

## Trabajo de revisión

### CD4 soluble: Estructura y potencialidades terapéuticas en el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida

C. DUARTE y J. MACHADO

Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Apartado 6162, La Habana 6, Cuba.

Recibido en abril de 1989

Aprobado en mayo de 1989

#### INTRODUCCION

Entre los grandes esfuerzos que se llevan a cabo en la actualidad para la búsqueda de variantes terapéuticas eficaces contra el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), no son pocos los investigadores que han centrado su estudio en la versión soluble de la molécula denominada CD4.

El CD4 es un conocido antígeno de superficie presente en la subpoblación de linfocitos T denominados "linfocitos T auxiliares" o linfocitos T4. Este receptor está compuesto por una sola cadena polipeptídica de 433 aminoácidos, y como otros receptores celulares, presenta tres regiones bien delimitadas: una región citoplasmática, una porción hidrofóbica que atraviesa la membrana (región transmembránica) y la extracelular, que es la mayor y porta el sitio de reconocimiento del ligando (Maddon *et al.*, 1985) (figura 1).

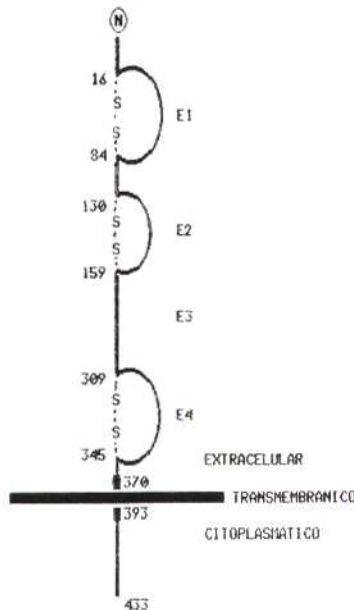


FIG. 1. Esquema general del CD4 humano.

Se conoce que el CD4 funciona como un receptor para las moléculas de clase II del sistema mayor de histocompatibilidad humano (MHCII); la interacción del CD4 con las MHCII, expresadas en la superficie de las células presentadoras, es requerida para la activación de los linfocitos T4 ante un adecuado estímulo antigénico. (Engleman *et al.*, 1981; Krensky *et al.*, 1982; Meuer *et al.*, 1982; Biddison *et al.*, 1982; Wilde *et al.*, 1983; Swain *et al.*, 1983). La detección de la expresión del receptor CD4 en los macrófagos y en células del sistema nervioso central (Maddson *et al.*, 1986), sugiere que esta molécula desempeña un papel más general en el reconocimiento intercelular.

Adicionalmente ha sido demostrado que el receptor CD4 es utilizado por el virus del VIH, postulado como agente causal del SIDA, para la infección celular, no habiéndose logrado evidenciar la existencia de una vía CD4 independiente para la penetración infectiva del virus a las células blanco, a pesar de los esfuerzos realizados en este sentido.

Recientemente se ha corroborado experimentalmente que formas solubles del CD4 (sCD4), constituidas sólo por la región extracelular, son capaces de bloquear *in vitro* la infectividad del VIH (Smith *et al.*, 1987; Trauneker *et al.*, 1988; Sweet *et al.*, 1988; Fisher *et al.*, 1988). Con este trabajo tratamos de resumir la información existente sobre este fenómeno y las posibles aplicaciones terapéuticas del sCD4 en el SIDA.

### **Entrada del virus y transmisión de la señal**

Los estudios de microscopía electrónica han confirmado que el virus, luego de interactuar con el receptor CD4, puede penetrar a la célula a través de un proceso de endocitosis del complejo receptor-virus. No obstante, en células fijadas en distintos estadios de la infección, no siempre ha sido posible detectar moléculas del receptor en el citoplasma (Cort *et al.*, 1988). Además, se ha demostrado que células HeLa transfectadas para la expresión de un mutante de CD4, cuya capacidad de ser "endocitado" ha sido suprimida, mantienen la misma susceptibilidad a la infección que las células normales (Maddon *et al.*, 1988).

