

Modelos animales para VIH/SIDA: ¿la clave para una vacuna?

Eddy E González, Dania M Vázquez, ✉ Carlos A Duarte

Departamento de SIDA. División de Vacunas. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología.
Ave 31 e/ 158 y 190, Playa, Ciudad de La Habana. AP 6162, CP 10600, Cuba.
Telf.: (53-7) 21 8164; Fax: (53-7) 33 8008; E-mail: carlos.duarte@cigb.edu.cu

RESUMEN

La obtención de una vacuna contra el VIH/SIDA es la única esperanza para controlar esta epidemia. Uno de los principales obstáculos para lograrla es la falta de un modelo animal idóneo. Hasta la fecha se ha trabajado en diferentes modelos que podemos clasificar en dos grupos: 1) animales menores y 2) primates. En el primer caso, diversos esfuerzos por lograr infección en ratones, incluida la transgénesis, han sido estériles hasta el momento. Por otra parte, el modelo del ratón SCID se ha empleado con cierto éxito, aunque está demasiado alejado de la infección natural. La infección de conejos, en cambio, ha sido más exitosa puesto que se han reportado bajos niveles de replicación en conejos tratados previamente con diferentes agentes. Un conejo transgénico para los receptores del VIH (CD4 y CCR5) podría tener éxito, al menos como modelo de infección por VIH. El modelo del Virus de la Inmunodeficiencia de Simios (VIS) en macacos ha sido mucho más útil, pero este virus también presenta importantes divergencias genéticas con el VIH. Por estas razones no es posible extrapolar directamente sus resultados al VIH. La infección de chimpancés por VIH-1 también tiene grandes limitaciones como su elevado costo, su poca disponibilidad y la ausencia de síntomas clínicos. El modelo que está recibiendo mayor atención en la actualidad es el del virus híbrido o SHIV. El SHIV posee los genes *env* y *tat* del VIH y el resto de los genes del VIS, es capaz de infectar macacos y algunas cepas son incluso patogénicas. Su limitante radica en que sólo es válido para las vacunas basadas en las proteínas de la envoltura y Tat.

Palabras claves: modelos animales, primates, ratones SCID, SHIV, SIDA, VIH

Biotecnología Aplicada 2001;18:67-75

REVISIÓN

ABSTRACT

Animal Models for HIV/AIDS: The Key for a Vaccine? The development of a protective vaccine against HIV-1/AIDS is the only hope to control this pandemic. One of the main obstacles to achieve this goal is the lack of an appropriate animal model. The models that have been used so far can be classified into two main groups: 1) small animals and 2) primates. Regarding the former, several unsuccessful efforts including transgenesis have been carried out to achieve HIV replication in mice. The SCID mice model has been used with certain success but it is too unrelated to the natural infection. On the other hand, the infection of rabbits has been more effective since low levels of viral replication have been observed, but only when animals have been pre-treated with different substances. A rabbit transgenic for the HIV receptors CD4 and CCR5 could be permissive to productive HIV-1 infection. The model of Simian Immunodeficiency Virus (SIV) has been much more useful so far. Nevertheless, this virus displays an important genetic divergence with HIV, therefore it is not possible to extrapolate the results directly. The infection of chimpanzees with HIV-1 has also important drawbacks as the high cost, low availability and absence of clinical symptoms. Most of the attention nowadays is been given to the hybrid model or SHIV. SHIV contains the *env* and *tat* genes from HIV-1 and the rest from SIV. It can infect macaques and certain strains are even pathogenic. The main difficulty is that it is limited to the study of the effect of envelope and Tat-based vaccine candidates.

Keywords: AIDS, animal models, HIV, primates, scid mice, SHIV

Introducción

Desde el mismo momento del descubrimiento del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) [1, 2], agente causal del Síndrome de la Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), se ha trabajado febrilmente en el desarrollo de una vacuna protectora contra esta pandemia. A pesar de los esfuerzos, el éxito de esta empresa no es evidente aún a corto plazo. Precisamente, una de las principales limitaciones para estos proyectos es la ausencia de un modelo animal que reproduzca de forma satisfactoria la infección por VIH y el desarrollo del SIDA. Un modelo de este tipo pudiera facilitar enormemente la evaluación rápida y simultánea de un número elevado de conceptos vacunales que, en la actualidad, a falta de un criterio mejor, se ven obligados a recorrer el largo camino que va desde los estudios de laboratorio hasta los ensayos clínicos de eficacia en humanos.

Nuestro grupo ha venido transitando precisamente ese largo camino y ha pasado por diferentes etapas, desde la concepción del proyecto hasta los estudios clínicos de Fase I en humanos [3-5]. En estos momentos, una de nuestras prioridades es el desarrollo de modelos animales alternativos para evaluar los candidatos vacunales que se generen. En este trabajo se pretende resumir el estado de los principales modelos que se han desarrollado con estos fines, y resaltar sus bondades y limitaciones.

Modelos de infección en animales menores

Ratones

Los experimentos realizados en ratones han mostrado que en esta especie existen limitaciones que impiden

el desarrollo del ciclo replicativo normal del VIH-1. Desde 1986 se descubrió que el principal receptor del VIH en las células humanas era CD4 [6]. La molécula CD4 murina presenta baja afinidad por la proteína de la envoltura gp120 y, por consiguiente, el primer paso necesario para la infección ocurre muy ineficientemente [7]. Sin embargo, la expresión del CD4 humano en células murinas tampoco las vuelve susceptibles a la infección por VIH-1, ya que aunque el virus se une a las células no puede ser internalizado eficientemente [6, 7]. Estos resultados han sido corroborados en ratones transgénicos para CD4 humano [8], en los cuales no se detectó integración del provirus ni producción de partículas virales después de la inoculación de VIH-1 en estos animales.

La introducción de ADN proviral en células murinas permite la obtención de cierta cantidad de viriones, aunque la cantidad de partículas virales producidas por estas células es muy baja en comparación con células humanas infectadas por el VIH-1 [9]. En ratones transgénicos obtenidos mediante la inyección de ADN proviral a un embrión, se detecta actividad relacionada con la replicación viral. Esta actividad incluye la síntesis *de novo* de proteínas virales en una línea celular indicadora y actividad de transcriptasa inversa en el sobrenadante del cultivo; sin embargo, no se logra detectar la aparición de nuevas partículas virales *in vivo* [10]. Algunos de los ratones de la descendencia F1 desarrollan una enfermedad que comparte algunas características con el SIDA y mueren alrededor de los 25 días. Como la replicación viral en estos animales es nula, los síntomas observados no pueden ser mediados por partículas virales, sino que posiblemente sean el resultado de los efectos tóxicos intra o extracelulares de algunos componentes virales. En este sentido se conoce que varias proteínas virales, entre las que se destaca Tat, median diversos efectos tóxicos en las células del sistema inmunitario e inducen la aparición de diferentes tipos de tumores en ratones transgénicos.

Las proteínas reguladoras Tat y Rev cumplen funciones esenciales en el ciclo replicativo del VIH. Tat es un trans-activador de la transcripción que amplifica más de cien veces la expresión de las proteínas virales. Por otra parte, Rev es una proteína cuya principal función es exportar ARN mensajeros poco procesados hacia el citoplasma, lo que permite la síntesis de las proteínas estructurales para la producción de nuevas partículas virales. La baja actividad de estas proteínas en células murinas explica los bajos niveles de virus obtenidos cuando se inyecta ADN proviral directamente en estas células o en ratones transgénicos [11].

El descubrimiento reciente de que los receptores celulares de quimiocinas (CXCR4, CCR5 y otros) son co-factores moduladores para la entrada del VIH en las células, podría explicar el bloqueo de la entrada viral a las células de ratones. Sin embargo, algunos hallazgos indican que la presencia de la proteína CXCR-4 murina no constituye una barrera para la entrada viral [12]. A pesar de que ratones transgénicos para CCR5 y CD4 humano son susceptibles a la infección por VIH-1, no se producen nuevas partículas virales en ellos [13].

