

## AIDS EN HET GEBRUIK VAN NON-HUMANE PRIMATEN ALS PROEFDIEREN IN HET ONDERZOEK

D. Criel<sup>1</sup>, A. Decostere<sup>2</sup>, P.J. Heidt<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Vakgroep Geneeskunde en Klinische Biologie van de Kleine Huisdieren

<sup>2</sup>Vakgroep Pathologie, Bacteriologie en Pluimveeziekten

Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent

Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

<sup>3</sup>BPRC, Lange Kleiweg 139, NL-2288-GJ Rijswijk

delphine.criel@UGent.be

### SAMENVATTING

**AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome), veroorzaakt door het Human Immunodeficiency Virus (HIV), vormt voor de mens een probleem waarvan de omvang bij het begin van de epidemie sterk onderschat werd. Om snel vooruitgang te boeken in de ontwikkeling van een felbegeerd AIDS-vaccin, werd gezocht naar een geschikt diermodel voor AIDS. Sterk gelijkend op HIV is SIV (Simian Immunodeficiency Virus), het immunodeficiëntievirus bij non-humane primaten. Het gebruik van deze proefdieren, voornamelijk makaken en chimpansees, laat een analyse toe van de pathogenese van AIDS en een evaluatie van kandidaat-vaccins. De publieke opinie over het gebruik van non-humane primaten in dierexperimenteel onderzoek is echter ongunstig, in het bijzonder waar het chimpansees betreft. De sterke gelijkenissen tussen de mens en deze apensoort vormen belangrijke argumenten om het gebruik van deze diersoort in laboratoria zoveel mogelijk te beperken. Dit overzichtsartikel bespreekt de diverse facetten van het gebruik van non-humane primaten in het AIDS-onderzoek. Ook de ethische problemen bij het gebruik van mensapen worden niet gemedend.**

### INLEIDING

AIDS is een virale infectieziekte die zich voor het eerst openbaarde in de tachtiger jaren en zich sindsdien razendsnel (met name in de derdewereldlanden) heeft verspreid. Ondanks pogingen om de uitbreiding van het AIDS-virus tegen te gaan, blijft het aantal nieuwe infecties nog steeds onrustwekkend stijgen. Het aantal geïnfecteerden overstijgt ruim de schattingen die een decennium geleden gemaakt werden. In 2002 werden 5 miljoen mensen besmet met HIV, wat het totaal aantal HIV-positieven op ongeveer 42 miljoen brengt. Sinds het begin van de pandemie tot 2002 zijn reeds 22 miljoen mensen gestorven aan de gevolgen van AIDS (bron: [www.avert.org](http://www.avert.org)).

Ook in België is de evolutie van het aantal nieuwe seropositieve personen ongunstig. Na een aanhoudende daling gedurende vijf jaar, heeft men tussen 1997 en 2000 een stijgende trend vastgesteld van de nieuw gediagnosticeerde HIV-infecties (38%). In 2002 waren er gemiddeld 2,7 nieuwe HIV-infecties

per dag. Bovendien komen de gerapporteerde cijfers sinds 2000 (981 nieuwe infecties in 2002) dicht in de buurt van de waargenomen piek in 1992 (977 nieuwe infecties) (bron: Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid).

AIDS is de vierde belangrijkste doodsoorzaak op wereldniveau (Haigwood, 1999; Piot *et al.*, 2001). Niet enkel de cijfers zijn alarmerend: het AIDS-virus spreidt zich ook geografisch steeds verder uit. Waar vroeger vooral Afrika een 'hot spot' van infectie was, kent men nu ook in India, China en de voormalige Soviet-Unie hoge aantallen nieuw-geïnfecteerden (Hahn *et al.*, 2000; Mooij en Heeney, 2002).

Hoewel de ontwikkelde antivirale drugs (voornamelijk HAART: highly active antiretroviral therapy) de morbiditeit en mortaliteit bij AIDS-patiënten duidelijk doen dalen (Murphy *et al.*, 2001), zullen zij de dreiging van AIDS niet kunnen afwenden. HIV wordt frequent resistent tegen de gebruikte geneesmiddelen en op lange termijn is deze medicatie toxisch voor de patiënt (Kent *et al.*, 2001). Zodra de

behandeling stopt, begint de virusreproductie weer als voorheen (Haigwood, 1999). De medicatie is bovendien zeer duur en bijgevolg niet toegankelijk voor het overgrote deel (90%) van de HIV-geïnficeerden (Letvin, 1998; Barouch en Letvin, 2000).

Tegenwoordig wordt AIDS door de media nog maar weinig onder de aandacht gebracht. HIV vormt echter een sluipend probleem, waarvoor niet onmiddellijk een oplossing te verwachten valt. Een efficiënt vaccin tegen AIDS zou ons moeten helpen de epidemie onder controle te krijgen.

