

# Avances en el desarrollo de vacunas frente al sida (parte II)

L. Medrano, L. Pérez-Álvarez, M. Thomson y R. Nájera

Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda. Madrid.

## VACUNAS DE NUEVA GENERACIÓN

### Vacunas de proteínas internas: Tat

Las proteínas víricas que se han utilizado más frecuentemente como inmunógenos en vacunas contra el VIH-1 han sido proteínas estructurales, y especialmente *Env*, ya que en esta proteína se encuentran epítomos que pueden inducir la producción de anticuerpos neutralizantes. Recientemente, se han hecho estudios con vacunas basadas en genes reguladores, y concretamente se han obtenido resultados prometedores utilizando la proteína *Tat* como antígeno. Una ventaja de utilizar *Tat* como inmunógeno es que se secreta al medio extracelular y puede provocar la formación de anticuerpos que bloquean los efectos nocivos sobre células no infectadas. Entre los efectos nocivos de *Tat* figuran: a) inhibir las respuestas proliferativas de linfocitos T; b) inducir la producción de interferón alfa en macrófagos, lo cual tiene efectos antiproliferativos en linfocitos T; c) inducir la expresión de receptores de quimioquinas, que son correceptores de VIH, en linfocitos T. Además, se ha observado en monos inculados con VIS que la resolución de la primoinfección se asocia a la aparición de mutantes de escape con sustituciones de aminoácidos en epítomos linfocitos T citotóxicos (CTL) de *Tat*, asociada con atenuación de la replicación vírica<sup>9</sup>.

En un trabajo reciente, se ha utilizado *Tat* sin modificar o modificado para eliminar sus efectos nocivos (toxoide *Tat*) como inmunógeno en una vacuna experimental en macacos *rhesus* utilizando como virus de desafío un virus patógeno quimérico entre VIS y VIH (VIHS)<sup>27</sup>. Los resultados indicaron que la inmunización con toxoide *Tat* o *Tat* sin modificar no previene la infección, pero puede atenuar la replicación de VIHS en aproximadamente la mitad de los macacos, lo cual se correlaciona con el desarrollo de respuestas tanto humorales como celulares contra *Tat*. Además, en aproximadamente la mitad de los animales que desarrollan buenas respuestas inmunes se retrasa el descenso de los linfocitos CD4+. Estos resultados, junto con los de un estudio anterior en macacos *cynomolgus*<sup>28</sup>, sugieren que *Tat* o el toxoide *Tat* puede ser un componente importante dentro de una vacuna polivalente con fines profilácticos.

### Vacunas de vectores víricos y bacterianos vivos

Con el fin de permitir la expresión intracelular de antígenos de VIH, se han utilizado vectores vivos atenuados no patógenos, principalmente virus, y más recientemente también bacterias intracelulares, los cuales sirven como vehículos para introducir los genes que codifican para dichos antígenos dentro de las células del organismo.

Los vectores vacunales mejor estudiados son los poxvirus atenuados, que tienen una capacidad muy limitada de replicar en células humanas, asegurando así su inocuidad incluso en pacientes inmunodeprimidos. Entre estos vectores se encuentran el NYVAC (derivado de la cepa Copenhague del virus *Vaccinia*), el ALVAC (derivado del virus *Canaripox*), el virus *Fowlpox* y el MVA (virus *Vaccinia* de Ankara modificado). También se han hecho progresos utilizando como vectores adenovirus y alfavirus. Las vacunas que utilizan vectores víricos atenuados han demostrado ser inocuas y han sido capaces de inducir potentes respuestas inmunes celulares y humorales.

Uno de los vectores víricos más ampliamente estudiado ha sido el MVA, que ha demostrado su seguridad al haber sido administrado a más de 120.000 personas en la campaña de erradicación de la viruela. Utilizando vacunas recombinantes con dicho vector que expresaban *Gag-Pol* o *Env* de VIS en macacos, no se previno la infección con el virus de desafío VIS patógeno, pero se consiguió reducir la viremia con respecto a los controles, aumentándose la supervivencia, y esta protección se correlacionaba con la inducción de respuestas CTL<sup>13,29</sup>.

Recientemente se ha descrito que en monos *rhesus* las respuestas inmunes celulares más efectivas se obtenían utilizando un vector adenovírico incapaz de replicar (Ad5) que expresaba el gen *gag*. Aunque la vacuna no evitaba la infección con un virus SHIV de desafío, se producía una fuerte atenuación de la replicación vírica, mayor que la obtenida con ADN desnudo o con vector MVA<sup>30</sup>.

