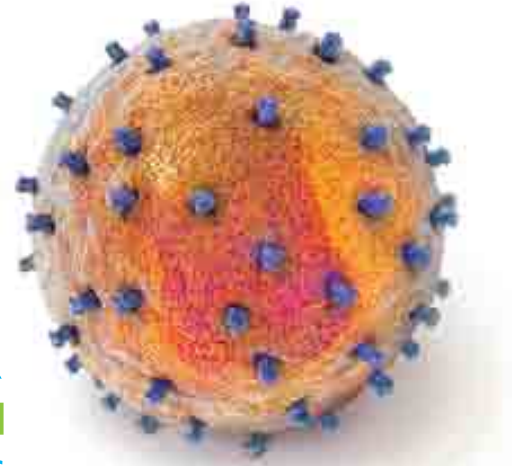


# vax



Boletim Sobre a Pesquisa de Vacinas Contra a Aids

[EM FOCO]

## De olho no intestino

Uma conferência realizada recentemente na Índia destacou como a subnutrição e a saúde intestinal afetam o sistema imune e sua resposta à vacinação.

Boa nutrição e um ambiente intestinal saudável são importantes para um sistema imune saudável e também afetam a resposta do sistema imune à vacinação. Isso é especialmente importante para as respostas às vacinas entre as crianças nos países em desenvolvimento.

Dados revelam que os índices de resposta a vacinas orais contra o rotavírus — a principal causa de diarreia grave em bebês e crianças e um flagelo letal nos países pobres — são menores entre as crianças de países em desenvolvimento, embora os índices de resposta a vacinas administradas sistematicamente por injeção — como a vacina contra o sarampo — sejam muito menos afetados negativamente.

Os pesquisadores presentes no Simpósio Keystone sobre Subnutrição, Interações Intestinal-Micróbios e Imunidade nas Mucosas a Vacinas ressaltaram que não se sabe exatamente os motivos pelos quais as crianças em países pobres parecem ter índices de resposta inferiores às vacinas orais. O simpósio foi realizado de 7 a 11 de novembro em Nova Déli, na Índia, um país onde 42% das crianças com menos de cinco anos de idade sofre de desnutrição, segundo um relatório de 2012 da Fundação Naandi, um grupo filantrópico independente. Além da má nutrição, muitas crianças nos países em desenvolvimento têm um ambiente intestinal insalubre, o que também contribui para a fraca resposta que apresentam às vacinas orais. Segundo Gagandeep Kang, professora e chefe do Wellcome Trust Research Laboratory no Christian Medical College em

Vellore, na Índia, e uma das organizadoras da conferência, a desnutrição e a disfunção do sistema digestivo provavelmente também exercem influências negativas entre si, com resultados infelizes. A desnutrição parece fazer com que o intestino deixe de servir como barreira a patógenos, e infecções com esses patógenos danificam ainda mais o intestino e afetam a absorção de nutrientes. Isso, por sua vez, piora a desnutrição, afirma ela.

No entanto, segundo Chris Wilson, diretor de descoberta da Fundação Bill e Melinda Gates, uma das patrocinadoras do simpósio, é difícil entender precisamente por que as vacinas não funcionam neste ambiente. O simpósio Keystone se concentrou no papel desempenhado pela nutrição na imunidade intestinal, porque entender melhor este papel pode levar ao desenvolvimento de vacinas que funcionem melhor em crianças nos países em desenvolvimento.

Infelizmente, é difícil pesquisar o intestino em busca de pistas, porque este processo geralmente requer a realização de biópsias de tecidos, um procedimento invasivo que, por motivos óbvios, não é aconselhável nem realizado em crianças. Em seu lugar, Kang disse que os pesquisadores recorreram a métodos indiretos, como medir os níveis de soro ou fecais do anticorpo imunoglobulina (Ig) A, produzido nas superfícies mucosas, como as que revestem o intestino e outros lugares. No entanto, não é uma situação ideal usar apenas marcadores como esse anticorpo, o que levou

a Fundação Gates a anunciar na reunião a concessão de US\$ 9 milhões em bolsas de apoio à pesquisa para descobrir melhores marcadores não invasivos para avaliar a função e a saúde intestinal.

Apesar dos desafios em determinar a saúde intestinal, os pesquisadores estão começando a entender os motivos de as crianças desnutridas apresentarem uma resposta mais baixa à vacinação. William Petri, professor de medicina da Universidade da Virgínia, e colegas, examinaram um grupo de crianças de três anos de idade em Dhaka, Bangladesh, e descobriram que as crianças com crescimento atrofiado eram menos propensas a responder à vacina oral contra a poliomielite (VOP), o que sugere a possibilidade da desnutrição desempenhar um papel nesse processo.