Se ha determinado que el principal mecanismo infectivo del VIH es la fusión directa de la envoltura viral a la membrana celular. Esta tiene lugar solo después de efectuada la unión entre la proteína gp120 y el CD4; este contacto, seguido de un evento todavía no precisado, en el que se especula que interviene una parte de la glicoproteína transmembránica gp41, provoca la fusión entre las membranas de ambas células.

Un mecanismo infectivo de este tipo ha sido reportado para los mixovirus (Daniels *et al.*, 1985), en cuya proteína transmembránica se ha demostrado la presencia de un llamado "péptido fusogénico" de naturaleza hidrofóbica encargado de activar el mecanismo de fusión de membranas.

Investigando los posibles mecanismos de transmisión de la señal a través del CD4 (Rudd *et al.*, 1988) marcaron células CD4+ con yodo radioactivo y lisaron sus membranas. Este lisado se precipitó utilizando un antisuero específico contra una proteína tirosinaquinasa, y observaron que el receptor CD4 coprecipitaba junto a una tirosina-quinasa de peso molecular de 55 kD. Se comprobó utilizando marcaje con fósforo radioactivo que esta proteína-quinasa se autofosforila y fosforila a su vez a otras

dos proteínas de 40 y 80 kD. Se piensa que su actividad puede estar vinculada a la transmisión de las señales que provocan la activación linfocítica y quizás con la infección del VIH.

### Características de la unión CD4-VIH

Tratando de conocer más profundamente la naturaleza de las regiones responsables de la interacción entre la glicoproteína gp120 de la envoltura del VIH, y el receptor, se han realizado experimentos que indican que tanto la reducción como la acetilación del sCD4 en un medio de alta concentración de urea (8M) destruye la propiedad de esta molécula de inhibir la infectividad del virus *in vitro*, lo que no ocurre en un medio fisiológico (tampón fosfato). Esta propiedad es igualmente afectada por la tripsinización y calentamiento a 100°C por 10 minutos o a 65°C por 30 minutos pero permanece invariable ante la incubación por 30 minutos a 56°C (Ibewgbu *et al.*, 1988).

Los datos anteriores sugieren que la afinidad del CD4 por la gp120 es dependiente de la estructura terciaria conferida por los puentes disulfuro, que en condiciones fisiológicas se encuentran eficazmente protegidos. Además, se descarta la posible participación de azúcares en la interacción, ya que la actividad bloqueante no es alterada después de someter el sCD4 a un tratamiento con glicosidasas.

Una vez demostrado que una molécula formada por los 370 residuos extracelulares del receptor CD4 es capaz de inhibir la infección por VIH, diferentes investigadores se dedicaron a localizar la mínima región responsable de esta interacción. La expresión de una molécula recombinante con los 171 aa de la mitad N-terminal, permitió restringir la búsqueda a sus dos primeros dominios (Berger *et al.*, 1988).

Tres modernas tecnologías, la creación de proteínas quiméricas, el mapeo con anticuerpos monoclonales (AcM) y la mutagénesis dirigida, han permitido un estudio más detallado de este aspecto. Landau *et al.*, (1988), construyó genes híbridos de CD4 humano y murino, y los expresó en células CHO (*Chinese Hamster Ovary*). El CD4 de ratón posee el 50 % de homología con el humano, pero no es capaz de unirse a la gp120, por lo que la funcionalidad de los híbridos construidos vendría dada por los fragmentos humanos. Los resultados de estos experimentos (ver figuras 2 y 3), permitieron concluir que:

- Los 37 aa del extremo amino-terminal no intervienen en la unión.
- Solo un fragmento que contenga al menos hasta el aa 131 humano es capaz de desplegar una unión completa (alta afinidad).
- Un fragmento formado por los 83 primeros aa es capaz de unirse, pero con menor afinidad.