Con el fin de reforzar las respuestas inmunes, se ha utilizado una estrategia de combinación llamada de inducción-potenciación (*prime-boost*). Primero se administra el gen que codifica para *Gag-Pol-Env* insertado en un vector vírico para estimular la inmunidad celular y meses después se inocula la proteína recombinante gpl20 con el fin de estimular la producción de anticuerpos. Se ha demostrado que esta estrategia permite inducir respuestas inmunes humorales y celulares en humanos. Utilizando inmunización inicial con adenovirus como vector y potenciación posterior con proteína gpl20, se ha demostrado inducción de anticuerpos neutralizantes en chimpancés, correlacionándose con protección frente a un desafío intravenoso con un VIH homólogo<sup>31</sup>, y en uno de tres chimpancés protegidos contra el virus homólogo, también se pudo demostrar por primera vez protección de una vacuna frente a un aislado no sincitial sometido a un mínimo número de pases en cultivo *in vitro*<sup>32</sup>.

Las vacunas de vectores vivos se han utilizado además para potenciar las respuestas inmunes inducidas por vacunas de ADN como se comentará a continuación.

Además de virus atenuados, están siendo estudiadas como vectores de vacunas algunas bacterias atenuadas que penetran en células y expresan diversos antígenos de VIS o VIH, siendo capaces de inducir respuestas inmunes. Algunas de ellas son: *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus*

## REVISIÓN

*gordonii*, bacilo Calmette-Guerin (BCG) y *Listeria monocytogenes*, aunque todavía no hay estudios que demuestren su eficacia para protección frente a virus patógenos.

### Vacunas de ADN desnudo

Una de las estrategias de vacunación contra el VIH-1 con resultados más prometedores es la inmunización mediante vacunas de ADN «desnudo», que son capaces de inducir potentes respuestas de inmunidad celular, además de inmunidad humoral. En estas vacunas, el gen que codifica para el antígeno de interés es clonado en un plásmido, amplificado en bacterias, y administrado mediante una inyección intramuscular o intradérmica, o mediante un dispositivo conocido como «pistola de genes». Algunos de los plásmidos pueden penetrar en células consideradas como «profesionales» en la presentación de antígenos (macrófagos o células dendríticas), que los exhiben en su membrana junto con las moléculas coestimuladoras necesarias para activar los linfocitos T. Las vacunas de ADN desnudo tienen varias ventajas: no producen infección, no expresan antígenos víricos o bacterianos innecesarios, son fáciles de diseñar y de producir en grandes cantidades, y son tan estables o más que otras vacunas. Por lo tanto serían relativamente económicas y fáciles de distribuir ampliamente. Diversos estudios han mostrado que las vacunas de ADN con antígenos de VIH-1 pueden estimular el sistema inmune de roedores, primates y humanos, y generar respuestas de anticuerpos, CTL y células T auxiliares de tipo Th1. En chimpancé se demostró que una vacuna de ADN era capaz de proteger a los animales contra una cepa de VIH-1 de laboratorio altamente atenuada, aunque no había claros correlatos de protección<sup>33</sup>, y en macacos *rhesus* vacunados con una vacuna de ADN que expresa *Gag* de VIS se desarrollaron respuestas secundarias de CTL, con control de la replicación vírica tras infección con VIS patógeno<sup>34</sup>.

Combinando la vacuna de ADN desnudo con vacunas de vectores vivos en pautas de inoculación consecutiva de tipo inducción-potenciación, se ha observado que se pueden aumentar las respuestas inmunes. En un estudio se obtuvo inmunidad esterilizante cuando la vacuna de ADN se siguió de potenciación con proteína y el desafío se hizo con un virus con un *Env* homólogo al del virus usado para la potenciación<sup>35</sup>. En otro estudio, se demostró en macacos *rhesus* que la inducción mediante administración intradérmica de ADN seguida de potenciación con vacuna recombinante con un vector poxvirus puede limitar la replicación del virus de desafío (VIHS) aunque la mayoría de los animales quedaron infectados<sup>36</sup>. Una de las pautas más ampliamente estudiadas es la de inducción con ADN desnudo y potenciación con vacuna de vector MVA. Un régimen de vacunación de este tipo se está utilizando en un ensayo clínico de fase I/II en Kenia<sup>25</sup>, con el que se pretende inducir inmunidad tanto de tipo CTL como T auxiliar, incluyendo epítomos correspondientes al subtipo A, que es el predominante en Nairobi, donde se realiza el ensayo.

