

La vacunación contra el SIDA: Antecedentes históricos, estado actual de la investigaciones y perspectivas futuras

Brac, 118 (385-401)) 1990

Por J. J. AGUILAR GAVILAN (1)
y J. M. TORRES TRILLO (2)

A nadie escapa la repercusión que para la Salud y la Opinión Pública tendría el logro de una vacuna eficaz contra el SIDA, especialmente en un momento en el que la Sociedad es consciente de la importancia de esta epidemia -que no sólo afecta a los clásicos grupos de riesgo, sino que también amenaza a la población en general- y cuando está más que demostrado que tarde o temprano los individuos infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) terminan desarrollando un SIDA, y mueren en un plazo relativamente corto de tiempo.

Aunque el reto para la elaboración de la vacuna se planteó en un momento en el que los avances de las ciencias biofísicas y bioquímicas permitían presagiar una solución relativamente rápida, máxime cuando para ello se movilizaron gran número de grupos de investigadores -en un esfuerzo sin precedente en la historia del desarrollo de las vacunas-, la realidad ha sido distinta: transcurridos cinco años aún no se dispone de la ansiada vacuna. Con todo, hay que admitir que se han superado muchos de los obstáculos que inicialmente frenaron el desarrollo de las investigaciones (45) y que en la actualidad -según se ha podido constatar en el V Congreso Internacional sobre el SIDA, celebrado en Montreal en junio de 1989- el extraordinario desarrollo de los conocimientos sobre la Biología Molecular del HIV, carácter antigénico de sus componentes y respuesta inmune que moviliza, permite abordar un diseño racional de nuevas estrategias vacunales contra el SIDA y hace pensar que la solución definitiva pueda estar próxima.

Problemas iniciales

El primer problema al que se tuvieron que enfrentar las investigaciones consistía en la escasez de datos que sobre el ciclo de vida del HIV se tenían. Se sabía que mostraba un marcado tropismo por células que exhibían la molécula CD4 -linfocitos T4 y células presen-

(1) Profesor Titular del Departamento de Microbiología de la Universidad de Córdoba.

(2) Investigador del Instituto de Investigaciones Científicas sobre el Cáncer (Villejuif, Francia).

tadoras de antígenos, como monocitos/macrófagos, células dendríticas, células de Langerhans, etc., y que las proteínas implicadas en la patogénesis eran las glucoproteínas de su envoltura gp120 y gp41. En base a su papel biológico y a que tales proteínas víricas se mostraban, no sólo sobre la superficie del virión sino también en la de las células infectadas, se pensaba que las mismas tendrían que ser las dianas preferentemente reconocidas por el sistema inmune tras la infección natural. De ahí que la gran mayoría de los planteamientos iniciales en la consecución de una vacuna eficaz frente al SIDA centrasen su atención en gp120 y gp41 (25).

Muy pronto los estudios epidemiológicos demostraron la existencia de un característico largo período de incubación de la enfermedad, que no era sino fiel reflejo de que el organismo infectado parecía controlar temporalmente la infección. De hecho, el comienzo de la aparición de signos clínicos de inmunodepresión en todos los casos estudiados, está claramente relacionado con menores recuentos de linfocitos T4 y T8 y con la aparición de variantes del virus más citopáticas, a la vez que también se observa un incremento en la proporción de células infectadas y en la producción de viriones.

En efecto frente al HIV el organismo invadido moviliza una respuesta inmune completa, aún cuando los niveles de anticuerpos neutralizantes o de linfocitos T específicos frente al virus son sistemáticamente inferiores a los que se podían inducir con cualquier otro retrovirus en condiciones experimentales análogas. Asimismo destacaba la "especificidad de tipo" de los anticuerpos neutralizantes y el hecho de que la detección de linfocitos T citotóxicos fuese posible en todo momento, lo que venía a confirmar la persistencia del estímulo antigénico en el organismo, o lo que es lo mismo la incapacidad del sistema inmune para derrotar al HIV.

Así pues, a la hora de diseñar la posible vacuna, había que tener presente que el enemigo era muy especial. Por una parte no sólo era capaz de evadir la respuesta inmune, valiéndose de mecanismos comunes a otros retrovirus (hipervariabilidad genética -concentrada mayoritariamente en el gen **env** que codifica a las glucoproteínas frente a las que principalmente se dirige la respuesta inmune humoral-, y posibilidad de enmascararse como provirus en células infectadas de forma latente), sino que además estaba capacitado para atacar directamente a las células inmunocompetentes y para comportarse como un invasor poco inmunogénico.

Un problema adicional era la carencia de un modelo animal adecuado. De las numerosas especies evaluadas, tan sólo el gibón y el chimpancé podían ser reproductivamente infectadas por el HIV. El hecho de que hasta la fecha ninguno de los ejemplares estudiados haya desarrollado un SIDA, incapacita a ambas especies para evaluar el papel protector que frente a la enfermedad tengan las teóricas vacunas que con ese objetivo se fabriquen, no obstante se trata de modelos válidos para ampliar conocimientos de la respuesta inmune que se moviliza frente al HIV y de la eficacia de aquellas otras estra-

tegrías vacunales orientadas a evitar la infección natural (66). Desafortunadamente se trata de especies que en la Naturaleza están amenazadas con extinguirse y de las que en cautividad tampoco existe el número de ejemplares que habría que utilizar.

Con esta situación problemática inicial, y ante el peligro al que estaban sometidos los individuos infectados, no es de extrañar que en 1986 se iniciasen pruebas de experimentación en humanos, incluso sin haber verificado el poder protector de la vacuna en modelos de animales (64). Este requisito en la actualidad ha vuelto a ser imprescindible, incluso para nuevas vacunas frente al SIDA, para que la Food and Drugs Administration (U.S.A.) apruebe que se inicien ensayos clínicos en humanos.

En estos primeros tiempos todo no iban a ser problemas, y un evento importante vino a ser la caracterización por Kanki y col. (28) de un retrovirus de simios capaz de provocar en macacos un SIDA idéntico al que el HIV causaba en el hombre. Ello representaba la oportunidad de disponer de un "sistema modelo" más adecuado y abundante que los chimpancés para poder verificar la viabilidad de las distintas vacunas diseñadas frente al SIDA. Daniel y Desrosiers (16) pensaban que la estrategia vacunal que lograrse proteger a macacos frente al SIV podría resultar válida, con una probabilidad alta, para proteger al hombre frente al HIV.

