

La respuesta inmunológica contra el virus del dengue y la vacunación

Patricia Cervantes Powell,* José Ramos Castañeda**

* Sanofi-Pasteur, México.

** Instituto Nacional de Salud Pública, México. Center for Tropical Diseases. University of Texas-Medical Branch.

RESUMEN

El dengue es la enfermedad viral transmitida por vector de mayor incidencia mundial. A fines de 2015, la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) concedió el registro a la vacuna contra el dengue DENVAXIA® del Laboratorio Sanofi-Pasteur para su aplicación en México. Después de este registro, la Organización Mundial de la Salud recomendó, con ciertas restricciones, la aplicación de esta vacuna en los esquemas de vacunación nacionales; el Consejo Nacional de Vacunación (CONAVA) de México también estableció recomendaciones para la implementación de esta vacuna en un esquema público de vacunación. La compañía fabricante presentó evidencia que demuestra que la eficacia y la seguridad de DENVAXIA® fueron adecuadas. Sin embargo, diversas situaciones han generado controversia sobre la aplicación de esta vacuna como política pública. En este trabajo se describe el comportamiento inmunológico de la infección por los cuatro serotipos del virus del dengue (DENV), haciendo énfasis en los relacionados con las objeciones hechas al desempeño de DENVAXIA®.

Palabras clave: Dengue, vacunación, serotipos, flavivirus.

The immune response against dengue virus and vaccination

ABSTRACT

Dengue fever is the world's most prevalent vector-borne viral disease. At the end of 2015, the Federal Commission for Protection against Health Risks (COFEPRIS) granted registration of the DENVAXIA® dengue vaccine from the Sanofi-Pasteur Laboratory for application in Mexico. Following this registration, the World Health Organization recommended, with certain restrictions, the application of this vaccine in national vaccination schemes; Mexico's National Vaccination Council (CONAVA) also established recommendations for the implementation of this vaccine in a public vaccination scheme. The manufacturer presented evidence demonstrating that the effectiveness and safety of DENVAXIA® were adequate. However, several situations have generated controversy over the application of this vaccine as a public policy. This work describes the immunological behavior of the infection by the four serotypes of the dengue virus (DENV), with emphasis on those related to objections made to the performance of DENVAXIA®.

Key words: Dengue fever, vaccination, serotypes, flavivirus.

INTRODUCCIÓN

El dengue es la enfermedad viral transmitida por vector de mayor incidencia mundial, ya que anualmente se presentan alrededor de 100 millones de casos.¹ En México, se observan picos epidémicos de más de 60,000 casos y desde 1995 el número de casos complicados que ameritan hospitalización se ha incrementado.²

Hasta hace poco, el control de la transmisión de este virus consistía únicamente en el control del vector; sin embargo, desde fines de 2015, la Comisión

Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) concedió el registro a la vacuna DENVAXIA® del Laboratorio Sanofi-Pasteur para su aplicación en México.³ A este registro siguieron la recomendación de la Organización Mundial de la Salud para la aplicación de esta vacuna en los esquemas de vacunación nacionales con ciertas restricciones³ y las recomendaciones del Consejo Nacional de Vacunación (CONAVA) de México para la implementación de esta vacuna en un esquema público de vacunación.⁴

La evidencia presentada por la compañía fabricante demostró que la eficacia y la seguridad de DENVAXIA® fueron adecuadas.⁵ No obstante, algunos aspectos de la eficacia diferencial entre serotipos y la tendencia de mayor frecuencia de hospitalizaciones en menores de seis años que

Financiamiento: Ninguno. Conflicto de intereses: Ninguno.

Este artículo puede ser consultado en versión completa en <http://www.medigraphic.com/rliip>

ocurrió durante el primer año de seguimiento hospitalario, han generado controversia sobre la aplicación de esta vacuna como política pública.⁶

En este trabajo se describen los conceptos que explican el comportamiento inmunológico de la infección por los cuatro serotipos del virus del dengue (DENV), poniendo énfasis en aquéllos relacionados con las objeciones hechas al desempeño de DENGIVAXIA®.

EL VIRUS DEL DENGUE

Para comprender la respuesta inmunológica contra el DENV es necesario conocer los genes del virus y describir brevemente sus funciones.

