



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
AVANCES PREVENTIVOS Y
TERAPEÚTICOS EN LAS VACUNAS
CONTRA EL VIH-1**

Autora: Laura Rojo Sanz

Tutor: Luis Miguel Bedoya del Olmo

Convocatoria: Julio 2019

ÍNDICE

| | |
|---|------------------|
| RESUMEN ----- | Página 1 |
| INTRODUCCIÓN ----- | Página 1 |
| 1.1 Generalidades ----- | Página 1 |
| 1.2 Ciclo biológico----- | Página 2 |
| 1.3 Respuesta inmune frente al VIH-1----- | Página 3 |
| 1.4 Estado actual de las vacunas frente al VIH-1----- | Página 5 |
| 1.5 Mecanismos de evasión del VIH frente a la respuesta inmune----- | Página 5 |
| OBJETIVOS ----- | Página 6 |
| MATERIAL Y MÉTODOS ----- | Página 6 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN ----- | Página 6 |
| 1-ESTRATEGIAS PREVENTIVAS ----- | Página 6 |
| 1.1 Ensayos de eficacia para el VIH----- | Página 6 |
| 1.2 Nuevas estrategias ----- | Página 7 |
| 1.2.1 Anticuerpos ----- | Página 7 |
| 1.2.2 Vacuna de linaje de anticuerpos ----- | Página 9 |
| 1.2.3 Antígenos mosaico ----- | Página 10 |
| 1.2.4 Vacunas empleando vectores----- | Página 10 |
| 1.2.5 Antígenos basados en el trímico nativo ----- | Página 10 |
| 1.2.6 Ensayos en curso ----- | Página 11 |
| 2-ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS ----- | Página 11 |
| 2.1 Cura esterilizante ----- | Página 11 |
| 2.1.1 Terapia génica ----- | Página 12 |
| 2.1.2 Estrategia de choque y muerte ----- | Página 12 |
| 2.1.3 Empleo de bnAbs----- | Página 13 |
| 2.1.4 Vacunas terapéuticas ----- | Página 13 |
| 2.2 Cura funcional----- | Página 14 |
| 2.2.1 Terapia génica ----- | Página 14 |
| 2.2.2 Trasplante de genes ----- | Página 14 |
| 2.3 Nuevas estrategias ----- | Página 15 |
| CONCLUSIONES ----- | Página 15 |
| BIBLIOGRAFÍA ----- | Página 15 |

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, me gustaría agradecer a mi familia y en especial a mis padres por haberme permitido llegar hasta aquí, por aguantarme y estar siempre dispuestos a apoyarme en todas mis decisiones.

En segundo lugar, al profesor Luis Miguel Bedoya del Olmo por hacer tan fácil la realización de este trabajo, por enseñarme, guiarme y ayudarme en todo este camino.

En tercer lugar, agradecer a todas las personas que han formado parte de esta bonita etapa, a todos aquellos profesores con los que he coincidido en este recorrido, gracias por sacar lo mejor de vosotros para hacer de mí una mejor farmacéutica pero sobre todo mejor persona. En especial, me gustaría dar las gracias a mis "Farmas" por haber sido lo mejor de estos años y sin duda por aparecer para quedarse.

Por último pero no menos importante, a mi acompañante incondicional, gracias por ser, por estar, por apoyarme, confiar siempre en mí y ser mi gran red de seguridad.

GRACIAS A TODOS.

RESUMEN

El verdadero reto actual contra el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es conseguir crear una vacuna efectiva y duradera tanto en la prevención como en la curación del VIH. Sólo uno de los múltiples ensayos realizados hasta el momento, el estudio RV144, ha logrado alcanzar un 31,2% de eficacia con una respuesta de anticuerpos poco duradera. Actualmente, las nuevas estrategias preventivas se basan en la búsqueda de combinaciones de anticuerpos ampliamente neutralizantes, diseño de inmunógenos basados en el linaje de células B, en mosaicos polivalentes o en el trómero nativo de la envuelta, así como en el empleo de vectores, con el objetivo de conseguir aumentar la maduración e intensidad de la respuesta generada. Por otro lado, las nuevas estrategias terapéuticas se basan en el empleo de la terapia génica para mutar fragmentos del provirus tratando de eliminar el reservorio viral, en la estrategia “de choque y muerte” y en el empleo de anticuerpos ampliamente neutralizantes con el objetivo de conseguir erradicar el virus o al menos controlar la infección sin necesidad de emplear ningún fármaco. A pesar de estos múltiples abordajes aún estamos muy lejos de conseguir una vacuna capaz de controlar, erradicar o prevenir la infección por el VIH.

INTRODUCCIÓN

1.1. Generalidades

La infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) afecta a más de 37 millones de personas en todo el mundo, de los cuales, el 43% de los niños y el 54 % de los adultos están en tratamiento antirretroviral de por vida¹. En cuanto al mecanismo de transmisión más del 80% de los adultos se infectaron con VIH-1 a través de la exposición de la mucosa al propio virus y la mayor parte del porcentaje restante se infectó por medio de inoculaciones percutáneas o intravenosas². Se siguen produciendo nuevas infecciones por VIH, con cerca de 2 millones de casos nuevos registrados en 2017³.

Desde el punto de vista filogenético y taxonómico, el VIH pertenece a la familia *Retroviridae*, caracterizada por poseer un equipo enzimático que les permite convertir su ARN en ADN e integrarlo en el genoma de la célula, y al género *Lentivirus*, el cual se caracteriza por producir infecciones con largos periodos de latencia e infectar células del sistema inmune^{4,5}. Los viriones del VIH-1 como podemos observar en la **Figura 1** tienen forma esférica con un diámetro aproximado de 100 nm⁶ y están recubiertos por una envuelta externa de carácter lipoproteico adquirida durante su salida de la célula humana infectada⁷. En ella encontramos diversas espículas (*spikes*) que son glicoproteínas virales codificadas por el gen *Env*. La glicoproteína de la envuelta consiste en un hetero-trómero formado por tres proteínas gp120 superficiales y tres moléculas transmembrana gp41⁸.

A parte de las proteínas de la envuelta, las partículas virales tienen tres proteínas estructurales: proteína de la matriz (p17), proteína de la cápside (p24) y nucleocápside (p7). Dentro de la cápside se encuentran dos hebras idénticas de ARN monocatenario viral y el equipo enzimático viral formado por la transcriptasa inversa (TI) o retrotranscriptasa (RT), una proteasa y una integrasa⁷.

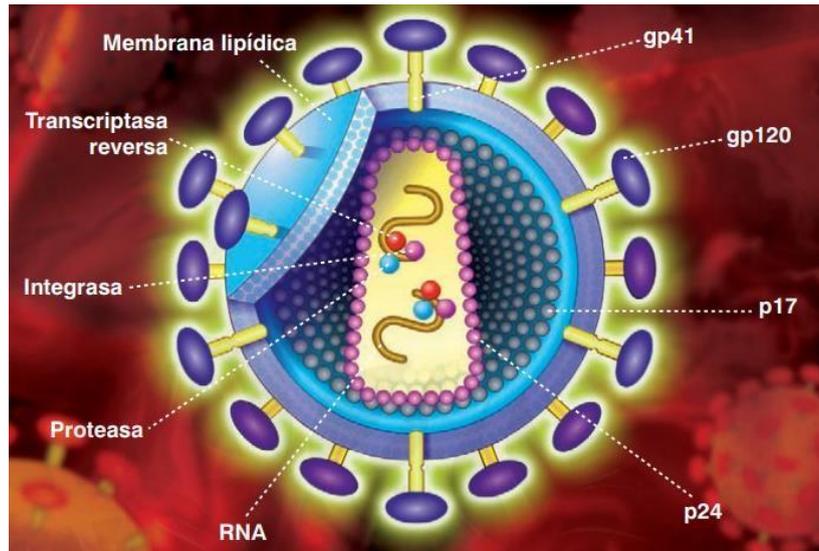


Figura 1. Componentes estructurales del VIH

Fuente: Tobón-Pereira JC, Toro-Montoya AI. Estudio del paciente con infección por VIH. Medicina & Laboratorio. 2008; 14 (1-2):12.

1.2. Ciclo biológico del VIH ^{9,10}

La entrada del virus en la célula supone el primer paso en su ciclo viral y para ello, es necesaria la interacción con distintas moléculas de la membrana de la célula. El primer paso de la infección es la adherencia a la célula mediante la interacción de gp120 con dos tipos de receptores: el receptor CD4, una molécula común y específica a todas las variantes del VIH y dos correceptores (CCR5 y CXCR4). Tras la interacción con CD4 se produce un cambio conformacional en gp120 que facilita la unión al correceptor correspondiente, tras la cual se produce la fusión de ambas membranas, viral y celular, y la internalización del material genético y componentes virales a la célula. A continuación la RT se encarga de convertir el ssRNA en cDNA o DNA bicatenario proviral. Posteriormente, este cDNA será integrado en el genoma de la célula gracias a la acción de la integrasa. Tras la integración, el ADN puede o bien replicarse masivamente produciendo nuevas partículas virales y el consiguiente efecto citopático que esto conlleva sobre la célula, o bien, permanecer en estado latente convirtiéndose en reservorio del virus.

