sup> y por Collins *et al*<sup>5</sup>. Para examinar la seguridad y la inmunogenicidad de estas proteínas sintéticas en el hombre y la protección que suministran contra malaria, se seleccionaron 13 jóvenes (edades 18-21 años) entre 109 soldados de las Fuerzas Militares de Colombia. Con base en sus historias clínicas, procedencia de áreas donde la malaria no es endémica, el estado clínico y las pruebas de laboratorio (hematocrito, recuento total y diferencial de glóbulos blancos, química sanguínea completa, análisis de orina y pruebas serológicas para buscar la presencia de anticuerpos contra el virus de hepatitis B y contra *P. falciparum*), se aceptaron 13 hombres que libremente decidieron cooperar en este estudio. No se ofrecieron incentivos económicos ni promocionales. Todos tenían pruebas normales de laboratorio y estaban en condiciones excelentes tanto mentales como físicas. Con base en las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para pruebas humanas<sup>6,7</sup> se obtuvo un consentimiento escrito donde quedaba claro que los voluntarios eran libres de retirarse en cualquier momento de la investigación, y se les explicó en detalle la naturaleza del estudio así como los riesgos y beneficios potenciales. Durante

1. Este trabajo se publicó originalmente en inglés con el título "A synthetic vaccine protects humans against challenge with asexual blood stages of *Plasmodium falciparum* malaria" en la revista *Nature*, 1988, 332: 158-161. Los autores y *Nature* (c/o J. Pennington) dieron permiso a Pablo Barreto para traducir este artículo al castellano y publicarlo en *Colombia Médica*.  
2. Instituto de Inmunología, Hospital San Juan de Dios, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.  
3. Hospital Militar Central de Colombia, Fuerzas Militares de Colombia, Bogotá, Colombia.

