

Je možná farmakologická eradikace HIV?

Svatava Snopková¹, Petr Husa¹, Šárka Kozáková²

¹Klinika infekčních chorob FN Brno a LF MU Brno

²Ústavní lékárna FN Brno

Rychlý nástup celosvětové pandemie infekce HIV na přelomu 80. a 90. let minulého století způsobil, že se toto onemocnění stalo jednou z nejstudovanějších infekčních nemocí v historii medicíny. Tomu odpovídal také rychlý vývoj účinných antiretrovirotik. Antiretrovirová léčba je v klinické praxi od roku 1996. Léčba významně prodloužila a zkvalitnila život lidí žijících s HIV, zachránila a stále zachraňuje miliony infikovaných na celém světě. Po více než dvaceti letech je však evidentní, že léčba vedená v intencích současné farmakoterapie není zcela optimální a má své limity. Její potenciál je pouze supresivní, nikoli eradikační. Určitým specifickým rysem HIV je jeho schopnost integrovat svůj genom ve formě provirové DNA do genomu hostitelské buňky. Tyto buňky neindukují na svém povrchu expresi virových antigenů, imunitním systémem není virové agens rozpoznáno a antiretroviroviky je zcela nedoknutelné. Rezervoár latentně infikovaných buněk tvoří mnohočetné buněčné typy a tkáňové kompartmenty, které se stávají bariérou efektivní léčby a možné eradikace HIV.

Byly vymezeny dva základní směry vývoje terapeutické intervence – sterilizační a funkční. Ideálním cílem sterilizační léčby je dosažení eliminace aktivních i latentních virových agens z lidského organismu. Cílem funkční léčby je navození dlouhodobé remise jako důsledku silné hostitelovy obranné reakce, zprostředkované imunitními mechanismy, i když kompetentní virové agens nadále zůstává v organismu. V uvedeném textu jsou zmiňovány hlavní oblasti současného výzkumu nových léčiv a nové principy léčby: dlouhodobě působící pomalu uvolňovaná antiretrovirotika, imunoterapie, buněčná a genová terapie, strategie šokovat a zabít a strategie zablokovat a zamknout.

Klíčová slova: HIV, antiretrovirová léčba, eradikace HIV, imunoterapie, neutralizační protilátky.

Is pharmacological eradication of HIV possible?

The rapid onset of the global HIV pandemic at the turn of the 1980s and 1990s made the disease one of the most studied infectious diseases in the history of medicine. This was also reflected in the rapid development of effective antiretroviral drugs. Antiretroviral therapy has been in clinical practice since 1996. Treatment has significantly prolonged and improved the lives of people living with HIV, saving and still rescuing millions of people infected worldwide. However, after more than twenty years, it is evident that the treatment provided with the current pharmacotherapy is not entirely optimal and has its limits. Its potential is only suppressive, not eradicating. A specific feature of HIV is its ability to integrate its genome in the form of proviral DNA into the genome of the host cell. These cells do not induce the expression of viral antigens on their surface, the viral agent is not recognized by the immune system and is completely untouchable by antiretrovirals. The reservoir of latently infected cells consists of multiple cell types and tissue compartments, which become a barrier to effective treatment and possible eradication of HIV. Two basic directions of development of therapeutic intervention were defined - sterilization and functional. The ideal goal of sterilization treatment is to achieve the elimination of active and latent viral agents from the human body. The goal of functional treatment is to induce long-term remission as a result of a strong host defense response mediated by immune mechanisms, even though the competent viral agent remains in the body. The text deals with the main areas of current research into new drugs and new treatment principles: long-acting slow-release antiretrovirals, immunotherapy, cell and gene therapy, shock and kill strategies, and block and lock strategies.

Key words: HIV, antiretroviral therapy, HIV eradication, immunotherapy, neutralizing antibodies.

KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORKY: MUDr. Svata Snopková, Snopkova.svatava@fnbrno.cz

Klinika infekčních chorob FN Brno a LF MU Brno

Jihlavská 20, 625 00 Brno

Cit. zkr: Klin Farmakol Farm 2022;36(3):93-100

Článek přijat redakcí: 13. 5. 2022

Článek přijat k publikaci: 18. 7. 2022

Úvod

Rychlý nástup celosvětové pandemie infekce lidským virem imunodeficiency (human immunodeficiency virus, HIV) na přelomu 80. a 90. let minulého století způsobil, že se toto onemocnění stalo jednou z nejstudovanějších infekčních nemocí v historii medicíny (1, 2). Tomu odpovídal také rychlý vývoj účinných antiretrovirotik, který je s tempem vývoje většiny jiných léčiv nesrovnatelný. Kontinuální replikace HIV v lidském organismu vede přímo i nepřímo k postupnému úbytku CD4+ T lymfocytů a progredující imunitní dysfunkci s fatálním koncem (2). Antiretrovirovou léčbou (antiretroviral therapy, ART) je možné dosáhnout inhibice virové replikace, která je komerčně dostupnými testy metodou PCR v plazmě nedetekovatelná. Následná virová suprese poté zásadně mění trajektorii původně jednoznačně smrtelné nemoci a je transformována do typicky chronické choroby, vyvíjející se několik desítek let (3). Tato léčebná strategie významně prodloužila a zkvalitnila život lidí žijících s HIV (people living with HIV, PLWH), zachránila a stále zachraňuje miliony infikovaných na celém světě.

Efektivní ART je v klinické praxi zavedena od roku 1996. Standardní léčebné režimy jsou obvykle tvořeny kombinací tří léčiv s antiretrovirovou (antiretroviral, AR) aktivitou ze dvou skupin (4). Schváleno je v současné době **více než 30 antiretrovirotik** z osmi skupin s různými mechanismy účinku (Tab. 1). Jsou to nukleosidové/nukleotidové inhibitory reverzní transkriptázy (nucleoside/nucleotide reverse transcriptase inhibitor, NRTI), nenukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy (non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor, NNRTI), inhibitory virové integrázy (integrase strand transfer inhibitor,

InSTI), inhibitory virové proteázy (protease inhibitor, PI), inhibitor fúze, inhibitor koreceptoru CCR5, inhibitor fáze po připevnění CD4 a inhibitor připevnění gp120 (5). Poslední čtyři skupiny jsou někdy souhrnně označovány jako inhibitory vstupu (entry inhibitor, EI). V souvislosti s účinkem antiretrovirotik je třeba zmínit ještě dvě látky – ritonavir a cobicistat, jejichž výhradním úkolem je optimalizace farmakokinetického profilu některých PI a jednoho InSTI.