Algunas proteínas virales regulan y facilitan este ciclo; como: la proteína Vpu que aumenta la liberación de virones y la proteína Vfu que se encarga de neutralizar la acción de la proteína celular APOBEC3G, molécula que frena el proceso de propagación del virus al interferir con la acción de la RT produciendo mutaciones que originan partículas virales no viables.

1.3. Respuesta inmune frente al VIH-1

Tras la infección por vía mucosa, el VIH accede al tejido linfoide asociado al intestino (GALT), donde el virus interacciona con los linfocitos CD4+ efectoros y de memoria, las

células dendríticas (CD) y los macrófagos. Determinadas lectinas como DC-SIGN o L-SIGN situadas en la superficie de las células dendríticas facilitan la adhesión de partículas virales a la membrana plasmática, lo que hace más efectiva la transmisión del VIH a las células diana o linfocitos CD4+ activados¹⁰. Si la infección es por vía parenteral las encargadas principalmente de captar al virus son las CDs plasmocitoides (pDCs) circulantes¹¹.

Pasadas unas horas, las CDs y pDCs maduran y migran a los órganos linfoides cercanos y periféricos donde activarán a las células T-náive, iniciándose así la respuesta inmune adaptativa y produciéndose la diseminación sistémica. Ambos tipos de células en las etapas iniciales de la infección tienen un papel dual: por un lado, producen grandes cantidades de IFN de tipo I y factor de necrosis tumoral, que activan a los linfocitos CD8+ y ponen en marcha la respuesta anti VIH y, por otro lado, promueven la diseminación del proceso infeccioso al producir quimioquinas que atraen linfocitos CD4+.

La carga viral en sangre se hace detectable a la semana de la infección y a medida que transcurren los días va aumentando exponencialmente¹². Altos niveles de viremia coinciden con una disminución drástica del número de células CD4+ (**Figura 2**). Las células T CD8+ son las encargadas de controlar la infección viral y aparecen días antes de que se alcance el pico de viremia en sangre. Su respuesta inicial es dirigida frente a epítomos dominantes del virus de las proteínas *Env* y *Nef*, provocando la selección de mutantes de escape. Posteriormente, se dan nuevas respuestas de células T frente a múltiples epítomos de las proteínas *Gag* y *Pol*, a los que a menudo también escapan, aunque, *Gag* es una proteína más conservadora y con menor variabilidad, dificultando así las posibilidades de escape². A medida que aparecen nuevas células T CD8 y la respuesta se hace más efectiva, la carga viral en plasma va disminuyendo porque se van eliminando las células infectadas por diversos mecanismos, incluyendo citotoxicidad celular mediada por anticuerpos (ADCC) realizada por los linfocitos T CD8 y las células NK. Es en este momento cuando las células CD4+ vuelven a elevar su número en sangre, aunque sin llegar a alcanzar los niveles normales⁷.

La generación de anticuerpos (Ac) no se produce hasta 12 semanas después de la infección. Los primeros Ac neutralizantes (nAbs, del inglés *Neutralizing Antibodies*) que aparecen se dirigen contra sitios ineficaces de gp41 y se cree que esto es debido a la poca frecuencia de exposición de trímeros funcionales por parte del virus^{2,13}. Se desarrollan Ac frente a prácticamente todas las proteínas reguladoras y estructurales del virus, aunque su capacidad neutralizante no es muy alta y rápidamente el virus escapa de su acción.

La actuación de la inmunidad celular y humoral consigue controlar la replicación viral casi al completo con niveles bajos y estables de viremia en sangre. Este periodo de equilibrio y adaptación entre escape del virus y actuación del sistema inmunitario suele durar años, dependiendo de cada paciente, y tras el cual evoluciona al síndrome de inmunodeficiencia adquirida o SIDA¹². Esta última etapa de la enfermedad se caracteriza por el agotamiento y destrucción del sistema inmunitario que facilita la aparición de infecciones oportunistas.

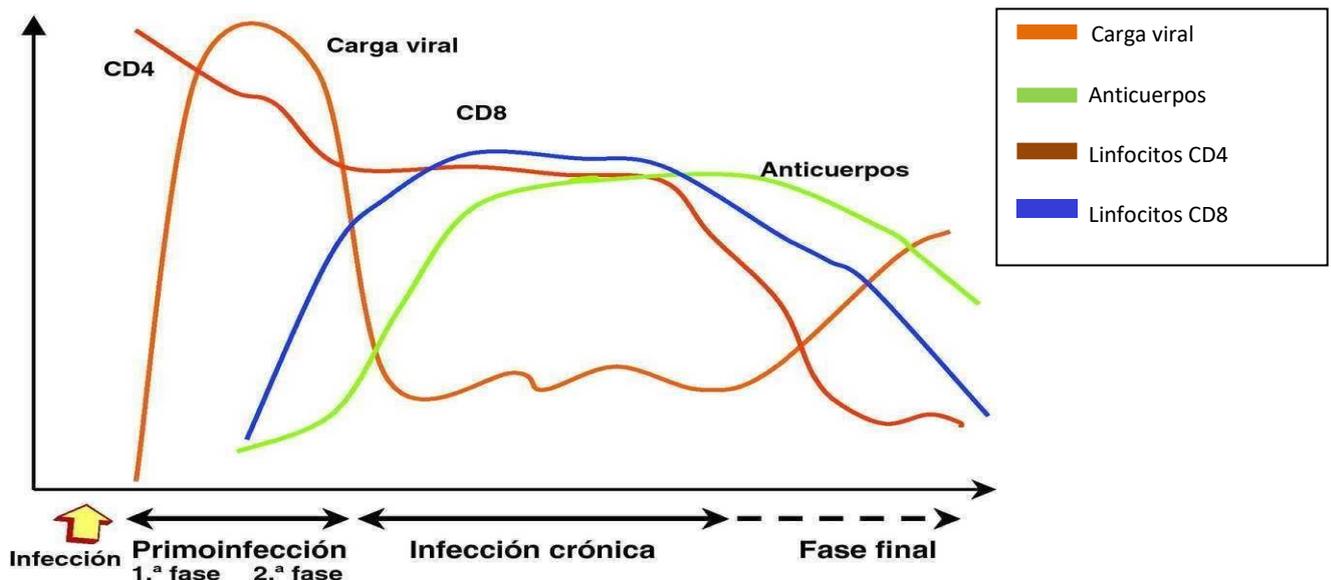


Figura 2. Evolución de los parámetros inmunológicos y virales durante la infección por el VIH.

Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 2011;29:216-26

Fuente: Alcamí J y Coiras M. Immunopatogenia de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. Revista de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2011; 29 (3) 216-226

La erradicación del virus por la terapia antiretroviral (TAR) se ve dificultada por la presencia de un reservorio celular que consiste en células infectadas que no han sido destruidas, principalmente linfocitos T CD4+ en reposo, fundamentalmente de memoria, que son capaces de albergar al virus latente durante años, pudiendo sufrir reactivación en cualquier momento⁸. A esto se le suma: la presencia de reservorios anatómicos como el sistema nervioso central y genital y, la relativa impermeabilidad en los ganglios linfáticos y el GALT a los antiretrovirales¹⁴. El tratamiento con antirretrovirales puede prevenir la infección de nuevas células, pero no es capaz de eliminar la infección una vez que el ADN viral se ha integrado en la célula ni hace efecto sobre las células "latentes" ya que no expresan proteínas virales que puedan ser reconocidas. Por tanto, los pacientes deben permanecer con este tratamiento ininterrumpidamente toda su vida, ya que en el momento que dejen de administrarlo, el virus volvería a replicar de nuevo¹⁵. Además, el virus puede quedar acantonado en los órganos linfáticos donde la penetración de los fármacos es limitada.

En los últimos años se ha identificado a un grupo de pacientes con infección crónica, denominados "neutralizadores de élite", que son capaces de mantener una carga viral inexistente o muy baja en ausencia de tratamiento. Diferentes estudios revelan la presencia en sus sueros de anticuerpos neutralizantes de amplio espectro (bnAbs en inglés, de *Broadly Neutralizing Antibodies*) que son capaces de actuar incluso frente a diferentes variantes del virus que se encuentran en el mismo paciente infectado⁹. Esta actividad neutralizante se ha visto que es dirigida frente a una diana específica, cómo los dominios V3 y de unión a CD4 de la envuelta, en lugar de a múltiples de ellas y en concreto, es orientada hacia regiones más conservadas de la misma¹². Además, el

estudio del HLA de los pacientes revela que algunos alelos como el HLA-B*5701 o HLA-B*27 presentan partes altamente conservadas del genoma del virus y se asocian con el control de la infección crónica sin necesidad de tratamiento^{15,2}.

