

VACCINAREA ANTI-SIDA: ACTUALITĂȚI ȘI PERSPECTIVE

Prof. Dr. Lucian Negruțiu

– *Clinica I Boli Infecțioase; Universitatea de Medicină și Farmacie
Timișoara*

INTRODUCERE

La peste 15 ani de la introducerea ART, eficiența acesteia în reducerea încărcăturii HIV și a ameliorării scăderii progresive a imunității rămâne de necontestat. Totuși, administrarea pe termen lung a ART se însoțește de absența eradicării virusului, fiind asociată cu evenimente nedorite precum: dezvoltarea rezistenței la TARV, efecte toxice ale medicației și costuri ridicate. Efectele adverse ale TARV, raportate în întreaga lume, care necesită adesea întreruperea terapiei HAART în aceste condiții, arată că strategiile terapeutice nu rezolvă aceste probleme (4), iar stoparea, chiar temporară, a TARV are efecte dăunătoare asupra RI și a multiplicării virale.

ISTORII VECHI ȘI NOI

Au fost necesari 47 de ani pentru producerea vaccinului polio, 42 pentru dezvoltarea v. antirujeolic și numai..105 pentru cel contra febrei tifoide. Studiile pentru obținerea unor vaccinuri anti-HIV, durează doar de 24 de ani, deci s-ar putea spune că acestea sunt vaccinuri "tinere".

Dar la finalul lunii septembrie 2007, firma Merck anunța stoparea ultimului trial vaccinal, mai ales din cauza riscului de inducere a unui virus mult mai agresiv, care ar putea agrava evoluția bolii SIDA.

Consecutiv situației create, în Oct. 2007, trialul din Africa de Sud cu vaccinul NIAID - HVTN503, denumit „Phambili“, a fost oprit (11 subiecți din 801 au devenit HIV +). NIAID e un compartiment de cercetare al National Institutes of Health, SUA.

În ultimii ani s-au desfășurat pe mapamond o serie de trialuri vaccinale -HIV de faza I, II, și III, care au reușit, parțial la maimuțe, dar au eșuat, sub diverse motivații, la om.

Actualmente, Martie-Aprilie 2008, toate marile instituții de cercetare din SUA sunt trase la

răspundere, guvernamental și în media, pentru bugetele enorme cheltuite, fără rezultate practice pentru clinica umană. 2 organizații globale de cercetare a designului unui vaccin anti-HIV: International AIDS Vaccine Initiative (IAVI) & Center for HIV/AIDS Vaccine Immunology (CHAVI) au semnat în Aprilie 2007 un acord nou de colaborare care să răspundă complicatelor provocări privind dezvoltarea unui nou vaccin sigur și eficace.

Și mai nou: „Trials of NIH's Vaccine Research Center (VRC) - HIV vaccine candidate will be scaled down after the recent failure of a Merck HIV vaccine candidate, Bloomberg reports.“ The VRC candidate, called PAVE-100, is similar to the Merck vaccine in that both stimulate CD4+ T cells against HIV and both contain the cold virus adenovirus-5.

CARE E DIFERENȚA DINTRE UN VACCIN ANTI-SIDA PREVENTIV ȘI UNUL TERAPEUTIC?

Vaccinurile anti-SIDA sunt:

- Preventive
- Terapeutice

În vorbirea curentă cuvântul „vaccin“ se referă la un vaccin preventiv. Un V. preventiv este destinat indivizilor care nu sunt infectați cu un anumit patogen, de ex. cu HIV. Un V. terapeutic este desemnat pentru a reduce impactul HIV/AIDS la indivizii deja infectați, reducând viteza de evoluție a bolii.

DECI: Vaccinul trebuie să prevină infectarea subiectului expus la virus, sau dacă infecția s-a produs, să stopeze progresia bolii spre stadiul de AIDS-constituit.

CUM FUNCȚIONEAZĂ UN VACCIN PREVENTIV?

Vaccinul (V) introduce în organism un mici fragmente, non-nocive de germeni sau germeni integrali cu patogenitate anulată. Aceste particole

straine introduse, chiar vaccinal, se numesc Ag. străine sau xenoAg-e. Sistemul imun(SI) al organismului reacționează la xenoAg elaborând un „răspuns imun“ (RI), strict specific, cu formare de:

- Anticorpi(Ac), Celule T-helper, citotoxice) sau ambele. Sistemul imun posedă: celule/limfocite B cu memorie (producătoare de Ac) și celule T cu memorie-ajută la producerea de Ac(ADCC) sau acționează ca celule citotoxice/distructive.

Celulele cu memorie memorează caracteristicile patogenului cu care au venit în contact.

Când SI vine din nou în contact cu același patogen(Ag), celulele cu memorie îl vor recunoaște și vor elabora un RI, mult mai rapid și mai intens, chiar dacă persoana respectivă nu a fost vaccinată niciodată. Acest mecanism e numit „memorie imună“.

Acest RI puternic & rapid acționează diferențiat:

- Prin blocarea replicării patogenului, dacă acesta nu a infectat multe celule.
- Prin producere de Ac care se atașează de patogen, deteriorându-l („răspuns anticorpice“)
- Prin producere de celule imune care atacă &ucid celulele infectate cu patogen din organism („răspuns celular distructiv killer“).

V. preventive reprezintă tipul tradițional de vaccin. Ele se recomandă indivizilor care nu au fost infectați încă. Aceste V. prepara SI în vederea unei eventuale expuneri la patogeni.

Toate V. comercializate azi pe glob sunt preventive deși puține pot fi aplicate imediat după expunere(ex. V. rabic se administrează imediat după mușcătură sau V. antitetanic „booster“).

DE CE E NECESAR UN VACCIN PENTRU PREVENȚIA SIDA?

Pentru controlul limitării epidemiei de HIV/AIDS sunt 2 motivații de a produce & folosi un vaccin preventiv:

Primul provine din istoria inițiativelor de sanatate publică.

Datele provenite din diverse țări privind prevenția și/sau terapia, ca și programele de sanatate elaborate arată ca numai aceste inițative nu sunt suficiente pt. controlul epidemiei. Istoria răspândirii bolilor infecțioase precum varicela, polio și acum, HIV/SIDA, arată clar că numai programele de imunizare în masă cu folosirea unor vaccinuri eficiente pot da rezultate.