Soustavným zjednodušováním původně poměrně složitých AR režimů bylo dosaženo menšího počtu tablet a denních dávek, nižšího rizika krátkodobé i dlouhodobé toxicity léčiv a v konečné fázi také zlepšení adherence a compliance. Nejvyšším stupněm zjednodušení jsou fixní kombinace všech nezbytných složek daného léčebného režimu pro celou denní dávku, které se označují jako jedno-tabletové režimy (single-tablet regimen, STR) (5, 6). Těmito režimy je v posledních letech léčena naprostá většina pacientů a jak ukazuje graf, jsou dominujícími prostředky léčby také v našem centru.

Po více než dvaceti letech ART je evidentní, že léčba vedená v intencích současné farmakoterapie **není zcela optimální** a má své limity (7, 8). Cílovými vazebnými místy antiretrovirotik jsou výhradně aktivní virové enzymy v různých fázích replikace HIV a syntézy nových virionů nebo některé receptory na povrchu hostitelské buňky. Dalším úskalím jsou rezistentní mutace vznikající při virové replikaci. Kromě toho klasické molekuly léčiv mají omezený průnik do buněk a s jejich celoživotním užíváním je spojena dlouhodobá toxicita. Významný je také fakt, že nezbytnost každodenní celoživotní medikace a absolutní pacientova compliance vede ke stigmatizaci

PLWH, která je postupem času příčinou nižší adherence a podporuje rychlejší vznik rezistence k antiretrovirotikům (9, 10, 11). V neposlední řadě i přes efektivní virovou supresi v periferní krvi přetrvává u PLWH prozánětlivý/prokoagulační stav a dochází k předčasné akceleraci procesů stárnutí s klinickou manifestací různých neinfekčních komorbidit, které jsou u všeobecné populace typické pro vyšší věkové kategorie. Tato poměrně rozsáhlá skupina nemocí je u PLWH označována jako non-AIDS nemoci a zahrnuje kardiovaskulární choroby, endokrinní poruchy, osteoporózu, neurokognitivní poruchy, nádory, chronická onemocnění jater a ledvin a další (10, 12).

Rezervoár latentně infikovaných buněk

Určitým specifickým rysem HIV je jeho schopnost integrovat svůj genom ve formě provirové DNA do genomu hostitelské buňky. Tyto buňky neindukují na svém povrchu expresi virových antigenů, imunitním systémem není virové agens rozpoznáno a antiretrovirotiky je zcela nedoknutelné (1, 13–16). Klíčový **rezervoár pro genom HIV** je pool latentně infikovaných buněk, který vzniká již v prvních týdnech infekce. Tento pool je přibližně 60x větší, než se původně předpokládalo, a představuje asi 10^6 – 10^8 latentně infikovaných buněk, které podléhají klonální expanzi, a jejich počet se kontinuálně zvyšuje (13, 14). Jeho hlavní komponentou jsou **paměťové CD4+ lymfocyty s extrémně dlouhým poločasem** (10, 17), další subpopulace T lymfocytů (např. gamma/delta T buňky, T regulační buňky), dendritické buňky, makrofágy, buňky mikrogliie a další (8, 15, 18, 19), na jejichž povrchu jsou exprimovány různé receptory v závislosti na stadiu jejich maturace, aktivace a diferen-

Tab. 1. Přehled léčiv s antiretrovirovou aktivitou

Antiretrovirotika schválená pro léčbu HIV					
NRTI/NtRTI	NNRTI	PI	InSTI	EI	Farmakologické boostery
Abacavir (ABC) Didanosin (ddI)* Emtricitabin (FTC) Lamivudin (3TC) Stavudin (d4T)* Tenofovir disoproxil fumarát (TDF) Tenofovir alafenamid fumarát (TAF) Zidovudin (ZDV)*	Delavirdin* (DLV) Efavirenz (EFV) Etravirin (ETV) Nevirapin (NVP) Doravirin (DOR) Rilpivirin (RPV, RPV LA)	Atazanavir (ATV) Darunavir (DRV) Fosamprenavir (FPV) Indinavir (IDV)* Lopinavir (LPV) Nelfinavir (NFV)* Saquinavir (SQV)* Tipranavir (TPV)* Ritonavir (RTV)*	Elvitegravir (EVG) Dolutegravir (DTV) Raltegravir (RAL) Bictegravir (BIC) Cabotegravir (CAB LA)	Inhibitor fúze: Enfuvirtid (T20)* Inhibitor koreceptoru CCR5: Maraviroc (MVC) Inhibitor po připevnění: Ibalizumab (IBA LA) Inhibitor připevnění: Fostemsavir (FTR)	Ritonavir (RTV, r) Cobicistat (COBI, c)

LA – long acting, léčiva s dlouhodobým účinkem

*Léčiva, která již nejsou v ekonomicky vyspělých zemích běžně používána

INZERCE

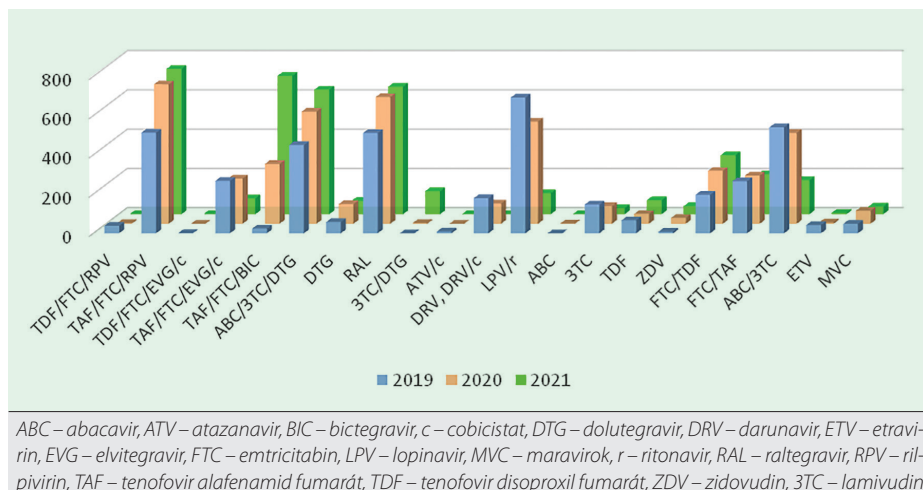
ciace (20, 21). Buněčný rezervoár má velmi rozsáhlou anatomickou lokaci. Kromě kompartmentu krevních elementů, který obsahuje pouze 2 % všech lymfocytů v lidském těle, které mohou být infikovány HIV (9), se nachází v lymfatických uzlinách, slezině, lymfoidní tkáni střeva (gut-associated lymphoid tissue, GALT), mozku, játrech, genitálním traktu, plicích, ledvinách a patrně i jiných orgánech (1, 8, 16, 20).