Evan Newell, pesquisador adjunto no

### TAMBÉM NESTA EDIÇÃO

#### NOTÍCIAS MUNDIAIS

- ▶ Dois novos ensaios de vacinas contra o HIV lançados nas últimas semanas

#### BÁSICAS

- ▶ Entendendo como são fabricadas as vacinas candidatas contra a AIDS baseadas em vetores virais



Entender melhor como a nutrição e a saúde intestinal afetam as respostas imunes no intestino é um caminho potencial rumo a vacinas mais eficazes para as crianças nos países em desenvolvimento, como as de uma aldeia na Índia, mostradas acima. Foto de Andreas von Bubnoff.

laboratório de Mark Davis na Universidade Stanford, e colegas, também encontraram evidências de inflamação crônica em um subgrupo de crianças no estudo de Petri que não responderam à VOP. A inflamação crônica pode inibir a resposta à vacinação porque pode, em última análise, forçar o sistema imune de tal modo que fique tão exaurido a ponto de tornar-se insensível à vacina. Newell e colegas encontraram evidências de que os sistemas imunes dessas crianças estão ficando dessensibilizados à vacina.

### Melhoria do ambiente intestinal

Considerando que o ambiente intestinal desempenha um papel importante na resposta à vacinação, os pesquisadores estão tentando entender como melhorar os ambientes intestinais destas crianças. Uma maneira de fazer isso é oferecer bactérias probióticas ou

“benéficas”, como as encontradas no iogurte, que se acredita que melhorem a saúde do intestino. Até recentemente não existiam evidências sólidas de que as bactérias probióticas melhoram a saúde intestinal, mas isso está mudando, diz Kim Barrett, professora de medicina da Universidade da Califórnia em San Diego. “Historicamente, tem havido muita crença e poucas evidências científicas”, disse Barrett. “Existe grande abundância de dados sobre estudos dos efeitos benéficos dessas cepas probióticas no intestino.”

Shinji Fukuda, pesquisador do Instituto RIKEN em Yokohama, no Japão, informou na conferência que um certo tipo de bactéria probiótica chamada *bifidobactéria*, encontrada no iogurte, pode proteger camundongos contra a morte por infecção com um certo sorotipo da bactéria *E. coli*. Fukuda e colegas descobriram que a bactéria probiótica possui

um gene que permite a importação de um determinado tipo de açúcar. Isto eventualmente resulta na ativação de uma resposta anti-inflamatória nas células do cólon.

Em outro estudo, Barrett alimentou diariamente, por duas semanas, camundongos que apresentavam cólons inflamados e diarreia, com duas outras cepas de bactérias probióticas (*Lactobacillus acidophilus* e *Streptococcus thermophilus*). Descobriram que esses tipos de cepas de bactérias probióticas encontradas no iogurte conseguem diminuir a diarreia e a perda de peso nos camundongos. Na sequência do estudo, Barrett quer entender melhor se estas bactérias probióticas também conseguem aliviar os sintomas em camundongos infectados pela bactéria *Salmonella*, presente nos alimentos. Se conseguirem, os probióticos poderão ser um possível tratamento para a diarreia causada pela infecção por *Salmonella* em humanos.

### Direcionamento das respostas imunes para o intestino

Além de descobrir maneiras para melhorar o ambiente intestinal, os pesquisadores também estão em busca de maneiras diferentes para a administração por via oral de vacinas concebidas para combater doenças intestinais, como o rotavírus. As imunizações intramusculares ou subcutâneas convencionais geralmente somente induzem respostas imunes fracas no intestino e, portanto, apenas oferecem uma proteção tênue contras as infecções que ocorrem na região. No entanto, os pesquisadores estão começando a modificar as vacinas injetadas para que possam induzir respostas imunes no intestino. Algumas abordagens envolvem o uso de vitamina A ou seu derivativo, o ácido retinóico, para direcionar as respostas imunes para os intestinos dos camundongos. ■

*Este artigo “Em foco” foi adaptado por Regina McEnery de um artigo redigido por Andreas von Bubnoff, redator sênior de ciência, publicado na edição de novembro/dezembro do IAVI Report.*

#### GERENTE EDITORIAL

Kristen Jill Kresge

#### REDATOR DE CIÊNCIA SÊNIOR

Andreas von Bubnoff, PhD

#### REDATORA DE CIÊNCIA

Regina McEnery

#### GERENTE DE PRODUÇÃO E WEBSITE

Nicole Sender

#### COLABORAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO NO BRASIL

Grupo de Incentivo à Vida

#### ASSINATURAS GRATUITAS:

Para obter uma assinatura GRÁTIS do VAX por e-mail, para alterar as informações de sua assinatura ou receber cópias impressas do VAX para distribuir e/ou usar em seus programas, visite o site [www.iavireport.org](http://www.iavireport.org) e clique no link *Subscribe* (Assinar).