Al doilea motiv este economic.

Așa cum afirmă Banca Mondială, investițiile în programe cost/eficiență care previn transmiterea bolilor infecțioase- specificând vaccinarile-reprezintă una dintre cele mai eficiente metode de utilizare a fondurilor publice. TARV este extrem de scump pentru că medicația trebuie folosită zilnic și nu vindecă deși menține pacienții în viață.

Un vaccin, ca parte a unei bune strategii, pare mai ieftin, poate reduce sau stopa epidemia, constituind o soluție pe termen scurt dar și pe termen lung.

Soluțiile pe termen scurt includ intensificarea campaniilor de prevenire, de tipul educației safe sex, microbicide, asigurarea cu TARV a milioanele de infectați, reducând impactul socioeconomic al epidemiei.

Soluțiile pe termen lung depind de noile metode de prevenție (PREP, vaccinuri anti-SIDA).

Cum ar trebui să acționeze un vaccin anti-AIDS?

Un vaccin eficient anti-AIDS ar trebui să „instruiască“ organismul pentru a recunoaște HIV-ul care provoacă starea de imunodeficiență și să inducă un răspuns imun eficient în defensiva contra virusului, făcând apel la sistemul celulelor cu memorie.

Vaccinul ar trebui să:

- Acționeze eficient pe toate tipurile și subtipurile de HIV.
- Să nu inducă Ac anti vector-vaccinal, nici alte efecte secundare.
- Să fie reproductibil la om, fără a fi foarte scump.
- Să stimuleze rapid și pe lungă durată producerea de Ac specifici, cu activitate încrucișată asupra tuturor variantelor de virus, concomitent cu un răspuns imun, mediat celular - susținut și de lungă durată.

De ce nu avem încă un vaccin eficient?

Răspunsurile la această chestiune sunt multiple. Ele includ motive, economice, tehnologice: imunologice, de genetică virală & recombinatorii, socio-politice, etice, etc. Dezvoltarea unui nou vaccin anti-HIV este un proces complicat și de lungă durată: uzual e nevoie de cca. 10-15 ani & de minimum de 100-200 milioane \$/an pt. a se dovedi, prin trialuri clinice umane, că V. este eficient clinic. Producerea unui vaccin preventiv anti-AIDS este extrem de dificilă, HIV fiind unul dintre cele mai complicate virusuri din punct de vedere structural și patogen, inactivând, progresiv, chiar SI - pe care un vaccin ar trebui să-l aibe drept țintă și să-l stimuleze.

HIV este extrem de replicativ și deci extrem de mutagen și instabil, realizând numeroase mutante de scăpare de sub controlul imun al organismului. TARV a indus o serie de variante noi de virusuri care se transmit interuman și se replica formidabil, făcând extrem de dificilă găsirea unor elemente structurale comune tuturor variantelor de HIV, care, prin procesare, să rămână imunogene și concomitent, non-infecțante.

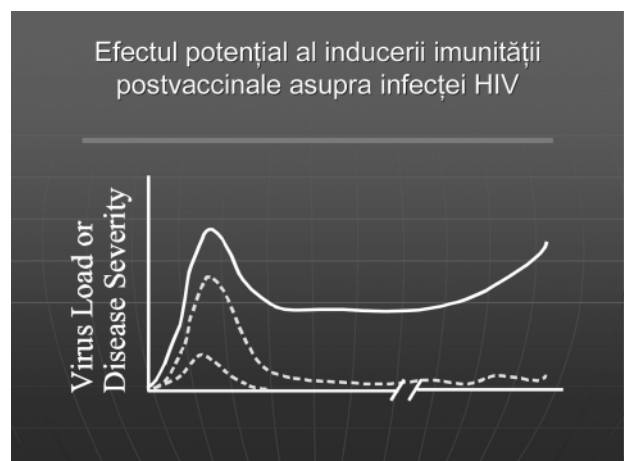
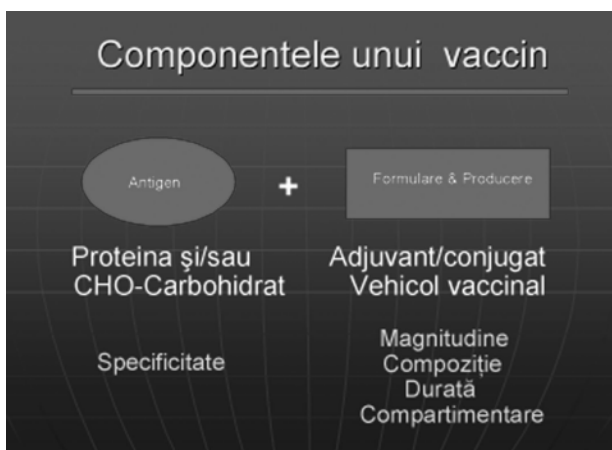
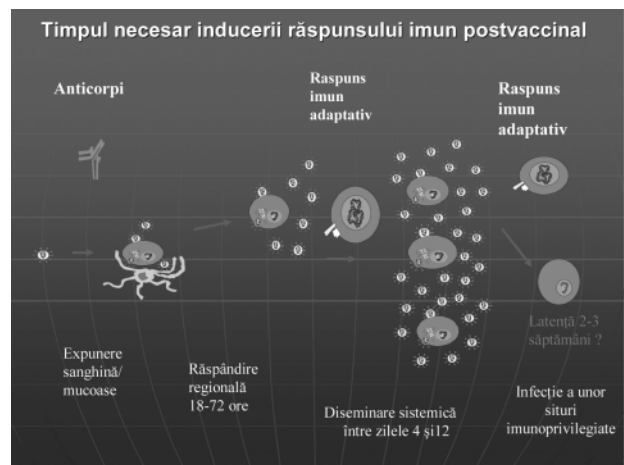
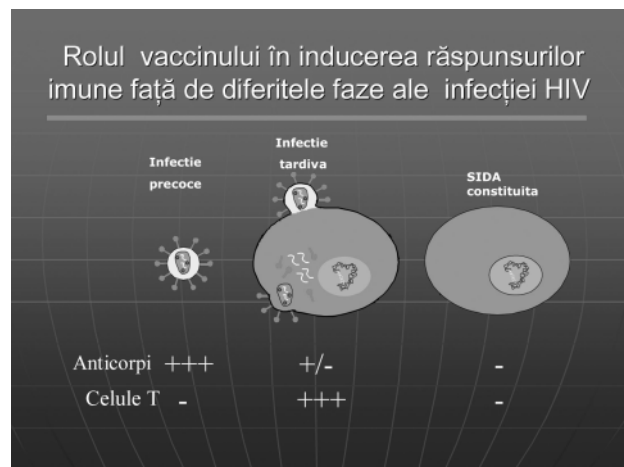
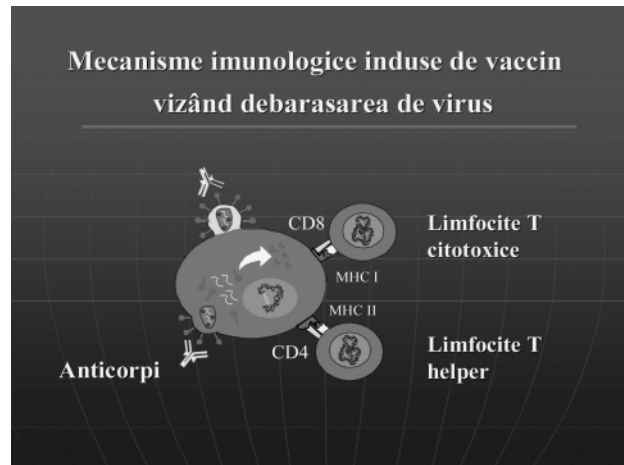
E dificil de realizat o combinație antigenică virală care să țintească și să stimuleze complexele mecanisme de defensă imună de la nivelul: mucoaselor, celulare, umorale.

