

Perspectivas de la vacuna VIH

SILVIO ARANGO-JARAMILLO, DVM, MSc, PhD.

Departamento de Microbiología Molecular e Inmunología.

Universidad de Johns Hopkins, Baltimore, Maryland, U.S.A.

En estos momentos, los ensayos de las fases III y IV de vacunas experimentales anti VIH/SIDA en los países desarrollados, requieren éticamente que aquellas personas voluntarias participantes en el programa, quienes adquieran la infección por cualquier circunstancia, puedan recibir terapia antirretroviral combinada, la cual usualmente disminuye dramáticamente los niveles de carga viral. Obviamente, la administración de estos fármacos compromete la medición de la eficacia de la vacuna.

Debido a estas complicaciones, algunos grupos han sugerido que sólo sería posible ensayar estas vacunas en países en vía de desarrollo que no dispongan o no puedan proveer la terapia combinada antirretroviral. Esto, sin embargo, ha fomentado una gran polémica sobre la ética de esta situación. Se sigue discutiendo además, el conocido problema referente a las preguntas de quién debe controlar los ensayos de campo de las vacunas y por qué algunas organizaciones internacionales han decidido que las fases I y II se lleven a cabo exclusivamente en países desarrollados.

La ONU, a través de su programa específico para el SIDA (UNAIDS), está encabezando un proceso de consulta con diferentes sectores de la población, como el área de la salud, la investigación científica, la ética y en fin, la opinión pública en general, en diversas regiones y países, con el objetivo de llegar a un consenso en lo relacionado con las políticas y las estrategias para el desarrollo y la evaluación de estas vacunas.

Una vez resuelta esta problemática, pasaríamos a visualizar lo que podría venir en el futuro inmediato, en cuanto a novedosas e innovadoras vacunas y estrategias, al utilizar todos los recursos de la ciencia, la tecnología y otras áreas del conocimiento, con las cuales se cuenta en esta última década de este milenio. Veamos a continuación algunas perspectivas en tal sentido.

Vacunas anti VIH en vía de desarrollo

- **Vacunas oligoméricas**

La inmunización con oligómeros de la región env del virus, produce el desarrollo de anticuerpos dentro de los cuales una buena fracción está dirigida contra epítopes estructurales gp120 y gp41. Es menos frecuente la producción de aquellos anti epítope

lineal, que los producidos por monómeros de la región *env* o productos monoméricos del gen *env*. Algunos señalan que las vacunas oligoméricas podrían desencadenar una respuesta inmunitaria cruzada más amplia con base en anticuerpos neutralizantes, aunque datos experimentales en chimpancés, muestran la falla de vacunas oligoméricas gp120 para proteger contra la descarga o reto con virus homólogo VIH-1_{IIIb}. La oligomerización de las glicoproteínas de envoltura, es requerida para el transporte desde el retículo endoplásmico y además facilita la entrada del virus a la célula vía unión al receptor CD4 por parte de los oligómeros *env*. Antes de dividirse, la proteína precursora gp160, se ensambla en forma de dímeros no covalentes en el retículo endoplásmico.

Un oligonucleótido que codifica aminoácidos de la gp41, los cuales se conocen por su poder de inducir anticuerpos neutralizantes, ha sido insertado en un clon de un RNA que codifica la cápsula de un virus vegetal. La ventaja de este sistema de expresión reside en la alta producción de anticuerpos a partir de las plantas huéspedes u hospedadoras, la fácil purificación, la termoestabilidad y la falta de infectividad para células humanas. Esta quimera gp41 unida al alumbre como adyuvante, e inoculada subcutáneamente en ratones, provoca altos niveles de anticuerpos neutralizantes, pero infortunadamente de corta duración. Se estudia la manera de optimizar la respuesta mediante variaciones en la dosis y el esquema de inmunización.

- **Vacunas con base en seudoviriones o partículas similares a virus o partículas no infecciosas recombinantes de VIH**

Pueden generarse mediante la transfección de células de mamíferos, insectos o levaduras, con una variedad de vectores de expresión, los cuales pueden expresar los genes de *gag* y *env* del VIH. Estos seudoviriones pueden desencadenar respuestas humorales y celulares en conejos e inhibir la replicación viral en CMSPs de personas seropositivas.