El DENV es un virus del género flavivirus perteneciente a la familia *Flaviviridae*; algunos flavivirus de interés clínico son: el virus Zika, el virus fiebre amarilla (YF), el virus West Nile, entre otros. Todos los flavivirus tienen un genoma de ARN de cadena sencilla y polaridad positiva, esto es que sirven a la vez de ARN mensajero y están constituidos por tres proteínas estructurales C, preM/M y E y por siete proteínas no estructurales NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b y NS5.⁷ Las proteínas que generan una respuesta inmunológica celular son NS3 y NS5; mientras que las proteínas que producen una respuesta humoral son preM/M, E y NS1.⁷

NS3 es una proteína con múltiples funciones, algunas relacionadas con la replicación del genoma y otras relacionadas con el procesamiento de la poliproteína viral. NS5 es la proteína encargada de la copia del genoma viral. PreM/M es una proteína que sirve de chaperona de la proteína E, durante el trayecto de salida del virión es procesada en la red trans-Golgi (TGN) por una proteasa celular parecida a furina, por lo que los viriones maduros carecen del extremo aminoterminal (péptido preM).⁸ La proteína E es responsable de la unión e internalización del virus a la célula, por tal motivo los epítopes en esta proteína están relacionados con la neutralización (ver más adelante). Esta proteína está formada de tres dominios estructurales, dos de ellos no lineales y un tercero formado por una estructura parecida al dominio de inmunoglobulina (dominios I, II y III); en el dominio III se encuentran los determinantes antigénicos de serotipo y en los dominios I y II epítopes de reacción cruzada.⁹ No se conoce mucho sobre la función de la proteína NS1, aunque se sabe que es necesaria para que se lleve a cabo la correcta replicación del genoma; esta proteína viral se excreta, pero hay una proporción que se mantiene asociada a

la membrana plasmática; se sabe que los anticuerpos dirigidos contra esta proteína son neutralizantes y que están involucrados en la activación de células ADCC (*antibody dependent cytotoxic cells*).¹⁰

El ciclo replicativo del DENV inicia cuando el virus interactúa en la membrana plasmática de la célula blanco con un receptor cuya identidad no ha sido reconocida, incluso si la molécula DC-SIGN pudiera estar involucrada.¹¹ Una vez unida al receptor, la partícula viral es internalizada por endocitosis hasta una región cercana al retículo endoplásmico (RE). En su viaje de la membrana al RE, la vesícula va disminuyendo su pH interno, lo cual promueve un cambio conformacional en la proteína E que permite la fusión de las membranas del virus y de la vesícula endocítica, de tal forma que la nucleocápside es liberada al citoplasma donde se desestabiliza y libera el genoma.¹¹ Una vez que el genoma se pone en contacto con los ribosomas del RE, las proteínas virales son traducidas, entre ellas las que están relacionadas con la replicación viral. Así pues, el virus inmaduro es ensamblado en el RE y viaja a través del RE, luego al Golgi y finalmente a la TGN donde la proteína preM es procesada por la proteasa celular furina justo antes de salir al medio exterior.¹¹

INMUNIDAD CELULAR

Aun cuando el dengue curse con un cuadro grave, se presenta como un episodio agudo autolimitado, aunque, desde luego, si no es tratado de forma eficaz, puede ocasionar la muerte.¹² De tal manera que la participación de la respuesta celular está prácticamente limitada al control de la dispersión de la infección y a la depuración del virus. Sin embargo, algunas moléculas del MHC I o II han sido asociadas a protección y se han descrito células CD8+ con fenotipos antivirales.¹³ DENGIVAXIA® está constituida de cuatro virus quiméricos, la región que genera anticuerpos de manera predominante, preM/M-E está clonada en el contexto de la región no estructural de la cepa vacunal del virus fiebre amarilla 17D, así que se especula que las clonas de CD4+ o CD8+ específicas de fiebre amarilla no coadyuvan eficazmente con las clonas de células B específicas de DENV para generar una respuesta óptima protectora.¹⁴ No obstante, las pruebas clínicas muestran que las viremias, en los casos de aquéllos vacunados que se infectaron, son de la misma magnitud que de los controles no vacunados.¹⁵

