

HIV – imunost in razvoj cepiv HIV – immunity and vaccine development

Alojz Ihan*

Ključne besede
imunska pomanjkljivost pridobljena sindrom – imunologija
aids cepiva

Key words
acquired immunodeficiency syndrome – immunology
aids vaccines

Izvleček. Okužba s HIV vzbudi protitelesni in citotoksični imunski odziv proti virusu. HIV se zaradi izjemne prilagodljivosti in spremenljivosti uspešno izmika učinkoviti imunski zaščiti. Za razvoj bolezni je verjetno odločilen imunski odziv neposredno po virusni okužbi. Močan in proti ustreznim virusnim molekulam usmerjen začetni imunski odziv omogoča dober dolgoročni nadzor nad virusom. Če je začetni imunski odziv neustrezno usmerjen, se HIV verjetno tako namnoži, da dolgoročni nadzor okužbe ni več mogoč. Iz tega razmisleka izhajajo tudi najnovejše strategije pri razvoju cepiv proti aidsu – cepivo naj bi usmerilo imunske reakcije proti izbranim virusnim antigenom. S tem bi virus naletel na učinkovito usmerjen in močan imunski odziv, ki bi omogočal dolgoročen nadzor virusa in s tem preprečeval razvoj aidsa.

Abstract. HIV infection induces both humoral and cytotoxic immune response. HIV is extremely efficient in evading host immune response due to virus adaptability. An immune response early in the course of HIV infection is probably the most important factor determining the outcome of the infection. A strong early immune response against efficient HIV antigens enables long-term prevention of aids development. A weak early cytotoxic immune response against HIV can not control virus replication efficiently – a result may be early progression of infection towards aids. From that point of view the development of vaccines against aids should induce a strong immune response against efficient HIV antigens. In that case a later HIV infection would be well controlled by the immune system thereby preventing a progression of infection towards aids.

Uvod

Virus človeške imunske pomanjkljivosti (angl. *human immunodeficiency virus*, HIV) je retrovirus, ki v določenem deležu okuženih celic (približno 1 %) vztraja v provirusni obliki – virus se zgolj vgradi v celični genom in ne izdeluje virusnih beljakovin (1). Ker so vse imunske reakcije usmerjene v prepoznavo tujih beljakovin, ne pa tujih genov, takih okuženih celic imunski odziv na noben način ne more prepoznati. Zato verjetno ni možnosti, da bi bilo pri človeku, okuženem s HIV, mogoče na kakršenkoli način izkoreniniti virus iz telesa. Tiste okužene celice, v katerih se HIV razmnožuje, pa tvorijo izjemno veliko količino novih virusnih delcev – 10^9 – 10^{10} dnevno. Med temi je približno 10^8 – 10^9 virusnih delcev spremenjenih – mutiranih (2). Količina mutiranih različic nudi virusom izjemen potencial za hitro in neprestano prilagajanje na gostiteljev imunski odziv – kakorkoli se že ta usmeri, rezultat ni izkoreninjenje virusa, ampak zgolj selekcijski pritisk, ki povzroči nastanek odpornih virusov. Odločilno za klinični izid okužbe s HIV pa je to, da okužba prizadene celice T pomagalke in makrofagne celice, ki sodelujejo v osrednji fazi uravnavanja sleherne imunske reakcije. Zato propadanje teh celic zaradi okužbe s HIV

*Doc dr. Alojz Ihan, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Korytkova 2, 1000 Ljubljana

sčasoma onemogoči imunsko reagiranje proti različnim mikroorganizmom – posledične oportunistične okužbe so lahko usodne za osebe, okužene s HIV (3).

Citotoksični imunski odziv proti HIV

Citotoksični odziv se usmeri proti virusnim peptidom, ki jih iz citoplazme okuženih celic »izberejo« molekule poglavitnega kompleksa tkivne skladnosti razreda I (angl. *Mean Histocompatibility Complex*, MHC I). Molekule MHC so izjemno polimorfne – v populaciji obstajajo številne različice in kombinacije teh molekul, vsak človek ima svojo kombinacijo molekul MHC I. Ker se posamezne različice molekul MHC I vežejo na različne virusne peptide za usmeritev imunske reakcije na virus, se imunske reakcije okuženih posameznikov usmerijo proti različnim delom virusa, odvisno od kombinacije molekul MHC I, ki jo posameznik ima. Za okuženega je ugodno, če ima tako zaporedje molekul MHC, da se vežejo na takšne virusne peptide, ki so v nespremenjeni obliki nujni za delovanje virusa in katerih mutacija ne bi bila združljiva s preživetjem virusa. V tem primeru se virus ne more prilagoditi na imunski odziv z razvojem odpornega mutanta, kajti mutacija, ki bi se izognila imunosti, bi hkrati proizvajala okvarjene viruse, nesposobne za preživetje.

