

João Carlos Gomes Braga

VACINAS NO HIV - PERSPETIVAS FUTURAS

Monografia realizada no âmbito da Unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas,
orientada pela Professora Doutora Ana Miguel Duarte Matos Silvae apresentada à
Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2014



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, João Carlos Gomes Braga, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2009010251, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 18 de julho de 2014

O estudante,

(João Carlos Gomes Braga)

A Orientadora,

Ana Miguel Matos

(Professora Doutora Ana Miguel Matos Silva)

O Orientando,

(João Carlos Gomes Braga)

ÍNDICE

ABREVIATURAS	2
RESUMO	3
ABSTRACT	3
INTRODUÇÃO	4
O VÍRUS	5
Origem do HIV	5
Características estruturais e funcionais do HIV	5
Patogénese do HIV	7
A RESPOSTA IMUNITÁRIA AO HIV	8
Resposta imunitária Inata	8
Resposta imunitária adquirida celular	9
Resposta imunitária adquirida humoral	9
Resposta inicial de anticorpos e evasão viral	10
Desenvolvimento de anticorpos amplamente neutralizantes	11
Anticorpos e progressão da doença	12
Anticorpos monoclonais	13
DESENVOLVIMENTO DE VACINAS CONTRA O HIV	13
Primeiro período de ensaios: indução de anticorpos neutralizantes (1986-2003)	13
Vacinas de subunidades proteicas	14
• VAX003 e VAX004	14
Segundo período de ensaios: indução de respostas CTL (1995-2007)	15
Vacinas baseadas em vetores virais	15
• STEP (HVTN 502) e Phambili (HVTN 503)	16
Terceiro período de ensaios: combinações de diferentes respostas imunitárias (desde 2007)	17
• RV144	17
• HVTN 505	19
POSSÍVEIS ABORDAGENS	20
Antigénios em Mosaico	20
<i>B-cell-lineage design</i>	20
Novos adjuvantes	21
Imunoprofilaxia vetorizada	22
CONCLUSÃO	23
BIBLIOGRAFIA	25
ANEXOS	29

ABREVIATURAS

ADCC – Citotoxicidade Dependente de Anticorpos (do inglês *Antibody-dependent Cell-mediated Cytotoxicity*)

bnAbs – Anticorpos amplamente neutralizantes (do inglês *broadly neutralizing antibodies*)

CD4 – *Cluster of Differentiation 4*

CD8 – *Cluster of Differentiation 8*

CCR5 – *Chemokine Receptor 5*

CXCR4 – *C-X-C Chemokine Receptor 4*

CTL – Linfócito T Citotóxico (do inglês *Cytotoxic T Lymphocyte*)

DNA – Ácido Desoxirribonucleico (do inglês *Deoxyribonucleic Acid*)

Env – Envelope do vírus

gp – glicoproteína

HCDR3 – *Heavy Chain Complementarity-Determining Region 3*

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana (do inglês *Human Immunodeficiency Virus*)

IFN- α – Interferão alfa (do inglês *Interferon alfa*)

IFN- γ – Interferão gama (do inglês *Interferon gamma*)

Ig – Imunoglobulina

MHC – Complexo Maior de Histocompatibilidade (do inglês *Major Histocompatibility Complex*)

nAbs – Anticorpos neutralizantes (do inglês *neutralizing antibodies*)

RNA – Ácido Ribonucleico (do inglês *Ribonucleic Acid*)

SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SIV – Vírus da Imunodeficiência Símia (do inglês *Simian immunodeficiency virus*)

TLR – *Toll-Like Receptor*

TNF- α – Fator de Necrose Tumoral alfa (do inglês *Tumor Necrosis Factor alfa*)

RESUMO

Em 2012, a UNAIDS estimou um total de cerca de 35 (32,2-38,8) milhões de pessoas infetadas com o vírus da imunodeficiência humana (HIV), com 2,3 milhões de novas infeções. O HIV já matou mais de 25 milhões de pessoas (UNAIDS, 2012), com 1,6 milhões de novas mortes em 2012. Apesar da redução no número de novos casos de infeção e mortes relacionadas com a SIDA em comparação com anos anteriores (UNAIDS, 2012), a morbilidade e os altos custos associados ao tratamento antirretroviral requerem novas estratégias de controlo da pandemia, sendo que o desenvolvimento de uma vacina segura e eficaz contra o HIV-1 parece ser uma prioridade.

Até hoje, apenas quatro conceitos de vacinas contra o HIV-1 foram avaliados em ensaios de eficácia e, apesar de apenas um ter apresentado resultados encorajadores de que tal vacina é de facto possível, todos esses estudos forneceram informações relevantes. Muito se aprendeu, mas certamente muito há para explorar, e novas abordagens e estratégias estão a ser estudadas com vista à obtenção da tão esperada vacina contra o HIV.

Palavras-chave: HIV-1, vacina, anticorpos, novas abordagens

ABSTRACT

In 2012, UNAIDS estimated a total of about 35 (32.2 to 38.8) million people infected with the human immunodeficiency virus (HIV), with 2.3 million new infections. HIV has already killed more than 25 million people (UNAIDS, 2012), with 1.6 million new deaths in 2012. Despite the reduction in the number of new cases of infection and AIDS-related deaths compared with previous years (UNAIDS, 2012), morbidity and high costs associated with antiretroviral treatment require new strategies for pandemic control, and the development of a safe and effective vaccine against HIV-1 appears to be a priority.

To date, only four concepts of vaccines against HIV-1 were evaluated in efficacy trials and, although only one has shown encouraging results that such a vaccine is indeed possible, all these studies have provided relevant information. Much has been learned, but certainly there is plenty to explore, and new approaches and strategies are being studied in order to achieving the long-awaited HIV vaccine.

Keywords: HIV-1, vaccine, antibodies, new approaches

INTRODUÇÃO

Embora algumas medidas de prevenção do HIV-1 com base na redução de riscos comportamentais, circuncisão masculina, microbicidas tópicos e profilaxia pré-exposição tenham tido efeitos substanciais nas taxas de transmissão do HIV-1, é provável que uma vacina seja crucial para acabar com a epidemia mundial do HIV-1 (1).

Quando o HIV foi descoberto e identificado como a causa da SIDA em 1983-1984, muitas pessoas acreditaram que, em pouco tempo, uma vacina eficaz seria desenvolvida e estaria disponível para fazer frente a esta epidemia (2). De facto, a Imunologia tem sido bem-sucedida no desenvolvimento de vacinas para um grande “leque” de doenças virais (1).

No entanto, já lá vão 30 anos de intenso trabalho clínico e de laboratório e, embora um importante progresso já tenha sido feito na compreensão do vírus, do sistema imunitário (3), da própria doença e da base científica para o desenvolvimento de uma vacina, a verdade é que ainda estamos maioritariamente numa fase de descoberta (2). Em cerca de três décadas de pesquisa no campo da vacina contra o HIV, diferentes paradigmas científicos têm sido explorados, muitos resultados desapontantes surgiram e alguns significativos sucessos ainda mantêm a esperança de que é possível o desenvolvimento de uma vacina contra o HIV com eficácia suficiente para utilização em programas de saúde pública.

A verdade é que o paradigma que permitiu o desenvolvimento da maior parte das vacinas virais existentes, o qual se baseia na “mimetização” da imunidade protetora que se desenvolve após infeção natural, não funciona no caso de HIV. Na infeção natural por este vírus, em geral, as respostas imunitárias induzidas não são capazes de erradicar o vírus ou de evitar a progressão para a doença clínica – a SIDA.

A história do desenvolvimento da vacina contra o HIV tem-se baseado na tentativa de desenvolver respostas imunitárias que a natureza não conseguiu produzir (2). Uma vacina “ideal” apresentaria duas funções: primeiro, a de prevenir a infeção das células pelo HIV e a segunda, a de reduzir a carga viral através do controlo da replicação, com o objetivo de impedir a progressão para a doença clínica, em indivíduos infetados.

Está claro que o desenvolvimento de uma vacina contra o HIV-1 não é uma tarefa simples e representa um dos principais desafios contemporâneos da biologia e imunologia estrutural (3), mas retirar conclusões das tentativas já realizadas e procurar novas abordagens deve fazer parte do caminho a seguir.

