

přirozeně rezistentní vůči HIV, u heterozygotů je významně pomalejší progresie nemoci (47). Po transplantaci u příjemce homozygotních buněk došlo k vymizení HIV v periferní krvi a eliminaci potřeby další léčby antiretrovirových. 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).

Reaktivace 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 nescoucích 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 mnohčetná 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