- **Vacunas DNA**

Si se inyectan moléculas desnudas construidas especialmente con los genes que se deseen incluir y sin aquellos indeseables de DNA del VIH, por vía intramuscular o intradérmica, se puede mimetizar una inmunización con virus vivo atenuado, ya que se logra la síntesis de proteína del virus en las células del receptor de la inmunización y a su vez la presentación de estos antígenos en su conformación nativa a la maquinaria inmunológica, para el correspondiente procesamiento e inducción de la respuesta. Vacunas DNA han provocado inmunidad humoral y celular en modelos animales con roedores y con monos macacos. Por consiguiente, ensayos de fase I para medición de la inmunogenicidad de estas vacunas principalmente para uso como inmunoterapia, utilizando un plásmido que codifica gp160 *env* del VIH-1 y el gen *rev*, se están adelantando actualmente en los Estados Unidos, en un pequeño número de personas voluntarias infectadas o VIH-1 positivas.

- **Vacunas con base en péptidos**

Se desea utilizar una combinación de péptidos, por ejemplo sintéticos de envoltura env con sitios para células T_h y epítopes para células B o epítopes neutralizantes, junto con epítopes para CTL del gen gag, en una mezcla multivalente. Estos péptidos híbridos han desarrollado altos títulos de anticuerpos neutralizantes en modelos animales con base en ratones y simios y actividad CTLs de clase MHC-I. El problema en la aplicación práctica en humanos sería la necesidad de una amplísima gama de epítopes T ayudadores y CTL para poder reconocer por esta vía el inmenso espectro de variación de las moléculas HLA en las poblaciones humanas a inmunizar.

La mayoría de ensayos se han adelantado con VIH-1 T trópico, pero se considera que valdría la pena involucrar ahora a las cepas trópicas para macrófagos, las cuales parece podrían transmitirse más eficientemente vía membranas mucosas. Estas cepas trópicas para macrófagos parecen ser más eficientes en la presentación de antígenos virales a las células procesadoras de antígeno en los contextos de MHC clase I y clase II, resultando probablemente en una vigorosa producción de anticuerpos neutralizantes y de actividad CTL.

- **Vacunas que desencadenan inmunidad a nivel de mucosas**

El VIH-1 puede infectar células epiteliales colorrectales y vaginales y por consiguiente, una buena estrategia preventiva sería la inducción de inmunidad de membranas mucosas, fuera de la celular y sistémica o humoral. Se conoce también de la presencia de anticuerpos específicos anti VIH-1 o sea contra el virión completo o partícula viral y también contra la gp160 de su envoltura, en saliva, secreciones vaginales y semen de personas seropositivas. Así mismo, algunos investigadores consideran la posibilidad de explicar la relativa muy baja posibilidad de transmisión de la infección por VIH-1 a través de la saliva, como probablemente debida a la presencia de anticuerpos específicos o de factores no específicos en la saliva, los cuales bloquean al virus.

La administración parenteral de vacunas con base en subunidades de glicoproteínas de envoltura del virus, induce principalmente anticuerpos de la clase IgG en suero, los cuales pueden ser hallados en pequeñas cantidades en saliva y secreciones nasales. Sin embargo, no se encuentran anticuerpos de la clase IgA secretores. Quizás si se administran de manera especialmente determinada, antígenos vacunales no replicativos, se pudiera obtener una respuesta de anticuerpos IgA secretores, como por ejemplo, una vacuna administrada localmente en membranas mucosas que pudiera desencadenar respuesta del tracto genital y lograr efectividad a través de la leche materna.