## HIV VERSUS SIV

### Virologische klassering

HIV (human immunodeficiency virus), het virus dat bij de mens AIDS veroorzaakt, is nauw verwant aan SIV, het simian immunodeficiency virus, dat voorkomt bij non-humane primaten (Sharp *et al.*, 2001). HIV en SIV behoren net zoals BIV, FIV, visna-maedi en het capriene arthritis encefalitis virus tot de groep van de lentivirussen ('trage virussen', zo genoemd wegens het lange interval tussen de initiële infectie en het verschijnen van de eerste symptomen) (Lamb-Wharton *et al.*, 1997). Lentivirussen vormen zelf een subgroep binnen de retrovirussen. Als retrovirus bestaat hun genoom uit drie belangrijke structurele genen: *gag*, *pol* en *env*, respectievelijk coderend voor het virion kapsied proteïne, virale enzymen en enveloppe glycoproteïnen (zoals gp120 en gp41). Bovendien codeert hun genoom ook voor een hele reeks proteïnen met complexe regulatorische functies (Geretti, 1999).

De morfologie van HIV en SIV is erg gelijkend. Dit heeft men vastgesteld met behulp van elektronenmicroscopie en bio- en immunochemische analyse van virioncomponenten (Ondoa, 2001). Ondanks de gelijkende nucleotidensequenties verschillen de enveloppen van SIV en HIV; men kan beide dus niet onvoorwaardelijk met elkaar vergelijken (Letvin *et al.*, 2002).

Het zoeken naar HIV-gerelateerde virussen heeft geleid tot de identificatie van 18 speciespecifieke SIV's (Hahn *et al.*, 2000; Ondoa, 2001). Deze SIV's hebben zich gedurende een lange periode aangepast aan hun gastheer en veroorzaken in deze een productieve, maar niet-pathogene infectie. Enkel wanneer een SIV een nieuw gastheerspecies besmet, ontstaat immunodeficiëntie (Whetter *et al.*, 1999).

De primaten lentivirussen (HIV en SIV) worden onderverdeeld in vijf fylogenetische lijnen. HIV zelf wordt op basis van genetische analyse opgesplitst in twee typen: HIV-1, verantwoordelijk voor het grootste deel van de humane AIDS-infecties en HIV-2, voornamelijk geïsoleerd bij West-Afrikaanse patiënten.

HIV-2 is terug te vinden in dezelfde groep als SIVsm (het SIV van de sooty mangabey, *Cercocebus atys*) en SIVmac (het SIV van de makaak, genus *Macaca*). Het staat vast dat de sooty mangabey het reservoir is van HIV-2. De zoönotische oorsprong van HIV-2 wordt bewezen door de fylogenetische relatie en sterk gelijkende genoomstructuur. Bovendien situeert de natuurlijke habitat van de sooty mangabey zich in gebieden in West-Afrika waar HIV-2 endemisch is (Hahn *et al.*, 2000). Vele van de HIV-2-geïnficeerde mensen ontwikkelen geen AIDS (Nathanson en Mathieson, 1999a).

De oorsprong van HIV-1, de meer virulente stam van HIV, is veel moeilijker te achterhalen. Ondanks de identieke genomische organisatie van SIVcpz (SIV van de chimpansee of *Pan troglodytes*) en HIV-1, bestaat er twijfel of de chimpansee inderdaad het reservoir is van HIV-1. Er zijn namelijk weinig in het wild levende chimpansees besmet met SIVcpz. De genoomstructuur van SIVcpz benadert dat van HIV-1 meer dan de andere SIV's. Hoewel de chimpansee genetisch meer dan 98% homologie vertoont met de mens, ontwikkelt een met HIV-1 besmette chimpansee geen immunodeficiëntiesymptomen. Men tracht dan ook de redenen van het uitblijven van de ziekte bij deze dieren te achterhalen (Ondoa, 2001).

### Pathogenese, symptomen en immuunrespons

De belangrijkste infectiewegen bij de mens zijn identiek aan die bij non-humane primaten: intraveneus, intravaginaal, intrarectaal en oraal (Nathanson *et al.*, 1999b).

Zoals voor alle virussen begint de infectiefase met de virus-celinteractie. Het virale gp120 hecht zich vast aan zowel CD4 (op CD4<sup>+</sup> cellen, de doelwitcellen van het virus: T-cellen, monocyt/macrofagen, dendritische cellen), als aan een chemokinereceptor (fungeert als coreceptor). Welke chemokinereceptor hier precies voor gebruikt wordt, bepaalt het celtropisme van het virus: voor de T-cel is dit de CXCR4-receptor, voor de monocyten/macrofage is dit CCR5. Deze receptoren hebben wel degelijk belang: een welbepaalde basepaardeletie in de CCR5-receptor bij de mens heeft resistentie tegen HIV-infectie tot gevolg (Ondoa, 2001).

Eens binnengedrongen in de gastheercel, kan het virus zich met behulp van reverse transcriptase omzetten tot DNA en zich inbouwen in het genoom van de cel. Na transcriptie en translatie verlaten de nieuwgevormde virions de cel, klaar om andere CD4<sup>+</sup>-cellen te infecteren en te vernietigen. De folliculair dendritische cellen in de lymfeknopen, die een belangrijk virusreservoir vormen, zijn in staat virions te vangen en vast te houden; op die manier kunnen de virions nog gemakkelijker hun doelwitcellen infecteren (Geretti, 1999).

HIV-infecties en pathogene SIV-infecties leiden tot een fataal immunodeficiëntiesyndroom, gekarakteriseerd door progressieve depletie van CD4<sup>+</sup>-T-lymfocyten. Het virus vernietigt deze cellen tijdens zijn replicatie. Hoe hoger de virusload in het perifere bloed, hoe sneller de progressie van de ziekte (Whetter *et al.*, 1999).