La administración concomitante de ciertas citoquinas puede incrementar la respuesta inmune inducida por vacunas de ADN, como se ha demostrado en un trabajo reciente, en el que la coadministración de interleucina 2, en forma de proteína o plásmido de fusión con la porción Fc de inmunoglobulina (lo cual aumenta su estabilidad *in vivo*) con una vacuna de ADN con genes que codifican para *Gag* y *Env* de VIS en macacos *rhesus* aumentaba de

forma considerable la respuesta CTL, limitando la replicación del virus VIHS de desafío y protegiendo a los monos frente a los efectos patógenos del mismo, aunque no prevenía la infección<sup>37</sup>.

Las vacunas de ADN desnudo no siempre son buenos inmunógenos, por lo que se recomienda utilizar sencillas estrategias que son «adyuvantes» que refuerzan la inmunidad. Los plásmidos bacterianos son ricos en secuencias CpG no metiladas, por lo que el ADN bacteriano es preferible al de mamíferos, que tiene menos «islotas» CpG y además están metilados. Otra estrategia novedosa en el trabajo de Sasaki et al<sup>38</sup> es introducir genes de caspasas en los plásmidos de ADN, que al estimular la apoptosis y la presentación de antígenos en las células dendríticas, potencia 15 veces la respuesta en linfocitos CD8 citotóxicos y multiplica por 10 la respuesta en linfocitos CD4 de memoria.

### Desarrollo de inmunidad celular mediante vacunas en individuos tratados con antivíricos

Casi todos los individuos infectados por el VIH-1 en los países desarrollados son tratados con triple terapia y han visto reducida la carga vírica a baja o indetectable, pero deben interrumpir el tratamiento por sus efectos adversos o porque el tratamiento fracasa, lo que plantea la necesidad de una vacunación terapéutica que ayude al sistema inmune a recuperarse hasta controlar la replicación vírica. La terapia con antivíricos a largo plazo es tóxica y pierde progresivamente su eficacia, por lo que al introducir vacunas que desarrollen citotoxicidad, cabría silenciar al virus durante períodos más largos, en los que contemplar interrupciones del tratamiento con antivíricos.

Varios supuestos posibles han sido considerados recientemente por Shen y Siliciano<sup>39</sup> y se ilustran en la figura 1. Los trazados de carga vírica y del número de linfocitos CD4 que se observan en individuos infectados que no han sido tratados con antivíricos ni vacunados, se indica en el recuadro superior izquierdo. Caben además otras posibilidades diferentes en individuos vacunados: una, indicada en el recuadro inferior derecho, es la de individuos que desarrollan un pico alto de viremia en la infección primaria y son tratados de inmediato con triple terapia, por lo que consiguen mantener la carga vírica muy baja durante años. En el recuadro superior derecho de la figura 1 se indica también el supuesto teórico de recuperar cifras de linfocitos CD4 muy por encima de los 200 linfocitos por microlitro en individuos que han sido vacunados antes de la primoinfección con una vacuna no plenamente eficaz o esterilizante, que desarrolla una inmunidad suficiente como para mantener la carga vírica baja sin antivíricos. Se puede lograr en efecto una carga vírica indetectable y un recuento de linfocitos CD4 normal por procedimientos vacunales, que son menos tóxicos que la terapia antirretrovírica de alta eficacia (TAAE) y en definitiva una vacunación adecuada potencia las ventajas de la triple terapia y permite interrumpirla sin que los rebotes de replicación vírica destruyan el sistema inmune. Shen y Siliciano contemplan finalmente en el recuadro inferior izquierdo de la figura 1, un cuarto supuesto experimental, demostrado en monos desprovistos de CD8 infectados con el VIS. En este supuesto no existen reacciones de citotoxicidad, por lo que la progresión hacia la enfermedad, acompañada de una depleción acentuada de linfocitos T CD4+ es sólo cuestión de unos meses.