O VÍRUS

Origem do HIV

Evidências indicam que o HIV foi transmitido à população humana através de múltiplas infecções zoonóticas, por primatas não-humanos infetados com o vírus da imunodeficiência símia (SIV). O vírus HIV subdivide-se em 2 tipos, HIV-1 e HIV-2. Ambos causam SIDA, mas o HIV-1 é encontrado a uma escala mundial (daí o interesse e as pesquisas estarem focadas no tipo 1), enquanto que o HIV-2 é encontrado de forma minoritária, principalmente na África Ocidental. O HIV-1 pode ser dividido no grupo pandémico M (*Major*) e nos grupos menos prevalentes O (*Outlier*), N (*Non M, Non O*) e P. Mais de 90% das infecções por HIV são provocadas por estirpes do grupo M, podendo esse grupo ser subdividido em 11 subtipos (A-K), de acordo com as diferentes sequências ao nível do gene Env. Dentro destes subtipos, existem vários vírus recombinantes, as chamadas formas circulantes recombinantes (CRFs). O grupo M do HIV-1 apresenta uma distribuição mundial, sendo o subtipo C o mais prevalente. Todos os subtipos são encontrados com alta prevalência na África subsariana, o subtipo B na América do Sul e do Norte e na Europa Ocidental, o subtipo A na Europa Oriental, o subtipo C no sul da África e Índia e o subtipo A/E no sudeste asiático (4).

Características estruturais e funcionais do HIV

O HIV é um retrovírus do género dos lentivírus, responsável pela SIDA. O genoma do HIV é o mais complexo dos retrovírus conhecidos, sendo constituído por duas cópias idênticas de RNA de cadeia simples de polaridade positiva que codificam 9 genes diferentes, entre eles genes estruturais como gag, pol e env e uma complexa combinação de outros genes acessórios e regulatórios como tat, rev, vif, vpr, vpu e nef, que modulam a replicação viral (Figura 1). O HIV-1 é composto por uma cápside interna formada por moléculas da proteína p24, rodeada por uma matriz de proteínas p17 e coberta por um envelope viral lipídico que apresenta na sua superfície proteínas gp120 e gp41, altamente glicosiladas.

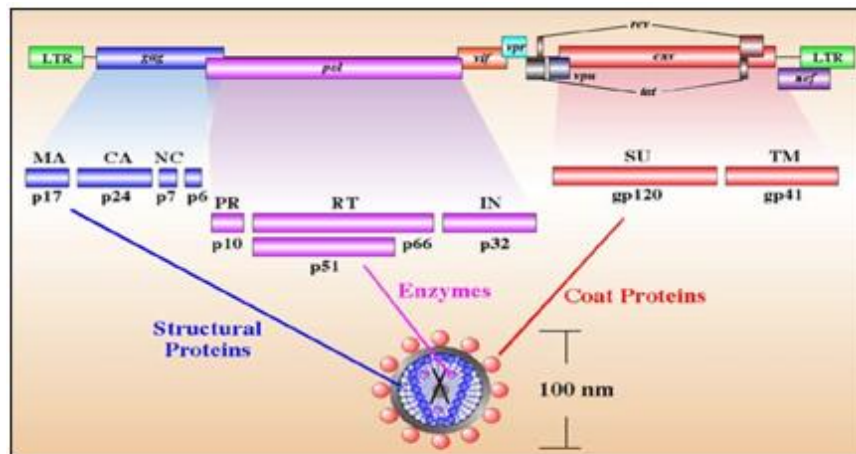


Figura 1: Organização genômica do HIV

A cristalografia de raios-X juntamente com a microscopia eletrônica tem permitido “acender algumas luzes” sobre os mecanismos do vírus, fornecendo detalhes, a nível atômico, sobre a organização tridimensional e a estrutura química das proteínas do HIV-1 (5). Tais detalhes têm facilitado a compreensão do mecanismo de atuação do vírus e, em combinação com os recentes avanços no *design* de proteínas *in silico*, fornecem a base para manipular e otimizar imunogêneos baseados no envelope do vírus (3).

O envelope do HIV-1 é o componente viral responsável pela entrada do vírus nas células. Na sua forma madura, o envelope possui complexos glicoproteicos formados por subunidades gp120 (de superfície) ligadas não-covalentemente a subunidades gp41 (transmembranares), sob a forma de trímeros (3). Estas glicoproteínas ligam-se aos recetores das células hospedeiras (o recetor CD4 e um correceptor, geralmente, CCR5 ou CXCR4) e, juntamente com uma alteração conformacional ao nível do envelope, ocorre a fusão das membranas célula-vírus e a entrada do vírus nas células hospedeiras (5).

Em geral, o envelope “esconde” a maior parte das proteínas do vírus do reconhecimento mediado por anticorpos. Apenas as proteínas gp120 e gp41 se encontram expostas. No estado “não-ligado” à célula-alvo, os trímeros do HIV-1 apresentam grande parte da sua superfície coberta com hidratos de carbono (glicanos) produzidos pelo próprio hospedeiro – o chamado “escudo de glicanos” – pelo que, em grande medida, são reconhecido como “self” pelo sistema imunitário e, portanto, “invisíveis” para os anticorpos.

Assim, apenas alguns locais que apresentam baixos níveis de glicosilação - os locais da gp120 responsáveis pela ligação ao recetor e interações ao nível do trímero - constituem domínios suscetíveis de reconhecimento e neutralização por anticorpos. No estado “ligado”

ao recetor CD4, uma maior superfície do trímico está na forma não-glicosilada e portanto, potencialmente disponível para o reconhecimento por anticorpos neutralizantes, como é o caso dos anticorpos dirigidos ao loop V3 ou anticorpos induzidos pelo CD4. No entanto, a proximidade da membrana viral e da membrana da célula-alvo constitui um impedimento estérico ao acesso a esses epítomos (5). Por outro lado, o trímico é composto por regiões variáveis que são imunodominantes e induzem anticorpos neutralizantes específicos de amplitude de neutralização limitada, enquanto as regiões conservadas, tais como o local de ligação ao CD4, estão então protegidas e pouco acessíveis ao sistema imunitário. Existe ainda um terceiro domínio na gp120, constituído por epítomos que apesar de se encontrarem acessíveis aos anticorpos na forma monomérica (linear) da proteína, no trímico funcional estão inacessíveis à sua ação neutralizante (6).

O vírus mostra uma extraordinária variabilidade genética devido à transcrição reversa do genoma viral propensa a erros e a uma alta taxa de mutações, o que favorece o aparecimento de variantes genéticas do HIV. Aquelas capazes de “escapar” ao reconhecimento pelas células T citotóxicas (CTL) e anticorpos neutralizantes podem ser selecionadas e replicam-se muito rapidamente (5). A diversidade num único indivíduo infetado pode atingir os 10%. A variação genética dentro de um subtipo é de 8 a 17%, enquanto que a variação entre subtipos é de 17 a 35% (7). Como resultado, um subconjunto menor de estirpes circulantes exibem um fenótipo designado de *tier 1*, altamente sensível à neutralização, ao passo que a maioria das estirpes circulantes apresentam um fenótipo de *tier 2*, menos sensível, difícil de neutralizar com anticorpos induzidos por vacinas (8).

Assim, a definição de serotipos, que se tem mostrado uma abordagem de sucesso para muitas vacinas, não é uma opção viável para orientar o desenho de uma vacina eficaz contra o HIV. É então importante procurar compreender a base estrutural para a neutralização do HIV-1, incluindo a caracterização dos anticorpos monoclonais que medeiam esta ampla neutralização bem como a sua interação com o envelope do HIV, de forma a encontrar oportunidades para a conceção de uma vacina que estimule a produção de anticorpos eficazes direcionados contra regiões conservadas específicas do vírus.

Patogénese do HIV

O RNA viral pode ser detetado no sangue periférico 10 dias após a infeção por HIV, com um pico da virémia que pode ultrapassar os 100 milhões de cópias de material genético do vírus/mm³. Após a infeção há um rápido aumento da carga viral, com ampla disseminação

do vírus nos órgãos linfóides, uma queda acentuada na contagem de células T CD4+ do sangue periférico, o estabelecimento de um reservatório de células T CD4+ de memória infetadas pelo vírus latente e o desenvolvimento de uma resposta imunitária específica contra o HIV-1. O conjunto de células T CD4+ infetadas com o vírus latente é estabelecido durante o início da infecção primária e a integração do genoma do vírus nessas células torna a erradicação do HIV-1 um grande obstáculo, pois permite a persistência viral apesar da presença da resposta imunitária e mesmo de possível terapia antirretroviral. O período entre o início da infecção e o aparecimento de anticorpos em níveis detetáveis é chamado de período de janela imunológica e a seroconversão pode ocorrer de três a cinco semanas após a infecção. O pico da virémia é reduzido significativamente 12 a 20 semanas após a infecção, enquanto ocorre um aumento parcial na contagem de células T CD4+ do sangue periférico e o aparecimento de células T citotóxicas específicas.

A fase assintomática, que dura em média dez anos, é caracterizada por uma lenta queda na contagem de células T CD4+ e por um aumento da virémia. Com a contagem de 200 células T CD4+/ μ L, infecções oportunistas e tumores tornam-se frequentes, caracterizando a SIDA em indivíduos infetados (9).