Estas observaciones permiten concluir que la replicación del VIH en células murinas no sólo es bloqueada en el paso inicial de unión al receptor CD4, sino que existen, además, interferencias en pasos posteriores a la entrada del genoma viral y su inserción en la célula hospedante. Estas características hacen que no sea factible el uso del modelo murino para la infección por VIH.

Ratones SCID

La introducción de células hematopoyéticas humanas totipotentes a la línea murina CB-17 scid/scid, mediante el injerto de tejido fetal humano (timo, nódulos linfáticos mesentéricos, hígado) y/o linfocitos de sangre periférica, permiten el crecimiento y/o desarrollo de una serie de células humanas que constituyen blanco para el VIH [14, 15].

Aunque los ratones SCID trasplantados con tejido humano ofrecen un medio para estudiar la enfermedad inducida por el VIH *in vivo*, no reproduce ni remotamente la compleja inmunopatogénesis de la condición, que involucra diferentes tejidos y ocurre durante un período prolongado. El modelo de ratón SCID es el único que existe para evaluar *in vivo* la actividad antiviral de diferentes compuestos después de la infección por VIH (zidovudina, didesoxiinosina, neviraparina, etc.) [16]. También se ha empleado en estudios de vacunas para demostrar la efectividad de la transferencia pasiva de anticuerpos monoclonales neutralizantes [17, 18] y células humanas de sangre periférica [19-22] para proteger contra la infección. No obstante, las conclusiones que puede proporcionar este modelo sobre la eficacia de las vacunas son muy limitadas y existen muchas dudas sobre si este modelo aporta un conocimiento diferente al que se obtiene en los experimentos *in vitro*.

Conejos

La infección de conejos por VIH está bien documentada. Se detecta mediante la seroconversión de los animales, la detección de genes virales mediante la reacción en cadena de la polimerasa y el aislamiento de virus a partir de linfocitos [23-25]. Sin embargo, es necesario puntualizar que para lograr la infección se requiere manipular previamente los animales o utilizar altas dosis de virus. Entre los procedimientos empleados para aumentar la susceptibilidad de los conejos, se encuentra la infección previa con el retrovirus HTLV [20] o la inoculación de tioglicolato en la cavidad peritoneal. La infección en conejos, como en otros animales, no provoca la aparición de síntomas clínicos de SIDA. La ausencia de sintomatología puede ser explicada por la baja eficiencia de infección y los bajos niveles de replicación viral.

La producción de partículas virales maduras e infectivas depende en gran medida de la interacción de las proteínas reguladoras del VIH con factores celulares. A diferencia de las células murinas, los factores celulares de las células de conejo pueden apoyar mejor las funciones de las proteínas reguladoras (Tat y Rev) durante la replicación viral. A diferencia de los ratones, la principal barrera para que exista un ciclo replicativo eficiente parece estar antes de la transcripción, presumiblemente a nivel de la entrada viral [26, 27].

El VIH es capaz de replicarse *in vitro* en células normales de conejo, pero nunca a los niveles que se alcanzan en las células humanas [28, 29]. Las células de conejo transfectadas con el gen que codifica la molécula CD4 humana, son más susceptibles a infectarse con VIH-1 [30, 31] y la infección de ambos tipos de células (transfectadas y no transfectadas) puede ser bloqueada por la presencia de CD4 humano soluble [29]. Además, la molécula CD4 de conejo difiere de la humana en 6 de los 18 aminoácidos identificados como principales en la unión del receptor humano a la gp120 [29]. La introducción de ADN proviral a células SIRC (línea celular fibroblástica derivada de la córnea de los conejos) y células mononucleares de sangre periférica (CMSP) de conejos, permitió la producción de partículas virales infectivas, lo que demostró que la entrada viral es el paso limitante para la replicación del VIH en esta especie [28]. Estos estudios llevaron a desarrollar conejos transgénicos para la molécula CD4 humana [31].

Cuando las CMSP de conejos transgénicos para CD4 humano son expuestas al VIH-1 se observa un incremento en su infección, así como una rápida disminución de la viabilidad celular en comparación con las células de los animales normales [32]. También se demostró que la muerte celular ocurre mediante apoptosis (no hay formación de sincitios) y requiere la presencia de virus activos, ya que virus inactivados por calor o proteínas virales de la envoltura (gp120, gp160) no influyen en la viabilidad celular de los cultivos de CMSP [29].

Las CMSP de los animales transgénicos producen niveles de la proteína viral p24 significativamente mayores que los de sus semejantes no transgénicos. Después de dos días de infección, 25% de las células en cultivo de los animales transgénico se encuentran infectadas, mientras que esto ocurre sólo en 4% de las células de animales normales [32]. Aunque los niveles de infección de las células de estos animales transgénicos son mayores, éstos aún se consideran muy bajos en comparación con los que se alcanzan en células humanas.

El descubrimiento del papel de los receptores de quimiocinas como correceptores para el VIH, podría explicar los bajos niveles de infección que se obtienen en los conejos transgénicos. Speck y colaboradores [27] demostraron que la presencia de CD4 y CCR5 humanos en células de conejo elimina el bloqueo de la entrada viral y permite la replicación a niveles similares a los que se alcanzan en células humanas. Además, se pudo detectar la formación de sincitios y la producción de partículas virales infectivas después de la exposición a diferentes cepas de VIH que usan CCR5. Estos descubrimientos sugieren que es factible el desarrollo de un modelo de conejo transgénico para CD4 y los correceptores, aunque es imposible predecir los niveles de replicación viral que se podrían alcanzar *in vivo* y la posible enfermedad que estaría asociada a dicha infección.

Las principales ventajas de los modelos de animales pequeños son su disponibilidad, bajo costo y fácil manutención. Sin embargo, hay reservas con respecto a la utilidad de estos animales para estudiar las interacciones virus-hospedante. Los procedimientos usados para lograr la infección son incompatibles con las rutas naturales de infección del VIH. Además, como los ratones y conejos están distantes de los primates evolutivamente, es necesario analizar con cautela su

relevancia como modelo animal para estudiar un agente etiológico altamente específico de especie.

Modelos de infección en primates

El virus de la inmunodeficiencia de los simios (VIS) es un lentivirus que infecta de forma natural diversos tipos de primates. Se han descrito cinco subgrupos de VIS. Los virus prototipos del primer grupo se han aislado de *Cercocebus atys* o mono tiznado de Mangabe (VISsmn), *Macaca mulatta* o macaco reso (VISmac), y *Macaca nemestrina* o macaco cola de cerdo (VISmne). Otros subgrupos han sido aislados de *Cercopithecus* sp. o mono verde africano (VISagm), *Papio sphinx* o mandril (VISmnd), *Cercopithecus mitis albobularis* o cercopiteco azul (VISsyk) y *Pan troglodytes* o chimpancé (VIScpz) [33].

Al igual que el VIH, el genoma de estos virus se caracteriza por presentar dos secuencias LTR en sus extremos 3' y 5', en las cuales se encuentran el promotor y las secuencias reguladoras o de unión a factores transcripcionales. Presentan tres marcos de lectura abierta para proteínas estructurales: *gag*, *pol* y *env*; marcos de lectura abierta para genes reguladores: *nef*, *tat* y *rev*, y los llamados genes accesorios: *vif*, *vpr* (VIH-1, VIH-2, VISmac), *vpu* (VIH-1) y *vpx* (VIH-2, VISmac, VISagm). Los miembros de los subgrupos VISmac, VISsmm, y VISmne comparten un alto grado de homología genética con el VIH-2 (70-85% de identidad aminoacídica), mientras que el VIScpz es altamente homólogo al VIH-1, mucho más que el VIH-2. VISagm, VISmnd, VISsyk tienen un bajo grado de homología con VIH-1 o VIH-2, además de que su inoculación en macacos no causa SIDA.

Existen puntos comunes entre los virus VIS y VIH, entre los que se encuentran el tropismo celular, la organización genómica, las características ultraestructurales, el modo de transmisión, la respuesta del hospedante a la infección, y los síntomas clínicos y la enfermedad, con salvedad de las infecciones asintomáticas. Estas características han propiciado que estos modelos sean atractivos para la evaluación de la eficacia de candidatos vacunales, de la correlación entre la protección y el tipo de respuesta inmune, y el diseño de nuevas vacunas para ensayos en humanos.

