

VIH, Malaria y Tuberculosis

JAN WILHELM

VIH, Malaria y Tuberculosis

Jan Wilhelm, MD

Profesor de Pediatría, Clínica Alemana — Facultad de Medicina de la Universidad del Desarrollo, Santiago de Chile. Member, Grupo Técnico Asesor sobre Inmunización Chileno, Comité Asesor sobre Prácticas de Inmunización de la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de Chile e Instituto Chileno de Salud Pública, Comité de Farmacovigilancia de las Vacunas

Introducción

El síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida), la tuberculosis y la malaria, colectivamente, causan más de 5 millones de muertes por año. Sin embargo, debido a su inestabilidad genética, gran variabilidad o capacidad de esconderse al interior de las células huésped, han logrado eludir el desarrollo convencional de vacunas efectivas. Por este motivo, representan uno de los mayores retos en salud pública a nivel mundial para la segunda década del siglo XXI. Ensayos recientes han proporcionado datos que demuestran que es posible formular vacunas que pueden prevenir la infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y la malaria.

Además, avances en vacunas, incluyendo nuevos adyuvantes, nuevos regímenes de administración y estrategias para la presentación de antígenos a nivel intracelular han llevado a avances en la formulación de una vacuna mejor contra la tuberculosis. Anhelamos que las nuevas herramientas, como la llamada biología de sistemas y el diseño de vacunas basado en la estructura de los antígenos conduzcan a una comprensión más profunda de los mecanismos de protección que, a su vez, lleven al desarrollo de vacunas para estas patologías.

Generalidades sobre VIH, tuberculosis y malaria

¿Qué tienen en común estos tres microorganismos? Los tres son un desafío para la humanidad. El VIH/sida ha causado más de 25 millones de muertes hasta la fecha; 33 millones de personas viven actualmente con VIH y cada año se suman 2,6 millones de casos nuevos, lo que provoca 1,8 millones de muertes por año^{1,2}. En el caso de la malaria, se producen 225 millones de casos nuevos y un millón de muertes por año³. Finalmente, la tuberculosis afecta a un tercio de la población mundial, genera 9,6 millones de casos nuevos y 1,7 millones de muertes por año, y su tratamiento se ha visto complicado por la emergencia de la tuberculosis multirresistente⁴. Las razones radican en la gran heterogeneidad genética y la capacidad de estos tres patógenos de refugiarse a nivel intracelular.

Vacunología estructural y biología de sistemas

Sin embargo, nuevos avances tecnológicos aportan esperanza. Se están probando nuevos esquemas de inmunización, nuevos adyuvantes y nuevos métodos de presentación de antígenos. Por otra parte, nuevas formas de enfrentar estas enfermedades han llevado a la identificación de marcadores de protección adecuados e innovación

clínica y regulatoria. La vacunología estructural consiste en el diseño de nuevos antígenos sobre la base de la estructura de proteínas de superficie ya conocidas, pero exponiendo epítopes conservados o creando moléculas con múltiples epítopes inmunodominantes, lo que lleva a la inducción de una mejor respuesta inmune protectora⁵. La biología de sistemas es una estrategia para enfrentar problemas biológicos recogiendo e integrando datos a diferentes niveles, lo que permite visualizar propiedades no demostrables o predecibles de otra forma, como es por ejemplo la respuesta a una nueva vacuna, respuesta que depende de factores genéticos, moleculares, ambientales y de la interacción de todos ellos⁶. En base a análisis computacional es posible crear modelos que permiten predecir si una vacuna nueva generará una respuesta protectora adecuada o no^{7,8}.

Estado actual de las vacunas contra el VIH, la tuberculosis y la malaria

VIH

¿Por qué no contamos aún con una vacuna contra el VIH? No ha sido por falta de esfuerzo, sino más bien por la capacidad del VIH de escapar: integración inmediata y definitiva al genoma de las células hospederas, variabilidad en los epítopes a los que se unen anticuerpos y células T, y anticuerpos neutralizantes débiles, lo que queda ilustrado en la ausencia de una cura o recuperación espontánea de la infección por VIH.

