

НАУЧНИ ОБЗОРИ SCIENTIFIC REVIEWS

ВАКСИНИ СРЕЩУ ЧОВЕШКИЯ ИМУНОДЕФИЦИТЕН ВИРУС – НАСТОЯЩЕ ПЕРСПЕКТИВИ

В. Дойчева и Й. Митова-Минева

Катедра „Епидемиология“, МУ – София

VACCINES AGAINST HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS – PRESENT AND PERSPECTIVES

V. Doycheva and Y. Mitova-Mineva

Department of Epidemiology, Medical University – Sofia

Резюме. Разработването на ваксина срещу HIV-1 представлява огромно предизвикателство. Една ефикасна профилактична ваксина трябва да може да създаде дълготраен имунитет, който да предпазва от хронифициране на инфекцията с HIV след възможно заразяване.

Ключови думи: човешки имунодефицитен вирус, СПИН, преекспозиционна имунопрофилактика, терапевтични ваксини

Адрес за кореспонденция: Доц. д-р В. Дойчева, дм, Катедра по епидемиология, Медицински университет, СБАЛАГ "Майчин дом", ул. "Здраве" № 2, 1431 София, e-mail: v.doycheva@abv.bg

Summary. The development of an HIV-1 vaccine is a formidable challenge. An effective HIV vaccine should be able to induce durable immunity and prevent the acquisition of infection and/or reduce virus replication in infected persons so as to slow disease evolution and reduce viral transmission.

Key words: Human Immunodeficiency Virus, AIDS, preexposure immunoprophylaxis, therapeutic vaccines

Address for correspondence: Assoc. Prof. Viktoriya Doycheva, PhD, Department of Epidemiology, Medical University, SBALAG "Maychin dom", room 667, 2 Zdrave St., Bg – 1431 Sofia, tel: 359 2 952 38 44, e-mail: v.doycheva@abv.bg

УВОД

Макар че инфекцията най-вероятно е съществувала в Африка от десетилетия, едва от лятото на 1981 г. синдромът на придобитата имунна недостатъчност (СПИН) избухва като епидемия от пневмоцистозна пневмония (*Pneumocystis carini*) сред хомосексуалисти в САЩ [34, 54]. Съществуват доказателства, че СПИН първоначално се разпространява от Централна Африка към Хаити и след това към САЩ, откъдето съответно се разпространява в почти всички страни по света [57]. Заболяването

се причинява от вируса на човешката имунна недостатъчност (HIV) – лентивирус, който се предава при полов контакт, но също и чрез инжектиране на зарамена кръв или кръвни продукти, както и вертикално – от майка на дете. Характеризира се с прогресивно намаляване на CD4+T (Т-хелперните клетки), които са предпочитаният обект на атаките на вируса. В резултат, след период на дълготрайна компенсация от страна на имунната системът, при нелекувана инфекция се развива синдромът на имунната недостатъчност (СПИН). СПИН създава почва за развитието на опортюнистични инфекции

като: белодробна туберкулоза (най-често срещащото усложнение), *P. carini* (*Pneumocystis jiruveci*) пневмоцистна пневмония, бактериални инфекции (*Mycobacterium avium-intracellulare*), токсоплазмоза, кандидоза (*Candidiasis*), криптоспоридоза и най-разнообразни вирусни инфекции – цитомегаловирусна (CMV), обикновен херпес, някои видове рак, като сарком на Капоши и лимфоми (неходжкинов В-клетъчен лимфом), както и на редица коинфекции – грип, сифилис, хепатит В, хепатит С и др.

При лица с рисков поведение може да бъде намалена опасността от инфекция с вируса HIV-1 чрез приучване към собствена оценка на сексуалното поведение, практикуване на безопасен секс, използване на презервативи при полов контакт, интензивно лечение на предаваните по полов път инфекции, както и обрязване при мъжете [4, 75, 76]. Пропагандирането и въвеждането на обществено значими действия като контрол на дарената кръв, организирането на анти-СПИН кампании, доброволното, анонимно и конфиденциално тестване за HIV в специално организирани кабинети, осъществяването на пред- и следтестово консултиране водят до повишаване на знанията и интереса на младите хора към HIV инфекцията, а оттам и към съществуващите възможности за предпазване от нея и останалите инфекции, предавани по полов път.

Не бива да се пренебрегват и микробицидите – установено е, че използването на вагинален гел, съдържащ Tenofovir, преди и след полов акт намалява с 39% вероятността от заразяване с HIV-1 сред сексуално активните жени в Южна Африка за период от 2,5 години. Тази цифра може да достигне дори 54% при жените, съблюдаващи инструкциите за прилагане на този микробицид [1]. Важен начин за предотвратяване на хронифицирането на HIV инфекцията (а следователно и на бъдещо развитие на СПИН) е незабавната антиретровирусна терапия (ART) още в първите 72 ч след заразяването. Антивирусното лечение при възрастни, носители на HIV, понижава с 92% риска от заразяване на здравите им партньори [15, 20]. Също така, една ежедневна приемана орално доза от лекарството Truvada, представляващо комбинация от Tenofovir и Emtricitabine, редуцира риска от инфектиране с 44% при мъже, правещи секс с мъже (MSM), според данни от националния институт по алергология и инфекциозни заболявания (NIAID), който е един от спонсорите на проучването iPrEx [35]. Предаването на HIV-1 от майка на дете може също да бъде успешно предотвратено посредством лечение на заразената майка с антиретровирусни медикаменти [14, 69, 71, 74]. Макар че в действителност все още не е постигнато мащабно прилагане на тези

превантивни мерки, те биха могли драстично да намалят разпространението на вируса, а оттам – и размера на епидемията, както вече е направено в някои страни, като Уганда [2]. Създаването на ефикасна ваксина, която би предпазвала от инфекция с HIV и/или развиване на СПИН е задача от първостепенно значение и остава сред приоритетите на общественото здравеопазване.

Разработването на ефикасна ваксина срещу HIV се натъква на трудности поради самия характер (свойства) на вируса. Такива са:

1. Липсата на информация за спонтанно възстановяване при заразяване по естествен път.
2. Антигенно разнообразие и изменчивост на вируса.
3. Предаване на инфекцията през лигавиците.
4. Предаване на вируса чрез телесни течности и заразени клетки.
5. Интегриране на вирусния геном в хромозомите на заразения.
6. Запазване на вируса в латентно състояние при Т-клетки в покой.
7. Бърза поява на вирусни мутанти спонтанно (без терапия) и в резултат на терапията (индивидуална резистентност).
8. Намалена антигенна презентация върху МНС клас 1 на CD8 клетките.
9. Липса на неутрализираща активност спрямо циркулиращите вирусни щамове.