1.4. Estado actual de las vacunas frente al VIH:

Hasta el momento todos los modelos de posibles vacunas han fracasado¹³. Aunque, se han iniciado nuevos ensayos de vacunas que se basan tanto en la inducción de Ac como de inmunidad de células T¹⁵. Al mismo tiempo, numerosos datos han demostrado que durante la infección natural por el VIH se inducen anticuerpos. Los primeros en sintetizarse son nAb específicos de cada cepa del virus, contra los que rápidamente se producen mutaciones de escape virales¹⁶. Más tarde, en algunas personas con infección crónica por VIH¹⁷ se originan los bnAbs frente a un amplio número de cepas del VIH, los cuales, podrían ser administrados de forma pasiva mediante vacunación e inducir tanto la protección como la interrupción del curso de la infección. Las estrategias más prometedoras incluyen el diseño de inmunógenos mediante vacunología inversa para activar precursores específicos de bnAbs y posteriormente guiar su maduración de afinidad para generar Ac maduros¹⁸. No obstante, el desarrollo de AC neutralizantes o protectores por medio de la vacunación es un desafío dado los diversos y rápidos mecanismos de evasión que el virus desarrolla contra ellos.

1.5. Mecanismos de evasión del VIH frente a la respuesta inmune

- **La variabilidad genética** del VIH se debe principalmente a:
 - 1) La elevada tasa de error de la TI (que introduce un promedio de una sustitución por genoma y por ciclo de replicación) que, por un lado, genera gran proporción de virus defectivos y, por otro lado, genera gran variedad de proteínas víricas, facilitando así el escape de la respuesta inmune¹³.
 - 2) La recombinación genética existente entre dos o más subtipos del VIH capaz de generar nuevas variantes y múltiples combinaciones^{7, 12}.
 - 3) El virus rápidamente produce mutaciones en los sitios de unión a Ac para que estos no sean reconocidos por los mismos¹⁵.
- **Enmascaramiento de epítomos:** Los dominios de unión al receptor CD4 y a los correceptores únicamente son expuestos en la envuelta durante el proceso de entrada en la célula¹⁵. Además, la propia disposición de la glicoproteína gp160 (formada por gp120 y gp41) en la membrana dificulta el acceso a estos dominios conservados, contra los cuales los nAbs podrían ser más efectivos¹². También debemos tener en cuenta, que los epítomos reconocidos por los Ac están recubiertos por un escudo de glicanos (estructura completa de carbohidratos) que dificultan aún más el acceso a la zona¹³. Realizar una vacuna eficaz contra la envuelta es realmente difícil ya que como observamos presenta una gran flexibilidad y variabilidad estructural y, por consiguiente, una extraordinaria capacidad de evasión.
- **Rápido establecimiento de la infección, latencia y reactivación.** La presencia de un reservorio viral donde quedan archivados todos los cambios que van produciéndose en el genoma, tales como, mutaciones de escape inmunitario, imposibilita el desarrollo de nuevas vacunas⁹.

OBJETIVOS

- ❖ Revisar las vacunas probadas hasta el momento para la erradicación del VIH.
- ❖ Recopilar las nuevas estrategias de inmunización activa y pasiva frente al VIH incluyendo las vacunas preventivas y terapéuticas.
- ❖ Abordar las perspectivas futuras en la prevención y curación del VIH.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este trabajo se ha llevado a cabo una exhaustiva revisión bibliográfica de estudios publicados en las bases de datos “PubMed” (NCBI), “Medline”, “ScienceDirect” y “Google Scholar. Para los conceptos generales se han consultado libros de Microbiología e Inmunología, disponibles en formato online y/o papel; así como revistas científicas como *Nature*, *Revista de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* o *Virology: Research and Treatment*. Por último, se han consultado diferentes páginas webs institucionales (OMS, NIH, CDC) y webs de organismos especializados en la materia (GESIDA, ONUSIDA, SEISIDA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1-ESTRATEGIAS PREVENTIVAS

1.1. Ensayos de eficacia para el VIH

Los primeros dos ensayos de vacunas preventivas, VAX004 en hombres homosexuales y mujeres heterosexuales con alto riesgo de transmisión del VIH en Norte América y Países Bajos¹⁹ y VAX003 en usuarios de drogas intravenosas en Tailandia²⁰, probaron subunidades bivalentes de gp120. Ambos estudios tenían como objetivo la inducción de nAbs. A pesar de observarse altos niveles de unión, producción de nAbs e inhibición del virus mediada por células dependientes de Ac²¹, ninguna de ellas logró proteger a ninguna de las poblaciones de riesgo de la adquisición del VIH²². Esta falta de protección parece deberse a los múltiples refuerzos que dirigen la respuesta de AC a un subgrupo no protector de inmunoglobulina G²³ y la estrecha especificidad de los nAbs. Estudios recientes revelan que ambas vacunas inducen Ac funcionales específicos frente a V1V2 y V3, pero son poco duraderos ya que no se mantienen en la inmunización tardía de refuerzo²⁴.

Los siguientes dos ensayos completos de fase II, Step en personas de alto riesgo en Estados Unidos, el Caribe y Australia y Phambili en parejas heterosexuales en Sudáfrica, evaluaron las proteínas internas del VIH en una vacuna trivalente *gag-pol-nef* del subtipo B con Adenovirus de tipo 5 (Ad5) como vector. Ambos fueron detenidos tempranamente por la aparición de una mayor incidencia de infección por VIH en los hombres vacunados en comparación con los no vacunados y se piensa que es debido a una seropositividad al Ad5 antes de la vacunación o a no estar circuncidados^{25,23}.

Posteriormente, se llevó a cabo el ensayo RV144 con más de dieciséis mil participantes en Tailandia, donde se administraban cuatro dosis de vacuna principal ALVAC-HIV, que emplea como vector el virus de la viruela canaria (ALVAC) para suministrar los genes *gag* y *pol* del subtipo B y *env* del subtipo E/B con aluminio como coadyuvante, y dos dosis de refuerzo con la vacuna AIDSVAX B/E que contiene una combinación de dos gp120

recombinantes. En 2009 los resultados proporcionaron la primera y única protección lograda hasta el momento con un 31,2% de eficacia. Durante los primeros 6 meses la vacuna parecía alcanzar una tasa de protección del 60,5%, que rápidamente disminuyó con la adquisición de una respuesta de Ac poco duradera²³. Esta vacuna no fue capaz de desencadenar bnAbs frente a cepas de nivel 2 del VIH²⁶, pero su eficacia sí que se asoció con Ac-no neutralizantes frente a la región V1V2 de Env, respuestas efectoras mediadas por la fracción Fc, citotoxicidad mediada por Ac, IgG3 específica contra la región V2 y respuestas CD4+ específicas, lo que sugiere que la región V2 podría ser una potencial diana de inducción de AC capaces de bloquear la adquisición del VIH-1²⁷.

El sexto ensayo de fase IIb, HVTN505, realizado en hombres homosexuales y mujeres transgénero consiste en tres inyecciones de ADN primario con seis plásmidos que codifican *gag-pol-nef* del subtipo B y *env* de gp120 de los subtipos A/B/C y un recuerdo que consiste en cuatro vectores de Ad5 que expresa *gag-pol* del subtipo B y *env* del A/B/C, tratando de aumentar su inmunogenicidad²². Tras los anteriores resultados con Ad5 se supervisó muy de cerca y se detuvo temprano por su inutilidad²⁸.

Tras los resultados obtenidos se han realizados otros ensayos con RV144, tratando de provocar respuestas mejoradas de Ac específicas contra la región V2. El estudio RV305 probó la eficacia de realizar un refuerzo con un inmunógeno de *Env* a los vacunados previamente con RV144 y no infectados, obteniendo la expansión de células B de memoria específicas contra la región de unión del virus con el receptor CD4 (CD4bs) con cierto grado de capacidad de neutralización de cepas de nivel 2 para el VIH. Estos resultados sugieren que la vacunación con RV144 junto con un refuerzo repetitivo podría inducir la aparición de células B de memoria de larga duración²⁹. El ensayo HVTN097 de fase I para comprobar la reproducibilidad de los resultados en adultos sudafricanos no infectos³⁰ o HVTN 100 de fase I/II diseñado para provocar respuestas inmunes al subtipo C de VIH común en África subsahariana, modificando el adyuvante e incluyendo una dosis de refuerzo al año para mejorar la potencia, amplitud y duración de la protección³¹. Tras cumplir los criterios de respuesta inmune planteados se ha llevado a fases avanzadas el ensayo de fase IIb/III HVTN702³² que prueba las condiciones utilizadas en RV144 pero con inmunógenos del clado C apropiadamente emparejados en una cohorte subsahariana con una dosis de refuerzo adicional para ayudar a mantener la respuesta protectora de Ac³³ y el ensayo HVTN107 que prueba el régimen empleado en HVTN100 con diferentes adyuvantes.

