

# Antivirusni lijekovi

---

**Đuzel, Matea**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2023**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, Faculty of Science / Sveučilište u Splitu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:166:438501>

*Rights / Prava:* [Attribution 4.0 International](#)/[Imenovanje 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-04**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Science](#)



Sveučilište u Splitu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Odjel za biologiju

Matea Đuzel

# **Antivirusni lijekovi**

Završni rad

Split, 2023.

Sveučilište u Splitu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Odjel za biologiju

Matea Đuzel

# **Antivirusni lijekovi**

Završni rad

Split, 2023.

Ovaj rad izrađen u Splitu pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Elme Vuko, predan je na ocjenu Odjelu za biologiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Splitu radi stjecanja zvanja prvostupnica biologije.

Sveučilište u Splitu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Odjel za biologiju  
Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Hrvatska

## ANTIVIRUSNI LIJEKOVI

Matea Đuzel

Iako su virusi važan dio ljudskog mikrobioma i cjelokupnog ekosustava, najpoznatiji su kao uzročnici bolesti. Stoga su razvijeni antivirusni lijekovi, odnosno supstance koje uz postojeća cjepiva kontroliraju bolesti uzrokovane virusima. Upotreba antivirusnih lijekova dopuštena je za infekcije uzrokovane varicella-zoster virusom, humanim citomegalovirusom, virusom ljudske imunodeficijencije, humanim papiloma virusom, respiratornim sincicijskim virusom, herpes simplex virusom, virusom hepatitisa B i C te virusom influence. Antivirusni lijekovi djeluju direktno na viruse ili inhibiraju stanične komponente koje su neophodne za životni ciklus virusa, primjerice ulazak virusa u stanice, odmotavanje i replikaciju virusa, djelovanje integraza i proteaza ili izlazak virusa iz stanice. Antivirusna rezistencija koja nastaje zbog učestalih mutacija virusnog genoma koje mijenjaju ciljne strukture lijekova, sve je veći klinički problem. Kombinirana terapija od dva ili više lijekova pokazuje dobre rezultate u sprječavanju razvitka rezistencije virusa na lijekove. Ubrzani razvoj znanosti i tehnologije pridonosi otkriću novih antivirusnih lijekova te novih mehanizama njihova djelovanja pa antivirusni lijekovi uz cijepljenje predstavljaju moćan alat za borbu protiv virusnih infekcija i potencijalnih virusnih pandemija.

**Ključne riječi:** virusi, antivirusni lijekovi, aciklovir, cidofovir, zidovudin, antivirusna rezistencija

Rad je pohranjen u knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu.

**Rad sadrži:** 34 stranice, 7 slika. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

**Mentor:** Izv. prof. dr. sc. Elma Vuko, PMF, Split

**Ocjenjivači:** Izv. prof. dr. sc. Elma Vuko, PMF, Split

Izv. prof. dr. sc. Sanja Puljas, PMF, Split

Doc. Dr. sc. Željana Fredotović, PMF, Split

Rad prihvaćen: srpanj, 2023.

University of Split  
Faculty of Science  
Department of Biology  
Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Croatia

## ANTIVIRAL DRUGS

Matea Đuzel

Although viruses are an important component of the human microbiome and the entire ecosystem, they are known primarily as causative agents of disease. Therefore, antiviral drugs have been developed as substances that fight diseases caused by viruses in addition to existing vaccines. Antiviral drugs may be used for infections caused by varicella-zoster virus, human cytomegalovirus, human immunodeficiency virus, human papillomavirus, respiratory syncytial virus, herpes simplex virus, hepatitis B and C virus, and influenza virus. Antiviral drugs act directly on viruses or inhibit cellular components necessary for the virus life cycle, such as virus entry into the cell, virus unfolding and replication, integrase and protease activity, or virus exit from the cell. Antiviral resistance, which results from common mutations in the viral genome that alter drug targets, is a growing clinical problem. Combination therapy of two or more drugs shows good results in preventing the development of viral resistance to drugs. Rapid development of science and technology is contributing to the discovery of new antiviral drugs and new mechanisms of action, making antiviral drugs, together with vaccination, an effective tool to combat viral infections and potential viral pandemics.

**Key words:** viruses, virus life cycle, antiviral drugs, acyclovir, cidofovir, zidovudine, antiviral resistance

Thesis deposited in library, Faculty of science, University in Split

**Thesis consist of:** 34 pages, 7 pictures. Original language is Croatian.

**Mentor:** Ph.D. Elma Vuko, *Associate Professor of Faculty of Science, University of Split*

**Reviewers:**

Ph.D. Elma Vuko, *Associate Professor of Faculty of Science, University of Split*

Ph.D. Sanja Puljas, *Associate Professor of Faculty of Science, University of Split*

Ph.D. Željana Fredotović, *Assistant Professor of Faculty of Science, University of Split*

Thesis accepted: July, 2023

# **IZJAVA**

Kojom izjavljujem s punom materijalnom i moralnom odgovornošću da sam završni rad s naslovom

## **ANTIVIRUSNI LIJEKOVI**

izvodila samostalno pod voditeljstvom izv. prof. dr. sc. Elme Vuko. U radu sam koristila literaturu koja je navedena na kraju završnog rada. Tuđe spoznaje, stavove, zaključke, teorije i zakonitosti koje sam izravno ili parafrazirajući navela u završnom radu na uobičajen, standardan način sam citirala.

