

Урываев Л.В., Бобкова М.Р., Лаповок И.А.

**ВИЧ-инфекция – вызов человечеству.  
Есть ли шансы победить заболевание ?**

ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Министерства здравоохранения РФ

---

В июне 2011 г. исполнилось 30 лет после открытия ВИЧ-инфекции и СПИДа и более 25 лет со дня открытия этиологического агента – вируса иммунодефицита человека, вызывающего тяжёлое повреждение иммунной системы. Первые находки о серологических перекрестах гликопротеина оболочки вириона ВИЧ-1 gp120, об индукции перекрестно-реагирующих цитотоксических Т-лимфоцитов (CTL), индукции антител против gp120 у животных, а также первые наблюдения об отдельных случаях невосприимчивости людей даже при повторных инцидентах инфицирования вселяли надежду на успех. Однако при создании протективной вакцины международное научное сообщество встретилось с серьёзными трудностями, которые связаны с существованием разных субтипов ВИЧ-1, циркулирующих мире, чрезвычайной изменчивостью генома вируса, способностью вируса повреждать многие звенья иммунной системы организма. Трудности в разработке профилактических вакцин мотивировали создание принципиально новых стратегий борьбы с ВИЧ-инфекцией. Опора мирового сообщества на науку начинает приносить практические результаты в сдерживании пандемии ВИЧ-инфекции. Разработка средств лекарственной терапии, эффективно блокирующих основные этапы репродукции вируса в клетке, применение АРВ-терапии и совершенствование «дозорного эпиднадзора» в последние годы существенно повлияли на темпы распространения ВИЧ-инфекции, способствовали продлению средней продолжительности жизни (с 1–2 лет до 10 лет), снижению числа ВИЧ-инфицированных детей в мире и обеспечили ВИЧ-инфицированным лицам возможность длительного сохранения работоспособности и социальной активности. В статье кратко суммированы достижения в борьбе с эпидемией ВИЧ-инфекции за прошедшие годы, рассматриваются перспективные направления исследований и современные взгляды на возможность лечения ВИЧ-инфицированных лиц методами «функциональной» терапии и «стерилизующего» воздействия.

---

Ключевые слова: *вирус иммунодефицита человека, вакцины, антиретровирусная терапия, врожденный иммунитет, гены человека и резистентность к вирусной инфекции, генная терапия.*

Uryvaev L.V., Bobkova M.R., Lapovock I.A.

**HIV-infection – a challenge to humanity.  
Are there reasons to be optimistic ?**

D.I. Ivanovsky Institute of Virology, Russian Ministry of public health

---

**HIV/AIDS well exemplify a term “emerging infectious diseases”, referred to infections that were increasing in incidence in human populations or were recognized as a chronic disease or syndrome. June 2011 marks the 30 anniversary of the first description of HIV infection and AIDS, one of history’s worst pandemic. Developing of HIV vaccine appeared to be difficult problem owing to extraordinary high degree of HIV diversity, caused by its genome mutation and recombination, broad range of epitopes needed for effective immune protection, HIV has evolved highly sophisticated to evade the immune system. This paper summarizes advances and unresolved gaps how to increase defense to HIV-infection. Modern philosophy, perspective tendencies and recent data, aimed to eradicate HIV from infected patients are discussed. Despite progress in characterizing cellular and humoral immune responses to the virus income, we still don’t know enough about magnitude, breadth and correlation of innate and adaptive types of the effective immune responses in human individuals. HAART, effectively inhibiting the main stages of HIV reproduction, substantially influenced on the rate of distribution HIV-infection all over the world. HAART up-to-date is the most powerful tool in the struggle against HIV-infection. While the directions appeared to be more focused today, many avenues of study still needed to be explored. Detailed studying of intriguing finding on “elite controller effects” are still limited. Modulation of innate immunity will be powerful approach to compliment traditional methods to HIV prophylaxis and therapy. Developed recently strategies to treat “functionally” and “sterilization” cure are very promissive for success in the nearest future. Although the end of the HIV-infection epidemic is not yet in sight and many challenges remain, the response has been remarkable and global health has changed for the better. Are there reasons to be optimistic that a cure for HIV infection may be achieved? The answer “yes”, but this will not be achieved in the short time.**

---

*Key words: HIV-infection, AIDS, vaccines, HAART-treating, unresolved gaps, perspective and tendencies to cure.*

Появление новых и возвращение ранее встречавшихся вирусных заболеваний было характерным для второй половины 20 века и начала 21 века. Драматическая история вирусных заболеваний человека пополнилась новыми страницами – это развитие эпизоотии гриппа А (H5N1) и случаи его проникновения в человеческую популяцию с высоким уровнем летальности (с 1997 г. по настоящее время), появление тяжёлой острой коронавирусной инфекции – ТОРС – «атипичной пневмонии», этиологически связанной с коронавирусом SARS (2002–2003 гг.), пандемия «свиного» гриппа А (H1N1) pdm09 (2009-2011 гг.), расширение ареала распространения ряда арбовирусных инфекций на новых территориях (в том числе – лихорадки Западного Нила, Крымской-Конго геморрагической лихорадки), атипичные вспышки хантавирусных инфекций с геморрагическим легочным и почечным синдромом, случаи «белой» оспы в Африке, вспышки энтеровирусных инфекций (вирусы группы Echo) с необычными клиническими проявлениями (тяжёлые увеиты, фульминантные случаи поражения печени и поджелудочной железы и т.д.) и другие emergent инфекции [6].

С 1983 г. в лексикон человека вошли пугающие слова «ВИЧ-инфекция и СПИД, ВИЧ-инфекция – пожизненная хроническая инфекция, отсутствие лечения при которой неизбежно заканчивается развитием СПИДа и летальным исходом». ВИЧ-инфекция стала беспрецедентной по своей сложности глобальной проблемой здравоохранения. Первооткрывателями ВИЧ-1 были французские вирусологи Л. Монтанье (Montagnier) и Ф. Барре-Синусси (Barre-Sinoussi). Большой вклад в изучение ВИЧ и ВИЧ-инфекции внесли американские ученые Р. Галло (Gallo) и Дж. Леви (Levy). ВИЧ-2 был открыт группой учёных под руководством Л. Монтанье в 1986 г..

Прошло более четверти века с момента открытия вируса иммунодефицита человека как этиологического фактора нового заболевания людей, связанного с повреждением иммунной системы организма. За это время исследования ВИЧ и ВИЧ-инфекции мировым научным сообществом позволили выяснить особенности клинического течения ВИЧ-инфекции, выявить детали строения вириона ВИЧ и молекулярные механизмы репродукции вируса в клетке и организме, установить особенности повреждения иммунной системы. Были разработаны лекарственные препараты, эффективно блокирующие репликацию вируса (адсорбцию и проникновение вируса в клетку, обратную транскриптазу, протеазу и интегразу ВИЧ-1), что обеспечивает существенное продление жизни пациентов, созданы научные основы профилактики ВИЧ-инфекции, созданы варианты потенциальных анти-ВИЧ вакцин, начаты клинические испытания некоторых из них [1, 10, 47]. С момента признания первого случая ВИЧ шел процесс непрерывного совершенствования подходов и методов, предназначенных для мониторинга эпидемии и мер противодействия её распространению.

В СССР первые случаи ВИЧ-инфекции среди иностранцев были описаны в 1985 г., а первые изоляты ВИЧ-1 были выделены в 1987 г. (М.Н. Корнеева, Л.М. Селимова, Д.Н. Носик – Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского АМН СССР, совместно с сотрудниками Центрального института эпидемиологии Минздрава СССР). Отечественными учёными и организаторами здравоохранения были разработаны и предприняты все возможные меры неспецифической профилактики (создание системы эпиднадзора за распространением ВИЧ-инфекции в СССР, противоэпидемические мероприятия, разъяснения, пропаганда, фильмы, брошюры и т.д.). Академик АМН СССР В.М. Жданов впервые выдвинул идею объединить усилия ученых мира по противодействию эпидемии и созданию вакцины против ВИЧ/СПИДа. Под руководством академика АМН СССР В.И. Покровского была разработана удобная система классификации ВИЧ-инфекции и СПИДа, позволяющая унифицировать лечение больных ВИЧ и СПИД. В нашей стране впервые в мире была введена регистрация не СПИДа, а ВИЧ-инфицированных. Это позволило выявлять случаи заболевания в более ранние сроки (ещё до развития симптомов СПИДа) и оперативно проводить противоэпидемические мероприятия. Позже эта система была рекомендована Всемирной Организацией Здравоохранения для других стран и принята в ряде стран. В 1987–1989 гг.

были выяснены основные пути проникновения ВИЧ в страну. Разработаны эффективные методы расследования эпидемических вспышек ВИЧ-инфекции. Создана универсальная система эпидемиологического расследования массовых и единичных случаев (В.И. Покровский, В.В. Покровский, 1992 г.). Во всех республиках СССР и субъектах РСФСР была создана система региональных центров диагностики и профилактики ВИЧ/СПИДа. Был выявлен ранее неописанный способ передачи ВИЧ от ребёнка – матери (В.В. Покровский, 1992 г.). У российского пациента был обнаружен первый случай рекомбинантного ВИЧ-1 gagA/envB и определена его первичная структура (А.Ф. Бобков и др., см. [5]).

Уже через три года после выделения вируса ВИЧ от больного созданные отечественные диагностические системы стали доминирующими (92–93 %) и более дешевыми на отечественном рынке (в 1989–1990 гг. в СССР проводилось ежегодное тестирование до 30 млн. проб). За создание методов диагностики ВИЧ-инфекции большой группе ученых была присуждена Премия Правительства СССР в области науки и техники (В.В. Зверев, А.Г. Майданюк, С.В. Нетесов, А.Г. Покровский, А.Д. Амосов, Т.А. Бектимиров, И.З. Зайцев, С.А. Зайцев, М.С. Воробьева, В.А. Гольцов, Л.Г. Карпович, С.А. Куляндин, М.Ю. Руковишников, Л.Л. Суханова, О.Н. Ястребова). В настоящее время, проводится их совершенствование на основе новых технологических платформ.

Отечественными специалистами была разработана оригинальная, экономически более эффективная технология получения первого отечественного препарата – ингибитора ревертазы – азидотимидина (АЗТ). Через пять лет был создан уже новый отечественный препарат фосфазид (коммерческое название – никавир), более эффективный и менее токсичный, чем АЗТ. Авторы этой научной разработки (А.А. Краевский, Г.А. Галегов, Р.Ш. Бибилашвили, В.В. Покровский, О.Г. Юрин, А.В. Кононов, М.Н. Кайков, М.К. Куханова, 1998-2000г.) были удостоены Государственной Премии РФ в области науки и техники.

Для нашей страны экономическая выгода от использования отечественных научных разработок была велика - совместными усилиями ученых, организаторов здравоохранения, государственных деятелей страны удалось отодвинуть сроки эпидемии и снизить темпы её развития.



Рисунок 1.  
Франсуаза Барре-Синусси  
(Barre-Sinoussi)  
(р. 1947)



Рисунок 2.  
Люк Монтанье  
(Montagnier)  
(р. 1932)

2008 г. ознаменовался огромным событием: два вирусолога мира удостоены Нобелевской премии за выдающиеся успехи в области исследований ВИЧ и ВИЧ-инфекции (Франсуаза Барре-Синусси (рис. 1) и Люк Монтанье (рис. 2) – Лауреаты Нобелевской Премии 2008 г. в области медицины и биологии).