1.2. Nuevas estrategias

1.2.1 Anticuerpos

Encontramos diferentes tipos de AC³⁴: (1) **Ac no neutralizantes** contra proteínas de Env que se unen a epítomos que no se encuentran en el pico del trímero de *Env*, que al no ser funcional impide la neutralización. Su actividad antiviral se debe a la inestabilidad de la espícula que con el tiempo se descompone para mostrar epítomos que pueden ser reconocidos por estos Ac. Además, son capaces de desencadenar una respuesta ADCC y una fagocitosis mediada por AC. (2) **Ac neutralizantes cepa específica** que tienen como diana regiones con alta variación de secuencia, principalmente de *Env*, y son capaces de neutralizar únicamente a esa cepa o como mucho a aquellas cepas que coincidan en ese epítomo o región. Estos Ac como ya se ha citado anteriormente son

ineficaces debido a que el virus rápidamente modifica las regiones contra las que se dirigen. Y (3) **Ac neutralizantes frente a un gran espectro de cepas, Ac ampliamente neutralizantes o bnAbs** que tienen como diana regiones conservadas, sobre todo se dirigen a la espiga o al trímero de Env y son eficaces frente a una amplia gama de aislados virales³⁵. Estos bnAbs sólo aparecen en una fracción relativamente pequeña de pacientes tras varios años de infección crónica con VIH-1 como resultado de una interacción muy específica y completa entre el sistema inmune y el virus³⁶ y surgen como resultado de un proceso continuo de maduración por hipermutación somática. En adultos infectados con VIH, los niveles plasmáticos de bnAbs se desarrollan tras 2-4 años de infección. Mientras que, en niños, se detectan durante el primer año de infección³⁷. Esto sugiere que la ontogenia de la respuesta infantil podría llevarnos hacia objetivos de vacuna alcanzables³⁸.

Es necesario mencionar los diferentes “niveles” de nAbs del VIH, los cuales se clasifican en función de su potencia para neutralizar los aislados primarios y adaptados en el laboratorio. Los nAb de nivel 1 neutralizan los aislamientos adaptados en el laboratorio, los de nivel 1b neutralizan aquellos aislados que son ligeramente más complicados, mientras que, los del nivel 2 neutralizan los aislamientos realmente difíciles de hacerlo³⁹.

Una respuesta de memoria protectora necesita prevenir la integración del ADN proviral en la célula y la mejor forma de hacerlo es a través de nAbs que bloqueen la entrada del virus en la misma. Para ello, la vacuna deberá reconocer y bloquear dianas, principalmente de la envuelta³⁹, conservadas y comunes a las cepas que se están transmitiendo²³.

Aunque una vacuna contra el VIH sigue siendo a día de hoy un objetivo difícil de alcanzar en la última década se ha conseguido aislar más de 200 bnAbs de donantes infectados por el VIH, que han revelado dianas en la envuelta contra las que dirigir la vacunación⁴⁰.

En la envuelta viral se han descrito seis regiones diana contra las que se dirigen los bnAbs: la región CD4bs^{41, 42, 43}, la región de glicanos V1-V2 de gp120⁴⁴ y V3, la interfaz entre gp120 y gp41⁴⁵, dominio de fusión de gp41 y la región de la membrana proximal externa de gp41 (MPE). **(Figura 3)**

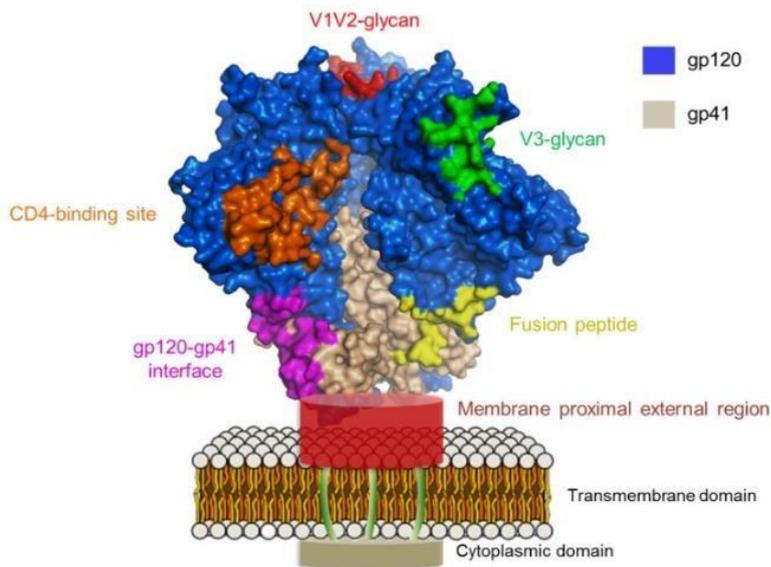


Figura 3. Sitios vulnerables de neutralización por AC en la espícula glicoproteína de la envuelta del VIH-1.

Fuente: Bonsignori M, Liao H-X, Gao F, Williams WB, Alam SM y otros. *Antibody-virus co-evolution in HIV infection: paths for HIV vaccine development. Immunological Reviews. 2017; 275(1) 145-160.*

A pesar de ser muy prometedores, ningún bnAb puede neutralizar todos los aislamientos del VIH-1, y el tratamiento con un solo bnAb selecciona rápidamente las mutaciones que hacen que el Ac sea ineficaz. Es por ello que se ha propuesto que la combinación de diferentes Ac trabajará favorablemente tanto en la prevención como en el tratamiento del VIH. En efecto, la combinación doble, triple o cuádruple de bnAbs se ha usado para mejorar la amplitud de neutralización o su potencia al actuar sinérgicamente en comparación con un único bnAb⁴⁶.

Se han realizado esfuerzos para diseñar inhibidores únicos que se dirijan a la vez múltiples sitios de *Env*, incluyendo los Ac biespecíficos que combinan dos bnAbs en una misma estructura. En 2013, Pace y colaboradores desarrollaron dos Ac biespecíficos, donde se combinan los bnAbs PG9 o PG16 anti-gp120 con el AC humanizado Ibalizumab que se dirige al dominio CD4⁴⁷. Ambos Ac biespecíficos, PG9-iMab y PG16-iMab, que atacan a *Env* con un brazo y al receptor o correceptor con el otro, mostraron una actividad anti-HIV-1 y amplitud de neutralización excepcional. En un estudio más reciente se combinó el Ac MPER 10E8 con iMab o con P140, exhibiendo ambos una neutralización más potente y amplia frente al VIH-1, especialmente 10E8-iMab⁴⁸. Posteriormente, otro grupo combinó el bnAb 3BNC117 con PGT135, mostrando una potencia de neutralización sinérgica in vitro y una mayor actividad terapéutica in vivo en ratones humanizados infectados con VIH-1⁴⁶.

1.2.2. Vacuna de linaje de AC

Las estrategias de diseño de inmunógenos recientes buscan realizar un enfoque de vacuna en múltiples etapas, que implica iniciar la administración con moléculas precursoras de bnAb para iniciar el linaje de células B apropiado seguido de refuerzos de inmunógenos secuenciales y/o mezclas de los mismos para impulsar la maduración de la afinidad de las rutas de producción de bnAbs⁴⁰. El conocimiento de los ancestros de un bnAb nos ayuda a diseñar y seleccionar inmunógenos optimizados, que hasta el momento, se han diseñado para activar y madurar AC de clase VRC01, PGT121 y PG9⁴⁹.

1.2.3 Antígenos mosaico

Los inmunógenos mosaico polivalentes son secuencias genéticas que se diseñan “a medida” mediante un programa computacional para que se parezcan a proteínas naturales que incluyan epítomos potenciales ²⁵con mutaciones específicas y concretas para que codifiquen un antígeno seguro capaz de inducir bnAbs frente a un amplio número de cepas del VIH. A continuación, las secuencias deseadas se expresan y clonan en vectores con los que se infecta una línea celular con el objetivo vacunal de obtener, aislar y purificar las proteínas virales⁵⁰.

1.2.4 Vacunas empleando vectores

Muchos virus, incluidos Ad4, Ad26, Ad35, citomegalovirus y el virus Ankara modificado se emplean como vectores de posibles vacunas que transmiten genes del VIH-1, o bien solos o bien combinados con la forma trimérica de gp160 para provocar una respuesta de células T y bnAbs⁵¹. Su función es suministrar antígenos del VIH-1 a las células huésped y estimular la respuesta inmunitaria ²².

En macacos, los vectores Ad y/o Ankara que expresan el mosaico *gag-pol* de VIH-1 bivalente permite una reducción significativa del riesgo de adquisición por exposición después de administraciones repetitivas e intrarrectales del virus SHIV ²².