Studentica: Matea Đuzel

## Sadržaj

1. UVOD .....	1
2. RAZRADA TEME.....	3
2.1. Građa virusa.....	3
2.2. Replikacija virusa .....	4
2.3. Humani virusi .....	8
2.4. Antivirusni lijekovi.....	12
2.5. Mehanizam djelovanja antivirusnih lijekova.....	13
2.5.1. Inhibicija vezivanja i ulaska virusa u stanicu.....	14
2.5.2. Inhibitori odmotavanja virusa .....	15
2.5.3. Inhibitori replikacije virusa.....	17
2.5.4. Inhibitori integraza.....	22
2.5.5. Inhibitori sastavljanja virusnih čestica (inhibitori proteaza).....	22
2.5.6. Inhibitori otpuštanja virusnih čestica .....	23
2.5.7. Interferoni .....	24
2.6. Antivirusna rezistencija .....	26
2.6.1. Čimbenici koji pridonose razvoju rezistencije.....	26
2.6.2. Virusi koji su razvili rezistenciju i kliničke tegobe.....	27
2.6.2.1. Herpes simplex virus.....	27
2.6.2.2. Varicella-zoster virus .....	28
2.6.2.3. Humani citomegalo virus .....	28
2.6.2.4. Virus hepatitisa B.....	29
2.6.2.5. Humani virus imunodeficijencije.....	29
3. ZAKLJUČCI .....	31
4. LITERATURA .....	32



## 1. UVOD

Virusi za razliku od organizama (uključujući mikroorganizme), nemaju staničnu građu, nego su njihove čestice kompleksi makromolekula. Uz nukleinsku kiselinu (DNA ili RNA), koja čini njihov genetski materijal, redovito sadrže i proteinski omotač ili kapsidu; kapsida i nukleinska kiselina tvore nukleokapsidu. Neki virusi imaju i vanjsku ovojniciu, koja potječe od membrane stanice u kojoj je virus nastao, a s njezine površine strše glikoproteinski izdanci. Virusi se razlikuju veličinom, oblikom i građom svojih čestica. U definiciju živog svijeta uklapaju se po tome što imaju svoj genetički materijal i proteine, a od živog svijeta razlikuje ih način razmnožavanja te činjenica da nemaju sebi svojstven metabolizam. Stoga su virusi čestice koje se nalaze na granici živog i neživog svijeta. Virusi su stanični paraziti, pa se mogu umnožavati samo unutar žive stanice, a laboratorijski se uzgajaju u pokusnim životinjama, u oplodjenim kokošnjim jajima ili u staničnoj kulturi ljudskog ili životinjskoga podrijetla. Stanice u kojima parazitiraju nazivamo stanicama domaćina. Njihov životni ciklus nazivamo i ciklusom infekcije. U zaraženoj stanici mogu nastati geometrijski pravilne inkluzije sastavljene od virusnih čestica ili pak nepravilne inkluzije heterogenoga sastava, koje uključuju virusne čestice i ponekad stanične organele promijenjene virusnom infekcijom. Virusni su uzročnici infekcija od kojih su neke blaže, a druge mogu biti opasne po život. Svaki virus ima više antigena (virusne bjelancevine i glikoproteini) koji u ljudskom i životinjskom organizmu potiču nastajanje specifičnih protutijela, pa se nakon preboljenja nekih virusnih bolesti može steći trajan imunitet (web 1).

Viruse je ipak pogrešno smatrati samo uzročnicima bolesti jer organizmi kao i cijeli ekosistemi imaju koristi od virusa s kojima žive. Tako su virusi sastavni dio ljudskog mikrobioma te kao takvi mogu biti korisni u borbi organizma protiv različitih bolesti, a doprinijeli su i evoluciji živog svijeta. Poznato je da 8% virusnih gena u ljudskome genomu nisu samo fosili virusa koji su nas nekoć inficirali jer primjerice, jedan od gena kojeg smo naslijedili od virusa upravlja nastankom posteljice. Danas znamo da cvjetanje mora prestaje upravo djelovanjem virusa što ukazuje na pozitivnu ulogu virusa u očuvanju biološke raznolikosti.

Nedavna pandemija izazvana koronavirusom dovela nas je u situaciju u kojoj je jedan virus preuzeo kontrolu nad čovječanstvom. Posljednji virusni događaj takvih razmjera bila je španjolska

gripa. Neminovno je da će novih virusa biti i u budućnosti. Stoga najviše zanimanja pobuđuju virusne infekcije koje mogu ugroziti život pojedinca, društva pa čak i svijeta. Da bi se virusne bolesti suzbile ili spriječile, uz već postojeća cjepiva razvijaju se antivirusni lijekovi. Kombinirana primjena lijekova i cjepiva je stavila pod kontrolu ili u potpunosti izbrisala neke od virusa ili bolesti uzrokovanih virusima. Bolest velikih boginja uzrokovana virusom variole je nepoznata današnjem svijetu jer je 1977. godine virus iskorijenjen iz populacije uporabom cjepiva (Benenson, 1997). Bolest AIDS čiji je uzročnik virus ljudske imunodeficijencije (HIV), imala je visoku stopu smrtnosti do otkrića odgovarajućeg antivirusnog lijeka.