A RESPOSTA IMUNITÁRIA AO HIV

O principal desafio no desenvolvimento de uma vacina eficaz contra o HIV é a falta de conhecimentos suficientes sobre os componentes e os processos do sistema imunitário necessários para combater de forma eficaz o HIV-1 (1).

Resposta imunitária Inata

As células do sistema imunitário inato são a primeira linha de defesa contra a infecção, reconhecendo rapidamente o patógeno através de receptores de reconhecimento padrão (PRR). Componentes da imunidade inata tais como peptídeos antimicrobianos, fagócitos, células *natural killer* (NK), células dendríticas e o sistema do complemento, atuam rapidamente, sendo importantes na modulação da resposta imunitária que se desenvolve na infecção inicial. Estudos mostram que o RNA do HIV-1 codifica múltiplos ligantes do TLR7/8 que podem mediar diretamente a ativação do sistema imunitário *in vitro*, desencadeando uma potente ativação de células dendríticas e induzindo a produção de várias citocinas

antivirais e imunomodulatórias como o IFN- α , durante a infecção aguda por HIV-1. Evidências indicam que as células *natural killer* (NK) têm um papel fulcral na rápida contenção do vírus após a infecção, enquanto a resposta imunitária adaptativa se desenvolve (10).

Resposta imunitária adquirida celular

A imunidade adquirida compreende respostas humorais e celulares mediadas por linfócitos B e T específicos de determinados antígenos, respetivamente, que se expandem clonalmente e se diferenciam, reconhecendo uma enorme variedade de patógenos e a geração de memória imunológica que protege contra a reexposição aos antígenos.

A resposta celular ao HIV inclui a intervenção simultânea das células T CD4+ auxiliares e das células T CD8+ citotóxicas (CTL). As células infetadas pelo vírus, processam e apresentam à sua superfície proteínas e/ou péptidos virais conjugados com moléculas MHC de tipo I. Os CTLs reconhecem esses complexos, desencadeando o processo de lise da célula infetada. Para além da função citolítica, as células CD8+ também segregam citocinas antivirais, como o interferão γ (IFN- γ) e o fator de necrose tumoral α (TNF- α). As células T CD4+ desempenham um papel importante no auxílio da diferenciação completa e manutenção das células B e das células T citotóxicas (11).

A principal característica da infecção por HIV-1 é a depleção progressiva das células T CD4+, associada a um declínio na atividade das CTLs. Diversos estudos em humanos e animais sugerem que as respostas das células T auxiliares são necessárias para manter a atividade das CTLs, e portanto, a diminuição dessas células em indivíduos com infecção crónica por HIV-1 pode explicar a ineficácia do sistema imunológico em controlar o vírus apesar da presença das CTLs. Respostas proliferativas fortes de células T CD4+ e linfócitos T citotóxicos contra as proteínas do HIV-1 têm demonstrado uma boa correlação com o controlo da replicação e da carga viral (12).

Resposta imunitária adquirida humoral

Os anticorpos tem o potencial de bloquear a replicação do HIV-1 através de diversos processos. Os anticorpos neutralizantes (nAbs) ligam-se às proteínas dos vírus responsáveis pela sua entrada nas células alvo, impedindo assim a infecção e subsequentes ciclos de replicação.

No entanto, muitas das respostas são compostas por anticorpos ligantes sem atividade neutralizante. Um importante mecanismo pelo qual estes anticorpos não-neutralizantes podem atuar é através da ligação a células infectadas e o recrutamento de células efectoras, que por sua vez induzem a citólise dessas mesmas células infectadas. Este mecanismo, conhecido como Citotoxicidade Dependente de Anticorpos (ADCC), é o resultado da formação de um complexo entre o anticorpo, a proteína viral na superfície da célula infectada e células efectoras. Células efectoras incluem as células NK, macrófagos, células dendríticas e neutrófilos. Além de provocar a citólise de células infectadas, este mecanismo pode levar à liberação de citocinas antivirais (13).

As evidências de alguns estudos mostram que os anticorpos não-neutralizantes podem contribuir para alguma proteção contra a infecção pelo vírus. Vários estudos em macacos têm mostrado que a atividade ADCC se correlaciona com a redução da carga viral.

Atualmente as tentativas para identificar imunógenos suficientemente eficazes para serem empregues em vacinas contra o HIV estão focadas naqueles que estimulam respostas de anticorpos amplamente neutralizantes. Isto deve-se, em grande parte, aos resultados de estudos experimentais em macacos que mostram que a transferência destes anticorpos pode proteger contra vírus relacionados com o HIV-1. No entanto, a capacidade de anticorpos amplamente neutralizantes conferirem proteção contra a infecção por HIV-1 e / ou a progressão da doença em seres humanos ainda permanece mal definida e duvidosa (13).

Resposta inicial de anticorpos e evasão viral

As primeiras respostas das células B à infecção por HIV-1 desenvolvem-se dentro da primeira semana após virémia detetável e, alguns dias mais tarde, surgem anticorpos anti-gp41 circulantes, seguidos por anticorpos anti-gp120, algumas semanas depois, tendo como alvo principal o loop V3 do envelope do vírus. No entanto, a maioria destes anticorpos direcionados contra o envelope não tem um efeito detetável na virémia e, aparentemente, não exerce qualquer pressão imunológica no vírus (13). Cerca de 80% das infecções por HIV-1 em heterossexuais são estabelecidas por apenas um vírus, chamado de vírus transmitido (14). Anticorpos com potente efeito neutralizador (nAbs) contra a estirpe infetante (vírus autólogos), direcionados contra a gp120, aparecem 3 a 4 meses mais tarde, mas são extremamente específicos não sendo capazes de neutralizar variantes genéticas.

No entanto, assim que estes nAbs surgem, exercem uma pressão imunológica seletiva, à qual o vírus responde rapidamente através de modificações sequenciais, seguindo-se um ciclo contínuo de respostas adaptativas de anticorpos e posterior evolução/evasão viral. Dados recentes sugerem que as respostas destes nAbs autólogos no primeiro ano de infecção compreendem uma ou duas especificidades de anticorpos que têm como alvo preferencial as regiões variáveis da glicoproteína do envelope do HIV-1. Um dos principais alvos dos nAbs autólogos é a região V1V2. Isto foi mostrado pela primeira vez no modelo SIV / macaco, onde as primeiras alterações genéticas foram observadas na região V1V2 (13).

As alterações que ocorrem ao nível do envelope do vírus em resposta aos nAbs podem, em alguns casos, resultar numa favorável exposição de regiões mais conservadas que conduzam à indução de anticorpos amplamente neutralizantes em alguns indivíduos (15).

Uma minoria dos indivíduos infetados produz anticorpos capazes de neutralizar uma grande diversidade de estirpes de HIV, designados de anticorpos amplamente neutralizantes.

Desenvolvimento de anticorpos amplamente neutralizantes

Os anticorpos amplamente neutralizantes conseguem ligar-se a uma das quatro regiões altamente conservadas identificadas no envelope do HIV-1: o local de ligação ao CD4 na gp120, a primeira e segunda regiões variáveis (V1/V2) na gp120, o local C3/V3 associado a glicanos na gp120 e a região proximal da membrana externa (MPER) da gp41 (Figura 2).

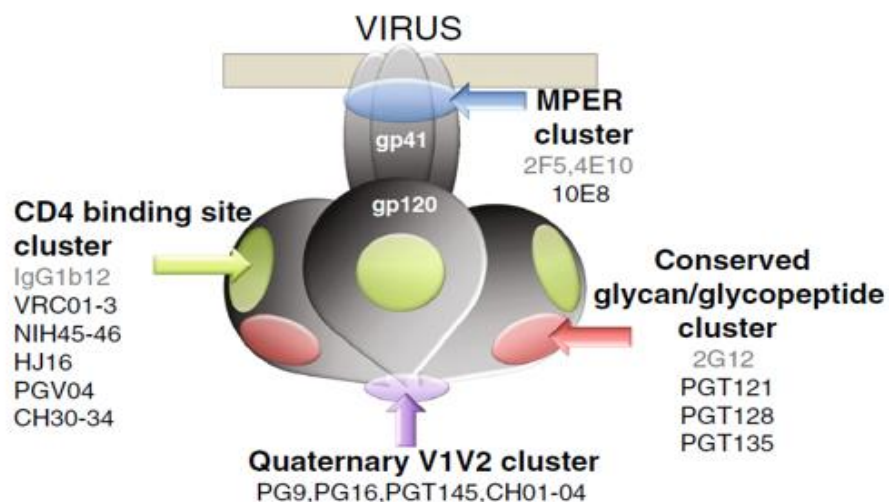


Figura 2: Modelo da estrutura das glicoproteínas do envelope do HIV-1 e superfícies de ligação aos anticorpos amplamente neutralizantes

A maioria dos bnAbs têm uma ou mais especificidades não usuais que coloca enormes barreiras à sua indução, entre as quais auto-reatividade, uma longa região determinante de complementaridade (HCDR3) e/ou uma extensa mutação somática (16). As exatas razões pelas quais apenas alguns indivíduos (entre 10 a 30%) desenvolvem bnAbs não é clara, mas pensa-se estar relacionado com a duração da infecção e com a carga viral, sugerindo que são necessários 2 a 4 anos de estimulação viral persistente para a sua geração, altura em que já são pouco úteis (17). Assim, seria importante conseguir induzir a produção destes anticorpos numa fase mais inicial e num maior número de indivíduos. Em particular, bnAbs que se ligam ao local de ligação CD4, têm um elevado número de mutações somáticas, sugerindo um processo de maturação complexo ou bastante longo, que deve ser bloqueado na maioria dos indivíduos pela disfunção das células B observada durante a infecção por HIV. Além disso, a análise imunogenética de vários mAbs sugere que eles foram submetidos a vários ciclos de maturação de afinidade até apresentarem atividade amplamente neutralizante. No entanto, a constatação de que nem todos os indivíduos desenvolvem este tipo de anticorpos aponta para o papel de fatores adicionais tanto do hospedeiro como virais. Há alguma evidência de que o subtipo genético viral também possa ser importante, uma vez que a amplitude e a potência da resposta humoral parecem ser maiores nos subtipos C e A do que em infecções pelo subtipo B (13).