Расширение доступа к лечению в последние 10 лет привело к уменьшению ежегодного числа смертей от СПИДа. Темпы распространения новых случаев ВИЧ-инфекции в ряде стран снизились, однако в мировом масштабе положительные тенденции нивелируются за счет увеличения числа

новых случаев в других странах.

Несмотря на значительные успехи в диагностике и лечении ВИЧ-инфекции, глобальное распространение ВИЧ-инфекции продолжается. ВИЧ – одна из основных причин смерти в мире. За последние три десятилетия он унёс более 25 млн. человеческих жизней. В 2010 г. в мире насчитывалось примерно 34 млн. людей с ВИЧ. Число новых случаев инфекции по-прежнему превышает число смертей от СПИДа. Ежегодно во всём мире появляется около 3 млн. новых инфицированных ВИЧ человек (мужчин, женщин и детей) и около 2 млн. погибает от СПИДа. Число ежегодных новых подтвержденных случаев ВИЧ-инфекции в мире превосходит число пациентов, получающих АРТ в два раза (UN/WHO. AIDS epidemic update. <http://unaidsorg/en> (01 December 2011).

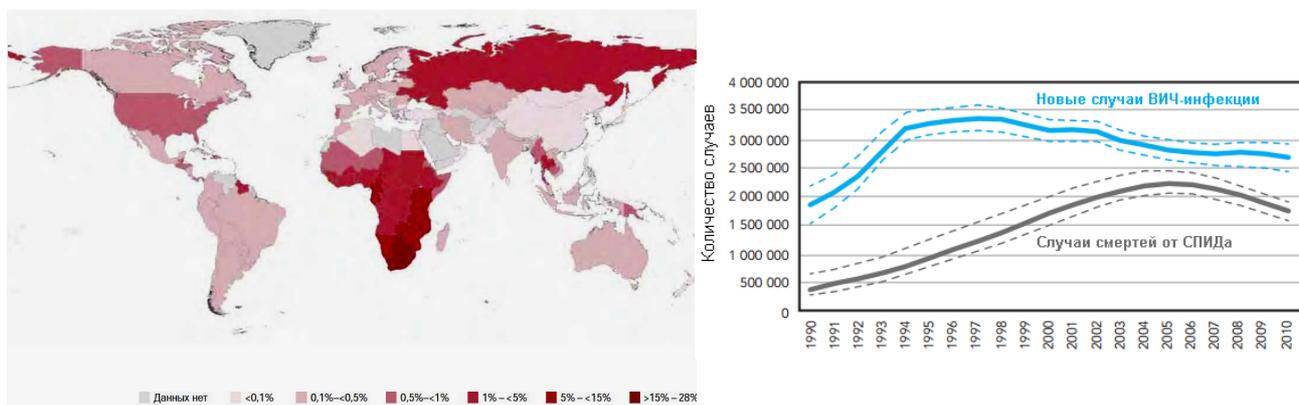


Рисунок 3. Распространение ВИЧ-инфекции в мире (слева) и динамика новых случаев ВИЧ-инфицирования и смертей от СПИДа (справа) (по данным UNAIDS/WHO: [www.unaids.org](http://www.unaids.org); 2010 г.).

### Тенденции распространения ВИЧ-инфекции в России в последние три года.

В настоящее время, в России зарегистрировано около 600 тыс. инфицированных ВИЧ-1, с 2010 г. это число возрастает ежегодно на 56–60 тыс., происходит рост процента случаев с гетеросексуальным способом передачи инфекции.

По данным Роспотребнадзора РФ и Российского Государственного научно-методического Центра профилактики и борьбы с ВИЧ/СПИД, в России отмечается общая тенденция ухудшения эпидобстановки по ВИЧ/СПИД. Нарастание случаев ВИЧ-инфекции отмечается практически во всех регионах России. Число новых и кумулятивных случаев ВИЧ-инфекции, показатель пораженности населения, число случаев среди беременных, общее число детей с ВИЧ, смертей от СПИДа продолжают возрастать. Особенности эпидемии ВИЧ-инфекции в России являются: преобладание заболевания среди потребителей инъекционных наркотиков (78 %), ВИЧ-инфекция чаще поражает молодое поколение (73 % – 15–30 лет), доминирует вариант ВИЧ-1-А-(IDU) – 93–97 % в разных регионах, продолжается эпидемия наркомании, расширяется индустрия оказания сексуальных услуг, увеличивается число нуждающихся в лечении. За последние 5 лет ВИЧ-инфекция продвинулась в восточные и северные регионы страны, в некоторых районах число ВИЧ-инфицированных приближается к 1 % (а в отдельных группах – достигает 3–5 % среди мужчин в возрасте 16–45 лет). Возросла частота выявления маркёров ВИЧ-инфекции среди больных инфекциями, передаваемыми половым путём (вирусные гепатиты В и С, цитомегаловирусная инфекция, герпетические инфекции – ВПГ 1-ого и 2-ого типов). Сегодня темпы нарастания числа ВИЧ-инфицированных в России превышают темпы роста во всех странах мира [<http://www.hivrussia.ru>, 9].

До настоящего времени ни одна вирусная или бактериальная инфекция не была побеждена или значительно приостановлена без применения вакцины, поэтому разработка эффективной вакцины стала для человечества шансом остановить пандемию.

### Анти-ВИЧ вакцины. Традиционные подходы.

Через год после открытия вируса иммунодефицита человека Секретарь Здравоохранения США Margaret Heckler 23 апреля 1984 г. заявила, что вакцина против ВИЧ-инфекции будет разработана и подготовлена для испытаний через два года. В те годы строение вириона ВИЧ-1 и особенности патогенеза ВИЧ-1-инфекции были мало исследованы.

Согласно представлениям тех лет, эффективная профилактическая вакцина должна обеспечивать защиту от инфекции: 1) как возникающую после *перенесённого* заболевания; 2) от заболевания, но не от инфицирования; 3) от вирусов, которые не изменяются в течение многих лет; 4) от вирусов, которые проникают в организм через слизистые оболочки дыхательного или желудочно-кишечного тракта (но не клеток генитальной системы);

5) защищать от вирусов, которые не связаны с поведенческими привычками людей;  
6) защищать от «свободных», но не внутриклеточных патогенов, геном которых интегрирован в хромосомную ДНК. К моменту начала работ по разработке вакцины против ВИЧ-инфекции термин «протективный иммунитет» по отношению к ВИЧ-инфекции еще не был сформулирован.

При создании вакцины против ВИЧ-инфекции исследователи столкнулись с необычными трудностями, которые объясняются следующими причинами.

1) *Генетическим разнообразием* циркулирующих в мире и разных странах вариантов ВИЧ. Варианты ВИЧ даже в пределах одного субтипа могут отличаться до 20 %, а в Африке, где циркулируют практически все субтипы ВИЧ-1, по env-белкам они могут отличаться до 38 %. Генетические вариации ВИЧ-1 даже у одного пациента в течение 1-2 лет могут превышать вариабельность вируса гриппа в случае глобальной эпидемии [32].

2) *Недостаточными знаниями об иммунных механизмах защиты* организма от ВИЧ-инфекции и генетических особенностях отдельных людей, менее подверженных риску фатального инфицирования (механизмов контроля ВИЧ-инфекции у «длительных непрогрессоров» и «элитных контроллеров»); недостаточным пониманием совокупности факторов, определяющих понятие «эффективный протективный эффект» [60].

3) *Высокой частотой мутаций вирусного генома* за счет ошибок транскрипции обратной транскриптазой ( $3.4 \cdot 10^{-5} - 3 \cdot 10^{-4}$  /геном/ цикл репликации). Во время хронической инфекции в организме вирус существует как «квазивид», состоящий из множества сходных, но не абсолютно тождественных вариантов, интерферирующих друг с другом, постоянно изменяющихся на протяжении болезни и поражающих разные звенья иммунной системы.

4) *Возможностью внутригенной и межгенной рекомбинации*, в том числе – между разными генотипами.

5) *Маскированием нейтрализуемых эпитопов вируса*, что обеспечивает ускользание вируса от иммунного ответа.

6) *Инфицированием и глубоким угнетением иммунной системы.*

7) *Интеграцией в клеточный геном* и возможностью латентного течения инфекции в течение многих лет.

8) *Возможностью передачи инфекции инфицированными клетками семенной жидкости* (при половом способе передачи инфекции).

9) *Отсутствием адекватных экспериментальных моделей* на животных.

10) *Значительной продолжительностью доклинических и клинических испытаний.* От концепции конструирования вакцины до лицензированного продукта обычно проходит длительное время (10–15 лет).

11) *Высокой стоимостью современных исследований* [47].

Первые находки о серологических перекрестах белка gp120 в области петли V3 (основной нейтрализуемый домен) ВИЧ-1, об индукции перекрестно-реагирующих цитотоксических Т-лимфоцитов (CTL), индукции антител против gp120 и петли V3 у животных (на моделях мышей – HIV-1 и HIV-2, кошек – FIV, макак резус – SIV, SHIV, шимпанзе – HIV-1), а также первые наблюдения об отдельных (хотя и редких) случаях невосприимчивости людей даже при повторных случаях инфицирования вселяли надежду на успех.

В течение последующих лет были разработаны около 200 вариантов иммуногенов, для испытания которых были использованы разные способы иммунизации: 1) парентеральное введение, ДНК-иммунизация, 2) через рот (на основе покс-, адено-, полио-, альфа-вирусных векторов, салмонелл и трансгенных растений); 3) интраназальное, интаректальное, интрауретральное и интравагинальное введение потенциальных иммуногенов с разными иммуностимуляторами (липосомы, микросферы, цитокины – IL-2, интерлейкин-2, и GM-CSF, гранулоцит-макрофаг колониестимулирующий фактор). Иммуногенность препаратов сначала проверяли на мелких животных (мышях, морских

свинках и кроликах), затем на приматах, и в случае перспективных результатов – на волонтерах.

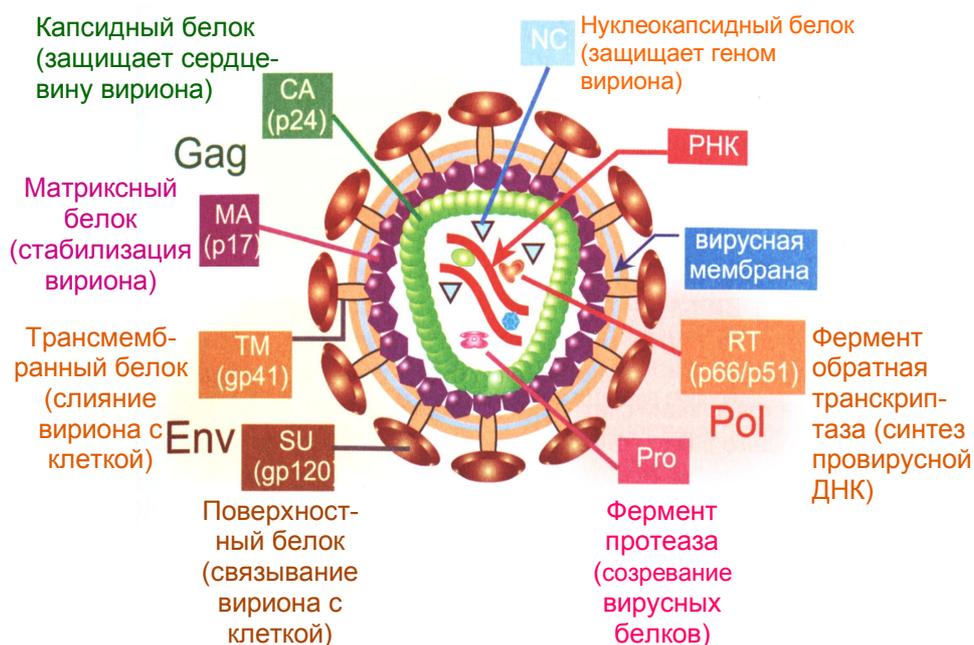


Рисунок 4. Современные представления о строении вириона и функции белков ВИЧ (по [6]).