Antivirusni lijekovi se razlikuju po sastavu, strukturi, mehanizmu djelovanja, nuspojavama, uspješnosti i slično. Mehanizam djelovanja antivirusnih lijekova je relativno jednostavan, a temelji se na činjenici da ciljno mjesto učinka trebaju biti komponente koje su bitne i nezamjenjive u nekoj od faza životnog ciklusa virusa s ciljem prekida infektivnog ciklusa i sprječavanja nastanka novih virusnih čestica. Cilj ovoga završnog rada je objasniti poznate mehanizme djelovanja antivirusnih lijekova i rastuću stopu virusne rezistencije na lijekove te perspektivu koju nam nudi ubrzani razvoj znanosti i tehnologije koje stalno otkrivaju nove lijekove i nove mehanizme njihova djelovanja, što će i u budućnosti uz cijepljenje biti moćan alat za liječenje virusnih bolesti i borbu protiv epidemija ili pandemija uzrokovanih virusima.

## 2. RAZRADA TEME

### 2.1. Građa virusa

Polemika oko pitanja jesu li virusi živi organizmi ili nežive tvari još nije razriješena jer znanstvenici svakodnevno otkrivaju nove činjenice kojima nadopunjujemo postojeća znanja o svijetu virusa. Znamo da virusi za svoj „životni ciklus“ zahtijevaju domaćina u kojem će umnožiti svoj genetski materijal i iz kojega će naposljetku izaći nove virusne čestice spremne za ciklus infekcije. Viruse možemo smatrati makromolekularnim kompleksima koji su nastali putem biološke evolucije i koji imaju sposobnost umnožavanja svoga genoma pomoću mašinerije stanice domaćina. Virusi su građeni od nukleoproteina, pri čemu genom čini nukleinska kiselina, a sve ostale strukture su nakupine proteina. Na temelju građe, viruse možemo podijeliti na one sa ovojnicom i bez ovojnice. Ovojnica virusa je zapravo sloj lipida. Virusi bez ovojnice sastoje se od genetičkog materijala i proteinske kapside. Virusi sa ovojnicom imaju kapsidu obavijenu lipidnom ovojnicom, tj. dvoslojem koja u svojoj strukturi može sadržavati i neke proteine, ovisno o složenosti virusa. Kod složenih virusa u unutrašnjosti kapside mogu biti prisutni i dodatni proteini (Mateu, 2013).

Kapsida virusa je oligomerni ili multimerni kompleks sastavljen od jedne vrste proteina ili od više njih. Kapsidu gradi kapsidni protein. Proteini se sklapaju u pravilne kvarterne strukture, najčešće spiralnog i ikozaedralnog tipa. Spiralne kapside zahtijevaju manju geometrijsku točnost te imaju mogućnost beskonačnog spiraliziranja, što znači da njihova veličina nije ograničena. Veličinu kapside ograničava veličina genoma koji je upakiran u nju. Ikozaedralne kapside nemaju geometrijsku slobodu kao spiralne jer su sačinjene od točno šezdeset jednakih kapsidnih proteina, što ograničava veličinu virusnog genoma. Virusi su prostor za evolucijsko napredovanje pronašli i u različitim konformacijama kapsidnog proteina, čime se može povećati površina ikozaedra. Veličina virusa koji imaju ikozaedralnu kapsidu na kojoj se nalazi i lipidna ovojnica je znatno veća od virusa ikozaedralne strukture bez ovojnice. Takav virus poprima sferoidni oblik. Primjer je herpesvirus (herpes simplex virus tip 1) čija je kapsida obavijena proteinskim slojem, tj. tegumentom, a na tegument se naslanja lipidna ovojnica. Ove dvije strukture znatno doprinose veličini, tj. promjeru virusa. Ipak, ne možemo jednoznačno odrediti građu kapsida i virusa jer

postoje mnogobrojne varijacije kao što su virusi pleomorfnog oblika, virusi s lipidnom ovojnicom unutar kapside i slično (Mateu, 2013).