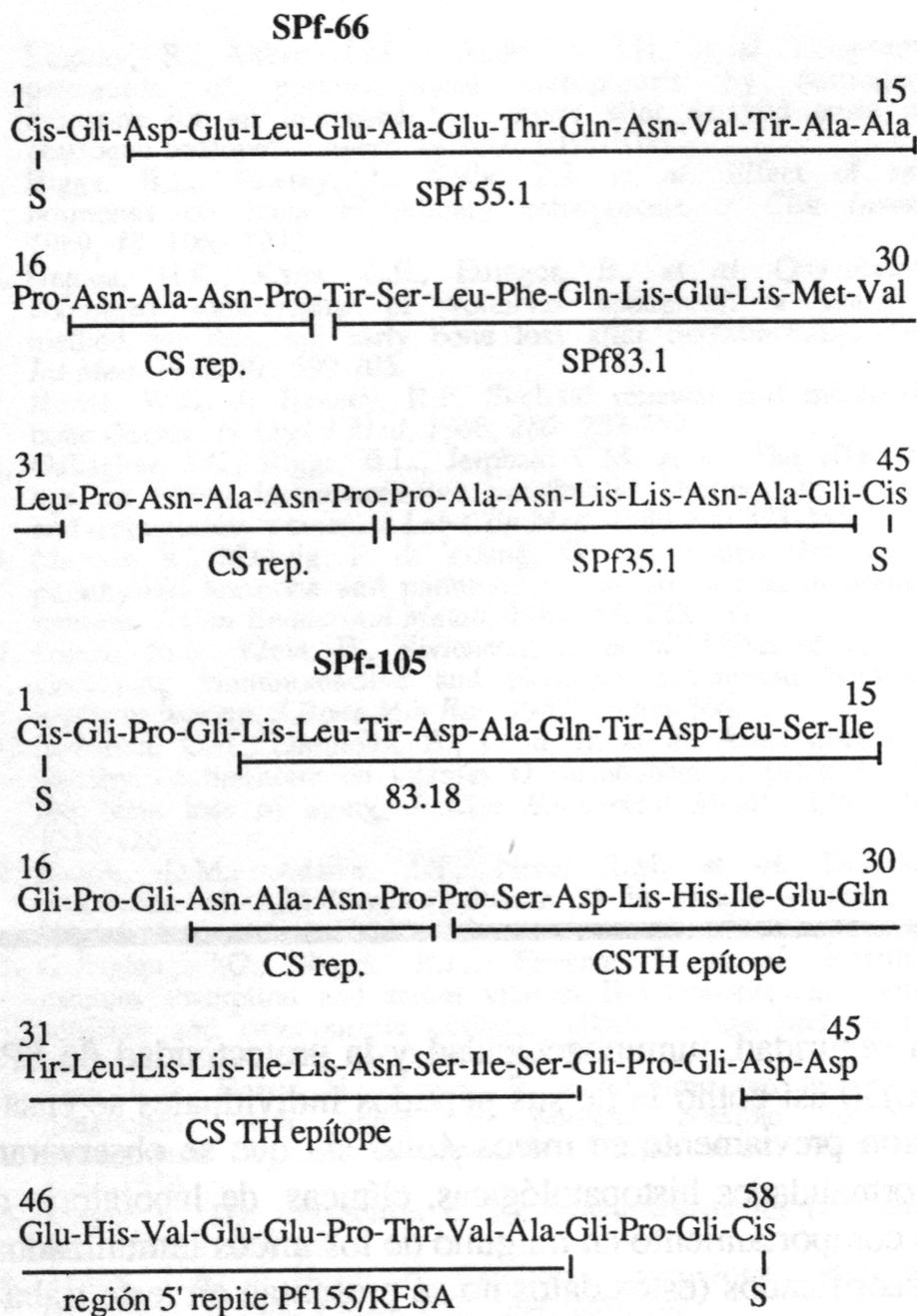


Figura 1. Secuencia de aminoácidos de las moléculas híbridas sintéticas. Las moléculas que se usaron para la inmunización fueron sintetizadas químicamente por el método de Merrifield<sup>12</sup> en un sintetizador Beckman 990. Se usó la resina clorhidrato de p-metilbencidrilamina (US Biochemical Corp). La eficiencia de cada reacción de acoplamiento se evaluó por medio de la prueba de ninidrina<sup>13</sup>. Las reacciones se repitieron si las eficiencias caían por debajo de 99%. En SPf(66)30, el péptido 3.51 es tres aminoácidos más corto en su porción N-terminal. Los péptidos se liberaron de la resina por tratamiento con HR Low-High<sup>14</sup> durante 2 h a 0° C y a 1 h a -20° C, respectivamente, mediante p-cresol como removedor. El producto final se lavó 10 veces con 10 ml de éter etílico y los péptidos se extrajeron con ácido acético al 10%. Después de evaporar el ácido, los péptidos se colocaron en posiciones de reducción, se purificaron con HPLC sobre columnas de fase inversa (octadecilsilano, ODS) y se secaron por congelación. Los péptidos que tenían Mrs de < 14-15K, se solubilizaron en 10 mM de Tris-HCl pH 7.6. Luego se agregó DTT en cantidades equimolares para reducir las uniones de disulfuro formadas durante el secado por congelación. La solución de péptidos se colocó en un baño de agua a 60° C durante 15 min. Se ajustó el pH a 4.0 al agregar HCl en los últimos 2 min. La solución enfrió rápidamente y el pH se modificó a 7.6 con 0.1M Tris-HCl y luego se oxigenó en forma vigorosa cuando se sopló oxígeno puro durante 6-10 h. Luego los péptidos o se dializaron bajo condiciones estériles, dos veces contra 1 mM Tris-HCl y 6 veces más en agua destilada, o se desalinizaron con sefadex G-25. Después se secaron por congelación y se analizaron mediante SDS-PAGE (ver Figura 2).

toda la investigación, a los voluntarios se les preguntó periódicamente sobre su deseo de continuar. Este estudio fue aprobado por los comités médicos de las Fuerzas Militares y del Ministerio de Salud de Colombia.

Para las pruebas de reto los voluntarios se hospitalizaron en el Hospital Militar (HMC) de Colombia en Bogotá con un completo acceso a todos los servicios médicos y a la Unidad de Cuidados Intensivos (RA es especialista en esta área). Además, durante el período de hospitalización, 6 médicos, autores de este trabajo, estaban disponibles las 24 horas del día en el hospital. Los extendidos de sangre de los voluntarios fueron examinados independientemente en 3 ocasiones: por los autores del trabajo, por el personal científico del HMC y por el Servicio de Erradicación de Malaria (SEM). Los autores se impusieron el criterio que los vacunados que desarrollaran parasitemias por encima de 0.5% se tratarían con cloroquina y después sulfadoxina y pirimetamina o quinina.

