

Monografía

Estrategias de investigación para el desarrollo de una vacuna contra la sífilis

Enrique Meléndez-Herrada,¹ Maritonia Ramírez,¹ B Guadalupe Sánchez Dorantes,¹ Alejandro Cravioto¹¹ Departamento de Salud Pública, Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México.

Introducción

La sífilis es una enfermedad de importancia en la salud pública, el agente causal es el *Treponema pallidum* (*T. pallidum*) un microorganismo en forma de espiral y tiene como huésped natural al ser humano. La sífilis es adquirida por contacto directo, usualmente por la vía sexual, causando lesiones primarias (chancro sifilítico), lesiones secundarias (mucocutáneas) y complicaciones serias en la etapa terciaria. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado 12 millones de casos por año, la gran mayoría presentes en países en vías de desarrollo. Es notable esta enfermedad en los países de Europa Oriental a partir de la disolución de la Unión Soviética. La sífilis congénita tiene gran presencia en las naciones en vías de desarrollo, debido a la falta de exámenes prenatales y el tratamiento con antibióticos a las mujeres gestantes. La infección congénita provoca abortos, muerte neonatal, y secuelas en los niños. La sífilis facilita la transmisión del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Todo esto permite considerar a la sífilis como problema global de salud pública al inicio del nuevo milenio. Hasta el momento no existe una vacuna para prevenir esta enfermedad.

Microbiología

T. pallidum es una espiroqueta Gram negativa, pertenece a la familia *Treponemataceae* que agrupa a tres géneros: *Leptospira*, *Borrelia*, y *Treponema*. Otros treponemas patógenos son *T. pallidum* subespecie *pertenue*, el agente causal de la frambesia o pian, *T. pallidum* subespecie *endemicum* el causante de la sífilis endémica (una forma no-venérea, llamada Bejel en el medio oriente) y *T. carateum* con el pinto.¹ Los treponemas son morfológicamente idénticos con alto grado de homología en su DNA, relacionados antigénicamente, difieren en su distribución geográfica y especificidad a tejidos del huésped. *T. pallidum* es de los pocos patógenos del hombre que no puede ser cultivado *in vitro*, aunque se ha logrado una multiplicación limitada en sistemas

de cultivo de tejidos del laboratorio.² *T. pallidum* presenta un tiempo de duplicación inusualmente lento de 30 a 33 horas. Presenta flagelos en uno de sus extremos para su movilidad que mantiene incluso en ambientes viscosos y movilidad en los fluidos biológicos.

Respuesta inmune

La sífilis venérea despierta una fuerte respuesta inmune humoral y celular. Las pruebas serológicas demuestran la presencia de anticuerpos a *T. pallidum* al inicio de la infección y permanecen durante la evolución de la enfermedad. Las manifestaciones primarias y secundarias de la sífilis correlacionan con el desarrollo de la respuesta inmune celular, esto sucede en humanos infectados y en el modelo de experimentación (por infección intratesticular en conejo). Sin un tratamiento médico *T. pallidum* es capaz de sobrevivir en el huésped por décadas y transmitirse a otro individuo. En el modelo animal de conejo los anticuerpos IgM e IgG son detectados en los primeros 6 días de infección y se mantienen por mucho tiempo más, ello sugiere que las células B están continuamente estimuladas. La IgG en el humano persiste aún en la etapa latente. Sin embargo, la reacción humoral no es por sí sola suficiente para eliminar a este patógeno, la inmunidad celular tiene el papel clave.^{3,4} Durante las etapas de la enfermedad las lesiones sifilíticas están caracterizadas por infiltrados celulares locales de linfocitos, macrófago y células plasmáticas. En el chancro primario las células CD4+ y los macrófagos predominan. En las lesiones de sífilis secundaria se presenta una mayoría de células CD8+ (esto resulta sorprendente para un patógeno extracelular). Lesiones de sífilis primaria y secundaria en animales de experimentación se incrementa la expresión de citocinas TH1, IL-2, e IFN- α . Los linfocitos T circulantes responden a antígenos del treponema y pueden ser detectados en la etapa final de la sífilis primaria. Esta respuesta es mediada por células y tiene su pico de mayor intensidad en la etapa secundaria. Se observa también un incremento en la apoptosis de linfocitos de sangre periférica y CD4+ en la ruta mediada

por Fas en pacientes con sífilis secundaria y conlleva a la parcial desaparición de *T. pallidum* en estas lesiones, con el desarrollo de la lesión crónica.^{5,6}