Velikost rezervoárů je determinována stadiem infekce HIV, délkou trvání infekce a dobou zahájení ART (13, 14). **Co nejdříve zahájená ART** je dosud jediným a nejlepším způsobem, jak minimalizovat rozsah latentně infikovaných buněk. Časná ART dokáže suprimovat HIV v periferní krvi na nedetekovatelnou úroveň, nedokáže však inhibovat virovou transkripční aktivitu v GALT, uzlinách a dalších orgánech. GALT reprezentuje 70 % hmotnosti imunitního systému a nejrozsáhlejší část lymfatické tkáně lidského těla. Je současně největším rezervoárem CD4+ lymfocytů, který je minimálně ovlivnitelný časnou ART a má klíčovou roli v perzistenci latentně infikovaných buněk. Podle modelů na nehumánních primátech je bez léčby antiretrovirotiky infikováno HIV 62,3 % jeho buněk. Na rozdíl od jiné lymfatické tkáně počet infikovaných buněk v GALT při ART neklesá a dosahuje až 98 %. Právě v GALT byla při plně supresivní ART, která je u PLWH prokazována v periferní krvi, opakovaně zjištěna signifikantně nižší koncentrace antiretrovirotik (8).

Jak ukázaly studie, intenzifikace léčby současnými AR režimy není efektivní (13, 14). **Konvenční chemické molekuly** léčiv mají obdobnou schopnost pouze limitované buněčné penetrace a různé tkáně vykazují různou míru penetrace léčiv (11). Rezervoár latentně infikovaných buněk tvoří mnohočetné buněčné typy a tkáňové kompartmenty, které jsou patrně zdrojem virové reaktivace a **rebound virémie**, nastávající během 2–3 týdnů při poklesu supresivního tlaku ART či přerušení léčby (2, 8, 15, 17). Tyto anatomické bariéry se stávají bariérou efektivní léčby a možné eradikace infekce HIV (9, 8, 16).

Replikace HIV a jeho buněčná latence je patofyziologicky velmi komplexní proces. Byly vymezeny dvě základní strategie budoucího vývoje **terapeutické intervence – sterili-**

Graf 1. Počet balení léčiv v letech 2019–2021 v HIV centru FN Brno



zační a funkční. Ideálním cílem sterilizační léčby je dosažení eliminace aktivních i latentních virových agens z lidského organismu. Cílem funkční léčby je navození dlouhodobé remise jako důsledku silné hostitelovy obranné reakce, zprostředkované imunitními mechanismy, i když kompetentní virové agens nadále zůstává v organismu. Aktuální těžiště výzkumu a vývoje budoucí léčby infekce HIV je zaměřeno na několik typů jak sterilizačních, tak funkčních terapeutických intervencí. Funkční léčba se v současné době jeví jako cíl realističtější a dříve dosažitelný (1, 17, 22).

Antiretrovirotika ve formě nanočástic

Nanočástice jsou pevné a koloidní částice o velikosti 10 nm až méně než 1 000 nm. Pro aplikaci v medicíně je doporučena velikost menší než 200 nm. Hlavní komponentou jsou prodrug léčiva na biokompatibilních nosičích v různých prostorových konformacích a formách (polymery, nanokapsuly, liposomy, dendrimery, micely), pro které je charakteristický velký povrch v poměru k objemu. Léčiva vykazují vyšší biologickou dostupnost s lepší distribucí a průnikem do variabilních tkáňových kompartmentů, konstantní uvolňování, delší biologický poločas a nižší toxicitu (23, 24). Tyto vlastnosti umožňují delší intervaly mezi jednotlivými terapeutickými dávkami, redukci terapeutické dávky a snížení rizika dlouhodobé toxicity. Následně se očekává vyšší adherence pacientů k léčbě a nižší vznik rezistence (24, 25). Nanočástice mají do určité míry odlišný metabolismus od

konvenčních molekul, proto je snížení rizika dlouhodobé toxicity zatím předpokladem spíše hypotetickým a jsou nezbytné další studie (16, 25).

Dlouhodobě působící pomalu uvolňovaná ART (long-acting slow effective release antiretroviral therapy, LASER ART) představuje nejmodernější formu modifikace léčiv (22, 26). Zatímco klasické molekuly antiretrovirotik proniknou do aktivovaných a částečně aktivovaných CD4+ lymfocytů s relativně krátkým poločasem maximálně v řádu několika málo týdnů, LASER ART proniká i do **CD4+ lymfocytů s dlouhým až extrémně dlouhým poločasem** několik desítek týdnů až let a má významně lepší penetraci do infikovaných buněk v heterogenních rezervoárech. Do buňky se dostane více než 80 % látky, která je postupně uvolňována a metabolizována na nativní aktivní látku (27).

Podle americké státní instituce Department of Health and Human Services (DHHS) je jako „**dlouhodobě působící**“ definováno jakékoli léčivo, které je aplikováno v intervalu jedenkrát týdně nebo delším (5). V této modifikaci jsou s různým efektem testovány nové generace většiny stávajících antiretrovirotik – lopinavir, ritonavir, saquinavir, tenofovir, stavudin, efavirenz, rilpivirin a další (26, 28) a jsou vyvíjena léčiva úplně nová v aplikační formě parenterální, orální, inhalační i topické (5, 23, 24).

První LASER ART v klinické praxi je dvojkombinace **InSTI cabotegaviru (CAB)** a **NNRTI rilpivirinu (RPV)**. CAB je strukturálně podobný dolutegraviru, má velmi silný supresivní efekt na HIV a vysokou genetickou bariéru ke vzniku rezistence. RPV je nejsil-

nější NNRTI, který je aktivní i proti rezistentním kmenům HIV k NNRTI starší generace (3). Duální kombinace CAB/RPV reprezentuje kompletní léčebný AR režim pro již léčené dospělé pacienty s infekcí HIV, kteří dosáhli trvalé virové suprese s počtem kopií RNA HIV-1 < 50/ml po dobu 3–6 měsíců (optimální trvání nebylo stanoveno), mají výbornou adherenci k léčbě, v minulosti u nich nikdy nedošlo k selhání léčby a nebyla zjištěna žádná rezistence ke CAB ani RPV. Kombinace není schválena pro ženy těhotné nebo ženy, které plánují těhotenství. Rovněž není schválena pro pacienty, kteří jsou současně infikováni virem hepatitidy B, protože ani jedno léčivo není současně aktivní proti HIV a viru hepatitidy B. Léčivé přípravky jsou aplikovány intramuskulárně do gluteálního svalu v intervalu 1× za 4 týdny (5, 28). Na základě výsledků studií ATLAS (Antiretroviral Therapy as Long-Acting Suppression) a FLAIR (First Long-Acting Injectable Regimen) byla kombinace CAB/RPV v injekční formě schválena v březnu 2020 v Kanadě, v prosinci téhož roku Evropskou agenturou pro léčivé přípravky (European Medicines Agency, EMA) a americkým Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (Food and Drug Administration, FDA) v lednu 2021.