Вначале были использованы ранее оправдавшие себя традиционные стратегии, основанные на формировании в вакцинированном организме нейтрализующих антител, по аналогии с гепатитом В и другими вирусными инфекциями. Классические вакцины на основе аттенуированного вируса оказались неприемлемыми из-за их повышенной опасности. Поэтому были предложены вакцины, основанные на использовании белков оболочки вирионов ВИЧ: gp120, gp160, gp41, фрагментов этих белков и пептидов, имитирующих актуальные антигенные детерминанты белков ВИЧ-1.

Были апробированы следующие варианты потенциальных вакцин:

- Цельновирионная убитая (природный или модифицированный вирус);
- аттенуированная живая (природная или модифицированная (например, с делецией гена *nef*);
- субъединичные вакцины (природные белки или генно-инженерные препараты gp120, gp160, gp41, gag, в том числе олигомеры);
- вирусные белки в различных векторах (поксвирус, полиовирус, вирус простого герпеса, аденовирус, бакуловирусы, ТУ-частицы, разные виды бактерий);
- псевдовирионы и вирусоподобные частицы;
- синтезированные пептиды – аналоги функциональных участков ВИЧ-1 или СТЛ/ТН эпитопов;
- анти-идиотипы нейтрализующих антител.

Однако оказалось, что эти иммуногены стимулировали продукцию антител, которые нейтрализовали исходный вирус *in vitro*, но не нейтрализовали варианты ВИЧ-1, полученные от пациентов [47, 50].

Две вакцины, основанные на использовании белков gp120, (gp120 ВИЧ-1-В и gp120 рекомбинантного ВИЧ-1 CRF01-AE) были испытаны на 3 000 здоровых волонтеров (III стадия клинических испытаний) в Таиланде (VAX 003 Study), а gp120 ВИЧ-1-В (MN) и gp120 ВИЧ-1 GNE 8 были испытаны в США и Голландии (VAX 004 Study), где доминирует распространение субтипа ВИЧ-1-В. Несмотря на формирование у привитых доноров

специфических антител, число случаев заражения ВИЧ-1 среди них не отличалось от показателей в контрольной группе, получавшей плацебо [47].

Неудача масштабных испытаний (STEP trial 2004–2007 гг.) вакцины MRKAd5 (на основе рекомбинатного аденовируса 5-ого типа, несущего антигенные детерминанты белков gag, pol и nef) фирмы Мерк в сотрудничестве с НИИ серьезно повлияла на оптимистические представления о скором создании профилактических вакцин против ВИЧ-инфекции и СПИДа. Последние масштабные испытания (2008–2011 гг.) испытания вакцины RV144 (комбинация двух генно-инженерных конструкций, фирм Sanofi-Aventis и Genetech) в Таиланде на 16 400 добровольцах и скромные результаты (31.2 % эффективности) обнадежили учёных-энтузиастов, однако большая часть исследователей скептически относится к возможности скорой разработки вакцины и считает необходимым *искать новые стратегии* в борьбе с ВИЧ-инфекцией и СПИД.

Позже, отсутствие образования нейтрализующих антител в сыворотках привитых было объяснено особенностями строения и взаимодействия белков оболочки ВИЧ-1 с CD4-рецепторами (CDR) на поверхности Т-клетки: эффективные функциональные эпитопы белка gp120 располагаются внутри четвертичной структуры шипа в оболочке вириона и раскрываются только в процессе взаимодействия с клеточным рецептором CDR, оставаясь недоступными для антител. Разные модификации гликозилирования и вариабельность пептидов в петлях V1 – V5 белка gp120 ещё больше снижают возможность индукции нейтрализующих антител против популяции ВИЧ-1 в каждом индивидуальном случае [44]. Взаимодействие тримера gp120 с рецептором CD4 приводит к изменениям 3D-структуры петли V3, а связывание с корецепторами CCR5 и/или CXCR4 сопровождается структурными изменениями трансмембранного белка gp41 вириона и слиянием (fusion) вируса с клеточной мембраной. Этот процесс происходит очень быстро (сотые доли секунды) и обычно не успевает быть нейтрализованным специфическими антителами, которые могут повлиять на него только в очень высоких концентрациях (нужная фракция среди индуцированных антител содержится в небольшом количестве). Основная же фракция индуцированных антител направлена против других эпитопов gp-белков, высоко вариабельных и существенно различающихся у разных клонированных ВИЧ-1, а потому мало эффективна.

Чтобы повысить эффективность таких вакцин, было предложено использовать искусственно созданные «комплексы слияния» и/или векторы на основе аттенуированных вирусов, экспрессирующих белки ВИЧ-1 (позже были использованы более сложные композиции иммуногенов - фрагменты gag, pol, nef, vif –белков) ВИЧ-1. Последний способ оказался эффективным [45, 46] в опытах на обезьянах (аденовирус–белки SIV). Этот результат вдохновил исследователей на выявление среди редко встречающихся ВИЧ-инфицированных пациентов специфических перекрестно реагирующих (с вирусами разных субтипов) и нейтрализующих антител, которые можно было бы получить генно-инженерными способами.

Позже приоритет исследований сместился в сторону вакцин, которые могли бы индуцировать ВИЧ-1 специфический Т-клеточный ответ. Цитотоксические лимфоциты (CTL) играют важную роль в контроле репродукции ВИЧ. В отличие от нейтрализующих антител, CTL не оказывают нейтрализующего эффекта, однако они узнают уже инфицированные клетки и могут ограничивать фокусы вирусной инфекции (в лимфоузлах, дендритных клетках, стволовых клетках), снижая вирусную нагрузку, как это было показано в опытах на обезьянах [45, 46]. Показано, что снижение вирусной нагрузки даже на 0.5 lg влияет на проявление клинических симптомов и т.о. влияет на распространение ВИЧ-инфекции. Мутируя, ВИЧ-1 может ускользать от узнавания CTL, и это является одной из причин функционального полиморфизма CTL.

Для индукции CTL в клинических испытаниях были использованы рекомбинантные вирусные векторы: аденовирус 5 типа (Ad 5), ALVAC – покс-вирусы канареек, модифицированный вирус вакцины (штамм Анкара), аденоассоциированный вирус в комбинации с поксвирусом птиц.

Было установлено, что СТЛ индуцируются только в том случае, если фрагменты вирусных белков связываются с молекулами HLA-1 дендритных клеток, презентующих эти пептиды СТЛ-клеткам. Этот подход, эффективный при использовании живых аттенуированных вакцин для профилактики некоторых вирусных инфекций (например, кори у человека или SIV у обезьян), не может быть использован при создании вакцины (на основе ВИЧ-1) по причине её опасности. Поэтому предполагалось, что объединение двух подходов в одной вакцине может повысить её эффективность.

*Стратегия «prime-boost».* Испытанные ДНК-вакцины (внутримышечное введение) обычно оказываются слабо иммуногенными, однако стратегия ДНК-праймирования повышает их иммуногенность. В этом случае первая вакцинация вызывает формирование клеточного ответа на те же белки, которые на следующем этапе иммунизации будут вызывать образование нейтрализующих антител. Последовательная индукция клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа и возможность использовать *широкий спектр иммуногенов* повышает перспективность ДНК-вакцин. Клинические испытания такого подхода были начаты в 2009 г. (вакцина HVTN 505 включает использование ДНК и рекомбинантного вируса rAd5, содержащего экспрессируемые фрагменты генов env, gag, pol, nef) [<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00976404>]. СТЛ можно также индуцировать липопротеинами, однако таким образом можно презентировать только небольшое число эпитопов.

**Мукозальный иммунитет (МИ)** – форма протективного (местного) иммунитета, который представлен лимфоцитами и антиген-презентирующими клетками в эпителии и lamina propria слизистых поверхностей желудочно-кишечного, респираторного тракта и генитальных путей. Активация МИ обычно коррелирует с иммуноглобулинами класса IgA. МИ включает Т-лимфоциты и В-лимфоциты в подэпителиальном слое тканей и предназначен для локализации «на месте» и инактивации проникших в организм патогенов. У невосприимчивых к ВИЧ-1 заражению лиц (путем половых контактов) часто определяют высокие уровни IgA.

В качестве терапевтической вакцины для ВИЧ-инфицированных пациентов, получающих АРВ-терапию, было предложено использовать один из вариантов иммунизации наиболее перспективными конструкциями на основе рекомбинантных вирусов. Сохранение или снижение вирусной нагрузки после прерывания АРВ у иммунизированных пациентов может оказаться способом отбора превентивных вакцин. В завершённом испытании вакцины PEDVAC (2012) участвовали дети разного возраста (9-14 лет), вертикально зараженные от ВИЧ-1-инфицированных матерей. На фоне АРВ они были привиты ДНК-вакциной, сконструированной из белков ВИЧ-1 разных субтипов. Поскольку была показана безопасность вакцины (сохранение числа CD4+- лимфоцитов и уровня вирусной нагрузки), это открывает новые перспективы создания возможных терапевтических вакцин.

Недавно (2011 г.) была предложена ещё одна обнадеживающая **концепция генетической иммунизации**: трансфекция генов, кодирующих высоко эффективные ВИЧ-1-специфические рецепторы Т-клеток (TCR) непосредственно в CD8+ цитотоксические Т-клетки. В опытах «ин витро» одну клетку удалось трансфицировать даже двумя разными TCR.

На конференции участников программы EUROPRIZE (2010 г.) в качестве одного из направлений рассматривалось *совершенствование вакцинных препаратов и микробицидов, включая возможность их одновременного использования на фоне АРВ-терапии*. Итоги этой программы будут подведены в 2015 году. Рациональным зерном такого комбинированного подхода является обеспечение оптимальной концентрации АРВ-препаратов и повышение защиты (невосприимчивости) слизистых оболочек от заражения, а также возможность использования разных рецептур для более эффективного повышения тканевой резистентности.

Снижение вирусной нагрузки приводит к снижению возможности передачи ВИЧ-1 разными способами.

Таким образом, с конца восьмидесятых годов XX века изменились стратегии создания и применения анти-ВИЧ-1 вакцин. Испытания традиционных, субъединичных, пептидных, рекомбинантных векторных и ДНК-вакцин способствовали выяснению особенностей патогенеза ВИЧ-инфекции [1, 2, 47], в том числе характерных и для других вирусных инфекций с хроническим течением (гепатит С, герпесвирусные инфекции, некоторые инфекции нервной системы). Были предложены принципиально новые стратегии борьбы с ВИЧ-инфекцией на стадии острой и хронической инфекции, включая применение кандидатных вакцинных препаратов на фоне эффективной ВААРТ (программа EraMune 02, [http://globalhealth.northwestern.edu/projects/Eramune.html] и как компонент микробицидов для повышения местного иммунитета. Несмотря на первые скромные успехи в разработке вакцин, создание эффективной превентивной и/или терапевтической вакцины пока остается нерешенной задачей, а сроки решения отодвигаются еще на 10–15 лет.