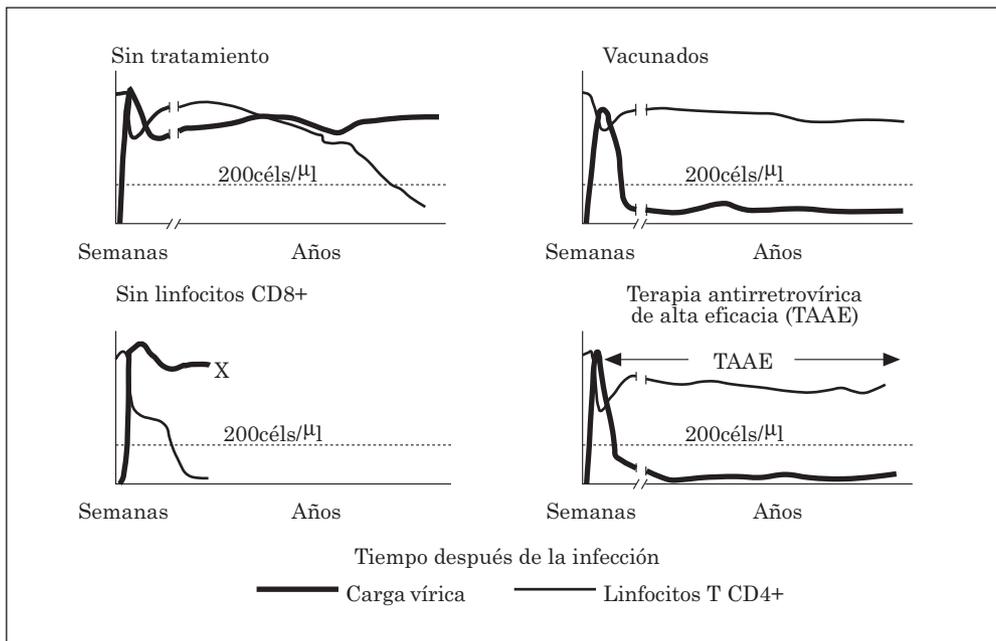


Fig. 1. Defensas inmunes frente al VIH o VIS. Las explicaciones se incluyen en el texto. Tomada de Shen y Siliciano. Science 2000; 290:463-5.

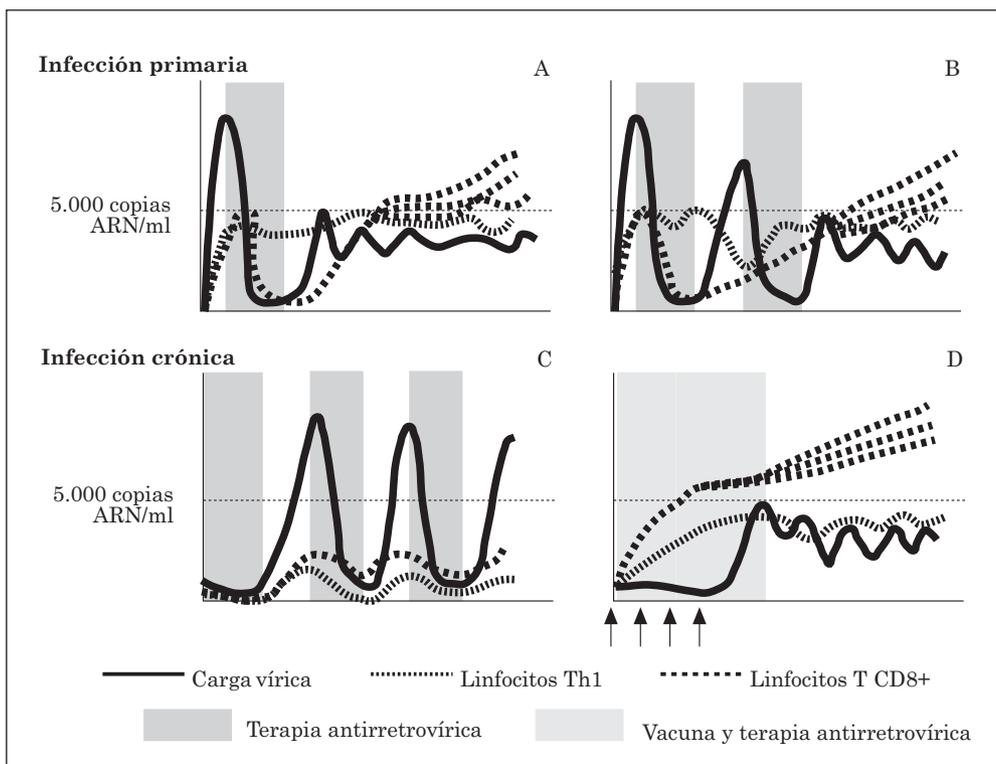


Fig. 2. Recuperación de la inmunidad celular mediante interrupciones de triple terapia acompañadas de vacunación. Las explicaciones se incluyen en el texto. Tomada de Autran y Carcelain. Science 2000; 290:946-9.