De estas tres afirmaciones podemos inferir que existe un sitio de reconocimiento entre los aa 37 y 83, pero que este sitio no es suficiente para lograr una unión de alta afinidad, existiendo un segundo sitio de contacto dentro de la región 83-131.

Clayton *et al.* (1988), estudiando mutantes puntuales en los que aa del CD4 humano son sustituidos por sus homólogos de ratón, encontraron mutantes defectivos en los que el aa alterado correspondía a alguna de las dos regiones antes mencionadas, así como un tercer tipo de mutante en el cual existían cambios en los residuos 155, 156 y 158; estos últimos parecen ocasionar una alteración de la estructura terciaria de la proteína, pues no están comprendidos en los sitios de enlace deducidos a partir de los resultados de Landau *et al.* (1988).

```

NKVVLGKKGDTVELTCTASQKKS I QFHWKNWNQIKILGNQGSFLT 45
KGPSKLNDRADSRRLWDQGNFPL I IKNLKI ESDTYICEVEDQK 90
EEVQLLYFGLTANS DTHLLQGQSLTLTLESPPGSSPSVQCRSPRG 135
KNIQGGKTL SVS QLELQDSGTWTCTVLQNKQKKVEFKIDIVVLAFAQ 180
KASSIVYKKEGEQVEFSFPLAFTVEKLTGSGELWWQAERASSSKS 225
WITFDLKNKEVSVKRVTQDPKLMGKKLPLHLTLPQALPQYAGSG 270
NLTLALEAKTGKHLHQEVNLVVMRATQLQKNLTCEVWGPTSPKLML 315
SLKLENKEAKVSKREKPVVVLNPEAGMWQCLLSDSGQVLLESNIK 360
VLPTWSTPVQPMALIVLGGVAGLLLF IGLG IFFCVRRCRHRRRQAE 405
RMSQIKRLLSEKKTCCPHRFQKTCSP I 433
    
```

FIG. 2. Secuencia aminoacídica del CD4 humano.

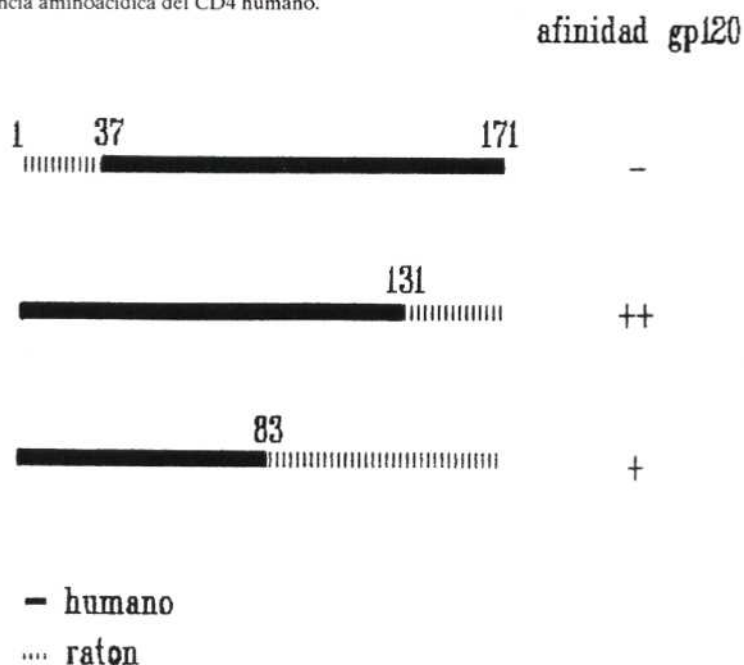


FIG. 3. Experimentos con moléculas híbridas.