Не претендуя на исчерпывающее изложение всех направлений исследований, приведем лишь некоторые из них, по нашему мнению, наиболее интересные.

Неудачи в разработке вакцин против ВИЧ-инфекции привели к созданию новой стратегии, которая включает:

- 1) совершенствование методов ранней диагностики,
- 2) анализ системы врожденного иммунитета у «непрогрессоров»,
- 3) изучение полиморфизма генов человека и ВИЧ-1, влияющих на чувствительность к заражению ВИЧ и характер течения ВИЧ-инфекции,
- 4) совершенствование антиретровирусной терапии (АРТ) и новой стратегии лечения («функциональная терапия») и
- 5) разработку стратегии излечивающей терапии («стерилизующая терапия») – см. рис. 5.

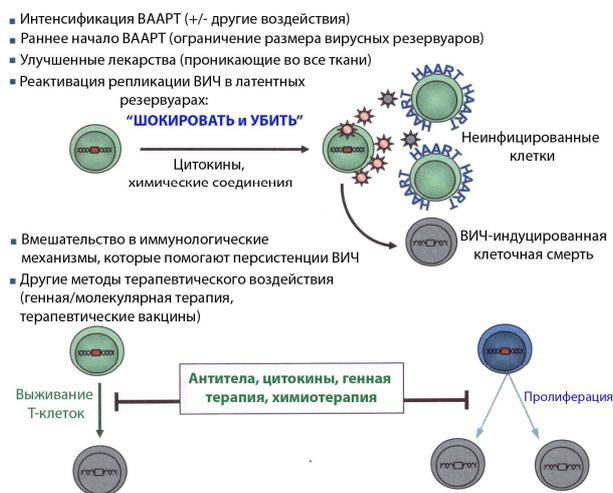


Рисунок 5. Комбинированная стратегия контроля / искоренения резервуаров ВИЧ-инфекции.

Период от заражения ВИЧ-1 до сероконверсии – очень важный период инфекции. Это время (около 1 мес.) можно разделить на несколько этапов, в пределах которых происходят события, определяющие возможность развития инфекции или уничтожения вируса (рис. 6), а также возможность передачи вируса с кровью (реципиенту-партнёру). Маркёры вирусной инфекции ещё не выявляются иммунохимическими методами (ИФА, иммуноблот) [43]. Развитие острой инфекции происходит в течение 28–35 дней после проникновения вируса в организм [2, 47]. При половой передаче вирус проникает через мукозальный барьер и инфицирует покоящиеся клетки  $CD4^+$ , активированные  $CD4^+$ , резидентные макрофаги, дендритные клетки и макрофаги наружных слоев эпителия цервикального или ректального каналов.

В момент заражения в крови циркулируют только небольшое количество активированных  $CD4^+$ -лимфоцитов, периферические моноциты крови мало чувствительны к вирусу. Поэтому репликация вируса происходит только в ограниченном числе клеток, затем (2–3 сут.) вирус попадает в ближайшие лимфоузлы. Виремия развивается на 5–7 день и уже на 24–28 день достигает максимума – до  $\sim 5\,000$  ИД<sub>50</sub>/мл или  $10^7$  молекул вирионной РНК/мл плазмы крови (соотношение инфекционных и физических частиц для ВИЧ-1 равно 1 : 1 000 – 1 : 10 000). К 10-14 сут. число  $CD4^+$ -инфицированных Т-клеток достигает  $\sim 200$  млн.. Установлено, что параллельно с вирусной нагрузкой (пик её – примерно через 18–20 сут. после заражения) активируется продукция факторов врождённого иммунитета

(«цитокиновый шторм»): IFN-alfa, IL-15, TNF-alfa (12–14 сут.), чуть позже - провоспалительных цитокинов IL-18 и TNF-alfa (16–18 сут.), затем NK, IFN-gamma, TNF-alfa и бета-хемокинов [20].



Рисунок 6. Корреляция этапов распространения ВИЧ-1 в организме и уровней вирусной нагрузки в крови.

Первый этап – «до заражения» – самый важный. В случае незащищенных сексуальных контактов возможны неоднократные инциденты попадания вируса в организм, однако проникший вирус не всегда инициирует развитие инфекции. Такая ситуация наблюдается у так называемых элитных непрогрессоров (elite non-progressors); они встречаются довольно редко 1 : 300 – 1 : 400 человек. В некоторых случаях эти лица подвергаются «атакам» ВИЧ-1 на протяжении многих лет, однако ВИЧ-инфекция не развивается [20]. Срок возможного купирования инфекции не превышает 12–14 дней. В этот период нейтрализующие антитела еще не образуются и только факторы врожденного иммунитета могут остановить или ограничить репродукцию ВИЧ-1 в организме. *Исследование присущих элитным контроллерам факторов управления инфекцией ВИЧ-1 стало приоритетным направлением для разработки способов предохранения и борьбы с ВИЧ-инфекцией.* В качестве ранней терапии рассматриваются варианты терапии интерлейкином-2 (IL-2), IL-10, IL-12, IL-15, интерферонами I типа, иммуномодуляторами и активация клеточных факторов врожденного иммунитета.

Компонент растворимых факторов врожденного иммунитета, манноза-связывающий лектин (mannose-binding lectin, MBL), белок острой фазы инфекции, образуется в печени, реагирует с гликопротеинами оболочки вирионов ВИЧ-1 R5 и X4 типов. Связываясь с гликопротеинами оболочки ВИЧ-1, богатыми маннозой, MBL инактивирует вирус путем опсонизации (но не нейтрализации) [37]. Полиморфизм промотора MBL (делеция 6 н.о.) коррелирует с высоким уровнем MBL и с резистентностью к ВИЧ-1 у детей. Однако, как

отмечено, *после инфицирования* высокий уровень MBL связывают с прогрессированием инфекции к СПИДу [19]. Приведенные примеры подтверждают перспективность управления факторами врожденного иммунитета (это возможно методами генотерапии) для формирования резистентности организма к заражению ВИЧ-1.

Для внедрения новых методов лечения в клиническую практику нужно научиться как можно раньше устанавливать инцидент инфицирования. Ниже приведены современные лабораторные методы анализа маркёров ВИЧ-1 инфекции и ранние сроки появления в крови маркёров ВИЧ-1 инфекции, которые можно обнаружить существующими методами лабораторной диагностики.

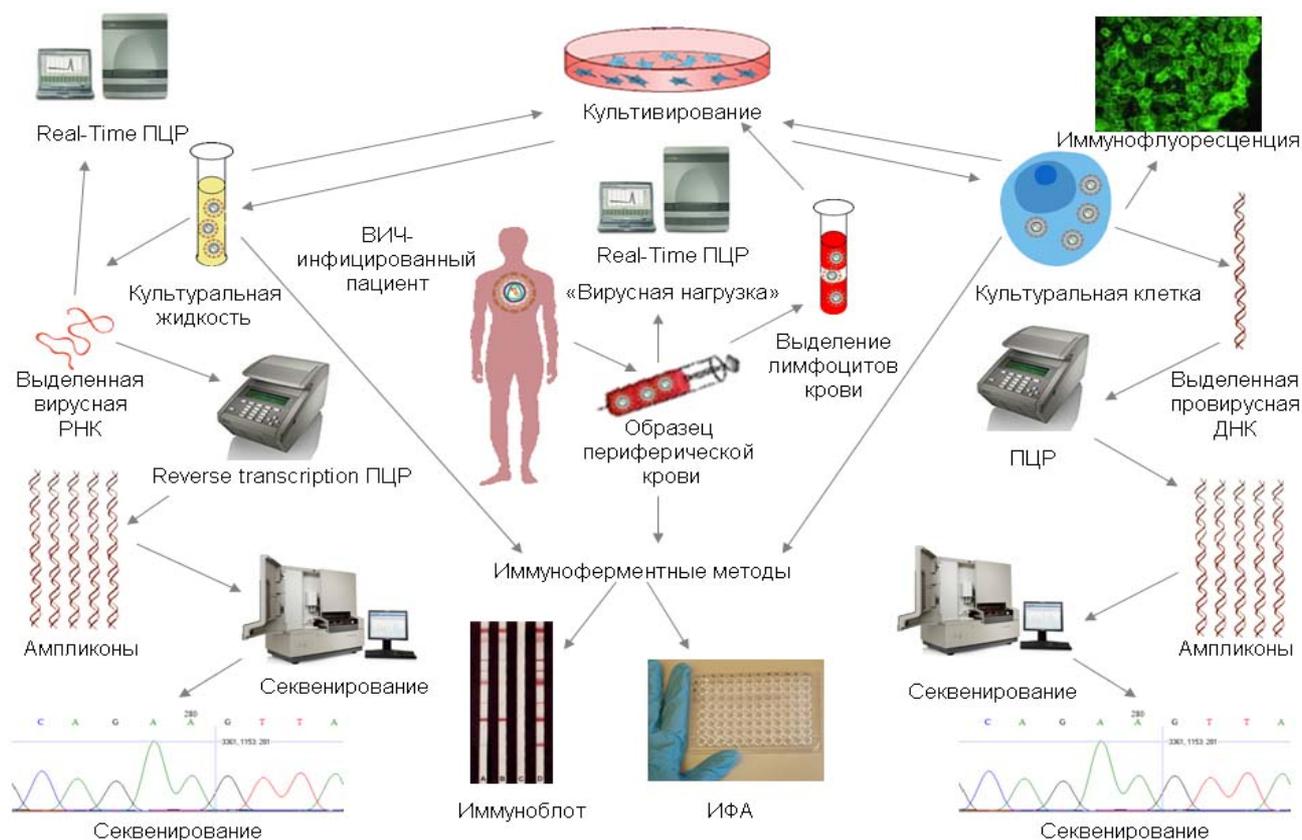


Рисунок 7. Алгоритм работы с ВИЧ в лабораторной практике.

Возможности выявления вирусных маркёров в плазме крови ВИЧ-инфицированных лиц с помощью разных методов, т.е. среднее число дней (в скобках от – до), которое должно пройти от момента инфицирования, чтобы получить положительный результат, приведены ниже:

Показатель	Время от момента инфицирования	Метод определения
Вирусная нагрузка	17 дней (13–28)	ОТ-ПЦР
Антиген р24	22 дня (18–34)	ИФА
Положительный результат ИФА	25 (22–37)	ИФА
Положительный или отрицательный результат иммуноблота	31 день (27–43)	Иммуноблот
Положительный результат иммуноблота, отрицательный результат теста на антиген р31	101 день (71–154)	Иммуноблот

Сроки обнаружения ВИЧ после инфицирования на основании классификации Fiebig и соавт. (AIDS 2003; 17:1871), приведенной по публикации Cohen и соавт. (JID 2010; 202 [Suppl 2]:S271) с изменениями.

Как следует из приведённых данных, используемые в практической медицине способы определения маркёров ВИЧ-инфекции на самых ранних этапах ВИЧ-инфекции основаны на иммунохимических методах. Этот ранний период, или период «иммунологического окна», наиболее важен для детекции ВИЧ-1 и наиболее перспективен для возможного купирования ВИЧ-инфекции, однако он может быть выявлен только методом РТ-ПЦР.