## REVISIÓN

La vacunación y el tratamiento con antiviricos administrados de forma complementaria no suelen producir efectos esterilizantes. De haber dado con una vacuna plenamente eficaz, que induzca anticuerpos neutralizantes en la vía de entrada del virus y desarrolle una citotoxicidad acompañada de memoria, al tiempo que potencie la producción de citoquinas del estado Th1, la vacunación haría que el virus no entrara en el torrente sanguíneo, por lo que la inmunidad sería esterilizante. Pero es difícil conseguir todos estos requisitos en el caso del VIH, si bien bastaría con llegar a controlar mediante vacunas la replicación del virus por períodos largos, de forma que el individuo infectado sobreviva al menos 20 años sin patología ni tratamiento, al igual que ocurre en los casos de no progresión espontánea entre individuos no vacunados.

Estas reflexiones plantean la necesidad de estudiar si el sistema inmune puede llegar a controlar la infección vírica combinando adecuadamente vacunación y TAAE. La inserción de períodos de descanso o interrupciones programadas de la triple terapia, puede hacer que los CD4+ se recuperen y se produzcan interacciones entre ambos tipos de linfocitos T, hasta conseguir una respuesta inmune adecuada. Las interrupciones programadas deben mantener un mínimo de CD4 y evitar fuertes rebotes de carga vírica, que deplecionarían excesivamente los linfocitos. Así se ha calculado que la carga vírica del rebote no supere las 5.000 copias de ARN vírico por ml, para no destruir la respuesta celular de citoquinas Th1 en los linfocitos CD4 activados, y estimular una citotoxicidad variada de los linfocitos CD8 (CTL).

La figura 2, tomada de las observaciones de Autran y Carcelain<sup>40</sup>, indica en un primer supuesto A, que con una interrupción de la triple terapia poco tiempo después de la infección primaria, se consigue un rebote de carga vírica que no sobrepasa las 5.000 copias de ARN vírico por ml, estado en el que un suficiente número de células Th1 puede estimular los linfocitos CD8 a producir una respuesta amplia, fuerte y variada de CTL. Pero lo más frecuente es el supuesto B, en el que una primera interrupción de la TAAE produce un rebote muy potente, por lo que las células Th1 bajan excesivamente. En este supuesto se requiere un segundo tratamiento con triple terapia para que el rebote sea inferior y aparezca inmunidad celular, bajo el estímulo aportado por los CD4+. Estos dos supuestos son posibles en la infección primaria.

En la infección crónica es más difícil controlar los rebotes, por lo que el supuesto teórico D indica cómo mediante varias interrupciones del tratamiento antivirico acompañadas de vacunación, la carga vírica puede quedar por debajo del umbral de las 5.000 copias de ARN por ml. En muchos casos, sin embargo, se contempla una situación del tipo C en la que no hay mejoría clínica a pesar de múltiples interrupciones de la triple terapia.

### PROBLEMAS SOCIALES Y ÉTICOS

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido que los principios generales éticos deben estar de acuerdo con la declaración de Helsinki, según la revisión de la Asamblea Médica Mundial reunida en Venecia en octubre de 1988, las Normas Internacionales de la Investigación Biomédica con Personas Humanas, desarrollada por la OMS en 1982 y el Consejo de las Organizaciones Internacionales de Ciencias Médicas. Estos documentos deben servir de guía para los Comités Nacionales de Éti-

ca, en todo lo relacionado con ensayos de vacunas en el hombre.

La OMS ha recomendado que los ensayos en fase I y II se realicen inicialmente en países desarrollados, donde la seguridad y la respuesta inmune se pueden controlar cuidadosamente, y repetir después algunos de estos ensayos en países en desarrollo, donde los problemas nutricionales y de infecciones pueden modificar la seguridad y hasta el tipo de respuesta inmune.

La OMS recomienda también que los ensayos en fase III se realicen simultáneamente en países industrializados y en países en desarrollo, en cohortes con una alta incidencia de infección por VIH. La OMS propondría a los países en desarrollo la infraestructura necesaria para una adecuada coordinación nacional. Esto implicaría no sólo estudios virológicos para la caracterización antigénica de las cepas prevalentes en la población, sino también estudios epidemiológicos para conocer la incidencia del VIH en posibles grupos integrantes de ensayos futuros, estudios clínicos y de investigación y conocimiento de aspectos sociales y de conducta que permitan desarrollar métodos eficaces y culturalmente apropiados para educar y aconsejar a los voluntarios de ensayos clínicos en la población general en relación con el sida y con los propios ensayos clínicos de vacunas de VIH.