Contudo, os bnAbs estudados até há pouco tempo foram isolados apenas de indivíduos já com infecção crónica. Um estudo mais recente, publicado em 2013, analisou várias amostras sequenciais do sangue de um indivíduo africano, CH505, desde a infecção aguda por HIV-1 até à produção de anticorpos amplamente neutralizantes (bnAbs). O indivíduo foi seguido durante um período de 3 anos, o que permitiu acompanhar e mapear a relação entre a evolução do vírus no organismo e as mutações que levaram à produção de bnAbs, o que pode ser um grande passo na compreensão de todo o processo de desenvolvimento de bnAbs (17).

Anticorpos e progressão da doença

Apesar de na infecção primária por HIV, a resposta de anticorpos neutralizantes contra o vírus ser baixa, esta aumenta com o tempo, e nos doentes crónicos de um estudo observou-se uma correlação negativa entre essa resposta e a carga viral. Isto pode ser indicativo de que a capacidade do HIV de evadir à resposta imunitária é limitada e de que

estes anticorpos podem de facto contribuir para o controlo da replicação viral, embora a evasão viral e perda deste controlo seja rápida (18).

Outros estudos em doentes infetados por HIV-1 mostraram que os indivíduos com maior carga e diversidade viral no início da infeção tinham também respostas de nAbs de maior amplitude (13). Isto sugere que a estimulação antigénica pode ser a chave para uma maior amplitude de nAbs. Estes estudos mostraram também que a amplitude de nAbs não teve impacto na progressão para a SIDA, sugerindo que a presença de bnAbs por si só não garante o controlo da carga viral (18).

Anticorpos monoclonais

Em 1992, foram isolados e caracterizados os primeiros anticorpos monoclonais amplamente neutralizantes. Nos últimos anos, tem havido uma explosão na descoberta de novos bnmAbs, mais potentes e com maior amplitude de ação do que os anticorpos anteriores, auxiliada por vários avanços tecnológicos (5). A juntar aos anticorpos 4E10, 2F5 e 2G12, temos agora os anticorpos PG9 e PGI6, com uma amplitude de cerca de 80%, e que estão direcionados para a região V2-V3 do trímero do HIV-1; os anticorpos VRC01, VRC02 e VRC03, com uma amplitude de 90%, que se ligam a uma região funcionalmente conservada da gp120 que interage com o recetor CD4 da célula hospedeira; e o anticorpo 10E8 que neutraliza cerca de 98% dos vírus testados (19).

Estes anticorpos monoclonais específicos do HIV-1 visam diferentes epítomos nas glicoproteínas do envelope do HIV e são então extremamente úteis para a caracterização de alvos sensíveis à neutralização e para revelar as dimensões estruturais do complexo heterotrímero do vírus, podendo proporcionar perspetivas valiosas para a conceção de uma vacina.

DESENVOLVIMENTO DE VACINAS CONTRA O HIV

Primeiro período de ensaios: indução de anticorpos neutralizantes (1986-2003)

As tentativas iniciais de desenvolver uma vacina contra o HIV basearam-se no conceito de que a prevenção da infeção pelo HIV era possível recorrendo apenas a anticorpos neutralizantes (2). Entretanto, considerou-se que vacinas contendo o vírus

morto/inativo ou vacinas vivas atenuadas seriam demasiado perigosas para serem usadas em seres humanos.

Vacinas de subunidades proteicas

As vacinas de subunidades proteicas de HIV são baseadas nas glicoproteínas gp120 e gp41 do envelope do vírus, as quais são clivadas a partir do precursor gp160. Diferentes construções de vacinas foram desenvolvidas com base nestas glicoproteínas, tendo como objetivo a indução de anticorpos neutralizantes.

- VAX003 e VAX004

O ensaio clínico de fase III VAX004, foi o primeiro estudo a utilizar a gp120 recombinante como candidato a vacina contra o HIV e teve início em 1998, nos EUA, Canadá, Porto Rico e Holanda. Este ensaio avaliou a eficácia da vacina bivalente AIDSVAX B/B, composta pelos antígenos MN e GNE8 da gp120 do subtipo B, na prevenção da transmissão sexual do HIV-1 em áreas geográficas onde o HIV do subtipo B é o mais prevalente. Este ensaio foi efetuado num total de 5417 voluntários, compreendo 5108 homens que fazem sexo com homens e 309 mulheres de alto risco, seronegativos (20).

O ensaio VAX003, também de fase III, iniciado em 1999, na Tailândia, avaliou a eficácia da vacina bivalente AIDSVAX B/E, composta pelos antígenos MN e A244 da gp120 dos subtipos B e E, respetivamente, na prevenção da transmissão do HIV-1 através do sangue. Este estudo envolveu 2.545 toxicodependentes, a maioria viciados em heroína, em Bangkok, onde são prevalentes tanto o subtipo B como o subtipo E de HIV (20).

As vacinas baseadas em subunidades proteicas virais estimulam fracas respostas por parte das células T CD8 +, o que se verificou nestes ensaios. Por outro lado, apesar de nas duas vacinas terem sido detetados altos níveis de anticorpos capazes de neutralizar vírus mais sensíveis à neutralização (*tier 1*), ambas demonstraram pouca atividade contra vírus *tier 2*, mais resistentes à neutralização (19).

Assim, apesar da produção de anticorpos, ambas as vacinas se mostraram ineficazes na prevenção da infeção por HIV-1, não foram capazes de retardar a progressão da doença, nem mostraram diferença significativa nas cargas virais entre os grupos vacinado e placebo, não sendo capaz de proteger a população de alto risco contra a infeção pelo HIV (20).

Nos estudos VAX004 e VAX003, a ineficácia observada parece dever-se à

incapacidade de indução da produção de anticorpos, principalmente contra vírus de *tier 2*, suficientemente elevada para impedir a infeção (19). Por outro lado, qualquer vacina que não reproduza “fielmente” a estrutura trimérica, é suscetível de induzir anticorpos que se ligam a epítomos da proteína que não são normalmente expostos, o que pode também explicar a ineficácia das respostas induzidas pela proteína gp120 recombinante monomérica do envelope do vírus HIV (21).

Recentemente, foi desenvolvido um trímero mais estável com propriedades antigénicas mais próximas das do trímero *wildtype*, incluindo a glicosilação, a qual se demonstrou recentemente que para além de atuar como um escudo pode servir também como um alvo de neutralização. Este trímero demonstrou uma melhoria no estímulo de respostas de anticorpos neutralizantes em porcos-da-índia e o mesmo poderá entrar em ensaios clínicos de fase I nos próximos anos (22).

Segundo período de ensaios: indução de respostas CTL (1995-2007)

Este novo período no desenvolvimento de vacinas contra o HIV começou com o reconhecimento, no início da década de 2000, da importância crítica das respostas das células T CD8 + no controlo da infeção por HIV (2).

Uma vez que este tipo de vacinas atua preferencialmente por eliminação de células infetadas pelo vírus, espera-se que o seu maior impacto seja no controlo da replicação, ao invés da prevenção da infeção. Este novo paradigma levou ao desenvolvimento e aperfeiçoamento de vetores virais recombinantes, bem como de vacinas de DNA e regimes *prime-boost* (2).

Vacinas baseadas em vetores virais

Uma abordagem para estimular a imunidade celular através de vacinação (ver *Geração de respostas de células T CD8 + através de uma Vacina* em anexo) é o uso de vetores virais recombinantes, os quais são manipulados para expressarem um gene de interesse. Os vetores virais testados como candidatos a vacinas contra o HIV incluem vírus não replicativos em células de mamíferos (*canarypox* e *fowlpox*), ou vírus que sofreram modificações para se tornarem não replicativos [adenovírus, vírus *Vaccinia* da estirpe New York (NYVAC) e vírus *Vaccinia Ankara* Modificado (MVA)].