Антивирусните имунни механизми, които се задействат вследствие на инфектирането с HIV, независимо дали те представляват един естествен отговор на имунната система, имунен отговор от страна на клетката, или по-късно, изработване на специфични антитела срещу вируса, не могат да се справят с унищожаването му. Една от причините е, че HIV вирусът се интегрира като провирус в хромозомите на Т-клетките, където може да просъществува в латентно състояние и формира т.нар. латентни резервоари [24]. Друга причина е високата скорост на репликация на вируса, която в комбинация с високата склонност към мутиране и рекомбиниране бързо довежда до появяването на мутанти (escape мутанти), които така изменят повърхностните си антигени (бягащи мишени), че избягват цитотоксичните Т-лимфоцити. Същевременно, HIV инфекцията е съпроводена с намалена антигенна презентация на МНС клас 1 на повърхността на инфектираната клетка, което позволява отново да се избегнат антивирусните цитотоксични Т-лимфоцити (CTL) [16]. Предполага се, че бързата репликация на вируса по време на първичното инфектиране с HIV, придружено с продължително и бързо изтощаване и постепенно увреждане на

клетъчния имунитет, води в крайна сметка до развиването на СПИН [3, 46, 73].

Създаването на имунитет при гореспоменатите обстоятелства, чрез прилагането на ваксина, все още е доста обезсърчаващо предизвикателство. От 1987 г. насам са били разработени повече от 150 кандидата за HIV-1 ваксини или аналогични такива срещу вируса на маймунската имунна недостатъчност (SIV), които предизвикаха различни степени на имуноен отговор (създаване на имунитет) при модели на нечовекоподобните примати (NHP) [29, 30, 56, 61, 77], много от които бяха използвани при клинични изпитвания на хора [28, 53, 55, 63]. Но само с изключение на изпитването на RV-144 фаза 3, представляващо рекомбинант на сапагурох (ALVAC) – първичен вектор и рекомбинант на обвивката на HIV-1 gp 120 субединичен протеин с алуминиев хидроксид, бе постигната ниска ефикасност (31%) на създаване на имунитет срещу заразяване с HIV [59]. Нито една от изпитваните досега ваксини не е била ефикасна както срещу инфектиране с HIV-1, така и при осъществяване на контрол върху репликацията на вируса и забавяне на настъпването на разгърнат СПИН.

КАНДИДАТИ ЗА ВАКСИНИ СРЕЩУ HIV – ПРЕКЛИНИЧНА РАЗРАБОТКА

Една ефикасна профилактична ваксина трябва да може да създаде дълготраен имунитет, който да предпазва от хронифициране на инфекцията с HIV след възможно заразяване [61]. При терапевтична ваксина, последната трябва да инхибира максимално вирусната репликация, като по този начин да забавя прогресирането на инфекцията към СПИН, както и да намалява до минимум вероятността от трансмисия на вируса и заразяване на нови лица. Първото изпитване на фаза 1 на HIV ваксина е извършено в САЩ през 1987 г., като е използвана субединична ваксина, съдържаща gp 160. Оттогава са били изпитани повече от 40 различни ваксини в над 80 клинични изпитания на фаза 1/2, в които са участвали повече от 10 000 доброволци с добро клинично здраве [53, 63]. При разработването и изпитването върху хора на ваксини за защита срещу HIV-1 усилията са съсредоточени върху индуциране на неутрализиращи антитела, както и на клетъчни имунни отговори [59]. Последните проучвания показват, че мукозният имунитет – високоспецифичните полифункционални Т-клетки и неутрализиращите антитела са потенциално важни фактори при изграждането на предпазващ имунитет срещу HIV-1. Специално се подчертава необходимостта от създаването на ваксини, които да

могат да предизвикват по-силни имунни отговори в сравнение с тези, предизвикани при заразяване по естествен път, тъй като при последните формираният защитен имунитет е незадоволителен [55, 77]. Тъй като класическите стратегии за създаване на ваксини на база атенюиран жив вирус или цял инактивиран вирус се сблъскват с неуспех, усилията за създаване на ваксини срещу HIV се насочват към по-нови методи. В настоящия раздел ще разгледаме постиженията в разработването на ваксина при животински модели, като клиничните изпитания са описани по-нататък.

По-голямата част от работата по разработването и оценяването на HIV ваксината е извършена от изследователски агенции, работещи в обществен сектор – като Националните здравни институции, Центровете за контрол и превенция на заболяванията (CDC), Военния научноизследователски институт Walter Reed в САЩ, френската Agence Nationale de Recherches sur le SIDA, институт Karolinska в Швеция, агенциите за международно развитие (като USAID, UK-DFID и спонсори от Европа в тази област), както и неправителствени организации – напр. Международната инициатива за ваксина срещу СПИН (IAVI) Ню Йорк, Фондацията Bill and Melinda Gates, Сиатъл, Вашингтон), заедно с инициативите на Световната здравна организация, UNAIDS и Европейския съюз. Мрежата за изпитване на ваксини срещу HIV, създадена от NIAID през 2000 г. с 25 клинични центъра, намиращи се на 4 континента, е главният източник на средствата, необходими за клиничните изпитания. Изследователската програма за HIV на военните в САЩ за Африка и Тайланд и на IAVI в Африка и Индия работят в тясно сътрудничество. В Европейския съюз е създадено сдружение на европейските и развиващите се страни за клинични изпитвания с цел подпомагане на развиващите се страни в създаването на база за извършване на изпитвания на нови медикаменти, микробициди и ваксини. Голяма е помощта от страна на производителите на ваксини при разработването и изпитването на кандидати за ваксини, включващи фаза 2b/3 на клиничните изпитвания.

Вземайки предвид огромния мащаб на научното предизвикателство, водещи изследователи и фондации, работещи в тази област, създават през 2003 г. *Глобалното сдружение за създаване на ваксина срещу HIV*, един съюз от независими организации, работещи в тясно сътрудничество с цел ускоряване на работата по разработването на HIV ваксина. През 2005 г. е изготвен проектоплан за научна дейност, като същият е допълнен с последни данни през 2010 г. Целта на проекта е да се ускори работата по клиничните изпитвания на обещаващи

кандидати за ваксини, да се запълнят празнотите между фундаменталните и клиничните изследвания и да се съдейства при обмена на реагенти и информация, да се подпомага сътрудничеството в тази сфера в световен мащаб и да се поощряват млади учени и лекари специалисти, работещи по създаването на HIV ваксини.

ЖИВИ АТЕНЮИРАНИ ВАКСИНИ

Атенюирани мутанти на SIV (с премахнат *nef*) са послужили като жива профилактична ваксина за предпазване от SIV при резус макаци. Тези опити са послужили като модел при разработването на жива атенюирана ваксина и срещу HIV [17, 80]. Като имуноген е използван молекулярен клонинг на SIV_{mac}, атенюиран чрез премахване на 12 двойки нуклеотидни бази на *nef* гена, С8, при което е била осигурена пълна защита срещу инфекциране с пълноценен патогенен молекулярен клонинг J5 [67]. Премахването само на *nef* или в комбинация с *vif* в контролния център на генната експресия не е показало драстично влияние върху повишаване на вирусната репликация в клетъчна култура.