Por coincidencia, de los estudios con AcM contra la molécula CD4 se ha logrado deducir que dos epitopes particulares pueden intervenir en la interacción con la gp120 (Sattentau *et al.*, 1986; McDougal *et al.*, 1986). El primero de estos epitopes es el determinado por el reconocimiento de los AcM Leu3a y OKT4a, y es evidente que contiene, al menos, parte del sitio de unión, ya que anticuerpos antiidiotípicos (AAI) originados contra él reconocen a la gp120 (Dalglish *et al.*, 1987; Chanh *et al.*, 1987).

Estos AcM reconocen el fragmento 38-105 (Landau *et al.*, 1988) y según el estudio de mutantes puntuales realizado por Peterson *et al.* (1988), la unión del Leu3a se ve afectada por mutaciones localizadas entre los aa 36-47, y en el 61 para el caso del OKT4a. El segundo epítipo es el determinado por los AcM VIT4, MT151 y G19-2; los dos primeros bloquean fuertemente el enlace a la gp120, mientras que el tercero es inefectivo, aun cuando compite con el VIT4. La unión del MT151 se afecta por mutaciones en los residuos 93 y 165, que por ser distantes parecen integrar un epítipo discontinuo.

Cabe plantearse entonces: ¿reconoce el anticuerpo VIT4 parte del segundo sitio de unión al VIH (residuos 83-105) o el efecto inhibitorio que produce viene dado por un impedimento estérico? El hecho de que el VIT4 sea de la clase IgM, refuerza la segunda posibilidad, mientras que el comportamiento inhibitorio del MT151, que es una IgG1, es un argumento de peso a favor de la primera.

Veamos ahora algunos hallazgos que confirman la localización del "primer sitio".

Peterson *et al.* (1988) lograron demostrar que la sustitución sencilla de los aa Tre 45, Gly 47 y la doble Lys 46-Gly 47 reducía marcadamente la afinidad del CD4 por la gp120, mientras que otras sustituciones dentro de la misma región disminuyen la capacidad del virus para provocar la formación de sincicios, pero no afectan apreciablemente su afinidad. Ninguno de los mutantes restantes se comportó de forma diferente a la molécula original.

Mientras tanto, Jameson *et al.* (1988) reportan haber logrado la neutralización completa de la fusión celular inducida por el virus, utilizando un péptido sintético que engloba los residuos 25 al 58 (34 aa).

Analizando la secuencia de bases en el ADN que codifica para el primer dominio, se ha observado un elevado grado de homología con la región variable de la cadena ligera de las inmunoglobulinas humanas.

Tomando como referencia los estudios cristalográficos realizados para definir la estructura espacial de región variable de la molécula de inmunoglobulina y atribuyéndole una conformación espacial similar a ambas proteínas, se ha podido deducir que la región exacta capaz de unirse a la gp120 debe estar enmarcada entre los aa 37 y 53 (17 aa), coincidiendo en homología con la segunda región determinante de la complementariedad (CDR) de las inmunoglobulinas. Esta pudiera ser la expresión mínima del "primer sitio" y coincide perfectamente con los trabajos analizados.

Los resultados que corroboran la idea del segundo sitio de contacto son los de Lifson *et al.* (1988), que reportan la síntesis de un undecapéptido con efecto inhibitorio *in vitro*, que comprende el segmento entre los aa 81 y 92<sup>1</sup>. Lo más sorprendente es que cuando este undecapéptido fue purificado, no encontraron la actividad inhibitoria en la fracción principal, sino en una correspondiente a variantes benciladas del mismo péptido.

<sup>1</sup> La secuencia ha sido corregida con respecto a la original por presentar esta dos aa de más en el extremo amino.

Los autores argumentan que la bencilación del residuo cisteína 84, que forma un puente disulfuro con la cisteína 16 en la molécula original, le confiere al péptido una estructura semejante a la que posee en la molécula intacta, lo que parece probable si recordamos que este péptido está comprendido dentro de la región de reconocimiento del AcM bloqueador VIT4. Esta interpretación concuerda con los resultados discutidos acerca de la existencia del segundo sitio.