Actualmente, está en marcha el estudio HIV-VA004 de fase I que utiliza vectores mosaico de Ad26 como primera vacuna seguido de un refuerzo con vectores de mosaico Ad26 o virus Ankara modificado y/o alto, bajo o sin clado C gp140.

1.2.5 Antígenos basados en el trímero nativo

Otra estrategia consiste en el diseño de trímeros de Env con el objetivo de activar varias líneas germinales de bnAbs ¹⁶. En la última década, se ha logrado la estabilización y caracterización estructural del trímero soluble recombinante de *Env* (SOSIP) que imita el trímero nativo presente en la superficie del virus ⁴⁰. Recientemente, Pauthner y otros, han observado la inducción de nAbs autólogos específicos en macacos contra un aislado del VIH de nivel 2 mediante el uso de trímeros SOSIP de la glicoproteína de *Env*⁵². Con estos datos podemos decir que la protección mediada por nAb de cepas de nivel 2 no se limita única y exclusivamente a los bnAbs, sino que, también puede lograrse su neutralización mediante respuestas de nAb autólogas policlonales de suficiente especificidad y magnitud. Nuevos enfoques de diseño de inmunógenos se basan en cócteles de trímeros, derivados de Env multi-clado administrados repetidamente hasta conseguir desarrollar bnAbs, que incorporan mutaciones estabilizadoras para aumentar la termoestabilidad, prevenir la apertura del trímero y mejorar la inmunogenicidad, como SOSIP.664.

Otra estrategia se basa en exponer estos trímeros de *Env* en partículas similares a virus o VLPs que son formas no infectivas de vectores virales incapaces de replicarse, ya que solo incorporan el núcleo viral y las proteínas de *Env*. Las vacunas basadas en estas VLPs se han convertido en potentes inductores tanto de Ac como de células T colaboradoras⁵³. Actualmente, se está tratando de fusionar estas partículas con vectores

virales defectuosos sin capacidad de replicación en las denominadas vacunas similares a virus.

1.2.6 Ensayos en curso

Los nuevos regímenes de vacunas se basan en el empleo del vector Ad26, los inmunógenos mosaico junto con la gp140 y la imitación del trómero nativo entre otros.

El ensayo HVTN 705 prueba cuatro secuencias de mosaicos vectoriales de Ad26 seguidas de un recuerdo con el trómero de *Env* para proteger a mujeres subsaharianas VIH negativas de entre 18 y 35 años⁵⁴.

El estudio de fase I/II APPROACH que comenzó en 2014 y pretende finalizar a lo largo de este año está comparando diferentes combinaciones de Ad26, mosaico de Vaccinia Ankara modificada y/o componentes de gp140 del clado C del VIH-2 para evaluar la seguridad, tolerabilidad y la respuesta de Ac^{55,56}.

Por medio de dos ensayos se está evaluando si la administración pasiva de un bnAb monoclonal, VRC01, puede reducir la adquisición del VIH en mujeres en el sur de África (HVTN703)^{57, 58} o en personas transgénero (HVTN 704)^{59, 60}. Se quiere evaluar si los bnAbs, difíciles de inducir por vacunación, administrados son capaces de prevenir la infección por VIH y determinar el nivel de bnAb necesario para al menos proporcionar una protección parcial^{33**}. Hay otros ensayos en curso que prueban otros bnAb⁶¹.

El ensayo ASCENT (HVTN118) de fase I/II evalúa la seguridad, tolerabilidad y la respuesta de bnAbs de dos vacunas mosaico basada en diferentes vectores de adenovirus, empleando fosfato de aluminio como adyuvante²².

El estudio HVTN106 de fase I, que pretende finalizar en 2020, trata de evaluar la seguridad y respuesta inmune de tres vacunas DNA y un refuerzo con el virus Ankara en adultos sanos HIV negativos⁶².

2. ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS

El objetivo que persiguen las estrategias terapéuticas se puede conseguir de tres maneras : 1) la llamada **cura esterilizante**”, dónde se conseguiría la completa erradicación de los provirus competentes consiguiendo eliminar los reservorios virales, 2) consiguiendo la **“cura funcional**”, dónde aunque el virus no se consiguiese eliminar completamente el sistema inmune fuese capaz de controlar la infección sin necesidad de emplear ningún fármaco o 3) **“cura mixta**”, reduciendo el reservorio viral y mejorando el control inmunológico⁶³.

2.1. Cura esterilizante

En la actualidad, solo un paciente, el denominado “paciente de Berlín”, ha logrado curarse con éxito del VIH mediante el reemplazo de su sistema inmunitario infectado por otro resistente al VIH-1 gracias a una mutación homocigótica del gen CCR5 delta 32 para tratar su leucemia mieloide aguda¹⁴.

Recientemente, se ha detectado la remisión del VIH-1 tras 18 meses después de la interrupción de la TAR en un paciente, el denominado “paciente de Londres”, al que se

le realizó un trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas de un donante CCR5Δ32 para el linfoma de Hodgkin. La carga viral en plasma ha sido indetectable a menos de una copia por ml junto con un ADN viral indetectable en linfocitos CD4 y una ausencia de reactivación del virus en linfocitos T CD4 periféricos⁶⁴. Estos datos son esperanzadores, ya que los Ac específicos contra el VIH-1 y la avidéz disminuyeron a niveles comparables a los del paciente de Berlín y aunque aún es pronto, puede que nos encontremos ante el siguiente caso de “curación” del VIH⁶⁵. Además, estos avances nos hacen ver la importancia de desarrollar nuevas estrategias basadas en la prevención de la expresión del receptor CCR5⁶⁶.

2.1.1 Terapia génica

Se han empleado tecnologías de edición génica para mutar fragmentos de provirus en las células del reservorio, tales como, nucleasas de dedos de Zinc⁶⁷ (NDZ), nucleasas activadoras de la transcripción o TALENS del inglés *transcription activator like effector nucleases* ⁶⁸o el prometedor sistema CRISPR, repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas, o CRISPR en inglés, solo o asociado a la proteína 9⁶⁹.

El sistema CRISPR-Cas9 además de ser una herramienta de edición genética muy reciente y efectiva es un sistema de defensa antiviral único contra plásmidos y virus extraños, y es por ello, que múltiples estudios se han centrado en ella tratando de eliminar el reservorio del VIH. Con este sistema se ha logrado suprimir la transcripción de genes controlada por repetición terminal larga, se ha verificado su capacidad para eliminar múltiples copias de ADN viral y se ha logrado interrumpir el genoma viral integrado de forma latente en experimentos in vitro o primates no humanos⁷⁷. Además, se ha demostrado que CRISPR-Cas9 no solo saca las copias de ADN proviral de las células T, sino que también las protege de una nueva infección⁷⁰.

A pesar de obtener datos muy prometedores, no hay estudios experimentales en humanos por no poseer un vector capaz de transferir estos elementos a un gen concreto y por ausencia de datos de citotoxicidad y muerte.

2.1.2. Estrategia de choque y muerte.

Actualmente la estrategia más prometedora para erradicar el reservorio del VIH se basa en un enfoque de “choque y muerte”. Este método por un lado emplea un “agente de choque”, como los inhibidores de histona deacetilasa o los activadores de proteína quinasa C, para activar las células latentes e inducir la actividad transcripcional y por otro lado, un “agente de eliminación o muerte”, que puede tratarse de bnAbs o vacunas terapéuticas, que bloquea la reactivación del virus latente y protege a las células de la formación de una nuevos viriones⁷¹.

Las células T CD4 en reposo, principal reservorio latente del VIH, son el principal blanco de los agentes de reversión de la latencia (LRA) que buscan eliminar el virus latente. Algunos inhibidores de histona deacetilasa (iHDAC) destacados como Vorinostat, Disulfiram y Romidepsin ⁷² han sido probados en ensayos clínicos como candidatos a LRA sin impacto significativo sobre el reservorio. Más recientemente se ha demostrado en estudios in vitro que emplean agonistas de iHDAC y proteína quinasa C que amplifican

sinérgicamente la reversión de la latencia. La evidencia sugiere que algunos iHDAC son capaces de suprimir la muerte retardada de las células T CD4+ infectadas activas, las respuestas inmunitarias y la apoptosis de células NK, tienen efectos inmunomoduladores en las células B e inhiben las respuestas del centro germinal primario⁷³. Se necesitan nuevos e innovadores LRAs para facilitar la erradicación del reservorio y la cura del VIH.

Ciertos grupos han observado que la mayoría de células infectadas de forma latente por el VIH parecen expresar receptores de células T (TCR) específicos para los péptidos del VIH y TCR no específicos dan como resultado una producción de ARN viral de nuevo en células T CD4 infectadas por el VIH⁷¹. Por ello, Pankrac J y colaboradores, proponen que el reservorio de células T de memoria en reposo sería más eficazmente activado y purgado utilizando una preparación de vacuna altamente polivalente que represente la cuasi especie viral completa.