В действителност е констатирано, че SIV/*nef* /- предизвиква дълготрайна, устойчива и слабо изразена инфекция, която предпазва маймуните от развиване на заболяването след инфекцирането им с патогенния вирус, но не и от самото инфекциране. Действителните корелати на протекцията не могат изцяло да се определят, но се предизвиква един продължителен отговор от страна на цитотоксичните лимфоцити – CTL отговор (клетъчен Т-лимфоцитен отговор). Подобно на него, непатогенният SHIV89.6 причинява устойчива инфекция при маймуни, при които след вагинално заразяване със SIV се осигурява защита срещу неконтролируемата репликация на вируса, но не и срещу заразяване. Очевиден е постигнатият предпазен ефект за CD8 клетките. Макаците, които преди това са били изложени на ниски дози на HIV-2, също показват вирус-специфични клетъчно имунни отговори и са били предпазени срещу неконтролируемата вирусна репликация след интра ректално заразяване.

Изгледите да се използва жива атенюирана ваксина при хора все още пораждат безпокойство, що се касае до безопасността ѝ, тъй като вирусът е с висока скорост на мутация и по тази причина не е бил изпитван върху хора. Оказало се е, че някои хора, заразени с HIV-1 и дълго време нямащи признаци на СПИН, са били заразени с вируси без *nef* [18, 52], но при тях е настъпило намаляване на броя на CD4 Т-клетките със закъснение и заболяването им бавно е прогресирало до СПИН [41]. По тази при-

чина живите атенюирани ваксини не се използват като стратегия за предпазване от зараза с HIV-1.

ЦЕЛОКЛЕТЪЧНИ ИНАКТИВИРАНИ ВАКСИНИ И ВИРУСОПОДОБНИ ЧАСТИЦИ

Установено е, че най-добрият начин да се инактивират вирусите на HIV или SIV, без да се нарушава антигенността на гликопротеините на вирусната им обвивка, е чрез слаба оксидация с alditriol-2, за премахването на важните Zn²⁺ йони от Gag протеините, чрез алкилиране с N-ethyleneimine [64], а също и чрез ултравиолетово инактивиране на вирусната РНК с псорален [48]. Получените препарати са били със слаба имуногенност, дължащо се вероятно на малкия брой гликопротеинови спайкове върху повърхността на вириона. Имунизацията с инактивирана SIV ваксина не е могла да предпази маймуни от зараза със SIV, но при тях е било наблюдавано намаляване на вiremията след заразата [47].

СУБЕДИНИЧНИ ВАКСИНИ

Env-субединични ваксини. Субединичните протеинови ваксини първоначално са разработени на база monomeric HIV-1 gp120 или gp140 (с премахнати от трансмембраната gp160 и интрацитоплазмени домейни на gp41) и са представени в разтворимата си форма или като свързани синтетични пептиди (V3 бримка), като за адювант е използван алуминиев хидроксид. Тези ваксини индуцират неутрализиращи антитела, насочени към V3 в gp120 и предпазват шимпанзета от зараза с хомоложен, или близкото хомоложен щам X-4 на HIV-1, но не и срещу зараза с дистанционно разположен вирусен щам (има се предвид близко или дистанционно разположение във филогенетичното дърво, получено чрез секвениране) или с първичен изолат R5 на HIV-1 [7, 8, 10, 23, 26, 27]. Рекомбинантните разтворими протеини на обвивката на HIV-1 са били обект на интензивни изследвания, но една от главните пречки в разработването на ваксина срещу HIV е неспособността на имуногените да предизвикат широкоспектърни неутрализиращи антитела.

Независимо от непрестанните експерименти за създаване на имитации на обвивката на вирусните спайкове или на специално създадени Env-заготовки, търсенето на имуногени, способни да предизвикат широкоспектърни неутрализиращи антитела с високи титри, претърпява неуспех [11, 40, 42, 65], но продължава да се работи върху създаването на един оптимален имуноген.

Tat-ваксини. Били са разработени субединични ваксини на базата на допълнителния протеин Tat.

Надеждата е била, че имунните отговори, насочени към рано експресиращи се антигени като Tat, биха довели до предпазване от инфекция или до евентуалното ѝ прекъсване [12, 33]. Идентифицирани са били осем генетични варианта на Tat [32]. Анти-Tat антители и Tat-специфичните клетъчни Т-цитотоксични лимфоцити (CTLs) са били свързани с намалената времийа и бавното развиване на заболяването до СПИН. След имунизирването на резус макаци с Tat-протеин, инактивиран с формалин Tat (Tat-токсоид), или Tat-пептиди, са били получени противоречиви резултати. HIV Tat-ваксините могат да станат по-ефикасни, ако се комбинират с други антигени на HIV [13, 39].

ДНК ваксини. Поради неуспеха в създаването на ваксини, с които да се предизвикат широкоспектърни неутрализиращи антитела с цел профилактична ваксина, работата по разработването на ваксини е насочена към създаването на ваксини, с които да се предизвикат Т-клетъчни отговори, най-вече CD8+CTL, за контролиране на инфекцията с HIV. От ваксините, които стимулират Т-клетъчния имуногенен отговор, не се очаква да предпазват от зараза, а по-скоро да удължат периода за поява на заболяването, като намаляват вирусния товар, забавят процеса на намаляване на CD4+ Т-клетките, както и да предотвратят или поне да забавят развиването на симптомите [68]. Разработването на ДНК ваксини и рекомбинантни ваксини със живи вируси се базира точно на тази стратегия [22, 55, 58, 63]. Намаляването на вирусните товари в заразените с вируса на HIV хора би трябвало да намали и вероятността от предаването на вируса на серонегативните им партньори.

ДНК ваксините (наричани още генетични ваксини) са бактериални плазмиди, които пренасят гена (гените), в които са закодирани един или няколко желани антигена, и които, веднъж въведени мускулно или подкожно на животното, експресират желаните антигени *in situ*, което довежда до индуциране на антигеноспецифични клетъчни имунни отговори [31]. Най-добрите резултати за имуногенност с ДНК ваксини са получени при стратегията *prime-boost* (първична-допълнителна), т.е. прилагане на ДНК ваксината като основна, а след нея допълнителна имунизация със жива рекомбинантна ваксина [58]. Така, с имунизацията на макаци с ваксина ДНК-Env, последвана от поливалентна Env-формулировка, е предизвикан един много по-различен антигенен отговор с по-голям интензитет и подобрена неутрализираща активност спрямо хибрида, (макар и само срещу сравнително лесни за неутрализиране изолати на HIV-1), заедно с Т-клетъчни отговори към хибрида.

Живи рекомбинантни (векторни) ваксини.