O VAX é um boletim mensal do *IAVI Report*, um periódico sobre a pesquisa de vacinas contra a AIDS publicado pela Iniciativa Internacional de Vacinas contra a AIDS (IAVI). O boletim está atualmente disponível nos idiomas inglês, espanhol e português na forma de um arquivo PDF, que pode ser baixado pela Internet ou recebido por meio de um boletim eletrônico.

A Iniciativa Internacional de Vacinas contra a AIDS (IAVI) é uma organização mundial sem fins lucrativos cuja missão é assegurar o desenvolvimento de vacinas preventivas para o HIV seguras, eficazes e acessíveis para uso em todo o mundo. Fundada em 1996, a IAVI trabalha com parceiros em 25 países para pesquisar, conceber e desenvolver vacinas candidatas contra a AIDS. Além disso, a IAVI faz análises de políticas e atua em prol do campo de pesquisa de vacinas contra a AIDS. Para obter mais informações, acesse [www.iavi.org](http://www.iavi.org).

Copyright 2012.

vax

iavi



## Dois novos ensaios de vacinas contra o HIV lançados nas últimas semanas

Foram lançados recentemente dois ensaios de Fase I de vacinas contra a AIDS para testar duas diferentes vacinas candidatas contra a AIDS baseadas em DNA. Em um estudo, que começou em dezembro, investigadores do Reino Unido começaram a recrutar 36 mulheres, com idades entre 18 e 45 anos, com baixo risco de infecção pelo HIV, em um estudo controlado randomizado que compara a segurança e a imunogenicidade de uma vacina candidata baseada em DNA. A vacina contém fragmentos da proteína “espinhosa” da superfície externa do HIV que foram isolados de um vírus de subtipo C, a cepa mais dominante em circulação na África subsaariana e responsável por infectar metade dos 34 milhões de pessoas do mundo que vivem com o HIV.

O estudo, conhecido como MUCOVAC2, examinará três rotas diferentes de vacinação. O primeiro grupo de vinte mulheres receberá uma dose alta ou baixa da vacina candidata por injeção via intramuscular, aplicada junto com o adjuvante lipídico glucopiranosil (GLA), desenvolvido pelo Instituto de Pesquisa de Doenças Infecciosas (IDRI) em Seattle, uma entidade sem fins lucrativos, uma parceria de desenvolvimento de produtos que está trabalhando para desenvolver novas tecnologias nos países em desenvolvimento. O GLA parece ter a capacidade de reforçar as respostas imunes dos anticorpos e das células.

Outras seis mulheres receberão a vacina candidata por administração intranasal na forma de gotas, administrada com o adjuvante quitosana, extraída do exoesqueleto de crustáceos e insetos. Este adjuvante é conhecido por melhorar a imunogenicidade de outras vacinas administradas por via mucosa. Outro grupo de 10 mulheres receberá uma injeção via intramuscular da vacina candidata em conjunto com a aplicação em forma de gel da candidata por via vaginal. O gel vaginal será aplicado nove vezes em um ciclo de um mês. A versão em gel da vacina candidata, que foi testada isoladamente em ensaios clínicos anteriores, não contém um adjuvante. Catherine Cosgrove, consultora honorária em doenças infecciosas e medicina geral da Universidade St. George de Londres, que está conduzindo o estudo, diz que a combinação de uma injeção intramuscular com a aplicação do gel vaginal visa induzir uma resposta imune mais concentrada nas mucosas.

“Esta é a primeira vez que a [candidata] está sendo aplicada por via intranasal ou intramuscular”, acrescentou Cosgrove. Estudos realizados em camundongos, coelhos e macacos-rhesus revelaram que a vacina candidata é segura e imunogênica. Um consórcio que inclui a St. George’s, Imperial College, a Hull York Medical School, a Unidade de Ensaios Clínicos do Medical Research Council e o IDRI contribuiu para desenvolver a vacina candidata. O estudo está sendo patrocinado pela Wellcome Trust.