Es necesario realizar otros experimentos que confirmen esta teoría, como pudiera ser la construcción de una molécula híbrida con las regiones 37-58 y 81-92 humanas, y el resto de ratón con la cisteína conservada en la posición 16 para favorecer la formación del puente disulfuro.

También se precisa la comparación más exacta de la afinidad desplegada por las distintas proteínas recombinantes y péptidos sintéticos por la gp120. No obstante, nos inclinamos hacia la idea de la existencia de dos sitios de contactos dentro de la misma molécula, que se complementan para formar un enlace de alta afinidad o "unión completa".

### **Estrategias terapéuticas basadas en el CD4**

La actividad neutralizante del sCD4 ha sido comprobada *in vitro* a través de la inhibición de la formación de células gigantes multinucleadas e infuncionales conocidas por el nombre de sincicios. Este fenómeno, que es uno de los mecanismos citopáticos propuestos para el VIH, puede ser provocado tanto por la partícula viral como por las glicoproteínas de la envoltura expresadas en la superficie de las células infectadas.

Un estudio desarrollado por Byrn *et al.* (1988) demuestra que la adición del sCD4 al cultivo celular es capaz de inhibir la infección, aun cuando las células hayan sido preincubadas por espacio de una hora con el virus.

El sCD4 puede acomplejar y neutralizar los agregados de gp120 y compite con las partículas virales por el CD4 celular, reduciendo de esta forma la formación de sincicios. Aun así, estos autores no llegan a demostrar si el intervalo de una hora es suficiente o no para la penetración del virus en la célula, ocasionando una infección "silente", que no se manifestaría mientras fueran elevados los niveles de sCD4 en el medio de cultivo.

Los resultados obtenidos *in vitro* han llevado a mirar con optimismo una estrategia terapéutica basada en la interacción del CD4 soluble con la proteína gp120. La potencialidad natural del sCD4, que reside en su capacidad de inhibir la unión del VIH a la célula, está siendo evaluada en ensayos clínicos en diferentes países (Dalglish *et al.*, 1988; Smith *et al.*, 1988).

La alternativa principal al empleo del sCD4 recombinante para prevenir la infección de las células CD4 positivas es el uso de péptidos sintéticos; estos, aunque no tienen la misma afinidad, presentan dos posibles ventajas: menor inmunogenicidad y mayor accesibilidad a los distintos compartimentos del organismo.

Como veremos a continuación, se han desarrollado también estrategias más complejas basadas en el diseño de moléculas híbridas de sCD4 capaces de desarrollar otros mecanismos de acción antiviral.

Una idea original fue llevada a cabo con éxito por el grupo de la Genentech (Smith *et al.*, 1988), quienes explotando la mencionada homología entre el primer dominio del CD4 y la región variable de las inmunoglobulinas humanas, fusionaron ambos genes y obtuvieron una molécula quimérica, cuya especificidad está predeterminada por el CD4 y sus propiedades biológicas (fijación de complemento, citotoxicidad celular mediada por anticuerpos) son aportadas por la fracción constante inmunoglobulínica.

El otro objetivo de este trabajo es lograr una molécula más estable en el suero, ya que de los experimentos realizados se anticipa que la vida media del sCD4 es muy breve (30 y 120 minutos); Capon *et al.* (1989) demuestran que estos híbridos CD4-IgG tienen una vida media superior en conejos (7-48 horas).

Otra variante que se ha ensayado es la conjugación del sCD4 a toxinas. En este sentido Chaudry *et al.*, (1988), fusionó los genes del CD4 a los de la endotoxina A de *Pseudomonas* logrando una inmunotoxina que destruye selectivamente las células que expresan la gp120 *in vitro*.