Vacunas contra el SIDA: objetivos y estrategias válidas

De partida existía el convencimiento de que las posibles estrategias para luchar contra el HIV podrían orientarse a uno de estos dos objetivos: o a prevenir la infección en individuos sanos, o a controlar la misma en portadores del virus. En cualquier caso (31), habría de tratarse de una vacuna capaz de igualar e incluso superar el estímulo antigénico representado por la infección natural y que, contrariamente a esta, causase el mínimo de reacciones adversas para el sistema inmune. Asimismo tendría que ser estable, y relativamente fácil de producir y aplicar.

Para obtener tales vacunas las investigaciones se dirigieron hacia los distintos tipos que, hasta la fecha, habían resultado exitosos frente a otros agentes infecciosos:

1.- Vacunas clásicas

- Vivas o atenuadas.
- Muertas o inactivadas.

2.- Vacunas de nueva generación

- Recombinantes vivas.
- Sintéticas.
- Purificadas (naturales y recombinantes).
- Anti-idiotípicas.

Vacunas atenuadas. Se trata de una estrategia que se descartó muy pronto. El peligro que encierra la hipotética readquisición de

virulencia de la cepa atenuada o las imprevisibles consecuencias de inserción de su genoma en el genoma celular, justificaban tal postura. A pesar de ello, recientemente algunos investigadores estudiaban la posibilidad de acudir a un HIV inocuo, por ejemplo, Green y col. (24) han obtenido un mutante dominante que codifica una proteína tat, que mostrándose incapaz de transactivar sus propios genes -lo que convierte al virus en apatógeno- también inactiva "in vitro" a genes de cepas virulentas.

Vacunas inactivadas. A pesar de que este tipo de vacunas es incapaz de inducir una respuesta inmune completa, como la que en teoría se exige para cualquier parásito intracelular, Salk (53) -animado por el éxito que con anterioridad había tenido con una vacuna similar frente a la poliomielitis- pensó que podría ser una estrategia válida para detener la evolución de la infección natural mediada por el HIV.

Vacunas recombinantes vivas. Acuden al empleo de seres vivos que encierran un genoma híbrido, fruto de la clonación del material genético de otra especie. Este planteamiento, utilizando como vector vivo al virus vacunal (por su probada inocuidad, su estabilidad, fácil aplicación y obtención, y por su capacidad de albergar en su genoma genes extraños y de expresarlos como si de genes propios se tratase, 42), había resultado útil frente a otros virus.

Muy pronto se fabricaron vacunas vivas frente al HIV, la mayor parte incluyendo al gen **env** (43), que en teoría tenían las ventajas de las vacunas clásicas atenuadas (potencial para inducir una respuesta inmune completa y la aparición de células de memoria inmune, sin necesidad de acudir al empleo de "carriers" ni de "adyuvantes"), y que superaban sus inconvenientes (la inclusión de tan sólo un gen del HIV elimina la posibilidad de reversión hacia un estado virulento o de inserción como provirus).

Con todo, un problema "específico" para el empleo de esta estrategia vacunal frente al SIDA surgía de la tipología de los destinatarios, que normalmente poseen un estado básico de inmunodeficiencia, causado por una alimentación deficiente y la frecuente incidencia de parasitosis. Esto mismo podría ser responsable de un comportamiento extremadamente virulento de la cepa vacunal recombinante (49).

Para paliar esta amenaza potencial se han sugerido varias soluciones, a saber: privar al virus vacunal de genes que pueden realzar su virulencia (por ejemplo, el de la timidina-kinasa), o clonar simultáneamente no sólo el gen **env** sino también al gen celular de la IL-2, al objeto de potenciar la respuesta de linfocitos T. Incluso se están estudiando otros vectores diferentes al virus vacunal, como adenovirus y poliovirus. De hecho, Evans y col. (19) con un poliovirus que expresa sobre su superficie un epitopo de gp41 (H, fig. 1) han logrado inducir la aparición de anticuerpos neutralizantes capaces

de inhibir la penetración en células sensibles de diferentes cepas del HIV.

Péptidos sintéticos. De probada eficacia como vacunas (58), capaces de inducir la producción específica de anticuerpos neutralizantes (12), llamaron la atención (como posible vacuna frente al HIV) del grupo de Goldstein. La estrategia a la que acudieron, que consistía en diseñar una vacuna con un péptido que imitase a la proteína p17 del HIV, venía apoyada por la observación de que en la infección natural, la desaparición de anticuerpos específicos frente a esta proteína del core parece estar relacionada con la progresión hacia el SIDA (34). El péptido fue sintetizado demostrándose su poder inmunógeno (44), y se ha utilizado para elaborar una vacuna (denominada HGP-30), empleada en ensayos clínicos en el hospital londinense de S. Stephen.

Vacunas purificadas. Puesto que gp120 y gp41, las proteínas inicialmente elegidas para elaborar este tipo de vacunas, estaban provistas de cadenas de oligosacáridos laterales, la primera interrogante que había que resolver era saber si tales restos azucarados ejercían alguna influencia sobre el poder inmunógeno que exhibía la proteína natural. Afortunadamente la mismo resultó ser prácticamente nula: de hecho, proteínas recombinantes obtenidas en células procariotas (usando como vector de expresión del gen **env** a **schlerichia coli**) o a partir de sistemas eucarióticos (levaduras, células de insecto infectadas con un baculovirus portador del gen **env** o células Vero que albergaban el virus vacunal recombinante) se mostraban igual de poco inmunógenas que la proteína natural purificada.

En la actualidad se han elaborado distintas vacunas purificadas, e incluso dos de ellas se producen comercialmente para ensayos clínicos. El problema con el que han de enfrentarse estas vacunas, aplicable también a las vacunas sintéticas, estriba en dotarlas de "poder inmunógeno". De ahí que sean muchos los investigadores que se dedican a testar en animales de experimentación la inocuidad y el poder protector de vacunas de este tipo en las que la alúmina, el único adyuvante cuyo uso clínico en el hombre estaba aceptado y que se mostraba poco eficaz como tal, es reemplazada por alguno de los siguientes productos: liposomas, derivados del muramil -dipéptido, polímeros sintéticos, subunidades no pirógenas del lipopolisacárido, etc. Ya en 1987, Arthur y col. (4), empleando complejos inmunestimulantes membranosos -los llamados Iscomas-, demostraron en chimpancé una producción de anticuerpos más importante que la obtenida en respuesta a la misma vacuna recombinante fabricada con alúmina.