Se considera que en determinadas circunstancias, las clonas de reconocimiento cruzado pueden estar

relacionadas con el desarrollo de manifestaciones graves como la fuga de plasma y el choque hipovolémico (ver más adelante tormenta de citocinas).¹⁶ Pese a ello, estas observaciones son controversiales, puesto que la proporción de células T de reacción cruzada es pequeña y de hecho hay una disminución general de células T por apoptosis durante la infección.¹⁷ En todo caso, la vacunación con DENG VAXIA® teóricamente debe disminuir el riesgo de desarrollo de este tipo de manifestaciones, ya que genera clonas tanto serotipo específicas para los cuatro serotipos virales como aumento de células T de reacción cruzada. En un artículo reciente se reportó que el perfil de citocinas generado por la vacunación con DENG VAXIA® comparado con el perfil de citocinas producido por sujetos inoculados con placebo e infectados por DENV es muy similar.¹⁸

Parece claro que los sujetos que desarrollan manifestaciones graves tienen viremias altas y un perfil de citocinas proinflamatorias, en particular TNF α , IL-6 e IL-8; estas citocinas tienen como característica común que alteran la permeabilidad vascular y promueven el estado de choque.¹⁹ Se le llama tormenta de citocinas a una reacción inmunológica potencialmente fatal que consiste en una retroalimentación entre las células inmunológicas, incluyendo células presentadoras de antígeno y las citocinas generadas; en otras palabras a mayor reacción celular mayor concentración de citocinas. En el caso de las infecciones por DENV, la estimulación de la respuesta de memoria heteróloga por la infección de un serotipo distinto resulta en la producción de citocinas que a su vez estimulan la proliferación de células de memoria y el incremento en la concentración de esas citocinas, de tal suerte que este círculo no se detiene hasta que la estimulación antigénica cesa, aunque por supuesto, la respuesta puede desembocar en la muerte del sujeto que desarrolla esta patología.¹⁶ No obstante, los fenómenos de fuga plasmática, disminución del número de plaquetas y la hipotensión también pueden observarse durante infecciones primarias, por lo que la tormenta de citocinas es actualmente un elemento más que puede explicar la patología.

INMUNIDAD HUMORAL

Jordi Casals-Ariet, a finales de la década de 1950, estableció la taxonomía de los arbovirus (virus transmitidos por artrópodos) basándose en las reacciones serológicas entre diversos virus, de tal forma que bajo el razonamiento simple de que los virus que

reaccionaban de manera similar con un suero de referencia pertenecían al mismo grupo, se desarrolló la taxonomía de los flavivirus, que años después fue corroborada por análisis filogenéticos con base en la secuencia de nucleótidos del genoma.²⁰

Las reacciones serológicas entre los miembros del género de los flavivirus definen determinantes antigénicos de grupo, el suero reconoce a todos los flavivirus; determinantes antigénicos de complejo, en los que el suero reconoce a algunos flavivirus, pero no a todos, por ejemplo el serocomplejo de encefalitis japonesa que incluye el virus West Nile, el virus Kunji y el mismo virus *Japanese Encephalitis*, entre otros; y determinantes antigénicos de tipo, cuando el suero reconoce específicamente a un solo virus, por ejemplo virus del dengue serotipo 1. Es posible encontrar sueros con reacción intermedia entre determinantes antigénicos de grupo y complejo que reciben el nombre de supercomplejo, entrecomplejo y de tipo, llamados de subcomplejo.²¹

Así pues los anticuerpos generados después de una primera infección por el DENV serán una mezcla de anticuerpos contra grupo, complejo y de tipo o desde otro punto de vista, serán una mezcla de anticuerpos de reacción cruzada o heterotípicos y anticuerpos específicos de serotipo.