La secuencia genómica del virus es muy variable. La población mundial de los virus VIH se divide en cuatro grupos principales (A, B, C y E) que están sobre todo presentes en África, América del Norte y Europa, Asia y África, respectivamente. Dentro de cada grupo la variabilidad de las secuencias es todavía enorme y el virus continúa evolucionando y mutando en cada paciente infectado. Los anticuerpos neutralizantes contra el virus y las células T inducidas por la infección natural o la vacunación convencional provocan una respuesta inmune estrecha, que no es capaz de proporcionar protección contra todas las variantes del virus.

Tampoco existen marcadores adecuados de inmunidad protectora contra el VIH. En relación con los anticuerpos, no existe una relación significativa entre anticuerpos neutralizantes y control viral, aunque se ha observado cierta respuesta después de la transferencia pasiva de anticuerpos neutralizantes monoclonales tanto contra el virus de inmunodeficiencia simiano (VIS) como el VIH. En cuanto a los linfocitos CD8 T específicos contra el VIH se ha visto que al eliminar las células CD8 en monos macacos se pierde el control del sistema inmune sobre SIV, que la magnitud de la respuesta es inversamente proporcional a la carga viral (CV) tanto en pacientes agudos como crónicos y en controladores (*Elite Controllers*). Importa también la calidad de la respuesta linfocitaria, que se expresa en su multifuncionalidad, diferenciación y avidéz. También los linfocitos CD4 T-1 auxiliares específicos contra VIH muestran esta relación inversa con la carga viral, tanto en el caso de la infección aguda como en la infección latente.

Científicos de todo el mundo han estado intentando desarrollar una vacuna efectiva contra HIV por más de dos décadas. En los años noventa se llevaron a cabo estudios clínicos fase I y II con vacunas de subunidades de la envoltura del VIH. Sin embargo, los anticuerpos neutralizantes (Nabs) *in vitro* solo neutralizaban las cepas vacunales, lo cual en el caso del VIH es inaceptable debido a la alta frecuencia con que el virus muta sus antígenos de superficie^{9,10}. Posteriormente se probaron vacunas recombinantes de mezclas de subunidades, pero con resultados negativos, los que se atribuyeron a la diversidad antigénica e inhabilidad de los Nabs para

neutralizar cepas salvajes^{11,12}. Estudios orientados a activar la inmunidad mediada por células T contra el VIH, como el Estudio Step o el Estudio RV144 obtuvieron 30% o menos de prevención^{13,14}.

A estas alturas queda claro que ni la protección humoral ni la protección celular por sí solas serán suficientes para desarrollar una vacuna protectora. Lamentablemente, estrategias combinadas solo lograron protección marginal. Apelando a la biología de sistemas se han buscado marcadores de inmunogenicidad (CD4 específicos, CD8 específicos, carga viral), lo que ha permitido generar moléculas gp120 y gp 41 más estables, con epítopes conservados, lo que a su vez se ha traducido en Nabs de amplio espectro, la única estrategia que ha demostrado prevenir la infección por VIH¹⁵.

La identificación de epítopes neutralizantes inmunodominantes de diferentes variantes de VIH muy probablemente será la base para el desarrollo de proteínas de membrana nuevas que generen protección más amplia. Otras estrategias complementarias incluyen anticuerpos no neutralizantes contra antígenos conservados para aportar inmunidad más amplia (gracias a antígenos en mosaico o antígenos quiméricos conservados), vacunas basadas en células T para lograr el control del virus que muten por la presión selectiva de los anticuerpos neutralizantes y nuevos vectores.

Si bien los avances de los últimos años han sido muy importantes y esperanzadores, todas las predicciones sobre cuándo se tendrá una vacuna eficaz contra el VIH han resultado falsas, por lo que no podemos arriesgarnos a decir cuánto tiempo falta para que esto ocurra.