De voortschrijdende destructie van CD4<sup>+</sup>-T-lymfocyten veroorzaakt een verlies van afweer bij de gastheer. Het netwerk van folliculair dendritische cellen in de lymfeknopen zal uiteindelijk, na een latenteperiode die verschillende jaren kan duren, uit elkaar vallen, waardoor vele virions in de bloedbaan vrijkomen. Dit betekent het begin van de ziektesymptomen.

SIV-infecties zijn echter apathogeen in de natuurlijke gastheer, omdat tijdens een lange evolutie gastheer en virus zich aan elkaar hebben aangepast. Door selectie zijn alleen de resistente individuen overgebleven. Enkel wanneer het virus een niet-natuurlijke gastheer besmet (bijvoorbeeld SIV<sub>sm</sub> bij de resusaap), leidt dit tot ziekte (Ondoa, 2001).

De belangrijkste symptomen bij simian AIDS zijn opvallend gelijkaardig aan die bij humane AIDS. Door het toenemend verlies van CD4<sup>+</sup>-cellen valt de geïnfecteerde ten prooi aan allerlei opportunistische infecties (zoals intestinale infectie met *Mycobacterium* species, oro-oesofageale candidiasis, *Pneumocystis carinii* pneumonie,...). Vermageren, chronische diarree en het voorkomen van normaliter eerder zeldzame tumoren zijn frequent voorkomende symptomen (Geretti, 1999).

Hoewel HIV het afweersysteem van de gastheer aantast, ontwikkelen geïnfecteerden zowel een humorale (met behulp van antistoffen en B-lymfocyten) als een celgemedieerde (met behulp van T-lymfocyten: CD4<sup>+</sup> T-cellen die de B-lymfocyten stimuleren tot antistofproductie, en CD8<sup>+</sup>-T-cellen die geïnfecteerde cellen verwijderen) respons. Enveloppebindende antistoffen hebben slechts weinig neutraliserende activiteit (Letvin, 1998). Het is voornamelijk de virusspecifieke celgeme-

dierde immuunrespons (CD8<sup>+</sup>-cytotoxische T-lymfocyten of CTL) die de virusreproductie kan beheersen.

Deze CD8<sup>+</sup>-cytotoxische T-lymfocyten hebben ook een beschermend effect via de  $\beta$ -chemokinen die ze secreteren: de chemokinen gaan in competitie met het virus om te binden aan de CCR5-chemokinereceptor op de gastheercel en verhinderen zo dat het virus de cel binnendringt. Met de belangrijke rol van celgemedieerde immuunrespons moet rekening gehouden worden bij de ontwikkeling van een AIDS-vaccin (Geretti, 1999; Barouch en Letvin, 2000; Landay en Heeney, 2001; Ondoa, 2001).

### Immunititeit

De mechanismen die bijdragen tot antivirale immunititeit van non-humane primaten die besmet zijn met hun speciesspecifieke SIV, worden uiteraard intensief bestudeerd (Whetter *et al.*, 1999). Deze primaten blijken probleemloos samen te leven met hun virus (Heeney *et al.*, 1999) en dit is veeleer te danken aan de gastheer die zich heeft aangepast, dan aan het virus zelf (Norley *et al.*, 1999).

Wat hebben andere primaten voor op de mens, waardoor ze resistent zijn tegen hun eigen immunodeficiëntievirus? Een aantal mogelijkheden kan alvast uitgesloten worden.

De SIV-virusload na infectie van de natuurlijke gastheer blijft hoog, wat betekent dat de SIV-replicatie niet beter onder controle gehouden wordt dan de HIV-replicatie bij de mens.

HIV ontsnapt bij de mens aan de afweer door snelle opeenvolgende mutaties; SIV doet dit ook maar veroorzaakt geen ziekte bij de natuurlijke gastheer.

In een speculatief model voorgesteld door Norley *et al.* (1999) wordt een SIV<sub>agm</sub>-infectie ('african green monkey', *Cercopithecus aethiops*) vergeleken met een HIV-1-infectie. De 'african green monkey' blijkt een zwakkere immuunrespons te ontwikkelen dan een HIV-1-geïnfecteerde mens. Meer bepaald maakt deze apensoort geen anti-Gag-antistoffen aan tegen het Gag-proteïne, één van de virale nucleokapside-eiwitten. Bij de mens herkennen deze anti-Gag-antistoffen niet-infectieuze partikels (vrijgelaten uit geïnfecteerde cellen na de actie van cytotoxische T-lymfocyten); ze vangen deze partikels en vormen complexen. Als deze complexen de lymfeknopen passeren, binden ze aan de Fc-receptor van de folliculair dendritische cellen en vernietigen deze. Dit leidt uiteindelijk tot destructie van de architectuur van de lymfeknopen. Daardoor ontstaan ziektesymptomen.

Bij de 'african green monkey' wordt door het ontbreken van anti-*Gag*-antistoffen in de lymfe-knopen geen virus gevangen, ondanks de grote hoeveelheid circulerend virus. De lymfeknopen behouden hierdoor hun structuur.