Se ha trabajado ya según estos planteamientos en colaboración con las autoridades nacionales y científicas de Ruanda, Uganda, Brasil y Tailandia. El desarrollo en fase I de la vacuna denominada de Oxford (A.J. McMichael) producida por la empresa farmacológica Vax-Gene se realiza actualmente en Kenia. Hay así mismo proyectados para el 2002 ensayos clínicos en fase I que se realizarán en África del Sur con la vacuna Alphavax bajo la supervisión de Peter Young.

La vacuna frente al sida es especialmente compleja y requiere un seguimiento muy detallado. La necesidad de probar vacunas en países en desarrollo que no tienen apenas acceso a los tratamientos con antiviricos debido a su elevado coste, plantea obviamente problemas que nos conciernen a todos y que no son fáciles de resolver dada la desigual distribución mundial de los servicios de Salud Pública. José Esparza<sup>41</sup>, de la OMS, ayudado por un grupo de expertos, ha analizado las repercusiones sociales de una vacuna frente al sida, cuya llegada es inmediata. Algunas de las características de la vacuna a tener en cuenta son: a) la eficacia de la vacuna frente al sida será baja o moderada inicialmente; b) la vacuna no podrá ser barata; c) la vacuna deberá ser administrada en varias dosis, y d) la vacuna estará disponible en cantidades limitadas al principio.

La vacuna deberá además ser administrada preferentemente a adolescentes, lo que requiere una preparación especial a nivel familiar y comunitario, para aceptar la vacunación. Por otra parte, para el seguimiento de su eficacia se requieren estrictas medidas de control. Tampoco se deben crear falsas expectativas. Todo ello conlleva la programación de campañas de vacunación dirigidas hacia objetivos muy concretos y adaptadas tanto a países donde la infraestructura sanitaria es eficiente y los cauces de información funcionan relativamente bien, como a países donde no existe infraestructura.

La vacuna deberá progresivamente abarcar áreas geográficas cada vez más extensas, principalmente en África, para lo cual se requieren decisiones gubernamentales que apoyen las diversas organizaciones internacionales que

promueven la vacunación. La dinámica de interacción puede ser compleja, ya que los diversos procedimientos vacunales deberán ser comprobados progresivamente y reemplazados por otros cada vez más eficaces. La colaboración de todas las partes implicadas deberá además ser mantenida durante décadas, hasta conseguir que las cifras de infección descendan mediante vacunas profilácticas. Se deberán además utilizar vacunas terapéuticas en personas infectadas que permitan controlar la replicación del virus durante largos períodos de tiempo, aunque nunca consigan erradicar el virus dentro de un individuo infectado.

## CONCLUSIÓN

La posibilidad de disponer de una vacuna frente al sida ha dado pasos decisivos en los dos últimos años, pero hay que seguir avanzando en el conocimiento de la patogenia de la enfermedad y de los mecanismos de protección. Las empresas farmacéuticas trabajan actualmente en una docena de vacunas diferentes para ser empleadas en seres humanos. Hay que reconocer que no hay una sola vacuna sino vacunas frente al sida, y que acaso algunas de las que hoy están en fase III o de ensayos clínicos muy amplios pueden no ser las más eficaces, por lo que serán pronto reemplazadas por otras más completas.

Una vacuna eficaz debe desarrollar un componente de inmunidad celular y otro de inmunidad humoral o de producción de anticuerpos neutralizantes. La inmunidad celular potencia la citotoxicidad que se desarrolla espontáneamente en la infección primaria, y que hace que algunos infectados no progresen a sida durante casi 20 años.

La inducción de anticuerpos neutralizantes no es todavía lo suficientemente potente como para neutralizar todos los aislados primarios de VIH en la diversidad de subtipos y recombinantes identificados hoy, por lo que en los ensayos iniciados la vacuna está adaptada al subtipo predominante en esa región o país.

