

**UNIVERSIDAD DE BARCELONA  
FACULTAD DE MEDICINA**

**DESARROLLO DE UNA VACUNA PREVENTIVA  
CONTRA EL VIH, BASADA EN BCG  
RECOMBINANTE**

**TESIS DOCTORAL: ELIAS B. PEZZAT SAID  
21 DE JUNIO DE 2005**

## **VI. Conclusiones**

## Conclusiones

---

### Conclusiones

1. El uso del vector de expresión micobacteriano pMV 261, que contenía el gen que codifica la proteína gp120 del VIH-1 (cepa HXBc2), regulado por el promotor fuerte hsp60 de BCG, se asoció al desarrollo de reajuste genético y interrupción de la expresión génica. Ésta es la primera vez que se ha caracterizado genéticamente dicha delección consenso de 900pb del gen gp120 VIH-1 al usar BCG como vector para vacuna contra el VIH-1, aunque este fenómeno ya era conocido y se había descrito para el mismo gen y para otros genes heterólogos cuando se había utilizado el mismo promotor.
2. Por el contrario, cuando se utilizaron los vectores de expresión micobacteriano pJH 222 y pJH 223, que contienen el gen que codifica la proteína gp120VIH-1 (cepa HXBc2), regulado por el promotor  $\alpha$ -antígeno de *Mycobacterium tuberculosis*, éste protege y evita el reajuste genético de dicho gen, permitiendo su expresión génica. Un segundo factor que evita el reajuste genético en estas cepas, es la presencia en el vector de expresión del gen complementario para la síntesis de lisina en las cepas de BCG lisina auxotróficas.
3. La respuesta inmune celular específica frente al VIH-1 se evaluó en dos estudios *in vivo* realizados en ratones a los que se les inmunizó con una dosis única de BCG:VIHA y administrándose en el segundo una dosis de refuerzo con el Virus Vaccinia Ankara modificado(VAM):VIHA. En ambos estudios se detectó una respuesta inmune celular *in vivo* moderada con las técnicas de tinción de tetrámeros de los linfocitos CD8+ y la tinción intracelular de interferón- $\gamma$  de los linfocitos CD8+, siendo equiparable a la inducida por el VAM:VIHA.
4. La determinación de la expresión del RNAm de IFN- $\gamma$  de ratón mediante la técnica de RT-PCR, usando como células efectoras esplenocitos y/o

## Conclusiones

---

5. linfocitos de ganglios linfáticos mesentéricos de ratón, puede ser un método más sensible para la determinación de la producción de IFN- $\gamma$  específica frente al VIH-1 a nivel molecular y para diferenciar la producción endógena de IFN- $\gamma$  por parte de BCG (cepa salvaje) de la específica producida por BCG recombinante medida por IFN- $\gamma$  ELISPOT.
  
6. Finalmente, los resultados de estos estudios *in vivo*, justifican proseguir la evaluación preclínica de la cepa BCG:VIHA recombinante en diferentes condiciones (dosis y vía de administración) y estrategias de inmunización (inducción y refuerzo) con otros vectores con el fin de aumentar la respuesta específica inicial frente al VIH, inducida por BCG recombinante.