Un trabajo similar reportan Till *et al.* (1988), pero utilizando la cadena A de la ricina. La hipótesis que sostiene estas ideas es que al provocar la destrucción de los reservorios del virus se liberarían solo formas virales incompletas, que serían incapaces de infectar otras células, y por tanto, destruirlas.

Esta opciones, a pesar de ser muy atractivas son aún más discutibles y necesitan un mayor grado de experimentación previa antes de llevarlas a uso clínico.

Aunque es necesario evaluar con la debida profundidad los resultados de los tratamientos en curso, existen esperanzas de que la aplicación oportuna del sCD4 en personas infectadas, ya sea solo o en conjunción con otros agentes antivirales como el interferón o el polémico AZT, permita al menos la contención de la explosión infectiva del virus y la consecuente y hasta hoy mortal progresión de los pacientes hacia los estadios avanzados del SIDA.

No obstante, el volumen de las interrogantes por resolver sobrepasan los conocimientos adquiridos hasta este momento; por ejemplo, existen preocupaciones teóricamente fundamentadas acerca de que el empleo clínico del sCD4 origine reacciones adversas en el organismo producto de su interacción con los antígenos HLA o de la elicitación de una respuesta autoinmune dirigida contra las células CD4, positivas.

El reto ha sido planteado; la práctica, como siempre, dirá la última palabra.

## REFERENCIAS

- BERGER E.A.; T.R. FUERST; T. MIZUKAMI y B. MOSS (1988). *A soluble recombinant polypeptide comprising the aminoterminal half of the extracellular region of the CD4 molecule contains an active binding site for human Immunodeficiency Virus*. PNAS 85: 2357-2361.
- BIDDISON, W.E.; P.E. RAO; M.A. TALLE; G. GOLDSTEIN y S. SHAW (1982). *Possible involvement of the OKT4 molecule in T Cell recognition of class II HLA antigens*. J. Exp. Med 156: 1065-1076.
- BYRN, R.; D. CAPPON; T. GREGORY; S. CHAMOW y J. GROOPMAN (1988). *In vitro inhibition of HIV1 infection with purified soluble recombinant CD4*. Libro de Resúmenes de la IV Conferencia Internacional de SIDA. Estocolmo, Suecia, Tomo II, pag. 147.
- CAPPON, D.J.; S.M. CHAMOW; J. MORDENTI; S.A. MARSTERS; T. GREGORY; H. MITSUYA; R.A. BYRN; C. LUCAS; F.M. WURM, J.E. GROOPMAN; S. BRODER y D.H. SMITH (1989). *Designing CD4 immunoadhesins for AIDS therapy*. Nature 337: 527-531.
- CHANH, T.C.; G.R. DREESMAN y R.C. KENNEDY (1987). *Monoclonal antiidiotypic antibodies mimics the CD4 receptor and binds human immunodeficiency virus*. PNAS USA 84: 3891-3895.
- CHAUDHARY, V.K.; T. MIZUKAMI; T.R. FUERST; D.J. FITZGERALD; B. MOSS; I. PASTAN y E. BERGER (1988). *Selective killing of HIV-infected cells by recombinant human CD4-Pseudomonas endotoxin hybrid protein*. Nature 335: 369-372.
- CLAYTON, L.K.; R.E. HUSSEY; R. STEINBRICH; H. RAMACHANDRAN; Y. HUSAIN y E.L. REINHERZ (1988). *Substitutions of murine for human CD4 residues identified amino acids critical for HIV gp120 binding*. Nature 335: 363-366.
- CORT, S.P. y J.S. McDOUGAL (1988). *HIV penetration of CD4 T cells occurs without internalization of the CD4 molecules*. Libro de Resúmenes de la IV Conferencia Internacional de SIDA. Estocolmo, Suecia, Tomo I, pag. 239.