### **Новые биомаркёры для выявления факта инфицирования.**

Приведённые выше сроки острой инфекции, когда еще возможно купировать распространение ВИЧ-1 в организме, а также возможности лабораторного обнаружения маркёров ВИЧ-инфекции, мотивируют необходимость разработки новых методов выявления ВИЧ в пределах первых двух недель от инцидента инфицирования. Определение случаев недавнего инфицирования и дифференцирование этапов острого начала от хронического течения ВИЧ-инфекции необходимо и для оценки эффективности индивидуального лечения, во время группового испытания создаваемых лекарственных препаратов, при оценке эффективности новых стратегий борьбы с ВИЧ-инфекцией на популяционном уровне, для оценки времени, стоимости и эффективности специфических и неспецифических профилактических мероприятий. К таким методам в наиболее общем виде предъявляются следующие требования: высокая чувствительность и специфичность, экспрессность анализа, небольшое количество биопробы для анализа, максимально раннее определение инфицированности пациента (в пределах иммунологического окна или времени, прошедшего после инфицирования) на основании особенностей ранней реакции организма на эпизод инфицирования, биохимических показателей и, возможно, активации факторов врожденного иммунитета и других биомаркёров, определяемых использованием способов мультиплексного анализа одной пробы [63]. Особое внимание целесообразно обратить на генетические характеристики ВИЧ-1 в течение первых трех недель после проникновения в организм человека. В этом направлении большого внимания заслуживают работы д-ра А.П.Козлова [43].

#### *Потенциальные вирусные биомаркёры для ранней диагностики.*

а. Темпы накопления мутаций в наиболее консервативном гене ВИЧ-1 – полимеразы (pol) в популяции циркулирующего в организме вируса и характеристика квазивидового состава популяции ВИЧ-1 в индивидуальном случае (у отдельного пациента) могут оказаться полезными для выявления раннего и/или позднего инцидента ВИЧ-инфицирования (в сочетании с другими показателями клиники и эпиданамнеза). Было показано, что гетерогенность вирусной популяции существенно возрастает (за счет высокой частоты мутаций вирусного генома [40, 41] в зависимости от срока после инфицирования. Можно полагать, что с расширением доступности анализа отдельных проб путем пиросеквенирования такая задача окажется выполнимой.

б. Новый метод – high resolution melting (HRM) – позволяет определить уровень генетической дивергенции в определенных участках вирусного генома (gag, pol, env). Одновременное тестирование вирусного генома по трем участкам генома - “diversity signature” повышает вероятность установления примерного срока инфекции после заражения (чем выше показатели плавления - тем более ранний случай исследуется).

в. Модификации метода генных или белковых чипов (например, введение стрептавидин-конъюгированных золотых наночастиц, или European nanoparticles immunoassay – ENIA). В последнем случае за счет разных способов усиления сигнала была достигнута чувствительность 0,5 pg/ml белка p24 ВИЧ-1.

г. Комбинация разных методов, повышающих возможность выявления инфекции на более ранних сроках, в одном тесте [34].

### **Полиморфизм генов человека и ВИЧ-1.**

Исследования последних 10–15 лет показали, что заражение вирусом и патогенез ВИЧ-инфекции определяются в каждом случае индивидуальными характеристиками ВИЧ и особенностями генотипа хозяина. Это заключение основано на четырех группах фактов: 1) быстрое развитие высокой вирусемии и СПИД в течение 2–3 лет у некоторых пациентов; 2) резистентность отдельных лиц к заражению, несмотря на повторные риски инфицирования; 3) продолжительное (до 10 лет) сохранение у некоторых пациентов низкой вирусной нагрузки и высокого уровня CD4 Т-хелперов; 4) у элитных контроллеров (они встречаются редко – 1 : 300 – 1 : 400 человек) постоянно поддерживаются низкие уровни вируса в крови, менее 50 копий РНК/мл, и не развиваются симптомы ВИЧ-инфекции и СПИД [18]. Поэтому исследование факторов полиморфизма генов хозяина и резистентности организма к ВИЧ-инфекции в последние годы сформировалось как наиболее перспективное направление поиска новых анти-ВИЧ препаратов и вакцин.

Гены человека, влияющие на ВИЧ-инфекцию и СПИД можно разделить на три группы: а) гены врожденного и приобретенного иммунитета; б) факторы хозяина, необходимые для репликации вируса; в) противовирусные факторы хозяина. Приведем несколько примеров.

Семейство генов HLA-1 кодирует молекулы на поверхности клетки, которые дифференцированно представляют антигенные эпитопы вируса CD8<sup>+</sup> цитотоксическим лимфоцитам. Молекулы HLA-1, по-разному связывая эпитопы ВИЧ, влияют на эффективность иммунного ответа [21]. Гомозиготность HLA-1 по локусам 1, 2, 3 позитивно влияет на прогрессирование болезни, а индивидуальные особенности HLA-A, -B, -C сокращают время прогрессии болезни к СПИД. Наоборот, HLA-B57 и HLA-B27 связывают с задержкой развития болезни [18], а сходство HLA-B аллелей у матери и ребёнка или гомозиготность HLA-1 у матери увеличивают риск передачи ВИЧ ребёнку [51]. HLA-B5701 связывают с повышенной чувствительностью к абакавиру (нуклеозидному ингибитору обратной транскриптазы), поэтому перед назначением препарата необходимо проводить генетическое тестирование [2, 47].

Эффекты взаимодействия между элементами врожденного и приобретенного иммунитета определяются экспрессией и корреляцией факторов семейства генов HLA и генов KIR (killer immunoglobulin-like receptors), полиморфизм которых, в свою очередь, влияет на эффективность взаимодействия ВИЧ-1 с клетками и прогрессию ВИЧ-1-инфекции в организме. К таким эффекторам можно отнести интерферон-регулирующий фактор IRF-1, интерлейкин 10 (IL-10), интерферон-гамма и рецептор IL-8, APOBEC3B, TRIM5-alfa, CypA и другие [21].

Белки класса APOBEC3G, цитидин дезаминазы, относятся к внутриклеточным факторам резистентности к репродукции ВИЧ-1. Вначале они рассматривались как ключевые ингибиторы ретровирусов и вируса гепатита В [23]. Включаясь в вирион ВИЧ-1, они редактируют синтезируемую вирусную кДНК путем дезаминирования dC>dU и вызывают летальные гипермутации G>A в геноме ВИЧ. Точечные замены нуклеотидов (SNP) в интронной части гена влияют на прогрессию ВИЧ-инфекции. Их анти-ВИЧ активность различна, варьирует и чувствительность к деградации при взаимодействии с белком vif ВИЧ-1. Vif индуцирует убиквитинирование и деградацию APOBEC3G через клеточные белки CUL5. В этот процесс включены два домена vif: домен связывания с APOBEC3G и домен деградации APOBEC3G, который осуществляется по протеасом-зависимому пути. Последнее свойство, вероятно, требует более пристального изучения и может оказаться весьма полезным для его использования в будущем. Включение модифицированных по этим сайтам белков vif в разные композиции потенциальных вакцин представляется весьма интересным для исследования.

Семейство TRIM-белков (tripartite motif) кодируется более 70 генами, регулирующими сетевые эффекты в клетках и по-разному влияющих на репродукцию РНК- и ДНК-содержащих вирусов. TRIM5-alfa играет важнейшую роль в антиретровирусной защите у обезьян Rhesus (снижает уровни продукции вируса до 50 раз), однако TRIM5-alfa

человека проявляет невысокую активность [57]. Исследования разных представителей этого семейства и их SNP-вариантов *in vitro* и *in vivo* оценивается как перспективное и продолжается в разных лабораториях. Si- и sh-РНК, используемые для выключения транскрипции отдельных клеточных генов, в настоящее время широко используются для идентификации генов, регулирующих репликацию ВИЧ-1. Подробные сведения о факторах клеточного и вирусного тропизма можно найти в обзорах [1, 2, 3, 20, 47, 57] и др..

### **Высокоактивная антиретровирусная терапия (ВААРТ).**

В настоящее время для лечения ВИЧ-инфекции используется комбинация лекарственных препаратов, действующих на разные этапы репродукции ВИЧ (рис. 8):

1. Ингибиторы проникновения ВИЧ-1 в клетку (маравирок) – связываются с корцептором CCR5 на поверхности вириона и препятствует инфицированию клетки.

2. Ингибиторы слияния вириона с клеточной мембраной (энфувертид) – предотвращает проникновение вируса в клетку.

3. Ингибиторы обратной транскриптазы (ОТ) подавляют активность соответствующего фермента, предотвращая синтез кДНК.

3.а. Нуклеозидные ингибиторы ОТ: зидовудин, ламивудин, ставудин, абакавир, эмтрицитабин, залцитабин, дидиоксицитидин, дидиоксиинозин, тинофовир-дисоприксил-фумарат, диданозин включаясь в растущую цепь ДНК, терминируют её синтез.

3.б. Ненуклеозидные ингибиторы ОТ: этравирин, делавирдин, эфавиренц, невирапин блокируют способность ОТ связываться с нуклеозидами и таким образом подавляют её активность.

4. Ингибиторы интегразы (ралтегравир) предотвращают встраивание вирусной кДНК в ДНК клетки.

5. Ингибиторы вирусной протеазы (ритонавир, саквинавир, лопинавир, индинавир, ампренавир, фосапренавир, дарунавир, атазанавир, нелфинавир, типрановир) блокируют фермент, препятствуя таким образом разрезанию растущей полипептидной цепи и сборке вириона.

6. Ингибиторы созревания, угнетающие процессинг вирусных белков.

АРВ контролирует репродукцию вируса в организме человека. За период 2003-2010 гг. число людей, получающих АРВ терапию, выросло в 16 раз.

ВААРТ позволяет снизить уровень ВИЧ-1 в крови ниже 50 копий РНК/мл. Экспериментальные исследования показали, что *адресная доставка* уже существующих препаратов в клетки-мишени может уменьшить лечебную дозу используемого препарата в 8-10 раз. В свою очередь, следствием этого будет уменьшение токсичности препарата, улучшение переносимости, снижение скорости развития резистентных вариантов ВИЧ-1 и существенное понижение стоимости лечения [30].

Применение с 1996 г. ВААРТ в ряде случаев позволило перевести развитие болезни и случаи СПИДа в хронически протекающее заболевание и в значительной мере повлияло на общий уровень летальных исходов. Средняя продолжительность жизни у получающих ВААРТ терапию возросла с одного года до 10 лет (UN/WHO. Aids epidemic update. <http://unaidsorg/en> (01 December 2011)). Обеспечивая более благоприятное течение заболевания, ВААРТ улучшает физическое состояние ВИЧ-инфицированного человека, но не излечивает больного полностью. Несмотря на исчезновение вируса из кровяного русла, в разных тканях организма сохраняется латентный источник ВИЧ-1. При нарушении режима приема лекарств и недостаточной приверженности лечению возможна активация процесса. Прерывание лечения даже на две недели приводит к активации в организме латентно существующего ВИЧ-1 в разных типах покоящихся клеток [27, 30]. Поэтому требуется применение блокирующих ВИЧ-1 препаратов постоянно, в течение всей жизни.