V současné době probíhají další studie, kde je sledován efekt obou léčiv samostatně nebo v kombinaci, a to v indikaci léčebné i preventivní v rámci preexpoziciční profylaxe (pre-exposure prophylaxis, PrEP), například pro partnery pacientů s PLWH, kteří dosud nedosáhli AR léčbou nedetekovatelného počtu kopií RNA HIV-1/ml v plazmě. Dávka léčiva je ve studiích aplikována ve 4 a 8týdenních intervalech. Limitem širší dostupnosti první generace injekčně aplikované LASER ART je skladování a uchovávání při teplotě 2–8 stupňů Celsia. Stabilita léčiv při různých teplotě a vlhkosti je však mimo jiné také podmínkou úspěšnosti nových generací LASER ART (3).

Kromě nových generací starších antiretrovirotik jsou vyvíjena léčiva se zcela **novými mechanismy účinku**, jako například nukleosidové inhibitory translokace reverzní transkriptázy (nucleoside reverse transcriptase translocation inhibitor, NRTTI), inhibitory virové kapsidy HIV a inhibitory maturace HIV. Cílem léčiv nových skupin je paralelní inhibice více kroků replikačního cyklu HIV (16, 29).

První NRTTI **islatravir (ISL)** inhibuje několika mechanismy účinku virovou reverzní transkriptázu a současně ukončuje syntézu provirové DNA (28, 30, 29, 31). Má velmi dlouhý intracelulární poločas, 10× vyšší účinnost než ostatní antiretrovirotika, je aktivní proti některým rezistentním kmenům HIV a má potenciál uplatnění pro léčbu i prevenci HIV (3). Látka byla testována v perorální i intramuskulární formě a jako implantát v indikaci PrEP (28, 30, 29, 31). Klinické studie 1. fáze ukázaly extrémně dlouhý poločas při subkutánní aplikaci implantátu obsahujícího léčivo, který by mohl umožnit intervaly podání 1× ročně (3).

Na podzim minulého roku však bylo zjištěno, že u pacientů, účastnících se 3. fáze klinických studií, došlo k poklesu absolutního počtu CD4+ lymfocytů. Na základě toho 13. prosince 2021 FDA rozhodl o dočasném pozastavení všech probíhajících studií. V současné době je prováděna detailní analýza dostupných dat, hledání možných příčin tohoto zatím nevysvětlitelného jevu a v pravidelných intervalech jsou pacienti nadále klinicky i laboratorně sledováni. Pokud se potvrdí, že problémem byla vysoká dávka léčiva při dlouhých intervalech podání, budou s velkou pravděpodobností klinické studie znovu obnoveny s jiným dávkovacím schématem (32).

Dalším léčivým přípravkem s novým mechanismem účinku je **lenacapavir (LEN)**. Jde o první inhibitor virové kapsidy HIV. Struktura virové kapsidy je považována za velmi perspektivní cíl, protože její pozice je pro virovou replikaci naprosto zásadní (29, 33). LEN vykazuje vícečetnou aktivitu v časně i pozdní fázi replikačního cyklu HIV, která je ve srovnání s ostatními antiretrovirotiky unikátní. V pikomolárních koncentracích má více než desetinásobnou aktivitu než ostatní antiretrovirotika, vysokou genetickou bariéru ke vzniku rezistence a extrémně dlouhý poločas, který umožňuje aplikace až v šestiměsíčních intervalech (29, 33–35). Rezistentní mutace jsou odlišné od mutací, které ovlivňují citlivost k ostatním léčivům, což významně snižuje možnost zkřížené rezistence s dalšími antiretrovirotiky, která je častým problémem současných AR léčiv (28, 34). Nikdy nebyla zjištěna preexistující

rezistence u pacientů již léčených jakýmkoli AR režimy či vícečetnými režimy (33–35). Vysoká míra virologické suprese a výborná tolerance LEN v kombinaci s jinými antiretrovirotiky byla potvrzena 3. fázemi klinických studií jak u pacientů naivních, tak také u pacientů multirezistentních. LEN je testován v různých intervalech podání v aplikační formě orální, intramuskulární a subkutánní (33, 34). V prosinci 2021 bylo FDA oznámeno dočasné pozastavení všech studií s parenterálně aplikovaným LEN z důvodů možné inkompatibility jeho roztoku s lahvičkami vyrobenými z borosilikátového skla. Klinické studie s perorální formou LEN pokračují bez omezení nadále (36).

Imunoterapie – tzv. „funkční léčba“

Představa ideální léčebné strategie spočívá v navození trvalé virové suprese a dosažení úplné clearance HIV z lidského organismu (13). Předpokládá se, že cestou ke snížení počtu a eventuálně likvidaci poolu latentně infikovaných buněk, které jsou nejvýznamnější bariérou eradikace HIV, jsou imunitní mechanismy.

Strategie tzv. „**funkční léčby**“ je zaměřena na posílení vlastní imunity hostitele, která udrží virologickou remisi bez nutnosti supresivního tlaku ART (18). Významnější uplatnění specifické imunity komplikuje rozsáhlá diverzita a rychlý evoluční vývoj HIV (37). Přesto v průběhu řady let trvající infekce a virové diverzifikace u jednoho hostitele vznikají neutralizační protilátky (neutralizing antibodies, NABs) (18). První generace NABs s velmi omezeným funkčním potenciálem byly detekovány v 90. letech minulého století (38). V posledních letech bylo novými technikami a technologiemi izolováno několik stovek NABs, z nichž některé se ukázaly jako extrémně silné a výkonné. Tyto protilátky jsou asi 10–100× silnější a jsou schopny blokovat replikaci širokého spektra různých sérotypů HIV, což jim dalo označení **široce neutralizační protilátky** (broad neutralizing antibodies, bNABs) (2, 18, 38–40). Přesné imunogenní stimuly, které generují jejich tvorbu, jednoznačně patofyziologicky objasněny nejsou (38). Podle studií in vitro je pravděpodobné, že jejich tvorbu ovlivňují regu-

lační T lymfocyty, buňky s funkcí přirozených zabíječů (natural killer, NK) a zřejmě další buněčné subpopulace (12, 40). BNabs mají relativně málo nežádoucích účinků a technologicky je možné upravovat jejich molekuly za účelem modifikace různých vlastností (2, 38, 42). Žádná bNAb není účinná na absolutně všechny sérotypy HIV (17, 37). Určitým rizikem je relativně rychlý vznik **rezistence**. Pokud jsou bNabs aplikovány v monoterapii, dochází k silnému selektivnímu tlaku na minoritní preexistující virové varianty, které unikají neutralizaci a jsou zdrojem následného vzniku rezistentní virové populace (2, 15, 28, 37). Tomu lze do značné míry zabránit podáním směsi (koktejlu) alespoň dvou bNabs, které vykazují vysokou míru komplementárního spektra aktivity, což současně umožňuje podání nižší celkové dávky (17, 38, 40). Cílem takové intervence je depotní forma směsi bNabs, která by byla aplikována v subkutánní formě v intervalu 3–6 měsíců (28). Dlouhý poločas bNabs by také eliminoval každodenní nutnost užívání standardní ART a přispěl by ke snížení stigmatizace PLWH a zvýšení compliance (3, 31).