Genoma de *Treponema pallidum*

El genoma de *T. pallidum subs. pallidum* cepa Nichols fue secuenciado por los grupos del Instituto de Investigación Genómica (TIGR) y la Universidad de Houston en Texas (EUA) su trabajo fue publicado en la Revista Science en 1998.⁷ Se trata de un genoma circular, relativamente pequeño de 1.14 megabases (Mb), codifica a 1,041 proteínas, no contiene elementos extracromosomales. Únicamente el 52% de los genes tiene funciones asignadas, el 27% funciones desconocidas y el 17% presenta similitud con otras especies de bacterias. La información básica del genoma y las secuencias de nucleótidos de los genes se encuentra en bases de datos de Internet como el TIGR-CMR (<http://cmr.tigr.org/tigr-scripts/CMR/CmrHomePage.cgi>). En esta base de datos los genes se muestran en locus, anotados como TP0001 hasta TP1041 acompañados de su secuencia de nucleótidos y con frecuencia con una descripción de su función biológica. La secuencia completa de este genoma se encuentra depositada en el GenBank con el número de acceso AE000520.

Con la secuenciación se confirma mucha de la información experimental anterior a la era genómica. *T. pallidum* es un organismo heterotrófico, obligado a obtener muchos de sus nutrientes del huésped, presenta serias limitaciones en sus capacidades metabólicas. La información genómica muestra que tiene un amplio repertorio de proteínas de transporte, con alta especificidad de sustrato, principalmente en aminoácidos. Posee transportadores específicos de cationes, el mejor conocido es el cassette de enlace de ATP (transportadores ABC) codificados por el operón *tro*. Como ejemplo, la proteína TroA (alternativamente llamada TROMP1) involucra el enlace del complejo *tro* y enlaza al zinc y al manganeso.⁸

La bacteria es capaz de llevar a cabo la glucólisis, aunque faltan enzimas de ciclo de los ácidos tricarbónicos y del transporte de electrones. Carece de rutas bioquímicas para fuentes alternativas de carbono y energía, falta la síntesis de *novo* de enzimas para cofactores y nucleótidos. No están presentes las rutas de síntesis de aminoácidos y ácidos grasos, si requiere de macromoléculas las toma del huésped y utiliza rutas bioquímicas de interconversión. Y explica porqué *T. pallidum* no puede ser cultivado *in vitro* o en los medios de cultivo comunes a otras bacterias y depende de la glucólisis para generar energía con la síntesis de ATP (trifosfato de adenosina). La sensibilidad de *T. pallidum* al oxígeno ambiental es debido a la limitación de genes para enzimas protectoras contra este elemento, como la catalasa y la

oxidasa, ambas enzimas están involucradas en la desintoxicación de especies reactivas oxigenadas.

Adicionalmente, una redoxina (tp0823) convierte el superóxido a peróxido.^{9,10} *T. pallidum* tiene una vida limitada bajo el estrés térmico, la sobrevivencia en otras bacterias es regulado por el factor sigma (σ 32) faltante en esta espiroqueta. *T. pallidum* cepa Nichols únicamente tiene genes de 22 proteínas de superficie, comparado con más de 105 en *Borrelia burgdorferi*, en otros términos, la membrana externa de *T. pallidum* presenta un número bajo de proteínas de superficie.¹¹ Un aspecto a considerar son los factores de virulencia. El genoma de *T. pallidum* revela la falta de genes de lipopolisacáridos como sucede con la endotoxina clásica de la membrana externa en bacterias Gram negativas, que son causa de fiebre e inflamación. Aunque *T. pallidum* produce una lipoproteína con cualidades de inducir la expresión de mediadores de inflamación por la vía de receptores tipo Toll (TLR2). De la información del genoma se conoce de la ausencia de genes para enzimas citolíticas u otras citotoxinas, aunque presenta genes homólogos para hemolisinas, estudios de enzimas recombinantes han demostrado hasta el momento que la espiroqueta no tiene gran capacidad hemolítica y la función biológica de sus hemolisinas todavía está en duda.