Los voluntarios se dividieron en 5 grupos: 1) dos (voluntarios DA y JC) recibieron 3 dosis de 2 mg de SPf(66)30 en los días 0, 60 y 80; 2) tres (WB, WG y LC) recibieron la misma proteína y dosis sólo en los días 0 y 60; 3) cuatro (HA, JS, EO y HB) recibieron 3 dosis de 2 mg de SPf(105)20 en los días 0, 20 y 45; 4) tres controles (AC, JD y CB) recibieron solución salina en los días 0, 20 y 45; 5) un voluntario (JE) sirvió como simple receptor para pasar la cepa de *P. falciparum*. Tanto las proteínas sintéticas híbridas como la solución salina se absorbieron con Al(OH)<sub>3</sub> antes de las inoculaciones.

Un sujeto vacunado con SPf(66)30 (DA) desarrolló una erupción general urticariforme 5 minutos después de la tercera inmunización. No hubo hipotensión ni disnea y el brote respondió rápidamente al tratamiento con hidrocortisona y adrenalina. Se desconoce la causa de esta reacción pero se atribuyó a problemas durante la diálisis de un lote de SPf(66)30 para quitarle sales, Tris y ditiotreitol (DTT). Como no se pudieron descubrir anticuerpos específicos IgE contra el compuesto, según el examen con la prueba ELISA-dot-blot (transferencia de mancha o círculo), esta diálisis se omitió del protocolo de purificación y la desalinización se hizo mediante filtración por geles.

Ni en el sujeto vacunado 3 veces con otro lote de SPf(66)30 ni en los que se vacunaron 3 veces con SPf(105)20 hubo efectos colaterales graves generalizados o locales. Sin embargo, en todos los voluntarios se notó dolor ligero, eritema local e induración en el sitio de las inoculaciones. Tampoco hubo fiebre en ninguno de los voluntarios ni cambios significativos en el recuento de glóbulos sanguíneos, ni en la seroquímica, ni en los análisis de orina en los días -1, 1, 3 y 5 después de cada inmunización. Las pruebas de autoinmunidad (factor reumatoideo, anticuerpos antinucleares, prueba de Coombs y anticuerpos contra las fibras de miocardio) fueron sistemáticamente negativas.

Para estudiar la dinámica de las respuestas inmunes humoral y celular, se tomaron muestras de sangre el día anterior a cada inmunización, 15 días después y el día antes del reto. En esta última muestra se determinaron los títulos de anticuerpos mediante la prueba ELISA (peptide-antipeptide enzyme linked immunosorbent assay = inmunosorbencia ligada a enzimas con péptido-antipéptido) donde se usaron moléculas de proteínas sintética como antígeno. No se observaron anticuerpos contra la molécula repetidora de los circumesporozoitos en ninguno de los suero ni tampoco contra Pf155/RESA (ring erythrocyte surface antigen)<sup>5,15</sup> en los sueros de los individuos inmunizados con SPf(105)20 (Cuadro 1).

Las pruebas de inmunofluorescencia indirecta (PIFI) mostraron que todos los sueros tenían anticuerpos contra merozoitos-esquizontes con títulos entre 1:20 y 1:160. Todos los sueros antes de las inmunizaciones así como los de los controles y los de los simples receptores eran negativos o tenían títulos inferiores a 1:20. No se encontró correlación entre los niveles de anticuerpos y la protección antimalárica, pero la única persona vacunada con

SPf(66)30 que no tenía protección (JC), mostró en todos los métodos el título más bajo de anticuerpos. Las pruebas de proliferación de células mononucleares en sangre periférica (CMSP) donde se usaron como antígenos proteína híbrida SPf(66)30 o sonicados de esquizontes purificados, mostraron índices de estímulo (IE) por debajo de 3.0 antes de la primera inmunización. Después de cada vacunación y antes del reto, los IE oscilaron desde 0.61 hasta 35.1 pero no se correlacionaron con los títulos de anticuerpos ni con la protección antimalárica (Cuadro 1). Tanto en las pruebas humorales como en las celulares se observó una ligera reactividad cruzada entre las proteínas sintéticas, muy posiblemente debida a la presencia de varias copias de la secuencia polimerizante Gli-Cis-Cis-Gli en ambas moléculas.