De resistentie van chimpansees tegen SIVcpz en HIV-1 kan op een andere manier verklaard worden. Een HIV-1-geïnfecteerde mens put in de strijd zijn eigen afweer uit, omdat het virus steeds opnieuw weet te ontsnappen door te muteren. De chimpansee echter richt zijn immuunrespons tegen de geconserveerde epitopen van het HIV-1 en slaagt erin het virus te onderdrukken. Het zou uiteraard heel nuttig zijn deze epitopen te identificeren met het oog op de ontwikkeling van een effectief AIDS-vaccin (Heeney *et al.*, 1999). De celgemedieerde immuunrespons die bij de chimpansee na infectie ontstaat, is ook veel minder heftig dan deze bij de mens; het is alsof ze de infectie negeren (Ondoa, 2001). Ook bij de mens is immuniteit tegen AIDS bekend.

Bij de meerderheid van de HIV-1-geïnfecteerden ontwikkelt zich binnen een periode van 10 jaar AIDS in afwezigheid van een therapie. Een klein percentage echter (5%) ontwikkelt geen AIDS en heeft een stabiel aantal CD4<sup>+</sup> T-cellen gedurende vele jaren. Deze patiënten worden 'long-term non-progressors' (LTNP) genoemd. Zij bewaren hun lymfeknooparchitectuur, de virusload in hun bloed is lager en hun immuunfunctie blijft onaangetast (Ondoa, 2001). Ze hebben vaak een sterke CTL-respons (Koff en Schultz, 1996). Mutaties in belangrijke HIV-1-coreceptors, zoals het eerder vernoemde CCR5, zijn een voorbeeld van een genetisch gedetermineerde oorzaak van resistentie. Waarschijnlijk spelen ook de levensstijl van de patiënt en het virus zelf een rol; lang niet alle factoren zijn bekend (Heeney *et al.*, 1999).

Bovendien zijn er ook individuen die regelmatig in contact komen met HIV, maar een krachtige cellulaire immuunrespons opbouwen, met onder andere T-helper memory cel en CTL-respons, waardoor ze virusvrij en seronegatief blijven. Hieruit kan men besluiten dat zij een initiële HIV-infectie gecontroleerd en geëlimineerd hebben. Men heeft dit kunnen aantonen bij prostituees in Kenia en Gambia (Koff en Schultz, 1996).

#### PRIMATENMODELLEN VOOR AIDS

De verwantschap, zowel tussen mensen (humane primaten) en apen (non-humane primaten) als tussen hun lentivirussen, maakt van primaten het beste

model voor humane AIDS (Joag, 2000). Noch HIV, noch SIV is in staat zich te vermenigvuldigen in lagere diersoorten, zodat andere laboratoriumdieren geen geschikt diermodel voor AIDS kunnen bieden (Kent *et al.*, 2001).

Het gebruik van non-humane primaten als proefdieren is echter onvermijdelijk een controversieel onderwerp voor dierenrechtenactivisten en onderzoekers. Vanuit wetenschappelijk standpunt gezien is het gebruik van non-humane primaten gerechtvaardigd als men vorderingen wil maken in de ontwikkeling van een AIDS-vaccin (Nathanson *et al.*, 1999b). Dankzij de gelijkenissen tussen SIV en HIV biedt de non-humane primaat ons immers een model met vele mogelijkheden:

#### Analyse van de pathogenese van AIDS

De 'werkwijze' van een virus achterhalen is een eerste stap in de bestrijding ervan. Zoals reeds aangehaald zijn er grote gelijkenissen tussen een HIV- en SIV-infectie wat betreft infectieroutes, pathogenese en symptomen. De wetenschap vindt hierin een geschikt diermodel voor AIDS (Nathanson *et al.*, 1999b). Omdat de periode tussen infectie en het optreden van klinische symptomen verkort kan worden in vergelijking met die na HIV-infectie bij de mens, kan men sneller informatie uit proeven bekomen (Haigwood, 1999). Bovendien laat experimentele infectie van proefdieren toe om de initiële fase van de infectie te bestuderen, wat bij de mens onmogelijk is, aangezien het moment van besmetting meestal niet gekend is (Overbaugh *et al.*, 1997).

#### Bepaling van parameters van immuunprotectie

Het is vanzelfsprekend interessant -mogelijk zelfs cruciaal bij vaccinontwikkeling- te weten welke mechanismen de non-humane primaten beschermen tegen hun soortspecifieke SIV. Verschillende studies op dit gebied hebben jammer genoeg geen éénduidige resultaten opgeleverd (Johnston, 2000). Een betrouwbare voorspelling over de beschermende werking van een kandidaat-vaccin zal men enkel kunnen maken door het vaccin uit te testen bij met pathogene SIV-geïmmuniseerde proefdieren. Dit impliceert onvermijdelijk het gebruik van non-humane primaten in het onderzoek (Nathanson *et al.*, 1999b).