Destes vetores, o adenovírus recombinante tipo 5 (rAd5) mostrou-se particularmente imunogénico e foi selecionado como o vetor vírico dos ensaios STEP (HIV Vaccine Trials Network (HVTN) 502) e Phambili (HVTN 503), que foram os primeiros ensaios a testar a eficácia de uma vacina contra o HIV baseada na imunidade mediada por células (19).

- STEP (HVTN 502) e Phambili (HVTN 503)

Ambos os ensaios de fase IIb, conduzidos numa população predominantemente de alto-risco, avaliaram a mesma vacina, um vetor rAd5 com replicação defeituosa que expressava os genes Gag, Pol e Nef do HIV-1 subtipo B. Esperava-se que este sistema de entrega induzisse uma resposta imunitária mediada por células ao adenovírus modificado, que diminuísse a carga viral. Uma vez que as “inserções” eram porções sintéticas do genoma do HIV criadas pelos investigadores para se ligarem ao vetor de adenovírus, não existia o risco de contrair HIV a partir da vacina.

O ensaio STEP, iniciado em 2005, foi o segundo ensaio de eficácia de uma vacina experimental contra o HIV realizado, tendo sido conduzido em homens homossexuais e mulheres com alto risco de transmissão sexual do HIV-1, seronegativos no início do estudo, na América do Norte e do Sul, Caraíbas e Austrália (23).

Este ensaio foi interrompido em setembro de 2007 após os resultados mostrarem uma tendência para o aumento das taxas de infeção por HIV em homens não circuncidados seropositivos para Ad5, que tinham sido vacinados, relativamente ao grupo placebo (23). 49 dos 914 voluntários vacinados e 33 dos 922 pertencentes ao grupo de placebo foram diagnosticados como infetados com HIV (23).

A vacina rAd5 utilizada no ensaio STEP induziu uma resposta de células TCD8+, incluindo a expressão de IFN- γ e/ou TNF- α , embora dirigida apenas contra um número limitado de epítomos, não tendo apresentado proteção contra a infeção (24). Por outro lado, a vacina mostrou-se incapaz de modificar os marcadores de progressão da doença. A carga viral, a contagem de células T CD4 + e o tempo para o início da terapia antirretroviral foram os mesmos entre os vacinados e o grupo controlo (25).

Este estudo sugere assim que a resposta celular necessária para conferir proteção contra o vírus HIV-1 necessita de ser mais intensa ou qualitativamente diferente da desencadeada por esta vacina. Por outro lado, levanta também a hipótese de que respostas

imunes desencadeadas por vacinas que desencadeiam apenas respostas celulares sejam insuficientes para proteger contra a infecção ou progressão para SIDA (26).

O ensaio HVTN 503/Phambili, iniciado ao mesmo tempo que o STEP, foi realizado em homens e mulheres heterossexuais de baixo risco, na África do Sul, e foi interrompido pelo Comité de Ética em outubro de 2007, após o aumento das taxas de infecção por HIV observado no ensaio STEP (3).

Após os resultados destes ensaios, vetores baseados em outros adenovírus com menores taxas de seroprevalência têm sido avaliados, como os adenovírus 26 e 35. Estudos em modelos animais usando combinações de MVA, rAd26 e rAd35 têm também demonstrado globalmente uma robusta proteção contra a infecção.

Vetores com capacidade de replicação podem apresentar uma maior imunogenicidade e estão também a ser avaliados. (19).

Terceiro período de ensaios: combinações de diferentes respostas imunitárias (desde 2007)

Esta abordagem no desenvolvimento de uma vacina contra o HIV, que procura explorar tanto respostas de anticorpos funcionais como respostas mediadas por células, foi iniciada após os resultados decepcionantes do estudo STEP terem sido anunciados (2).

- RVI44

Este ensaio clínico de fase III, iniciado em 2003, na Tailândia, combinou a vacina ALVAC-HIV com o reforço da vacina AIDSVAX B/E (VAX003), num regime *prime-boost* heterólogo (ver *Prime-Boost Heterólogo* em anexo). ALVAC-HIV consiste no vetor vírico *canarypox*, uma forma inerte do poxvírus dos canários, incapaz de se replicar ou provocar doença em humanos, que contém versões geneticamente modificadas de três genes do HIV (env, gag e pol). AIDSVAX B/E é composta pela gp120 geneticamente modificada. Neste ensaio – o maior ensaio de uma vacina contra o HIV alguma vez conduzido em humanos – 16,402 homens e mulheres heterossexuais seronegativos entre os 18-30 anos foram aleatorizados para receber o *prime-boost* ou o placebo, durante um período de 6 meses. Após este período de vacinação, os voluntários eram sujeitos a testes de infecção por HIV a cada 6 meses, durante 42 meses, tendo os resultados sido publicados em 2009 (27).

Este estudo providenciou a primeira evidência de que uma vacina contra o HIV podia de facto diminuir de forma eficaz o risco de infeção pelo vírus. O regime de vacinação mostrou-se seguro e eficaz. Durante o estudo, 125 participantes contraíram HIV, através de comportamentos não relacionados com o ensaio. Desses, 74 tinham recebido placebo e 51 tinham recebido a vacina (28). É estatisticamente significativa que o grupo que recebeu o vacina tenha uma taxa de infeção 31,2% mais baixa que a do grupo controlo, 42 meses após a primeira vacinação. A vacina pareceu também exercer uma maior proteção efetiva durante o primeiro ano (diminuiu cerca de 60% o risco de infeção). Os participantes heterossexuais de baixo e médio risco de infeção obtiveram um maior benefício da vacina do que os participantes de alto risco, como homens que tinham relações sexuais com homens, utilizadores de drogas injetáveis ou profissionais do sexo (68% de redução do risco nos grupos de baixo e médio risco e apenas 5% nos participantes de alto risco) (19).

Neste estudo, apenas os vírus de *tier 1* foram neutralizados, em parte por nAbs contra o loop V3 da gp120, mas esta resposta foi mais fraca do que a observada no ensaio VAX003, o que coloca em dúvida a importância dos nAbs na prevenção da infeção por HIV. No entanto, há que ter em conta a possibilidade de que baixos níveis destes anticorpos podem ter tido um maior impacto na transmissão do vírus na população heterossexual do ensaio RV144 do que no grupo de alto-risco que participou nos ensaios VAX003 e VAX004, para além de que outras funções efetoras de anticorpos podem estar envolvidas (29).

Em 2012, uma posterior análise deste ensaio, demonstrou que os indivíduos do estudo que produziram anticorpos IgG que reconhecem a região VI-V2 nas proteínas gp120 do envelope apresentavam um menor risco de infeção por HIV. Estes anticorpos mostraram capacidade de neutralizar diretamente o vírus mas também de mediar funções efetoras como a citotoxicidade mediada por células dependente de anticorpos (ADCC). Por outro lado, elevados níveis de anticorpos IgA apresentaram uma correlação positiva com o risco de infeção (30).

Isto levanta a hipótese de que respostas de IgA contra o Env e respostas IgG direcionadas contra as regiões VI-V2 podem estar associadas com a proteção contra o HIV. Embora ainda não esteja claro como estes anticorpos IgA poderiam aumentar o risco de infeção pelo HIV entre os voluntários vacinados, foi sugerida a hipótese de que os IgA bloqueiam a região específica da gp120 que intervém na citotoxicidade celular dependente de anticorpos (ADCC), mediada pelos anticorpos IgG (19).

- HVTN 505

O ensaio HVTN 505, iniciado em 2009, envolveu um total de 2.504 voluntários não infectados com HIV, especificamente homens que fazem sexo com homens e transexuais que fazem sexo com homens (circuncidados e seronegativos para o adenovírus tipo 5, como precaução devido aos resultados anteriores do ensaio STEP), de 19 cidades dos Estados Unidos. A vacina foi aplicada em 1.250 indivíduos, enquanto aos restantes 1.244 foi administrado um placebo (31).

O objetivo inicial do ensaio era determinar se a vacina diminuía a carga viral em indivíduos vacinados, posteriormente infectados com HIV. O âmbito científico do estudo mudou em resposta ao ensaio RV-144, na Tailândia, em 2009, que provou ser possível uma vacina que prevenisse a infecção pelo HIV, e em 2011 o NIAID (National Institute of Allergy and Infectious Diseases), patrocinador da pesquisa, anunciou o aumento da amostra do estudo, para assegurar um significado estatístico nos resultados obtidos (32).