Modelo macacos y VIS

La infección por VIS se caracteriza por un máximo de viremia en las primeras dos semanas, con una disminución de los niveles virales hasta un punto que es variable y del cual dependerá la progresión a la enfermedad. El período de incubación viral es menor que en la infección por VIH. La variabilidad en la progresión a la enfermedad entre individuos/especies, depende de la heterogeneidad genética de los macacos usados en estos estudios, así como del virus empleado en el reto y la ruta de exposición. Los modelos de transmisión han explorado la vía intravenosa, mucosal (intravaginal, intrarrectal, oral) y perinatal.

Ante la infección por VIS, la respuesta del hospedante es parecida a la del VIH, pero difiere en la especificidad de los anticuerpos neutralizantes contra los antígenos de la envoltura. Algunos autores han encontrado una correlación entre el incremento de la supervivencia de los macacos y la respuesta de anticuerpos [34]. En el curso de la infección existe una disminución

del nivel de anticuerpos anti-Gag que coincide con un aumento de la viremia y el comienzo de la inmunodeficiencia. En este modelo se han descrito también anticuerpos neutralizantes dirigidos a epítomos conformacionales de la gp130 [35]. A diferencia del VIH, el lazo V3 del VIS no es el blanco principal de los anticuerpos neutralizantes. La respuesta CTL contra antígenos estructurales y reguladores también aparece temprano en la infección [36]. Los animales con respuesta CTL sobreviven más tiempo y los que progresan hacia la enfermedad muestran un deterioro rápido de esta actividad [37].

En un trabajo publicado en 1999 [38] se resumen los resultados de un total de 527 estudios en macacos en los cuales se utilizaron virus vivos y atenuados, vectores replicativos (poxvirus, adenovirus), vectores no replicativos (ADN desnudo, inmunización intracelular, vectores recombinantes de ARN), antígenos no replicativos (células infectadas o transfectadas, virus muertos e inactivados, partículas similares a virus, productos recombinantes de subunidad, péptidos sintéticos), y anticuerpos administrados de manera pasiva. En general ha sido mucho más fácil lograr una protección contra retos con cepas homólogas y no patogénicas que contra virus heterólogos o patogénicos.

En la Tabla 1 se muestran algunos de los experimentos de reto realizados en el modelo VIS/macacos, en los cuales se reporta la protección contra la infección (PI) o contra el desarrollo de la enfermedad (IPD). El efecto vacunal de la superinfección con virus vivo no ha sido muy eficaz y depende en gran medida de la dosis de virus usada [55]. El primer reporte de vacuna exitosa contra VIS en macacos [56] describió una protección moderada de macacos reso, con un virus totalmente inactivado preparado a partir de VISmac251. El reto intravenoso se realizó con el virus homólogo. Estos primeros resultados fueron confirmados por experimentos posteriores, los cuales mostraron un incremento en el número de animales protegidos [57, 58]. Sin embargo, se ha demostrado que en aquellos experimentos, en los cuales el virus usado en la inmunización y el reto había sido propagado en células humanas, la protec-

ción estaba asociada a la respuesta contra antígenos humanos que quedaban en la preparación viral [59]. Estudios posteriores a este hallazgo no demostraron protección contra virus propagados en células de macacos y administrados por vía intravenosa [39] o vaginal [40].

A través de la inmunización con los virus vivos atenuados, negativos para *nef* u otros genes accesorios, se han logrado altos niveles de protección ante retos por vía intravenosa, oral o intrarrectal. Este modelo ha demostrado que es posible proteger contra un virus heterólogo (más de 20% de divergencia genética). Sin embargo, a pesar de estos resultados positivos, el desconocimiento de los mecanismos de atenuación y su posible reversión al genotipo/fenotipo original, no hace totalmente seguro el uso de este inmunógeno en humanos. Experimentos en esta dirección han demostrado que estos virus son capaces de provocar el SIDA en macacos neonatos [60].

En cuanto a vectores replicativos, los mejores resultados se han obtenido mediante la inmunización con virus vaccinia recombinantes solos o administrados en combinación con ADN o subunidades recombinantes (Tabla 1). Con otros vectores replicativos diferentes a los poxvirus, como el bacilo de Calmette-Guérin (BCG) o adenovirus no se han logrado resultados superiores en este modelo.

Los mejores resultados en esquemas de inmunización con ADN fueron reportados por Haigwood y colaboradores [53], quienes hicieron un reto intrarrectal con VISmne en el macaco cangrejero (*Macaca fascicularis*), y como vacuna un ADN multigénico y obtuvieron 100% de protección. Es interesante que al combinar el ADN con gp160 recombinante o partículas semejantes a virus (VLP, del inglés virus-like particles) la protección bajó hasta 25%.

Las subunidades recombinantes como gp140/gp110 de VISmac producida en baculovirus, gp130 producida en células de mamíferos, o la combinación de gp160 con pr55gag no han logrado generar una inmunidad protectora [38]. Los estudios con VLP sólo han tenido un efecto protector moderado [61].

Tabla 1. Ejemplos de candidatos vacunales evaluados en el modelo VIS/macacos.

Inmunógeno	Especie	Cepa del reto	Vía	Resultados	Referencia
VISmac251 inactivado	<i>M. mulatta</i> <i>M. fascicularis</i>	VISmac251 VISsm	IV	84%-91% PI (de células humanas) 0% PI (de células de mono)	[39]
VISmac251 inactivado	<i>M. mulatta</i>	VISmac251	VG	0%	[40]
VISpC8 atenuada	<i>M. fascicularis</i>	J5M	IV	100% PI	[41]
VISpC8 atenuada	<i>M. mulatta</i>	pJ5	IR/IV	100% PI	[42]
VISpC8 atenuada	<i>M. fascicularis</i>	VISsm	IR	50% PI	[43]
VIS 239 delta nef	<i>M. mulatta</i>	VIS251/ VIS239	IV	100% IPD	[44, 45]
VIS 239 delta nef	<i>M. mulatta</i>	VIS251	IV	75%-100% IPD	[46]
VIS 239 delta-3	<i>M. mulatta</i>	VIS239 Δ3	OR	100% IPD	[47]
VVenV/DNAgp120 (VIS239 o B6-70)	<i>M. mulatta</i>	VIS B6-70	IV	100% IPD	[48]
VVenV + rgp160 SE5	<i>M. fascicularis</i>	VISmne E11s	IV	75%-100% PI	[49]
NYVACenv-gag K6W (IL12)	<i>M. mulatta</i>	VIS251	IV	25% (50%) IPD	[50]
NYVACenv-gag K6W (IL2+IL12)	<i>M. mulatta</i>	VIS32H	IR	66% (75%) IPD	[50]
BCGgag VISmac	<i>M. mulatta</i>	VISmne E11s	IV	0%	[51]
AdV-env VISsm + gp120 VIS 251	<i>M. mulatta</i>	VIS 251	VG	50% IPD	[52]
DNAmultigen + (rgp160 o VLP)	<i>M. fascicularis</i>	VISmne	IR	100% (25%) IPD	[53]
VIS-Ig 1-2semanas de nacidos	<i>M. mulatta</i>	VIS 251	OR	100% PI	[54]
VIS/pC8 suero inmune	<i>M. fascicularis</i>	J5M	IV	0%	[41]

IV: intravenoso; IR: intrarrectal; VG: vaginal; OR: oral; NYVAC: virus vaccinia altamente atenuado; AdV: adenovirus.

Se ha demostrado también protección parcial con la transferencia pasiva de anticuerpos de macacos infectados con VIS, tanto en adultos [62] como en neonatos, contra reto por vía oral [54]. Sin embargo, otros estudios de reto intravenoso no han logrado los mismos resultados.