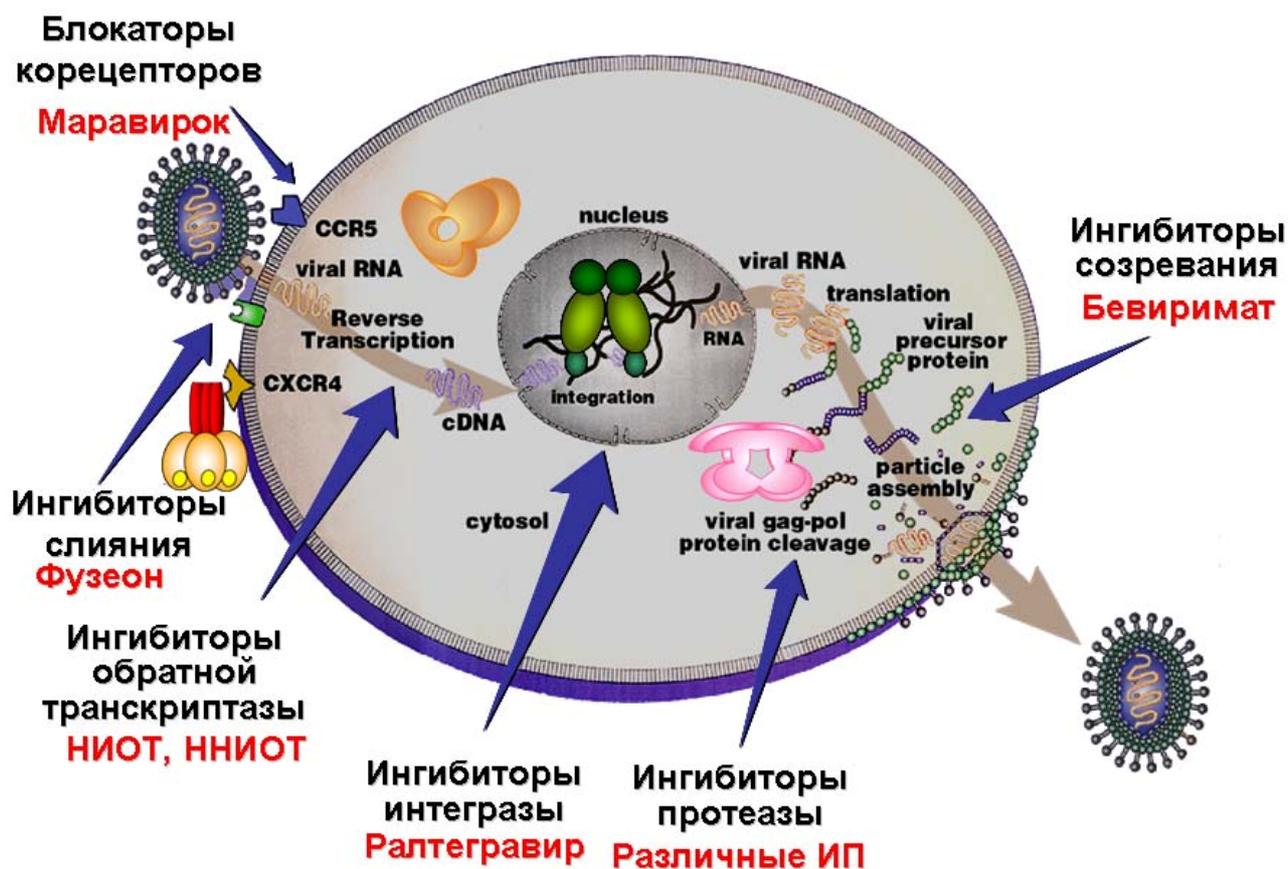


Рисунок 8. Влияние ингибиторов различных классов на этапы репродукции ВИЧ-1.

К недостаткам ВААРТ относятся следующие. У пациентов могут развиваться осложнения в виде кардиоваскулитов, нефропатии, быстрой эволюции вирусных гепатитов и даже раковых заболеваний. Большинство лекарственных препаратов плохо проникают через гематоэнцефалический барьер (в 8–10 раз хуже, чем в лимфоциты) [31]. Ингибирование обратной транскриптазы и протеазы ВИЧ-1 в хронически инфицированных макрофагах оказывается менее эффективным по той же причине [11]. Появляющиеся побочные осложнения иногда заставляют прекратить лечение [58]. Прекращение лечения и высокая мутационная активность вирусного генома приводят к возникновению лекарственно-резистентных вариантов вируса [36, 56]. Еще одной проблемой является стоимость лечения. Даже при использовании генериков, некоторые страны не имеют возможности проводить лечение для всех пациентов. Прогнозируется, что по мере появления новых препаратов и роста числа ВИЧ-инфицированных, затраты мирового сообщества на лечение ВИЧ-инфицированных с 2012 по 2031 г. могут возрасти до 400–727 млрд. долларов [36].

На конференции IAS в Риме в 2011 г. было сообщено о завершении испытаний двух препаратов: трувада (Truvada) и вирид (Viread) – (фирма Gilead Science, Inc). Truvada представляет собой комбинацию тенофовира и эмтрицитабина, Viread содержит только тенофовир. В тестировании обоих препаратов участвовали 4 758 пар (мужчин и женщин) из Кении и Уганды. В каждой паре один из партнеров еще до испытания был инфицирован ВИЧ-1. В результате ежедневного приема таблетки Truvada риск заражения ВИЧ-1 снизился на 73 %, а в случае Viread – на 62 %. При испытании на 1 200 парах здоровых пациентов риск заражения снижался на 62 %.

Непереносимость некоторых препаратов, развитие резистентных форм вируса и высокая стоимость лечения мотивируют задачу создания способов радикального удаления вируса из организма. Возможно ли это? Предполагается, что принципиально новые методы

лечения появятся, но не так скоро. В оптимальном случае стратегия элиминации вируса из клеток и тканей будет сочетаться с агрессивной ВААРТ [61, 65]. При отсутствии вакцин, такие исследования проводятся в двух направлениях: 1) создание препаратов пролонгированного действия и их адресной доставки в клетки и ткани; 2) создание новых принципов подавления размножения вируса и способов полной, «стерилизующей» элиминации ВИЧ-1 из организма на основе нанобиотехнологий. Рассмотрим некоторые современные разработки в этом направлении.

Для блокирования вируса, проникающего в организм, необходимо повысить эффективность подавления трех этапов репродукции вируса: 1) препятствовать его эффективному внедрению на уровне входных путей, еще до прямого контакта вируса с клеткой (здесь действуют ингибиторы проникновения и слияния); 2) блокировать этапы синтеза его компонентов и сборки полноценного вириона, в том числе в покоящихся клетках; 3) *ликвидировать латентный вирус в покоящихся клетках организма.*

Целевая доставка лекарственных препаратов через физиологические барьеры организма (кровь – ЦНС, кровь – цереброспинальная жидкость, кровь – тестикулы) и в покоящиеся клетки должна обеспечить предпочтительное создание терапевтической концентрации препаратов в клетках-мишенях и ограниченное - в не включенных в инфекционный процесс клетках и тканях. Так, например, в работе Nam et al [35] было показано, что PSC-Rantes, ингибитор хемокинового рецептора клетки CCR5, включенный в PLGA- наночастицу (поли-лактат-гликолевая кислота), в системе ex vivo через 4 ч проникает в эктоцервикальные клетки в 4.8 раза более эффективно, чем неинкапсулированный препарат. Также, Dembri et al. [29] использовали наночастицы (poly-iso-hexyl cyanoacrylate) с инкапсулированным зидовудином (НИОТ), которые проникали в лимфобластоидные клетки желудочно-кишечного тракта и пейеровы бляшки в 4 раза эффективнее, чем исходный препарат.

В качестве эффективных носителей используются неорганические и органические наночастицы. В первом случае это могут быть, например, наночастицы серебра, которые, взаимодействуя с белком gp120 ВИЧ-1, предотвращают связывание вириона с поверхностью чувствительной клетки. Во втором случае, это могут быть дендримеры (например, SPL7013, разрешен FDA USA, проходит 1-ую стадию клинических испытаний в качестве интравагинального микробицида), липосомы, частицы на основе жирных кислот (олеиновой, пальмитиновой) в комбинации с фосфолипидами, и даже на основе нуклеокапсидных белков вирусов. Особенно перспективны разработки средств доставки лекарственных препаратов в ЦНС, преодолевающих гематоэнцефалический барьер и проникающие в покоящиеся клетки (лимфоидные и стволовые). Эта область в настоящее время эффективно развивается [52] и сулит потенциальное решение проблем, связанных с побочными эффектами лекарственных анти-ВИЧ препаратов.

Известно, что ВИЧ-1 проникает в клетки, используя рецепторы CD4<sup>+</sup> и хемокиновые корецепторы CCR5 и CXCR8, а люди, гомозиготные по 32нт делеции в гене CCR5, резистентны к ВИЧ-инфекции [49, 62]. Недавно описан случай о, возможно, полном освобождении организма ВИЧ-1-инфицированного человека от вируса после трансплантации ему CCR5-32нт-дефицитных гематопозитических клеток [40]. У инфицированного ВИЧ-1 пациента, которому были пересажены донорские стволовые клетки с 32 н.о.-делецией в гене CCR5, даже после прекращения ВААРТ вирионная РНК в крови оставались ниже уровня 1 копия РНК/мл (наблюдение проводилось в течение шести лет, до настоящего времени). На 19-й Международной Конференции по ВИЧ/СПИД, которая состоялась в Вашингтоне 22-27 июля 2012 г., с докладом об истории своей борьбы с болезнью выступил тот самый «Берлинский пациент» – Тимоти Рей Броун [41, 64]. Успех данного подхода терапии можно было бы назвать случайностью и удачным стечением обстоятельств. Однако на той же Конференции были представлены результаты работы по оценке эффективности такого подхода еще на двух пациентах. В результате такой же трансплантации у них спустя уже 8 мес. не обнаруживалось следов вируса [39, 64].

Может ли пересадка стволовых клеток оказаться средством лечения ВИЧ-инфицированных пациентов и заменить терапевтическую вакцину? Остается не ясным, сохранялись ли у пациента стволовые клетки с CCR5-фенотипом и латентной ВИЧ-1-инфекцией или они вытеснялись (замещались) клетками с CCR5-32 н.о.-дел. фенотипом? Однако уже сегодня можно ожидать новые сенсации, связанные с использованием стволовых клеток [28]. Нет сомнений, что генотерапия в будущем окажется эффективным способом терапии ВИЧ-инфекции [26].

В настоящее время существуют две философии терапии ВИЧ-инфекции: раковая философия («функциональный подход»), основанная на подавлении и контроле ВИЧ-инфекции даже без АРТ (как лучший вариант) и инфекционная философия («стерилизация»), когда целью является полное искоренение инфицированных клеток и, как следствие, вируса в организме. И если первый подход уже активно применяется в терапии, то второй подход активно исследуется.

*Как удалить латентные вирусы из покоящихся клеток?* Основным недостатком ВААРТ («функционального подхода») терапии является неспособность воздействовать на вирус в латентном состоянии (в виде провирусной ДНК) в покоящихся клетках или в клетках ЦНС), защищенных физиологическим гематоэнцефалическим барьером. Периферические моноциты крови, дендритные клетки и макрофаги в лимфоузлах, гематопозитические стволовые клетки тоже могут быть инфицированы и поддерживать персистенцию вируса [11, 12, 14, 16, 22, 25, 30, 31, 42, 55]. Реактивация покоящихся клеток и «агрессивная» ВААРТ рассматриваются как одно из наиболее перспективных направлений для обеспечения «стерилизующего» эффекта лекарственной терапии.