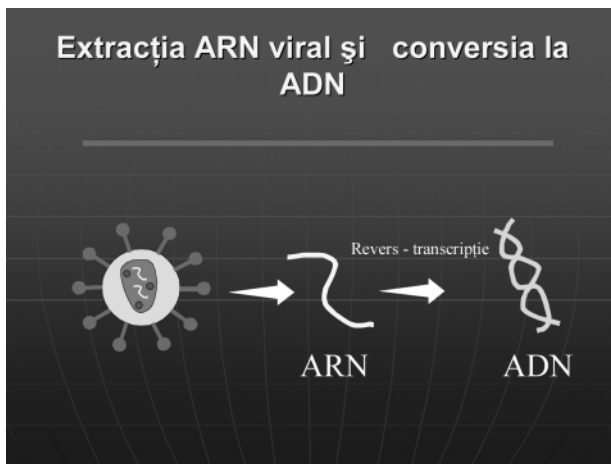
Suntem încă departe de realizarea unui vaccin universal, eficace asupra tuturor variantelor de HIV, sau a subtipurilor sale virale.

O problemă dificilă este alegerea modelelor experimentale animale, care să poată fi reproductibile la om, fiindcă, genetic vorbind, SIV nu e identic cu HIV, fapt demonstrat de eșecul imunogen al trialurilor clinice umane, care nu au putut reproduce eficacitatea obținută la macacci.

Acestea sunt doar câteva din problemele ce vor fi discutate mai departe.

ETAPELE DEZVOLTĂRII UNUI BUN VACCIN





Vaccinuri obținute prin manipulare genetică

Există multiple tehnologii genetice de obținere a V. anti-SIDA ce folosesc vectori sau alte structuri-suport pt. vehicularea Ag-lui imunizant:

- Vectori canarypox
- Vaccinuri cu ADN viral inclus în plasmide & ADN recombinant
- Vaccinuri cu vectori Fowlpox
- Ag viral cuplat cu Lipopeptide
- Vectori - din virusul viu-atenuat al stomatitei veziculoase- încă în stadiu de proiect
- Vaccin cu vector obținut din virusul vaccinia Ankara modificat (MVA).
- Vaccinuri cu vector adenoviral non-replicativ combinat sau nu cu componente HIV de anvelopă
- Peptide HIV
- Proteine virale HIV
- Vectori VEE

CORELAȚIILE IMUNITĂȚII CU PROTECȚIA SUNT SUFICIENT CARACTERIZATE PENTRU A DEVENI O ȘTIINȚĂ A VACCINĂRII?

Unele aspecte privind corelația existentă dintre stimularea imunității prin vaccin și protecția anti-HIV au fost bine descrise, dar încă insuficient explicate.

Nivelele celulelor CD4 și CD8 specifice anti-HIV1, evaluate prin nivelul de IFN. eliberat, nu oferă o corelare absolută cu controlul viral (al replicării virale). Aceste celule, stimulate vaccinal, se corelează cu nivelul plasmatic de virus doar în cazul unui nivel scăzut al producerii acestuia.

O și mai puternică corelație negativă există între celulele CD8 HIV- specifice și celulele asociate ADN-ului proviral (PBMC).

O corelație mai bună este considerată cea între progresia bolii și celulele T producătoare de IL-1 și -IFN, față de celulele care sintetizează doar IFN.

Același lucru este valabil și pentru capacitatea proliferativă a celulelor T- HIV1 specifice.

Expresia receptorilor asociați cu supraviețuirea și capacitatea de proliferare a celulelor T de memorie și a stadiilor intermediare de diferențiere ale acestora trebuie să se coroboreze cu controlul HIV sau cu recuperarea imunologică, după orice infecție virală.

În consecință, doar creșterea numărului de celule T efectoare nu este suficientă pentru controlul HIV.

Este necesar un echilibru mult mai delicat - între celulele cu eficiență imediată- în ce privește capacitatea lor distructivă și cele implicate în supraviețuirea pe termen lung.

CÂND ȘI CUM AR TREBUI SĂ ADMINISTRĂM ANTIGENELE HIV?

Persistența replicării HIV generează o stare de stimulare imună cronică, urmată apoi de anergie și în final de epuizare imunologică. În aceste condiții inițiale, orice altă stimulare antigenică poate fi inutilă sau dăunătoare. Mai mult, creșterea nivelului de celule CD4, în condițiile replicării virale continue, poate amplifica moartea celulară.