Por otra parte, la puesta a punto de ensayos con vacunas requiere la colaboración de países en desarrollo, que es donde más se precisa detener la epidemia del sida con estos procedimientos, lo cual plantea importantes problemas sociales que no van a ser resueltos a corto plazo. Se debe por tanto seguir haciendo llamamientos hacia potenciar los sistemas de prevención, a través de acciones de educación para la salud, que traten de evitar el contagio mediante la implantación de programas planificados y evaluados, con objeto de controlar la extensión de la epidemia.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Deacon N, Tsykin A, Solomon A. Genomic structures of an attenuated quasispecies of HIV-1 from a blood transfusion donor and recipients. *Science* 1995;270: 988-91.
2. Desrosiers R. HIV with multiple gene deletions as a live attenuated vaccine for AIDS. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1992; 8: 411-21.
3. Baba TW, Liska V, Khimani AH, et al. Live attenuated, multiply deleted simian immunodeficiency virus causes AIDS in infant and adult macaques. *Nat Med* 1999; 5: 194-203.
4. Wyatt R, Kwong PD, Desjardins E, Sweet RW, Robinson J, Hendrickson WA, Sodroski JG. The antigenic structure of the gp120 envelope glycoprotein. *Nature* 1998; 393:705-11.
5. Root MJ, Kay MS, Kim PS. Protein design of an HIV-1 entry inhibitor. *Nature* 2001; 291: 884-8.
6. Binley JM, Sanders RW, Clas B, Schuelke N, Master A, Guo Y, et al. A recombinant human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein complex stabilized by an intermolecular disul-

fide bond between the gp120 and gp41 subunits is an antigenic mimic of the trimeric virion-associated structure. *J Virol* 2000; 74:627-43.

7. LaCasse RA, Follis KE, Trahey M, Scarborough JD, Littman DR, Nunberg JH. Fusion-competent vaccines: Broad neutralization of primary isolates of HIV. *Science* 1999; 283: 357-62.

8. Verrier F, Burda S, Belshe R, Dulliege AM, Excler JL, Klein M, Zolla-Pazner S. A human immunodeficiency virus prime-boost immunization regimen in humans induces antibodies that show interclade cross-reactivity and neutralize several X4-, R5-, and dual-tropic clade B and C primary isolates. *J Virol* 2000; 74:10025-33.

9. Allen TM, O'Connor DH, Jing P, et al. Tat-specific cytotoxic T lymphocytes select for SIV escape variants during resolution of primary viraemia. *Nature* 2000; 407:386-90.

10. Seder RA, Hill AVS. Vaccines against intracellular infections requiring cellular immunity. *Nature* 2000; 406: 793-8.

11. Thomson MM, Villahermosa ML, Vázquez de Parga E, et al. Widespread circulation of a B/F intersubtype recombinant form among HIV-1 infected individuals in Buenos Aires, Argentina. *AIDS* 2000; 14:897-9.

12. Nájera R. Molecular epidemiological survey of HIV-1 genotypes in four countries of Latin America and Spain: high prevalence of non-B and intersubtype recombinant viruses. International Meeting of the Institute of Human Virology Sept 2000; abstract 72.

13. Ourmanov I, Brown CR, Moss B, et al. Comparative efficacy of recombinant modified vaccinia virus Ankara expressing simian immunodeficiency virus (SIV) Gag-Pol and/or Env in macaques challenged with pathogenic SIV. *J Virol* 2000; 74:2740-51.

14. Mellors JW, Rinaldo CR, Gupta P, et al. Prognosis of HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. *Science* 1996; 272: 1167-70.

15. Montefiori DC, Evans TG. Toward an HIV type 1 vaccine that generates potent, broadly cross-reactive neutralizing antibodies. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1999; 15: 689-98.

16. Teitter J, Means R, Desrosiers RC. A role for carbohydrates in immune evasion in AIDS. *Nat Med* 1998; 4:679-84.

17. Johnson W, Reitter J, Sauvron J, Czajak S, Desrosiers R. Alternate means for achieving attenuation of simian immunodeficiency virus. International Meeting of the Institute of Human Virology Sept 2000; abstract 143.

18. Harrer T, Harrer E, Kalams SA, et al. Strong cytotoxic T cell and weak neutralizing antibody responses in a subset of persons with stable non-progressing HIV type 1 infection. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1996; 12:585-92.

19. Ferrari G, Humphrey W, McElrath MJ, et al. Clade B-based HIV-1 vaccines elicit crossclade cytotoxic T lymphocyte reactivities in uninfected volunteers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 1396-401.

20. Kaul R, Kimani J, Dong T, et al. Late seroconversion in HIV «resistant» Nairobi prostitutes is associated with a preceding decrease in HIV exposure (abstract 489). En: Program and abstracts of the 7th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (San Francisco). San Francisco: Foundation for Retrovirology and Human Health; 2000. p. 168.