Tuberculosis

La tuberculosis (TB) es causada por *Mycobacterium tuberculosis*, una bacteria que infecta los pulmones, donde penetra y crece dentro de los macrófagos. Las células inmunes rodean los macrófagos infectados y forman granulomas donde la bacteria puede permanecer latente durante mucho tiempo. La reactivación y posterior enfermedad pueden ocurrir cuando el sistema inmunológico se debilita, como ocurre con la infección por VIH.

Cada año 9,6 millones de personas padecerán tuberculosis y 1,5 millones morirán a raíz de esta enfermedad. Sin embargo, la incidencia de la tuberculosis ha ido disminuyendo en un 1,5% cada año desde el año 2000 y la mortalidad ha disminuido en 47% desde 1990. El gran problema es la emergencia de tuberculosis resistente a múltiples drogas (MDRTB). Todos los años se presenta un 3,3% de casos nuevos, 20% recaen y casi 10% de la MDRTB es extremadamente resistente o francamente intratable. La MDRT es un desafío para la formulación de nuevas vacunas con la tuberculosis.

Las dificultades para la elaboración de una vacuna ideal que presenta el *M. tuberculosis* son múltiples. Para comenzar, los antígenos son complejos: diferentes proteínas en la pared celular y en el interior, algunas secretadas en diferentes estadios de la infección; glicoproteínas; azúcares; microlípidos y lípidos (los lípidos no se presentan en la forma que clásicamente lo hacen los antígenos proteicos y no existen vacunas lipídicas [Koch removió los lípidos del derivado proteico purificado [PPD]). Por otra parte, *M. tuberculosis* presenta un ciclo vital complejo: crecimiento logarítmico, múltiples antígenos inmunodominantes secretados en cada etapa, capacidad para permanecer en latencia "inmunesilente" (genes de latencia, antígenos de latencia) y luego reactivarse como enfermedad activa.

¿Necesitamos cuatro vacunas diferentes contra la tuberculosis? La pregunta es válida dado que existe la enfermedad primaria en pacientes no inmunes, enfermedad posprimaria en pacientes inmunes/sensibilizados, enfermedad latente y la necesidad de optimizar el tratamiento de la enfermedad. Por lo tanto las estrategias de

inmunización que se han propuesto para el control de la enfermedad son la prevención de la infección (*prime*), la prevención de la enfermedad (*booster*) y la prevención de las recurrencias (terapéutica). La vacuna contra la tuberculosis sobre la base de una cepa de *Mycobacterium bovis* atenuada, o Bacilo de Calmette-Guerin (BCG), lleva casi 100 años en uso, pero su eficacia es controvertida^{16,17}.

La vacuna BCG puede prevenir la diseminación de la enfermedad y la muerte en niños, no así la infección crónica o la tuberculosis pulmonar en adultos. Sin embargo, la eficacia varía según los estudios entre 0% de protección contra cualquier enfermedad (estudio en Madrás / Chennai, India)¹⁸ y un 80% de efectividad contra tuberculosis miliar y tuberculosis meníngea en niños (estudio en el Reino Unido)¹⁹ pasando por un 50% de protección contra la tuberculosis pulmonar (estudio en los EE. UU.)²⁰⁻²³. Por otro lado, actualmente existen múltiples cepas de BCG. Las técnicas de manufactura de la BCG no se encuentran entre las prácticas de producción actuales y no sabemos si la vacuna BCG genera una respuesta inmune primaria adecuada contra *M. tuberculosis*²⁴.

Actualmente, 16 vacunas nuevas se encuentran en etapa de ensayos clínicos (prueba de concepto o fase IIb): sobre la base de antígenos recombinantes, de ADN o vectores virales y vacunas de subunidades como refuerzo BCG (para prevenir infección crónica o evitar reactivación)²⁵⁻²⁷. Sin embargo, la vacuna más avanzada es la que comprende la reingeniería de la misma vacuna BCG²⁸.

Desafíos para futuros estudios de vacunas antituberculosas incluyen la diversidad geográfica en cuanto a riesgo de infección y enfermedad por tuberculosis, la definición del objetivo clínico (infección, enfermedad, latencia o cura, duración, nivel de eficacia aceptable, integración o remplazo de vacuna BCG, priorización de potenciales vacunas e impacto de epidemiología del VIH).