Después del séptimo día del reto, el simple receptor y los voluntarios que recibieron solución salina tenían parasitemias que en 12 h se levantaron desde niveles muy bajos hasta >1% (Cuadro 2). Inmediatamente se suministró quimioterapia que produjo una rápida respuesta clínica sin que hubiera efectos o secuelas residuales. De los 4 volun-

Cuadro 1  
Respuestas Inmunes Humorales y Celulares en los Vacunados

Voluntario	Antígeno inmunizante	Análisis de los títulos de anticuerpos ELISA				PIFI	
		SPf(66)30		SPf(105)20		Esquizontes	
		PI	PR	PI	PR	PI	PR
WB	SPf(66)30	0.140	0.580	0.160	0.300	0	40
WG	SPf(66)30	0.260	0.570	0.310	0.545	0	40
LC	SPf(66)30	0.340	0.640	0.160	0.210	20	160
DA	SPf(66)30	0.08	0.750	0.100	0.320	0	40
JC	SPf(66)30	0.160	0.170	0.110	0.170	0	20
HA	SPf(105)20	0.240	0.270	0.300	1.000	20	40
JS	SPf(105)20	0.170	0.480	0.110	0.440	0	160
EO	SPf(105)20	0.110	0.120	0.240	0.720	0	160
HB	SPf(105)20	0.180	0.570	0.00	1.200	20	40
AC	Salina	0.240	0.280	0.210	0.190	0	0
JD	Salina	0.0	0.0	0.007	0.0	0	0
CB	Salina	0.200	0.270	0.160	0.440	0	0
JE	-	NH	NH	NH	NH	0	0

Voluntario	Antígeno inmunizante	Pruebas de proliferación de CMSP				Esquizontes	
		SPf(66)30		SPf(105)20		Esquizontes	
		PI	PR	PI	PR	PI	PR
WB	SPf(66)30	0.6	3.1	NH	3.1	2.0	1.5
WG	SPf(66)30	1.7	5.6	NH	4.1	1.7	5.6
LC	SPf(66)30	0.6	5.5	NH	3.0	1.4	12.4
DA	SPf(66)30	1.1	13.9	NH	7.8	1.1	6.6
JC	SPf(66)30	1.0	16.1	NH	9.5	1.1	9.1
HA	SPf(105)20	0.4	18.9	NH	18.3	0.7	35.1
JS	SPf(105)20	1.3	12.0	NH	5.3	1.1	13.4
EO	SPf(105)20	1.7	0.6	NH	0.6	3.0	0.8
HB	SPf(105)20	NH	1.8	NH	2.3	NH	3.3
AC	Salina	0.1	1.3	NH	1.3	0.2	1.4
JD	Salina	2.1	1.7	NH	0.8	2.5	1.0
CB	Salina	1.3	3.5	NH	3.4	1.8	4.0
JE	-	NH	NH	NH	NH	NH	NH

Los títulos de anticuerpos fluorescentes se expresan como el recíproco de la dilución final del suero. Para las pruebas PIFI-esquizontes<sup>15</sup> se usaron cultivos de eritrocitos infectados con *P. falciparum* que se dejaron secar al aire, donde la parasitemia era de 10% en el estadio de esquizontes-merozoitos y eritrocitos humanos infectados con anillos, fijados en glutaraldehído, con parasitemia de 12%, para la prueba Pf155/RESA-PIFI<sup>15</sup>. En todos los sueros los anticuerpos contra RESA fueron negativos. Se usaron fragmentos F (ab)2 conjugados para fluorescencia de IgG antihumana de cabra purificada por afinidad. Cada uno de los pozos en las placas de Cooke para ELISA (Dynatech Corp) se recubrió con 10 µg de cada una de las moléculas disueltas en amortiguador carbonatado, pH 9.6. Las placas se bloquearon durante 2 horas con solución amortiguada de fosfatos (phosphate buffer solution = PBS) pH 7.3 con caseína y se lavaron 3 veces con PBS que contenía Tween 20 al 0.05%. Las placas se incubaron durante la noche a 37°C en suero diluido 1:50 en PBS + 1% de caseína y se lavaron 3 veces como antes. Se agregó IgG antihumana de cabra, conjugada para peroxidasa, en dilución 1:1000 en PBS que se incubó durante 1 h y se lavó 3 veces y también se adicionó el sustrato de o-fenilendiamina para peroxidasa. La densidad óptica se leyó a 490 nm<sup>16</sup> y se consideró positiva si era superior a 0.200. Todos los sueros fueron anti-NANP negativos, quizás porque se incluyó NANP en las proteínas híbridas sintéticas una vez en lugar de repetir 3x. El experimento fue realizado en el laboratorio de la Dra R. Nussenzweig por uno de los autores (PR). La proliferación de CMSP se ensayó con CMSP aislados por centrifugación con ficol-hipaque y sembrados a 150,000 y 300,000 células en 0.2 ml rpm + 10% de una mezcla de sueros humanos O+, 25 mM HEPES, penicilina, estreptomycinina y el polímero de proteína o los sonicados de esquizontes a concentraciones de 1.5 y 12.5 µg ml<sup>-1</sup>. Al quinto día del cultivo in vitro cada pozo recibió 0.5 uCi de (<sup>3</sup>H) timidina (Amersham, 93 Ci mMol<sup>-1</sup>). Las células se cosecharon a las 16 h después y la <sup>3</sup>H incorporada se evaluó con espectroscopia de emisiones β<sup>17,18</sup>. Sólo se consideraron positivos los IE por encima de 5.0. El material para las pruebas de respuestas inmunes humorales y celulares fue suministrado por FVO y por varias cepas silvestres colombianas. PI, pre-inmune; PR, pre-reto.