#### Evaluatie van kandidaat-vaccins

Diermodellen maken een brug tussen laboratoriumbevindingen en klinische proefopzetten. Humane testen

van individuele vaccins zijn duur en tijdrovend, en de uiteindelijke beschermende effectiviteit van een profylactisch kandidaat-vaccin zal bewezen moeten worden door infectie met het virus na vaccinatie. Het uitvoeren van een dergelijk onderzoek bij mensen wordt als zijnde niet ethisch van de hand gewezen. Wanneer het gaat om een therapeutisch vaccin, waarvan het doel is bij reeds geïnfecteerde mensen een werkzame immunorespons op te wekken, geldt dit soort bezwaren uiteraard niet. Non-humane primaten kunnen gebruikt worden om verschillende kandidaat-immunogenen te selecteren, zodat de meestbelovende vaccins dan sneller bij mensen getest kunnen worden (Nathanson en Mathieson, 1999a).

Er bestaan drie belangrijke primatenmodellen: het HIV-2/SIVmac-model, het HIV-1/SIVcpz-model en het SHIV-model.

### Het HIV-2/SIVmac model

SIVsm (sooty mangabey) is de voorloper van HIV-2 en SIVmac (makaak), die beide ontstaan zijn door cross-species transmissie van SIVsm naar de mens en naar makaken. Wanneer niet-gastheerspecifieke SIV-stammen geïnoculeerd worden bij verschillende makakensoorten, kunnen ze ziekte uitlokken die zeer sterk lijkt op humane AIDS. Geïnfecteerde dieren ontwikkelen CD4<sup>+</sup> T-celverlies en histologische veranderingen in het lymfoïd weefsel, met opportunistische infecties als gevolg. De immunorespons bij makaken verloopt parallel aan die bij de mens. Vele antiretrovirale drugs hebben dezelfde werkzaamheid tegen HIV-1 als tegen SIVmac, zodat men dit model kan gebruiken voor effectiviteitsstudies van geneesmiddelen (Fultz, 1993; Joag, 2000).

### Het HIV-1/SIVcpz-model

De chimpansee (*Pan troglodytes*) heeft een sterke fylogenetische verwantschap met de mens (98,4% identieke genen) en waarschijnlijk is SIVcpz de voorloper van HIV-1. Deze diersoort is de enige die besmet kan worden met HIV-1. Geïnfecteerde chimpansees ontwikkelen echter geen duidelijk CD4<sup>+</sup> T-celverlies, noch AIDS, waardoor dit model weinig bijdraagt tot de studie van de pathogenese van AIDS. Anderzijds biedt het wel de kans om de mechanismen die virus-replicatie beperken en de chimpansee beschermen tegen ziekte, te identificeren (Karzon *et al.*, 1992); jammer genoeg heeft men nog niet veel resultaten in die zin kunnen bekomen (Joag, 2000). De mogelijkheid tot besmetting met HIV-1 maakt dit model

ook uitgelezen voor het testen van beschermende kandidaat-vaccins.

De chimpansee is echter een bedreigde en beschermde diersoort en een duur proefdier. Er moet rekening gehouden worden met de strenge wetgeving, ethische overwegingen en tegenstand van dierenrechtenactivisten (Almond en Heeney, 1998; Joag, 2000). Dit laatste beperkt zich overigens niet tot de chimpansee.

In een recent onderzoek, uitgevoerd door het BPRC (Biomedical Primate Research Centre) te Rijswijk, werd het MHC-klasse I polymorfisme bij een populatie chimpansees nagegaan. MHC-klasse I-moleculen spelen een sleutelrol in de afweer tegen intracellulaire (bijvoorbeeld virale) infecties; ze zorgen voor het presenteren van het vreemde antigen aan de T-lymfocyten. MHC-polymorfisme betekent voor een populatie een zekere mate van bescherming: het beperkt de kans dat velen door infectie met één bepaald pathogeen sterven. Uit dit onderzoek is gebleken dat chimpansees slechts weinig variatie in MHC-klasse I bezitten, hoewel ze als soort ouder zijn dan de mens. Er moet dus een reden zijn waarom de chimpanseepopulatie tijdens haar evolutie een aantal MHC-lijnen verloren is. Steunend op het feit dat de chimpansees vandaag de dag een natuurlijke resistentie bezitten tegen de ontwikkeling van AIDS, stellen de onderzoekers als hypothese dat deze diersoort vroeger in contact geweest is met een immunodeficiëntievirus, zijnde SIVcpz, het meest HIV-1-gerelateerde virus. Een groot deel van de dieren is gestorven aan de door dit virus veroorzaakte ziekte (AIDS), en de huidige AIDS-resistente chimpanseepopulatie vormt het nageslacht van de overlevenden van een AIDS-pandemie die lang geleden plaatsvond (de Groot *et al.*, 2002). Deze bevindingen zetten aan tot nadenken over de huidige situatie bij de mens: zal AIDS ook bij deze primate, in afwezigheid van een afdoende therapie of een vaccin de populatie zodanig uitdunnen dat enkel individuen met de 'juiste' MHC-moleculen zullen overleven?