El VIS como modelo presenta varias desventajas. En primer lugar es un virus diferente al VIH; por lo tanto, las proteínas de la envoltura, que son el blanco fundamental de los anticuerpos neutralizantes, son muy divergentes en ambos modelos. Además, la respuesta CTL específica tampoco muestra reactividad cruzada entre ambos virus. Otro dato a añadir es que el VIS usa sólo el correceptor CCR5 para entrar a la célula, mientras que el VIH usa, además, otros correceptores como CXCR4, CCR2, CCR3, Bob y Bonzo. No se conoce aún la correlación entre la patogenicidad de cepas de VIS y la de diferentes variantes del VIH, ni se ha podido identificar el tipo de respuesta responsable de la protección observada en algunos experimentos de reto. Por estos elementos, la calidad y eficacia de un candidato probado en este modelo no es necesariamente extrapolable a humanos.

Modelo macacos y VIH-2

El VIH-2 fue aislado originalmente en África occidental y se ha propagado poco al resto del mundo. La homología de hasta 75% con algunos aislamientos de VISmac y VISsmn y la capacidad de infectar algunas especies de macacos, lo han hecho atractivo como modelo. Sin embargo, el VIH-2 desarrolla una infección con un curso sintomático más tardío que el del VIH-1. En algunos estudios se ha observado una variación considerable en la susceptibilidad de los macacos a la infección cuando se emplean diferentes cepas virales, a pesar de existir 90% de identidad entre las cepas usadas. Los países del VIH-2 *in vivo* aumentan su infectividad en macacos y en algunos casos se puede lograr una infección persistente y una progresión patogénica.

La Tabla 2 resume algunos de los experimentos de reto ensayados en este modelo usando como inmunógeno el VIH-2 inactivado, virus vivo y poxvirus recombinantes con genes del VIH-2. Algunos experimentos de transferencia pasiva de anticuerpos han demostrado que son suficientes para proteger a los macacos después de un reto intravenoso [62].

Modelo chimpancés y VIH-1

El VIH-1 es capaz de infectar chimpancés, si bien esta infección es moderada y no conlleva a la disminución del conteo de células CD4⁺ e inmunosupresión características del SIDA. La infección puede ser detectada en plasma por 2 a 3 meses después de la infección y estos niveles desaparecen por años. Se ha especulado que la ausencia de síntomas clínicos en este modelo pudiera estar relacionada con la incapacidad del VIH para infectar los macrófagos y monocitos provenientes de células germinales pluripotentes de médula ósea. El chimpancé tiene la limitación de que no permite estudiar la protección contra la enfermedad. Por otra parte, estos animales son escasos y muy costosos, lo que impone dificultades adicionales a su uso. En 1993, un chimpancé que había recibido numerosas inyecciones con VIH-1 entre 1984 y 1985 mostró una disminución persistente de su conteo de CD4⁺ y una progresión hacia la enfermedad. Este hecho ha abierto el debate acerca de la futura relevancia de este modelo en la evaluación de candidatos vacunales, pero hasta la fecha se trata de un hecho aislado que no se ha podido reproducir.

Los estudios de candidatos vacunales han sido restringidos a las cepas tituladas en chimpancés (por ejemplo, HTLV-III_B y SF-2). Estudios preliminares con proteínas de la envoltura purificadas a partir de viriones, péptidos de la gp41, Env recombinante y virus totalmente inactivados, no indujeron inmunidad protectora. La infección con un virus vaccinia recombinante que expresa el gen *env* indujo respuesta linfoproliferativa y actividad citotóxica CD4⁺, pero bajos niveles de anticuerpos que no fueron neutralizantes. Aunque habían desarrollado respuesta de memoria contra el VIH, estos animales no quedaron protegidos ante un nuevo reto [74].

La Tabla 2 muestra los resultados más recientes en chimpancés inmunizados con adenovirus y ALVAC (virus de la viruela de los canarios) recombinantes para genes del VIH-1 y con ADN desnudo. La correlación entre la protección y la respuesta de anticuerpos neutralizantes y anti-V3 en este modelo ha estimulado la administración pasiva de anticuerpos. La administración de suero de pacientes infectados con un título elevado de anticuerpos contra la envoltura, mostró que la dosis de inmunoglobulinas y del virus del reto

Tabla 2. Ejemplos de estudios de candidatos vacunales en los modelos VIH-2/macacos y VIH-1/chimpancés

Inmunógeno	Especie	Cepa del reto	Vía	Resultados	Referencia
Modelo VIH-2/macacos					
VIH-2 SBL-6669 inactivado	<i>M. fascicularis</i>	VIH-2 SBL-6669	IV	100% PI (IFA) 0% PI (ISCOM)	[63]
VIH-2 inactivado/ISCOM + péptidos V3/ISCOM	<i>M. fascicularis</i>	VIH-2 SBL-6669	IV	75% PI	[64]
VIH-2 KR virus vivo	<i>M. nemestrina</i>	VIH-2 287	IV	100% IPD con alta dosis	[65, 66]
NYVAC gp120/160 o <i>env, gag, pol</i> (VIH-1) ALVAC <i>env, gag, pol</i> (VIH-1) + subunidades recombinantes	<i>M. mulatta</i>	VIH-2 SBL-6669	IV	50% PI	[67]
NYVAC gp120/160 o <i>env, gag, pol</i> (VIH-2) ALVAC <i>env, gag, pol</i> (VIH-2) + rgp160 VIH-2	<i>M. mulatta</i>	VIH-2 SBL-6669	IV	88% PI	[68]
VVenROD/VVpol/gag-vif/nef LAI + mezcla de subunidades	<i>M. mulatta</i>	VIH-2 SBL-6669	IV	0%	[69]
Modelo VIH-1/chimpancé					
AdV gp160MN+rgp120 SF2 en MF59	<i>P. troglodytes</i>	VIH-1 SF2	IV	100% PI	[70, 71]
ALVAC gp160, Gag, Pol III _B	<i>P. troglodytes</i>	VIH-1 III _B (DH12)	IV	50% PI (0%)	[72]
ADN gp160MN o Gag y Pol III _B	<i>P. troglodytes</i>	VIH-1 SF2	IV	100% PI	[73]

IV: intravenoso; IR: intrarectal; VG: vaginal; OR: oral; NYVAC: virus vaccinia altamente atenuado; ALVAC: virus de la viruela de los canarios; AdV: adenovirus; VV: virus vaccinia.

son críticas. La administración de un monoclonal anti-V3 antes o después del reto homólogo protegió a un chimpancé en cada caso [75].

Modelo del SHIV en macacos

La incapacidad del VIH para infectar productivamente a los macacos, limitaba enormemente la utilización de este modelo en los estudios de reto de los candidatos vacunales desarrollados. En 1991 se obtuvo por primera vez un virus híbrido entre el VIH y el VIS, el cual fue bautizado como SHIV (del inglés simian-human immunodeficiency virus) [76]. Este híbrido contenía los genes *env* y *tat* del VIH y el resto del material genético de su similar de los simios. Para sorpresa de muchos, este virus SHIV fue capaz de infectar macacos reso, aunque no reprodujo los síntomas característicos del SIDA en los monos inoculados.

Con este primer virus híbrido se dispuso de un modelo de infección en macacos útil para estudios de protección contra infección, si bien este modelo aún no permitía concluir si los candidatos vacunales eran capaces de proteger contra la enfermedad. Poco después, varios laboratorios ya eran capaces de reproducir estos resultados y surgieron varias cepas de SHIV con diferentes características.

Unos años más tarde se logró otro adelanto importante, cuando a través de pases sucesivos por macacos y en cultivo, se lograron aislar variantes agresivas del SHIV capaces no sólo de infectar macacos, sino de producir un síndrome similar al SIDA [77-81]. Estas cepas, adaptadas a multiplicarse en los animales, provocan depleción en los linfocitos CD4 y la muerte de los monos en menos de un año después del día de la inoculación. Después de estos hallazgos, se cuenta también con un modelo para evaluar la protección contra la enfermedad y la muerte. La Tabla 3 resume algunos ejemplos de cepas de SHIV obtenidas en los últimos años y sus principales características.