Acest lucru rămâne valabil și post vaccinal, dacă avem în vedere prezența celulelor T stimulate antigenic anterior, fapt care limitează posibilitatea de amplificare a noilor clone de celule T.

VACCIN + TARV – O SOLUȚIE NECONFIRMATĂ DE PRACTICĂ

Teoretic, asocierea vaccinurilor cu ART, odată ce nr. CD4+ e ameliorat terapeutic, ar trebui să ofere un răspuns postvaccinal optim al celulelor T-anti-HIV1-specific, durabil și rapid, chiar și în condițiile întreruperii ART. Acest răspuns ar trebui să fie capabil să reducă sau să limiteze rebound-ul viremiei, înainte ca acesta să ajungă la un nivel maximal.

Următoarea chestiune este stabilirea celui mai bun moment de administrare a vaccinului în cazul pacienților tratați cu ART: în timpul infecției primare sau a celei cronice?

Infecția acută este considerată de cele mai multe ori a fi starea clinică optimă pt. administrarea vaccinului, adică înainte de instalarea definitivă a depleției celulelor CD4 și de apariția tulburărilor imunologice cronice. Celulele CD4 - prezente la un nivel acceptabil în infecția acută ar trebui să asigure o mai bună eficiență vaccinului.

Rezultatele experimentelor curente cu prima generație de vaccinuri nu au putut susține o asemenea strategie.

VACCINARE ÎN INFECȚIA CRONICĂ?

Din păcate, o strategie de imunizare terapeutică ce ar fi eficientă în infecția primară nu e relevantă pentru cei aproape 95% din pacienții HIV pozitivi care sunt de obicei diagnosticați în stadiu avansat al infecției sau chiar al bolii constituite, așa cum reiese din statisticile OMS.

De aceea, cel puțin teoretic, o imunizare terapeutică ar avea succes în stadiul de infecție cronică, realizând un mai mare impact asupra sănătății publice și asupra întregii epidemii de HIV.

POTENȚIALELE BENEFICII ALE IMUNIZĂRII TERAPEUTICE ȘI MODALITĂȚILE DE EVALUARE A EFICIENȚEI ACESTORA

O strategie de imunizare terapeutică de succes ar trebui să permită o bună tolerabilitate a unei ART-discontinue (ATI), și să protejeze pacienții de potențialele sale complicații pe termen lung.

Nadirul (nivelul ultim) CD4, înregistrat anterior aplicării ART, pare să influențeze răspunsul la vaccinurile convenționale (40), la fel ca și durata întreruperii ART (41).

De aceea, o eventuală prelungire a întreruperii tratamentului în cazul pacienților cu nadir al CD4 ridicat ar necesita o urmărire extensivă/extinsă în timp/ prin trialuri clinice.

În plus, creșterea incidenței afecțiunilor asociate HIV și a tulburărilor cardiovasculare în lotul celor care au întrerupt tratamentul, așa cum s-a întâmplat, de ex., în studiului SMART, ar putea ridica întrebări cu privire la astfel de endpoint-uri.

EFICIENȚA REALĂ A MODELULUI TEORETIC – UN NOU PRILEJ DE INTEROGAȚII

Având în vedere: nadirul CD4 sau viremia anterioră tratamentului, curba evolutivă a CD4, sau perioada necesară pentru a atinge un nivel CD4 de 300-350 celule/μl (sau peste această valoare), ca și limita inferioară a CD4+, pentru reinițierea ART, acești parametri ar trebui să ajute la optimizarea criteriilor de includere în studiile vaccinale și la o mai bună definire a endpoint-ilor clinice ale trialurilor, bazate pe întreruperea analitică a terapiei (ATI).

Cazul infecției netratate și a eșecului ART merită atenție, pentru că numărul antigenelor HIV care provin din actualele vaccinări este, totuși, redus, comparativ cu miliardele de particule virale produse zilnic.

Recent au fost evaluate potențialele beneficii ale imunizării terapeutice din punct de vedere al sănătății publice. Se presupune că până și vaccinurile HIV terapeutice, cu eficiență modestă, pot conduce la o oarecare creștere a speranței de viață și pot prezenta beneficii atunci când mijloacele de tratament a HIV sunt limitate.

CE TIP DE VACCIN AR TREBUI FOLOSIT?

Având în vedere că nu avem disponibil un vaccin preventiv eficient, este în general acceptat faptul că strategiile terapeutice optime, ar trebui să folosească vaccinuri care să aibă la bază stimularea sau administrarea celulelor T, deoarece administrarea pasivă de anticorpi neutralizanți a arătat o redusă eficiență la om).

VECTORII VIRALI ȘI TEHNICILE RECOMBINANTE?

Vectori virali vii-atenuați, recombinanți prin inginerie genetică, sunt de obicei preferați, funcționând ca receptori-trigger pentru „semnalele de alarmă” de la nivelul celulelor dendritice, care activează puternic imunitatea mediată de celulele T. Un vaccin împotriva unei infecții deja existente, ar necesita mai multe inoculări, iar eficiența acestora va fi limitată de imunitatea specifică - anti/vector. Vectorii inerti: virusurile inactivate, particulele virus-like, proteine/peptide sau polinucleotide, sunt o altă alternativă pentru amplificarea repetitivă a răspunsului imun. Acest tip de vectori nu induc imunitate specifică față de vector, dar necesită adjuvanți puternici pentru a stimula eficiența agenților patogeni vii, atenuați, vaccinali.

VACCINURILE TERAPEUTICE INERTE

Diverse preparate de antigene HIV, cum sunt particulele HIV inactivate, peptidele HIV sau ADN-HIV naked, au fost utilizate în trialurile inițiale, cu un oarecare succes, în timp ce anvelopa HIV recombinantă și particulele HIV virus-like au avut un efect redus sau nici un efect. Câteva din aceste strategii au fost recent reevaluate în cazul pacienților cu infecție cronică tratați cu ART.

Imunogenul HIV gp 120, depletizat și inactivat (Remune), deși incapabil să inducă creșterea numărului de celulele CD8-anti HIV specifice, producătoare de IFN., a fost asociat cu o scădere de 34% a riscului de eșec virusologic, în faza a II-a a unui trial clinic.