El genoma de *T. pallidum* también clarifica aspectos de la patogénesis de la sífilis y cómo invade a ciertos órganos. *T. pallidum* tiene capacidad de adherencia vía interacciones adhesina - ligando e integrinas, existen proteínas con capacidad de unión a fibronectina. En este aspecto Cameron y col.¹² mediante un análisis de computadora buscaron candidatos de adhesinas y encontraron a los genes tp0155 y tp0483, después fueron clonados en el laboratorio y obtuvieron proteínas con características de enlace a fibronectina. La motilidad es otro factor de virulencia de muchas bacterias patógenas, *T. pallidum* es altamente móvil, tiene el clásico movimiento de sacacorchos que es típico de las espiroquetas. La microscopía electrónica revela la presencia de filamentos axiales o endoflagelos. Éstos inducen una intensa respuesta celular y humoral, las principales proteínas que han sido reconocidas por anticuerpos de conejos y humanos infectados, son tres FlaB1 (TP0868), FlaB2 (TP0792) FlaB3 (TP0870) que se integran por subunidades. La quimiotaxis ayuda en la diseminación del *Treponema*, cuatro genes de este tipo son reconocidos en el genoma, mcp1 (TP0040), mcp2-1 (TP0488), mcp2-2 (TP0639) mcp2-3 (TP0640). Con la inflamación *T. pallidum* induce en cultivo de fibroblastos de la dermis la producción de una colagenasa (metaloproteína-1, MMP-1) que favorece la penetración de *T. pallidum* a tejidos.¹³ También se induce la expresión de moléculas de adhesión ICAM-1, VCAM-1 y la E-selectina, activadas por la proteína de 47kDa (TpN47) y activa una serie de proteínas como TNF- α , IL- β , IL-6, IL-8 e IL-12. Con

estas características, células endoteliales, macrófagos y células dendríticas, con sus receptores tipo Toll reconocen a estructuras del *Treponema*, como las lipoproteínas e inician una respuesta inflamatoria.¹⁴

Con la secuenciación del genoma de *T. pallidum* cepa Nichols, se ha identificado a una familia de genes polimórficos, son 12 genes clasificados como genes repetidos de *T. pallidum* (*tpr*) e identificados en serie (de la A a L) codifican a proteínas de membrana externa, y se asocian a posibles factores de virulencia del tipo adhesinas y porinas que fueron deducidas con programas de cómputo por multialineamientos con las secuencias del genoma de *T. denticola* que presenta factores de virulencia de este tipo. Es notable que un organismo con muy limitada capacidad biosintética, dedique el 2% de su genoma a esta familia *tpr*, lo que sugiere la gran importancia que tiene esta familia de genes y sus productos de expresión para la espiroqueta. Las proteínas que codifican para estos genes (las Tpr's) presentan una gran respuesta inmune en sífilis experimental. Se han observado grandes diferencias en la respuesta inmune humoral hacia la proteína TprK de *T. pallidum* cepa Nichols con diversos pases en conejos y de estudios en diferentes laboratorios de investigación.^{15,16} Estas diferencias se deben a las secuencias de nucleótidos de *tprK* localizadas en siete regiones variables «V» que promueven la variación antigénica en esa proteína, y por lo tanto presenta restricciones como vacuna.

Estrategias de investigación en vacunas

Para el desarrollo de una vacuna contra la sífilis es necesario ubicar la investigación en un contexto genómico e inmunológico. La identificación de proteínas en la superficie de *T. pallidum* es de gran relevancia, como son las proteínas de membrana externa (cuadro 1).

Las estrategias de investigación derivadas de la genómica y a considerarse se detallan a continuación.