Stěžejním mechanismem účinku bNabs je vazba a inaktivace některých strategických struktur HIV (37, 38). Jedna z možností je přímá **vazba protilátky na vnímatelné epitopy** povrchového gp120 a transmembránového gp41 HIV. Tato vazba mění konformaci, inaktivuje vazebné místo na zevním obalu viru a zabrání vstupu viru do hostitelské buňky (2, 28, 29).

Rozpoznání specifických epitopů a jejich konformací neutralizačními bNabs je cesta pro vývoj **terapeutických vakcín**, které aktivují specifickou imunitní odpověď a indukují tvorbu protilátek podobných bNabs (29, 38, 40). Vakcinací by byla stimulována specifická odpověď protilátková a ideálně i buněčná, která stabilně udrží virovou supresi a nedetekovatelnou virémii v plazmě. Takto navozená silná virová suprese by eliminovala potřebu další suprese antiretrovirotiky a v současné době naplňuje představu vrcholu léčby HIV (8). Uvedený model je do určité míry podobný imunologické reakci u dlouhodobých **non-progresorů neboli elitních kontrolorů HIV**, kteří představují maximálně 5–10% PLWH (17, 38). Tito jedinci dlouhodobě spontánně

bez nutnosti ART udržují počet CD4+ lymfocytů vyšší než 500 bb/μl, nedetekovatelný nebo minimální počet kopií RNA HIV-1/ml plazmy a generují silné neutralizační protilátky proti řadě cirkulujících sérotypů HIV. U většiny z nich však časem dochází k oslabení a vyčerpání přirozené suprese a propuknutí virové replikace (18).

Další alternativou je vazba protilátky na extracelulární doménu CD4 na povrchu buňky po vazbě s virovým receptorem gp120 (inhibice fáze po připevnění CD4) a následná inhibice fúze HIV a hostitelské buňky. Takovou aktivitu vykazuje **ibalizumab (IBA)**, první rekombinantní humanizovaná monoklonální protilátka anti-CD4 v klinické praxi, která byla schválena FDA v r. 2018. IBA je aplikován v intravenózní infuzi v intervalu 1× za 2 týdny se základním AR režimem. Při monoterapii IBA, stejně jako u ostatních antiretrovirotik, dochází k rychlému rozvoji rezistence (5, 29, 38, 40). Indikace je omezena na pacienty s virologickým selháním na jiných AR režimech a multirezistencí v rámci tzv. záchranné terapie (5, 43). V současné době probíhá 8 oficiálních klinických studií, které sledují optimální dávku léčiva při různých intervalech podání, v aplikační formě intravenózní i subkutánní (31).

Další humanizovanou monoklonální protilátkou je **leronlimab**, který zatím není schválen FDA. Leronlimab se váže s vysokou afinitou k extracelulárnímu chemokinovému receptoru CCR5 na povrchu buňky a interferuje se závěrečnou fází vazby HIV. Leronlimab má synergický efekt s maravirokem a je účinný i na kmeny rezistentní k maraviroku (44). Momentálně jsou aktivní čtyři studie 2. a 3. fáze klinického hodnocení. Účinek leronlimabu je studován také u jiných klinických stavů, jako například u karcinomu prsu, metastatického kolorektálního karcinomu, nealkoholické steatohepatitidy, reakce štěpu proti hostiteli a koronavirového onemocnění 2019 (31, 44).

Různé technologické přístupy s využitím bNabs cílí na stimulaci komponent **vrozené i získané imunity**. Testována je například vazba protilátky na virem infikovanou buňku a následná aktivace komponent imunitního systému, které zahájí proces její buněčné apoptózy (29, 38, 40) nebo stimulaci efektivnější CD8+ T buněčné odpovědi (39).

Databáze klinických studií uvádí 20 aktivních studií bNabs v různých fázích klinického hodnocení, které sledují jejich vliv na virologické i imunologické parametry při infekci HIV (31).

Řada studií ukazuje, že bNabs jsou schopny neutralizovat virus, likvidovat infikované buňky, zmenšit velikost rezervoárů, inhibovat mezibuněčný přenos HIV, zvýšit clearance volného viru a snížit plazmatickou virémii (2, 40, 42). Časně podání bNabs, obdobně jako časná ART, snižuje tvorbu latentních rezervoárů a po aplikaci bNabs byl prokázán pokles množství provirové DNA v lymfatických uzlinách a GALT (8).

BNabs otevřely možnosti pro prevenci HIV, pasivní imunizaci (18), tzv. „léčbu bez antivirotik“ a eradikaci HIV (39). Protilátky a jejich deriváty proti různým strategickým strukturám HIV budou zřejmě **stěžejní komponentou budoucích léčebných režimů** nejspíše **v kombinaci s dalšími metodami**, jako je LASER ART a další (2, 8, 17, 38, 40). Klíčovým problémem je nadále velká genetická variabilita HIV a ne zcela jasné definované imunogenní faktory a reakce hostitele, nezbytné pro funkční uplatnění bNabs (29, 38, 40). Je třeba zmínit, že biologická léčba spočívající v dlouhodobém podávání protilátek hypoteticky snižuje riziko dlouhodobé toxicity klasické ART, na druhou stranu není zbavena rizik vyplývajících z jejich biologických vlastností, která dosud v mnoha případech nebyla přesně identifikována ani řešena (44).