El modelo del SHIV ha sido cada vez más empleado en estudios de reto con candidatos vacunales, basados primero en la envoltura y más tarde en el gen *tat*. Algunos de los candidatos evaluados no han conferido protección [90-94], mientras que otros han logrado al menos reducir la viremia [95-97]. Afortunadamente también se han reportado resultados más alentadores. La inmunización de macacos con VIH inactivado logró proteger completamente a estos animales del reto con la cepa SHIV-4 [98]. Posteriormente, Letvin y colaboradores [99] protegieron a macacos del reto con SHIV-4 mediante la vacunación con una combinación de ADN y proteína de la envoltura. Más recientemente, Cafaro y colaboradores [100] fueron capaces de proteger a *M. fascicularis* contra un reto con SHIV 89.6P a través de la inmunización intramuscular con la proteína Tat, y este mismo grupo logró mejores resultados aún con la inmunización con plasmidios que expresan el gen *tat*.

El éxito obtenido con este tipo de virus híbrido demostró que los factores que median la especificidad de especie del VIH, al menos en relación con los macacos, no se encuentran en la envoltura viral, o lo

Tabla 3. Algunos ejemplos de virus quiméricos simio/humano (SHIV) y sus características.

Denominación	SIV	HIV	Pase in vivo	Patogénico	Referencia
SHIV-HxBc2 (SHIV-4)	SIVmac239	HxBc2	No	No	[76]
SHIV-89.6	SIVmac239	AP 89.6	No	No	[82]
SHIV-89.6P	SIVmac239	AP 89.6	Sí	Sí	[77]
SHIV-SF33	SIVmac239	SF33	No	No	[83]
SHIV-SF33A	SIVmac239	SF33	Sí	Sí	[79]
SHIV-SF162	SIVmac239	SF162	No	No	[83]
SHIV-SF162P	SIVmac239	SF162	Sí	Sí	[80]
SHIV.sbg	SIVmac239	Lai	Sí	Sí	[81]
SHIV-SF13	SIVmac239	AP SF13	No	No	[84]
SHIV-Han2	SIVmac239	Han2 env vpr NL432 tat, vpr	No	No	[85]
SHIV-NM3	SIVmac239	NL432 (Δ vpr and nef)	No	No	[86]
SHIV-NM3N	SIVmac239	NL432 (Δ vpr)	No	No	[87]
SHIV-DH12	SIVmac239	DH12	No	No	[88]
SHIV-DH12R	SIVmac239	DH12	Sí	Sí	[89]

que es igual, que las limitaciones del VIH para infectar a macacos productivamente no están en los procesos de unión al receptor y fusión de membranas. Algunos experimentos sugieren que el bloqueo se encuentra en un paso posterior, aunque aún temprano, del ciclo replicativo, como el desnudamiento del virus o la transcripción inversa [87]. Como aún no se ha reportado la obtención de cepas viables de SHIV con los genes *gag* o *pol* del VIH, es muy probable que al menos uno de ellos sea responsable de esta restricción.

Otra enseñanza que ha dejado el modelo de SHIV es que las propiedades patogénicas del virus tampoco parecen ser mediadas por la envoltura, ya que si bien los virus SHIV son inicialmente incapaces de provocar enfermedad, ésta va siendo seleccionada a través de pases consecutivos por animales. ¿Cuáles son las nuevas propiedades biológicas adquiridas por el virus que lo hacen patogénico? ¿Qué cambios genéticos están en su base? ¿Está la patogenicidad directamente vinculada con la capacidad replicativa del virus o con otras propiedades más complejas de la interacción virus-hospedante?

Quizá el modelo del SHIV en macacos contribuya en el futuro a despejar alguna de estas incógnitas que aún existen en el proceso de patogénesis del SIDA. Por ahora, el SHIV a venido a cubrir un vacío muy importante en los modelos animales para la obtención de candidatos vacunales basados en las proteínas de la envoltura y Tat, pero aún tiene la gran limitante de que no permite evaluar otras vacunas basadas solamente en los antígenos Gag o Pol. Por las mismas razones, este modelo puede subestimar notablemente la capacidad protectora de vacunas que contienen múltiples proteínas virales.

En resumen, hasta hoy no contamos con un modelo totalmente confiable para ensayar las vacunas de VIH. No obstante, se puede predecir que a medida que aumenta el nivel de conocimiento sobre los mecanismos de patogénesis del SIDA se logre perfeccionar un modelo que reproduzca tanto la infección como la enfermedad. Esto representaría un paso de avance inapreciable en la batalla contra el SIDA.