Se asume que los anticuerpos de tipo específico generan protección de por vida, mientras que los anticuerpos de reacción cruzada están relacionados con la patología de los casos graves; ambos tipos de anticuerpos permanecen durante toda la vida del sujeto.²² De acuerdo con el comportamiento epidemiológico del dengue, se supone que existe un tipo de anticuerpos de reacción cruzada que son protectores, estos anticuerpos son los responsables del fenómeno de protección cruzada de corta duración, la cual puede durar entre nueve y 12 meses.²³ Evidencia reciente desafía estos conceptos, dado que se ha determinado que la respuesta cruzada es esencial para la protección del sujeto a una infección por otro serotipo de DENV, que hay reinfecciones por el mismo serotipo y que en realidad no existen estos anticuerpos de reacción cruzada de corta duración, puesto que es muy difícil determinar si lo que se observa es en verdad protección o si es infección inaparente.^{24,25}

En cuanto a las clases de los anticuerpos, las infecciones, sean primarias o secundarias, generan perfiles esperados al día 10 del inicio de la fiebre, esto es: infecciones primarias IgM+ e infecciones secundarias IgM+/IgG +. Aparentemente no hay relación con los perfiles de isotipos de IgG, pues

tanto en infecciones primarias como en secundarias la IgG1 es la más abundante.²⁶

No se conoce con precisión la proporción de anticuerpos de tipo específico con respecto a los anticuerpos de reacción cruzada; sin embargo, se estima que los de reacción cruzada se encuentran siempre en mayor proporción.²⁷ De tal forma que la respuesta inmunológica humoral de reacción cruzada explica fenómenos asociados a relación hospedero virus, como la ausencia o desarrollo de síntomas en una infección hasta los patrones de transmisión del dengue en la población humana.^{27,28}

El fenómeno más estudiado relacionado con los anticuerpos de reacción cruzada que se generan durante una infección por DENV es la potenciación inmunológica (ADE por sus siglas en inglés). El concepto fue desarrollado a fines de la década de 1970 por Scott Halstead y establece que a diluciones subneutralizantes, el suero de un sujeto infectado por DENV ocasiona una superinfección de las células blanco (células de la serie monocito-macrófago y células dendríticas), lo que resulta en una mayor carga viral.²⁹ Dado que al diluir el suero se pierde la actividad neutralizante y paralelamente los anticuerpos que reconocen el tipo, se asume que los anticuerpos responsables del ADE son los de reacción cruzada.³⁰ Por otro lado, debido a que el único factor pronóstico de desarrollo de manifestaciones graves del dengue (fiebre hemorrágica por dengue/dengue grave) es la viremia elevada y que el ADE supone una viremia incrementada, se cree que el ADE es el mecanismo que determina la patología de las infecciones graves por DENV.³¹ Como la presencia del anticuerpo de reacción cruzada es necesaria, una consecuencia del ADE es que los casos graves deberían ocurrir en infecciones secundarias o postsecundarias, de allí la creencia general de que el dengue es más grave en la segunda infección.

Experimentos *in vitro* confirman la existencia del fenómeno y en algunos modelos animales la transferencia pasiva de anticuerpos produce altas viremias y fenómenos relacionados con la patología en humanos; no obstante, no hay una corroboración definitiva de que el ADE opere *in vivo* en humanos, ni de que el riesgo de manifestaciones graves sea mayor en infecciones secundarias que en infecciones primarias como debería suceder si el ADE determinara la patología.³² A pesar de la asociación entre las infecciones secundarias por DENV y dengue grave, la mayoría de las infecciones secundarias son subclínicas o leves, por lo que los factores determinantes de la gravedad siguen siendo poco claros. Lo

que se ha observado es que las reinfecciones con intervalos pequeños entre la primera y la segunda, por lo general presentan cuadros clínicos más leves que aquéllas con intervalos mayores de 2.6 años.³³

Con todo, la hipótesis del ADE ha guiado el diseño de las estrategias de desarrollo de vacunas contra el dengue. En virtud de que la infección primaria por el virus salvaje sólo confiere inmunidad protectora contra el serotipo causante de la infección, los anticuerpos de reacción cruzada estimularían el ADE en la segunda infección provocada por un serotipo diferente; así pues el consenso de la comunidad científica fue que el candidato a vacuna contuviera los cuatro serotipos del virus para evocar la inmunidad humoral protectora en la vacunación.³⁴ DENGIVAXIA® y los candidatos a vacuna que actualmente están en desarrollo tienen esa característica. Por otra parte, los ensayos clínicos han mostrado que DENGIVAXIA® protege en 93% contra el dengue grave cuando se aplica en mayores de nueve años.¹⁵