Injecțiile intradermice cu peptide HIV-1: p24, cu GM-CSF recombinant, asociate cu adjuvant local au indus proliferarea celulelor T specifice, reducând semnificativ nivelul de ARN-HIV. Aceste variante de vaccinuri care au prezentat o oarecare imunogenitate și eficiență, ar trebui reconsiderate acum pt. administrarea în combinație cu alte componente.

VACCINURILE: NAKED ADN, TRANSFECȚII & GENE VIRALE

Naked DNA: ADN lipsit de histone care poate fi transferat de la o celulă la alta în procedeul de transfer genic denumit „transfecție“. Prin transfecție, ADN-ul purificat sau naked AND este preluat de celula-recipient care câștigă astfel o nouă caracteristică, adică un nou fenotip.

Trialurile pilot cu ADN-naked au prezentat o imunogenitate semnificativă în ce privește stimularea celulelor CD4 la pacienții cu infecție cronică, fără TARV.

Doze mari de plasmide conținând ADN cu envelopă inserată și gene reglatoare, cum sunt rev, tat, nef au evidențiat, în cazul subiecților tratați cu ART, inducerea de celule CD8 antigen-specifice și proliferarea lor, dar nu la un nivel superior celui observat în cazul subiecților fără ART, imunizați anterior cu aceleași gene, separat.

PLASMIDE & MEDIATORI IMUNI INCLUȘI PLASMIDIC...

În alte studii pilot, mici plasmide ADN conținând atât gene gag, singure sau combinații de env/rev și gag/pol au indus răspunsuri CD8 - ELISPOT și au fost asociate cu o frecvență mai redusă a blips-urilor virale, sugerând o oarecare eficiență protectoră.

Plasmide ADN care codifică IL-2, GM-CSF, IL-12, IL-15 sau IL-7 au prezentat rezultate promițătoare pe modelul de macac infectat cu HIV.

O nouă strategie de imunizare cu ADN naked își propune să îmbunătățească prezentarea antigenului prin folosirea unei plasmide ADN, care să exprime aproape toate proteinele HIV, în combinație cu particule manozilate. Aceste

vaccinuri se administrează intradermic- pentru a ținti celulele dendritice. Folosit în asociere cu ART, în cazul macacilor cu infecție cronică SIV, această metodă a demonstrat o creșterea răspunsului celulelor T- SIV specifice, precum și o creștere a controlului viral pe parcursul ATI(întreruperii TARV).

STRATEGII CU VECTORI VII RECOMBINANȚI

Vaccinurile vCP(obținute prin tehnologie VAXgen) asociate cu genele env, gag, cu o parte din reverstranscriptază și cu gene nef ale HIV, au fost testate pe larg pe voluntari sănătoși și au evidențiat și în cazul pacienților cu infecție HIV, o bună tolerabilitate și o bună imunogenitate pentru CD4 și CD8.

Această mixtură antigenică vaccinală are avantajul că nu este limitată de valoarea imunității preexistente(nr. de CD4/CD8).

Acest V. fost utilizat singur sau în combinație cu alte potențiale vaccinuri- la pacienți tratați cu ART,cu infecție acută sau cronică, înainte de ATI(întreruperea terapiei HAART) și folosind protocoale stricte de reintroducere a ART.

Dintre trei studii referitoare la pacienții cu infecție acută, tratați cu ART, un studiu pilot a evidențiat o creștere semnificativă a celulelor T-HIV specifice, dar fără o diferență clară în privința controlului viral, după momentul ATI.

ALTE VACCINURI RECOMBINANTE

Într-un studiu randomizat multicentric, dublu-orb denumit (QUEST), 79 de subiecți tratați cu ART, au fost imunizați cu vaccinul ALVAC-HIV vCP 1452- administrat singur sau în asociere cu Remune; s-a observat inițial o creștere semnificativă, atât a celulelor CD4, cât și a CD8 producătoare de IFN gama în lotul vaccinat, dar nu a fost găsită nici o corelație cu viral set-pointul,măsurat după 6 luni. Nu s-a constatat nici o diferență în ce privește nivelul mediu al viremiei sau al CD4 după vaccinare.

Un alt studiu controlat care a utilizat o procedură de imunizare ce asocia patru injecții cu ALVAC-HIV-vCP 1433 și HIV-lipopeptide, urmate de administrare de IL-2 (PRIMOVAC; ANRS 095), nu a evidențiat nici un beneficiu clinic, în ciuda inducției imunogenității celulelor CD4 și CD8-viral specifice.

Aceste rezultate dezamăgitoare contrastează cu cele observate în trei studii paralele efectuate pe pacienți cu infecție cronică

STUDIILE „OPTIMISTE“

Primul studiu necontrolat, explorator (VACCITER, ANRS 094), incluzând 48 pacienți tratați cu ART, având CD4 de peste 400 cel/μl, au primit patru injecții cu ALVAC-HIV vCP 1433.

Creșterea semnificativă în răspuns proliferativ al LT- față de HIV+p 24 a fost corelată cu durata ATI (intreruperii monitorizate a TARV).

Al 2-lea studiu, (VAC- IL2, ANRS093), a cuprins 70 de pacienți tratați cu ART, care au fost randomizați, fie să continue ART, fie să li se asocieze o combinație de ALVAC-HIV vCP1433+ lipopeptide HIV + IL-2. A fost observată o creștere semnificativă a răspunsului proliferativ CD4-specific față de HIV1 și o creștere a producerii de IFN. la lotul care a primit IL-2. După o serie de ATI s-a constatat o scădere a set point-urilor virale. Vaccinurile ce necesită un răspuns al CD4 au fost predictive pentru controlul virologic.

Al 3-lea studiu explorator, randomizat, a comparat 81 pacienți cu infecție cronică, tratați doar cu ART, cu un alt lot la care s-a adăugat ALVAC-HIV-vCP 1433, sau IL2 plus ALVAC-HIV-vCP 1433 și IL-2 (ACTG A5024). Rezultatele au arătat o modestă descreștere a viremiei cu 0.4log la subiecții care au primit ALVAC singur, comparativ cu celălalt lot.