Cuadro 2. Desarrollo de la Parasitemia Post-reto en los Vacunados.

Proporción de la parasitemia en los días después del reto.

	5		6		7		8		9		10		11	
	am	pm	am	pm	am	pm	am	pm	am	pm	am	pm	am	pm
SPf(66)30														
WB	0	0	0	0.002	0.007	0	0	0	0	0	0	0	0	0
WG	0.015	0.036	0.040	0.002	0.440	0.289	0.020	0	0.171	0.368	0.019	0.006	0.190	0.120
LC	0	0.034	0.008	0	0.052	0.142	0.030	0.002	0.214	0.465	0.011	0.006	0.051	0.175
DA	0.006	0.010	0.028	0.011	0.410	0.400	0.066	0.007	0.288	0	0.014 <sup>T</sup>			
JC	0	0.006	0.007	0	0.002	0.171	0.183	0.002	0.078	2.150 <sup>T</sup>				
SPf(105)20														
HA	0	0.005	0.02	0	0.016	0.103	0.118	0.004	0.330	0.236	0.092	0.027	0.022	0.660
JS	0.010	0.180	0.025	0	0.002	0.220	0.013	0.005	0.603	0.660	0.011	0.02	0.384	0.420
EO	0	0.006	0.002	0.004	0.015	0.112	0.100	0.005	1.200 <sup>T</sup>					
HB	0.002	0.100	0.054	0.002	0.110	0.400	0.460	0.008	2.12 <sup>T</sup>					
Controles														
AC	0	0.032	0.022	0.007	0.016	0.270	0.150	0	0.115	1.600 <sup>T</sup>				
JD	0	0.033	0.026	0.005	0.008	0.870	0.780	0.017	4.260 <sup>T</sup>					
CB	0	0.120	0.072	0	0.300	2.300 <sup>T</sup>								
JE	0.008	0.100	0.115	0.010	1.700	3.600 <sup>T*</sup>								
	12		13		14		15	16	17	18	19	20	21	22
	am	pm	am	pm	am	pm								
SPf(66)30														
WB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
WG	0.015	0.166	0.292	0.094	0.075	0.072	0.001	0	0.020	0.030	0	0.020	0	0
LC	0.130	0.013	0.120	0.242	0.060	ND	0.02	0.116	0.064	0	0	0	0	0
SPf(105)20														
HA	0.110	0.180	0.486	0.500	0.0354	0.675 <sup>T</sup>								
JS	0.06	0.190	1.050 <sup>T</sup>											

Los miembros del Grupo 2 (WB, WG y LC), recibieron la segunda de las 2 dosis de SPf(66)30, ochenta (80) días antes del reto. El Grupo 1 (DA y JC) recibió la última de 3 inyecciones de SPf(66)30, sesenta (60) días antes del reto, como en los sujetos vacunados con SPf(105)20 ó a quienes se les dio solución salina. En el día del reto se inyectó a los voluntarios por vía endovenosa una cepa silvestre de *P. falciparum* con grado I de resistencia a la cloroquina, pero completamente sensible a la sulfadoxina y la pirimetamina, como casi todas las cepas silvestres colombianas. Los eritrocitos infectados se obtuvieron de EG, voluntario sensible a malaria, previamente inoculado con la cepa descongelada, de grupo sanguíneo O+, compatible con todos los receptores, en excelentes condiciones médicas, clínicas y de laboratorio, y con todas las pruebas serológicas negativas. El inóculo que se dio a los voluntarios fue un millón de eritrocitos frescos, infectados con anillos vivos, diluidos en ~ 4 ml de solución salina estéril. La parasitemia se controló después del tercer día mediante extendidos y gotas gruesas que se tiñeron con Giemsa, Fields, y acridina anaranjada cada 12 h, y los médicos la comunicaron a los voluntarios para permitirles retirarse. Los voluntarios con parasitemias por encima de 0.5% recibieron tratamiento inmediato con cloroquina y luego sulfadoxina y pirimetamina. Debido a sus excelentes condiciones clínicas, los voluntarios HA, JS y JD, con parasitemias ligeramente por encima de 0.5%, se

dejaron sin tratamiento durante 24-80 h más. En este período mostraron control parcial de la parasitemia. Se indica la evolución de las parasitemias individuales para comprender mejor los efectos protectores de las proteínas híbridas sintéticas. En el curso de los primeros 4 días todas las parasitemias fueron negativas. Las lecturas de las tinciones con Giemsa fueron más bajas que las de acridina anaranjada (estos datos no se incluyen). T, infección terminada. \*, esta muestra se tomó justamente antes y 2 h después de comenzar el tratamiento.