- DALGLEISH, A.G.; B. THOMPSON; T.C. CHANH; M. MALKOWSKY y R.C. KENNEDY (1987). *Neutralization of HIV isolates by anti-idiotypic antibodies which mimic the T4 (CD4) epitope: A potential aids vaccine*. *Lancet*: 1047-1049.
- DALGLEISH, A.G.; R.C. KENNEDY; T.C. CHANH; J. HABESHAW; P. MADDON; M. MALKOWSKY; B. THOMPSON, P. CLAPHAN, R. AXEL; A.D.B. WEBSTER y R.A. WEISS (1988). "Therapeutic strategies against HIV based on the CD4 molecule: Monoclonal antibodies therapy, soluble CD4 and anti-idiotypic vaccines". *Libro de Resúmenes de la IV Conferencia Internacional de SIDA*. Estocolmo, Suecia, Tomo I, pag. 235.
- DANIELS, R.; J. DOWNIE, A. HAY; M. KNOSSOW; J. SKEHEL; M. WANG y D. WILEY (1985). *Fusion mutants of the influenza virus hemagglutinin glycoprotein*. *Cell* 40: 431-439.
- ENGLEMAN, E.G.; C.J. BENIKE; C. GRUMET y R.L. EVANTS (1981). *Activation of human T lymphocyte subsets: helper and suppressor/cytotoxic T cells recognize and respond to distinct histocompatibility antigens*. *J. Immunol* 127: 2124-2129.
- FISHER, R.; J. BERTONIS; W. MEIER; V. JOHNSON; D. COSTOPOULOS; T. LIU; R. TIZARD; B. WALKER; M. HIRSH; R. SCHOOLEY y R. FLAVELL (1988). *HIV infection is blocked in vitro by recombinant soluble CD4*. *Nature* 331: 76-78.
- IBEGBU, C.; J.K.A. NICHOLSON; J.S. McDOUGAL; R. SWEET; P.J. MADDON y R. AXEL (1988). "Physical, chemical and enzymic treatment of soluble CD4: Effect on CD4-HIV binding". *Libro de Resúmenes de la IV Conferencia Internacional de SIDA*. Estocolmo, Suecia, Tomo I, pag. 240.
- JAMESON, B.A.; P.E. RAO; L.I. KONG; B.H. HAHN; G.M. SHAW; L.E. HOOD y S.B.H. KENT. *Location and chemical synthesis of a binding site for HIV 1 on the CD4 protein*. *Science* 240: 1335-1378.
- KRENSKY, A.M.; C.S. REISS; J.W. MIER; J.L. STROMINGER y S.J. BURAKOFF (1982). *Long term human cytolytic T cells lines allospecific for HLA-DR6 antigen are OKT4<sup>+</sup>*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 79: 2365-2369.
- LANDAU, N.R.; M. WARTON y D.R. LITTMAN (1988). *The envelope glycoprotein of the human immunodeficiency virus binds to the immunoglobulin-like domain of CD4*. *Nature*, 334: 159-162.
- LIFSON, J.D.; K.M. HWANG; P.L. NARA; B.L. FRASER; M.PAGET; N. DUNLOP y L.E. EIDEN (1988). *Synthetic CD4 peptide derivatives that inhibit HIV infection and cytopathicity*. *Science* 241: 712-716.
- MADDON, P.J.; D.R. LITTMAN; M. GODFREY; D.E. MADDON; L. CHESS y R. AXEL (1985). *The isolation and nucleotide sequence of a cDNA encoding the T cell surface protein T4: a new member of the immunoglobulin gene family*. *Cell* 42: 93-104.
- MADDON, P.J.; A.G.D. DALGLEISH; J.S. McDOUGAL, P. CLAPHAN, R. WEISS y R. AXEL (1986). *The T4 gene encodes the AIDS virus receptor and is expressed in the immune system and in the brain*. *Cell* 47: 333-348.
- MADDON, P.J.; A.G.D. DALGLEISH; J.S. McDOUGAL; P. CLAPHAN; R. WEISS y R. AXEL (1988). "CD4 Endocytosis is not required for HIV infection". *Resúmenes de la IV Conferencia Internacional de SIDA*. Estocolmo, Suecia, Tomo II, pag. 148.
- McDOUGAL, J.S.; J.K.A. NICHOLSON; J.K.A. CROSS; S.P. CORT; M.S. KENNEDY y A. MAWLE (1986). *Binding of the human retrovirus HTLVIII/LAV/ARV/HIV to the CD4 (T4) molecule: Conformation dependence, epitope mapping, antibody inhibition and potential for idiotypic mimicry*. *J. Immunol.* 137: 2937-2944.
- MEUER, S.; S.F. SCHLOSSMAN y E. REINHERZ (1982). *Clonal analysis of human cytotoxic T lymphocytes T4+ and T8+ effector T cells recognize products of different major histocompatible complex regions*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 79: 4395-4399.
- PETERSON, A. y B. SEED. *Genetic analysis of monoclonal antibody and HIV binding sites on the human lymphocyte antigen CD4*. *Cell* 54: 65-72.
- RUDD, C.E.; G.M. TREVILLYAN; L.L. WONG; J.G. DASGUPTA y S.F. SCHLOSSMAN (1988). "The CD4 antigen is complexed in the detergent lysates to a protein-tyrosine kinase (pp58) from human T lymphocytes". *Libro de Resúmenes de la IV Conferencia Internacional de SIDA*. Estocolmo, Suecia, Tomo I, pag. 3078.
- SATTENTAU, Q.J.; A.G. DALGLEISH; R.A. WEISS y P.C.L. BEVERLEY (1986). *Epitopes on CD4 antigen and HIV infection*. *Science* 234: 1120-1123.
- SMITH, D.; R. BYRN; S. MARSTERS; T. GREGORY; J.E. GROOPMAN y D.J. CAPON (1988). *Blocking of HIV infectivity by a soluble, secreted form of the CD4 antigen*. *Science* 238: 1704-1707.
- SMITH, D.; S. MARSTERS; A. ASHKENAZI; E. PERALTA; R. BYRN; J. GROOPMAN; T. GREGORY y D. CAPON (1980). "Structural basis of CD4 binding to gp120 and the development of soluble CD4 analogues as anti HIV1 therapeutics". *Libro de Resúmenes de la IV Conferencia Internacional de SIDA*. Estocolmo, Suecia, Tomo II, pag. 56.