DE CE SUNT DIFERENȚE DE RĂSPUNS VACCINAL ÎNTRE INFECȚIA ACUTĂ ȘI CEA CRONICĂ?

Probabil că statusul imun, mai mult decât tipul vaccinului, este responsabil de această diferență, având în vedere că, vaccinurile au fost preparate similar. În infecția acută, comparativ cu cea cronică, s-a constatat mai frecvent un nivel bazal mai mare al celulelor T CD4, producătoare de IFN gamma-HIV-1 specifice, și un nivel mai scăzut al celulelor CD8 -HIV specifice. Nivelele de celule CD4 producătoare de IFN gama, obținut după imunizarea din studiul QUEST, au fost comparabile cu cele observate în cazul supraviețuitorilor pe termen lung din alte studii, constatându-se că numărul celulelor T CD8 -HIV 1 specifice, în QUEST, a fost de 2-10 ori sub nivelele obținute în studiul Vacciter și respectiv în cazul LTNP. Acest vaccin, necesită, totuși, pentru a avea o oarecare eficacitate, un răspuns din partea celulelor T CD8-HIV-1 specifice - în cazul pacienților la care tratamentul ART a fost inițiat în momentul seroconversiei. Răspunsul proliferativ celular, care este caracteristic unui tip de răspuns celular de

memorie, a fost detectabil -dar la nivel bazal - în cohortele de pacienți cu infecție acută și foarte anevoios în cazul celor cu infecție cronică. Frecvența celulelor T a crescut semnificativ după imunizare în ultimul grup, corelându-se cu controlul replicării virale. Beneficiul imunizării cu ALVAC-HIV vCP, poate fi astfel explicat prin restaurarea răspunsului de memorie central, ce dispare în infecția cronică. Astfel, inițierea precoce a ART a fost asociată cu păstrarea unui răspuns-cheie al CD4, dar cu lipsa unui impact din partea imunogenilor vaccinali- cu potență moderată.

Poate o combinație de vaccinuri să îmbunătățească beneficiile imunizării terapeutice?

În trialurile anterioare, o combinație de vaccinuri nu a îmbunătățit net eficiența, mai ales în cazul pacienților cu infecție acută.

Adăugarea IL-2 a generat rezultate contradictorii. Aceeași doză a fost folosită în diferite studii, dar Levi et.al au administrat IL-2, după imunizare, pentru a amplifica celulele T de memorie, crescute prin administrarea de vaccin, după cum s-a constatat pe modelul de macac, în timp ce Kilby et al. au administrat vaccinul și IL-2 simultan- o procedură care ar fi putut induce moartea celulelor efectoare.

Adăugarea continuă a dozelor mici de IL-2 la două doze de vaccin ALVAC SIV recombinant, în cazul macacilor cu infecție cronică cu SIV, aflați sub ART, a dus la creșterea semnificativă a răspunsului celulelor CD8+, gag specifice, dar a scăzut răspunsul gag-specific al celulelor T CD4 + și a crescut frecvența celulelor celulelor T CD4+ CD25+, fără a se putea demonstra ca respectiva modificare ar fi un efect reglator al acestora.

Această scădere a răspunsului celulelor T CD4+, virus specific, poate să reflecte o redistribuție a celulelor controlată de IL-2 sau moartea celulară (apoptoză) - indusă de antigen, mai degrabă decât un efect reglator, supresiv, mediat de celulele T.

ALTE GENERAȚII VACCINALE SAU O „GURĂ DE OXIGEN“

S-a pus multă speranță în noi candidate de vaccinuri vii-atenuate.

În unele dintre aceste modele, virusul vaccinia a fost înlocuit de o tulpină atenuată, nonreplicativă cum este MVA. Acest lucru s-a realizat după pasaje seriate in vitro, fiind folosit anterior, în campania de eradicare a variolei. În cazul nostru- a fost

folosit compusul modificat genetic - NYVAC. Ambele produse, conținând SIV- recombinat, au prezentat rezultate promițătoare pe macacci, atât în prevenție, dar și terapeutic.

Un mic trial pilot-clinic care a folosit un vector MVA ce avea inserată gena HIV-1- nef, s-a dovedit a fi bine tolerat, demonstrându-se a fi și imunogen - ducând la proliferare de limfocite CD4 și CD8. Nu a fost evaluată eficiența în ce privește protecția anti-HIV(VL).

Alte generații de vectori MVA și NYVAC (conținând genele env-gag-retrotranscriptaza-nef), au fost recent evaluate în în trei trialuri clinice europene de faza I și II. Rezultatele nu sunt pe măsura așteptărilor.

Alți vectori potențiali au devenit disponibili, dar s-au dovedit limitați datorită dezvoltării imunității specifice față de vector. Așa sunt compușii cu vectori reprezentați de adenovirusuri, testați recent ca vaccinuri terapeutice.

VACCINURILE HIV BAZATE PE CELULE DENDRITICE

Eficiența unui vaccin terapeutic bazat pe celule dendritice contra HIV1 a fost inițial urmărită într-un studiu necontrolat, efectuat pe pacienți naivi- cu infecție cronică și cu încărcătură virală stabilă.

Monocite autologe derivate din celule dendritice au fost încărcate in vitro cu HIV1 inactivat cu aldrithiol-2 autolog. Nivelul viremiei plasmatice a scăzut în medie cu 80% pe parcursul a 4 luni de la imunizare și a fost corelat cu expresia celulelor T CD4 a IL-2 sau IFN-. HIV 1-specific și cu exprimarea perforinei - gag specifice a celulelor CD8 pozitive, sugerând că acest tip de intervenție ar putea amplifica răspunsul CD4 și CD8 virus- specific și ar putea stăpâni multiplicarea HIV.

Într-un trial controlat ulterior, pacienți sub ART, care au primit celule dendritice autologe, încărcate cu virus autolog inactivat prin căldură, au obținut o scădere a set point-ului viral în cursul ATI (întreruperea temporară a terapiei), comparativ cu nivelul pre-ART.