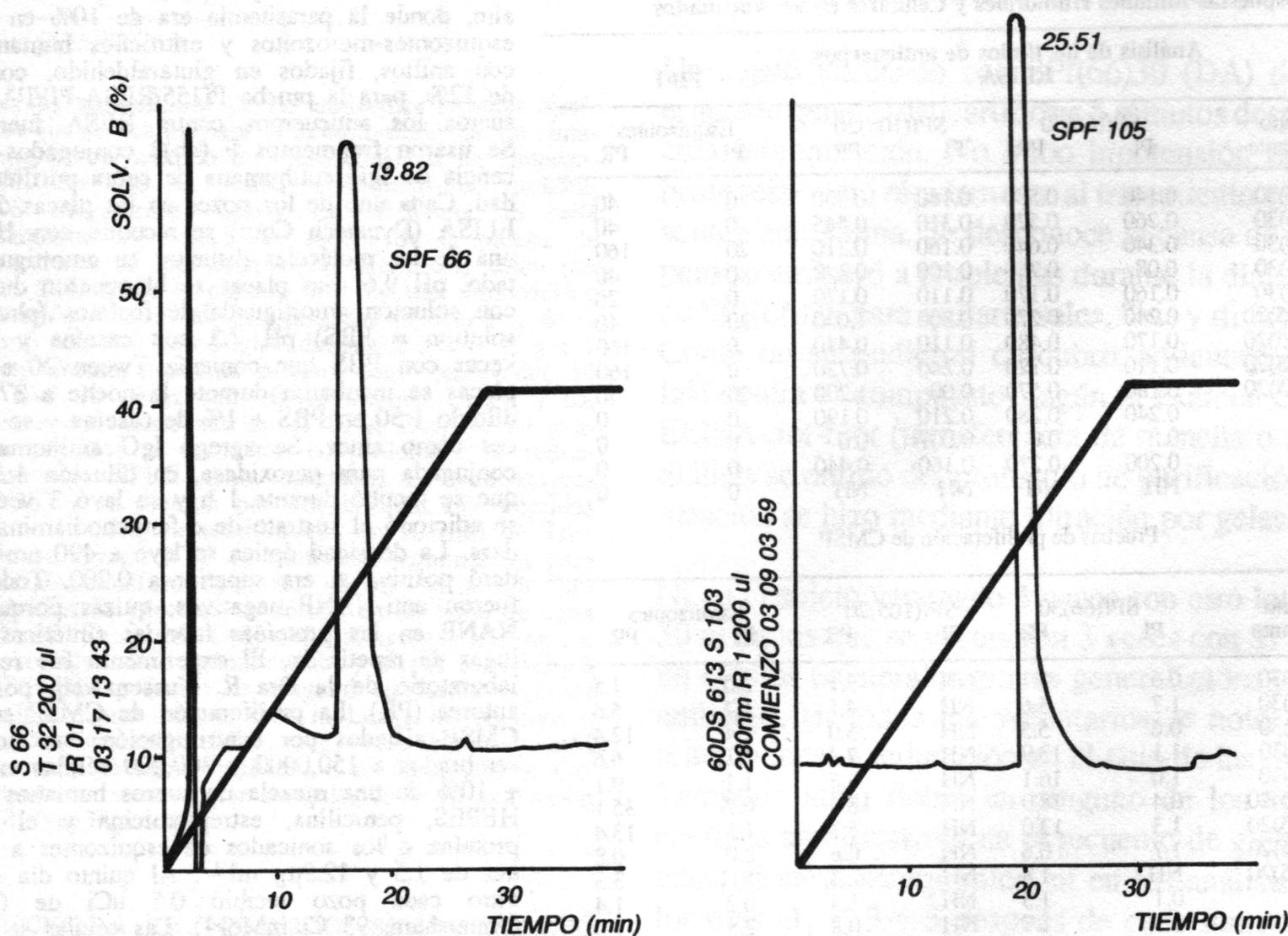


Figura 2. Cromatogramas en cromatografía líquida de alta presión (CLAP) de las proteínas maláricas sintéticas. Solvente A, CH<sub>3</sub>CN al 5%, ácido trifluoroacético (ATF) al 0.068% en agua deionizada; solvente B, CH<sub>3</sub>CN al 90%, ATF al 0.045%. Se usaron columnas de octadecilsilano (ODS) a 45° C.