Če pa ima okuženi posameznik molekule MHC I, ki za imunsko reakcijo izberejo takšne virusne peptide, ki niso »nujni« za virus in katerih mutacija je združljiva s preživetjem virusa, pa se bodo po začetni imunski reakciji v okuženem človeku gotovo izselekcionalirali mutirani virusi, odporni na citotoksično imunost. S tem se bo iskanje ugodnega citotoksičnega odziva proti HIV podaljšalo, to pa je, kot kažejo študije, slabo za napoved poteka okužbe s HIV. Rezultati študij namreč dokazujejo, da je za napoved poteka bolezni okuženih s HIV ugodna čim močnejša začetna citotoksična reakcija proti virusu neposredno po okužbi. To pa je mogoče le v primeru, če ima posameznik takšne molekule MHC I, ki imunski odziv proti HIV že v prvem poskusu usmerijo proti virusnim peptidom, ki jih virus kasneje ne sme mutirati (4). Če imunski sistem torej že na začetku okužbe izbere »pravi« virusni antigen, se bo imunska reakcija bolj in bolj stopnjevala in bo zadostna za učinkovit nadzor virusa. Če pa imunski sistem izbere »napačni« antigen, bo antigen mutiral (in s tem imunološko »izginil« iz telesa), imunska reakcija proti novemu antigenu pa bo spet v začetni fazi in temu ustrezno šibka. V obdobju, ko imunski sistem izgublja čas z neučinkovitimi in šibkimi imunskimi odzivi proti različnim (neustreznim) antigenom, pa se HIV verjetno tako namnoži, da dolgoročni nadzor okužbe ni več mogoč. Iz tega razmisleka izhajajo tudi najnovejše strategije pri razvoju cepiv proti aidsu – cepivo naj bi še pred »naravno« okužbo usmerilo imunsko reakcijo proti ustreznim virusnim antigenom. Prava okužba bi s tem naletela na učinkovito usmerjen in močan imunski odziv, ki bi omogočal dolgoročni nadzor virusa in s tem preprečeval razvoj aidsa.

Protitelesni odziv proti HIV

Proti HIV nastajajo protitelesa, nenazadnje diagnostika virusa v glavnem temelji na dokazovanju protiteles v serumu; vendar obstoj protiteles še ne pomeni, da protitelesa zavirajo

razvoj virusne okužbe, da torej nevtralizirajo virus. Nevtralizacijski učinek protiteles na HIV lahko spremljamo v *in vitro* kulturi celic, ki jo okužimo s HIV, nato pa z dodajanjem posameznih vrst protiteles spremljamo njihovo učinkovitost pri zaviranju širjenja okužbe v celični kulturi. Rezultati študij kažejo, da pri HIV-pozitivnih posameznikih v latentni fazi okužbe običajno dokažemo nevtralizacijska protitelesa, ki pa pri bolnikih z aidsom večinoma izginejo (5). Verjetno zato, ker učinkovita nevtralizacijska protitelesa za HIV predstavljajo selekcijski pritisk, ki sčasoma povzroči prevlado takih (mutiranih) oblik virusa, proti katerim obstoječa protitelesa v posamezniku več ne učinkujejo in torej niso nevtralizacijska.

Študije, ki analizirajo specifičnost nevtralizacijskih protiteles, kažejo, da večji del nevtralizacijskih protiteles veže dve HIV-beljakovini: gp120 in gp41. Zato sta omenjeni beljakovini tudi zelo resni kandidatki za vsa eksperimentalna cepiva, ki naj bi zaščitila proti okužbi s HIV. Hkrati poteka precejšnje število študij, ki skušajo z vnosom protiteles proti gp120 in/ali gp41 (pasivna imunizacija) preprečiti ali omiliti okužbo s HIV. Ob tem seveda velja poudariti, da ni nikakršnih dokazov, da bi protitelesa lahko odločilno vplivala na potek okužbe s HIV. Tudi v primeru idealnega cepiva, ki bi vzbudilo močan nevtralizacijski protitelesni odziv, bi bil učinek cepiva omejen z dometom, ki ga nasploh ima protitelesni odziv v primeru okužbe s HIV. Verjetno je ta precej manjši, kot je domet celične citotoksične imunosti. Na žalost pa je reakcije citotoksične imunosti precej težje spremljati kot protitelesno imunost, zato je tudi razvoj cepiv, ki bi bila namesto v protitelesno usmerjena v citotoksično imunost, zaenkrat še zelo negotovo načrtovati (6).