Cele două studii diferă prin procedura de inactivare a virusului, prin doza virală (100 de ori) și prin utilizarea ART - în al doilea studiu. Ambele studii pot fi considerate o dovadă a ipotezei că celulele dendritice care țintesc antigenele HIV, cresc controlul viral în infecția cronică. Costurile și complexitatea acestor proceduri îngreunează utilizarea lor în cadrul clinic, unde necesitatea pentru noi strategii terapeutice este cea mai acută,

la fel ca și în cazul țărilor în curs de dezvoltare.

O trecere în revistă a studiilor vaccinale anti-SIDA de până acum...

- Are o valoare documentară.
- Nu promite o stare exagerată de optimism.
- Relizează, însă, efortul uriaș dar extrem de costisitor al cercetătorilor din domeniu.
- Permite formularea unor concluzii pentru viitor.
- Nu ar trebui să conducă la stoparea studiilor vaccinale în SIDA, pentru că,

IN CONCLUZIE:

suntem de acord cu directorul US National Institute of Allergy and Infectious Diseases, profesorul A.Fauci, care spunea recent, fiind aspru criticat de guvern, media & alte organizații sau fundații din SUA pentru lipsa de eficiență și administrarea fondurilor alocate, următoarele: „I don't think you should say that this is the point where we're going to give up on developing a vaccine. I think you continue given that there are so many unanswered questions to answer.“

GLOSAR MINIM DE GENIE GENICĂ

Canarypox: virus infectant al pasarilor utilizat drept vector viu pt vaccinuri HIV. Poate transporta o mare cantitate de Ag. straine. Virusul canarypox nu se poate dezvolta în celulele umane, fiind, deci, sigur pt. administrare ca vector vaccinal la om.

ALVAC-HIV: un vaccin HIV manipulat genetic, compus dintr-un v. canarypox viu, atenuat, în care au fost inserate mai multe din genele codante pt. componente non-infective ale HIV. Când ALVAC infectează celula umană, genele HIV inserate determina celula să producă proteine HIV.

Aceste proteine sunt împachetate în particole HIV-like care vor burjona prin membrana celulei infectate. Particulele, prelucrate genetic, acum non-infective și stimulează SI, intensificând RI-HIV-specific. ALVAC infectează, dar nu se dezvoltă în celula umana, fiind deci „save“/sigur.

Vector: este, în cercetarea vaccinală, o bacterie sau virus care nu produce boala când e inoculat la om; este utilizat în ingineria genică vaccinală pt. transportul genelor ce codează pt. proteinele unui Ag(HIV) în organism, stimulând un RI.

Fowlpox virus (FPV): membru al familiei Poxviridae, gen Avipoxvirus. Inocularea FVP recombinant în celule de mamifer duce la exprimarea unor gene straine; inocularea experimentală a produselor acestora la mamifere induce imunitate protectivă. Studiile de imunizare cu FVP recombinant stimulează ambele tipuri de imunitate, umorală &

celulară, prin exprimarea unor produse transgenice, lipsite de efecte adverse locale sau sistemice.

Tehnologia ADN-lui recombinant: metodă prin care orice material genetic provenit dintr-un organism este inserat într-o celulă străină pentru a produce masiv proteinele codate de genele inserate.