Живите рекомбинантни ваксини се изготвят от жив вирусен или бактериален вектор, който е създаден, за да експресира разнообразието на екзогенните антигени (в случая се има предвид, че екзогенните антигени са на чужд агент, не на собствения организъм) в цитоплазмата на прицелните клетки, в случая вируса на HIV-1 или гени. При създаването на живите рекомбинантни ваксини са използвани многобройни вектори [6, 66]. Повечето от тези вектори, чрез предварителното премахване на някои основни гени, са превърнати в дефектни за репликация, както е E1A генът в аденовирусите или редица гени във вирусния щам New York vaccinia (NYVAC). Други вектори по същество не могат да се репликират при приматите, като сапагурох (ALVAC), fowlpox или атенюирания вирусен щам на vaccinia, видоизменен vaccinia Ankara (MVA) [83]. Дефектността на репликацията допринася за по-голяма безопасност, но силно намалява имуногенността на кандидата за ваксина, тъй като изисква значително увеличаване на дозата на ваксината.

Едно от основните предизвикателства за имуногенността на живата рекомбинантна ваксина е имунният отговор към вектора, който забавя приемане на ваксината и последващата експресия на векторните антигени: това трябва да се има предвид и същата векторна ваксина не бива да се използва за повторни имунизации, а също и при ситуация на съществуващи вече имунни отговори към вектора сред населението. Това се отнася най-вече за Ad5, срещу който при хората се наблюдават високи титри на неутрализиращи антитела.

Живите рекомбинантни ваксини предизвикват в повечето случаи отговори на Т-клетките, по-специално на CD8+ Т-клетките, но различните ваксинни вектори, освобождаващи един и същи антиген, могат да предизвикат CD8+ Т-клетките по начини (пътища) с разнообразна специфика. Неотдавна е наблюдавано, че многобройните естествените имунни пътища могат да дадат своя принос за повишаване на имуногенността на Ad5-векторните ваксини [60].

В последно време многообещаващ се оказва компетентният за репликация вектор CMV на резус, като същият е предизвикал имунни отговори, способни да контролират вируса при инфекция със SIVmac при 13 от 24 ваксинирани маймуни [38] (по лично съобщение на С. Г. Хансен). В действителност, при 12 от макаките в продължение на година са поддържани неопределими вирусни товари в плазмата със случайни краткотрайни появи на доловими вируси (тези прояви се наричат "блипсове"). Изненадващ е фактът, че намаляването на CD8+ или CD4+ Т-клетките при тези животни не оказва ни-

какво въздействие върху вирусните товари, за разлика от животните с контролирана инфекция.

ИМУНИЗАЦИОННИ РЕЖИМИ ЗА ВАКСИНИ ОТ ТИПА „ОСНОВНА-БУСТЕРНА”

ДНК основна-жива рекомбинантна бустерна ваксина. Множество сравнителни изследвания върху нечовешки примати са показали, че имуногенността на живите векторни ваксини се е подобрила значително, след като са били приложени като бустерни след първоначално прилагане на ДНК (като основна) ваксина [51, 62, 79]. Например комбинацията ДНК-Ad5 основна-бустерна повишава седемкратно Env-специфичните отговори на Т-клетките срещу HIV-1 в сравнение с получените при прилагането само на Ad5 рекомбинантна ваксина. Прилагането на ДНК като основна ваксина, последвано от прилагането на рекомбинантни вирусни вектори като бустери, се оказа много ефективен метод за индуциране на имунни Т-клетъчни отговори и за контролиране на вирусните товари в проучванията за заразяване на макаци с вирусите на SHIV или SIV [49, 78, 79]. В резултат на имунизация от типа „основна-бустерна” на резус макаци с ДНК, експресираща гените gag, pol, vif и vpr на SIV като основна и последвана от бустеране със жив Sendai вирус, експресиращ gag на SIV, е постигнат дългосрочен контрол върху репликацията на вируса и запазването на CD4+Т-клетките на централната памет след зараза със SIVmac [43].

Основна-бустерна с използване на две различни живи рекомбинирани ваксини. Разработен е друг тип на режима „основна-бустерна”, при който се използват два различни живи рекомбинантни вектора, представящи един и същ антиген, такива като вектора Ad5, следван от вектора на вируса на шарка, или два последователни, (последващи) вектора на аденовирус, като Ad11, следван от Ad35 или Ad26, следван от Ad5 или от Ad35, както и два последващи вектора на покс-вируса [45, 49].

Жива векторна ваксина основна-протеинов бустер. Разработена е съвършено различна стратегия за режима „основна-бустерна” с използване на комбинация от жива векторна ваксина като основна, следвана от протеинова субединична ваксина като бустерна, с надеждата да се стимулира хуморалният и клетъчният потенциал на имунната система.

ДНК ваксина основна-протеинов бустер. Проучен е бил още един тип режим на „основна-бустерна” имунизация, с комбиниране на ДНК ваксина за праймиране и субединична ваксина с Env-протеин за бустеране, при който е постигнато успешно предпазване от заразяване със SHIV при макаци [5].

Мукозни ваксини. Урогениталната, ректалната или оралната мукози са местата, където навлиза HIV-1 при преобладаваща част от случаите на инфекция. Макар че оралното предаване на HIV-1 е по-рядко срещано в сравнение с вагиналното и ректалното, заразяването става при орален секс или вертикално, от майка на дете. Следователно ваксините, с прицел мукозните места на заразяване, които биха предотвратили навлизането на вирусите и/или установяването и разпространяването на инфекцията, са предмет на значителен интерес. Смята се, че ваксинация по орален път обикновено поражда имуноен отговор в гастроинтестиналния тракт и в кърмата, докато назалната имунизация предизвиква силни IgA отговори в женския генитален тракт и ректума [82].

Пасивна имунопрофилактика и имунотерапия. Въпреки че пасивното прилагане на моноклонални антитела се е оказало ефикасно при много заболявания, не съществуват лицензирани подобни продукти, които да се използват за имунопрофилактика или имунотерапия за предпазване или лечение на заразяване с HIV. Докато в развиващите се страни поради практически съображения използването на препаратите с моноклонални антитела като стратегия за профилактична пасивна имунизация срещу заразяване с HIV-1 сред големи популации е спряно, пасивната имунопрофилактика може да се прилага като средство за предпазване от предаване на вируса на HIV-1 от майка на дете [50] или като имунотерапия след заразяване. Последните постижения в тази област и разработването на по-широко приложими и ефикасни неутрализиращи моноклонални антитела в борбата срещу HIV-1 представляват стимул за извършване на нови изследвания за пасивната имунопрофилактика и имунотерапия.

Преекспозиционна имунопрофилактика. Една от причините да се използват широкоспектърни неутрализиращи антитела в пасивната имунопрофилактика е с цел да се осигури доказателство, че при хората тези антитела могат да предпазят от заразяване с HIV-1. При разработването на ваксина срещу HIV-1 би било полезно да се знае и с какви нива на антитела ще може да се постигне предпазване от инфекция. Стратегията би била по-широко приложима, ако ефикасността и продължителността на живота на антителата бъдат оптимизирани. Разработени са много стратегии в областта на генното инженерство за увеличаване на ефикасността и на полуживота на циркулиращите антитела.