Buněčná a genová terapie

Velmi realistickou vizí se stává buněčná a genová terapie dědičných i infekčních nemocí, včetně úplné clearance HIV z lidského organismu (1, 19). Možnost eliminace HIV ukázal případ „berlínského pacienta“ s infekcí HIV, který byl léčen pro akutní myeloidní leukemii. Tomuto pacientovi byly **transplantovány kmenové buňky** od dárce homozygotního pro mutaci chemokinového receptoru CCR5-Δ32 (8, 45, 46). CCR5 protein je lokalizován na zevním obalu CD4+ lymfocytů a v kooperaci s CD4 vazebným místem zahájí fúzi virového obalu M (neboli R5) tropního kmene HIV-1 s povrchovým obalem hostitelské buňky. Asi 1% světové populace je nositelem genetické mutace Δ32 genu, kódujícího CCR5 protein. Homozygoti jsou

přirozeně rezistentní vůči HIV, u heterozygotů je významně pomalejší progresse nemoci (47). Po transplantaci u příjemce homozygotních buněk došlo k vymizení HIV v periferní krvi a eliminaci potřeby další léčby antiretrovirov. Tento poznatek ukázal, že receptor CCR5 je perspektivním cílem pro editaci jeho genu a další výzkum možnosti využití v léčbě. Současně byl také učiněn jednoznačný závěr, že transplantace kostní dřeně jako metoda léčby HIV je nepřijatelná pro extrémní riziko komplikací, ekonomické náklady a vysoký počet pacientů (8, 18, 45, 47).

Genovou terapií s využitím tzv. „**molekulárních nůžek**“, jak je označována technika CRISPR (clustered regulatory interspaced short palindromic repeats)-Cas9, bylo poprvé dosaženo eliminace HIV na modelech humanizovaných myší (8, 16, 19, 22, 48). Nanočásticemi antiretrovirotik ve formě LASER ART bylo udržováno v infikovaných buňkách minimální množství integrované provirové DNA, což umožnilo následný robustní efekt její editace a štěpení pomocí systému CRISPR-Cas9. Účinkem Cas9 nukleázy, která je schopna v aktivní formě štěpit a modifikovat DNA, byla excidována provirová DNA a následně byl eliminován latentní provirus integrovaný v DNA hostitelské buňky (1, 26, 49, 50). Úspěšně již proběhly studie u primátů, v humánní medicíně je zatím uvedená metoda spojena s mnoha nevyřešenými etickými otázkami (50). V každém případě tyto experimenty ukazují, že kombinace LASER ART a genová modifikace a editace metodou CRISPR-Cas9 jsou do budoucna možnou cestou k dosažení eliminace HIV (26).

Šokovat a zabít (shock and kill)

V latentně infikovaných CD4+ T buňkách je virus „neviditelný“ pro imunitní systém i pro ART (17). Strategie šokovat a zabít je založena na koncepci farmakologické reaktivity provirové exprese a transkripce v latentně infikovaných buňkách, kdy **epigenetické modulatory** (latency reversing agent, LRA) přeprogramují provirovou DNA do stadia reaktivity (8, 10, 21, 51). Jakmile jsou tyto latentní buňky reaktivovány a exprimují virové antigeny, stávají se zranitelnými a následuje jejich zabití a eliminace cytopatickým efektem viru, imunitním systémem hostitele, terapeutický-

mi vakcínami, neutralizačními protilátkami nebo různými kombinovanými způsoby prostřednictvím specifických CD8+ T buněk nebo NK buněk (8, 17, 51).

Virovou replikaci je schopno reaktivovat několik skupin molekul (22, 51). Patří k nim například inhibitory deacetylázy histonů (histone deacetylase inhibitor, HDACi) – vorinostat, panobinostat, kyselina valproová, romidepsin, chidamid, givinostat, belinostat (1, 12, 17, 21), agonisté proteinkinázy C (protein kinase C, PKC) – bryostatin, prostatin a několik dalších skupin, které zasahují různé molekulární úrovně a buněčné mechanismy, udržující virovou latenci (20, 21). Dosavadní studie zatím ukazují na suboptimální efekt testovaných látek jak z hlediska reaktivity počtu latentně infikovaných buněk, tak i z hlediska penetrace LRA do různých anatomických rezervoárů (17). U heterogenních buněčných populací není jasná senzitivita a refrakternost k různým typům LRA. Náležitý efekt bude zřejmě vyžadovat synergické působení několika LRA, které ovlivní více úrovní molekulárních mechanismů a více typů buněčných populací (20, 21).

Reaktivity provirové transkripce však není vhodná pro všechny latentně infikované buňky. Například v buňkách mikroglie CNS může vést k aktivaci lokálního zánětu a progresi neurokognitivní dysfunkce vázané na HIV (19, 51). Dosavadní zkušenost z onkologické léčby ukazuje, že většina LRA má řadu závažných nežádoucích účinků, které zhoršují kvalitu života pacientů. Je proto pravděpodobné, že dlouhodobá léčba LRA u PLWH nebude možná (17).

Zablokovat a zamknout (block and lock)

Zřejmě realističtější možností je strategie zablokovat a zamknout. Její koncept spočívá v zablokování virové transkripce a trvalé inaktivace proviru v latentní fázi prostřednictvím epigenetické modifikace s následnou odolností vůči vlivu dalších aktivačních faktorů. Poté by již nebyla nutná ART. Stav je označován jako „**super latence**“ nebo „**hluboká latence**“, která by v ideálním případě byla celoživotní (19, 46).

Na procesu transkripce i aktivace kooperuje mnoho různých virových i buněčných proteinů, které jsou potenciálním cílem

preklinických studií a farmakologické intervence. Homeostáza paměťových T buněk, hlavní rezervoár latentní fáze HIV, je regulována cytokiny, které aktivují dráhu Janus kinázy, jež se podílí na perzistenci a reaktivaci HIV aktivací transkripčních faktorů. Dva inhibitory dráhy Janus kinázy **ruxolitinib** a **tofacitinib** jsou schváleny FDA pro léčbu hematologických (myelofibróza, polycythemia vera) a autoimunitních stavů (revmatoidní artritida, psoriatická artritida, ulcerózní kolitida) a mají silné protizánětlivé účinky. Bylo zjištěno, že jak ruxolitinib, tak tofacitinib jsou schopny blokovat reaktivaci HIV. Ruxolitinib vykazoval nejsilnější inhibiční účinek s více než 50% inhibicí reaktivity měřené podle koncentrace intracelulárního virového antigenu p24. Antiflogistický účinek obou inhibitorů snižoval aktivaci T buněk a přenos HIV na jiné buňky. Došlo také k poklesu exprese povrchového koreceptoru CCR5 a poklesu počtu CD4+ T buněk neseoucích provirus HIV. V současné době jsou protizánětlivé účinky ruxolitinibu při infekci HIV a inhibice rezervoárů HIV hodnoceny v klinické studii fáze 2 (46). Protizánětlivý efekt ruxolitinibu i tofacitinibu sleduje několik aktivních studií rovněž v indikaci léčby onemocnění covid-19 (31). V souvislosti s léčbou infekce HIV zatím vše nasvědčuje tomu, že strategie zablokovat a zamknout bude vyžadovat v různých fázích kooperaci a kombinaci více účinných látek (8).