Em outro estudo de Fase I que iniciou o recrutamento em dezembro, os investigadores avaliarão a segurança e as respostas imunes induzidas por uma vacina candidata contra o HIV baseada em DNA desenvolvida pela Profectus BioSciences, em um regime primária-mais-reforço. A candidata baseada em DNA codifica múltiplas proteínas do HIV e está sendo coadministrada com o adjuvante interleucina-12 (IL-12) — uma proteína secretada por células imunes em resposta a vírus ou bactérias — para ajudar a reforçar a resposta imune. A candidata de DNA está sendo seguida por vacinação com uma vacina candidata baseada em vetor viral que usa uma cepa inativada do vírus da gripe (adenovírus sorotipo 35; Ad35) para injetar fragmentos do HIV.

Os investigadores planejam recrutar 75 voluntários entre 18 e 50 anos de idade em Ruanda, Quênia e Uganda para este estudo, conhecido como B004. O estudo, patrocinado pela IAVI, emprega uma técnica nova chamada eletroporação para aplicar a vacina candidata de DNA (ver caixa à direita). O objetivo da eletroporação, que aplica a vacina candidata por via intramuscular através de uma série de pulsos elétricos, é fazer com que uma maior quantidade da vacina chegue às células.

O recrutamento do B004 começou em Ruanda em dezembro e as vacinações estão agendadas para começar no Quênia e em Uganda no início de 2012, dependendo de aprovações regulatórias. Ao usar o Ad35, os pesquisadores esperam evitar problemas com a imunidade preexistente ao vetor viral. No estudo STEP, que revelou que uma vacina candidata baseada no Ad5 fracassou em impedir a transmissão ou a progressão lenta da doença nos voluntários vacinados, os dados sugeriram que os voluntários masculinos que receberam a vacina tinham

maior risco de contágio pelo HIV se não fossem circuncidados e tivessem anticorpos preexistentes contra o vetor Ad5 (ver o artigo *STEP: um passo para trás?* na seção *Em foco* do VAX de outubro-novembro de 2007). O Ad35 é menos prevalente mundialmente que o Ad5 e, portanto, deve haver menos imunidade preexistente ao vetor.

### É elétrica!

#### O que é a eletroporação?

A eletroporação (EP) é uma técnica de administração de vacinas que induz poros temporários nas membranas das células musculares ou da pele para que estas células consigam receber a vacina com mais facilidade. As vacinas candidatas são administradas por meio de um pequeno dispositivo manual de eletroporação que usa uma agulha para injetar a vacina e quatro fios delgados para aplicar pulsos elétricos que duram milissegundos.

#### Como a técnica é útil na vacinação?

Foi comprovado em estudos clínicos que a eletroporação melhora as respostas imunes induzidas por vacinas candidatas baseadas em DNA.

#### Por que a eletroporação é usada para vacinas baseadas em DNA?

Embora seguras e eficazes, as vacinas candidatas baseadas em DNA têm imunogenicidade fraca devido à má absorção do DNA nas células. A eletroporação é uma maneira de melhorar a eficiência da aplicação.

#### Quais são os riscos?

O mesmo dispositivo de eletroporação que está sendo testado no estudo B004 foi testado em um estudo de Fase I com 40 voluntários nos EUA e foi considerado seguro e bem tolerado. Os possíveis eventos adversos que podem ocorrer após a eletroporação incluem breves contrações involuntárias dos músculos no local da vacinação e uma sensação de formigamento no braço e dedos até uma hora depois da aplicação da injeção. Desconforto muscular ligeiro ou moderado, vermelhidão, hematoma e dor também podem ocorrer um a três dias depois. Reações mais graves, como tontura e desmaio, são raras.

#### A eletroporação é uma técnica nova?

A eletroporação foi descoberta na década de 70 e tem sido usada em estudos com seres humanos desde o início da década de 90. Além das vacinas preventivas, a eletroporação também está sendo estudada em conjunto com vacinas terapêuticas e terapia genética. —RM



# Entendendo como são fabricadas as vacinas candidatas contra a AIDS baseadas em vetores virais

Quais são alguns dos desafios encontrados no desenvolvimento de vacinas candidatas baseadas em vetores virais e como os cientistas estão tentando superar esses desafios? *Por Regina McEneary*

Muitas das atuais vacinas candidatas contra a AIDS que estão sendo testadas em ensaios clínicos utilizam vetores virais para transportar para o corpo fragmentos do HIV que conseguem estimular uma resposta imune (ver o artigo *Entendendo vetores virais* na seção *Básicas* do VAX de setembro de 2004). Algumas das candidatas baseadas em vetores virais estão sendo testadas em combinações primária-mais-reforço com outras abordagens (ver *Notícias mundiais*, nesta edição). Vários vírus diferentes têm sido usados para desenvolver vetores para vacinas candidatas contra o HIV, incluindo o adenovírus, um vírus da gripe comum, e os vírus da varíola, como o vírus vacínia Ankara modificado e o vírus da varíola dos canários, entre outros.