1. Barré-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, *et al.* Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983;220:868-71.
2. Popovic M, Sarngandharan MG, Read E, Gallo RC. Detection of isolation and continuous production of cytopathic retrovirus (HTLV-III) from patients with AIDS and pre AIDS. *Science* 1984;224:497-500.
3. Duarte CA, Montero M, Seralena A, Valdés R, Jiménez V, Benítez J, *et al.* Multi-epitope polypeptide (MEP) containing epitopes of HIV-1 envelope induces neutralizing monoclonal antibodies against the V3 loop. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1994;10:235-43.
4. Montero M, Menéndez A, Domínguez MC, Navea L, Vilarubia OL, Quintana D, *et al.* Broadly reactive antibodies against a gp120 V3-loop multi-epitope polypeptide neutralize different isolates of Human Immunodeficiency Virus type 1 (HIV-1). *Vaccine* 1997;15:1200-8.
5. Gómez CE, Navea L, Lobaina L, Dubed M, Expósito N, Soto A, Duarte CA. The V3 loop based multi-epitope polypeptide TAB9 adjuvated with montanide ISA720 is highly immunogenic in nonhuman primates and induces neutralizing antibodies against five HIV-1 isolates. *Vaccine* 1999;17:2311-9.
6. Maddon P, Dalgleish A, McDougal J, Clapham P, Weiss R, Axel R. The T4 gene encodes the AIDS virus receptor and is expressed in the immune system and the brain. *Cell* 1986;47:333-48.
7. Landau N, Warton M, Littman D. The envelope glycoprotein of the human immunodeficiency virus binds to the immunoglobulin-like domain of CD4. *Science* 1988;334:159-62.
8. Lores P, Boucher V, Mackay C, Pla M, von Boehmer H, Jami J, *et al.* Expression of human CD4 in transgenic mice does not confer sensitivity to human immunodeficiency virus infection. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1992;8:2063-71.
9. Levy J, Cheng-Mayer C, Dina D, Lucif P. AIDS retrovirus (ARV-2) clone replicates in transfected human and animal fibroblasts. *Science* 1986;232:998-1001.
10. Leonard J, Abramczuk J, Pezen D, Rutledge R, Belcher J, Hakim F, *et al.* Development of disease and virus recovery in transgenic mice containing HIV proviral DNA. *Science* 1988;242:1665-70.
11. Winslow B, Trono D. The blocks to human immunodeficiency virus type 1 Tat and Rev functions in mouse cell lines are independent. *J Virol* 1993;67:2349-54.
12. Tachiba K, Nakajima T, Sato A, Igarashi K, Shida H, Liza H, *et al.* CXCR4/fusin is not a species-specific barrier in murine cells for HIV-1 entry. *J Exp Med* 1997;185:1865-70.
13. Browning J, Horner J, Pettoello-Mantovani M, Raker C, Yurasov S, DePhino R, *et al.* Mice transgenic for human CD4 and CCR5 are susceptible to HIV infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:14637-41.
14. Mosier D, Gulizia R, Baird S, Wilson D. Transfer of a functional human immune system to mice with severe combined immunodeficiency. *Nature* 1988;335:256-9.
15. McCune J, Namikawa R, Kaneshima H, Shultz L, Lieberman M, Weissman I. The SCID-hu mouse: murine model for the analysis of human hematopoietic differentiation and function. *Science* 1988; 241:1632-9.
16. Rabin L, Hincenbergs M, Moreno M, Warren S, Linquist V, Datema R, *et al.* Use of standardized SCID-hu thy/liv mouse model for preclinical efficacy testing of anti-human immunodeficiency virus type 1 compounds. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1996;40:755-62.
17. Safrit J, Fung M, Andrews CA, Braun DG, Sun W, Chang T, *et al.* hu-PBL-SCID mice can be protected from HIV-1 infection by passive transfer of monoclonal antibody to the principal neutralizing determinant of envelope gp120. *AIDS* 1993;7:15-21.
18. Gauduin MC, Parren PW, Weir R, Barbas CF, Burton DR, Koup RA. Passive immunization with a human monoclonal antibody protects hu-PBL-SCID mice against challenge by primary isolates of HIV-1. *Nat Med* 1997;3:1389-93.
19. Mosier DE, Gulizia RJ, MacIsaac P, Mathieson BJ, Smith G, Hu SI, *et al.* Evaluation of gp160 vaccinees in the hu-PBL-SCID mouse model. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1992;8:1387.
20. van Kuyk R, Torbett BE, Gulizia RJ, Leath S, Mosier DE, Koenig S. Cloned human CD8+ cytotoxic T lymphocytes protect human peripheral blood leukocyte-severe combined immunodeficient mice from HIV-1 infection by an HLA-unrestricted mechanism. *J Immunol* 1994;153:4826-33.
21. Zhang C, Cui Y, Houston S, Chang LJ. Protective immunity to HIV-1 in SCID/beige mice reconstituted with peripheral blood lymphocytes of exposed but uninfected individuals. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93: 14720-5.
22. Sarin PS, Talmadge JE, Heseltine P, Murcar N, Gendelman HE, Coleman R, *et al.* Booster immunization of HIV-1 negative volunteers with HGP-30 vaccine induces protection against HIV-1 virus challenge in SCID mice. *Vaccine* 1999;17:64-71.
23. Kulaga H, Folks T, Rutledge R, Truckenmiller M, Gugel E, Kindt T. Infection of rabbits with human immunodeficiency virus. *J Exp Med* 1989;169:321-6.
24. Filice G, Cereda P, Varnier O. Infection of rabbits with human immunodeficiency virus. *Nature* 1988;335:366-9.
25. Reina S, Markham P, Gard E, Rayed F, Reitz M, Gallo R, *et al.* Serological, biological, and molecular characterization of New Zealand white rabbits infected by intraperitoneal inoculation with cell-free human immunodeficiency virus. *J Virol* 1993;67:5367-74.
26. Cho S, Kindt T, Zhao T, Sawasdikosol S, Hague B. Replication of HIV type 1 in rabbit cell lines is not limited by deficiencies in tat, rev, or long terminal repeat function. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1995;11:1487-93.
27. Speck R, Penn M, Wimmer J, Esser U, Hague B, Kindt T, *et al.* Rabbit cells expressing human CD4 and human CCR5 are highly permissive for human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol* 1998;72:5728-34.
28. Kulaga H, Folks T, Rutledge R, Kindt T. Infection of rabbit T-cell and macrophage lines with human immunodeficiency virus 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988;85:4455-9.
29. Hague B, Sawasdikosol S, Brown T, Lee K, Recker D, Kindt T. CD4 and its role in HIV-1 infection of rabbit cell lines. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:7963-7.
30. Yamamura Y, Kotani M, Chodhury H, Yamamoto N, Yamaguchi K, Karasuyama H, *et al.* Infection of human CD4+ rabbit cells with HIV-1: the possibility of the rabbit as a model for HIV-1 infection. *International Immunology* 1991;3:1183-7.
31. Snyder B, Vitale J, Milos P, Gosselin J, Gillepsie F, Ebert K, *et al.* Developmental and tissue specific expression of human CD4 in transgenic rabbits. *Molecular Reproduction and Development* 1995;40:419-28.
32. Leno M, Hague B, Teller R, Kindt T. HIV-1 mediates rapid apoptosis of lymphocytes from human CD4 transgenic but not normal rabbits. *Virology* 1995;213:450-4.
33. Hirsch VM, Myers G, Johnson PR. Genetic diversity and phylogeny of primates lentiviruses. In: Morrow WJW, Haigwood N, editors. *HIV molecular organization pathogenicity and treatments*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers; 1993. p.221-40.
34. Kannagi M, Kiyotaki M, Desrosiers RC, Reimann KA, King NW, Waldron LM, *et al.* Humoral immune responses to T cell trophic retrovirus simian T Lymphotropic virus type III in monkeys with experimentally induced acquired immunodeficiency-like syndrome. *J Clin Invest* 1986;78:1229-36.
35. Haigwood NL, Misher L, Chin SM, Blair M, Planellas V, Scandella CI, *et al.* Characterization of group specific antibodies in primates: studies with SIV envelope in macaques. *J Med Primatol* 1992;21:82-90.
36. Yamamoto H, Miller MD, Tsubota H, Watkins DI, Mazzara GP, Stallard V, *et al.* Studies of cloned simian immunodeficiency virus-specific T lymphocytes: gag-specific cytotoxic T lymphocytes exhibit a restricted epitope specificity. *J Immunol* 1990;144: 3385-91.
37. Venet A, Bourgault I, Aubertin AM, Kiény MP, Levy JP. Cytotoxic T lymphocyte response against multiple simian immunodeficiency virus (SIV) proteins in SIV-infected macaques. *J Immunol* 1992;148:2899-908.
38. Warren JT, Levinson MA. AIDS preclinical vaccine development: biennial survey of HIV, SIV and SHIV challenge studies in vaccinated nonhuman primates. *J Med Primatol* 1999;28:249-73.
39. The European Concerted Action on Macaque Models for AIDS Research. Protection of macaques against simian immunodeficiency virus infection with inactivated vaccines: comparison of adjuvants, doses and challenge viruses. *Vaccine* 1995;13:295-300.
40. Lu X, Kiyono H, Lu D, Kawabata S, Torten J, Srinivasan S, *et al.* TILN immunization with whole inactivated SIV or envelope and core subunit antigen vaccines does not reliably protect rhesus macaques from vaginal challenge with SIVmac251. *AIDS* 1998;12:1-10.
41. Almond N, Rose J, Sangster R, Silvera P, Stebbings R, Walker B, *et al.* Mechanisms of protection induced by attenuated simian immunodeficiency virus. I. Protection can not be transferred with immune serum. *J Gen Virol* 1997;78:1919-22.
42. Sharpe SA, Whatmore AM, Hall GA, Cranage MP. Macaques infected with attenuated simian immunodeficiency virus resist superinfection with virulent-revertant virus. *J Gen Virol* 1997;78:1923-7.
43. Nilsson C, Makitalo B, Thorstensson R, Norley S, Binnering-Schinzler D, Cranage M, *et al.* Live attenuated simian immunodeficiency virus (SIV)mac in macaques can induce protection against mucosal infection with SIVsm. *AIDS* 1998;12:2261-70.
44. Conner RI, Montefiori DC, Binley JM, Moore JP, Bonhoeffer S, Gettice A, *et al.* Temporal analysis of virus replication, immune response, and efficacy in rhesus macaques immunized with a live, attenuated simian immunodeficiency virus vaccine. *J Virol* 1998;72:7501-9.
45. Gundlach BR, Reiprich S, Sopper S, Means RE, Dittmer U, Matz-Rensing K, *et al.*