2.1.3. Empleo de bnAbs

Recientemente, en un ensayo de fase IIa se evaluó el grado de eficacia de 3BNC117, un amplio y potente bnAb dirigido contra CD4bs, que fue administrado a pacientes tras la interrupción del TAR. Tras los resultados obtenidos, se concluyó que 3BNC117 podría ejercer una fuerte presión selectiva sobre el reservorio viral; ya que, se detectó un retraso significativo en el repunte viral⁷⁴.

La transferencia pasiva de bnAbs a primates no humanos proporciona protección completa contra el virus en la mucosa³⁵. Estos datos sugieren que una vacuna que sea capaz de provocar la producción de bnAbs de suficiente potencia, amplitud y concentración puede lograr la erradicación del VIH en los seres humanos, aunque a día de hoy no se ha conseguido ningún régimen vacunal que consiga obtener estos bnAbs⁴⁰.

Actualmente, en estudios en ratones humanizados a los que se les administraron diferentes LRAs junto con los bnAbs 3BNC117, 10-1074 y PG16 se ha observado una reducción significativa de la carga viral asociada a células, lo que nos lleva a pensar que esta asociación puede reducir aquellos reservorios más complicados de eliminar⁷⁵. Es por ello, que Schoofs y colaboradores sugieren que la inmunoterapia mediada por este bnAb mejoraría la respuesta humoral frente al VIH⁷⁶.

A pesar de los avances, el escape viral no deja de aparecer durante el tratamiento con un único bnAb y hasta el momento, está siendo complicado encontrar un “súper bnAb” capaz de evadir el escape viral y neutralizar todos los aislados del VIH.

2.1.4. Vacunas terapéuticas

Vacunar junto con TAR en un momento temprano de la infección por el VIH-1 puede limitar el establecimiento del reservorio y promover la erradicación del virus.

En Italia se está desarrollando una vacuna dirigida contra la proteína *Tat* del VIH-1⁷⁷, que desempeña un papel clave en la expresión, replicación, transmisión y progresión de la enfermedad⁷⁸. Los Ac anti-*Tat* son infrecuentes en la infección natural pero su presencia se asocia con un estado asintomático y una menor progresión hacia la

enfermedad. Tras superar ensayos de fase I y II ⁷⁹satisfactoriamente, donde la inmunización con *Tat* produjo una disminución drástica estadísticamente significativa de la carga de ADN del VIH-1 en sangre manteniéndose hasta tres años post-vacunación, los AC anti-*Tat* se han llevado a ensayos de fase III⁸⁰.

2.2. Cura funcional

Se ha logrado una “cura funcional” en un mono, el denominado “mono de Miami”, empleando terapia génica que consiguió inducir la producción de dos bnAbs contra el SHIV. El mono únicamente recibió dos vacunas terapéuticas con los genes inductores de los AC 10-1074 y 3BNC117, tras las cuales permaneció con una carga viral indetectable durante más de tres años^{81, 82}.

2.2.1. Terapia génica

Una estrategia que se está estudiando para bloquear la capacidad de entrada del VIH-1 en la célula a infectar es la edición del genoma humano o bien en células T CD4 + o bien en células madre hematopoyéticas autólogas mediante endonucleasas (ZDZ o TALENS) que eliminen el gen que codifica para el correceptor principal CCR5 ⁸⁰. Aún debe estudiarse la proporción de células que es necesario modificar y si el virus con tropismo hacia el otro correceptor emergería como contraataque con el tiempo.

También se plantea usar las células T-CAR o linfocitos T citotóxicos efectores que expresan el receptor antigénico quimérico (CAR en inglés), con resultados muy prometedores y avanzados en enfermedades como la leucemia linfocitaria aguda⁸³, para dirigir las células contra epítomos del VIH, buscando una respuesta inmune diseñada⁷¹.

2.2.2. Trasplante de genes ⁷¹

Ya que hasta el momento no se ha conseguido una vacuna profiláctica capaz de desencadenar bnAbs se está intentando conseguir por medio de inmunoprofilaxis vectorizada, siendo el virus adenoasociado el más común por su seguridad y eficacia en la expresión génica. Lo ideal sería encontrar super bnAbs dirigidos a todos los genotipos y mutantes para superar la diversidad de cepas y escapar de los mutantes, pero es difícil encontrarlo y se está intentando introducir múltiples bnAbs en el cuerpo al mismo tiempo.

Un grupo de investigación creó una inmunoadhesina de CD4 (eCD4-Ig) que impide las interacciones entre gp120, el receptor CD4 y el sitio de unión al correceptor. ECD4-Ig exhibe alta afinidad y capacidad de neutralización para todos los aislamientos del VIH- 1, así como frente a cepas mutantes resistentes a otros nAbs. Además, tiene una gran habilidad para mediar ADCC en comparación con algún bnAbs. En los últimos años, se han creado otras inmunoadhesinas: como (1) 2DLT, que inactiva los viriones libres, se une específicamente con gp120 y gp41 en la superficie del virión y desestabiliza la fusión intermedia de gp41, (2) 4Dm2m, que aumenta la afinidad y especificidad hacia la unión CD4-gp120 y presenta un gran potente efecto antiviral frente a un gran número de cepas del VIH-1.

Las inmunoadhesinas analizadas son más amplias que los bnAbs y por ello, es menos probable que desencadenen mutantes de escape; sin embargo, al ser artificiales es necesario que presenten una expresión in vivo a largo plazo.

2.3. Nuevas estrategias

Las últimas estrategias terapéuticas diseñadas para tratar de erradicar el VIH incluyen la administración intravenosa o subcutánea a individuos infectados de bnAbs específicos, la infusión de AC biespecíficos que se dirigen tanto a células T humanas como al virus y la vacunación combinada con un agonista de TLR7⁷¹.

Los ensayos clínicos de administración pasiva de bnAbs proporcionarán pruebas a cerca de la eficacia de estos Ac en la prevención y control de la infección.

Otro de los abordajes se base en realizar vacunas de nanopartículas que han demostrado ser versátiles y pueden tener un impacto significativo sobre el sistema inmune dependiendo del adyuvante, antígeno y la vía de administración empleada⁸⁴.

CONCLUSIONES

Tras la búsqueda bibliográfica realizada se han obtenido las siguientes conclusiones:

- ❖ A pesar de los múltiples ensayos clínicos realizados hasta el momento no se dispone de ningún régimen vacunal para la prevención ni erradicación del VIH.
- ❖ Las nuevas estrategias preventivas se basan en la búsqueda de combinaciones de anticuerpos ampliamente neutralizantes, diseño de inmunógenos basados en el linaje de células B, en mosaicos polivalentes o en el trímero nativo de la envuelta, así como en el empleo de vectores, con el objetivo de conseguir aumentar la maduración e intensidad de la respuesta generada. Por otro lado, las nuevas estrategias terapéuticas se basan en el empleo de la terapia génica para mutar fragmentos del provirus tratando de eliminar el reservorio viral, en la estrategia “de choque y muerte” y en el empleo de anticuerpos ampliamente neutralizantes con el objetivo de conseguir erradicar el virus o al menos controlar la infección sin necesidad de emplear ningún fármaco.
- ❖ A pesar de los múltiples abordajes terapéuticos para la prevención y curación, tanto funcional como esterilizante, de la infección por VIH aún estamos muy lejos de conseguir una vacuna capaz de controlar, erradicar o prevenir la infección. Dentro de estos abordajes la estrategia más prometedora a día de hoy quizás sea conseguir una combinación de anticuerpos ampliamente neutralizantes eficaz y duradera junto con otras estrategias capaces de potenciar la inmunidad.

BIBLIOGRAFÍA

¹ Organización Mundial de la Salud. VIH/Sida. Actualizado el 19 de Julio de 2018. Consultado a 3 de Febrero de 2019. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids>

² Cohen MS, Shaw GM, McMichael AJ and Haynes BF. Acute HIV-1 Infection. The New England Journal of Medicine. 2011; 364: 1943-1954.

³ Hoja informativa-Últimas estadísticas sobre el estado de la epidemia de sida. ONUSIDA. Consultado a 3 de Febrero de 2019. Disponible en: <https://www.unaids.org/es/resources/fact-sheet>

²Boza Cordero JJ. Revisión del Tema: Patogénesis del VIH/SIDA. Revista Clínica de la Escuela de Medicina UCR-HSJD. 2017; 1(1):28-46.

³Sierra-García de Quevedo JJ. Taxonomía y virus de la Inmunodeficiencia Humana. Revista Mexicana de Patología Clínica. 2004; 51 (1):1-3.