Vacunas anti-idiotípicas. De las múltiples ventajas de este tipo de vacunas (29), Dalglish y Kennedy acudieron a la posibilidad de seleccionar un motivo idiotípico, que fuese capaz de inducir una

respuesta inmune "grupo-específica" frente a un "epitopo" importante para la interacción del HIV con su célula diana; para ello centraron su atención en el dominio de CD4 que sirve de sitio de unión a la gp120 viral (D, fig. 1). Tras elaborar anticuerpos monoclonales frente al péptido sintético que imitaba dicho dominio, se comprobó que los mismos eran capaces de inducir en ratones la producción de anticuerpos anti-idiotípicos (15) y que estos neutralizaban a cepas distintas del HIV.

Con este tipo de vacunas, no obstante se han de superar algunas posibles contraindicaciones, a saber: la posibilidad de que surjan procesos inmunopatológicos, a consecuencia de las múltiples inyecciones que de un anticuerpo heterólogo se precisan recibir durante la vacunación y de que los anticuerpos monoclonales antiCD4 empleados se unan al marcador celular CD4 y modifiquen su papel biológico (54). Una última dificultad puede surgir del hecho de que el HIV reconozca sobre CD4 una zona distinta frente a la cual se produjo el anticuerpo monoclonal, e incluso de su potencial capacidad para reconocer a un segundo perceptor.

Ensayos clínicos actuales

En la tabla 1 se indican los ensayos clínicos que en la actualidad se realizan con las vacunas candidatas frente al SIDA. Todos ellos se encuentran en fase I (32), y van orientados a testar la seguridad e inmunogenicidad de las distintas estrategias vacunales.

Estas vacunas parecen estar consiguiendo los objetivos planteados, y han servido para demostrar que no es utópica la inducción de una respuesta inmune protectora frente al HIV. Por ejemplo, la estrategia de Daniel Zagury (ensayo nº 1, tabla 1), aunque con un protocolo demasiado complejo y que prácticamente descarta su empleo a gran escala, ha evidenciado lo útil que puede resultar la combinación de distintos tipos de vacunas.

En algunos casos, las observaciones experimentales han revelado hechos insospechados en relación a la antigenicidad del HIV. Por ejemplo, en el ensayo nº 7, con la vacuna inactivada Salk -una emulsión en coadyuvante incompleto de Freund de viriones inactivados (con luz ultravioleta) y privados de sus glucoproteínas (por tratamiento con paraformaldehído)- se demuestra la capacidad que tienen las proteínas del core de inducir una respuesta inmune protectora, con aparición de anticuerpos neutralizantes específicos frente a las proteínas de la envoltura del HIV.

Un hecho a resaltar, común a toda la investigación relacionada con posibles vacunas frente al SIDA, es que los estudios inmunológicos que con ellas se realizan son más exhaustivos que los que tradicionalmente se venían haciendo en la puesta a punto de vacunas frente a otros patógenos. Tal hecho se justifica en base a que casi la totalidad de los mecanismos de inmunopatogénesis de que se vale el HIV (21, 62), dependen directamente de sus proteínas estructurales, que

son las mayoritariamente empleadas en las teóricas vacunas. De ellas se sabe que son capaces de: inducir la aparición de autoanticuerpos con poder inmunosupresor (67); primar la activación y proliferación de linfocitos T citotóxicos autorreactivos (36); e incluso favorecer la aparición de anticuerpos facilitadores de la infección, que pueden asegurar al HIV un más fácil acceso al monocito/macrófago (27) -célula que se ha revelado importantísima para comprender la persistencia y la patogénesis del virus en el organismo (22)-.

Se espera que muy pronto algunas de estas vacunas completen con éxito los ensayos clínicos de fase I, y los estudios preclínicos que paralelamente se realizan en primates, y se esté en condiciones de pasar a la siguiente fase. En los ensayos de fase II se tratarán de descubrir dosis y programas de vacunación óptimos, que no comprometan la ya probada inmunogenicidad y seguridad de la vacuna.

Las pruebas clínicas de fase II precisarán de gran número de voluntarios. Para las estrategias vacunales destinadas a proteger frente a la infección, se tendrán que incluir obligatoriamente a individuos sanos pertenecientes a colectivos con alto riesgo de padecer infección natural, con el fin de chequear posibles "reacciones adversas" en tal tipo de poblaciones.

Cuando se esté en condiciones de iniciar estos ensayos de fase II puede agudizarse un problema que ciertamente ha existido durante la fase I, y que ha hecho que el número de personas estudiadas sea inferior al habitual, que es la dificultad de disponer de voluntarios para participar como receptores de la vacuna. Por una parte habría que aludir a que la naturaleza mortal de la infección, ciertamente coharta la decisión de tomar parte en este tipo de pruebas y, por otra parte, hay que indicar los problemas sociales que se le pueden crear a dicho individuo. Tales problemas están relacionados con dos hechos: la "confidencialidad" de toda la información que rodea a este tipo de investigaciones (que cuando no se mantiene puede provocar que el receptor de la vacuna sea considerado como miembro de los clásicos grupos de riesgo y por lo tanto como un "potencial" peligro para el resto de la Sociedad), y la "seroconversión". Esta última, que además puede ser de por vida, también provocaría una marginación social (a la hora de viajar, intentar acceder a seguros de vida, donar sangre, etc.) aún cuando al individuo seroconvertido se le pueda dar un documento que acredite el origen de su seroconversión, la Sociedad no está todavía preparada para admitir como normales a estas personas.

Diseño racional de una vacuna

Aunque efectivamente aún no se dispone de una vacuna que haya culminado satisfactoriamente todos los ensayos clínicos, no cabe duda de que las vacunas pioneras han abierto el camino a un diseño de estrategias vacunales nuevas, menos empírico y más racional. Esto se explica en base a los grandes avances producidos en

el conocimiento del comportamiento antigénico e inmunosupresor del HIV, acompañados de una mejor caracterización del tipo de respuesta inmune que moviliza en el organismo invadido.