- Env-independent protection induced by live, attenuated simian immunodeficiency virus vaccines. *J Virol* 1998;72:7846-51.
46. Cranage MP, Sharpe S, Whatmore AM, Polyanskaya N, Norley S, Cook N, et al. *In vivo* resistance to simian immunodeficiency virus superinfection depends on attenuated virus dose. *J Gen Virol* 1998;79:1935-44.
47. Wyand MS, Manson KH, Lackner AA, Desrosiers RC. Resistance of neonatal monkeys to live attenuated vaccine strains of simian immunodeficiency virus. *Nat Med* 1997;3:32-6.
48. Fuller DH, Simpson L, Cole KS, Clements JE, Panicali DL, Montelaro RC, et al. Gene gun-based nucleic acid immunization alone or in combination with recombinant vaccinia vectors suppresses virus burden in rhesus macaques challenged with a heterologous SIV. *Immunol Cell Biol* 1997;75: 389-96.
49. Dittmer U, Stahl-Henning C, Coulibaly C, Nisslein T, Luke W, Fuchs D, et al. Repeated exposure of rhesus macaques to low doses of simian immunodeficiency virus (SIV) did not protect them against the consequences of a high dose SIV challenge. *J Gen Virol* 1995;76:1307-15.
50. Desrosiers RC, Wyand MS, Kodama T, Ringle DJ, Arthur LO, Sehgal P, et al. Vaccine protection against simian immunodeficiency virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:6353-7.
51. Carlson JR, McGraw TP, Keddie E, Yee JL, Rosenthal A, Langlois A, et al. Vaccine protection of rhesus macaques against simian immunodeficiency virus infection. *AIDS Hum Retroviruses* 1990;6:1239-46.
52. Murphey-Corb M, Martin LN, Davison-Fairburn B, Montelaro RC, Miller M, West M, et al. A formalin-inactivated whole SIV vaccine confers protection in macaques. *Science* 1989;246:1293-7.
53. Arthur LO, Bess Jr JW, Sowder II RC, Benveniste RE, Mann DL, Cherman J-C, et al. Cellular proteins bound to immunodeficiency viruses: implications for pathogenesis and vaccines. *Science* 1992;258:1935-8.
54. Van Rompay KKA, Berardi CJ, Dillard-Telm S, Tarara RP, Canfield DR, Valverde CR, et al. Passive immunization of newborn rhesus macaques prevents oral simian immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis* 1998;177:1247-59.
55. Polacino P, Stallard V, Klaniacki JE, Montefiori DC, Langlois AJ, Richardson BA, et al. Limited breadth of protective immunity elicited by SIVmac gp160 vaccines in a combination immunization regimen. *J Virol* 1999;73:618-30.
56. Benson J, Chougnet C, Robert-Guroff M, Montefiori D, Markham P, Shearer G, et al. Recombinant vaccine-induced protection against the highly pathogenic simian immunodeficiency virus SIVmac251: dependence on route of challenge exposure. *J Virol* 1998;72:4170-82.
57. Yasutomi Y, Koenig S, Woods RM, Madsen J, Wassef NM, Alving CR, et al. A vaccine-elicited single viral epitope-specific cytotoxic T lymphocyte response does not protect against intravenous, cell-free simian immunodeficiency virus challenge. *J Virol* 1995;69:2279-84.
58. Buge SL, Richardson E, Alipanah S, Markham P, Cheng S, Kalyan N, et al. An adenovirus-simian immunodeficiency virus env vaccine elicits humoral, cellular, and mucosal immune responses in rhesus macaques and decreases viral burden following vaginal challenge. *J Virol* 1997;71:8531-41.
59. Haigwood NL, Pierce CC, Robertson MN, Watson AJ, Montefiori DC, Rabin M, et al. Protection from pathogenesis SIV challenge using multigenic DNA vaccines. *Immunol Letters* 1999;66:183-8.
60. Baba TW, Liska V, Khimani AH, Ray NB, Dailey PJ, Penninck D et al. Live attenuated, multiply deleted simian immunodeficiency virus causes AIDS in infant and adult macaques. *Nat Med* 1999;5:194-203.
61. Kraiselburd EN, Salaman A, Beltran M, Rivera M, Oliver J, Kessler M, et al. Vaccine evaluation studies of replication-defective SIVsmB7. *Cell Mol Biol* 1997;43:915-24.
62. Putkonen P, Thorstenson R, Ghavamzadeh L, Albert J, Hild K, Biberfeld G, et al. Prevention of HIV-2 and SIVsm infection by passive immunization in cynomolgus monkeys. *Nature* 1991;352:436-8.
63. Putkonen P, Thorstenson R, Walther L, Albert J, Akerblom L, Granquist O, et al. Vaccine protection against HIV-2 infection in cynomolgus monkeys. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1991;7:271-7.
64. Putkonen P, Björling E, Akerblom L, Biberfeld G, Morein B, Norby E, et al. Protection of macaques against HIV-2 with a HIV-2 vaccine in iscom. 8th International Conference on AIDS; Amsterdam 1992, abstract PoA 2157, p.A29.
65. Looney DJ, McClure J, Kent SJ, Radaelli A, Kraus G, Schmidt A, et al. A minimally replicative HIV-2 live-virus vaccine protects *M. nemestrina* from disease after HIV-2/287 challenge. *Virology* 1998;242:150-60.
66. Radaelli A, Kraus G, Schmidt A, Badel P, McClure J, Hu S-L, et al. Genetic variation in a human immunodeficiency virus type 2 live-virus *Macaca nemestrina* vaccinated model. *J Virol* 1998;72:7871-84.
67. Abimiku AG, Robert-Guroff M, Benson J, Tartaglia J, Paoletti E, Markham PD, et al. Long-term survival of SIVmac 251-infected macaques previously immunized with NYVAC-SIV vaccines. *J AIDS Hum Retrovirol* 1997;15 Suppl:578-85.
68. Franchini G, Robert-Guroff M, Tartaglia J, Aggarwal A, Abimiku A, Benson J, et al. Highly attenuated HIV type 2 recombinant poxviruses, but not HIV-2 recombinant *Salmonella* vaccines, induce long-lasting protection in rhesus macaques. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1995;11:909-20.
69. Vogt G, Le Grand R, Vaslin B, Boussin F, Bayon Auboyer M-MB, Riviere Y, et al. Heterologous HIV-2 challenge of rhesus monkeys immunized with recombinant vaccinia viruses and purified recombinant HIV-2 proteins. *Vaccine* 1995;13:202-8.
70. Lubeck MD, Natuk R, Myagkikh M, Kalyan N, Aldrich K, Sinangil F, et al. Long-term protection of chimpanzees against high doses of HIV-1 challenge induced by immunization. *Nat Med* 1997;3:651-8.
71. Robert-Guroff M, Kaur H, Patterson LJ, Leno M, Conley AJ, McKenna PM, et al. Vaccine protection against a heterologous, non-synctium-inducing, primary human immunodeficiency virus. *J Virol* 1998; 72:10275-80.
72. Girard M, Van der Ryst E, Barre-Sinoussi F, Nara P, Tartaglia J, Paoletti E, et al. Challenge of chimpanzees immunized with a recombinant Canarypox-HIV-1 virus. *Virology* 1997;232:98-104.
73. Boyer JD, Ugen KE, Wang B, Agadjanyan M, Gilbert L, Bargarazzi ML, et al. Protection of chimpanzees from high-dose heterologous HIV-1 challenge by DNA vaccination. *Nat Med* 1997;3:526-32.
74. Hu S-L, Fultz PN, McClure HM, Eichberg JW, Thomas EK, Zarling J, et al. Effect of immunization with a vaccinia-HIV env recombinant on HIV infection of chimpanzees. *Nature* 1987;328:721-3.
75. Emini EA, Schleif WA, Nunberg JH, Conley AJ, Eda Y, Tokiyoshi S, et al. Prevention of HIV-1 infection in chimpanzees by gp120 V3 domain-specific monoclonal antibody. *Nature* 1992;355:728-30.
76. Li J, Lord CI, Haseltine W, Letvin NL, Sodroski J. Infection of cynomolgus monkeys with a chimeric HIV-1/SIVmac virus that expresses the HIV-1 envelope glycoproteins. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1992;5:639-46.
77. Reimann KA, Li JT, Veazey R, Halloran M, Park IW, Karlsson GB, et al. A chimeric simian/human immunodeficiency virus expressing a primary patient human immunodeficiency virus type 1 isolate env causes an AIDS-like disease after *in vivo* passage in rhesus monkeys. *J Virol* 1996;70:6922-8.
78. Reimann KA, Watson A, Dailey PJ, Lin W, Lord CI, Steenbeke TD, et al. Viral burden and disease progression in rhesus macaques infected with chimeric Simian-Human Immunodeficiency Viruses. *Virology* 1999; 256:15-21.
79. Harouse JM, Tan RC, Gettie A, Dailey P, Marx PA, Luciw PA, et al. Mucosal transmission of pathogenic CXCR4-utilizing SHIVSF33A variants in rhesus macaques. *Virology* 1998;248:95-107.
80. Harouse JM, Gettie A, Tan RC, Blanchard J, Cheng-Mayer C. Distinct pathogenic sequelae in rhesus macaques infected with CCR5 or CXCR4 utilizing SHIVs. *Science* 1999;284:816-9.
81. Dunn CS, Beyer C, Kieny MP, Gloeckler L, Schmitt D, Gut JP, et al. High viral load and CD4 lymphopenia in rhesus macaques and cynomolgus macaques infected by a chimeric primate lentivirus constructed using env, rec, tat and vpr genes from HIV-1 Lai. *Virology* 1996;223:351-61.
82. Reimann KA, Li JT, Voss G, Lekutis C, Tenner-Racz K, Racz P, et al. An env gene derived from a primary human immunodeficiency virus type 1 isolate confers high *in vivo* replicative capacity to a chimeric simian/human immunodeficiency virus in rhesus monkeys. *J Virol* 1996;70:3198-206.
83. Luciw PA, Pratt-Lowe E, Shaw KE, Levy JA, Cheng-Mayer C. Persistent infection of rhesus macaques with T-cell-line-tropic and macrophage-tropic clones of simian/human immunodeficiency viruses (SHIV). *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:7490-4.
84. Bogers WMJM, Dubbes R, ten Haaf P, Niphuis H, Cheng-Mayer C, Stahl-Henning C, et al. Comparison of *in vitro* and *in vivo* infectivity of different clade B HIV-1 envelope chimeric simian/human immunodeficiency viruses in *Macaca mulatta*. *Virology* 1997; 236:110-7.
85. Kuwata T, Shioda T, Igarashi T, Ido E, Ibuki K, Enose Y, et al. Chimeric viruses between SIVmac and various HIV-1 isolates have biological properties that are similar to those of the parental HIV-1. *AIDS* 1996;10:1331-7.
86. Shibata R, Kawamura M, Sakai H, Hayami M, Ishimoto A, Adachi A. Generation of a chimeric human and simian immunodeficiency virus infectious to monkey peripheral blood mononuclear cells. *J Virol* 1991;65:3514-20.
87. Shibata R, Sakai H, Kawamura M, Tokunaga K, Adachi A. Early replication block of human immunodeficiency virus