Razvoj cepiv proti HIV

Po prebolevanju nekaterih nalezljivih boleznih organizem razvije tako učinkovito in trajno imunost, da kljub kasnejšim novim okužbam ne pride več do ponovitve enake bolezni. Take bolezni so idealne za cepljenje: če v organizem še pred prvo okužbo vbrzgamo mrtve povzročitelje bolezni, ti ne morejo povzročiti bolezni (ker so mrtvi), imunski sistem pa njihove beljakovine kljub temu prepozna kot tujke in razvije imunost. Na ta način cepljenemu človeku »prihranimo« bolezen, ki bi sledila prvi okužbi.

Na žalost le manjši del nalezljivih boleznih poteka po pravilu »enkrat in nikoli več«. Mikrobi so izjemno raznoliki (tudi znotraj vrste), spremenljivi in prilagodljivi organizmi; imunske reakcije gostitelja so za njih selekcijski pritiski, ki mnogokrat povzročijo zgolj selekcijo takih mikrobnih različic, ki preživijo kljub vzpostavljenim imunskim reakcijam. Zato je med nalezljivimi boleznimi razmeroma malo takih, pri katerih bi enkratna okužba povzročila razvoj tako učinkovite imunosti, da kasnejša naselitev istovrstnega povzročitelja v organizmu ne bi bila več mogoča. Pojav »enkrat in nikoli več« tako opažamo predvsem pri tistih bakterijskih boleznih, katerih klinične težave ne nastanejo toliko zaradi naselitve bakterij v telesu kot zaradi toksinov, ki jih bakterije izločajo. Nastanek protiteles proti toksinom le-te nevtralizira in prepreči nadaljnje klinične pojave enake bolezni, pri tem pa ni nujno, da je preprečena tudi nadaljnja naselitev istovrstnih bakterij v organizmu. Na ta način imunska (protitelesna) nevtralizacija toksinov prepreči klinično bolezen, hkrati pa ne vpliva neposredno na povzročitelja, s tem pa ne predstavlja selekcijskega pritiska za nastanek drugačnega toksina.

Lep primer take imunosti je škrlatinka, ki jo povzročajo tisti sevi streptokokov, ki proizvajajo eritrogeni toksin. Prva okužba mandljev s takim streptokoknim sevom (angina) povzroči klinično bolezen, ki je posledica delovanja eritrogenega toksina (škrlatinka). Nato se proti toksinu tvorijo protitelesa, ki pri kasnejših okužbah nevtralizirajo toksin in s tem preprečijo nastanek kliničnih znakov, značilnih za škrlatinko. Imunost v tem primeru torej učinkovito prepreči delovanje toksina (škrlatinka), ne pa tudi naselitve streptokokov na tonzilah (angina) (7, 8).

Pri nalezljivih boleznih, ki potekajo po pravilu »enkrat in nikoli več«, upravičeno sklepamo, da bomo s pravočasnim cepljenjem preprečili bolezen. Primeri takih bolezni so davica, tetanus, oslovski kašelj, rdečke, ošpice, mumps, poliomyelitis, steklina, itd. Pri številnih okužbah pa se imunski odziv sicer razvije, vendar ni tako učinkovit, da bi preprečil ponovitev bolezni, pač pa je ponovna bolezen lahko le nekoliko blažja – lep primer je tuberkuloza. Pri takih boleznih pa seveda ni na prvi pogled jasno, ali je cepljenje smiselno ali ne – za presojo so potrebni temeljiti premisleki o razmerju med neugodnimi (stroški cepljenja, zapleti) in ugodnimi (morebitna manjša zboleznost prebivalstva in koristi tega glede na epidemiološke prilike) učinki cepljenja.