Os vírus usados como vetores virais são atenuados para não causar doença. Eles são também manipulados de modo que, além de conter seus próprios genes, podem conter genes do HIV, conhecidos como antígenos, que não conseguem causar uma infecção pelo HIV.

Os genes do HIV colocados no vetor viral são conhecidos como insertos. Assim que a vacina candidata é injetada no corpo, o material genético do HIV é assimilado pelas células e convertido em proteína que, potencialmente, acionará o sistema imune para reagir ao HIV. Isso parece bem simples, mas as vacinas candidatas baseadas em vetores apresentam alguns desafios singulares em termos de concepção e fabricação. O processo de fabricação é muito complicado, por isso é necessário um esforço adicional para evitar atrasos nos testes clínicos das vacinas candidatas baseadas em vetores.

## Sem harmonia

Para desenvolver candidatas baseadas em vetores, os cientistas precisam primeiro conceber e gerar o vetor com o inserto do HIV nas células que conseguem suportar o crescimento do vírus. O vetor do vírus é então amplificado múltiplas vezes para produzir centenas de partículas de vírus com os genes do HIV, que serão então submetidas a uma bateria de testes exaustivos.

Um dos maiores desafios na criação de vacinas candidatas baseadas em vetores está na química ou, melhor dizendo, na falta de química entre o vetor e o inserto. Às vezes, o vetor e o inserto são simplesmente incompatíveis. Por exemplo, se o comprimento do inserto for longo demais ou se sua configuração não for adequada para o vetor viral, o vetor pode simplesmente rejeitá-lo. Em outros casos, o vírus que age como o vetor pode introduzir mutações nos genes do HIV que

**Como o processo de fabricação é muito complicado, é necessário esforço adicional para evitar atrasos nos testes clínicos das vacinas candidatas baseadas em vetores.**

podem impedir a produção da proteína completa quando dentro do corpo. Essas mudanças podem, em última análise, afetar a geração de uma boa resposta imune após a vacinação. Às vezes, o vetor pode até mesmo “cortar” o inserto, deixando-o completamente inutilizado.

Em alguns casos, o vetor tolera o inserto durante algum tempo e, em outros, o rejeita de imediato. Ambos os casos representam um empecilho à produção da vacina candidata. Portanto, é importante analisar a estabilidade desses vetores durante os estágios iniciais do desenvolvimento da vacina. Isso é conseguido submetendo-se estas partículas vetorais a uma série de testes de resistência que avaliam se são estáveis o suficiente para serem testadas em um ensaio clínico. O teste de resistência avalia a capacidade dos vetores em expressar as proteínas do HIV em células e em pequenos animais. Mesmo depois do processo de investigação estar concluído, o vetor ainda pode rejeitar os insertos. Portanto, não é incomum que os pesquisadores precisem repetir este

ciclo diversas vezes antes de obter um vetor estável que expresse a proteína do HIV e possa ser usado em ensaios clínicos.

## Antígenos mosaico

A maioria dos insertos usados nas vacinas candidatas baseadas em vetores virais atuais contém seqüências dos genes do HIV de um único vírus encontrado em uma certa região do mundo, ou uma seqüência de consenso gerada com diferentes vírus em circulação naquela região do mundo. Devido ao fato de o HIV se reproduzir com tanta rapidez, existe uma tremenda variação entre os diversos vírus em circulação na população, e até mesmo em um único indivíduo infectado. Para resolver isso, os cientistas também estão tentando criar insertos de HIV conhecidos como antígenos mosaico, concebidos para lidar com a imensa diversidade do HIV (ver o artigo *Entendendo como insertos para vacinas candidatas são concebidos* na seção *Básicas* do VAX de março de 2009). Os antígenos mosaico são baseados em seqüências genéticas otimizadas das várias cepas de HIV em circulação no mundo inteiro e sua finalidade é induzir respostas imunes a uma ampla gama de cepas em circulação.

Para construir antígenos mosaico, os cientistas devem combinar seqüências genéticas diferentes de cepas múltiplas. Essas seqüências genéticas não existem na natureza, mas são geradas por computador. Isso faz com que seja ainda mais desafiador conceber e desenvolver vacinas candidatas baseadas em vetores virais que consigam transportar esses antígenos mosaico. Antes de passar a usá-los em ensaios clínicos, os pesquisadores precisam garantir que os vetores virais que contêm os antígenos mosaico podem ser obtidos e fabricados em grande escala, mantendo ao mesmo tempo sua estabilidade. Os pesquisadores esperam iniciar em breve os ensaios clínicos com essas vacinas candidatas contendo antígenos mosaico. ■