Hasta el momento todos los ensayos de vacunas que provoquen inmunidad de mucosas se habían hecho solamente en modelos animales, administrando inmunógenos del VIH-1 con adyuvantes tales como la subunidad B de la toxina de cólera o liposomas cubiertos con glicoproteínas encapsulados en microsferas para liberación lenta, o expresadas por vectores vivos virales o bacterianos, tales como adenovirus, poliovirus, influenza virus, rinovirus o cepas de Salmonella typhi modificadas. Sólo recientemente se han iniciado por parte del programa AVEG estudios de fases I y II en humanos con una cepa de Salmonella

typhi que ha sufrido una inactivación genética de la vía de biosíntesis de los aminoácidos aromáticos, por medio de deleciones recombinantes en los genes aroC y aroD. Este vector vivo expresa un gp120 recombinante de VIH-1_{LAI}.

Diversos aspectos relacionados con la falta de seguridad o la posibilidad de producción de efectos colaterales indeseables, se han tenido en cuenta en todos estos casos. Por ejemplo, se considera que la administración intranasal de adenovirus recombinante en humanos podría desencadenar enfermedad respiratoria. Por otra parte, en el caso de recombinantes con virus de la influenza, la antigenicidad de los epítopes expresados depende del subtipo de vector de influenza utilizado. También el tamaño y número de determinantes antigénicos que puedan ser insertados en un vector de influenza es muy limitado y la inmunidad preexistente en humanos podría restringir la replicación del vector de influenza y subsecuentemente la expresión e inmunogenicidad del antígeno de VIH-1 administrado.

Los rinovirus, como por ejemplo el tipo 14 de humanos, podrían ofrecer algunas ventajas como vectores vivos para vacunas, dada su baja patogenicidad. El número amplio de serotipos, en este caso de los rinovirus humanos, permite también muchas alternativas. Se ha considerado además la posibilidad del uso de polio virus como vector de la vacuna, construyendo quimeras en el laboratorio y se ha utilizado mucho a los pox virus de diverso origen para vehiculizar antígenos del VIH-1 a manera de vacuna en vectores vivos. Otras estrategias utilizadas en modelos animales para la inducción de inmunidad de mucosas contra el VIH-1, incluyen péptidos del loop V3 del VIH-1 incluidos en microesferas biodegradables, péptidos de VIH-1 ligados a subunidades B de la toxina de cólera, viriones completos de VIH-2 inactivados, Bacillus de Calmette y Guérin (BCG) y cepas atenuadas de Salmonella, Shigella y Lactobacillus.

Vacunas vivas VIH-1 atenuadas

Todos los estudios sobre vacunas vivas atenuadas VIH-1 han sido realizados solamente en modelos animales y algunas veces se ha trabajado con virus relacionados como el de la inmunodeficiencia de los simios VIS. Este último caso es bien conocido por los experimentos de Desrosiers y colaboradores con el VIS con una modificación o una deleción en el gen nef, con el objeto de eliminar la posibilidad de reversión del virus al estado salvaje o natural. Sin embargo, los mismos investigadores informaron de la muerte inesperada de monos que hacían parte de estos estudios, muchos meses después de efectuadas las descargas virales. Así mismo, Ruprecht y colaboradores describieron cómo macacos recién nacidos, inoculados por vía oral con una mutante libre de células del VIS con deleción en los genes nef y vpr y la remoción de un elemento regulador negativo, desarrollaron altos niveles de viremia, anemia, trombocitopenia y caída de los CD4. Más aún cuando la sangre de uno de estos infantes infectados fue transferida por vía endovenosa a una madre y luego por vía oral a su infante; este último desarrolló altos niveles de replicación viral y enfermedad, mientras que se restringía la replicación viral en la madre. Basados en todos estos datos se concluyó que nef es probablemente un determinante de replicación viral, en lugar de serlo para patogenicidad, así que cualquier factor capaz de incrementar la replicación viral podría restaurar la patogenicidad potencial del virus con

delección del gen nef. También se han realizado trabajos inmunizando animales con el VIH-2 y luego realizando descarga o reto con el VIS.

Otros aspectos de seguridad que deben tenerse en cuenta para el caso de futuras posibilidades para vacunas VIH a virus vivo atenuado, serían por ejemplo que la infección persistente con el virus atenuado involucra riesgo de transmisión de la infección desde las personas vacunadas a sus contactos sexuales no vacunados, al igual que para niños concebidos por estas personas. También puede promover la transmisión de DNA como provirus en el genoma del huésped. La infección crónica por otra parte podría tener efectos inmunopatogénicos o servir como cofactor para la presentación de tumores, tales como linfomas de células B o sarcoma de Kaposi.