Aids vsekakor ne spada med bolezni, pri katerih bi fiziološko pravilo »enkrat in nikoli več« obetalo možnost učinkovitega cepljenja. Pa ne gre le za pomanjkanje dokazov, da po preboleli bolezni sledi odpornost proti ponovnim boleznim – pri aidsu namreč sploh še ni dokazanega primera, ko bi kdo uspešno prebolel in izkoreninil bolezen. Skratka: nobenega zagotovila ni, da je cepivo proti aidsu sploh fiziološko mogoče. Zato se razvijanje cepiv proti aidsu tudi povsem razlikuje od razvoja običajnih cepiv, pri katerih zgolj izkoristimo normalno, že dokazano zmožnost imunskega sistema, da določeno bolezen prepreči. V zvezi s HIV-okužbo se ne ve, ali je imunski sistem sploh zmožen preprečiti aids – to je zaenkrat zgolj nedokazana predpostavka, ki je lahko tudi napačna, s tem pa seveda že v zasnovi tudi vsi poskusi izdelave učinkovitih cepiv proti aidsu (9).

Običajna cepiva izboljšujemo tako, da za pripravke izbiramo zgolj učinkovite antigene v čim čistejši obliki – seveda mora biti pri tem doseženo znosno razmerje med kakovostjo cepiva in ceno za njegovo pripravo. Kadar nas zanima protitelesna imunost, je preverjanje učinka cepilnega pripravka razmeroma enostavno: z eno od številnih seroloških metod (encimsko-immunski testi, *Western blot*) preverjamo protitelesni odziv po cepivu. Mnogo bolj zapleteno pa je preverjati učinek cepiv na vzbujanje celičnega imunskega odziva. Efektorske celice so v tem primeru citotoksični limfociti T, za učinkovit zagon imunskega odziva pa morajo sodelovati še makrofagi in limfociti T – celice pomagalke. Antigeni v tem primeru niso beljakovine, ampak njihovi posamezni odseki – peptidi, ki jih za zagon imunske reakcije izberejo molekule MHC I (pri človeku HLA A, HLA B in HLA C) in MHC II (HLA DQ, HLA DP in HLA DR). Molekule MHC torej za zagon imunske reakcije vežejo peptide, nastale po encimski razgradnji povzročiteljev. Ker so molekule MHC v okviru iste vrste zelo polimorfne, posamezne različice molekul, ki jih ima določen posameznik, izbirajo različne peptide povzročitelja za zagon imunske reakcije. To pomeni, da enak povzročitelj pri različnih ljudeh praviloma vzbudi nastanek celičnega imunskega odziva proti različnim peptidom (8).

Izbor antigenov za celično imunsko reakcijo je torej zelo odvisen od kombinacije molekul MHC, ki jo ima določen posameznik. Beljakovina, ki vzbudi ugodno (zaščitno) protimikrobno imunost pri enem človeku, morda pri drugem človeku sploh ne učinkuje kot antigen, ker je njegove molekule MHC sploh ne »izberejo« za predstavljanje imunskim celicam. Zato je načrtovanje cepiv, ki naj bi vzbudila predvsem celični imunski odziv, dokaj negotovo in lahko njihovo učinkovitost potrdijo izključno obsežne klinično-epidemiološke študije, ki ugotovijo značilno ugodne učinke cepiva na zbolewnost ljudi. Laboratorijski kazalci so za preverjanje celične imunosti namreč veliko manj informativni, kot so za preverjanje protitelesne imunosti – pri slednjem pač spremljamo koncentracijo protimikrobnih protiteles. Za ugotavljanje celične imunске reakcije lahko merimo, kako se limfociti cepljenega človeka v kulturi razmnožujejo, če kulturi dodamo mikrobne antigene (test specifične transformacije limfocitov), po drugi strani lahko merimo, kako limfociti cepljenega človeka v kulturi ubijajo okužene celice (test specifične citotoksične reakcije) – vseeno pa rezultati takih testov razmeroma slabo napovedujejo, kako bi se cepljen človek klinično odzval na okužbo (9).

Težava pri načrtovanju cepiv, usmerjenih v celični imunski odziv, je torej zlasti v pomanjkanju laboratorijskih kazalcev, ki bi dobro napovedovali uspeh cepiva med njegovim razvijanjem. Cepivo na primer lahko deluje na poskusnih živalih in lahko vzbudi močan protitelesni odziv pri ljudeh, lahko celo ustrezne laboratorijske celične imunске odzive, vendar so vsi omenjeni »pozitivni« rezultati zelo negotovo zagotovilo za uspeh cepiva v kliničnem poskusu. Pri teh cepivih je prvi resen preizkus njihovega delovanja na žalost šele klinično-epidemiološka študija, pri kateri cepimo veliko število »poskusnih« prostovoljcev, nato pa epidemiološko spremljamo cepljeno skupino in jo glede na zbolewnost primerjamo s kontrolno, necepljeno skupino.