Постекспозиционна имунопрофилактика и имунотерапия. Пасивно предаваните неутрализиращи антитела могат да блокират лентивирусната

инфекция, но все още ролята им в постекспозиционната профилактика не е много ясно разбрана [81]. Оказало се е, че постинфекционната пасивна имунотерапия с поликлонален имуноглобулин с високи неутрализиращи титри срещу SIVsmE660 (SIVIG) успешно контролира зараза със SIV при резус-маймуни и ускорява *de novo* произвеждането на неутрализиращи антитела [37].

Клинични изпитвания на HIV ваксини. След започването на клиничните изпитвания на първите ваксини за предпазване от HIV-1 от 1987 г. насам на изпитвания за безопасност и имуногенност са били подложени над 40 кандидат-ваксини, а днес се извършват изпитвания за безопасност на следващ подобен проект.

Първият проект на ваксина срещу HIV-1, завършил фаза 3 на изпитвания за ефикасност, е този на рекомбинантната gp120 ваксина, разработен от VaxGen. Два gp120 протеина, базиращи се на подтип B (MN, GNE8, наречена AIDSSVAXB/B') в алуминиев хидроксид, са използвани при първото изпитване, като в него са участвали 5403 доброволци при висок риск за предаване по полов път на зараза с HIV-1, произволно избрани за получаване на ваксина или плацебо. Ваксината се е оказала безопасна при изпитванията на фаза 1 и фаза 2, предизвикала е неутрализиращи антитела срещу Т-клетъчни лабораторно адаптирани чувствителни на неутрализация вируси и е предпазила от зараза шимпанзета по време на преклиничните изследвания. На участници от САЩ, Канада и Холандия са били направени седем инжекции на 0, 1, 6, 12, 18, 24 и 30 месеца и една последна след 36 месеца. Ваксината AIDSVAXB/B' е изглеждала безопасна, но няма ефект при предпазването от инфекция или за промяна на хода на инфекцията [25]. Понататъшният анализ на величината и интензитета на отговорите на неутрализиращите антитела показва, че повечето ваксини предизвикват силни отговори с неутрализиращи антитела срещу лабораторно адаптирани изолати на HIV-1, като HIV-1MN-1 MNMN, но много слаби срещу циркулиращи първични изолати на HIV-1.

В Тайланд е проведено изпитване за ефикасност на HIV-1 ваксина на подобен проект, по-точно 120-A/UM B/E, който е последван от изпитването RV144. В изпитването са включени 2545 наркомани, като резултатите са съпоставими с тези от предходното изпитване, т.е. ваксината е безопасна, но не е ефективна за предпазване от HIV-1 [9].

Аденовирус-5. Първият проект на HIV-1 ваксина за предизвикване на клетъчни имунни отговори срещу HIV-1, допуснат до изпитвания за ефикасност, е този на ваксината, използваща като имуноген ре-

пликативно дефектен Ad5-Gag-Pol-Nef, разработен от Merck. За да се оцени ефикасността на ваксината Ad5-Gag-Pol-Nef, е извършено тестването ѝ чрез двойносляп тест за ефикасност на фаза 2b (изпитването носи съкратеното име STEP). Доброволците са избрани произволно за плацебо или истинска ваксина и са им направени 3 имунизации с MRKAd5 HIV-1 Gag-Pol-Nef ваксина на 0, 1 и 6 месеца. Проучването е прекратено рано, тъй като получените от междинния анализ резултати показват, че е безсмислено да се продължават по-нататък изпитванията с нея. При около 75% от произволно избраните участници в експеримента са предизвикани клетъчно-медирирани имунни отговори без предпазване от инфектиране или намаляване на вирусните товари.

Второ изпитване на същата ваксина на фаза 2b (изпитването Phambili) е извършено в Южна Африка. Докато в изпитването STEP участват мъже и жени от САЩ, Карибите и Австралия, в изпитването на ваксината Phambili са включени мъже и жени от Южна Африка, където предаването на вируса става главно чрез полов контакт, а рискът от заразяване с HIV-1, субтипове на HIV-1 и серопревалентността на Ad5 са различни. Ваксинациите и при двете изпитвания са преустановени, след като резултатите от първия междинен анализ за ефикасност при изпитването STEP преминават предварително определените граници за неефикасност [36]. По същото време и при изпитването Phambili не е констатирана ефикасност при предпазване или контрол на инфекцията. Резултатите от извършените анализи при STEP изпитването показват по-голям брой заразявания с HIV в подгрупата на ваксинираните Ad-серопозитивни и необрязани мъже в сравнение със същите от плацебо групата.

Сапагурох основна + gp120 бустерна (RV-144). Преклиничните изследвания показват, че прилагането на една основна, последвана от друга бустерна ваксина, често води до предизвикването на по-високи нива на клетъчни и хуморални имунни отговори, отколкото многократното имунизирание само с една ваксина. Подходът „основна-бустерна“ се използва в разработването на ваксини срещу HIV-1 със стратегии като ДНК основна + протеинов или векторен бустер, вирусен вектор основна + протеинов или хетероложен вирусен вектор бустер, както и други такива. Един от първите проекти на „основна-бустерна“, който ще разгледаме, използва вектор на сапагурох основна + Env-протеин бустерна и достигна до изпитвания за ефикасност в проведеното в Тайланд изпитване RV-144. Данни от фаза 1 на изпитването показват, че ваксината се понася добре и стимулира Т-клетъчни пролиферативни отговори.

След постигнатите скромни резултати при RV-144 изпитването, усилено се работи върху търсенето на имуноен показател, използван и валидиран за предпазващ ефект, чиито добри стойности трябва първа да бъдат потвърждавани (доказвани) [44, 55]. Предварителният анализ на данните от извършеното изпитване е показал, че при почти всички участници са били формирани антитела, реагиращи с gp120 на субтипове В и Е, като след 6 месеца титърът на тези антитела значително намалява. ADCC отговорите са преобладаващи при повече от 90% от участниците в изпитването в ранния постимунизационен период, но и те отслабват след 6 месеца. Може да се допълни, че в последващи анализи, направени през 6-месечни интервали, нивата на защита са най-високи през първата постимунизационна година (общият брой на инфекциите е бил с 60% по-нисък). Като заключение може да се каже, че ваксината е предизвикала слабо предпазване, което постепенно изчезва. По последни статистически данни от изпитването RV-144, ефикасността на ваксината е много слаба, по-скоро считана за неефикасна.