Virusi pokazuju varijabilnost i u vrsti nukleinskih kiselina koje predstavljaju njihov genom. Mogu sadržavati jednolančane i dvolančane molekule obiju nukleinskih kiselina, RNA i DNA. Za replikaciju DNA potrebna je početnica. Većina dvolančanih DNA (dsDNA) virusa replicira se istim načinom kao i stanična DNA. Međutim, adenovirusi i hepadnavirusi za početnicu koriste virusni protein. Pri tome se deoksiribonukleotidi dodaju na slobodan -OH kraj aminokiseline koja je kodirana virusnim genomom (O Carrol i Rein, 2015). Jednolančani DNA virusi (ssDNA) uključuju viruse sa najmanjim genomom. Zbog toga u potpunosti ovise o staničnoj mašineriji domaćina i najčešće kodiraju samo jedan strukturni protein. SsDNA virusi se repliciraju mehanizmom sličnom replikaciji kotrljajućeg kruga. Za sintezu mRNA ovi virusi ne koriste ssDNA, već dsDNA koja zaostaje u inficiranoj stanici. Virusi iz porodice Nanoviridae imaju genom koji veličinom odskače od ostalih ssDNA virusa pa ga pakiraju fragmentarno u različite kapside. DsRNA virusi nose jedan ili više segmenata RNA molekula unutar kapside, a svaka od tih molekula kodira po jedan protein. Osim toga, u kapsidi se dodatno nalazi i RNA polimeraza. Nakon ubacivanja svog genoma u stanicu domaćina slijedi prijepis u mRNA. Ta prepisana RNA se pakira u novonastalu kapsidu u kojoj će je reverzna transkriptaza prepisati u komplementarni lanac te tako formirati dsRNA u kapsidi samog novonastalog virusa. Kod ssRNA virusa, ubačena RNA služi kao mRNA koja se odmah nakon infekcije translacija u svoj proteinski oblik. Proizvodnja tog proteina potiče replikaciju virusnog genoma uz pomoć RNA polimeraze proizvedene u stanici domaćina (O Carrol i Rein, 2015).

## 2.2. Replikacija virusa

Životni ciklus virusa usko je vezan za žive stanice. Virus se treba vezati za ciljnu stanicu, ubaciti svoj genetički materijal te pokrenuti mašineriju stanice domaćina koja mu je potrebna za uspješno odvijanje vlastitog životnog ciklusa (slika 1). Osim toga, virusi moraju zaobići ili neutralizirati obrambene mehanizme ciljanih stanica. Uspješnost virusne infekcije ovisi o tome tko je, između virusa i stanice, evolucijski korak naprijed. Zahvaljujući brojnosti, evolucijskoj starosti te brzoj promjeni svojih karakteristika, virusi često imaju prednost u ovoj kompeticiji.

Prvi korak virusne infekcije je vezanje na stanicu domaćina. Na membranama stanica postoje različite molekule koje su postale receptorska mjesta za virusne čestice. Te molekule mogu biti osnovni građevni dijelovi membrana stanica kao što su neki proteini, glikolipidi i glikoproteini ili mogu biti rijetke i nespecifične molekule u membranama. Na temelju toga, postoje virusi koji napadaju samo određeni tip stanica zbog specifičnosti sastava membrana te virusi koji se vežu na različite stanice jer su njihovi receptori uobičajene molekule staničnih membrana. Većina virusnih receptora, zbog svoje brojnosti, ima ulogu vezanja i koncentriranja virusnih čestica na površini stanice što znatno doprinosi vjerojatnosti infekcije. Neki receptori imaju i ulogu stvaranja endocitoznog puta te prijenosa signala u citoplazmu stanice domaćina (Smith i Helenius, 2004). Neki receptori vezanjem virusa doživljavaju konformacijske promjene koje olakšavaju prodiranje virusa u stanicu. Virus ne moraju koristiti isključivo jedan tip receptora. Primjerice, HIV se veže za receptore na dendritičkim nastavcima te na receptore stanica jetre i limfnih čvorova. Vezanje virusa uzrokuje konformacijsku promjenu koja povećava dostupnost receptora i fuziju membrana (Smith i Helenius, 2004). Takvi su kemokrini receptori CCR5 koje koriste virusi HIV- R5 i CXCR4 koje koriste virusi HIV-R4 (Ryu, 2017). Osim receptora potrebna je odgovarajuća molekula na kapsuli virusa koja će se direktno vezati za virusni receptor. To su tzv. receptor vezujući proteini među kojima su najčešći šiljasti kapsidni proteini. U virusa bez ovojnice, strukture za vezanje na receptore predstavljaju ispupčenja i udubljenja same kapside (Smith i Helenius, 2004).

Sljedeći korak je endocitoza virusa. Endocitoza podrazumijeva formiranje endocitoznog mjehurića te prenošenje virusa u stanicu. Endocitozom se zaobilaze barijere kao što su stanični citoskelet ili viskozna citoplazma. No, postoji visok rizik razgradnje endosoma staničnim lizosomima. Neki virusi su pronašli rješenje tako što napadaju samo rane endosome u kojima je pH vrijednost malo niža od neutralne što im daje više vremena za putovanje do ciljanog mjesta. Navedeno je primjer endocitoze posredovane klatrinom. Neki virusi se služe endocitozom posredovanim lipidima, odnosno lipidnim splavima. U ovom procesu sudjeluju kaveole, odnosno udubine membrana bogate kolesterolom i sfingomijelinom. Primjerice poliomavirus SV40 se pomiče lateralno duž plazma membrane sve dok se ne nađe unutar kaveola. Nakon toga, put se nastavlja kaveolarnom vezikulom, kaveosomom te konačno glatkim endoplazmatskim retikulumom, putem kojega se virus dalje prenosi u jezgru stanice domaćina. Međutim, nisu svi endocitozni i drugi putevi ulaska virusa u stanicu detaljno razjašnjeni. Na primjer, za virus