Ker vse kaže, da je v primeru okužbe s HIV dejaven predvsem celični imunski odziv, je razvoj ustreznega cepiva pred dvojno težavo. Po eni strani sploh ni jasno, ali je imunost proti aidsu fiziološko mogoča – če pa je že, gre verjetno za celično imunost, zato je potencialno cepivo moč zares razvijati samo na ljudeh, v obliki klinično-epidemioloških študij. Zaradi nekaterih nejasnosti v poznavanju patogenetskih mehanizmov aidsa ni mogoče zanesljivo trditi, kdaj so pripravki HIV-cepiv zares »varni« za cepljenega. Zato je razvijanje cepiva proti aidsu v klinični fazi (katere rezultati pa v tem primeru edini kaj pomenijo) izjemno težavno: poskusi na neokuženih ljudeh so etično močno vprašljivi, poskusi na že okuženih ljudeh pa so z vidika imunopatogeneze bolezni neprepričljivi, kajti pri ljudeh, ki so že »odreagirali proti svojemu HIV« in so njihove molekule MHC že izbrale svoje antigene, ni povsem jasno, kaj naj bi z naknadnim cepljenjem sploh skušali doseči. Zlasti, ker najnovejša spoznanja kažejo, da potek bolezni v glavnem odloči imunska reakcija proti virusu v začetnem obdobju okužbe (3–6).

Virus opičje imunске pomanjkljivosti – opičji model za aids in njegov vpliv na razvoj cepiv

Zaradi opisanih težav je upanje v zvezi z uspešnim cepivom proti aidsu v zadnjih letih precej uplahnilo. Med redkimi obetavnejšimi dogodki na tem področju so gotovo rezultati uporabe cepiv proti HIV na opicah.

Že nekaj časa je znano, da lahko HIV okuži tudi šimpanze, vendar okužba ne povzroči aidsa. Zato ima preučevanje okužbe s HIV na šimpanzih zelo omejeno uporabnost za razumevanje človeške okužbe, še manj pa lahko iz nje sklepamo o morebitnih pripravkih cepiv. Pač pa so se v 80. letih pojavila poročila o drugi vrsti opic – makakih, ki po okužbi z virusom opičje imunske pomanjkljivosti (angl. *simian immunodeficiency virus*, SIV) zbolijo za aidsom. SIV spada v družino lentivirusov (enako kot HIV), s HIV ga veže tudi podobna organizacija genoma in tropizem za limfocite T CD4+. SIV podobno kot drugi primatski lentivirusi v svojih tipičnih, naravnih, prilagojenih gostiteljih povzroči kronično okužbo brez bolezenskih simptomov. Makaki opice niso naravni gostitelji SIV. Aids pri makaki opicah je posledica prenosa SIV z ene od opičjih vrst, ki so naravni gostitelji in okužbo preživljajo brez bolezenskih znakov. Podoben prenos lentivirusov s prilagojenih primatskih vrst na neprilagojeno – človeško vrsto se je po vsej verjetnosti zgodil tudi v primeru HIV (10).

Iskanje cepiva proti SIV je seveda samo raziskovalni model, katerega neposredni cilj ni izdelava cepiva proti HIV. Vendar je zaradi podobnosti aidsa pri ljudeh in makaki opicah precej verjetno, da bi bila izdelava uspešnega cepiva proti SIV dobro napotilo, v katero smer razvijati cepivo proti HIV, da bi delovalo. Ker je na žalost klinični preizkus edina verodostojna metoda za razvijanje tovrstnih cepiv, okužba s HIV pa prenevarna za etično sprejemljivo klinično preizkušanje, je opičji raziskovalni model edina možnost, kako razvoj cepiv proti HIV premakniti z mrtve točke.

V preteklem desetletju se je izkazalo, da je s cepljenjem izjemno težko doseči tako imunost proti SIV, ki bi preprečila razvoj aidsa pri makaki opicah. Pogosto je po cepljenju nastala imunost izključno proti tistemu sevu SIV, s katerim je bila opica imunizirana, ne pa proti drugim sevom. Pa ne le to. Imunost pogosto ni ščitila niti proti istemu sevu virusa, iz katerega je bilo cepivo, če je bil virus medtem *in vitro* kultiviran na drugačnih celičnih kulturah in šele nato uporabljen za okužbo cepljene opice. Vse to kaže, da je SIV (podobno kot HIV) izjemno spremenljiv in prilagodljiv, obenem pa imunski odziv zelo slabo nadzira spremenjene različice virusov (11).