Fuera de todo lo anterior, la dificultad en distinguir respuestas inmunitarias inducidas por vacuna frente a aquellas provocadas por la infección natural, causaría dificultades para la evaluación de tales vacunas. Sin embargo, la severidad de la epidemia y la acelerada extensión de la misma en varias partes de mundo podría forzar la posibilidad de reexaminar las tasas de riesgo-beneficio asociadas con esta estrategia de inmunización.

Otros enfoques para inmunización contra el VIH-1

- **Aloinmunización**

Se conoce que la inmunización con aloantígenos induce anticuerpos neutralizantes contra el VIH-1. Plummer y colaboradores observaron cómo trabajadoras del sexo que permanecían no infectadas a pesar de la repetida exposición al VIH-1, poseían haplotipos poco comunes en la población general, sugiriendo que estas personas habían sido aloinmunizadas y podrían haber rechazado a los linfocitos infectados con el VIH-1. La aloinmunización conllevaría el riesgo de la sensibilización de personas inmunizadas a aloantígenos, los cuales podrían provocar un problema para personas inmunizadas que requieran un trasplante de órgano o tejido subsecuentemente.

- **Inmunización intracelular**

Se puede lograr por transducción de genes que codifican la porción Fab de anticuerpos monoclonales, tales como aquellos con especificidad por la transcriptasa reversa del VIH-1. La inhibición de la transcriptasa reversa puede bloquear un estadio temprano de la replicación viral y convertir a las células resistentes a la infección por una alta gama de aislados clínicos y de laboratorio tanto de VIH-1 como de VIH-2.

- **Nuevos adyuvantes**

Esferas de lipoproteína y antígenos proteicos desnaturalizados por detergentes como el duodecil sulfato de sodio, el QS21 y otros compuestos similares como la saponina purificada derivada del árbol de Quillaja saponaria. Cada uno de estos adyuvantes parece ser capaz de acceder a la célula por la vía endógena de procesamiento, la cual conduce a la

presentación de péptidos específicamente con moléculas clase I del MHC, o sea MHC clase I restringidos, lo cual da ocasión a la actividad de CD8+ CTL, por experimentos efectuados en ratones.

Brucella abortus, podría ser utilizada como portador o “carrier” para conjugar péptidos de VIH-1, con el fin de provocar una respuesta de anticuerpos aun en ratones inmunodeficientes. Esta bacteria podría estimular la producción de citocinas de la variante Th1, activando células B en una relativa ausencia de células T, debido al hecho de poseer un componente no tóxico de tipo lipopolisacárido.

Los liposomas proveen también la función de moléculas portadoras, las cuales permiten llevar un antígeno hasta una célula presentadora de antígenos con la liberación lenta subsiguiente del respectivo inmunógeno. Podrían también portar moléculas de citocinas y péptidos potenciadores de la respuesta inmunitaria.

- **Vacunas con base en células dendríticas**

Las células dendríticas se encuentran en casi todo tipo de tejidos, incluyendo el linfático, la sangre, la piel. Aunque siempre en pequeño número, su potencia como estimuladoras de las células T es veinte a cien veces mayor que la de los macrófagos. Las células dendríticas son clásicas presentadoras profesionales de antígenos a las células T, activando a esta última subpoblación celular. Se está tratando de utilizar células dendríticas cultivadas en la presencia de proteínas del VIH-1 para administrarlas a manera de vacuna al mismo donante (células autólogas), con objeto de incrementar la respuesta inmunitaria contra el VIH-1.

- **Vacunas inductoras de citocinas o de quimiocinas**

Otro enfoque que trata de utilizarse en la producción de vacunas experimentales contra el VIH, es la estimulación de subpoblaciones específicas de células productoras de diferentes mediadores solubles de la respuesta inmunitaria o de quimiocinas con importante papel en el proceso de infección.