КРАТКО РЕЗЮМЕ НА КЛИНИЧНИТЕ ИЗПИТВАНЯ НА ВАКСИНИТЕ СРЕЩУ HIV-1

След скромните резултати за ефикасност, получени при изпитването RV-144 на ALVAC + gp 120, през следващите години предстои провеждането и на други изпитвания. Проектът на хетероложните аденовирусни вектори, експресиращи мозаечни антигени и този на ДНК основна + вектор на поксвирус бустерна, също ще бъдат подложени на изпитвания за ефикасност през следващите години. Очаква се за първи път репликативно-компетентен вектор да бъде подложен на изпитвания на фаза 1, като надеждите са, че Env субединичните протеини на HIV ще предизвикат широкоспектърни неутрализиращи антитела.

ТЕРАПЕВТИЧНИ ВАКСИНИ

Тъй като инфекцията с HIV-1 се развива бавно и в началната ѝ фаза се предизвикват клетъчни имунни отговори, към създаването на терапевтични ваксини срещу HIV-1 се проявява голям интерес. При изпитванията на първото поколение на тези кандидати, с включване на протеинови субединици, инактивиран вирус и други е установено, че при хора, заразени с HIV, се постига кратковременна защита със слаба или ограничена имуногенност, така че те не представляват интерес за клинични изследвания [21, 72]. Напоследък се работи върху

подобряването на имуногенността им и се оценява потенциалът им за антивирусна терапия. В следващия раздел са разгледани накратко методите на терапевтична интервенция с ваксини срещу HIV-1.

Макар и да са изпитани и нови варианти, постигнатите резултати за ефикасност са незадоволителни. Крайната цел на изпитанията са главно за забавяне прогреса на инфекцията чрез намаляване на вирусните товари, повишаване броя на CD4+ клетките, недопускане на опортюнистични инфекции и др. Неуспехът се дължи вероятно на потискането на ключови елементи от имунната система при инфектиране с HIV-1. Скоро ще бъдат извършени клинични изпитвания с участие на инфектирани с HIV-1 лица с нови ваксини и с нови адюванти, имащи за цел предизвикването на имунни отговори, способни да осигурят по-продължителен контрол върху инфекцията.

ПЕРСПЕКТИВИ ЗА РАЗРАБОТВАНЕТО НА ВАКСИНА СРЕЩУ HIV

Работата по създаване на ваксина срещу вируса на HIV е в период на възраждане, което се дължи на две нови постижения в тази област.

На първо място, доказването на ефикасността на ваксините за първи път довежда до създаването на клинични изследователски програми, които да съсредоточат усилията си върху корелатите на предпазване, като повторят и разширят наученото от изпитването за ефикасност RV-144. Работи се върху лицензиране на ваксина в Тайланд, включваща местни изолати, както и по-нататъшни изпитвания на *основна-бустерна* стратегии в други развиващи се страни със широко разпространение на HIV-1 с вирусни изолати, които не се срещат в Тайланд.

На второ място, на клинични изпитвания ще бъдат подложени нови кандидат-ваксини, които в преклиничните си изпитвания са показали подобри резултати при контрола на инфекцията, а в други са предпазили маймуни от заразяване. С натрупването на познания в тази област, най-обещаващите кандидати ще бъдат допуснати до изпитвания за ефикасност.