Finalmente, no se sabe con exactitud la duración de la respuesta inmunológica humoral protectora contra el DENV, aunque estudios llevados a cabo en Nicaragua y Perú sugieren que la protección en cuanto a la presentación de síntomas podría durar hasta aproximadamente tres años; sin embargo, la protección contra infección es mucho menor que ese tiempo, de hecho se han documentado reinfecciones por el mismo serotipo, lo cual sugiere que la inmunidad contra el DENV, aun de tipo específico, no es de por vida.^{35,36}

REFERENCIAS

1. Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, Moyes CL et al. The global distribution and burden of dengue. *Nature*. 2013; 496 (7446): 504-507.
2. Dantés HG, Farfán-Ale JA, Sarti E. Epidemiological trends of dengue disease in Mexico (2000-2011): a systematic literature search and analysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014; 8 (11): e3158.
3. World Health Organization. Dengue vaccine: WHO position paper, July 2016-recommendations. *Vaccine*. 2017; 35: 1200-1201.
4. Publica SMdS. La Sociedad Mexicana de Salud Pública se enorgullece de haber participado en la integración de una nueva política pública: la introducción de la vacuna de dengue en México. 2016.
5. Godói IP, Lemos LL, de Araújo VE, Bonoto BC, Godman B, Guerra Júnior AA. CYD-TDV dengue vaccine: systematic review and meta-analysis of efficacy, immunogenicity and safety. *J Comp Eff Res*. 2017; 6: 165-180.
6. Halstead SB. Licensed dengue vaccine: public health conundrum and scientific challenge. *Am J Trop Med Hyg*. 2016; 95: 741-745.