Malaria

La malaria es causada por el parásito *Plasmodium* que infecta a los humanos a través de una picadura de mosquito. El mosquito inyecta el parásito en la forma de un esporozoito que rápidamente migra al hígado. Al cabo de seis o siete días es liberado en una forma diferente, llamada amerozoito, que infecta los glóbulos rojos y se multiplica en su interior. Finalmente, se genera una nueva forma del parásito (gametocito) en el hospedero humano y se transmite otra vez por los mosquitos a través de las picaduras. *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium vivax* son los principales patógenos humanos. Las diferentes etapas del parásito tienen diferentes composiciones antigénicas y la variabilidad de los antígenos en cada etapa ha sido uno de los principales obstáculos al desarrollo de una vacuna.

La inmunidad natural contra la malaria es específica para cada estadio de la enfermedad, pero la inmunidad adquirida en forma natural es lenta en desarrollarse, incompleta y de duración limitada. A pesar de avances recientes en la reducción de la mortalidad por malaria gracias a otras intervenciones (48% de reducción desde el año 2000), cada minuto muere un niño en África a causa de la malaria. Además, el éxito es menoscabado por la fragilidad financiera de los países afectados y la resistencia a la artemisina y los insecticidas. Por lo tanto, se necesitan en forma urgente vacunas tanto para reducir la incidencia de esta enfermedad y las muertes que causa como para bloquear la transmisión del parásito mediante inmunidad de rebaño y permitir así la eliminación y erradicación de la enfermedad.

La vacuna más avanzada en los ensayos clínicos (RTS, S) completó una evaluación de fase 3 en niños africanos en 13 centros de 8 países. A los 12 meses de seguimiento, RTS, S demostró una protección de aproximadamente 50% contra enfermedad clínica por *Plasmodium falciparum* en niños entre 5 y 17 meses y una protección de aproximadamente el 30% en niños de entre 6 y 12 semanas de vida, al ser administrada en

conjunto con vacunas del Programa de Inmunizaciones²⁹. A pesar de una caída de la eficacia en el tiempo, (En participantes de 5 a 17 meses, la vida media del componente de vida corta de la respuesta de anticuerpos fue de 45 días (95% intervalo creíble 42–48) y la del componente de larga vida fue 591 días (557–632)), existe un claro beneficio de la vacuna.

Se estima un promedio de 1.363 casos de malaria clínica prevenidos a los cuatro años de seguimiento por cada 1.000 niños vacunados y 1.774 casos prevenidos en aquellos que recibieron un refuerzo.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) supervisó un proceso para entender las diferencias en los modelos epidemiológicos de cuatro grupos diferentes (*Imperial College, Swiss TPH, Intellectual Ventures, GSK*), para llegar a un consenso de impacto y costo-efectividad. Todos los modelos predicen una reducción del 10% al 28% en la mortalidad por malaria en niños <5 años con esquema completo. En áreas con transmisión moderada a alta esto se traduce en la prevención de 116,500 casos de malaria clínica y 484 muertes por cada 100.000 niños vacunados.

A un precio hipotético de US\$ 5 por dosis, la tasa media de costo efectividad incremental de la vacuna es de US\$ 87 (\$48–\$244) por AVAD prevenido y de US\$ 25 (\$16–\$222) por caso clínico prevenido, lo que resulta favorable cuando se compara con la efectividad en función de los costos global estimada para otras vacunas. Según un estudio de efectividad en función de los costos comparada realizado por el *Imperial College* de Londres, las mallas insecticidas de larga duración conforman la intervención inicial más efectiva en función de los costos en todos los escenarios, seguidas por la quimioprofilaxis estacional contra malaria en las áreas en que se recomienda, y luego, en tercer lugar, RTS,S/en lugares con prevalencia parasitaria > 10%.