Análisis in silico o computacional del genoma de T. pallidum

Las lipoproteínas son exportadas a la membrana externa de las bacterias y son de especial importancia para interactuar con su microambiente. Utilizadas por la bacteria para facilitar la invasión o adhesión al huésped y sirven de blanco antigénico para el sistema inmune. Con el análisis *in silico* Haake y cols.¹⁷ obtuvieron predicciones para determinar nuevas lipoproteínas de espiroquetas. Se trata del algoritmo SpLip que tiene una mayor sensibilidad y especificidad a este tipo de proteínas, mejor a otros programas de cómputo, incluso mejor a los usados en las anotaciones de genoma de *T. pallidum* en 1998, que identificó a 22 lipoproteínas. Con SpLip se identificaron a 46 proteínas de esta

clase. El método SpLip se basa en el análisis de la caja Lipo o «LipoBox» una región en la estructura química de las lipoproteínas que presenta una diversidad en la secuencia de aminoácidos en espiroquetas. Este método de algoritmos es de gran ayuda para la búsqueda de nuevos factores de virulencia (p.ej. genes *vag*) nuevos candidatos a vacunas y sitios blanco para terapia antimicrobiana en *T. pallidum*.¹⁸

Vacunología reversa aplicada contra la sífilis

Este término fue acuñado por Pizza y col.¹⁹ se fundamenta en la deducción de las propiedades antigénicas de las proteínas codificadas del genoma de un agente patógeno mediante un intenso análisis de computadora o bioinformático, basado en programas de algoritmos (p.ej. Epimatrix, Vaccine CAD, Pepscan) con ellos ha sido posible seleccionar a nuevos candidatos de vacunas. La bioinformática se ha convertido en la herramienta de mayor importancia en el proceso de diseño de nuevas vacunas. Los eventos principales en vacunología reversa son:

1. Disponer de la secuenciación completa del genoma del agente patógeno (p.ej. *T. pallidum*).
2. Selección *in silico* o por computadora de genes que expresen proteínas de importancia inmunológica.
3. Clonación de los genes seleccionados y expresión de las proteínas.
4. Purificación de las proteínas recombinantes.
5. Ensayos *in vitro* e *in vivo* apropiados.

El algoritmo Epimatrix fue desarrollado en la Universidad de Brown (EUA), actualmente es propiedad de la compañía Epivax Inc. Analiza proteínas en segmentos de 8-9 aminoácidos y busca la afinidad con un panel de más de 100 diferentes alelos del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) clase I y clase II de los humanos. Finalmente, realiza una selección en racimo de epítopes (secuencias de aminoácidos con propiedades inmunológicas) o candidatos a vacunas. Alternativamente, existe un programa más afinado conocido como diseño de vacunas asistido por computadora Vaccine CAD.²⁰ Estos programas están en uso por las grandes firmas farmacéuticas y compañías de biotecnología en sus proyectos de investigación y desarrollo, sin embargo no se conoce de su aplicación en la investigación de *T. pallidum*. Esta metodología representa una gran promesa para acelerar el desarrollo de una vacuna contra la sífilis.

El inmunoproteoma

El grupo de Palzkill y cols.²¹ en los EUA investigaron al 90% de las proteínas codificadas del genoma de *T. pa-*

Cuadro 1. Proteínas de membrana externa de *T. pallidum* de importancia para una vacuna contra la sífilis.

Locus	Gene	Función de la proteína
TP0009	<i>tprA</i>	Proteína A tpr, (frame shift)
TP0011	<i>tprB</i>	Proteína B tpr
TP0017	<i>tprC</i>	Proteína C tpr
TP0131	<i>tprD</i>	Proteína D tpr
TP0313	<i>tprE</i>	Proteína E tpr
TP0316	<i>tprF</i>	Proteína F tpr, (frame shift)
TP0317	<i>tprG</i>	Proteína G tpr
TP0610	<i>tprH</i>	Proteína H tpr
TP0620	<i>tprI</i>	Proteína I tpr
TP0621	<i>tprJ</i>	Proteína J tpr
TP0897	<i>tprK</i>	Proteína K tpr
TP1031	<i>tprL</i>	Proteína L tpr
TP0155	—	Proteína hipotética conservada
TP0163	<i>troA</i>	Transportador ABC, periplásmico
TP0257	<i>glpQ</i>	Glicerolfosforilidíester fosfodiesterasa
TP0326	—	Proteína de membrana externa
TP0453	—	Proteína hipotética
TP0483	—	Proteína hipotética
TP0663	—	Proteína putativa de membrana externa
TP0751	—	Proteína hipotética