influenca se dugo smatralo da u stanice domaćina ulazi endocitozom posredovanom klatrinom, ali novija saznanja pokazuju da virus influenza napada stanice u kojima je produkcija klatrina blokirana. Ne mogu svi virusi ući u stanice endocitozom. Takvi virusi se koriste drugim mehanizmom kojeg jednostavno možemo nazvati prodiranjem ili penetracijom. Prodiranje virusa sa ovojnicom izvodi se procesom membranske fuzije koju kataliziraju fuzijski proteini u virusnoj ovojnici (Smith i Helenius, 2004). Poticaj na fuziju je najčešće konformacijska promjena receptora ili promjena pH vrijednosti u datom okruženju. Kod virusa bez ovojnice navedene dvije promjene uzrokuju pojačanje hidrofobnosti samog virusa što olakšava fuziju sa membranom domaćina.

Sljedeća faza je pronalaženje odgovarajućeg mjesta u stanici gdje će se replicirati virusni genom. Endocitozni mjehurići koji sadrže virusne čestice ili sami ogoljeli virusi putuju stanicom kako bi došli do ciljanog mjesta. Taj proces se naziva „unutarstanični promet“. Mehanizam prijenosa virusa do ciljanog mjesta se odvija transportom posredovanim mikrotubulima zajedno sa endocitozom ovisnoj o receptoru (Ryu, 2017). Na motorni protein dinein nasjeda virus, kojega protein prenosi mrežom mikrotubula. Ovaj mehanizam možemo metaforički predočiti kretanjem vlaka po tračnicama gdje je vlak virus, tračnice su mikrotubuli, a dinein je dio koji povezuje vlak i tračnice bez kojega pokretanje ne bi bilo moguće.

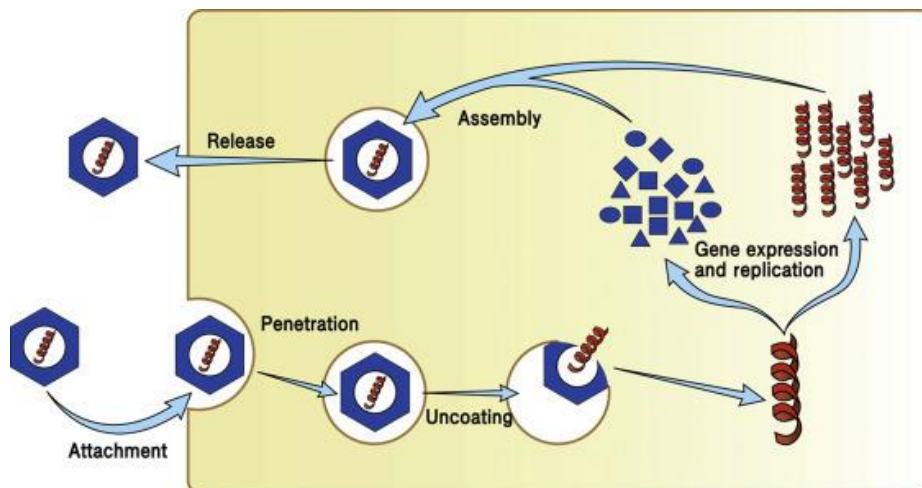
U trenutku kada je virus lokaliziran na ciljanom mjestu slijedi faza odmotavanja. Virusi moraju odbaciti svoju kapsidu kako bi kroz jezgrine pore došli u unutrašnjost jezgre. Virusi čiji je promjer veći od promjera jezgrinih pora prolaze proces odmotavanja. Pritom, takvi virusi mogu odbaciti cijelu kapsidu (herpes virus) ili je mogu djelomično degradirati i tako ući u jezgru stanice (adenovirus). Virusi koji su manjeg promjera direktno ulaze u unutrašnjost jezgre bez prethodnog odmotavanja, odnosno zadržavaju kapsidu. Primjer takvih virusa su poliomavirusi (Ryu, 2017). Otpuštanje kapside unutar stanice je izrazito bitno. U suprotnom, kada bi virus svoju kapsidu odbacio tijekom faza vezanja na membranu stanica i ulaska u stanicu pokrenuo bi se imunološki odgovor domaćina te infekcija ne bi bila uspješna.