tarios vacunados con SPf(105)20, en 2 (HA, JS) se observó un control parcial de la infección con recuentos bajos del parásito durante 13-14 días y luego desarrollo de parasitemias superiores a 0.5%. También recibieron quimioterapia y se recobraron sin complicaciones o problemas clínicos. Los otros 2 se comportaron como los controles y se trataron de la misma manera (Cuadro 2). De los 5 voluntarios vacunados con SPf(66)30, en 3 (WB, WG y LC) se observaron infecciones leves con un descenso continuo en el recuento de parásitos y una recuperación total hacia el día 21 (Cuadro 2). De ellos el voluntario WB tuvo una parasitemia pico de 0.007% en el séptimo día, pero luego nunca se le volvieron a observar parásitos en la sangre. Los otros 2 (WG y LC) desarrollaron parasitemias por debajo de 0.5% que se autocontrolaron hacia los días 18 y 20 después de la dosis de reto. Aunque las formas asexuales sanguíneas habían desaparecido, se pudieron observar unos pocos gametocitos (promedio 0.004%). Debido a que se apreciaron de manera ocasional muy escasas formas sanguíneas asexuales (menos de 0.004%), en el día 35 se les suministró quimioterapia profiláctica. Para el día 40 no se encontraron gametocitos ni formas sanguíneas asexuales y las condiciones clínicas de los voluntarios, así como los resultados de sus pruebas de laboratorio, eran excelente. El cuarto voluntario (DA) tuvo una parasitemia inferior a 0.45% el día 10, decidió retirarse de la investigación y se le suministró quimioterapia inmediatamente. El quinto (JC), hizo una parasitemia similar a la del grupo control (Cuadro 2).

Los síntomas clínicos de malaria (fiebre, dolor de cabeza, náusea) se encontraron en todos los voluntarios infectados con el parásito. Es interesante observar que los síntomas aparecieron más temprano en los individuos protegidos que en los controles y en los simples receptores (días 6). Se notaron cambios menores de laboratorio clínico atribuibles a la malaria en todos los voluntarios pero hubo regreso a los niveles normales después de la quimioterapia. Ninguno de los vacunados desarrolló enfermedad grave y por tanto no se necesitó ninguna forma de cuidado especial o intensivo.

Varios puntos de este estudio merecen énfasis. Se usaron moléculas sintéticas híbridas que tenían epítopes a partir de diferentes estadios infecciosos del parásito. Esta estrategia se podría usar para el futuro diseño de vacunas con epítopes a partir de múltiples patógenos. Los epítopes se polimerizaron para constituir grandes proteínas sintéticas que tenían varios epítopes y así eran altamente inmunogénicas sin tener que recurrir a portadores extraños<sup>8,9</sup>. Las proteínas sintéticas se usaron sin inmunopotenciadores especiales; la adición de tales potenciadores puede aumen-

tar posteriormente sus capacidades protectoras. Sorprendentemente, sin embargo, no hubo correlación entre los distintos parámetros inmunológicos humorales y celulares medidos y la protección antimalárica observada. Se vio una demora considerable del proceso infeccioso en la mitad de los individuos vacunados con SPf(105)20. Debido a su diseño, esta molécula también puede ser efectiva contra el reto con esporozoitos. SPf(66)30 suministró fuerte protección en casi todos los voluntarios inoculados, inclusive en los que sólo recibieron 2 dosis, lo que sugiere que con adyuvantes más potentes o una fórmula ligeramente mejorada, el efecto protector podría ser casi completo.

Se han obtenidos resultados muy prometedores mediante la vacunación con la proteína CS<sup>10,11</sup> así como con Pf155/RESA y otras moléculas<sup>5</sup>. El polímero híbrido de la proteína sintética SPf(66)30 usado aquí es la primera vacuna sintética para uso humano contra los estadios sanguíneos asexuales de malaria por *P. falciparum*.

#### AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo recibió apoyo de la Presidencia de la República de Colombia, del Programa de Investigación y Desarrollo ICFES-BID, del Ministerio de Salud Pública, de la Occidental Petroleum Co. de Colombia y de la German Leprosy Relief Association. Los autores agradecen a los doctores Belisario Betancur, ex-Presidente de Colombia, Diego Pizano, José Granada, Bruce Merrifield, Richard Houghten y Richard Lerner, su aliento y estímulo. Y a las Fuerzas Militares de Colombia, especialmente a los voluntarios, al personal médico del HMC, y a los doctores María Mercedes Zambrano, Mats Wahlgren, José Félix Patiño, así como a las Sras Fanny Calvo de Simon, Lida Londoño, Claudia Rocha, Marcela y Esperanza Rodríguez y Aura León, sus valiosas sugerencias.

#### REFERENCIAS

1. Patarroyo, M.E. *et al. Nature*, 1987, 328: 629-632.
2. Patarroyo, M.E. *et al. In Vaccines 87* (eds. Chanock, R.M., Lerner, R.A., Brown, E & Ginsberg, H.) 117-124 (Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1987).
3. Zavala, F. *et al. Science*, 1985, 228: 1436-1440.
4. Good, M. F. *et al. Science*, 1987, 235: 1059-1062.
5. Collins, W.E. *et al. Nature*, 1986, 323: 259-262.
6. WHO *International Digest of Health Legislation*, 1985, 36: 825-429.
7. TDR. Document TDR/IMMAL/FIELDMAL/VAC 85.3.
8. Hersenberg, H. & Tukahisa, T. *J Exp Med*, 1982, 155: 1730-1740.
9. Schutz, M.P., Leclerc, C., Audibert, F. & Chedid, L. *J Immunol*, 1985, 135: 2319-2322.
10. Ballou, W.R. *et al. Lancet*, 1987, 1: 1277-1281.
11. Herrington, D.A. *et al. Nature*, 1987, 328: 257-259.
12. Barany, G. & Merrifield, R.B. *The peptides* (eds Gross, E. & Meinhofer, J.). Pp.1-284, Academic Press, New York, 1980.
13. Sarin, V.K., Kent, S.B.H., Tam, J.P. & Merrifield, R.B. *Analyt Biochem*, 1981, 117: 147-157.

14. Tam, J.P., Heath, W.F. & Merrifield, R.B. *Int J Peptide Protein Res*, 1983, 21: 57-65.  
 15. Perlmann, H. et al. *J Exp Med*, 1984, 159: 1686-1704.  
 16. Robertson, P.W., Wybin, L.R. & Cox, J. *J Immunol Meth*, 1985, 76: 195-197.

17. Troye-Blomberg, M. Perlmann, H.K., Patarroyo, M.E. & Perlmann, P. *Clin Exp Immunol*, 1983, 53: 345-353.  
 18. Troye-Blomberg, M., Romero, P., Patarroyo, M.E., Björkman, A. & Perlman, P. *Clin Exp Immunol*, 1984, 58: 380-387.

**LA PUBLICACION DE ESTA REVISTA  
 ES POSIBLE POR LA COLABORACION DEL  
 DECANATO DE LA FACULTAD DE SALUD,  
 UNIVERSIDAD DEL VALLE**

19. ...  
 20. ...  
 21. ...  
 22. ...  
 23. ...  
 24. ...  
 25. ...  
 26. ...  
 27. ...  
 28. ...  
 29. ...  
 30. ...  
 31. ...  
 32. ...  
 33. ...  
 34. ...  
 35. ...  
 36. ...  
 37. ...  
 38. ...  
 39. ...  
 40. ...  
 41. ...  
 42. ...  
 43. ...  
 44. ...  
 45. ...  
 46. ...  
 47. ...  
 48. ...  
 49. ...  
 50. ...  
 51. ...  
 52. ...  
 53. ...  
 54. ...  
 55. ...  
 56. ...  
 57. ...  
 58. ...  
 59. ...  
 60. ...  
 61. ...  
 62. ...  
 63. ...  
 64. ...  
 65. ...  
 66. ...  
 67. ...  
 68. ...  
 69. ...  
 70. ...  
 71. ...  
 72. ...  
 73. ...  
 74. ...  
 75. ...  
 76. ...  
 77. ...  
 78. ...  
 79. ...  
 80. ...  
 81. ...  
 82. ...  
 83. ...  
 84. ...  
 85. ...  
 86. ...  
 87. ...  
 88. ...  
 89. ...  
 90. ...  
 91. ...  
 92. ...  
 93. ...  
 94. ...  
 95. ...  
 96. ...  
 97. ...  
 98. ...  
 99. ...  
 100. ...