En el desarrollo de estos conocimientos han jugado un papel crucial las vacunas vivas recombinantes y los péptidos sintéticos. Mientras que las primeras han permitido desenmascarar cómo actúan en la infección las distintas proteínas del virus y el tipo de respuesta inmune que moviliza, los péptidos sintéticos han hecho posible la disección molecular del virus (localizando el sitio exacto de epitopos, carácter inmunodominante, ubicación de dominios funcionalmente importantes, etc.), y han explicado dónde radica la especificidad de la respuesta inmune.

Desde hace bastante tiempo se sabe, que a partir de la secuencia aminoacídica de una proteína se podía intuir la situación precisa de sus epitopos. Las zonas ocupadas por aminoácidos hidrofóbicos son teóricos epitopos específicos para células B, mientras que la presencia de hélices anfipáticas (i. e. estructura en la que las cadenas laterales hidrofílicas se sitúan en una cara de la hélice y las hidrofóbicas en la cara opuesta) suele corresponder a un epitopo capaz de activar a linfocitos T (17, 38). Así pues se trataba de, una vez conocida la secuencia de las distintas proteínas del HIV, abordar la síntesis de oligopéptidos y estudiar su comportamiento en animales de experimentación o en cultivos "in vitro".

Estudios de esta índole han permitido un conocimiento aceptable de la respuesta inmune, especialmente de la respuesta inmune humoral. El que se tengan menos datos de la respuesta inmune celular no es de extrañar ya que a ello según Laurence y Schild (35) ha contribuido, por una parte, el que la presencia de epitopos reconocidos por células T no se evidenciase hasta 1986 (65) -cuando ya habían sido caracterizados epitopos capaces de activar a células B-, y, por otra parte, el que normalmente en un virus el número de determinantes antigénicos que movilizan una respuesta proliferativa de células T, es bastante mayor que el específico para linfocitos B (39).

Con todo, en la actualidad ya se han caracterizado epitopos capaces de activar a linfocitos T en todas las proteínas del virus, incluidas las proteínas reguladoras. Esta observación, que hace algunos años hubiese resultado sorprendente, no es de extrañar, pues se sabe que todos los péptidos virales producidos por proteólisis pueden ser exhibidos sobre la superficie de la célula hospedadora asociados a un tipo específico de molécula principal de histocompatibilidad (Ag MHC clase I o clase II), y que incluso la respuesta de linfocitos T citotóxicos se dirige mayoritariamente -aunque no exclusivamente- a proteínas internas.

En la fig. 1 se indica sobre el mapa lineal de las glucoproteínas del HIV, por una parte la situación de sus regiones constantes e hipervariables, por otra parte, la posición que respecto a las mismas (denominada por orden alfabético) ocupan los epitopos inmunodominantes y los dominios funcionales que han de ser considerados a la hora

de abordar su posible inclusión/exclusión en vacunas diseñadas de forma racional. La tabla 2 especifica, indicando secuencia aminoacídica y papel biológico, los datos presentados en la fig. 1. Asimismo se citan los trabajos más destacados al respecto.

Acerca de la respuesta inmune humoral, habría que comentar el poder que tiene el HIV para inducir la aparición de tres tipos distintos de anticuerpos: neutralizantes, capaces de mediar una respuesta tipo ADCC (antibody directed cell cytotoxicity), y facilitadores (9). Aunque la mayoría de estos anticuerpos se dirigen hacia determinantes antigénicos situados en gp120 y gp41 (20, 23, 26), no siempre es así. Se ha citado, por ejemplo, la presencia de anticuerpos neutralizantes específicos frente a un epitopo situado en la proteína del core, p17 (48). Hasta la fecha no se han podido caracterizar epitopos que induzcan la génesis de anticuerpos facilitadores, desconociéndose la relevancia que tal fenómeno puede tener "in vivo" sobre la inmunopatogénesis que causa el HIV (8).

Por lo que respecta a la **respuesta inmune celular**, y ampliando la información recogida en la tabla 2 -que se refiere a la especificidad de la misma frente a las glucoproteínas de la envoltura-, es de destacar la caracterización de dos epitopos que se encuentran en la proteína capsidal mayoritaria del HIV (p25) y que son capaces de activar a linfocitos T auxiliares (40). En especial uno de ellos, situado entre sus aminoácidos 267 y 279, se ha revelado sumamente útil por su capacidad para inducir no solo la aparición de células T citotóxicas sino también la producción de anticuerpos neutralizantes. El extraordinario interés de este epitopo se ve asimismo apoyado por su ubicación en el interior de p25 una proteína altamente conservada en todas las cepas del HIV, lo que garantiza que con el mismo se asegure una protección gruospecífica.

Otro hecho que se ha revelado en el análisis de este tipo de respuesta inmune en individuos infectados por el HIV, es la presencia de células T4 citotóxicas (56), capaces de reconocer un epitopo situado entre los aminoácidos 410 y 429 de gp120 que se exhibe asociado a la molécula HLA-DR4 (57), que están implicadas en reacciones autocitolíticas.

En la actualidad, y partiendo de estos conocimientos, es factible diseñar de forma racional nuevas estrategias vacunales frente al SIDA. Para ello se consideran importantes los siguientes aspectos:

1. El empleo de epitopos que estén situados en zonas claves para el poder patógeno del virus y que sean capaces de inducir una fuerte respuesta inmune. Como por ejemplo: env-T1 (D, fig. 1); los situados en la región C4/C5 de gp120 o en la C6 de gp 41, o el epitopo presente entre los aminoácidos 267 y 279 de p24. Todos ellos ubicados en zonas altamente conservadas y por tanto inductores de protección grupo específica.

2. La necesidad de combinar epitopos específicos frente a células T, para garantizar la reactividad de la mayoría de miembros

de sus distintas subpoblaciones. Recordemos que la restricción MHC es responsable de que frente a un epitopo únicamente sea activable la escasa proporción de linfocitos capaz de reconocer al tipo concreto de marcador de histocompatibilidad sobre cuya superficie se exhibe tal epitopo (40). Además, puesto que por regla general los epitopos reconocidos por células T se sitúan en zonas conservadas, resulta interesante la protección grupo específica que con ellos confiere.

3. Acudir a epitopos capaces de activar una citolisis celular no vinculada a restricción MHC de ningún tipo, o lo que es lo mismo, capaces de inducir respuestas ADCC (60). Una ventaja adicional de su empleo surge del poder de inducir la génesis de anticuerpos neutralizantes que también poseen tales epitopos, lo que permite disminuir la complejidad de la vacuna polivalente que teóricamente habría de construirse siguiendo un diseño racional.