Závěr

Velmi diskrétní intracelulární mechanismy replikace a latence HIV a složité imunologické reakce, které generuje virové agens, otvírají možnosti pro nejmodernější technologie vývoje léčiv. Po téměř čtyřiceti letech intenzivního výzkumu se zdá nepravděpodobné, že jedno léčivo nebo jeden mechanismus dokáže ovlivnit všechny fáze tohoto onemocnění (8). Bude třeba kombinací více intervenčních metod a strategií, vykazujících synergický efekt a respektujících mnohačetná specifika, která představuje dynamika latentních rezervoárů (29, 30). Nové efektivnější koncepce léčby, jejichž nejvyšším cílem je eliminace HIV z lidského organismu, musí být vysoce bezpečné a široce dostupné s nízkou ekonomickou náročností pro miliony

infikovaných. Vzhledem k tomu, že pacienti léčení ART mají v dnešní době téměř normální délku života a vedlejší účinky novějších kombinací antiretrovirotik jsou významně

menší, nové léčebné modality musí překonat relativně vysoký standard současné léčby infekce HIV. Dlouhodobě působící léčiva, nové technologie a nové léčebné strategie mohou

nalézt uplatnění nejen v léčbě infekce HIV, ale i v léčbě a eliminaci jiných onemocnění jako je tuberkulóza, malárie, hepatitida B, hepatitida C a další (28).