Fuente: TIGR-CMR

llidum y de manera sistemática caracterizaron a las proteínas antigénicas totales de este organismo en base al tiempo de respuesta inmune. Identificaron en conejos a las proteínas que despiertan una respuesta inmune temprana y mantienen su presencia durante la infección experimental. Emplearon un inmunoensayo complejo de microarreglos de proteínas a codificadas por 1,039 genes, 882 fueron clonados y expresados como proteínas de fusión con la glutatión-S-transferasa. Las proteínas con reacción antigénica relevante fueron identificadas en este estudio por quimioluminiscencia con anticuerpos de suero de conejo anti-*T. pallidum* y la respuesta la correlacionaron con la intensidad de la emisión de luz registrada. En esa investigación 106 antígenos fueron identificados, el 35% de las proteínas estaban asociadas a la envoltura celular, el 69% presentó una alta reactividad a proteínas con su secuencia de péptidos señal o hélice de transmembrana N-terminal, entre ellas la TP0139, una lipoproteína de membrana, la CMPC o TP0971, un antígeno de membrana TpD, Tp0574 una carbopeptidasa de 47kDa y TP0684 un transportador ABC.

Construcción de poliepitopos

Las vacunas DNA desarrolladas a partir de 1990 inducen la expresión de proteínas antigénicas en miocitos cuando se inyecta DNA plasmídico modificado por vía intramuscular en animales de experimentación.²² Estas vacunas en forma de secuencias de nucleótidos insertas en un plásmido o vec-

tor viral codifican para segmentos de antígenos (proteínas) con alta capacidad inmune previamente determinada. Vacunas DNA experimentales contra enfermedades infecciosas han inducido una fuerte inmunidad humoral y celular (cualidades requeridas en la vacuna contra la sífilis) con un gran potencial de incrementar la respuesta inmune protectora a través de modificaciones al vector o con la incorporación de genes de citocinas como adyuvantes. En este sentido se han desarrollado vacunas experimentales contra el parásito de la malaria y contra los virus de VIH, Epstein-Barr y hepatitis B que requieren principalmente de una respuesta de células CD8 y T- citotóxicas.²³ Con frecuencia un solo antígeno no es suficiente para garantizar una protección inmune al humano, el empleo de vacunas multivalentes como los «poliepitopos» puede superar este inconveniente. Los poliepitopos están basados en una modalidad de vacunas DNA experimentales y representan una promesa contra muchos patógenos que desarrollan enfermedades crónicas, en parásitos que tienen un complejo ciclo de vida. La variación antigénica y otros mecanismos de evasión del agente patógeno son tomados en cuenta en el diseño de estas vacunas (estas son cualidades para el desarrollo de una vacuna contra la sífilis). Sin embargo, no existen reportes científicos de vacunas contra la sífilis con estas características. Tienen una gran ventaja sobre las vacunas que están basadas en subunidades (como los péptidos). La combinación de diversos péptidos en una vacuna multivalente pueden generar interferencias bioquímicas o inmunológicas y la vacuna perder su efectividad.

Vacunas y patentes

En la actualidad la vacunación contra la sífilis se ha logrado con relativo éxito en animales de laboratorio con treponemas previamente irradiados. Una protección parcial se ha logrado con treponemas tratados con antifomina. También se ha intentado la vacunación con treponemas mantenidos a 4°C y la adición de proteínas recombinantes o nativas de *T. pallidum subs. pallidum*, como la proteína de 4kD, endoflagelos purificados, las proteínas recombinantes como TmpB, TprK y la 6pd (glicerolfosfodiéster fosfodiesterasa).²⁴⁻²⁶ La Organización Mundial de la Propiedad Intelectual y la Oficina Canadiense de la Propiedad Intelectual registraron la patente 2,325,576 con referencia a proteínas recombinantes de *T. pallidum* como vacuna. Existe una patente para la obtención de antígenos DNA recombinantes de *T. pallidum* (número de publicación internacional WO84/01961) los genes de antígenos se empaquetan en un bacteriófago como fragmentos de DNA de *T. pallidum* y después se propagan en *E. coli* obteniendo proteínas con aplicación en serodiagnóstico y/o vacuna. Estos ejemplos de propiedad industrial no fueron desarrollados como consecuencia de la información genómica y no han tenido aplicación en poblaciones. El Reporte Jordan una publicación de los Institutos Nacionales de Salud (NIH) de los Estados Unidos²⁷ especializada en el desarrollo de vacunas contra agentes infecciosos, menciona como candidatos importantes contra la sífilis a las lipoproteínas, como potentes activadores de la respuesta inmune innata. Con el desarrollo de estrategias genómicas es posible esta vacuna.