4. Mostrar correctamente los determinantes antigénicos, haciéndolo incluso si es preciso de forma distinta a como los presenta el HIV en la infección natural (5), planteamiento que ya había resultado eficaz con una vacuna sintética frente al virus de la enfermedad boca-pié bovina (7).

La inclusión en una vacuna purificada de los epitopos deseados, o de las secuencias que los imitan y que tienen un comportamiento antigénico similar (los llamados "mimotopos"), no significa que la misma vaya a funcionar correctamente. Una de las causas del fracaso estriba en la presentación incorrecta del "epitopo", bastante habitual para epitopos de células B. Se sabe que el carácter antigénico de los mismos depende en gran medida de su estructuración en la proteína nativa, restricción que no afecta a epitopos de células T (hecho lógico, ya que los mismos se exhiben sobre las superficies celulares en forma de cortos péptidos surgidos a partir de la degradación proteolítica de las proteínas del virión, sin reproducir obviamente la conformación original de las mismas).

En este sentido, el fracaso de una vacuna purificada se podría imputar a la aparición de hindratopos (10), o secuencias no antigénicas capaces de enmascarar epitopos. Este peligro es especialmente amenazante cuando se diseñan vacunas polivalentes. En el caso del HIV, se opina que tal aparición podría justificar el escaso poder de la respuesta inmune natural en la protección eficaz frente al SIDA. Coffin y col. (14) habían sugerido que las regiones hipervariables, e incluso las secuencias oligosacarídicas presentes en las glucoproteínas, podrían funcionar como hindratopos en relación a las secuencias conservadas, que son las que encierran a epitopos funcionales críticos para el virus.

Puesto que a la hora de diseñar una vacuna "sintética" no se puede predecir a ciencia cierta la estructura que adoptaran los distintos péptidos empleados, se explica que estas estrategias de diseño racional exijan una exhaustiva experimentación en sistemas modelo,

que asegure su inocuidad, que verifique que la presentación de los epitopos es la correcta y que efectivamente no está comprometida por la presencia de hidratopos.

5. En cualquier caso, y con independencia de la solución por la que se opte, está claro que en la citada vacuna se han de eliminar obligatoriamente epitopos inmunodominantes del virus, que "in vivo" son poco importantes para la inducción de una respuesta inmune protectora. Del mismo modo se incluirán secuencias o epitopos capaces de:

- a) inducir la proliferación de células T supresoras,
- b) estimular la producción de anticuerpos facilitadores,
- c) imitar a factores tróficos del organismo (J, fig. 1 -50-), o a componentes presentes en la superficie de células normales (B e I, fig. 1 -63-), capaces de inducir la aparición de respuestas autoinmunes (46), y
- d) mostrar un marcado efecto inmunosupresor, (G, fig. 1, -13 y 37-).

De hecho, recientemente Ruegg y col. (51) han elaborado un péptido sintético, que reproduce a dicha secuencia, con el que se ha demostrado la existencia de anticuerpos neutralizantes específicos en individuos asintomáticos HIV+ y que tal presencia está fuertemente asociada con la no manifestación de síntomas clínicos (30).

Razones para el optimismo

Por último, vamos a considerar algunos avances recientes que permiten pensar que muy pronto se estará en condiciones de lograr la vacuna eficaz frente al SIDA. Entre ellos destacan:

1. Obtención de una vacuna, "inactivada" capaz de inducir protección en macacos frente al virus de la inmunodeficiencia de los simios (18).

2. Validez de estrategias que acuden a mezclar epitopos. Palker y col. (47) con un péptido bivalente (que imita al epitopo de células T env-T1 y a un epitopo de células B cercano a éste) demuestran la posibilidad de no tener que acudir al empleo de carriers o adyuvantes, al que tradicionalmente se achacaba el fracaso de las vacunas en fase de experimentación para inducir una respuesta inmune anamnéstica (3). La presencia de epitopos específicos de células T permite superar la restricción de una conformación "óptima" que tienen los epitopos de células B cuando se emplean aislados.

3. El hecho de que en un mismo individuo seropositivo, los estudios realizados periódicamente hayan revelado que, a pesar de encontrarse expuesto al riesgo de reinfección por una cepa distinta del HIV, ésta no tenga lugar (52), aparece evidenciar que la infección

natural protege frente a posteriores reinfecciones, y que lo mismo ocurrirá con la vacunación.

4. El diseño de un sistema matriz, con ramas laterales de oligolisina que sirven de estructura básica para la incorporación simultánea de péptidos diferentes, que es capaz de potenciar la respuesta inmune que específicamente desencadenan cada uno de ellos (59).

5. Utilidad del transposon Ty de levadura para incrementar el poder inmunógeno de determinadas proteínas del HIV o de regiones concretas de las mismas. Adams y col. (2) acudiendo a una propiedad exhibida por dicho transposon, la de generar partículas similares a virus en las que se exhiben múltiples copias de la proteína que codifica, onclonaron en él la secuencia del gen **gag** del HIV que codifica a p24, al objeto de posibilitar la aparición de estructuras en formas de virus sobre cuya superficie se expresa p24 de forma polivalente. Tales partículas han sido utilizadas como componente de una vacuna purificada testada en macacos, demostrando un excelente poder para inducir inmunidad celular (40).

6. En sistemas murinos se ha demostrado la posibilidad de elegir la aparición de isotipos específicos con el empleo de determinados "epitopos". Para el HIV, dado que la mayoría de infecciones se inician a través de las mucosas, también se podría desencadenar específicamente la producción de inmunoglobulina A (IgA) secretora, que parece ser un mecanismo destacado de protección local en la infección natural (3). En este sentido se ha de tener presente la acción supresora que sobre respuestas de este tipo puede tener la vacunación parenteral (33).

7. La puesta a punto de nuevas técnicas de inmunización, como la denominada "inmunización intracelular" (6), en la que selectivamente se impide la replicación del HIV, también es esperanzadora.

8. Por último, la reciente obtención de una cepa inmunodeficiente de ratones, en la que es posible (tras trasplantar células humanas) la infección por el HIV y la rápida inducción de SIDA, parece solucionar la falta de un modelo animal válido para ensayar las distintas estrategias vacunales (1). Las observaciones son reproductivas, se dispone de un número no limitado de ejemplares y el tiempo en que se pueden obtener resultados es corto.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Ada, G., "Prospects for a vaccine against HIV", **Nature**, 339: 331, 1989.
- (2) Adams, S.E., et al., "The expression of hybrid HIV: Ty virus-like particles in yeast", **Nature**, 329: 68, 1987.
- (3) Archibald, D.W. et al., "Secretory IgA antibodies to human immunodeficiency

virus in the parotid saliva of patients with AIDS and AIDS-related complex", *J. Infect. Dis.*, 155: 793, 1987.