### Het SHIV-model

Hoewel HIV-2/SIVmac een goed model vormt voor de bij de mens door HIV-1 veroorzaakte ziekte, zijn beide virussen duidelijk verschillend van HIV-1; men kan dus niet zomaar parallellen trekken. Het is ook niet mogelijk makaken te infecteren met HIV-1 om ziekte te doen ontstaan. Dankzij de vergelijkbare genetische organisatie van SIV en HIV-1, is men er wel in geslaagd een recombinant te maken van beide virale genomen. Dit chimeer SHIV bevat de *tat*, *rev*,

*vpu* en *env* genen van HIV-1 en brengt ons een stap dichterbij het doel dan het SIVmac-model, aangezien de virusenveloppe een belangrijke rol speelt in celtropisme en pathogenese. SHIV veroorzaakt bij makaken wel een fatale ziekte die gelijkt op AIDS bij de mens: geïnfecteerde dieren ontwikkelen gewichtsverlies, anemie, diarree en opportunistische infecties. Het aantal CD4<sup>+</sup> T-cellen daalt drastisch en er zijn histologische veranderingen in het lymfoïd weefsel (Overbaugh *et al.*, 1997; Lamb-Wharton *et al.*, 1997; Joag, 2000).

Ten opzichte van het SIVcpz/HIV-1 model bij de chimpansee biedt SHIV als voordeel dat makaken in grotere aantallen gehouden worden, geen bedreigde diersoort zijn, en ook minder duur zijn dan chimpansees (Lamb-Wharton, 1997).

### Situering van het AIDS-onderzoek op primaten

Het merendeel van het onderzoek op non-humane primaten situeert zich in de Verenigde Staten (VS). De National Primate Research Centers (NPRC) vormen een netwerk van acht gespecialiseerde instellingen voor onderzoek bij non-humane primaten. Hoewel er een duidelijke wetgeving bestaat omtrent dierproeven met non-humane primaten, zijn in de VS de regels minder strak en is de publieke opinie er toleranter.

Een belangrijk onderzoekscentrum in Europa waar in het kader van AIDS-onderzoek proeven worden ondernomen op non-humane primaten, is het Biomedical Primate Research Centre (BPRC) te Rijswijk, Nederland. Het BPRC verricht hiernaast ook onderzoek naar onder meer hepatitis, malaria en tuberculose. Evenals bij het HIV-onderzoek gaat het vooral om de ontwikkeling van profylactische en therapeutische vaccins. Een unieke waarde van dit centrum is de selectie en fok van MHC-getypeerde non-humane primaten voor onderzoek.

Ook in andere Europese landen, zoals België (Glaxo-SmithKline Biologicals te Rixensart) en Duitsland (Deutsches Primatenzentrum te Göttingen), worden non-humane primaten (maar geen mensapen) gebruikt in het AIDS-onderzoek. In 2003 is men aan de RUG (Centrum voor vaccinologie, onder leiding van Prof. G. Leroux-Roels) een fase I-II trial van een recombinant HIV-vaccin, ontwikkeld door de firma Glaxo-SmithKline, gestart.

Tot voor kort beschikte het BPRC, als enige in Europa, over een tiental chimpansees die besmet waren met HIV of SIV. Na een doorlichting door de Koninklijke Nederlandse Academie van Wetenschappen (KNAW) werd het advies gegeven om onderzoek op mensapen (en dus ook op chimpansees) in Neder-

land te verbieden. Een aanpassing van de wet op de dierproeven om dit wettelijk te regelen is in voorbereiding. Het centrum kan het AIDS-onderzoek voorlopig nog verder uitvoeren op resusapen.

### DE OORSPRONG VAN HIV

Hoewel de sooty mangabey en waarschijnlijk de chimpansee erkend worden als reservoir voor respectievelijk HIV-2 en HIV-1, blijft het een open vraag hoe de overgang van SIV naar epidemische HIV is verlopen. De SIV's zijn al minstens duizenden jaren endemisch in bepaalde gebieden van Centraal- en West-Afrika, en de plaatselijke bevolking heeft al die tijd blootgestaan aan eventuele besmettingen. De mogelijkheid tot het ontstaan van een epidemie was reeds lang aanwezig, bijvoorbeeld tijdens de slaavenhandel die meer dan 300 jaar duurde en het virus buiten de Afrikaanse grenzen had kunnen verspreiden. Waarom is de AIDS-pandemie toch pas op het einde van de vorige eeuw ontstaan? En hoe is het te verklaren dat twee genetisch te onderscheiden epidemische HIVtypes, elk afkomstig van een ander SIV, elk in een andere regio van Afrika zijn opgedoken (Marx *et al.*, 2001)? De zoektocht naar de oorsprong van HIV heeft reeds veel inkt doen vloeien. Meerdere theorieën zijn voorgesteld, waarvan tot nu toe geen enkele met zekerheid bewezen is.

### Onsteriele injecties in Afrika

Cross-speciestransmissie van SIV naar de mens is in het verleden hoogstwaarschijnlijk vele malen gebeurd. Deze stap volstaat echter niet om een nieuwe virusepidemie te doen ontstaan. In deze theorie gaat men ervan uit dat SIV geen zuivere zoönose is maar een aantal adaptieve mutaties nodig heeft om een epidemische HIV te vormen. In normale omstandigheden is het humaan afweersysteem in staat om een SIV-stam, die zich na éénmalige infectie nog niet kan aangepast hebben aan de nieuwe gastheer, te onderdrukken binnen enkele weken na infectie. De kans dat SIV zich in de loop van één infectie door mutatie heeft omgevormd tot HIV, is statistisch gezien erg klein. De genetische transitie van SIV naar epidemische HIV werd echter waarschijnlijk mogelijk gemaakt door seriepases van SIV tussen mensen, waarbij mutaties zich opgestapeld hebben. Een heel plausible verklaring hiervoor is het massaal voorkomen van onsteriele injecties in Afrika vanaf 1950. Na de Tweede Wereldoorlog werd het gebruik van penicilline en andere antibiotica ingeburgerd. De spuiten ter toe-