Comentarios finales

La sífilis venérea tiene una elevada morbilidad a nivel global, la aplicación de medidas eficaces de salud pública han fallado. El desarrollo de una vacuna es necesario para mantener una protección humoral y celular. La genómica es una buena opción para este desarrollo, también la mejor estrategia para entender la biología básica de *T. pallidum* debido a la dificultad que representa su cultivo en el laboratorio. El desarrollo de una vacuna contra la sífilis y su implementación a escala global tendría un gran impacto en la salud pública, principalmente en la sífilis congénita y la reducción de casos por el VIH que se encuentra frecuentemente asociado a la sífilis venérea.

Referencias

1. Antal MG, Lukehart AS, Meheus ZA. The endemic treponematoses. *Microbes Infect* 2002; 4: 83-94.
2. Fieldsteel AH, Cox DL, Moeckli RA. Cultivation of virulent *Treponema pallidum* in tissue culture. *Infect Immun* 1981; 32: 908-915.
3. Bishop NH, Miller JN. Humoral immunity in experimental syphilis I. The demonstration of resistance conferred by passive immunization. *J Immunol* 1976; 117: 191-196.
4. Bishop NH, Miller JN. Humoral immunity in experimental syphilis II. The relationship of neutralizing factors in immune sera to acquired resistance. *J Immunol* 1976; 117: 197-207.
5. Salazar CJ, Hazlett ROK, Radolf DJ. The immune response to infection with *Treponema pallidum* the stealth pathogen. *Microbes Infect* 2002; 4: 1133-1140.
6. Cullen PA, Cameron CE. Progress toward an effective syphilis vaccine: the past, present, and future. *Expert Rev Vaccines* 2006; 5: 67-80.
7. Fraser CM, Norris SJ, Weinstock GM, White O et al. Complete genome sequence of *Treponema pallidum*, the syphilitic spirochete. *Science* 1998; 281: 375-388.
8. Hazlett KR, Rusnak F, Kehres DG, Bearden SW, La Vake CJ, La Vake ME, Maguire ME, Perry RD, Radolf JD. The *Treponema pallidum* tro operon encodes a multiple metal transporter a zinc dependant transcriptional repressor and a semiautomously expressed phosphoglycerate mutase. *J Biol Chem* 2003; 278: 20687-20694.
9. Hazlett KR, Cox DL, Sikkink RA, Auch'ere F, Rusnak F, Radolf JD. Contribution of neelaredoxin to oxygen tolerance by *Treponema pallidum*. *Methods Enzymol* 2002; 353: 140-156.
10. Wagner Von Jauregg J. Uber die einwirkung der Malaria auf die progressive paralyse. *Psychiatr Neurol Wochenschr* 1918; 20: 132.
11. Porcella SF, Schwan TG. *Borrelia burgdorferi* and *Treponema pallidum*: A comparison of functional genomics environmental adaptations and pathogenic mechanisms. *Journal Clin Invest* 2001; 107: 651-656.
12. Cameron CE, Brown EL, Kuriowa MJ, Schnapp LM, Brouwer NL. *Treponema pallidum* fibronectin binding proteins. *J Bacteriol* 2004; 186: 7019-7022.
13. Chung KY, Kim KS, Lee MG, Chang NS, Lee JB. *Treponema pallidum* induces up-regulation of interstitial collagenase in human dermal fibroblast. *Acta Derm Venereol* 2002; 82: 174-178.
14. Bouis DA, Popova TG, Takashima A, Norgard MV. Dendritic cells phagocytosis are activated by *Treponema pallidum*. *Infect Immun* 2001; 69: 518-528.
15. LaFond ER, Centurion-Lara A, Godornes Ch, Van Voorhis CW. TprK sequence diversity accumulates during infection of rabbits with *Treponema pallidum subsp. pallidum* Nichols strain. *Infect Immun* 2006; 74: 1896-1906.
16. Seshadri R, Myers SAG, Tettlin H, Eisen AJ et al. Comparison of the genome of the oral pathogen *Treponema denticola* with other spirochaete genomes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 5646-5651.
17. Haake AD. Spirochaetal lipoproteins and pathogenesis. *Microbiology* 2000; 146: 1491-1504.
18. Garbon S, Forsberg A, Wolf-Watz H, Kihlberg MB. Identification of novel virulence associated genes via genome analysis of hypothetical genes. *Infect Immun* 2004; 72: 1333-1340.
19. Pizza M, Scarlato V, Mastignanni V, Giuliani MM, Aricó B, Comanduci M, Jennings GT, Baldi L et al. Identification of vaccine candidates against serogroup B meningococcus by whole-genome sequencing. *Science* 2000; 287: 1816-1820.
20. <http://www.epivax.com/matriarch/default.asp>
21. Mc Kevitt M, Brinkman BM, Mc Louhlin M, Perez C, Howell KJ, Weinstock MG, Norris JJ, Palzkill T. Genome scale identification of *Treponema pallidum* antigens. *Infect Immun* 2005; 73: 4445-4450.
22. Ivory C, Chadee K. DNA vaccines: designing strategies against parasitic infections. *Genet Vaccines Ther* 2004; 2: 17.