O ensaio HVTN 505 de fase IIb foi assim conduzido com o intuito de avaliar se o candidato a vacina era seguro e eficaz na estimulação de uma resposta humoral capaz de prevenir a infecção pelo HIV, e não apenas no controlo do vírus, através uma resposta celular que reduzisse a carga viral.

O regime combinou:

- uma vacina de DNA composta por plasmídeos de DNA que codificavam para Gag, Pol e Nef de HIV-1 do subtipo B e Env dos subtipos A, B, e C, administrada aos meses 0, 1 e 2;
- um reforço de rAd5 com replicação deficiente, contendo as mesmas inserções, exceto Nef, administrada no mês 6 (33).

Este regime de vacinação induziu respostas de células T CD4 + e CD8 +, embora ineficazes (34). O Instituto Nacional de Saúde dos EUA (NIH) interrompeu a pesquisa em abril de 2013, depois da descoberta de 41 infecções entre os voluntários que tomaram a vacina contra 30 do grupo que tomou o placebo, verificando-se que a vacina era ineficaz tanto na prevenção da infecção como na redução a carga viral naqueles que se tornaram infectados durante o ensaio (31).

Atualmente os investigadores estão cada vez mais conscientes da necessidade de usar mais de um subtipo de HIV-1 na composição das vacinas. Uma estratégia usada por pesquisadores de *University of Massachusetts Medical School* em colaboração com o *Advanced Bioscience Laboratories* envolve a utilização de um regime *prime-boost* para a expressão de gag e de 5 proteínas do envelope de 4 diferentes subtipos de HIV-1 (22).

POSSÍVEIS ABORDAGENS

❖ **Antigénios em Mosaico**

Futuras vacinas baseadas nas respostas das células T deverão representar melhor as sequências circulantes do vírus na população alvo, induzir respostas que reconheçam múltiplos epítomos (amplitude) e induzir respostas contra diversas variantes dentro desses epítomos (profundidade) (35).

Esta abordagem permite desenvolver as chamadas vacinas polivalentes, aplicando algoritmos *in silico* para selecionar imunogéneos de forma a maximizar e otimizar as sequências de diferentes estirpes de HIV abrangidas pela resposta imunitária das células T (36). Antigénios em mosaico consistem em proteínas recombinantes compostas por diversos fragmentos de sequências naturais. Um dos problemas desta técnica, tal como em outros *cocktails* de proteínas naturais, é a possibilidade da presença de regiões variáveis poder interferir e “desviar” as respostas de alvos conservados de maior utilidade. Uma estratégia para contornar esta situação, pode passar pela construção de um imunogénio derivado apenas de regiões altamente conservadas do HIV-1 (desenhado para potenciar a cobertura dos principais subtipos do HIV-1 ao mesmo tempo que minimiza a possibilidade de ocorrência de interferência entre epítomos). Isto permite focar a resposta das células T nas regiões mais conservadas do vírus e dificultar a evasão do vírus (37).

Investigadores descobriram que alguns regimes *prime-boost* contendo antigénios em mosaico reduziram o risco de infeção por exposição em 90%, em macacos. Estas inserções estão a ser desenhadas para inclusão em ensaios clínicos de fase I (38).

❖ **B-cell-lineage design**

A compreensão dos padrões de seleção e maturação clonal que levam ao desenvolvimento dos tão raros e desejados bnAbs, pode facilitar o *design* de imunogéneos que estimulem essas vias de maturação e, conseqüentemente, essas respostas.

Uma nova estratégia para o desenvolvimento de vacinas tem sido estudada com o objetivo de aumentar a indução destes bnAbs. Esta abordagem baseia-se na identificação de células B que produzam bnAbs e no estudo de como essas células se desenvolvem a partir

das suas células B *naive* ancestrais. Assim, conhecendo o processo, pode ser possível a utilização de diferentes antígenos para estimular diferentes fases do desenvolvimento da célula B, guiando a maturação da célula B através da via desejada. É provável que um indivíduo necessite de bnAbs de mais de uma especificidade para proteção, sendo requeridas múltiplas linhagens de células B, o que pode resultar numa vacina composta por uma série de diferentes imunogêneos (39).

O já referido estudo da evolução do vírus e do anticorpo CH103 num doente africano (CH505) pode servir como um guia no desenvolvimento de uma vacina baseada nesta abordagem (17).

❖ **Novos adjuvantes**

Muitas das vacinas atualmente existentes contra uma enorme variedade de patógenos contêm vírus mortos/inativos ou vírus vivos atenuados. No entanto, no caso do HIV, estas estratégias não se mostram seguras e, como já referido, as abordagens testadas até à data não se mostraram tão eficazes em estimular o sistema imunitário.

O desenvolvimento de adjuvantes, juntamente com a utilização de melhores imunogêneos pode ser necessário para se alcançar uma vacina de sucesso. As formulações com adjuvantes têm demonstrado uma potenciação da resposta imunitária esperada, em muito devido à capacidade dos adjuvantes estimularem a resposta imunitária inata (40).

Resultados utilizando um novo adjuvante – PM (*polyman*) 19 – mostraram que, sozinho ou em combinação com agonistas de TLR, induz a expressão de citocinas e quimiocinas β que podem, por sua vez, modular a imunidade adaptativa e exercer efeitos antivirais (41).

Uma outra abordagem possível parece ser a utilização de adjuvantes que ativam enzimas reguladoras da mutação somática, como é o caso da enzima AID (*activation-induced cytidine deaminase*), para aumentar a probabilidade de indução de anticorpos amplamente neutralizantes (bNAbs) (19).

❖ Imunoprofilaxia vetorizada

Apesar de passados cerca de 30 anos de intenso estudo, as tentativas realizadas até à data para desenvolver uma vacina segura e eficaz contra o HIV ou falharam, em termos dos resultados esperados, ou alcançaram apenas uma proteção modesta, de curta duração.

Uma nova estratégia, designada de Imunoprofilaxia Vetorizada (VIP em inglês), permite ultrapassar a difícil tarefa de procurar induzir anticorpos eficazes usando os imunogéneos certos. Esta técnica, baseada na transferência de genes codificadores de anticorpos, permite a direta produção de anticorpos em tecidos não-hematopoiéticos, como o músculo, contornando a problemática em volta da resposta imunitária natural ao vírus (42).

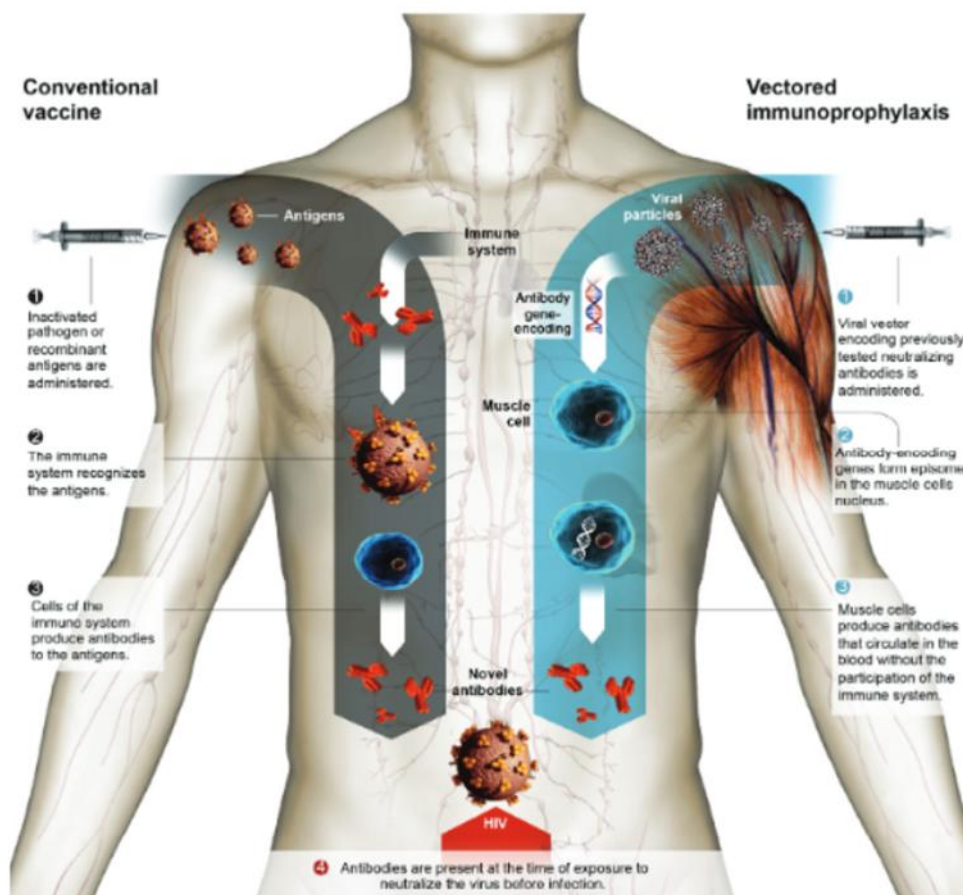


Figura 3: Comparação de abordagens profiláticas: vacina tradicional vs VIP

Num estudo publicado em fevereiro deste ano, investigadores utilizaram um AAV (*adeno-associated virus*) como vetor, transportando os genes que codificam o anticorpo amplamente neutralizante VRC01. O vetor com genes humanos foi então posteriormente injetado intramuscularmente em ratos, resultando numa expressão prolongada do anticorpo

em questão. A aplicabilidade desta abordagem ao ser humano foi testada usando um método de exposição repetida dos ratos a baixas doses de HIV de uma maneira que mimetiza a exposição durante as relações sexuais humanas (43).