Для элиминации латентно-инфицированных клеток, на которые плохо действуют применяемые сейчас средства терапии, существует два подхода. Первый, это очень раннее начало терапии, когда количество инфицированных клеток невелико, а вирусные резервуары еще не окончательно сформировались. Это позволяет эффективно сократить общее число латентно-инфицированных клеток (как уже существующих, так и появляющихся впоследствии). При этом, как доказывают ряд исследований, можно контролировать инфекцию при дальнейшей отмене терапии (таким образом, осуществив цели «функционального подхода») (рис. 9).



Рисунок 9. Схема существующих подходов к терапии ВИЧ-инфекции.

Ещё одним из направлений, как функционального подхода, так и философии стерилизации, является генная терапия – подход, при котором учитываются генетические особенности человека, ассоциированные со скоростью прогрессирования или тяжестью течения ВИЧ-инфекции.

В 2011 г. научному сообществу была представлена стратегия (основанная на успехе лечения «Берлинского пациента»), названная генной терапией Сангамо или стратегией SB-728 [54]. Суть данной стратегии:

1. Пациент проходит процедуру лейкофереза для удаления значительного количества белых кровяных клеток.
2. Моноциты и CD8<sup>+</sup>-клетки удаляются из фракции, в то время как оставшиеся CD4<sup>+</sup>-клетки проходят процедуру обогащения и активации.
3. Используя модель на основе аденовируса и специфических нуклеаз, в клетках происходит разрушение генов, ответственных за экспрессию CCR5.
4. Модифицированные таким образом клетки вводятся обратно пациенту [38].

Другим типичным применением философии стерилизации можно назвать использование специфических агентов, которые способны активировать инфекцию в покоящихся клетках, выводя её из латентной фазы. Происходит усиление вирусной репликации, а под действием дальнейшей «агрессивной» АРВ-терапии – гибель вируса и элиминация латентно инфицированных клеток. Для реализации последнего подхода существует ряд соединений: ингибиторы деацетилазы гистонов и ингибиторы метилирования, которые уже используются для терапии рака; цитокины (такие как IL-7 или IL-17); другие активирующие агенты, включая дисульфам, простратин и анти-PD-1. Прекрасно зарекомендовал себя препарат вориностат (vorinostat), относящийся к группе ингибиторов деацетилазы гистонов HDACi [66]. Ингибирование деацетилазы этим препаратом вызывает активацию «покоящихся» клеток, увеличивая экспрессию вирусного генома в них от 3 до 10 раз (рис. 10).

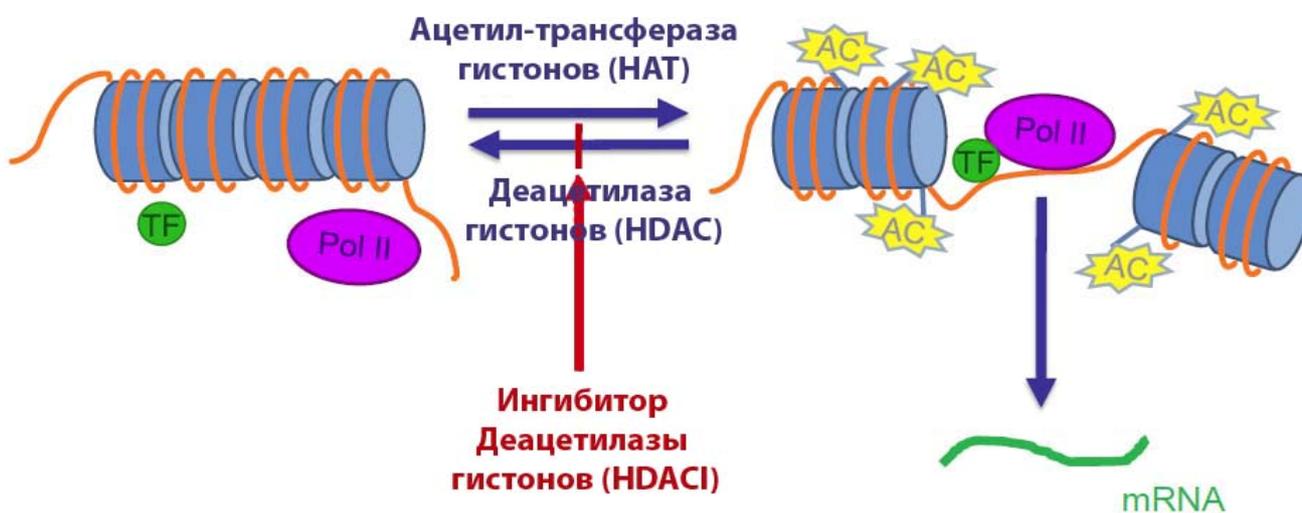


Рисунок 10. Схема действия ингибиторов деацетилазы гистонов на геном «покоящихся» клеток. Адаптировано из [54].

Полученные результаты вселяют надежду, что применение такого класса препаратов в терапии ВИЧ-инфекции может быть весьма эффективным, однако использование методов реактивации инфекции требует сложных, высокоточных и дорогих методов диагностики, пока недоступных для социальных групп с низким доходом. Тем не менее, в настоящее время продолжают клинические испытания вориностата и других препаратов на основе HDACi, IL-7 и дисульфирама.

### **Заключение.**

ВИЧ-инфекция и СПИД представляют собой в высшей степени сложную проблему, которая требует принятия беспрецедентных ответных мер мирового сообщества в целом и отдельных стран. В основе прогресса в борьбе с ВИЧ-инфекцией лежат фундаментальные исследования, эффективность которых была доказана неоднократно. Исследования терапевтических вакцин, создаваемых на основании разных методических подходов, способствовали выяснению особенностей патогенеза ВИЧ-инфекции [1, 2, 47], в том числе характерных и для других вирусных инфекций с хроническим течением (гепатит С, герпесвирусные инфекции, некоторые инфекции нервной системы). Трудности в разработке профилактических вакцин мотивировали создание принципиально новых стратегий борьбы с ВИЧ-инфекцией на стадии острой и хронической инфекции, включая применение иммуногенных препаратов в сочетании с ВААРТ и в качестве компонента микробицидов.

Опора мирового сообщества на науку начинает приносить практические результаты в сдерживании пандемии ВИЧ-инфекции. Разработка средств лекарственной терапии, эффективно блокирующих основные этапы репродукции вируса в клетке, применение АРВ-терапии и совершенствование «дозорного эпиднадзора» в последние годы существенно повлияли на темпы распространения ВИЧ-инфекции, в первую очередь, в экономически развитых странах мира, способствовали продлению средней продолжительности жизни (с 1-2 лет до 10 и более лет) и снижению числа ВИЧ-инфицированных детей в мире, обеспечили ВИЧ-инфицированным лицам возможность длительного сохранения работоспособности и социальной активности. Определение клеточных генов, влияющих на репродукцию ВИЧ, сопровождается созданием методов прогностической диагностики и генной терапии. Реализация стратегии «функциональной» и «стерилизующей» терапии будет означать новую победу в борьбе с ВИЧ-инфекцией.

Доктор Питер Пиот, заместитель Генерального секретаря Организации Объединенных Наций, исполнительный директор Объединенной программы ООН по ВИЧ/СПИДу (ЮНЭЙДС), отмечает: «...сегодня на каждые два человека, начинающих принимать антиретровирусные препараты, приходится пять новых ВИЧ-инфицированных. Если мы не предпримем неотложных шагов для усиления профилактики ВИЧ-инфекции, мы не сможем в течение длительного периода времени обеспечивать устойчивость результатов, завоеванных в последние несколько лет, а всеобщий доступ к лечению останется просто прекрасным устремлением... Осуществление мер по профилактике, лечению, уходу и поддержке ВИЧ-инфицированных... потребует новых механизмов и создания потенциала, который в настоящее время не существует. Это потребует также тщательного планирования, поскольку некоторые проблемы, которые будет таить в себе эпидемия через 10 или 20 лет, могут быть совершенно отличными от того, что мы имеем сегодня».

Есть ли основания надеяться на создание методов полного излечения человека от ВИЧ-инфекции? Ответ – «да», но это будет достигнуто не так скоро.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. *Бобкова М.Р.* Иммунитет и ВИЧ-инфекция. – М.: Олимпия Пресс, 2006. – 240 с.
2. *Бобкова М.Р.* Биология ВИЧ // В кн.: ВИЧ-медицина. Руководство для врачей / Ред.: Н.А. Беляков, А.Г. Рахманова. – СПб: Балтийский медицинский образовательный Центр, 2011. – С. 17–39.
3. *Бобкова М.Р.* Патопфизиология ВИЧ-инфекции // В кн.: ВИЧ-медицина. Руководство для врачей / Ред.: Н.А. Беляков, А.Г. Рахманова. – СПб: Балтийский медицинский образовательный Центр, 2011. – С. 40-84.
4. *Бобкова М.Р., Урываев Л.В.* ВИЧ-инфекция и СПИД // В кн.: Медицинская вирусология. Руководство / Ред.: академик РАМН Д.К. Львов – М.: МИА, 2008. – С. 450–458.
5. *Бобков А.Ф.* и др. (1998): Bobkov A., Kazennova E., Selimova L., et al. A sudden epidemic of HIV type 1 among injecting drug users in the former Soviet Union: Identification of subtype A, subtype B,