Poskusi izdelave cepiva proti SIV kažejo, da je najboljšo zaščito mogoče doseči s cepljenjem z živimi virusi, ki jih v laboratoriju oslabijo tako, da jim z gensko tehnologijo odstranijo nekatera genska področja (najpogostejši so delecijski mutanti »nef« gena, ki sicer virusu omogoča njegovo izjemno hitro podvajanje – nastali mutanti se zato podvajajo mnogo počasneje kot normalni virusi). Rezultati teh poskusov sicer niso neposredno obetavni za razvoj cepiv pri ljudeh, zaradi varnosti je namreč malo verjetno, da bi bilo oslabiljene, genetsko spremenjene seve HIV mogoče preizkušati na ljudeh. Vendar so omenjeni poskusi omogočili prvi dokaz, da je imunost proti SIV mogoče doseči (čeprav težko). Verjetno je položaj v zvezi s HIV podoben. Ti poskusi so tudi pokazali, da cilj tovrstnega cepljenja ni toliko v preprečevanju okužb in preprečevanju naselitve virusa v telesu kot v uspešnem imunskem nadzoru virusa v toku kronične okužbe. Poskusi kažejo, da bi bilo smiselno cepiti neokužene ljudi. Namen cepiva ne bi bil v preprečitvi okužbe s HIV, pač pa bi cepljenje omogočilo predvsem nagel, ustrezno usmerjen in dovolj agresiven imunski odziv v zgodnji fazi okužbe. Študije na opicah (in v zadnjem času tudi na ljudeh) kažejo, da take vrste imunski odziv pomeni uspešen dolgoročni nadzor virusa v telesu in ne vodi v razvoj aidsa (12).

Sklep

Iskanje cepiva proti HIV se opira na rezultate imunoloških študij, ki ugotavljajo, kateri virusni antigeni pri okuženem vzbudijo nastanek protivirusnega imunskega odziva. Večji del učinkovitega protitelesnega odziva nastane proti dvema HIV-beljakovinama, gp120 in gp41, zato sta omenjeni beljakovini najpogostejši kandidatki za eksperimentalna cepiva. Verjetno pa je za imunsko zaščito pred aidsom pomembnejša celična imunost. Poskusi na opicah kažejo, da so kot cepivo uporabni živi, mutirani virusi, ki sicer ne preprečijo kasnejše virusne okužbe, vendar je le-ta dobro nadzorovana s strani imunskega sistema.

Literatura

1. Paul WE. Can the immune response control HIV infection. *Cell* 1995; 82: 177–82.
2. Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, Chen W, Leonard JM, Markowitz M. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* 1995; 373: 123–6.
3. Nowak MA, Bangham CRM. Population dynamics of immune responses to persistent viruses. *Science* 1996; 272: 74–9.
4. Zinkernagel RM. Are HIV-specific CTL responses salutary or pathogenic? *Curr Biol* 1995; 7: 462–70.
5. Franco A, Ferrari C, Sette A, Chisari FV. Viral mutations, TCR antagonism, and escape from the immune response. *Curr Biol* 1995; 7: 524–31.
6. Sattenau QJ. Neutralisation of HIV-1 by antibody. *Curr Opin Immunol* 1996; 8: 540–5.
7. Roitt I. Immunity to infection. In: Roitt I. *Essential Immunology*. London: Blackwell, 1988.
8. Couch RB. Vaccines. In: Rich RR. *Clinical immunology*. St. Louis: Mosby, 1996: 594–608.
9. Bremermann HJ. Mechanism of HIV persistence: implications for vaccines and therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1995; 9: 459–83.
10. Scott EJ. Anti-cell antibody in macaques. *Nature* 1991; 353: 93.
11. Wyand MS, Manson KH, Garcia - Molt M, Montefiori D, Desrosiers RC. Vaccine protection by a triple deletion mutant of simian immunodeficiency virus. *J Virol* 1996; 70: 3724–33.
12. Autran B, Hadida F, Haas G. Evolution and plasticity of CTL responses against HIV. *Curr Opin Immunol* 1996; 8: 546–53.

Prispelo 9. 6. 1997