type 1 in monkey cells. *J Gen Virol* 1995;76:2723-30.

88. Shibata R, Maldarelli F, Siemon C, Matano T, Parta M, Miller G, et al. Infection and pathogenicity of chimeric simian-human immunodeficiency viruses in macaques: determinants of high virus loads and CD4 cell killing. *J Infect Dis* 1997; 176:362-73.

89. Garashi T, Endo Y, Englund G, Sadjadpour R, Matano T, Buckler C, et al. Emergence of a highly pathogenic simian/human immunodeficiency virus in a rhesus macaque treated with anti-CD8 mAb during a primary infection with a nonpathogenic virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:14049-54.

90. Bogers WMJM, Niphuis H, ten Haaf P, Laman J, Koonstra W, Heeney JL. Protection from HIV-1 envelope-bearing chimeric Simian Immunodeficiency Virus in rhesus macaques infected with attenuated SIV: consequence of challenge. *AIDS* 1995; 9:F13-8.

91. Wagner R, Teeuwse VJ, Deml L, Notka F, Haaksma AG, Jhaghoorsingh SS, et al. Cytotoxic T cells and neutralizing antibodies induced in rhesus monkeys by virus-like particle HIV vaccines in the absence of protection from SHIV infection. *Virology* 1998; 245:65-74.

92. Stott EJ, Almond N, Kent K, Walker B, Hull

R, Rose J, et al. Evaluation of a candidate human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) vaccine in macaques: effect of vaccination with HIV-1 gp120 on subsequent challenge with heterologous simian immunodeficiency virus-HIV-1 chimeric virus. *J Gen Virol* 1998;79:423-32.

93. Putkonen P, Quesada-Rolander M, Leander AC, Schwartz S, Thorstensson R, Okuda K, et al. Immune responses but no protection against SHIV by gene-gun delivery of HIV-1 DNA followed by recombinant subunit protein boosts. *Virology* 1998;250:293-301.

94. Aubertin AM, Le Grand R, Wang Y, Beyer C, Tao L, Neildez O, et al. Generation of CD8+ T cell-generated suppressor factor and beta-chemokines by targeted iliac lymph node immunization in rhesus monkeys challenged with SHIV-89.6P by the rectal route. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2000;16:381-92.

95. Berglund P, Quesada-Rolander M, Putkonen P, Biberfeld G, Thorstensson R, Liljestrom P. Outcome of immunization of cynomolgus monkeys with recombinant Semliki Forest Virus encoding human immunodeficiency virus type 1 envelope protein and challenge with a high dose of SHIV-4 virus. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1997;13:1487-95.

96. Igarashi T, Ami Y, Yamamoto H, Shibata R, Kuwata T, Mukai R, et al. Protection of monkeys vaccinated with vpr and /or nef-defective Simian Immunodeficiency Virus strain mac/ Human Immunodeficiency Virus type 1 chimeric viruses; a potential candidate live-attenuated human AIDS vaccine. *J Gen Virol* 1997;78:985-9.

97. Notka F, Stahl-Hennig C, Dittmer U, Wolf H, Wagner R. Construction and characterization of recombinant VLPs and Semliki-Forest virus live vectors for comparative evaluation in the SHIV monkey model. *Biol Chem* 1999;380:341-52.

98. Lu Y, Salvato MS, Pauza D, Li J, Sodroski J, Manson K, et al. Utility of SHIV for testing HIV-1 Vaccine candidates in macaques. *J Acquired Immune Deficiency Syndromes and Hum Retrovirology* 1996;12:99-106.

99. Letvin NL, Montefiori DC, Yasutomi Y, Perry HC, Davies ME, Lekutis C, 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.

100. Cafaro A, Caputo A, Fracasso C, Maggiorella MT, Goletti D, Baroncelli S, et al. Control of SHIV-89.6P-infection of cynomolgus monkeys by HIV-1 Tat protein vaccine. *Nat Med* 1999;5:643.

Recibido en noviembre del 2000. Aprobado en febrero del 2001.



Bases moleculares para el estudio de las hepatitis virales

Guillermo J. Padrón

ISBN 959-235-006-X

MonografíaS

Los recientes avances en el estudio de la biología molecular han tenido un importante impacto en el conocimiento de los virus de hepatitis y las infecciones causadas por ellos. Este impacto se hace especialmente manifiesto en los nuevos métodos disponibles para el diagnóstico y estudio de estos virus, así como de las enfermedades por ellos causadas y el desarrollo de vacunas. El propósito de este libro es brindar a los lectores los conocimientos básicos de biología molecular, además de una información actualizada de los más recientes avances relacionados con el conocimiento de los virus de hepatitis. Está dirigido a profesionales (médicos, biólogos, investigadores y otros) vinculados al diagnóstico y al manejo de las hepatitis virales.

Editado por Guillermo J. Padrón — quien ha trabajado durante más de diez años en la biología molecular de las hepatitis virales— este libro es el resultado de la colaboración de un colectivo de autores de Cuba, Italia y la India, todos ellos vinculados directamente a la investigación y al manejo de las hepatitis virales y sus bases moleculares.

Entre otros temas...

- ❖ Generalidades de los virus humanos y animales
- ❖ Clínica de las hepatitis virales
- ❖ El virus de la hepatitis A
- ❖ El virus de la hepatitis B
- ❖ El virus de la hepatitis C
- ❖ El virus de la hepatitis D
- ❖ El virus de la hepatitis E
- ❖ Los virus de las hepatitis no-A-E
- ❖ Vacunas combinadas

Precio: \$20,00 USD

Elfos
SCIENTIAE

Envíe su solicitud a:

Elfos Scientiae
Apartado 6072,
La Habana 6, Cuba.
Tel.: (53-7) 33 1917
Fax: (53-7) 33 1917

E-mail: elfos@cigb.edu.cu
<http://www.elfoscientiae.com.cu>