23. Thompson AS, Elliott LS, Sherrit AM, Sproat WK et al. Recombinant polypeptide vaccines for the delivery of multiple CD+8 cytotoxic T-Cell epitopes. *J Immunol* 1996; 157: 822-826.
24. Metzger M, Michalska E, Podwinska J, Smogov W. Immunogenetic properties of the protein component of *Treponema pallidum*. *B J Vener Dis* 1969; 45: 299-303.
25. Borenstein LA, Radolf JD, Fehniger TE, Blanco DR, Millar JN, Lovett MA. Immunization of rabbits with the recombinant *Treponema pallidum* surface antigen 4D alter the course of experimental syphilis. *J Immunol* 1999; 140: 2415-2421.
26. Wicher K, Schouls LM, Wicher V, Van Embden JD, Nakeeb SS. Immunization of guinea pigs with recombinant tmpB antigens induces protection against challenge infection with *Treponema pallidum* Nichols. *Infect Immun* 1991; 59: 4343-4348.
27. <http://www.niaid.nih.gov/dmid/vaccines/jordan20/>

Comité Editorial de la Facultad de Medicina

La tarea fundamental del Comité Editorial de la Facultad de Medicina de la UNAM es la de promover la publicación de obras originales escritas por los investigadores y profesores de la Facultad, así como de otras instituciones médicas.

Los convenios que suscribe el Comité salvaguardan todos los derechos que corresponden a los autores y aseguran que se les entreguen las regalías correspondientes por la comercialización de sus obras.

Una vez que la obra ha sido aceptada para su publicación por una empresa editorial, la Secretaría Jurídica y de Control Administrativo de la Facultad lleva a cabo los trámites necesarios para que los contratos sean registrados ante el Instituto Nacional del Derecho de Autor de la Secretaría de Educación Pública.

Como entidad editora de la UNAM, la Facultad está autorizada a celebrar contratos de edición y coedición con editoriales universitarias o privadas. Para asegurar la más amplia distribución de los libros se tienen convenios de coedición con editoriales como El Manual Moderno, Editorial Médica Panamericana, McGraw-Hill Interamericana Editores, Siglo XXI Editores y Editores de Textos Mexicanos.

Todos los originales que, después de ser dictaminados, son aprobados para su publicación pasan a formar parte del *Programa Editorial de Apoyo a la Excelencia Médica* que está vigente desde 1971.

Las oficinas del Comité Editorial se encuentran en:
Departamento de Publicaciones. Facultad de Medicina, UNAM. Edificio B, Primer piso,
Teléfono y Fax: 56-16-02-90, extensión 45058