CHO (Chinese hamster ovary) cell: o celulă utilizată ca „fabrică” în ingineria genică pt. a produce unele subunități vaccinale. Celulele CHO sunt derivate din celule de mamifere având avantajul de a adăuga carbohidrați la proteine, mult mai mult decât o pot face celulele infectate natural.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. MacGregor RR, Boyer JD, Ugen KE, Lacy KE, Gluckman SJ, Bagarazzi ML, Chattergoon MA, Baine Y, Higgins TJ, Ciccarelli RB, Coney LR, Ginsberg RS, Weiner DB. – First human trial of a DNA-based vaccine for treatment of human immunodeficiency virus type 1 infection: safety and host response. *J Infect Dis*. 1998 Jul;178(1):92-100.
2. Boyer JD, Cohen AD, Vogt S, Schumann K, Nath B, Ahn L, Lacy K, Bagarazzi ML, Higgins TJ, Baine Y, Ciccarelli RB, Ginsberg RS, MacGregor RR, Weiner DB. – Vaccination of seronegative volunteers with a human immunodeficiency virus type 1 env/rev DNA vaccine induces antigen-specific proliferation and lymphocyte production of beta-chemokines. *J Infect Dis* 2000 Feb;181(2):476-83
3. Tellez I, et al. – HIV-specific T-cell responses in seronegative volunteers immunized with an HIV-1gag-pol DNA vaccine. 7th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. 2000. San Francisco, CA.
4. Le TP, Coonan KM, Hedstrom RC, Charoenvit Y, Sedegah M, Epstein JE, Kumar S, Wang R, Doolan DL, Maguire JD, Parker SE, Hobart P, Norman J, Hoffman SL. Safety, – Tolerability and humoral immune responses after intramuscular administration of a malaria DNA vaccine to healthy adult volunteers. *Vaccine* 2000 Mar 17;18(18):1893-901.
5. Emini E. – A Potential HIV-1 Vaccine Using a Replication-Defective Adenoviral Vaccine Vector (Plenary). 9th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Seattle, Washington, May 24-28, 2002, Abstract L5. (Webcast presentation available at <http://63.126.3.84/2002/frame.htm>)
6. Smith HA, Klinman DM. – The regulation of DNA vaccines. *Curr Opin Biotechnol*. 2001 Jun;12(3):299-303.
7. Ledwith BJ, Manam S, Troilo PJ, Barnum AB, Pauley CJ, Griffiths TG 2nd, Harper LB, Schock HB, Zhang H, Faris JE, Way PA, Beare CM, Bagdon WJ, Nichols WW. – Plasmid DNA vaccines: assay for integration into host genomic DNA. *Dev Biol (Basel)*. 2000;104:33-43.
8. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, Center for Biologics Evaluation and Research, Office of Vaccine Research and Review. POINTS TO CONSIDER ON PLASMID DNA VACCINES FOR PREVENTIVE INFECTIOUS DISEASE INDICATIONS. December 1996. Available online at: <http://www.fda.gov/cber/gdlns/plasmid.txt>
9. Robertson JS, Cichutek K. – Development and clinical progress of DNA vaccines, European Union guidance on the quality, safety, and efficacy of DNA vaccines and regulatory requirements. *Dev Biol* 2000;104:53-56.
10. Amara RR, Villinger F, Altman JD, Lydy SL, O'Neil SP, Staprans SI, Montefiori DC, Xu Y, Herndon JG, Wyatt LS, Candido MA, Kozyr NL, Earl PL, Smith JM, Ma HL, Grimm BD, Hulsey ML, Miller J, McClure HM, McNicholl JM, Moss B, Robinson HL. – Control of a mucosal challenge and prevention of AIDS by a multiprotein DNA/MVA vaccine. *Science*. 2001 Apr 6;292(5514):69-74.
11. Barouch DH, Santra S, Schmitz JE, Kuroda MJ, Fu TM, Wagner W, Bilska M, Craiu A, Zheng XX, Krivulka GR, Beaudry K, Lifton MA, Nickerson CE, Trigona WL, Punt K, Freed DC, Guan L, Dubey S, Casimiro D, Simon A, Davies ME, Chastain M, Strom TB, Gelman RS, Montefiori DC, Lewis MG, Emini EA, Shiver JW, Letvin NL. – Control of viremia and prevention of clinical AIDS in rhesus monkeys by cytokine-augmented DNA vaccination. *Science*. 2000 Oct 20;290(5491):486-92.
12. Shiver JW, Fu TM, Chen L, Casimiro DR, Davies ME, Evans RK, Zhang ZQ, Simon AJ, Trigona WL, Dubey SA, Huang L, Harris VA, Long RS, Liang X, Handt L, Schleif WA, Zhu L, Freed DC, Persaud NV, Guan L, Punt KS, Tang A, Chen M, Wilson KA, Collins KB, Heidecker GJ, Fernandez VR, Perry HC, Joyce JG, Grimm KM, Cook JC, Keller PM, Kresock DS, Mach H, Troutman RD, Isopi LA, Williams DM, Xu Z, Bohannon KE, Volkin DB, Montefiori DC, Miura A, Krivulka GR, Lifton MA, Kuroda MJ, Schmitz JE, Letvin NL, Caulfield MJ, Bett AJ, Youil R, Kaslow DC, Emini EA. – Replication-incompetent adenoviral vaccine vector elicits effective antiimmunodeficiency-virus immunity. *Nature*. 2002 Jan 17;415(6869):331-5.
13. Kent SJ, Zhao A, Best SJ, Chandler JD, Boyle DB, Ramshaw IA. – Enhanced T-cell immunogenicity and protective efficacy of a human immunodeficiency virus type 1 vaccine regimen consisting of consecutive priming with DNA and boosting with recombinant fowlpox virus. *J Virol*. 1998 Dec;72(12):10180-8.
14. Amara RR, Villinger F, Staprans SI, Altman JD, Montefiori DC, Kozyr NL, Xu Y, Wyatt LS, Earl PL, Herndon JG, McClure HM, Moss B, Robinson HL. – Different patterns of immune responses but similar control of a simian-human immunodeficiency virus 89.6P mucosal challenge by modified vaccinia virus Ankara (MVA) and DNA/MVA vaccines. *J Virol*. 2002 Aug;76(15):7625-31.
15. Wee EG, Patel S, McMichael AJ, Hanke T. A – DNA/MVA-based candidate human immunodeficiency virus vaccine for Kenya induces multi-specific T cell responses in rhesus macaques. *J Gen Virol*. 2002 Jan;83(Pt 1):75-80.
16. Robinson HL, Montefiori DC, Johnson RP, Manson KH, Kalish ML, Lifson JD, Rizvi TA, Lu S, Hu SL, Mazzara GP, Panicali DL, Herndon JG, Glickman R, Candido MA, Lydy SL, Wyand MS, McClure HM. – Neutralizing antibody-independent containment of immunodeficiency virus challenges by DNA priming and recombinant pox virus booster immunizations. *Nat Med*. 1999 July;5(5):526-34.
17. Hanke T, McMichael AJ, Mwau M, Wee EG, Ceberej I, Patel S, Sutton J, Tomlinson M, Samuel RV. – Development of a DNA-MVA/HIVA vaccine for Kenya. *Vaccine*. 2002 July 6;20(15):1995-8.
18. Habel A, Chanel C, Le Grand R, Martinon F, Couillon L, Moog C, Doms R, Gauduin MC, Hurtel B, Guillet JG, Aubertin AM, Girard M. – DNA vaccine protection against challenge with simian/human immunodeficiency virus 89.6 in rhesus macaques. *Dev Biol (Basel)*. 2000;104:101-5.
19. Hanke T, Samuel RV, Blanchard TJ, Neumann VC, Allen TM, Boyson JE, Sharpe SA, Cook N, Smith GL, Watkins DI, Cranage MP, McMichael AJ. – Effective induction of simian immunodeficiency virus-specific cytotoxic T lymphocytes in macaques by using a multiepitope gene and DNA prime-modified vaccinia virus Ankara boost vaccination regimen. *J Virol*. 1999 Sep;73(9):7524-32.
20. Horton H, Vogel TU, Carter DK, Vielhuber K, Fuller DH, Shipley T, Fuller JT, Kunstman KJ, Sutter G, Montefiori DC, Erfle V, Desrosiers RC, Wilson N, Picker LJ, Wolinsky SM, Wang C, Allison DB, Watkins DI. – Immunization of rhesus macaques with a DNA prime/modified vaccinia virus Ankara boost regimen induces broad simian immunodeficiency virus (SIV)-specific T-cell responses and reduces initial viral replication but does not prevent disease progression following challenge with pathogenic SIVmac239. *J Virol*. 2002 Jul;76(14):7187-202.
21. Barouch DH, Kunstman J, Kuroda MJ, Schmitz JE, Santra S, Peyerl FW, Krivulka GR, Beaudry K, Lifton MA, Gorgone DA, Montefiori DC, Lewis MG, Wolinsky SM, Letvin NL. – Eventual AIDS vaccine failure in a rhesus monkey by viral escape from cytotoxic T lymphocytes. *Nature*. 2002 Jan 17;415(6869):335-9.
22. E A Emini, Susan Buchbinder HIV vaccines. *Current Opinion in HIV and AIDS* vol 1,4; July 2006.