В заключение, получаването на широкоспектърни неутрализиращи антитела срещу HIV-1 е довело до идентифицирането на нови „мишени“ на вируса и това може да се използва за създаването на ваксина, предизвикваща образуването на подобни неутрализиращи антитела. С непрекъснатите постижения в тази област, в близко бъдеще може да очакваме създаването на нов и подобрен кандидат за ваксина срещу HIV-1.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Abdool Karim Q., Abdool Karim S.S., Frohlich J.A. et al. Effectiveness and safety of tenofovir gel, an antiretroviral microbicide, for the prevention of HIV infection in women. *Science* 2010; 329:1168-1174.
2. Ahmed S., Lutalo T., Wawer M. et al. HIV incidence and sexually transmitted disease prevalence associated with condom use: a population study in Rakai, Uganda. *AIDS* 2001; 15:2171-2179.
3. Appay V., Nixon D.F., Donahoe S.M. et al. HIV-specific CD8(+) T cells produce antiviral cytokines but are impaired in cytolytic function. *J Exp Med.* 2000; 192:63-75.
4. Auvert B., Taljaard D., Lagarde E. et al. Randomized, controlled intervention trial of male circumcision for reduction of HIV infection risk: the ANRS 1265 Trial. *PLoS Med.* 2005; 2:e298.
5. Barnett S.W., Rajasekar S., Legg H. et al. Vaccination with HIV-1 gp120 DNA induces immune responses that are boosted by a recombinant gp120 protein subunit. *Vaccine* 1997; 15:869-873.
6. Barouch D.H., Pau M.G., Custers J.H. et al. Immunogenicity of recombinant adenovirus serotype 35 vaccine in the presence of pre-existing anti-Ad5 immunity. *J Immunol.* 2004; 172:6290-6297.
7. Berman P.W., Gregory T.J., Riddle L. et al. Protection of chimpanzees from infection by HIV-1 after vaccination with recombinant glycoprotein gp120 but not gp160. *Nature* 1990; 345:622-625.
8. Berman P.W., Murthy K.K., Wrin T. et al. Protection of MN-rgp120-immunized chimpanzees from heterologous infection with a primary isolate of human immunodeficiency virus type 1. *J Infect Dis.* 1996; 173:52-59.
9. Beyrer C. The Thai VaxGen Trial: What have we learned?. In: Koff W., Kahn P., Gust I. ed. *AIDS Vaccine Development: Challenges and Opportunities*, Norkfolk, UK: Horizon Press; 2007:111-116.
10. Bruck C., Thiriart C., Fabry L. et al. HIV-1 envelope-elicited neutralizing antibody titres correlate with protection and virus load in chimpanzees. *Vaccine* 1994; 12:1141-1148.
11. Burton D.R., Weiss R.A. AIDS/HIV: a boost for HIV vaccine design. *Science* 2010; 329:770-773
12. Caputo A., Gavioli R., Bellino S. et al. HIV-1 Tat-based vaccines: an overview and perspectives in the field of HIV/AIDS vaccine development. *Int Rev Immunol.* 2009; 28:285-334.
13. Caputo A., Gavioli R., Ensoli B. Recent advances in the development of HIV-1 Tat-based vaccines. *Curr HIV Res.* 2004; 2:357-376.
14. Chasela C.S., Hudgens M.G., Jamieson D.J. et al. Maternal or infant antiretroviral drugs to reduce HIV-1 transmission. *N Engl J Med.* 2010; 362:2271-2281.
15. Chun T.W., Nickle D.C., Justement J.S. et al. HIV-infected individuals receiving effective antiviral therapy for extended periods of time continually replenish their viral reservoir. *J Clin Invest.* 2005; 115:3250-3255.
16. Collins K.L., Chen B.K., Kalams S.A. et al. HIV-1 Nef protein protects infected primary cells against killing by cytotoxic T lymphocytes. *Nature* 1998; 391:397-401.
17. Daniel M.D., Kirchoff F., Czajak S.C. et al. Protective effects of a live attenuated SIV vaccine with a deletion in the nef gene. *Science* 1992; 258:1938-1941.
18. Deacon N.J., Tsykin A., Solomon A. et al. Genomic structure of an attenuated quasi species of HIV-1 from a blood transfusion donor and recipients. *Science* 1995; 270:988-991.
19. Doan L.X., Li M., Chen C. et al. Virus-like particles as HIV-1 vaccines. *Rev Med Virol.* 2005; 15:75-88.
20. Donnell D., Baeten J.M., Kiarie J. et al. Heterosexual HIV-1 transmission after initiation of antiretroviral therapy: a prospective cohort analysis. *Lancet* 2010; 375:2092-2098.
21. Eron Jr. J.J., Ashby M.A., Giordano M.F. et al. Randomised trial of MNrgp120 HIV-1 vaccine in symptomless HIV-1 infection. *Lancet* 1996; 348:1547-1551.
22. Excler J.L. AIDS vaccine development: perspectives, challenges & hopes. *Indian J Med Res.* 2005; 121:568-581.
23. Fultz P.N., Nara P., Barre-Sinoussi F. et al. Vaccine protection of chimpanzees against challenge with HIV-1-infected peripheral blood mononuclear cells. *Science* 1992; 256:1687-1690.
24. Gallo R.C. The end or the beginning of the drive to an HIV-preventive vaccine: a view from over 20 years. *Lancet* 2005; 366:1894-1898.
25. 26. Schwartz O., Marechal V., Le Gall S. et al. Endocytosis of major histocompatibility complex class I molecules is induced by the HIV-1 Nef protein. *Nat Med.* 1996; 2:338-342.
26. Gilbert P.B., Ackers M.L., Berman P.W. et al. HIV-1 virologic and immunologic progression and initiation of antiretroviral therapy among HIV-1-infected subjects in a trial of the efficacy of recombinant glycoprotein 120 vaccine. *J Infect Dis.* 2005; 192:974-983.
27. Girard M., Kieny M.P., Pinter A. et al. Immunization of chimpanzees confers protection against challenge with human immunodeficiency virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88:542-546.
28. Girard M., Meignier B., Barre-Sinoussi F. et al. Vaccine-induced protection of chimpanzees against infection by a heterologous human immunodeficiency virus type 1. *J Virol.* 1995; 69:6239-6248.
29. Girard M., Osmanov S., Assossou O. et al. Vaccine. Human immunodeficiency virus (HIV) vaccine development: a review. *Vaccine* 2011; 29:6191-6218.
30. Girard M.P., Bansal G.P. HIV/AIDS vaccines: a need for new concepts?. *Int Rev Immunol.* 2008; 27:447-471.
31. Girard M.P., Osmanov S.K., Kieny M.P. A review of vaccine research and development: the human immunodeficiency virus (HIV). *Vaccine* 2006; 24:4062-4081.
32. Giri M., Ugen K.E., Weiner D.B. DNA vaccines against human immunodeficiency virus type 1 in the past decade. *Clin Microbiol Rev.* 2004; 17:370-389.
33. Goldstein G., Chicca II J.J. A universal anti-HIV-1 Tat epitope vaccine that is fully synthetic and selfadjuvanting. *Vaccine* 2010; 28:1008-1014.
34. Goldstein G. HIV-1 Tat protein as a potential AIDS vaccine. *Nat Med.* 1996; 2:960-964.
35. Gottlieb M.S., Schroff R., Schanker H.M. et al. Pneumocystis carinii pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. *N Engl J Med.* 1981; 305:1425-1431.
36. Grant R.M., Lama J.R., Anderson P.L. et al. Preexposure chemoprophylaxis for HIV prevention in men who have sex with men. *N Engl J Med.* 2010; 363:2587-2599.
37. Gray G., Buchbinder S., Duerr A. Overview of STEP and Phambili trial results: two phase IIb test-of-concept studies investigating the efficacy of MRK adenovirus type 5 gag/pol/nef subtype B HIV vaccine. *Curr Opin. HIV/AIDS* 2010; 5:357-361.
38. Haigwood N.L., Montefiori D.C., Sutton W.F. et al. Passive immunotherapy in simian immunodeficiency virus-infected macaques accelerates the development of neutralizing antibodies. *J Virol.* 2004; 78:5983-5995.
39. Hansen S.G., Vieville C., Whizin N. et al. Effector memory T cell responses are associated with protection of rhesus monkeys from mucosal simian immunodeficiency virus challenge. *Nat Med.* 2009; 15:293-299.
40. Hel Z., Tsai W.P., Trynieszewska E. et al. Improved vaccine protection from simian AIDS by the addition of nonstructural simian immunodeficiency virus genes. *J Immunol* 2006; 176:85-96.
41. Hoxie J.A. Toward an antibody-based HIV-1 vaccine. *Annu Rev Med.* 2010; 61:135-152.
42. Jekle A., Schramm B., Jayakumar P. et al. Coreceptor phenotype of natural human immunodeficiency virus with nef deleted evolves in vivo, leading to increased virulence. *J Virol.* 2002; 76:6966-6973.