21. Girard M, Habel A, Chanel C. New prospects for the development of a vaccine against human immunodeficiency virus type 1. An overview. *C R Acad Sci III* 1999; 322:959-66.

22. Francis DP, Gregory T, McElrath MJ, et al. Advancing AIDS-VAX to phase 3. Safety, immunogenicity and plans for phase 3. *AIDS Res Hum retroviruses* 1998; 1,14 Suppl 3:S325-31.

23. Berman PW, Huang W, Riddle L, et al. Development of bivalent (B/E) vaccines able to neutralize CCR5-dependent viruses from United States and Thailand. *Virology* 1999;265: 1-9.

24. Rida W, Fast P, Hoff R, Fleming T. Intermediate-size trials for the evaluation of HIV vaccine candidates: a workshop summary. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1997; 16: 195-203.

25. Hanke T, McMichael AJ. Design and construction of an experimental HIV-1 vaccine for a year-2000 clinical trial in Kenya. *Nature Med* 2000; 6:951-5.

26. Amara RR, Villinger F, Altman JD, et al. Control of a mucosal challenge and prevention of AIDS by a multiprotein DNA/MVA vaccine. *Science* 2001; 296:69-74.

## REVISIÓN

---

27. Pauza CD, Trivedi P, Wallace M, et al. Vaccination with tat toxoid attenuates disease in simian/HIV-challenged macaques. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97:3515-9.
28. Cafaro A, Caputo A, Fracasso C, et al. Control of SHIV-89.6P infection of cynomolgus monkeys by HIV-1 Tat protein vaccine. *Nat Med* 1999; 5:643-50.
29. Seth A, Ourmanov I, Schmitz JE, et al. Immunization with a modified vaccinia virus expressing simian immunodeficiency virus (SIV) Gag-Pol primes for an anamnestic Gagspecific cytotoxic T-lymphocyte response and is associated with reduction of viremia after SIV challenge. *J Virol* 2000; 74:2502-9.
30. Shiver JW, Fu TM, Chen L, et al. Replication-incompetent adenoviral vaccine vector elicits effective anti-immunodeficiency-virus immunity. *Nature* 2002; 415:331-5.
31. Zolla-Pazner S, Lubeck M, Xu S, et al. Induction of neutralizing antibodies to T-cell line-adapted and primary human immunodeficiency virus type 1 isolates with a prime-boost vaccine regimen in chimpanzees. *J Virol* 1998; 72:1052-9.
32. Robert-Guroff M, Kaur H, Patterson LJ, et al. Vaccine protection against a heterologous, non-syncytium-inducing, primary human immunodeficiency virus. *J Virol* 1998; 72:10275-80.
33. Boyer JD, Ugen KE, Wang B, et al. Protection of chimpanzees from high-dose heterologous HIV-1 challenge by DNA vaccination. *Nature Med* 1997; 3:526-32.
34. Egan MA, Charini WA, Kuroda MJ, et al. Simian immunodeficiency virus (SIV) gag DNA-vaccinated rhesus monkeys develop secondary cytotoxic T-lymphocyte responses and control viral replication after pathogenic SIV infection. *J Virol* 2000; 74:7485-95.
35. Letvin NL, Montefiori DC, Yasutomi Y, et al. Potent, protective anti-HIV immune responses generated by bimodal HIV envelope DNA plus protein vaccination. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:9378-83.
36. Robinson HL, Montefiori DC, Johnson RP, et al. Neutralizing antibody-independent containment of immunodeficiency virus challenges by DNA priming and recombinant pox virus booster immunizations. *Nat Med* 1999; 5:526-34.
37. Barouch DH, Santra S, Schmitz JE, et al. Control of viremia and prevention of clinical AIDS in Rhesus monkeys by cytokine-augmented DNA vaccination. *Science* 2000; 290: 486-92.
38. Sasaki S, Amara RR, Oran AE, Smith JM, Robinson HL. Apoptosis-mediated enhancement of DNA-raised immune responses by mutant caspases. *Nature Biotech* 2001; 19:543-7.
39. Shen X, Siliciano RF. Preventing AIDS but not HIV-1 infection with a DNA vaccine. *Science* 2000; 290: 463-5.
40. Autran B, Carcelain G. Boosting Immunity to HIV; can the virus help? *Science* 2000; 290:946-9.
41. Esparza J. Future access to HIV vaccines. Report from a WHO-UNAIDS consultations (Final draft 5 february 2001).