(4) Arthur, L.O. et al., "Serological responses in chimpanzees inoculated with Human Immunodeficiency Virus glycoprotein (gp120) subunit vaccine", *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 84: 8583, 1987.

(5) ASM News., "Some progress, many strategies for AIDS vaccine. Current-Topic", *ASM News*, vol. 53, n. 7, 1987.

(6) Bednarik, D.P. et al., "Inhibition of Human Immunodeficiency Virus (HIV) replication by HIV-trans-activated alpha 2-interferon", *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 86: 4958, 1989.

(7) Bittle, J.L. et al., "Protection against foot-and-mouth disease by immunization with a chemically synthesized peptide predicted from the viral nucleotide sequence", *Nature*, 298: 30, 1982.

(8) Bolognesi, D.P., "Do antibodies enhance the infection of cells by HIV?", *Nature*, 340: 431, 1989.

(9) Bolognesi, D.P., "HIV-antibodies and vaccine design", *AIDS*, 3 (suppl. 1): S111, 1989.

(10) Brett, S.J. et al., "Influences of antigen processing on the expression of the T cell repertoire: evidence for MHC-specific hindering structures on the products of processing", *J. Exp. Med.*, 168: 357, 1988.

(11) Cease, K.B. et Berzofsky, J.A., "Antigenic structures recognized by T cells towards the rational design of an AIDS vaccine", *AIDS*, 2 (suppl. 1): S95, 1988.

(12) Chanh, T.C. et al., "Induction of anti-HIV neutralizing antibodies by synthetic peptides", *Embo J.*, 5: 3065, 1987.

(13) Ciancolo, G.J. et al., "Inhibition of lymphocyte proliferation by a synthetic peptide homologous to retroviral envelope proteins", *Science*, 230: 453, 1985.

(14) Coffin, J.A. et al., "Human immunodeficiency viruses", *Science*, 232: 697, 1986.

(15) Dalglish, A. et al., "Neutralization of HIV isolates by anti-idiotypic antibodies which mimic the T4 (CD4) epitope: a potential AIDS vaccine", *Lancet*, ii: 1047, 1987.

(16) Daniel, M.D. et Desrosiers, R.C., "Use of Simian Immunodeficiency virus for evaluation of AIDS vaccine strategies", *AIDS*, 3 (suppl. 1): S131, 1989.

(17) Delisi, C. et Berzofsky, J.A., "T-cell antigenic sites tend to be amphipathic structures", *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 82: 7048, 1985.

(18) Desrosiers, R.C. et al., "Vaccine protection against Simian Immunodeficiency virus infection", *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 86: 6353, 1989.

(19) Evans, D.J. et al., "An engineered poliovirus chimaera elicits broadly reactive HIV-1 neutralizing antibodies", *Nature*, 339: 385, 1989.

(20) Evans, L.A. et al., "Antibody-dependent cellular cytotoxicity is directed against both the gp120 and gp41 enveloped protein of HIV", *AIDS*, 3: 273, 1989.

(21) Fauci, A.S., "The Human Immunodeficiency Virus: infectivity and mechanisms of pathogenesis", *Science*, 239: 617, 1988.

(22) Gendelman, H.Z. et al., "The macrophage in the persistence and pathogenesis of HIV infection", *AIDS*, 3: 475, 1989.

(23) Goudsmit, J., "Immunodominant B-cell epitopes of the HIV-1 envelope recognized by infected and immunized host", *AIDS*, 2 (suppl. 1): S-41, 1988.

(24) Grenn, M. et al., "Mutational analysis of HIV-1 tat minimal domain peptides: identification of trans-dominant mutants that suppress HIV-LTR-driven gene expression", *Cell*, 58: 215, 1989.

(25) Gressentins, A., "¿Una vacuna contra el SIDA?", *Mundo Científico*, vol. 6, n. 55, 1985.

(26) Javaherian, K. et al., "Principal neutralizing domain of the HIV-1 type envelope protein", *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 86: 6768, 1989.

(27) Jouault, T. et al., "HIV-infection of monocyte cells: role of antibody-mediated virus binding to Fc-gamma receptors", *AIDS*, 3: 125, 1989.

(28) Kanki, P. et al., "Isolation of T-lymphotropic retrovirus related to HTLV-III/LAV from wild caught african green monkeys", *Science*, 230: 951, 1985.

(29) Kennedy, R.C. et Chanh, T.C., "Perspectives on developing antiidiotypic-based vaccines for controlling HIV infection", *AIDS*, 2 (suppl. 1): S119, 1988.

(30) Klasse, P.J. et al., "Presence of antibodies to a putatively immunosuppressive

part of Human Immunodeficiency Virus (HIV) envelope glycoprotein gp41 is strongly associated with health among HIV-positive subjects", **Proc. Natl. Acad. Sci., USA**, 85: 5525, 1989.

(31) Koff, W.C. et Hoth, D.F., "Development and testing of AIDS vaccines", **Science**, 241: 426, 1988.

(32) Koff, W.C. et Fanci, A.S., "Human trials of AIDS vaccines: current status and future directions", **AIDS**, 3 (suppl. 1): S125, 1989.

(33) Koster, F.T. et Pierce, N.F., "Parenteral immunization causes antigen-specific cell-mediated suppression of an intestinal IgA response", **J. Immunol.**, 131: 115, 1983.

(34) Lange, J.M.A. et al., "Decline of antibody reactivity to outler viral core protein p17 is an earlier serological marker of disease progression in Human Immunodeficiency Virus infection than anti-p24 decline", **AIDS**, 1: 155, 1987.

(35) Laurence, J. et Schild, G.C., "Vaccines and immunology. Overview", **AIDS**, 3 (suppl. 1): S97, 1989.

(36) Lyerly, H.K. et al., "Human T-cell Lymphotropic Virus III glycoprotein (gp120) bounds to CD4 determinants on normal lymphocytes and expressed by infected cells serve as target for immune attack", **Proc. Natl. Acad. Sci., USA**, 84: 4601, 1987.