- and novel gagA/envB recombinants // *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* – 1998. – V. 14. – N 8. – P. 669-676.
6. *Львов Д.К., Колобухина Л.В.* Роль вирусов в инфекционной патологии человека // В кн.: *Медицинская вирусология: руководство* / Ред.: Д.К. Львов. – М.: МИА, 2008. – С. 29–42.
  7. *Покровский В.В., Ермак Т.Н., Беляева В.В., Юрин О.Г.* ВИЧ-инфекция. Клиника, диагностика, лечение. – М.: ГЭОТАР Медицина, 2000. – 496 с.
  8. *Покровский В.И.* ВИЧ-инфекция или СПИД ? // *Тер. Архив.* – 1989. – № 11. – С. 3–6.
  9. *Урываев Л.В., Бобкова М.Р.* Молекулярно-генетическая характеристика циркулирующих на территории России штаммов ВИЧ-1 // В кн.: *Изучение эволюции вирусов в рамках проблем биобезопасности и социально-значимых инфекций* / Ред.: Д.К. Львов, Л.В. Урываев. – М.: Научный Совет по вирусологии РАМН, 2011. – С. 50–76.
  10. *Хаитов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г.* Иммунология. – М.: Медицина, 2000. – 430 с.
  11. *Aguaro S., Bagnarelli P., Guenci T., et al.* Long-term survival and virus production human primary macrophages infected by HIV // *J. Med. Virol.* – 2002. – V. 68. – P. 479–488.
  12. *Alexaki A., Liu Y., Wigdahl B.* Cellular reservoirs of HIV-1 and their role in viral persistence // *Curr. HIV. Res.* – 2008. – V. 6. – P. 388–400.
  13. *Alexaki A., Wigdahl B.* HIV-1 infection of bone marrow hematopoietic progenitor cells and their role in trafficking and viral dissemination // *PLoS Pathog.* – 2008. – V. 4. – N 12. – P. e1000215.
  14. *Ancuta P., et al.* HIV reservoir size and persistence are driven by T cell survival and homeostatic proliferation // *Nat. Med.* – 2009. – V. 15. – P. 293–900.
  15. *Archin N.M., Liberty A.L., Kashuba A.D., et al.* Administration of vorinostat disrupts HIV-1 latency in patients on ART // In: *Materials of 19-th Conference on retroviruses and opportunistic infections (Seattle, USA; March, 5–8, 2012).* – Seattle, 2012. – Abs. 157LB.
  16. *Bailey J.R., Sedaghat A.R., Kieffer T., et al.* Residual HIV-1 viremia in some patients on ART is dominated by a small number of invariant clones rarely found in circulating CD4+T cells // *J. Virology.* – 2006. – V. 80. – P. 6441–6457.
  17. *Barre-Sinoussi F., Chermann J.C., Rey F., Monagnier L.* Isolation of T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for aquired immune deficiency syndrome (AIDS) // *Science.* – 1983. – V. 20. – P. 868–871.
  18. *O'Brian S.J., Nelson G.W.* Human genes that limit AIDS // *Nature Genetics.* – 2004. – V. 36. – P. 565–574.
  19. *Boniotto M., Crovella S., Pirulli D., et al.* Polymorphisms in the MBL 2 promoter correlated with risk of HIV vertical transmission and progression // *Genes Immunol.* – 2000. – V. 1. – N 5. – P. 346–348.
  20. *Borrow P., Shattock R., Vyakarnam J.* Innate immunity against HIV: a priority target for prevention research // *Retrovirology.* – 2010. – V. 7. – P. 84–99.
  21. *Carrington M., Martin M.P., van Bergen J.* KIR-HLA intercourse in HIV disease // *Trends Microbiol.* – 2008. – V. 16. – P. 620–627.
  22. *Carter C.C., Onafuwa-Nuga A., McNamara L.A., et al.* HIV-1 infects multipotent progenitor cells causing cell death and establishing latent cellular reservoirs // *Nature Medicine.* – 2010. – V. 16. – N 4. – P. 446–451.
  23. *Chiu Y.L., Greene W.C.* The APOBEC3 cytidine deaminases: an innate defensive network opposing exogenous retroviruses and endogenous retroelements // *Annu. Rev. Immunol.* – 2008. – V. 26. – P. 317–353.
  24. *Chomont N., El-Far M., Ancuta P., et al.* HIV reservoir size and persistence are driven by T cell survival and homeostatic proliferation // *Nat. Med.* – 2009. – V. 15. – P. 293–900.
  25. *Coleman C.M., Wu L.* HIV interactions with monocytes and dendritic cells: viral latency and reservoirs // *Retrovirology.* – 2009. – V. 6. – P. 51–56.
  26. *Colin L., Van Lint C.* Molecular control of HIV post integration latency: implications for the development of new therapeutic strategies // *Retrovirology.* – 2009. – V. 6. – P. 111–116.

27. Day J., Agosto L.M., Baytop M., et al., HIV integrates directly into naïve resting CD4+ T cells less efficient than in memory cells // *J. Virol.* – 2009. – V. 83. – P. 4528–4537.
28. Deeks S.G., McCune J.M. Can HIV be cured with stem cells therapy ? // *Nat. Biotechnol.* – 2010. – V. 28. – P. 807–810.
29. Dembri A., Montisci M.-J., Gantier J.S., et al. Targeting 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT)-loaded in poly-iso-hexyl cyanoacrylate nanoparticles to the gastro-intestinal mucosa and associated lymphoid tissues // *Pharm. Res.* – 2001. – V. 18. – N 4. – P. 467–473.
30. Le Douce V., Herbein G., Rohr O., et al. Molecular mechanisms of HIV-1 persistence in monocyte-macrophage lineage // *Retrovirology.* – 2010. – V. 7. – P. 32–37.
31. Le Douce V., Janossy A., Hallay H., et al. Achieving a cure for HIV infection // *J. Antimicrobial Chemother.* – 2012. – V. 67. – P. 1063–1074.
32. Freed E.O., Martin M.A. HIVs and their replication // In: *Fields Virology.* 5-th edition // Eds.: D.M. Knipe, P.M. Howley. – 2005. – V. 2. – P. 2187–2214.
33. Griffiths P.D. A perspective on antiviral resistance // *J. Clin. Virol.* – 2009. – V. 46. – N 1. – P. 3–8.
34. Hallett T.V. Estimating the HIV incidence rate: Recent and future developments // *Curr. Opin. HIV AIDS.* – 2011. – V. 6. – N 20. – P. 102–107.
35. Ham A.S., Cost M.R., Sassi A.B., et al. Targeted delivery of PSC-Rantes for HIV preventing using biodegradable nanoparticles // *Pharm. Res.* – 2009. – V. 26. – N 3. – P. 502–511.
36. Hecht R., Stover J., Bollinger L., et al. Financing of HIV/Aids programme scale-up in low-income and middle-income countries // *Lancet.* – 2010. – V. 376. – P. 1254–1260.
37. Heggelund L., Mollnes T.E., Ueland T., et al. Mannose-binding lectin in HIV-infection: relation to disease progression and HAART // *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* – 2003. – V. 32. – N 4. – P. 354–361.
38. Helfand M. Sangamo's SB-728 HIV gene therapy approach still looks sexy, but leaves more questions than answers. – The Health Central Network, Inc., 2011.
39. Henrich T., Sciaranghella G., Lee J.Z., et al. Long-term reduction in peripheral blood HIV-1 reservoirs following reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation in two HIV-positive individuals // In: *Materials of XIX international AIDS Conference (Washington DC, USA; July, 22–27, 2012).* – Washington DC, 2012. – Abs. THAA0101.
40. Hutter G., Ganepola S. Eradication of HIV-1 by transplantation of CCR5-deficient hematopoietic stem cells // *ScientificWorldJournal.* – 2011. – V. 11. – P. 1068–1076.
41. Hutter G., Nowak D., Mossner M., et al. Long-term control of HIV by CCR5 Delta32/Delta32 stem-cell transplantation // *N. Engl. J. Med.* – 2009. – V. 360. – P. 692–698.
42. Keele B.F., Tazi L., Gartner S., et al. Characterization of the follicular dendritic cell reservoirs of HIV-1 // *J. Virol.* – 2008. – V. 82. – P. 5548–5561.
43. Kozlov A.P., Shaboltas A.V., Toussova O.V., et al. HIV incidence and factors associated with HIV acquisition among injecting drugs users in St. Petersburg, Russia // *AIDS.* – 2006. – V. 20. – N 6. – P. 901–906.
44. Kwong P.D., Doule M.L., Casper D.I., et al. HIV-1 evades antibody-mediated neutralization through conformational masking of receptor-binding sites // *Nature.* – 2002. – V. 430. – P. 678–682.
45. Letvin N.L., Li J., Holloran M., et al. Prior infection with a nonpathogenic chimeric simian-HIV does not efficiently protect macaques against challenge with SIV // *J. Virol.* – 1995. – V. 69. – P. 4569–4571.
46. Letvin N.L., Montefiori D.C., Yasutomi J., et al. Potent, protective anti-HIV-1 immune responses generated by bimodal HIV envelope DNA plus protein vaccination // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* – 1997. – V. 4. – P. 9378–9383.
47. Levy J.A. HIV and pathogenesis of AIDS. 3-rd edition. Washington DC: ASM Press, 2007. – 588 p.
48. Lewin S.R. Finding a cure for HIV – can it ever be achieved ? // *Antivir. Ther.* – 2012. – V. 17. – Suppl. 1. – P. A5.

49. *Liu R., Paxton W.A., Choe S., et al.* Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1-infection // *Cell.* – 1996. – V. 86. – P. 367–377.
50. *Mascola J.R., Louder M.K., Surman S.R., et al.* HIV-1 neutralizing antibody serotyping using serum pools and infectivity reduction assay // *AIDS Res. Hum. Retrovir.* – 1996. – V. 12. – P. 1319–1328.
51. *Mackelprang R.D., John-Stewart G., Carrington M., et al.* Maternal HLA homozygosity and mother-child HLA concordance increase the risk of vertical transmission // *J. Infect. Dis.* – 2008. – V. 197. – P. 1156–1161.
52. *Mallipeddi R.A., Rohan L.C.* Progress in antiretroviral drug delivery using nanotechnology // *Intern. J. of Nanotech.* – 2010. – V. 5. – P. 533–547.
53. <http://global.health.north-western.edu/projects/Eramune.html>.
54. *Mitsuyasu R., Lalezari J., Deeks S., et al.* Adoptive transfer of zinc finger nuclease modified autologous CD4 T-cells to aviremic HIV-infected subjects with suboptimal CD4 counts // In: *Materials of 51-st Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC) (Chicago, USA; September, 17-20, 2011).* – Chicago, 2011. – Abs. H1-375.
55. *McNamara L.A., Collins K.L.* Hematopoietic stem precursor cells as HIV reservoirs // *Curr. Opin. HIV AIDS.* – 2011. – V. 6. – P. 43–48.
56. *Nijhuis M., van Maarseveen N.M., Douher C.A.* Antiviral resistance and impact on viral replication capacity: evolution of viruses under antiviral pressure occurs in three phases // *Handb. Exp. Pharmacol.* – 2009. – V. 189. – P. 299–321.
57. *Nisole S., Stoye J.P., Saib A.* TRIM family proteins: retroviral restriction and antiviral defence // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2005. – V. 3. – P. 799–807.
58. *Nolan D., Reiss P., Mallal S.* Adverse effects of antiretroviral therapy for HIV-infection: a review of selected topics // *Expert Opin. Drug. Saf.* – 2005. – V. 4. – P. 2001–2018.
59. *Oh D.Y., Bauman K., Hamouda O., et al.* A frequent functional toll-like receptor 7 polymorphism is associated with accelerated HIV-1 disease progression // *AIDS.* – 2009. – V. 23. – N 3. – P. 297–307.
60. *Palmer S., Maldarelli F., Wiegand A., et al.* Long-level viremia persists for at least 7 years in patients on suppressive antiretroviral therapy // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2008. – V. 105. –P. 3879–3984.
61. *Richman D.D., Margolis D.M., Delaney M., et al.* The challenge of finding a cure for HIV-infection // *Science.* – 2009. – V. 323. – P. 1304–1307.
62. *Samson M., Libert F., Doranz B.J., et al.* Resistance to HIV-1-infection in Caucasian individuals bearing mutant alleles of CCR5 chemokine receptor gene // *Nature.* – 1996. – V. 382. – P. 722–725.
63. *Sharma U.K., Schito M., Welte A., et al.* Workshop Summary: Novel Biomarkers for HIV Incidence Assay Development // *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* – 2012. – V. 28. – N 6. – P. 532–539.
64. *Timothy Ray Brown Foundation.* Timothy Ray Brown (The Berlin Patient) reacts to breaking news that two more men hopefully cured of AIDS. – Press release. – July 26, 2012.
65. *Trono D., Van Lint C., Rouzioux C., et al.* HIV persistence and prospect of long-term drug-free remissions for HIV-infected individuals // *Science.* – 2009. – V. 329. –P. 174–180.
66. *Wingthman F., et al.* The histone deacetylase inhibitors SAHA, MS-275, LBH589 and MCT3 are able to induce HIV-1 transcription with different potencies in chronically infected cell lines and latently infected primary CD4+ T-cells // <http://ihlpress.com>.
67. *Wei X.P., Ghosh S.K., Taylor M.E., et al.* Viral dynamics in HIV-1 infection // *Nature.* – 1995. – V. 373. – P. 117.
68. *Wingthman F., Solomon F., Khoury G., et al.* Both CD32(+) and CD31 naïve CD4(+) T cells are persistent HIV-1 infected reservoir in individuals receiving antiretroviral therapy // *J. Infect. Dis.* – 2010. – V. 202. – P. 1738–1748.