⁶Alcamí J. Ciclo replicativo del VIH. Dianas terapéuticas consolidadas y dianas potenciales. Revista de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2008;26 (12) 3-10

⁷Fanales-Belasio E, Raimondo M, Suligoi B and Butto S. HIV virology and pathogenetic mechanism of infection: a brief overview. Ann Ist Super Sanità. 2010; 46 (1) 5-14.

⁸Delgado R. Características virológicas del VIH. Revista de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2011; 29 (1): 58-65

⁹Tobón-Pereira JC, Toro-Montoya AI. Estudio del paciente con infección por VIH. Medicina & Laboratorio. 2008; 14 (1-2):12.

¹⁰Alcamí J. Avances en la inmunopatología de la infección por el VIH. Revista de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2004; 22(8) 486-496

¹¹Seghal M, Khan ZK, Talal AH and Jain P. Dendritic Cells in HIV-1 and HCV Infection: Can They Help Win the Battle? Virology: Research and Treatment. 2013: 4 1-25

¹²Alcamí J and Coiras M. Inmunopatogenia de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. Revista de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2011; 29 (3) 216-226

¹³Alcamí J. Vaccines Against Human Inmune Deficiency Virus /AIDS. FarmaJournal, 2016; 1 (2) 189-195

¹⁴Fleury H, Tumiotto. C, Bellecave P and Recordon-Pinson P. Therapeutic vaccine against HIV, viral variability, CTL epitopes and genetics of patients. AIDS Research and Human Retroviruses. 2018; 34 (1) 27-30.

¹⁵Deeks G.S, Overbaugh J, Philips A. and Buchbinder S. HIV infection. Nature Reviews 2015.

¹⁶Vzorov AN and Uryvaev LV. Requirements for the Induction of Broadly Neutralizing Antibodies against HIV-1 by Vaccination. Molecular Biology. 2017: 51(6) 819-829

¹⁷Hraber P, Seaman MS, Baller RT, Mascola JR, Montefiori DC and Korber BT. Prevalence of broadly neutralizing antibody responses during chronic HIV-1 infection. AIDS. 2014; 28 (2) 163-169

¹⁸Burton D.R. Advancing in an HIV vaccine; advancing vaccinology. Nature Reviews Immunology. 2018; 19 (77-78)

¹⁹Hu D, Wang A, Greenberg A, Li E, Mastro T, Young J et al. Placebo-Controlled Phase 3 Trial of a Recombinant Glycoprotein 120 Vaccine to Prevent HIV-1 Infection. The Journal of Infectious Diseases; 2005; 191 (5) 654-665

²⁰Pitisuttithum P, Gilbert P, Gurwith M, Heyward W, Martin M, Grinsven Fv et al. Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Efficacy Trial of Bivalent Recombinant Glycoprotein 120 HIV-1 Vaccine among Injection Drug Users in Bangkok, Thailand. The Journal of Infectious Diseases. 2006; 194(12) 1661-1671.

²¹Pollara J, Easterhoff D and Fouda D. Lessons learned from human HIV vaccine trials. Current Opinion in HIV and AIDS. 2017; 12(3) 216-221

²²Gao Y, McKay PF and Mann J. Advances in HIV-1 Vaccine Development. 2018;

²³Harriet L.R. HIV/AIDS Vaccines: 2018. Clinical Pharmacology & Therapeutics. 2018; 104 (6) 1062-1073

²⁴Balasubramanian P, Williams C, Shapiro M, Sinangil F, Higgings K, Nádas A et al. Functional Antibody Response Against V1V2 and V3 of HIV gp120 in the VAX003 and VAX004 Vaccine Trials. Nature. 2018; 8(1)

²⁵Hsu DC y O'Connell R. Progress in HIV vaccine development. Human vaccines and Immunotherapeutics. 2017; 13(5) 1018-1030.

- ²⁶ Escolano A, Dosenovic P and Nussenzweig M. Progress toward active or passive HIV-1 vaccination. *The Journal of Experimental Medicine*. 2017; 214 (1) 3-16
- ²⁷ Kim JH, Excler J-L and Michael NL. Lessons from the RV144 Thai Phase III HIV-1 Vaccine Trial and the Search for Correlates of Protection. *Annual Review of Medicine*. 2015; 66. 423-437.
- ²⁸ Hammer SM, Soblescyk ME, Jones H, Karuna S, Mulligan M, Grove D et al. Efficacy Trial of a DNA/rAd5 HIV-1 Preventive Vaccine. *The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE*. 2013; 369(22) 2083-2092
- ²⁹ Easterhoff D, Moody MA, Fera D, Cheng Hao, Ackerman M, Wiehe K et al. Boosting of HIV envelope CD4 binding site antibodies with long variable heavy third complementarity determining region in the randomized double-blind RV305 HIV-1 vaccine trial. *PLOS Pathology*; 2017. 13.
- ³⁰ Gray G, Andersen-Nissen E, Grunenberg N, Huang Y, Roux S, Laher F et al. HVTN 097: Evaluation of the RV144 Vaccine Regimen in HIV Uninfected South African Adults. 2014 ; 30 (1)
- ³¹ Bekker LG, Moodie Z, Grunenberg N, Laher F, Tomaras GD, Cohen KW et al. Subtype C ALVAC-HIV and bivalent subtype C gp120/MF59 HIV-1 vaccine in low-risk, HIV-uninfected, South African adults: a phase 1/ 2 trial. *Lancet*. 2018; 5 (1) 366-378.
- ³² Halper K. HVTN100 phase 1/ 2 vaccine trial results promising; phase 2b/3 trial to commence. *AIDS*; 2017: 31(2).
- ³³ Cohen K and Frahm N. Current views on the potential for development of HIV vaccine. *Expert Opinion Biology Therapy*. 2017; 17 (3) 295-303.
- ³⁴ Dennis RB and John RM. Antibody responses to envelope glycoproteins in HIV-1 infection. *Nature Immunology*. 2015; 16 (6) 571-576
- ³⁵ Burton D and Hangartner L. Broadly Neutralizing Antibodies to HIV and Their Role in Vaccine Design. *Annual Review of Immunology*. 2016; 34. 635-659.
- ³⁶ Rios A. Fundamental challenges to the development of preventative HIV vaccine. *Current Opinion in Virology*. 2018; 29. 26-32.
- ³⁷ Goo L, Chohan V, Nduati R and Overbaugh J. Early development of broadly neutralizing antibodies in HIV-1-infected infants. *Nature Medicine*. 2014; 20: 655-658
- ³⁸ Simonich CA, Doepker L, Ralph Duncan, Williams JA, Dhar Amrit, Yaffe Z et al. Rapid development of an infant-derived HIV-1 broadly neutralizing lineage. *BioRxiv*. 2018
- ³⁹ Pia D, Ervin E, Anna-Klara P, Andrew T, Matthew G, Harald H et al. Anti-HIV-1 B cell responses are dependent on B cell precursor frequency and antigen-binding affinity. *PNAS*. 2018: 115 (18) 4743-4748
- ⁴⁰ Andrabi R, Bhiman JN and Burton DR. Strategies for multi-stage neutralizing antibody-based HIV vaccine. *Current Opinion in Immunology*. 2018; 53. 143-151.
- ⁴¹ Bonsignori M, Zhou T, Sheng Z, Chen L, Gao F, Joyce Mg et al. Maturation Pathway from Germline to Broad HIV-1 Neutralizer of a CD4- Mimic Antibody. 2016; 165 (2) 449-463
- ⁴² Huang J, Kang BH, Pancera M, Hyun Lee J, Tong T, Feng Y et al. Broad and potent HIV-1 neutralization by a human antibody that binds the gp41-120 interface. *Nature*. 2014. 515 (7525) 138-142
- ⁴³ Bonsignori M, Liao H-X, Gao F, Williams WB, Alam SM y otros. Antibody-virus co-evolution in HIV infection: paths for HIV vaccine development. *Immunological Reviews*. 2017; 275(1) 145-160.
- ⁴⁴ Dorian-Rose NA, Schramm CA, Gorman J, Moore PL, Bhiman JN, Dekosky BJ et al. Developmental pathway for potent V1-V2-directed HIV-neutralizing antibodies. *Nature*. 2014; 509: 55-62
- ⁴⁵ Huang J, Kang BH, Pancera M, Hyun Lee J, Tong T, Feng Y et al. Broad and potent HIV-1 neutralization by a human antibody that binds the gp41-120 interface. *Nature*. 2014. 515 (7525) 138-142
- ⁴⁶ Zhang Z, Li S, Gu Y and Xia N. Antiviral Therapy by HIV-1 Broadly Neutralizing and Inhibitory Antibodies. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016.