(37) Mann, D.L. et al., "HTLV-III large envelope protein (gp120) supresses PHA--induced lymphocyte blastogenesis", **J. Immunol.**, 138: 2640, 1987.

(38) Margali, H. et al., "Prediction of immunodominant helper T-cell antigenic sites from the primary sequence", **J. Immunol.**, 138: 2213, 1987.

(39) Milich, D.R. et al., "Antibody production to the nucleocapsid and envelope of the hepatitis B virus primed by a single synthetic T-cell site", **Nature**, 329: 547, 1987.

(40) Mills, K. et al., "T-cell strategies in AIDS vaccines: MHC-restricted T-cell responses to HIV proteins", **AIDS**, 3 (suppl. 1): S101, 1989.

(41) Modrowski, S. et al., "Computer-assisted analysis of envelope protein sequences of seven Human Immunodeficiency Virus isolates: prediction of antigenic epitopes in conserved and variable regions", **J. Virol.**, 61: 570, 1987.

(42) Moss, B. et Flexner, C., "Vaccinia virus expression vectors", **Ann. Rev. Immunol.**, 5: 305, 1987.

(43) Moss, B., "Use of vaccinia virus vectors for development of AIDS vaccines", **AIDS**, 2 (suppl. 1): S103, 1988.

(44) Naylor, P.H. et al., "HIV contains an epitope immunoreactive with thymosin and the 30 amino acid synthetic p17 group specific antigen HPG-30", **Proc. Natl. Acad. Sci., USA**, 84: 2951, 1987.

(45) Newmark, P., "Problems with AIDS vaccines", **Nature**, 324: 304, 1986.

(46) Oldstone, M.B.A., "Molecular mimicry and autoimmune disease", **Cell**, 50: 819, 1987.

(47) Palker, T.J. et al., "Polyvalent Human Immunodeficiency virus synthetic immunogen comprises of envelope gp120 T-helper cell sites and B-cell neutralization epitopes", **J. Immunol.**, 142: 3612, 1989.

(48) Papsidero, L.D., "HIV type-1 neutralizing monoclonal antibodies wich react with p17 core protein: characterization and epitope mapping", **J. Virol.**, 63: 267, 1989.

(49) Redfield, R.R. et al., "Disseminated vaccinia in a military recruit with Human Immunodeficiency Virus (HIV) disease", **N. Eng. J. Med.**, 316: 673, 1987.

(50) Reiher, W. et al., "Sequence homology between Acquired Immunodeficiency Syndrome Virus envelope protein and interleukin 2", **Proc. Natl. Acad. Sci., USA**, 83: 9188, 1986.

(51) Ruegg, C. et al., "Inhibition of lymphoproliferation by a synthetic peptide with sequence identy to gp41 of Human Immunodeficiency Virus tipe 1", **J. Virol.**, 63: 3257, 1989.

(52) Saag, M.S. et al., "Extensive variation of Human Immunodeficiency Virus type-1 in vivo", **Nature**, 334: 440, 1988.

(53) Salk, J., "Prospects for the control of AIDS by immunizing seropositive individuals", **Nature**, 327: 473, 1987.

(54) Sattentau, Q.J. et al., "The CD4 antigen, physiological ligand and HIV receptor", **Cell**, 52: 631, 1988.

- (55) Schrier, R.D. et al., "T-cell recognition of HIV synthetic peptides in a natural infection", **J. Immunol.**, 142: 1166, 1989.
- (56) Sethi, K.K. et al., "Phenotypic heterogeneity of cerebrospinal fluid-derived HIV-specific and HLA-restricted cytotoxic T-cell clones", **Nature**, 335: 178, 1988.
- (57) Siliciano, R.F. et al., "Analysis of host-virus interactions in AIDS with anti-gp120 cell clones: effect of HIV sequences variation and a mechanism for CD4+ cell depletion", **Cell**, vol. 54: 561, 1988.
- (58) Steward, M.W. et Howard, C.R., "Synthetic peptides: a next generation of vaccines", **Immunol. Today**, 8: 51, 1987.
- (59) Tam, J.P., "Synthetic peptide vaccine design: synthesis and properties of a high-density multiple antigenic peptide system", **Proc. Natl. Acad. Sci., USA**, 85: 5409, 1988.
- (60) Tyler, D.S. et al., "Antibody-directed anti-HIV-1 cellular cytotoxicity: role of NK/K cells armed with gp120 specific antibodies in therapeutic and vaccine strategies", **Vaccines**, 89: 155, 1989.
- (61) Van Eedenberg, J.P. et al., "Cell mediated immune proliferative responses to HIV-1 in chimpanzees vaccinated with different vaccinia recombinant viruses", **AIDS Res. Human Retroviruses**, 5: 41, 1989.
- (62) Weissmann, I., "Approaches to an understanding of pathogenetic mechanisms in AIDS", **Rev. Infect. Dis.**, 10: 385, 1988.
- (63) Young, J.A.T., "HIV and HLA similarity", **Nature**, 333: 215, 1988.
- (64) Zagury, D. et al., "Immunization against AIDS in humans", **Nature**, 326: 249, 1987.
- (65) Zarling, J.M. et al., "T-cell responses to human AIDS virus in macaques immunized with recombinant vaccinia viruses", **Nature**, 323: 344, 1986.
- (66) Zarling, J.M., "Primate models for evaluation of AIDS vaccines", **AIDS**, 2 (suppl. 1): s-113, 1988.
- (67) Ziegler, J.L. et Stites, D.P., "Hypothesis: AIDS in an autoimmune disease directed at the immune system and triggered by a limphotropic virus", **Clin. Immunol. Immunopathol.**, 41: 305, 1986.

Author	Year	Journal
Schrier, R.D. et al.	1989	J. Immunol.
Sethi, K.K. et al.	1988	Nature
Siliciano, R.F. et al.	1988	Cell
Steward, M.W. et Howard, C.R.	1987	Immunol. Today
Tam, J.P.	1988	Proc. Natl. Acad. Sci., USA
Tyler, D.S. et al.	1989	Vaccines
Van Eedenberg, J.P. et al.	1989	AIDS Res. Human Retroviruses
Weissmann, I.	1988	Rev. Infect. Dis.
Young, J.A.T.	1988	Nature
Zagury, D. et al.	1987	Nature
Zarling, J.M. et al.	1986	Nature
Zarling, J.M.	1988	AIDS
Ziegler, J.L. et Stites, D.P.	1986	Clin. Immunol. Immunopathol.