Conclusión

Finalmente, vale la pena anotar que tan importante como los diferentes desarrollos científicos y tecnológicos hacia el logro de vacunas eficaces, está la parte ética relacionada con el ensayo de vacunas y además el hecho de lograr derrotar en la comunidad científica, en las instituciones, grupos y gobiernos involucrados en esta problemática, el fantasma del egoísmo, la intolerancia, la prepotencia y el irrespeto por las personas y las comunidades que sufren con la amenaza o la realidad del VIH/SIDA.

Referencias

Arango-Jaramillo S., Castillo R.C., and Schwartz D.H. *HIV specific lymphoproliferative responses inversely correlating with in vitro resistance in multiply exposed uninfected volunteer*. Abstract submitted to the 98th General Meeting of the American Society for Microbiology. Atlanta. GA, May 17-21, 1998.

Bloom B.R., *The highest attainable Standard: Ethical Issues in AIDS Vaccines*. Science. Vol 279. 9 Jan, 1998.

Castillo R.C., Arango-Jaramillo S., Humphrey W., Weinhold K. and Schwartz D.H. *Vaccine Induced CTL Activity Correlates With Resistant Phenotype in an In Vitro Challenge System*. Abstract presented at the 5th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Chicago IL, USA. February 1-5, 1998.

Clements M.L., *Experimental HIV-1 Vaccines*. Chapter 46, 673-709. In the book *New Generation Vaccines*, 2nd edition, Levine et al editors, Marcel Dekker, New York. 1997.

Desrosiers R.C., *HIV with multiple gene deletions in a live attenuated vaccine for AIDS*. AIDS Research and Human Retroviruses. 8:411-421, 1992.

Plummer F.A., Fowke K., Nagelkerke N.J.D., et al. *Evidence of resistance to HIV among continuously exposed prostitutes in Nairobi, Kenya*. In: *Program and Abstracts: IX International Conference on AIDS/IV World Congress*. Berlin, London: Wellcome Foundation, 1993.

Ruprecht R.M., Baba T.W., Liska V., et al. *Attenuated simian immunodeficiency virus in macaque neonates*. AIDS Research and Human Retroviruses, 12:459-460, 1996.

Schwartz D.H., Castillo R.C., Arango-Jaramillo S., Kanki P. *Resistance to HIV-1 in vitro in HIV-2 positive patients from Senegal*. Abstract submitted for presentation at the 12th World AIDS Conference. Geneva, June 30-July 3, 1998.

Schwartz D.H., Laeyendecker O., Arango-Jaramillo S., Castillo R.C. and Reynolds M.J. *Extensive evaluation of a seronegative participant in an HIV-1 vaccine trial as a result of false positive PCR*. The Lancet. 350, July 26, 1997.

Schwartz D.H., Castillo R.C., Arango-Jaramillo S., Sharma U.K., Song H.F., and Sridharan G. *Chemokine-Independent In Vitro Resistance to Human Immunodeficiency Virus (HIV-1) Correlating with Low Viremia in Long-Term and Recently Infected HIV-1 Positive Persons*. Journal of Infectious Diseases. 176, November, 1997.

Schwartz D.H., Castillo R.C., Arango-Jaramillo S., Laeyendecker O., Ray S., Kokotou E. *In Vitro Resistance to HIV-1 and Nondirectional C2V3 Diversity as Markers of In Vivo Host Resistance*. Abstract presented at the Meeting on Immune Function and Surrogate Markers: Setting the Goal Line. Hosted by the Institute of Human Virology. University of Maryland at Baltimore. Baltimore, January 9-11, 1998.

Siliciano R.F., Lawton T., Knall C., *et al.* *Analysis of host-virus interactions in AIDS with anti-gp120 T cell clones*. Effect of HIV sequence variation and mechanism for CD4 cell depletion. *Cell*. 54:561-575, 1988.

Zolla-Pazner S., Berman P., Xu S., Gregory T., *Detection of primary isolate-neutralizing antibodies in the sera of human immunized with a rgp120_{MN} vaccine*. Conference on Advances in AIDS Vaccine Development, Bethesda, MD, February 11-15, 1996.