- ⁴⁷ Pace C, Song R, Ochsenbauer C, Andrews C, Franco D, Yu J et al. Bispecific antibodies directed to CD4 domain 2 and HIV envelope exhibit exceptional breadth and picomolar potency against HIV-1. *PNAS*. 2013; 110 (33) 13540-13545
- ⁴⁸ Gardner M and Farzan M. Engineering antibody-like inhibitors to prevent and treat HIV-1 infection. *Current Opinion in HIV and AIDS*. 2017; 12(3) 294-301
- ⁴⁹ Kwong PD and Mascola JR. HIV-1 Vaccines Based on Antibody Identification, B Cell Ontogeny, and Epitope Structure. *Immunity Review*. 2018; 48(5) 855-871.
- ⁵⁰ Nkolola JP, Bricault CA, Cheung Ann, Shields J, Perry J, Kovacs JM et al. Characterization and Immunogenicity of Novel Mosaic M HIV-1 gp140 Trimer. *Journal of Virology*; 2014; 88 (17): 9538-9552.
- ⁵¹ HIV vaccines go to trial. *Nature medicine*. 2019; 25, 703.
- ⁵² Mauthner MG, Nkolola JP, Havenar-Daughton C, Shaw GM, Burton D, Barouch DH et al. Vaccine-Induced Protection from Homologous Tier 2 SHIV Challenge in Nonhuman Primates Depends on Serum-Neutralizing Antibody Titers. *Immunity*, 2019; 50. 1-12.
- ⁵³ Andersson A-M, Schwerdfeger M and Holst P. Virus-Like Vaccines against HIV. *Vaccines*. 2018; 6(1).
- ⁵⁴ A Study to Assess the Efficacy of a Heterologous Prime (Boost Vaccine Regimen of Ad26.Mos4.HIV and Aluminum Phosphate-Adjuvanted Clade C gp140 in Preventing Human Immunodeficiency Virus (HIV)-1 Infection in Women in Sub-Saharan Africa. NIH-Clinical Trials. Consultado a 10 de Mayo de 2019. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03060629>
- ⁵⁵ HIV-V-A004/IPCAVD009 (APPROACH). AVAC. Consultado a 10 mayo de 2019. Disponible en: <https://www.avac.org/trial/hiv-v-a004ipcavd-009-approach>
- ⁵⁶ Safety, Tolerability, and Immunogenicity Study of Homologous Ad26 Mosaic Vector Vaccine Regimens or Heterologous Ad26 Mosaic and MVA Mosaic Vector Vaccine Regimens With Glycoprotein 140 (gp140) for Human Immunodeficiency Virus (HIV) Prevention. NIH-Clinical Trials. Consultado a 10 de mayo de 2019. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02315703>
- ⁵⁷ HVTN 703/HPTN 081 (The AMP Study). AVAC. Consultado a 10 de mayo de 2019. Disponible en <https://www.avac.org/trial/hvtn-703hptn-081-amp-study>
- ⁵⁸ Evaluating the Safety and Efficacy of the VRC01 Antibody in Reducing Acquisition of HIV-1 Infection in Women. NIH-Clinical Trials. Consultado en 10 de mayo de 2019. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02568215>
- ⁵⁹ HVTN 704/HPTN 085 (The AMP Study). AVAC. Consultado a 10 de mayo de 2019. Disponible en: <https://www.avac.org/trial/hvtn-704hptn-085-amp-study>
- ⁶⁰ Evaluating the Safety and Efficacy of the VRC01 Antibody in Reducing Acquisition of HIV-1 Infection Among Men and Transgender Persons Who Have Sex With Men. NIH-Clinical Trials. Consultado a 10 de mayo de 2019. Disponible en : <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02716675>
- ⁶¹ A Phase 1, Randomized, Blinded, Dose-escalation Study of rAAV1-PG9DP Recombinant AAV. NIH-Clinical Trials. Consultado en 10 de mayo. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01937455>
- ⁶² HVTN106. AVAC. Consultado el 20 de junio de 2019. Disponible en: <https://www.avac.org/trial/hvtn-106>
- ⁶³ Cillo AR and Mellors JW. Which therapeutic strategy will achieve a cure for HIV-1? *Current Opinion in Virology*. 2016; 18:14-19
- ⁶⁴ Gupta R, Abdul-Jawad S, McCoy L, Mog HP, Peppas M, Salgado M et al. HIV-1 remission following CCR5 Δ32/ Δ32 haematopoietic stem-cell transplantation. *Nature*. 2019; 568, 244-248
- ⁶⁵ Peterson C and Kiem H-P. Lessons from London and Berlin: Designing A Scalable Gene Therapy Approach for HIV Cure. *Cell Stem Cell*. 2019; 24(5) 685-687.
- ⁶⁶ University College London. HIV remission achieved in second patient. *ScienceDaily*. 2019.

- ⁶⁷ Qu X, Wang P, Ding D, Wang X, Zhang G and Zhou X. Zinc finger nuclease: a new approach for excising HIV-1 proviral DNA from infected human T cells. *Molecular Biology Reports*. 2014; 41 (9) 5819-5827.
- ⁶⁸ Strong C, Guerra H, Matthew K, Roy N, Simpson L and Schiller M. Damaging the Integrated HIV Proviral DNA with TALENs. *PLOS One*. 2015; 10(5)
- ⁶⁹ Liao HK, Gu Y, Diaz A, Marlett J, Takahashi Y and Li M. Use of the CRISPR/Cas9 system as an intracellular defense against HIV-1 infection in human cells. *Nature Communications*. 2015; 10(6)
- ⁷⁰ Kaminski R, Chen Y, Fischer T, Tedaldi E, Napoli A and Zhang Y. Elimination of HIV-1 Genomes from Human T-lymphoid Cells by CRISPR/Cas9 Gene Editing. *Nature*. 2016
- ⁷¹ Pankrac J, Klein K and Mann Jamie. Eradication of HIV-1 latent reservoirs through therapeutic vaccination. *AIDS Research and Therapy*. 2017; 14(1)
- ⁷² Del Prete G, Oswald K, Lara A, Shoemaker R, Smedley J, Macallister R et al. Elevated Plasma Viral Loads in Romidepsin-Treated Simian Immunodeficiency Virus-Infected Rhesus Macaques on Suppressive Combination Antiretroviral Therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2015; 60(3) 1560-1572.
- ⁷³ Waibel M, Christiansen A, Hibbs M, Shortt J, Jones S, Simpson I et al. Manipulation of B-cell responses with histone deacetylase inhibitors. *Nature*. 2015; 27 (6).
- ⁷⁴ Cheid JF, Horwitz JA, Bar-On Y, Kreider E, Lu C-L, Lorenzi L et al. HIV-1 antibody 3BNC117 suppresses viral rebound in humans during treatment interruption. *Nature*. 2016; 535 (556-560).
- ⁷⁵ Kumar R, Qureshi H, Deshpande S and Bhattacharya J. Broadly neutralizing antibodies in HIV-1 treatment and prevention. *Therapeutic Advances in Vaccines and Immunotherapy*. 2018; 6(4)61-68.
- ⁷⁶ Shoofs T, Klein F, Braunschweig M, Kreider E, Deldmann A, Nogueira L et al. HIV-1 Therapy with Monoclonal Antibody 3BNC117 Elicits Host Immune Responses against HIV-1. *Science*. 2016; 352 (6288) 997-1001.
- ⁷⁷ Cafaro A, Tripiciano A, Sgadari C, Bellino S, Picconi O and Longo O. Development of a novel AIDS vaccine: the HIV-1 transactivator of transcription protein vaccine. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 2015; 15 (1) 13-29.
- ⁷⁸ Rice Andrew. The HIV-1 Tat protein: mechanism of action and target for HIV-1 cure strategies. *Current pharmaceutical design*. 2017; 23 (28) 4098-4102
- ⁷⁹ Xu W, Li H, Wang Q, Hua C, Zhang H and Li W. Advancements in Developing Strategies for Sterilizing and Functional HIV Cures. *BioMed Research International*. 2017
- ⁸⁰ Gray G, Laher F, Lazarus E, Enzoll B and Corey L. Approaches to Preventative and Therapeutic HIV vaccines. *Current Opinion in Virology*. 2016; 17 (1) 104-109
- ⁸¹ Martinez-Navio JM, P.Fuchs S, N. Pantry S, N. Duggan N, A. Lauer W, G. Rakasz E and otros. Long-term delivery of anti-HIV monoclonal antibodies with Gene Therapy Approach in Monkeys. HIV Research for Prevention conference (HIVR4P 2018). 2018.
- ⁸² A. Liberatore R and D.Ho D. The Miami Monkey: A sunny Alternative to the Berlin Patient. *Immunity*, 2019; 50(3).
- ⁸³ Zhao J, Song Y and Liu D. Clinical trials of dual-target CAR T cells, donor-derived CAR T cells, and universal CAR T cells for acute lymphoid leukemia. *Journal of Hematology & Oncology*. 2019; 12(1)
- ⁸⁴ Gao Y, Wijewardhana C and Mann J. Virus-Like Particle, Liposome and Polymeric Particle-Based Vaccines against HIV-1. *Frontiers in Immunology*. 2018; 9.