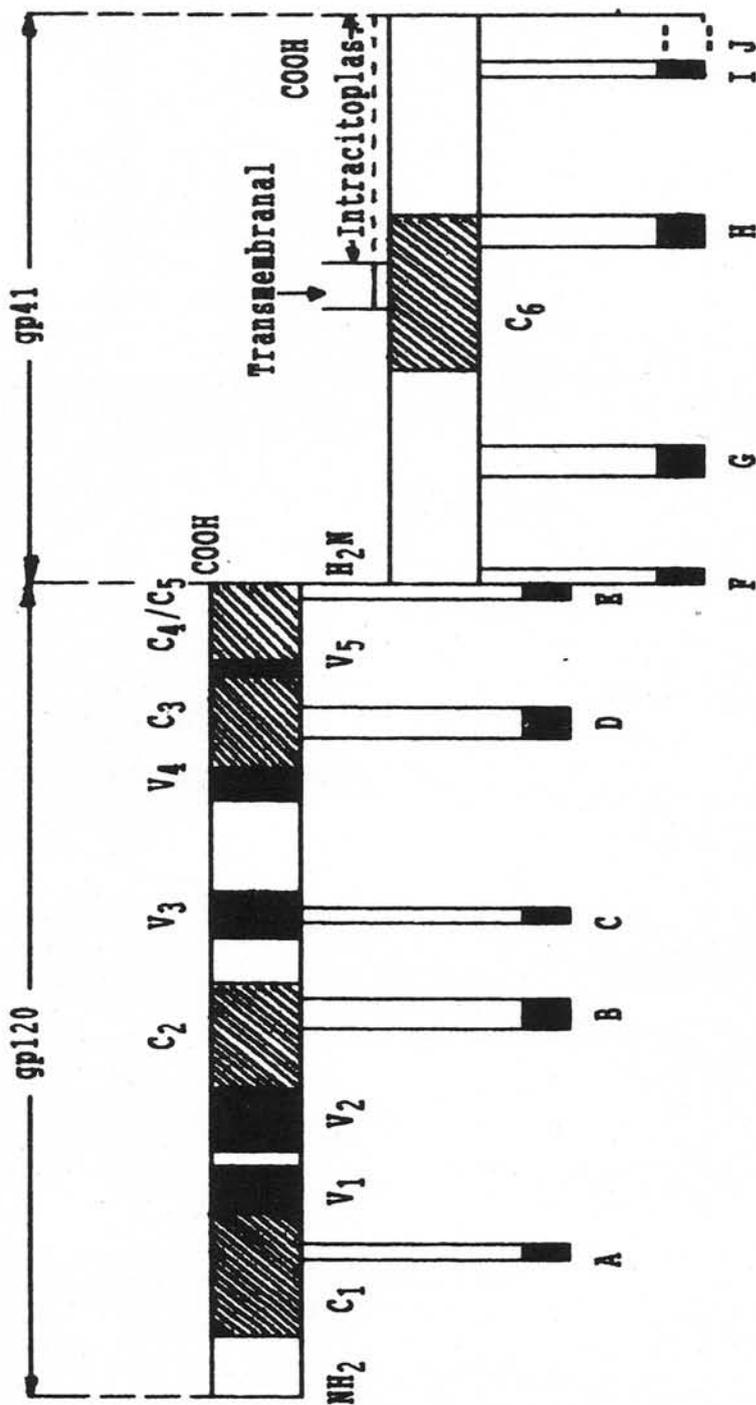
TABLA 1. Ensayos clínicos en humanos con vacunas frente al SIDA (32).

Nº ensayo	Vacuna candidata	Fabricante	Destinatarios y país
1	Virus vacunal-HIV env + Vacuna autóloga-HIV env células infectadas + gp160 recombinante	Zagury (Univ. Pierre et Marie Curie) (Francia)	Heterosexuales sanos (Francia y Zaire).
2-3	Virus vacunal-HIV env (HIVAC-1e)	Brystol Myer, Inc. (USA)	Homosexuales y bisexuales sanos (USA). Heterosexuales sanos (USA).
4-5	gp160 recombinante (obtenida de células de insecto)	Nycro Gene Syst, Inc. (USA)	Homosexuales sanos (USA). Heterosexuales sanos (USA).
6	gp120 recombinante (producida por levaduras)	Biocine Company (Suiza)	Heterosexuales sanos (Suiza).
7	Vacuna inactivada	Immune Resp. Corp. (USA)	Individuos asintomáticos y con ARC, HIV seropositivos (USA).
8	Péptido sintético p17 (HGP-30)	Viral Technology (Inglaterra)	Heterosexuales sanos (Inglaterra).
9	Anticuerpos monoclonales anti-CD4	Becton Dickinson Corp. (Inglaterra)	Individuos con ARC, HIV seropositivos (Inglaterra).

TABLA 2. Epitopos y dominios funcionales de interés presentes en glucoproteínas del HIV (23,41,25,20,11,55)

Situación	Papel biológico
A (112-124) env-T ₂	Epitopo linfocitos T helpers. (LT _H).
B (254-274)	Epitopo linfocitos B, síntesis anticuerpos neutralizantes (AN). Participa en la etapa que sigue a la adsorción viral. Homología con señales HLA-DR.
C (303-337)	Epitopo linfocitos B, inducción síntesis AN y respuesta ADCC tipo-específicas. Epitopos linfocitos T citotóxicos (LT _C). Participa en la fusión viral.
D (428-443) env-T ₁	Epitopo LT _C . Sitio reconocimiento del receptor celular CD4.
E (504-517)	Epitopo linfocitos B, inducción síntesis AN y respuesta ADCC grupo-específicas.
F (518-527)	Dominio fusogénico.
G (579-601)	Epitopo linfocitos B, inducción síntesis AN tipo-específicos. Secuencia inmunosupresora.
H (732-752)	Epitopo linfocitos B, inducción síntesis AN grupo-específicos.
I (831-837)	Homología con señales HLA-DR.
J (840-862)	Importante para la infectividad y la patogénesis. Homología con la IL-2.

FIGURA 1. Mapa lineal de las glucoproteínas del HIV.



Se indica la posición de epítomos y dominios importantes contemplados en la TABLA 2, en relación a las regiones constantes (zonas rayadas) e hipervariables (zonas en negro). (23).