diening ervan waren in die tijd duur, omdat ze gemaakt waren van glas en metaal. Om die reden werden ze bij meerdere patiënten gebruikt, zonder sterilisatie tussendoor. Ook de plastic wegwerpspuiten die na 1960 de steriliseerbare spuiten vervingen, werden meermalig gebruikt. Onder het toezien van UNICEF werden na W.O. II verschillende eradicatieprogramma's op touw gezet, onder andere in de strijd tegen malaria. In Afrika was er echter een gebrek aan medisch personeel om injecties toe te dienen, wat er toe leidde dat vele gezinnen zelf spuiten in huis hadden voor eigen gebruik.

Een SIV-stam, die eerst een enkeling besmet had, kon zich op die manier gemakkelijk verspreiden onder de populatie en zich dankzij mutaties aanpassen aan de nieuwe gastheer (Marx *et al.*, 2001).

### Orale poliovaccinaties

Deze hypothese, bekend als de OPV-theorie, werd voor het eerst gelanceerd door Pascal in 1991. Vaccinaties met geattenuëerd oraal poliovirus, uitgevoerd rond 1960 bij ongeveer één miljoen mensen in Belgisch Congo, Rwanda en Burundi, zouden verantwoordelijk zijn voor de cross-speciestransmissie van SIVcpz tot HIV-1. Ed Hooper beweert dat nieren van met SIV-besmette chimpansees gebruikt werden ter vervaardiging van deze vaccins (Sharp *et al.*, 2001). Hij toonde ook het verband aan tussen plaats en tijdstip van de vaccinaties en de eerste gevallen van HIV/AIDS (Cribb, 2001). Onderzoek van overblijvende vaccinstalen spreekt dit echter tegen. Waarschijnlijk gaat vaccinbereiding ook gepaard met het verlies van leefbaarheid van een eventueel aanwezige SIV- of HIV-stam (Sharp *et al.*, 2001). Bovendien zouden nieren van Aziatische makaken en Afrikaanse green monkeys gebruikt zijn, en geen van beide soorten is drager van een met HIV-gerelateerde SIV-soort (Marx *et al.*, 2001). Niettemin ijvert Cribb (2001) ervoor de OPV-theorie ernstig te nemen en uitgebreid te onderzoeken: "If AIDS is iatrogenic, through an honest mistake, science may be forgiven. But if it seeks to bury the idea, first it will fail and second, it will destroy public trust."

### Een evoluerende maatschappij

De besmetting van de mens met SIV-stammen is ongetwijfeld reeds vele jaren aan de gang door contact met bloed bij de jacht op apen, door bijtewonden, bij verwondingen tijdens het slachten en eventueel door de consumptie van rauw, besmet vlees. Dit al-

leen is echter niet voldoende om een epidemie tot stand te brengen; bovendien zou AIDS dan reeds veel vroeger opgedoken zijn (Sharp *et al.*, 2001). De situatie in postkoloniaal Afrika, met bevolkingstoename, migratie, prostitutie, veranderende sociale rangorde, toenemende jacht (onder andere het groeiende probleem van de commercieel belangrijk geworden bushmeat trade), ontbossing en uitbreiding van het wegennetwerk, kan bijgedragen hebben tot een epidemische spreiding van HIV (Hahn *et al.*, 2000; Sharp *et al.*, 2001; Marx *et al.*, 2001).

### Implicaties

De oorsprong van de AIDS-pandemie achterhalen is zeker niet enkel van academisch belang. Bevestigingen uit het onderzoek roepen vragen op over de toekomst. Het feit dat twee verschillende primatensoorten, de chimpansee en de sooty mangabey, als reservoir dienen voor belangrijke humane pathogenen, is ontzetterend als men bedenkt dat er nog ongeveer 24 primatenspecies besmet zijn met gerelateerde virussen. Deze worden waarschijnlijk met testen voor HIV-1 en HIV-2 over het hoofd gezien en blijven een potentieel gevaar (Hahn *et al.*, 2000). Voorzichtigheid is dus zeker geboden. Voornamelijk in de derde wereld moet het gebruik van injectiespuiten gecontroleerd worden, zoniet kunnen nieuwe HIV-stammen opduiken en vaccinatieprogramma's grondig in de war gestuurd worden door nog meer diversiteit in het virus te creëren (Marx *et al.*, 2001). Het gebruik van primaten als orgaandonor moet in het licht van deze theorieën misschien herzien worden (Cribb, 2001).