La OMS recomendó implementar RTS,S/AS01 en forma de estudios pilotos en tres a cinco sitios con carga alta de enfermedad en África. Estos estudios deben evaluar la factibilidad operacional para brindar la vacuna a la población beneficiaria con el esquema recomendado de cuatro dosis en el contexto de los servicios de salud locales, el impacto de la vacuna sobre la mortalidad infantil por todas las causas al implementarla en forma concomitante con otras intervenciones recomendadas contra la malaria, y la vigilancia de eventos adversos tras la vacunación, con énfasis en meningitis y malaria cerebral, antes de considerar un aumento de la cobertura.

Si la carga de enfermedad por *P. falciparum* cae, aumentará la prioridad para formular una vacuna contra *P. vivax*. Sin embargo, ya se está trabajando en mejorar modelos humanos de inmunización (problemas con recaídas y falta de cultivos para *Plasmodium vivax*). El primer ensayo de *P. vivax* ocupó una proteína recombinante de *P. vivax* CS en AS01, pero la evaluación clínica puede ser difícil, por potenciales interacciones con *P. falciparum* y para distinguir nuevas infecciones de reactivación de hipnozoitos.

Es prioritario el desarrollo de vacunas más eficaces para prevenir la enfermedad clínica causada tanto por *P. falciparum* como por *P. vivax*, así como vacunas que ayuden a la eliminación del parásito mediante el bloqueo de su transmisión. Barreras al desarrollo de estas vacunas han sido la escasez de antígenos inmunogénicos claramente identificados para todas las etapas del ciclo de vida del parásito, la falta de marcadores de protección bien definidos, un número limitado de sistemas de administración seguros y efectivos (adyuvantes que induzcan una respuesta inmune potente y duradera, ya sea humoral o celular) y, en el caso de vacunas diseñadas para lograr protección de rebaño dirigidas a los estados sexuales del parásito o a antígenos del mosquito, la ausencia de una hoja de ruta clínica y regulatoria preestablecida para lograr una vacuna autorizada por las autoridades regulatorias.

Conclusiones

Históricamente, las vacunas exitosas que se han elaborado son las que actúan contra agentes patógenos que pueden ser tratados por anticuerpos y tienen un repertorio antigénico estable. El VIH, la malaria y la tuberculosis presentan gran variabilidad antigénica y se requiere de la inmunidad de células T para lograr la protección contra estas enfermedades. La formulación de vacunas contra estos patógenos requiere de nuevos enfoques, como son la vacunología estructural y la biología de sistemas.

Por otra parte, estamos entrando en una era donde el uso extendido de una vacuna requiere más que solo datos de inocuidad y eficacia. Las recomendaciones para el uso de nuevas vacunas pasarán por estudios de implementación que analicen las formas más efectivas de un uso extendido. De lo contrario, las vacunas que corren el riesgo más alto de no ver la luz son aquellas desarrolladas principalmente para las personas más pobres del mundo.