Os resultados demonstraram proteção contra a transmissão intravenosa e ao nível da mucosa vaginal nos ratos, usando diversas estirpes de HIV e após repetidas exposições, sugerindo que uma estratégia semelhante pode ser desenvolvida para reduzir a transmissão entre humanos (43).

Entretanto, outro grupo de investigação está a trabalhar no primeiro ensaio clínico de fase I usando esta técnica, que utiliza um vetor AAV transportador dos genes codificadores do anticorpo amplamente neutralizante PG9, cuja data de finalização está estimada para janeiro de 2016 (44).

CONCLUSÃO

Os desafios para o desenvolvimento de uma vacina contra o HIV-1 não têm precedentes na história da Imunologia. Primeiro, o HIV-1 apresenta uma tremenda diversidade genética mundial, bem como uma extraordinária capacidade mutacional que lhe permite “escapar” às respostas imunitárias humoral e celular montadas pelo ser humano. A obtenção de antigénios que induzam respostas imunologicamente relevantes representa assim um enorme desafio. Em segundo lugar, não há exemplos conhecidos de *clearance* espontânea imuno-mediada da infeção pelo HIV-1, indicativo de imunidade natural e, portanto, as características exatas das respostas imunitárias que necessitam de ser induzidas por uma vacina ainda não estão totalmente definidas. Em terceiro lugar, apesar de uma série de potentes e abrangentes anticorpos monoclonais neutralizantes terem sido recentemente descobertos, tais anticorpos são induzidos apenas num pequeno grupo de pessoas infetados pelo HIV-1, após vários anos de infeção.

As evidências ao nível de muitas outras doenças infecciosas, para as quais uma vacina já foi desenvolvida, juntamente com os resultados das tentativas efetuadas até à data no campo do HIV parecem indicar a necessidade de uma abordagem dupla: uma atempada, robusta e ampla resposta de anticorpos para prevenir a infeção e uma resposta celular compatível para combater a infeção e proteger contra a doença.

Apenas quatro conceitos de vacina contra o HIV foram submetidos a testes clínicos de eficácia, e apesar de apenas um ter demonstrado eficácia, todos os quatro forneceram informações relevantes e importantes para o avanço neste campo. O uso do vírus intacto morto ou vivo atenuado não é viável em humanos por questões de segurança. Por outro lado, as vacinas baseadas em subunidades de proteínas mostram-se relativamente pouco imunogênicas. Os ensaios VAX004/VAX003 indicaram que uma vacina de subunidades, composta por monómeros da proteína recombinante gp120, não foi eficaz numa população de alto risco. Uma vacina baseada no vetor Ad5 falhou em conferir proteção no ensaio STEP e demonstrou estar mesmo associada a um aumento do risco de infecção pelo HIV-1 em certas populações. A adição de um vetor de DNA e a inclusão de genes Env no vetor Ad5, no ensaio HVTN 505, também se mostrou ineficaz em conferir proteção. Um regime de *prime-boost* constituído por um vetor *canarypox* como *prime* e um reforço de rgp120 – ensaio RVI44 – demonstrou uma eficácia modesta (31,2%), ainda que por um curto período de tempo. Embora os componentes da resposta imunitária do ensaio RVI44 ainda estejam a ser totalmente determinados e esclarecidos, estudos iniciais sugerem que uma resposta de anticorpos direcionada para a região V1/V2 do envelope possa estar envolvida.

A descoberta de bnAbs altamente potentes contra o HIV-1 é uma observação de grande importância para o desenvolvimento de uma vacina contra o HIV. Contudo, as estratégias tradicionais podem ser incapazes de induzir estes anticorpos. Novas estratégias, como o *B-cell-lineage design*, novos adjuvantes, imunogêneos em mosaico e a Imunoprofilaxia Vetorizada estão a ser estudadas para obter ou fornecer esses anticorpos.

Os ensaios de eficácia de vacinas contra o HIV realizados até à data têm demonstrado que uma vacina contra o HIV eficaz e segura é possível, e contribuíram em muito para a compreensão dos caminhos a seguir para o desenvolvimento de tal vacina.

BIBLIOGRAFIA

- (1) - BAROUCH, D. - **The Quest for an HIV-1 Vaccine - Moving Forward.** The New England Journal of Medicine. 369; 22 (2013).
- (2) - ESPARZA J. - **What Has 30 Years of HIV Vaccine Research Taught Us?** Vaccines. 1, 513-526 (2013).
- (3) - SCHIFFNER, T., SATTENTAU, Q., DORRELL, L. - **Development of prophylactic vaccines against HIV-1.** Retrovirology. 10:72 (2013).
- (4) – SHARP, P., HAHN, B. - **The evolution of HIV-1 and the origin of AIDS.** The Royal Society. Volume 365. Number 1552 2487-2494 (2010).
- (5) - KWONG, P., - **Rational Design of Vaccines to Elicit Broadly Neutralizing Antibodies to HIV-1.** Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. (2011).
- (6) – SCHULKE, N. - **Hiv-1 Neutralizing Antibodies Elicited by Trimeric Hiv-1 Envelope Glycoprotein Complex.** (2011).
- (7) – HEMELAAR, J. - **The origin and diversity of the HIV-1 pandemic.** Trends Mol Med. 18(3):182-92 (2012).
- (8) – MONTEFIORI, D., KARNASUTA, C., HUANG, Y. - **Magnitude and Breadth of the Neutralizing Antibody Response in the RV144 and Vax003 HIV-1 Vaccine Efficacy Trials.** J Infect Dis. 206(3):431-41 (2012).
- (9) – LANE, D. - **Pathogenesis of HIV Infection.** Top HIV Med. 18(1):2-6 (2010)
- (10) – CHANG, J., ALTFELD, M. - **Innate Immune Activation in Primary HIV-1 Infection.** Journal of Infectious Diseases. 15;202 (2010).
- (11) - HARARI, A., PANTALEO, G. - **HIV-1-specific immune response.** Advances in Pharmacology. Volume 56 (2008).
- (12) - GANDHI, T., WALKER, D. - **Immunologic control of HIV-1.** Annual Review of Medicine v. 53, p. 149-172 (2002)
- (13) – OVERBAUGH, J., MORRIS, L. - **The Antibody Response against HIV-1.** Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. 2(1):a007039 (2012).
- (14) – KEELE, B. - **Identifying and Characterizing Recently Transmitted Viruses.** Current Opinion on HIV and AIDS. 5(4):327-34 (2010).
- (15) – MOORE, P., GRAY, S., MORRIS, L. - **Specificity of the autologous neutralizing antibody response.** Current Opinion on HIV and AIDS. 4(5):358-63 (2009).
- (16) – VERKOCZY, L., - **HIV-1 Envelope gp41 Broadly Neutralizing Antibodies: Hurdles for Vaccine Development.** PLoS Pathogens. 10(5): e1004073 (2014).