Naredna faza je najbitnija faza u životnom ciklusu virusa. To je faza u kojoj dolazi do transkripcije i translacije virusnog genoma kako bi se u sljedećim koracima mogla sastaviti nova virusna čestica koja će započeti sljedeći ciklus infekcije. Postoje četiri različite kategorije virusnih genoma, a to su: dsDNA, ssDNA, dsRNA te ssRNA. Nadalje, ne postoji univerzalni mehanizam

transkripcije prethodno navedenih kategorija, već svaka kategorija može imati više različitih tipova transkripcije, ovisno o vrsti virusa. Prema tome, možemo reći da virusni genomi pružaju primjer gotovo svake zamislive strukturne organizacije. Genomska replikacija RNA virusa može teći jednostavnim načinom multipliciranja već ubačene RNA ili primjerice, kod retrovirusa, virusna RNA se djelovanjem enzima reverzne transkriptaze prepisuje u DNA koja se nakon toga replicira. Ovaj tip virusa kodira određene proteine kojih u stanicama domaćina nema, a koji imaju ulogu u nekim od faza replikacije virusa. DNA virusi moraju transkribirati već postojeću DNA u mRNA koja ulazi u proces translacije te moraju replicirati svoju DNA koja će se u narednim koracima upakirati u proteinsku kapsidu. Virusne gene ovih virusa možemo podijeliti na rane i kasne gene. Rani geni koji kodiraju katalitičke i regulatorne proteine transkribiraju se prije početka replikacije virusnog genoma. Kasni geni koji kodiraju strukturne komponente kapside i ovojnice transkribiraju se tek nakon replikacije genoma. Osim toga, bitna je i veličina virusa. Utvrđeno je da veći virusi koji imaju i veći genom kodiraju svoje enzime i proteine bitne za replikaciju, tj. ne koriste u potpunosti mašineriju domaćina. Manji virusi koji nose manji broj gena koriste se isključivo onime što mogu pronaći u stanici, a bitno im je za replikaciju (Rampersad i Tennant, 2018).

Kada je virus prikupio sve potrebne komponente virusne čestice, napušta stanicu domaćina u obliku u kojem je i ušao. Prvi korak izlaska je formiranje kapside i pakiranje genoma u kapsidu. Ovi koraci se mogu događati istovremeno ili razdvojeno. Primjerice, Piconavirusi se formiraju tako da se prvo izgradi kapsida u koju preko pore ulazi RNA. Nasuprot tome, kod Adenovirusa formiranje kapside i pakiranje DNA se događa istovremeno (Ryu, 2017). Nakon toga, virus mora izaći iz stanice. Većina virusa sa ovojnicom iz stanice izlazi egzocitozom pri čemu se na membranama stanica domaćina formiraju "pupovi" pa se sam proces naziva pupanjem. Virusi bez ovojnice izazivaju lizu, tj. pucanje stanice.

Zadnji korak životnog ciklusa virusa je dozrijevanje koje se odvija u vanstaničnom prostoru. Ovo je važan proces kojim virusi dobivaju mogućnost daljnje infekcije. Na primjer, kod retrovirusa se u tom koraku cijepa *gag* protein djelovanjem enzima aspartat proteaze koja se nalazi samo u česticama oslobođenog virusa. Dolazi do kondenzacije kapside, odnosno značajne morfološke promjene zbog koje je retrovirusima olakšano prodiranje u stanicu domaćina (Ryu, 2017).



Slika 1. Životni ciklus virusa (web 2)

### 2.3. Humani virusi

Domaćini virusa mogu biti bakterijske, biljne i animalne stanice. U nastavku rada obrađeni su virusi koji su potaknuli razvitak antivirusnih lijekova (slika 2). Korištenje antivirusnih lijekova dopušteno je samo za niže opisanih devet virusa, uzročnika humanih virusnih infekcija.

Virus ljudske imunodeficijencije (HIV) je virus za kojega se smatra da se raširio iz Afrike, kao posljedica konzumiranja mesa primata. Stoga je HIV zoonoza, odnosno bolest koja se prenosi sa životinja na ljude. HIV pripada obitelji Retroviridae. Promjera je od 95 do 166 nm, sadrži jednolančani RNA genom koji kodira 15 proteina. Postoje dva soja virusa, HIV 1 i HIV 2 koji se dalje mogu kategorizirati u dodatne podtipove, ovisno o stupnju rekombinacije. HIV je uzročnik AIDS-a, bolesti u kojoj je imunološki sustav teško oštećen zbog čega i manji prodor patogena može dovesti do za život ugrožavajućih ishoda. HIV se prenosi krvlju i tjelesnim tekućinama, najčešće spolnim kontaktom, dijeljenjem narkomanskog pribora, s majke na dijete nakon porođaja te transfuzijom krvi. Razdoblje inkubacije može trajati od 8 do 11 godina. Osim navedenoga, HIV može uzrokovati rak pluća, kardiovaskularne bolesti, limfome, psihičke poremećaje i slično. Razmjeri ove infekcije jasni su iz podatka da je samo 2014. godine zabilježeno 1.5 milijuna smrtnih slučajeva uzrokovanih HIV infekcijom (De Clercq, 2016).