- SWAIN, S.L. (1981). *Significance of Lyt phenotypes: Lyt2 antibodies block activities of T cells that recognizes class I major histocompatibility complex antigens regardless of their function*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA **78**: 7101-7105.
- SWEET, R.; J. ARTHOS; P. MADDON; J. FORNWALD; J.S. McDOUGAL; M. CHAIKIN; C. PIETRO PAOLO; K. DEEN; A. VAN DER STRATEN; K. O'DONNELL y R. AXEL (1988). "Expression of secreted derivatives of the receptor T4: Mapping the HIV binding site". *Libro de Resúmenes de la IV Conferencia Internacional de SIDA*, Estocolmo, Suecia, Tomo I, pag. 240.
- TILL, M.A.; V. GHETIE; T. GREGORY; E.J. PATZER; J.P. PORTER; J.W. UHR; D.J. CAPON y E.S. VITETTA (1988). *HIV infected cells are killed by CD4-ricin a chain*. Science, nov. 1166-1168.
- TRAUNECKER, A.; W. LUKY y K. KARJALAINEN (1988). *Soluble CD4 molecules neutralize human immunodeficiency virus type 1*. Nature **371**: 84-86.
- WILDE, D.R.; P. MARRACK; J. KAPPIER; D.P. DIALYNAS y F.W.FITCH (1983). *Evidence implicating L3T4 in class II MHC antigen specific proliferation, release of lymphokines, and binding by cloned murine helper T lymphocyte lines*. J. Immunol. **131**: 2178-2183.