- (17) – LIAO, X. - **Co-evolution of a broadly neutralizing HIV-1 antibody and founder virus.** Nature. 496, 469–476 (2013).
- (18) – DEEKS, S., SCHWEIGHARDT, B., WRIN, T., GALOVICH, J., HOH, R., SINCLAIR, E., HUNT, P., MCCUNE, M., MARTIN, N., PETROPOULOS, J., HECHT, M. - **Neutralizing Antibody Responses against Autologous and Heterologous Viruses in Acute versus Chronic Human Immunodeficiency Virus (HIV) Infection: Evidence for a Constraint on the Ability of HIV to Completely Evade Neutralizing Antibody Responses.** Journal of Virology. 80(12):6155-64 (2006).
- (19) - COHEN Y., DOLIN, R. - **Novel HIV vaccines strategies: overview and perspectives.** Therapeutic Advances in Vaccines. 1(3):99-112 (2013).
- (20) – GILBERT, P. - **Correlation between Immunologic Responses to a Recombinant Glycoprotein 120 Vaccine and Incidence of HIV-1 Infection in a Phase 3 HIV-1 Preventive Vaccine Trial.** Journal of Infectious Diseases. 191 (5): 666-677 (2005).
- (21) – CROOKS, E., MOOREB, P., FRANTI, M. - **A comparative immunogenicity study of HIV-1 virus-like particles bearing various forms of envelope proteins, particles bearing no envelope and soluble monomeric gp120.** Virology. Volume 366, Issue 2, 245-262 (2007).
- (22) – MELLO, S. - **A busca por uma vacina eficaz contra o HIV: utopia ou realidade próxima?** Tendências em HIV. AIDS Volume 9 - Número 1; 13-8 (2014).
- (23) – HARRER, T. - **Preventive HIV-1 Vaccine.** (2011) [Acedido a 24 maio de 2014]. Disponível na internet: <http://hivbook.com>
- (24) – McELRATH, M., DE ROSA, SC., MOODIE, Z. - **HIV-1 vaccine-induced immunity in the test-of-concept Step Study: a case-cohort analysis.** Lancet. 372 (9653):1894-1905 (2008).
- (25) – FITZGERALD, D., JANES, H., ROBERTSON, M., COOMBS, R., FRANK, I., GILBERT, P., LOUFTY, M., MEHROTRA, D., DUERR, A. - **An Ad5-Vectored HIV-1 Vaccine Elicits Cell-mediated Immunity but does not Affect Disease Progression in HIV-1-infected Male Subjects: Results From a Randomized Placebo-Controlled Trial (The Step Study).** Journal of Infectious Diseases. 203(6):765-72 (2011).
- (26) – BUCHBINDER, S., - **Efficacy assessment of a cell-mediated immunity HIV-1 vaccine (the Step Study): a double-blind, randomised, placebo-controlled, test-of-concept trial.** Lancet. 372(9653): 1881-1893 (2008).

- (27) - PITISUTTITHUM, P., RERKS-NGARM S., BUSSARATID, V. - **Safety and Reactogenicity of Canarypox ALVAC-HIV (vCPI521) and HIV-1 gp120 AIDSVAX B/E Vaccination in an Efficacy Trial in Thailand.** PLOS One. Vol. 6 Issue 12 (2011).
- (28) – ESPARZA, J. - **Lessons From Polio That Could Inform the Development of an HIV Vaccine.** Medscape. 27(1):1-5 (2013).
- (29) – MONTEFIORI, D. - **Magnitude and Breadth of the Neutralizing Antibody Response in the RV144 and Vax003 HIV-1 Vaccine Efficacy Trials.** Journal of Infectious Diseases. 206(3):431-41 (2012).
- (30) – HAYNES, B., GILBERT, P., McELRATH, M. - **Immune-Correlates Analysis of an HIV-1 Vaccine Efficacy Trial.** The New England Journal of Medicine. 366:1275-1286 (2012).
- (31) – NATIONAL INSTITUTE OF ALLERGY AND INFECTIOUS DISEASES (NIAID) - **NIH Discontinues Immunizations in HIV Vaccine Study.** [Acedido a 24 maio de 2014]. Disponível na internet: <http://www.niaid.nih.gov>
- (32) - NATIONAL INSTITUTE OF ALLERGY AND INFECTIOUS DISEASES (NIAID) - **HVTN 505 HIV Vaccine Study to Expand Scope.** [Acedido a 29 maio de 2014]. Disponível na internet: <http://www.niaid.nih.gov>
- (33) – EXCLER, JL., ROBB, L., KIM, J. - **HIV-1 vaccines Challenges and new perspectives.** Human Vaccines and Immunotherapeutics. 17; 10(6) (2014).
- (34) - HAMMER, S. - **Efficacy Trial of a DNA/rAd5 HIV-1 Preventive Vaccine.** New England Journal of Medicine. 369:2083-2092 (2013).
- (35) - COREY L., McELRATH, M. - **HIV vaccines: mosaic approach to virus diversity.** Nature Medicine. Volume 16, Number 3 (2010).
- (36) – SANTRA, S., LIAO, H., ZHANG, R., MULDOON, M., WATSON, S., FISCHER, W., THEILER, J., SZINGER, J., BALACHANDRAN, H., BUZBY, A., QUINN, D., PARKS, RJ., TSAO, CY., CARVILLE, A., MANSFIELD, KG., PAVLAKIS, GN., FELBER, BK., HAYNES, BF., KORBER, BT., LETVIN, NL. - **Mosaic Vaccines Elicit CD8+ T lymphocyte Responses in Monkeys that Confer Enhanced Immune Coverage of Diverse HIV Strains.** Nature Medicine. 16(3):324-328 (2010).
- (37) – LÉTOURNEAU, S., IM, E., MASHISHI, T. - **Design and Pre-Clinical Evaluation of a Universal HIV-1 Vaccine.** PLOS One (2007).

- (38) McENERY, R. - **AIDS Vaccine 2012: Brave New World**. VAX The Bulletin on AIDS Vaccine Research. Volume 10; Number 04 (2012) [Acedido a 6 junho de 2014]. Disponível na internet: <http://www.vaxreport.org/>
- (39) – HAYNES, B., KELSOE, G., HARRISON, SC., KEPLER, TB. - **B-cell-lineage immunogen design in vaccine development with HIV-1 as a case study**. Nat Biotechnol. 30(5): 423–433 (2007).
- (40) – MOODY, MA. - **Modulation of HIV-1 immunity by adjuvants**. Current Opinion on HIV and AIDS. 9(3):242-9 (2014).
- (41) – BERZI, A., VARGA, N., SATTIN, S., ANTONAZZO, P., BIASIN, M., CETIN, I., TRABATTONI, D., BERNARDI, A., CLERICI, M. - **Pseudo-Mannosylated DC-SIGN Ligands as Potential Adjuvants for HIV Vaccines**. Viruses. 27; 6(2):391-403 (2014).
- (42) – BALAZS, A., WEST, A. - **Antibody gene transfer for HIV immunoprophylaxis**. Nature Immunology. 14; 1–5 (2013).
- (43) - NATIONAL INSTITUTE OF ALLERGY AND INFECTIOUS DISEASES (NIAID) - **NIH-Funded Researchers Use Antibody Treatment to Protect Humanized Mice from HIV**. [Acedido a 9 de junho de 2014]. Disponível na internet: <http://www.niaid.nih.gov>
- (44) – JEFFERYS, R. - **First Human Trial of AAV as a Delivery Vehicle for HIV Neutralizing Antibodies Gets Underway**. Nature Medicine. [Acedido a 12 de junho de 2014]. Disponível na internet: <http://tagbasicsscienceproject.typepad.com/>
- (45) JABBARI, A., HARTY, J. - **The generation and modulation of antigen-specific memory CD8 T cell responses**. Journal of Leukocyte Biology. Volume 80. Number 1 16-23 (2006).
- (46) WOODLAND, D. - **Jump-starting the immune system: prime – boosting comes of age**. TRENDS in Immunology. Volume 25. Number 2 (2004).

FIGURAS:

Figura 1 – SANDHU, S. - **Human Immunodeficiency Virus (HIV): A Global Pandemic**.

[Acedido a 25 de junho de 2014]. Disponível na internet: <http://www.yourshealthy.com>

Figura 2 – SCHIFFNER, T., SATTENTAU, Q., DORRELL, L. - **Development of prophylactic vaccines against HIV-1**. Retrovirology. 10:72 (2013).

Figura 3 – BALAZS, A., WEST, A. - **Antibody gene transfer for HIV immunoprophylaxis**. Nature Immunology. 14; 1–5 (2013).

ANEXOS

GERAÇÃO DE RESPOSTAS DE CÉLULAS T CD8 + ATRAVÉS DE UMA VACINA

Para que uma vacina induza uma resposta de linfócitos T citotóxicos, tem que ativar a via de processamento de antígenos e formação de complexos com moléculas de classe I, numa célula apresentadora de antígenos (APC), que resulta na estimulação de células T CD8+. Por razões que não são bem compreendidas, existe uma hierarquia de imunodominância de tal modo que alguns péptidos são mais eficazes a estimular uma resposta de células T CD8 + do que outros. As vacinas que entregam a proteína no citosol estimulam fortes respostas de células T CD8 + (45).

***PRIME-BOOST* HETERÓLOGO**

A duração da proteção conferida por uma vacina tem sido associada com a permanência do antígeno no organismo. Desta forma, nalguns esquemas de vacinação faz-se a administração necessária de doses de reforço para manter a imunidade estimulada pela dose inicial. Recentemente, o princípio de *prime-boost* tem sido bastante explorado. Neste caso, o antígeno é apresentado de forma diferente ao sistema imunitário durante a dose inicial e a de reforço. Nesse tipo de estratégia é fundamental que a formulação utilizada na dose inicial induza a resposta com o padrão requerido para conferir proteção ao indivíduo, enquanto a dose de reforço tem como função apenas a expansão e manutenção da resposta inicialmente estimulada. A estratégia de vacinação *prime-boost* envolve o uso de duas vacinas diferentes, administradas em intervalos de algumas semanas (46).