### MEDISCHE BELANGEN, MORELE PROBLEMEN

Non-humane primaten confronteren ons met een paradoxaal probleem: hun grote gelijkheid met de mens, zowel fysisch als fysiologisch, maakt van hen vaak een ideaal proefdier. Anderzijds geldt deze analogie tussen primaten ook op het vlak van gedrag, emotionele expressie en intellectuele mogelijkheden. Onderzoekers en dierenrechtenactivisten staan vaak lijnrecht tegenover elkaar als het gaat om het gebruik van laboratoriumdieren, en niet in het minst voor wat betreft non-humane primaten. Vooral het gebruik van chimpansees in experimenten wordt betwist. Van alle levende wezens gelijken chimpansees genetisch gezien het meest op de mens: op het vlak van DNA-materiaal is de barrière tussen mens en mensaap kleiner dan tussen mensaap en andere apen. Bovendien

argumenteren tegenstanders dat de chimpansee geen geschikt diersmodel vormt voor AIDS; enerzijds is het de enige diersoort die met HIV geïnfecteerd kan worden, anderzijds ontwikkelt er zich geen AIDS na HIV-infectie.

De bescherming van proefdieren is vastgelegd in nationale wetgevingen en Europese richtlijnen (Richtlijn 86/609/EEG). Er wordt duidelijk aanbevolen geen primaten te gebruiken indien het doel van het onderzoek ook met andere species kan bereikt worden. Wat AIDS-onderzoek betreft, zou het Feline Immunodeficiëntie Virus (FIV) als alternatief in aanmerking kunnen komen. FIV is een typisch lentivirus wat betreft morfologie en algemene genomische organisatie, maar het staat dicht bij andere non-primaten lentivirussen dan bij HIV. Tussen het genoom van FIV en HIV bestaan belangrijke verschillen en beide virussen gebruiken een andere receptor om de doelwitcel binnen te dringen. Het immuunsysteem van de kat is bovendien wezenlijk verschillend van dat van primaten. Het model heeft echter ook voordelen: FIV is een natuurlijk lentivirus dat een AIDS-gelijkende ziekte veroorzaakt in zijn natuurlijke gastheer (in tegenstelling tot SIV's, die apathogeen zijn in hun natuurlijke gastheer). Er is een groot reservoir aan natuurlijk geïnfecteerde dieren, die makkelijk te hanteren zijn en geen gevaar vormen voor de mens, aangezien FIV geen zoönose is. Vanuit veterinair standpunt kan een studie van het FIV-model klinisch nuttige informatie opleveren omtrent vaccinatie en therapieën (Bennett en Hart, 1995; Stott en Almond, 1995; Willett *et al.*, 1997). P. Heidt (persoonlijke mededeling, 2003) is van mening dat SIV bij makaken een beter model voor AIDS vormt dan FIV en dat het SHIV-model in vaccineffectiviteitsstudies een goed alternatief vormt voor HIV bij chimpansees, wat niet van FIV kan gezegd worden.

De mens vormt uiteindelijk nog steeds het beste model, maar uiteraard stuit men hier op ethische problemen. Wel kan men therapeutische vaccins testen op reeds geïnfecteerden. Zonder diersmodel, voornamelijk het makaakmodel, zou veel tijd en geld verloren gaan en lopen humane vrijwilligers risico op neveneffecten na vaccinatie, zonder beschermd te zijn tegen HIV-infectie (Johnson, 1995; Goodman en Check, 2002). Het aantal vrijwilligers in humane

testen neemt wel toe; er is hierbij geen risico op infectie aangezien men nooit werkt met een verzwakt vaccin, maar met recombinante vaccins.

Het gebruik van non-humane primaten in dierexperimenteel onderzoek zal ongetwijfeld steeds ter discussie blijven staan. De AIDS-problematiek is echter van niet te onderschatten belang en in de toekomst valt niet meteen beterschap te verwachten. In de rijke, geïndustrialiseerde landen is de prevalentie van AIDS laag, maar langzaam stijgend. HAART wordt vaak gezien als een afdoend geneesmiddel tegen AIDS, wat leidt tot een toenemend risicogedrag ten opzichte van HIV-transmissie. In ontwikkelingslanden, waar de HIV-prevalentie vaak heel hoog is (voornamelijk in het Afrika onder de Sahara, waar AIDS veruit de belangrijkste doodsoorzaak is), laten de gevolgen van AIDS zich steeds duidelijker voelen. HIV-infecties komen het meest voor bij jonge mannen en vrouwen die het virus ook kunnen doorgeven aan hun kind tijdens de zwangerschap. In de ergst getroffen landen zal de populatiepyramide binnen 20 jaar omgekeerd worden. De economische groei in ontwikkelingslanden wordt sterk bedreigd; er is een duidelijk verband tussen HIV-prevalentie en de reductie van het BNP. De vooruitgang die de laatste decennia in ontwikkelingslanden werd geboekt, kan door de AIDS-dreiging tot niets herleid worden.

De nood aan een AIDS-vaccin is groot, de vraag is of bij de ontwikkeling hiervan een vergeëvolueerde diersoort, zoals de non-humane primate, mag opgeofferd worden. Het probleem stelt zich in het bijzonder wat betreft de chimpansee, een bedreigde diersoort die van alle levende wezens het meest gelijkenis vertoont met de mens. Chimpanseestudies zijn enkel te rechtvaardigen indien er geen alternatieven zijn. Wat betreft het AIDS-onderzoek kan het SHIV-model gelden als vervanging voor het HIV-1/SIV-model. Op die manier kan de chimpansee als proefdier geweerd worden, zonder daardoor het onderzoek naar een AIDS-vaccin in het gedrang te brengen.

## LITERATUUR

De lijst van de geciteerde publicaties kan bij de auteur aangevraagd worden.