43. Joyce J.G., ter Meulen J. Pushing the envelope on HIV-1 neutralization. *Nat Biotechnol.* 2010; 28:929-931.
44. Kawada M., Tsukamoto T., Yamamoto H. et al. Long-term control of simian immunodeficiency virus replication with central memory CD4+ T-cell preservation after nonsterile protection by a cytotoxic T lymphocyte-based vaccine. *J Virol.* 2007; 81:5202-521.
45. Kim J.H., Rerks-Ngarm S., Excler J.L. et al. HIV vaccines: lessons learned and the way forward. *Curr Opin HIV/AIDS* 2010; 5:428-434.
46. Lemckert A.A., Sumida S.M., Holterman L. et al. Immunogenicity of heterologous prime-boost regimens involving recombinant adenovirus serotype 11 (Ad11) and Ad35 vaccine vectors in the presence of anti-ad5 immunity. *J Virol.* 2005; 79:9694-9701.
47. Lieberman J., Shankar P., Manjunath N. et al. Dressed to kill? a review of why antiviral CD8 T lymphocytes fail to prevent progressive immunodeficiency in HIV-1 infection. *Blood* 2001; 98:1667-1677.
48. Lifson J.D., Rossio J.L., Piatak Jr. M. et al. Evaluation of the safety, immunogenicity, and protective efficacy of whole inactivated simian immunodeficiency virus (SIV) vaccines with conformationally and functionally intact envelope glycoproteins. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2004; 20:772-787.
49. Lin L., Cook D.N., Wieseahn G.P. et al. Photochemical inactivation of viruses and bacteria in platelet concentrates by use of a novel psoralen and long-wavelength ultraviolet light. *Transfusion* 1997; 37:423-435.
50. Liu J., O'Brien K.L., Lynch D.M. et al. Immune control of an SIV challenge by a T-cell-based vaccine in rhesus monkeys. *Nature* 2009; 457:87-91.
51. Lohman-Payne B., Slyker J., Rowland-Jones S.L. Immune-based approaches to the prevention of mother-to-child transmission of HIV-1: active and passive immunization. *Clin Perinatol.* 2010; 37:787-805.
52. Lu S. Heterologous prime-boost vaccination. *Curr Opin Immunol.* 2009; 21:346-351.
53. Mariani R., Kirchhoff F., Greenough T.C. et al. High frequency of defective nef alleles in a long-term survivor with nonprogressive human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol.* 1996; 70:7752-7764.
54. Mascola J.R., Montefiori D.C. The role of antibodies in HIV vaccines. *Annu Rev Immunol.* 2010; 28:413-444.
55. Masur H., Michelis M.A., Greene J.B. et al. An outbreak of community-acquired *Pneumocystis carinii* pneumonia: initial manifestation of cellular immune dysfunction. *N Engl J Med.* 1981; 305:1431-1438.
56. McElrath M.J., Haynes B.F. Induction of immunity to human immunodeficiency virus type-1 by vaccination. *Immunity.* 2010; 33:542-554.
57. Pantaleo G., Esteban M., Jacobs B. et al. Poxvirus vector-based HIV vaccines. *Curr Opin. HIV AIDS* 2010; 5:391-396.
58. Piot P. The science of AIDS: a tale of two worlds. *Science* 1998; 280:1844-1845.
59. Ramshaw I.A., Ramsay A.J. The prime-boost strategy: exciting prospects for improved vaccination. *Immunol Today* 2000; 21:163-165.
60. Rerks-Ngarm S., Pitisuttithum P., Nitayaphan S. et al. Vaccination with ALVAC and AIDSVAX to prevent HIV-1 infection in Thailand. *N Engl J Med.* 2009; 361:2209-2220.
61. Rhee E.G., Blattman J.N., Kasturi S.P. et al. Multiple innate immune pathways contribute to the immunogenicity of recombinant adenovirus vaccine vectors. *J Virol* 2011; 85:315-323.
62. Robinson H.L. HIV/AIDS vaccines: 2007. *Clin Pharmacol Ther* 2007; 82:686-693.
63. Robinson H.L. New hope for an AIDS vaccine. *Nat Rev Immunol.* 2002; 2:239-250.
64. Ross A.L., Brave A., Scarlatti G. et al. Progress towards development of an HIV vaccine: report of the AIDS Vaccine 2009 Conference. *Lancet Infect Dis.* 2010; 10:305-316.
65. Rossio J.L., Esser M.T., Suryanarayana K. et al. Inactivation of human immunodeficiency virus type 1 infectivity with preservation of conformational and functional integrity of virion surface proteins. *J Virol.* 1998; 72:7992-8001.
66. Schief W.R., Ban Y.E., Stamatatos L. Challenges for structure-based HIV vaccine design. *Curr Opin HIV AIDS* 2009; 4:431-440.
67. Schnell M.J. Viral vectors as potential HIV-1 vaccines. *FEMS Microbiol Lett.* 2001; 200:123-129.
68. Sellier P., Mannioui A., Bourry O. et al. Antiretroviral treatment start-time during primary SIV(mac) infection in macaques exerts a different impact on early viral replication and dissemination. *PLoS One* 2010; 5:e10570.
69. Streeck H., Nixon D.F. T cell immunity in acute HIV-1 infection. *J Infect Dis.* 2010; 202(suppl. 2):S302-S308.
70. Suksomboon N., Poolsup N., Ket-Aim S. Systematic review of the efficacy of antiretroviral therapies for reducing the risk of mother-to-child transmission of HIV infection. *J Clin Pharm Ther.* 2007; 32:293-311.
71. Tartaglia J., Cox W.I., Taylor J. et al. Highly attenuated poxvirus vectors. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1992; 8:1445-1447.
72. Tonwe-Gold B., Ekouevi D.K., Viho I. et al. Antiretroviral treatment and prevention of peripartum and postnatal HIV transmission in West Africa: evaluation of a two-tiered approach. *PLoS Med.* 2007; 4:e257.
73. Tubiana R., Gomard E., Fleury H. et al. Vaccine therapy in early HIV-1 infection using a recombinant canarypox virus expressing gp160MN (ALVAC-HIV): a double-blind controlled randomized study of safety and immunogenicity. *AIDS* 1997; 11:819-820.
74. Vogel T.U., Allen T.M., Altman J.D. et al. Functional impairment of simian immunodeficiency virus-specific CD8+ T cells during the chronic phase of infection. *J Virol.* 2001; 75:2458-2461.
75. Volmink J., Siegfried N.L., van der Merwe L. et al. Antiretrovirals for reducing the risk of mother-to-child transmission of HIV infection. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007; 1:CD003510
76. Warner L., Ghanem K.G., Newman D.R. et al. Male circumcision and risk of HIV infection among heterosexual African American men attending Baltimore sexually transmitted disease clinics. *J Infect Dis.* 2009; 199:59-65.
77. Weber J., Tatoud R., Fidler S. Postexposure prophylaxis, pre-exposure prophylaxis or universal test and treat: the strategic use of antiretroviral drugs to prevent HIV acquisition and transmission. *AIDS* 2010; 24(suppl. 4):S27-S39.
78. Wijesundara D.K., Jackson R.J., Ramshaw I.A. et al. Human immunodeficiency virus-1 vaccine design: where do we go now?. *Immunol Cell Biol.* 2011; 89:367-374.
79. Wilson N.A., Keele B.F., Reed J.S. et al. Vaccine-induced cellular responses control simian immunodeficiency virus replication after heterologous challenge. *J Virol.* 2009; 83:6508-6521.
80. Wilson N.A., Reed J., Napoe G.S. et al. Vaccine-induced cellular immune responses reduce plasma viral concentrations after repeated low-dose challenge with pathogenic simian immunodeficiency virus SIVmac239. *J Virol.* 2006; 80:5875-5885.
81. Wyand M.S., Manson K., Montefiori D.C. et al. Protection by live, attenuated simian immunodeficiency virus against heterologous challenge. *J Virol.* 1999; 73:8356-8363.
82. Young T.N., Arens F.J., Kennedy G.E. et al. Antiretroviral post-exposure prophylaxis (PEP) for occupational HIV exposure. *Cochrane Database Syst. Rev* 2007; 1:CD002835.
83. Yu M., Vajdy M. Mucosal HIV transmission and vaccination strategies through oral compared with vaginal and rectal routes. *Expert Opin Biol Ther.* 2010; 10:1181-1195.
84. Zanutto C., Paganini M., Elli V. et al. Molecular and biological characterization of simian-human immunodeficiency virus-like particles produced by recombinant fowlpox viruses. *Vaccine* 2005; 23:4745-4753.