7. Lindenbach BD, Rice CM. Molecular biology of flaviviruses. *Adv Virus Res.* 2003; 59: 23-61.
8. Malavige GN, Ogg GS. T cell responses in dengue viral infections. *J Clin Virol.* 2013; 58: 605-611.
9. Mukhopadhyay S, Kuhn RJ, Rossmann MG. A structural perspective of the flavivirus life cycle. *Nat Rev Microbiol.* 2005; 3: 13-22.
10. Amorim JH, Alves RP, Boscardin SB, Ferreira LC. The dengue virus non-structural 1 protein: risks and benefits. *Virus Res.* 2014; 181: 53-60.
11. Rodenhuis-Zybert IA, Wilschut J, Smit JM. Dengue virus life cycle: viral and host factors modulating infectivity. *Cell Mol Life Sci.* 2010; 67 (16): 2773-2786.
12. Guzman MG, Harris E. Dengue. *Lancet.* 2015; 385: 453-465.
13. Comber JD, Karabudak A, Huang X, Piazza PA, Marques ET, Philip R. Dengue virus specific dual HLA binding T cell epitopes induce CD8+ T cell responses in seropositive individuals. *Hum Vaccin Immunother.* 2014; 10: 3531-3543.
14. Flipse J, Smit JM. The complexity of a dengue vaccine: a review of the human antibody response. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015; 9: e0003749.
15. Hadinegoro SR, Arredondo-Garcia JL, Capeding MR, Deseda C, Chotpitayasunondh T, Dietze R et al. Efficacy and long-term safety of a dengue vaccine in regions of endemic disease. *N Engl J Med.* 2015; 373: 1195-1206.
16. Srikiatkachorn A, Mathew A, Rothman AL. Immune-mediated cytokine storm and its role in severe dengue. *Semin Immunopathol.* 2017; 39 (5): 563-574.
17. Yang W, Yan H, Ma Y, Yu T, Guo H, Kuang Y et al. Lower activation-induced T-cell apoptosis is related to the pathological immune response in secondary infection with hetero-serotype dengue virus. *Immunobiology.* 2016; 221: 432-439.
18. Harenberg A, de Montfort A, Jantet-Blaudez F, Bonaparte M, Boudet F, Saville M et al. Cytokine profile of children hospitalized with virologically-confirmed dengue during two phase III vaccine efficacy trials. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016; 10: e0004830.
19. Iani FC, Caldas S, Duarte MM, Cury AL, Cecilio AB, Costa PA et al. Dengue patients with early hemorrhagic manifestations lose coordinate expression of the anti-inflammatory cytokine IL-10 with the inflammatory cytokines IL-6 and IL-8. *Am J Trop Med Hyg.* 2016; 95: 193-200.
20. Casals J. Arboviruses. *Am J Clin Pathol.* 1972; 57: 762-770.
21. Calisher CH, Karabatsos N, Dalrymple JM, Shope RE, Porterfield JS, Westaway EG et al. Antigenic relationships between flaviviruses as determined by cross-neutralization tests with polyclonal antisera. *J Gen Virol.* 1989; 70 (Pt 1): 37-43.
22. Guzman MG, Gubler DJ, Izquierdo A, Martinez E, Halstead SB. Dengue infection. *Nat Rev Dis Primers.* 2016; 2: 16055.
23. Snow GE, Haaland B, Ooi EE, Gubler DJ. Review article: Research on dengue during World War II revisited. *Am J Trop Med Hyg.* 2014; 91: 1203-1217.
24. Priyamvada L, Cho A, Onlamoon N, Zheng NY, Huang M, Kovalenkov Y et al. B cell responses during secondary dengue virus infection are dominated by highly cross-reactive, memory-derived plasmablasts. *J Virol.* 2016; 90: 5574-5585.
25. Katzelnick LC, Montoya M, Gresh L, Balmaseda A, Harris E. Neutralizing antibody titers against dengue virus correlate with protection from symptomatic infection in a longitudinal cohort. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2016; 113: 728-733.
26. Koraka P, Suharti C, Setiati TE, Mairuhu AT, Van Gorp E, Hack CE et al. Kinetics of dengue virus-specific serum immunoglobulin classes and subclasses correlate with clinical outcome of infection. *J Clin Microbiol.* 2001; 39: 4332-4338.
27. Rothman AL, Medin CL, Friberg H, Currier JR. Immunopathogenesis versus protection in dengue virus infections. *Curr Trop Med Rep.* 2014; 1: 13-20.
28. Adams B, Holmes EC, Zhang C, Mammen MP, Jr., Nimmannitya S, Kalayanarooj S et al. Cross-protective immunity can account for the alternating epidemic pattern of dengue virus serotypes circulating in Bangkok. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006; 103: 14234-14239.
29. Halstead SB. Observations related to pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. VI. Hypotheses and discussion. *Yale J Biol Med.* 1970; 42: 350-362.
30. De Alwis R, Williams KL, Schmid MA, Lai CY, Patel B, Smith SA et al. Dengue viruses are enhanced by distinct populations of serotype cross-reactive antibodies in human immune sera. *PLoS Pathog.* 2014; 10: e1004386.
31. Endy TP, Nisalak A, Chunsuttiwat S, Vaughn DW, Green S, Ennis FA et al. Relationship of preexisting dengue virus (DV) neutralizing antibody levels to viremia and severity of disease in a prospective cohort study of DV infection in Thailand. *J Infect Dis.* 2004; 189: 990-1000.
32. Endy TP. Human immune responses to dengue virus infection: lessons learned from prospective cohort studies. *Front Immunol.* 2014; 5: 183.
33. Anderson KB, Gibbons RV, Cummings DA, Nisalak A, Green S, Libraty DH et al. A shorter time interval between first and second dengue infections is associated with protection from clinical illness in a school-based cohort in Thailand. *J Infect Dis.* 2014; 209: 360-368.
34. Moi ML, Takasaki T, Kurane I. Human antibody response to dengue virus: implications for dengue vaccine design. *Trop Med Health.* 2016; 44: 1.
35. Forshey BM, Reiner RC, Olkowski S, Morrison AC, Espinoza A, Long KC et al. Incomplete Protection against Dengue Virus Type 2 Re-infection in Peru. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016; 10: e0004398.
36. Forshey BM, Stoddard ST, Morrison AC. Dengue viruses and lifelong immunity: reevaluating the Conventional Wisdom. *J Infect Dis.* 2016; 214: 979-981.