LITERATURA

- Peterson TA, MacLean AG. Current and future therapeutic strategies for lentiviral eradication from macrophage reservoirs. *Neuroimmune Pharmacol*. 2019;14(1):68-93.
- Margolis DM, Koup RA, Ferrari G. HIV antibodies for treatment of HIV infection. *Immunol Rev*. 2017;275(1):313-323.
- Thouelle P, Choong E, Cavasini M, et al. Long-acting antiretrovirals: a new era for the management and prevention of HIV infection. *J Antimicrob Chemother*. 2022;77(2):290-302.
- Snopková S, Rozsypal H, Aster V, et al. Doporučený postup péče o dospělé infikované HIV a postexpozici profylaxe infekce HIV. *Klin mikrobiol inf léc*. 2019;3:96-119.
- Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents Living with HIV [Internet]. Januar 20, 2022. Developed by the DHHS Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents – A Working Group of the Office of AIDS Research Advisory Council (OARAC). [cited 2022 Feb 10]; Available from: <https://clinicalinfo.hiv.gov/en/guidelines/adult-and-adolescent-arv/whats-new-guidelines>.
- Snopková S, Husa P. Moderní léčba HIV. *PROFI Medicína*. 2021;13-14:16-22.
- Henderson LJ, Reoma LB, Kovacs JA, et al. Advances toward curing HIV-1 infection in tissue reservoirs. *J Virol* [Internet]. 2020; 94:e00375-19 [cited 2022 Feb 15]. Available from: <https://doi.org/10.1128/JVI.00375-19>.
- Cao S, Woodrow KA. Nanotechnology approaches to eradicating HIV reservoirs. *Eur J Pharm Biopharm*. 2019;138:48-63.
- Lu DY, Wu HY, Yarla NS, et al. HAART in HIV/AIDS treatment: future trends. *Infect Disord Drug Targets*. 2018;18(1):15-22.
- Paiairdini M, Dhodapkar K, Harper J, et al. Editorial: HIV and cancer immunotherapy: similar challenges and converging approaches. *Front Immunol* [Internet]. 2020;11:519 [cited 2022 Feb 15]. Available from: DOI: 10.3389/fimmu.2020.00519.
- Kirtane AR, Langer R, Traverso G. Past, present, and future drug delivery systems for antiretrovirals. *J Pharm Sci*. 2016;105(12):3471-3482.
- Alrubayyi A, Ogbe A, Moreno Cubero E, et al. Harnessing natural killer cell innate and adaptive traits in HIV infection. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2020;10:395 [cited 2022 Feb 10]. Available from: DOI: 10.3389/fcimb.2020.00395.
- Liu R, Simonetti FR, Ho YC. The forces driving clonal expansion of the HIV-1 latent reservoir. *Virol J* [Internet]. 2020;17:4 [cited 2022 Feb 10]. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12985-019-1276-8>.
- Hong FF, Mellors JW. Changes in HIV reservoirs during long-term antiretroviral therapy. *Curr Opin HIV AIDS*. 2015;10(1):43-48.
- Margolis DM, Archin NM, Cohen MS, et al. Curing HIV: seeking to target and clear persistent infection. *Cell*. 2020;181(1):189-206.
- Trivedi J, Mahajan D, Jaffe RJ, et al. Recent advances in the development of integrase inhibitors for HIV treatment. *Curr HIV/AIDS Rep*. 2020;17(1):63-75.
- Perreau M, Banga R, Pantaleo G. Target immune interventions for an HIV-1 cure. *Trends Mol Med* [Internet]. 2017;23(10) [cited 2022 Feb 10]. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molmed.2017.08.006>.
- Vieillard V, Gharakhanian S, Lucar O, et al. Perspectives for immunotherapy: which applications might achieve an HIV functional cure? *Oncotarget*. 2016;7(25):38946-38958.
- Ahlenstiel CL, Symonds G, Kent SJ, et al. Block and lock HIV cure strategies to control the latent reservoir. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2020;10:424 [cited 2022 Feb 10]. Available from: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00424>.
- Ait-Ammar A, Kula A, Darcis G, et al. Current status of latency reversing agents facing the heterogeneity of HIV-1 cellular and tissue reservoirs. *Front Microbiol* [Internet]. 2020;10:3060 [cited 2022 Feb 10]. Available from: DOI: 10.3389/fmicb.2019.03060.
- Grau-Exposito J, Luque-Ballesteros L, Navarro J, et al. Latency reversal agents affect differently the latent reservoir present in distinct CD4+ T subpopulations. *PLoS Pathog* [Internet]. 2019;15(8): e1007991 [cited 2022 Feb 10]. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007991>.
- Bowen A, Sweeney EE, Fernandes R. Nanoparticle-based immunoengineered approaches for combating HIV. *Front Immunol* [Internet]. 2020;11:789 [cited 2022 Jan 12]. Available from: DOI: 10.3389/fimmu.2020.00789.
- Oti VB. Nanoparticles and its implications in HIV/AIDS therapy. *Curr Drug Discov Technol*. 2020;17(4):448-456.
- Patil V, Patel A. Biodegradable nanoparticles: a recent approach and applications. *Current Drug Targets*. 2020; 21(16):1722-1732.
- Kevadiya BD, Ottemann B, Mukadam IZ, et al. Rod-shape theranostic nanoparticles facilitate antiretroviral drug biodistribution and activity in human immunodeficiency virus susceptible cells and tissues. *Theranostics*. 2020;10(2):630-656.
- Edagwa B, McMillan JE, Sillman B, et al. Long-acting slow effective release antiretroviral therapy. *Expert Opin Drug Deliv*. 2017;14(11):1281-1291.
- Soriano V, Fernandez-Montero JV, Benitez-Gutierrez L, et al. Dual antiretroviral therapy for HIV infection. *Expert Opin Drug Saf*. 2017;16(8):923-932.
- Flexner C, Owen A, Siccardi M, et al. Long-acting drugs and formulations for the treatment and prevention of HIV infection. *Int J Antimicrob Agents* [Internet]. 2021;57(1):106220 [cited 2022 Jan 12]. Available from: DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2020.106220.
- Cambou MC, Landovitz RJ. Novel antiretroviral agents. *Curr HIV/AIDS Rep*. 2020;17:118-124.
- Schurmann D, Rudd DJ, Zhang S, et al. Lancet HIV [Internet]. 2020;7(3):e164-e172 [cited 2022 Jan 12]. Available from: DOI: 10.1016/S2352-3018(19)30372-8.
- Home – ClinicalTrials.gov [cited 2022 Jan 12]. The United States National Library of Medicine at the National Institutes of Health. Available from: www.clinicaltrials.gov.
- Highleyman L. Trials of long-acting islatravir for HIV treatment and prevention placed on hold. In: *Aidsmap.com* [Internet]. 2021 Dec 21. [cited 2022 Jan 12]. Available from: <https://www.aidsmap.com/news/dec-2021/trials-long-acting-islatravir-hiv-treatment-and-prevention-placed-on-hold>.
- Margot N, Ram R, Rhee M, et al. Absence of lenacapavir (GS-6207) phenotypic resistance in HIV Gag cleavage site mutants and in isolates with resistance to existing drug classes. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2021;65:e02057-20 [cited 2022 Jan 12]. Available from: <https://doi.org/10.1128/AAC.02057-20>.
- Dvory-Sobol H, Shaik N, Callebaut C, et al. Lenacapavir: a first-in-class HIV-1 capsid inhibitor. *Curr Opin HIV AIDS*. 2022;17(1):15-21.
- Menéndez-Arias L, Delgado R. Update and latest advances in antiretroviral therapy. *Trends Pharmacol Sci*. 2022;43(1):16-29.
- Terry M. FDA places hold on Gilead HIV trials over viral quality concerns. In: *BioSpace.com* [Internet]. 2021 Dec 22. [cited 2022 Jan 12]. Available from: <https://www.biospace.com/article/fda-places-clinical-hold-on-use-of-glass-vials-in-gilead-s-hiv-trials/>.
- Barin F, Stefic K. Anticorps neutralisants tri-spécifiques. Une solution pour l'immunoprophylaxie ou l'immunothérapie anti-VIH ? *Med Sci*. 2018;34:109-128.
- Wang Q, Zhang L. Broadly neutralizing antibodies and vaccine design against HIV-1 infection. *Front Med*. 2020;14(1):30-42.
- Haynes BF, Burtzon DR, Mascola JR. Multiple roles for HIV broadly neutralizing antibodies. *Sci Transl Med* [Internet]. 2019;11:516.eaaz2686 [cited 2022 Jan 12]. Available from: DOI: 10.1126/scitranslmed.aaz2686.
- Liu Y, Cao W, Sun M, et al. Broadly neutralizing antibodies for HIV-1: efficacies, challenges and opportunities. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):194-206.
- Bradley T, Peppas D, Pedroza-Pacheco I, et al. RAB11FIP5 expression and altered natural killer cell function are associated with induction of HIV broadly neutralizing antibody responses. *Cell*. 2018;175:387-399.
- Dufloo J, Planchais C, Frémont S, et al. Broadly neutralizing anti-HIV-1 antibodies tether viral particles at the surface of infected cells. *Nat Commun* [Internet]. 2022;13(1):630 [cited 2022 Jan 12]. Available from: DOI: 10.1038/s41467-022-28307-7.
- Beccari MV, Mogle BT, Sidman EF, et al. Ibalizumab, a novel monoclonal antibody for the management of multidrug-resistant HIV-1 infection. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2019; 63:e00110-19 [cited 2022 Jan 12]. Available from: <https://doi.org/10.1128/AAC.00110-19>.
- Wesley D, Kufel. Antibody-based strategies in HIV therapy. *Int J Antimicrob Agents* [Internet]. 2020;56(6):106186 [cited 2022 Jan 25]. Available from: DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2020.106186.
- Ahmad A, Rinaldo CR. A novel anti-HIV immunotherapy to cure HIV. *AIDS*. 2017;31(3):447-449.
- Vansant G, Bruggemans A, Janssens J, et al. Block-and-lock strategies to cure HIV infection. *Viruses* [Internet]. 2020;12(1):84 [cited 2022 Jan 25]. Available from: DOI: 10.3390/v12010084.
- Gupta RK, Abdul-Jawad S, McCoy LE, et al. HIV-1 remission following CCR5Δ32/Δ32 haematopoietic stem-cell transplantation. *Nature*. 2019;568:244-248.
- Dash PK, Kaminski R, Bella R, et al. Sequential LASER ART and CRISPR treatments eliminate HIV-1 in a subset of infected humanized mice. *Nat Commun* [Internet]. 2019;10(1):2753 [cited 2022 Jan 25]. Available from: DOI: 10.1038/s41467-019-10366-y.
- Ahlenstiel CL, Symonds G, Kent SJ, et al. Block and lock HIV cure strategies to control the latent reservoir. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2020;10:424 [cited 2022 Jan 25]. Available from: DOI: 10.3389/fcimb.2020.00424.
- Dash PK, Kaminski R, Bella R, et al. Sequential LASER ART and CRISPR treatments eliminate HIV-1 in a subset of infected humanized mice. *Nat Commun* [Internet]. 2019;10(1):2753 [cited 2022 Jan 25]. Available from: DOI: 10.1038/s41467-019-10366-y.
- Palermo E, Accchioni C, Di Carlo D, et al. Activation of latent HIV-1 T cell reservoir with a combination of innate immune and epigenetic regulators. *J Virol* [Internet]. 2019;93:e01194-19 [cited 2022 Jan 25]. Available from: DOI: 10.1128/JVI.01194-19.