Virus influence ili gripe pripada obitelji Orthomyxoviridae. Čestica je promjera od 84 do 170 nm, sadrži jednolančani RNA genom te kodira 11 ili 12 proteina ovisno o soju. Uzročnik je epidemije španjolske gripe koja je poharala svijet 1918. godine. Pretpostavka je da je ovaj virus uzrokovao pandemiju u 16. stoljeću. Postoje tri tipa virusa influence (A, B, C). Tipovi se mogu podijeliti u podtipove ovisno o glikoproteinu kojeg imaju na svojoj ovojnici. Virusi influence A i B uzrokuju pandemije ljudi dok virus influence C najčešće uzrokuje kratke i blage simptome te nije uzročnik pandemija. Infekcija virusom gripe je također zoonoza pa su poznate ptičja gripa, svinjska gripa i slično. Vrijeme inkubacije traje od jedan do četiri dana. Moguće zdravstvene komplikacije koje prate gripu su upala pluća, encefalitis, upala uha, bronhitis i slično. Pretpostavlja se da svake godine od gripe smrtno strada od 250 000 do 500 000 ljudi (De Clercq, 2016).

Humani papilomavirus (HPV) pripada obitelji Papillomaviridae. Promjera je od 65 do 120 nm, sadrži kružni dvolančani DNA genom koji kodira 9 virusnih bjelančevina. Obuhvaća preko 200 sojeva koji se razlikuju po kapsidnom proteinu. Iako virus inficira i životinje, nije utvrđen nijedan slučaj prijenosa sa životinje na čovjeka i obratno. Prenosi se izravnim kontaktom preko kože, a vrijeme inkubacije je u prosjeku tri mjeseca. Uzročnik je 90% slučajeva raka vrata maternice, pri čemu su najinfektivniji sojevi HPV-16 i HPV-18. Drugi sojevi su uzročnici kožnih i genitalnih bradavica. HPV uzrokuje oko 250 000 smrti godišnje (De Clercq, 2016).

Virus hepatitisa B (HBV) je član porodice Hepadnaviridae. Promjera je od 42 do 46 nm i sadrži kružnu dvolančanu DNA koja kodira šest virusnih proteina. Postoji 8 sojeva koji se dodatno mogu podijeliti u podsojeve. Pretpostavlja se da virus potječe iz šišmiša, koji su ga prenijeli na primata preko kojih je dospio i do ljudi. Prenosi se krvlju i spolnim putem. Inkubacija traje tri mjeseca. Zdravstvene komplikacije kod oboljelih su anoreksija te rak jetre. Godišnje uzrokuje oko 800 000 smrtnih slučajeva (De Clercq, 2016).

Virus hepatitisa C (HCV) pripada obitelji Flaviviridae. Promjera je od 45 do 86 nm te sadrži jednolančani RNA genom koji kodira 10 proteina. Može se podijeliti u sedam sojeva od kojih su 1 i 2 glavni uzročnici bolesti. Podrijetlo hepatitisa C nije točno utvrđeno, ali pretpostavlja se da su primati rezervoari ovog virusa. Prenosi se krvlju, a učestalo se javlja kod ovisnika o narkoticima zbog dijeljenja igle. Inkubacija traje dva mjeseca. Najčešća komplikacija koja nastaje kod

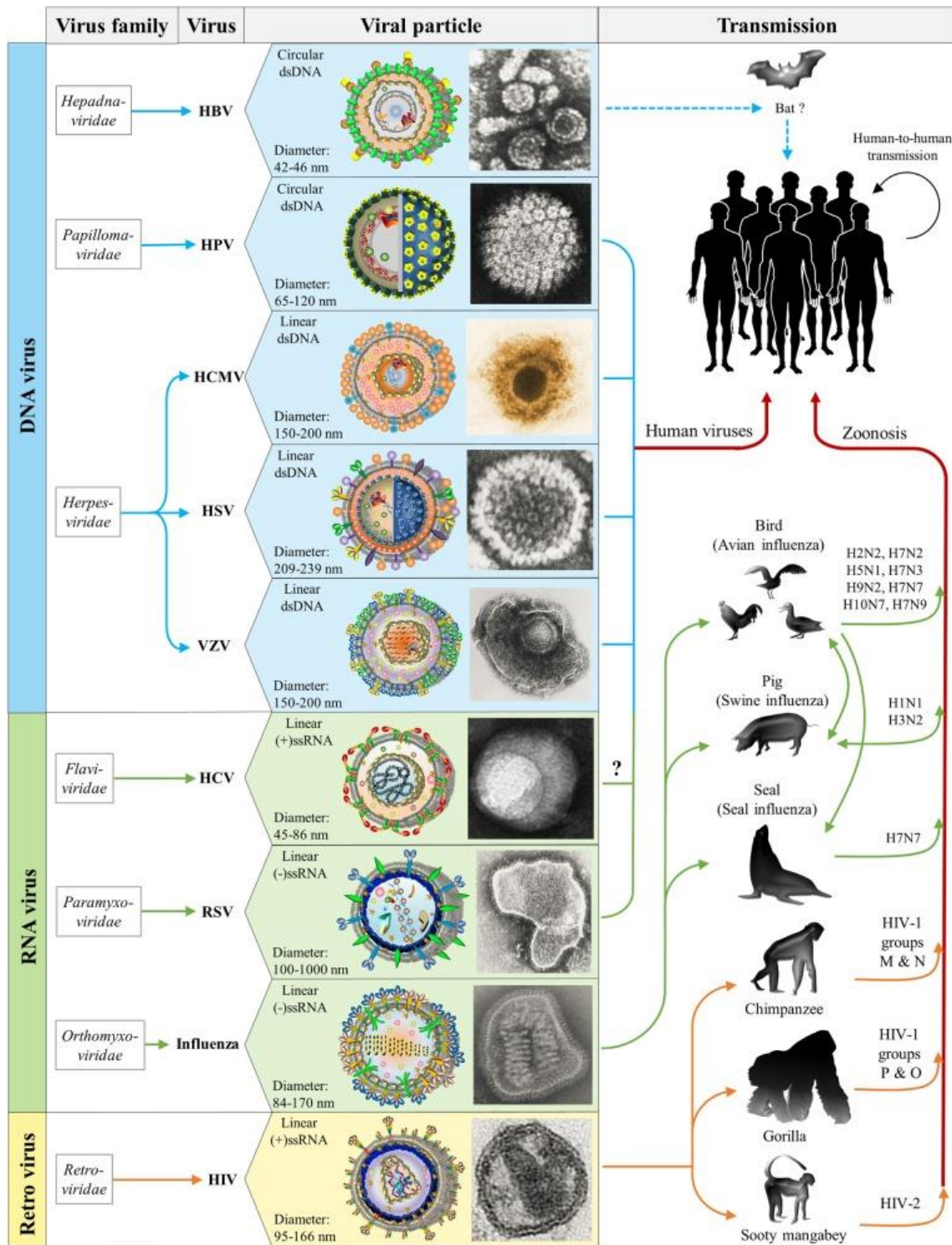
zaraženih hepatitisom C je ciroza jetre, a može uzrokovati i rak jetre. Godišnje smrtno strada pola milijuna ljudi inficiranih hepatitisom C (De Clercq, 2016).