Referencias

1. Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH /sida. Informe de UNOSIDA sobre la epidemia mundial de sida. <http://www.unaids.org/globalreportæ> (2010).
2. McElrath, M. J. & Haynes, B. F. Induction of immunity to human immunodeficiency virus type-1 by vaccination. *Immunity* 33, 542–554 (2010).
3. Organización Mundial de la Salud. Informe mundial sobre malaria 2010. http://www.who.int/malaria/world_malaria_report_2010/en/æ (2010).
4. Organización Mundial de la Salud. Global Tuberculosis Control 2010. http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/æ (2010).
5. Dormitzer, P. R., Ulmer, J. B. & Rappuoli, R. Structure-based antigen design: a strategy for next generation vaccines. *Trends Biotechnol.* 26, 659–667 (2008).
6. Zak, D. E. & Aderem, A. Systems biology of innate immunity. *Immunol. Rev.* 227,264–282 (2009).
7. Gaucher, D. et al. Yellow fever vaccine induces integrated multilineage and polyfunctional immune responses. *J. Exp. Med.* 205, 3119–3131 (2008).
8. Querec, T. D. y colegas. Systems biology approach predicts immunogenicity of the yellow fever vaccine in humans. *Nature Immunol.* 10, 116–125 (2009).
9. Johnston, M. I. y Fauci, A. S. An HIV vaccine—evolving concepts. *N. Engl. J. Med.* 356, 2073–2081 (2007).
10. Mascola, J. R. y Montefiori, D. C. The role of antibodies in HIV vaccines. *Annu. Rev. Immunol.* 28, 413–444 (2010).
11. The rgp120 HIV Vaccine Study Group. Placebo-controlled phase 3 trial of a recombinant glycoprotein 120 vaccine to prevent HIV-1 infection. *J. Infect. Dis.* 191, 654–665 (2005).
12. Pitisuttithum, P. y colegas. Randomized, double-blind, placebo-controlled efficacy trial of a bivalent recombinant glycoprotein 120 HIV-1 vaccine among injection drug users in Bangkok, Thailand. *J. Infect. Dis.* 194, 1661–1671 (2006).
13. Burton, D. R. y colegas. Public health. A sound rationale needed for phase III HIV-1vaccine trials. *Science* 303, 316 (2004).
14. Rerks-Ngarm, S. y colegas. Vaccination with ALVAC and AIDSVAX to prevent HIV-1infection in Thailand. *N. Engl. J. Med.* 361, 2209–2220 (2009).
15. Wu, X. y colegas. Rational design of envelope identifies broadly neutralizing human monoclonal antibodies to HIV-1. *Science* 329, 856–861 (2010).

16. Calmette, A. y colegas. La Vaccination Preventive contre la Tuberculose par le "BCG" (Masson, 1927).
17. Behr, M. A. y colegas. Comparative genomics of BCG vaccines by whole-genome DNA microarray. *Science* 284, 1520–1523 (1999).
18. Tuberculosis Prevention Trial. Trial of BCG vaccines in south India for tuberculosis prevention. *Indian J Med Res.* 1980; 72(Suppl):1–74
19. Hart PD, Sutherland I. BCG and vole bacillus vaccines in the prevention of tuberculosis in adolescence and early adult life. *Br Med J.* 1977; 2:293–5.
20. Comstock GW, Edwards PQ. An American view of BCG vaccination, illustrated by results of a controlled trial in Puerto Rico. *Scand J Resp Dis.* 1972; 53:207–17.
21. Comstock GW, Woolpert SF, Livesay VT. Tuberculosis studies in Muscogee County, Georgia. *Public Health Rep.* 1976; 91:276–80.
22. Rosenthal SR, Loewinsohn E, Graham ML, Liveright D, Thorne G, Johnson V. BCG vaccination against tuberculosis in Chicago. A twenty-year study statistically analyzed. *Pediatrics* 1961; 28: 622–41.
23. Aronson JD. Protective vaccination against tuberculosis with special reference to BCG vaccination. *Am Rev Tuberc.* 1948; 58:255–81.
24. Fine PE. Variation in protection by BCG: implications of and for heterologous immunity. *Lancet* 1995; 346:1339–45. doi: 10.1016/S0140-6736(95)92348–9.
25. Skeiky, Y. A. W. & Sadoff, J. C. Advances in tuberculosis vaccine strategies. *Nature Rev. Microbiol.* 4, 469–476 (2006).
26. Kaufmann, S. H., Hussey, G. & Lambert, P. H. New vaccines for tuberculosis. *Lancet* 375, 2110–2119 (2010).
27. Bertholet, S. et al. A defined tuberculosis vaccine candidate boosts BCG and protects against multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Sci. Transl. Med.* 2, 53ra74 (2010).
28. Horwitz, M. A., Andersen, P. A. & Kaufmann, S. H. E. *New Generation Vaccines 4th ed* (Informa Healthcare, 2010).
29. Olotu, A. et al. Efficacy of RTS, S/AS01E malaria vaccine and exploratory analysis on anti-circumsporozoite antibody titres and protection in children aged 5–17 months in Kenya and Tanzania: a randomized controlled trial. *Lancet Infect. Dis.* 11, 102–109 (2011).