Humani citomegalovirus (HCMV) pripada obitelji Herpesviridae. Promjera je od 150 do 200 nm te sadrži dvolančani DNA genom. Postoje četiri soja, gB1, gB2, gB3 i gB4 koji inficiraju samo ljude. Prenosi se krvlju i tekućinama te se može prenijeti dojenjem s majke na dijete. Vrijeme inkubacije je od 3 do 12 tjedana. Kliničke komplikacije koje se javljaju uz zarazu su: upala pluća, upala središnjeg živčanog sustava, mononukleoza, hepatitis, pankreatitis. Infekcija ovim virusom povezana je sa visokom stopom mortaliteta pacijenata nakon transplantacije organa (De Clercq, 2016).

Herpes simplex virus (HSV) pripada obitelji Herpesviridae. Promjera je od 209 do 239 nm, a njegov dvolančani DNA genom sadrži 84 gena. Inficira samo ljude. Poznata su dva soja, HSV1 i HSV2. HSV1 se najčešće prenosi oralnim putem i uzročnik je kožnih lezija i čireva. Može uzrokovati i upalu pluća, encefalitis i drugo. HSV2 se prenosi spolnim kontaktom i uzročnik je lezija genitalnog područja. Vrijeme inkubacije traje od 2 do 12 dana.

Respiratorni sincicijski virus (RSV) pripada obitelji Paramyxoviridae. Promjera je od 100 do 1000 nm te sadrži jednolančanu RNA koja kodira 11 virusnih bjelančevina. Dva su podtipa (A i B) i 11 sojeva virusa. Tipično inficira samo ljude. Uzrokuje infekcije respiratornog sustava pa se i prenosi kapljičnim putem, a inkubacija traje od 3 do 8 dana. Uzrokuje upalu pluća, bronhitis i sinusitis. Često pogađa dječji dio populacije, a godišnje uzrokuje oko 200 000 smrtnih slučajeva (De Clercq, 2016).

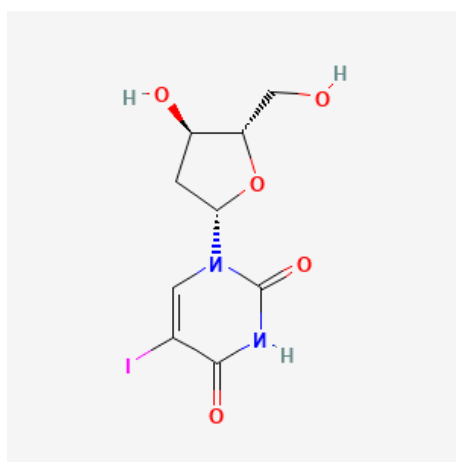
Varicella-zoster virus (VZV) pripada obitelji Herpesviridae. Promjera je od 150 do 200 nm te sadrži dvolančanu DNA koja nosi 73 gena. Postoji više sojeva virusa koji se kategoriziraju u klase (od 1 do 5). Uzrokuje komplikacije kao što su upala pluća, neuralgija, encefelitis, mijelitis, paraliza kranijalnih i perifernih živaca. Uzročnik je preko milijun smrtnih slučajeva godišnje (De Clercq, 2016).



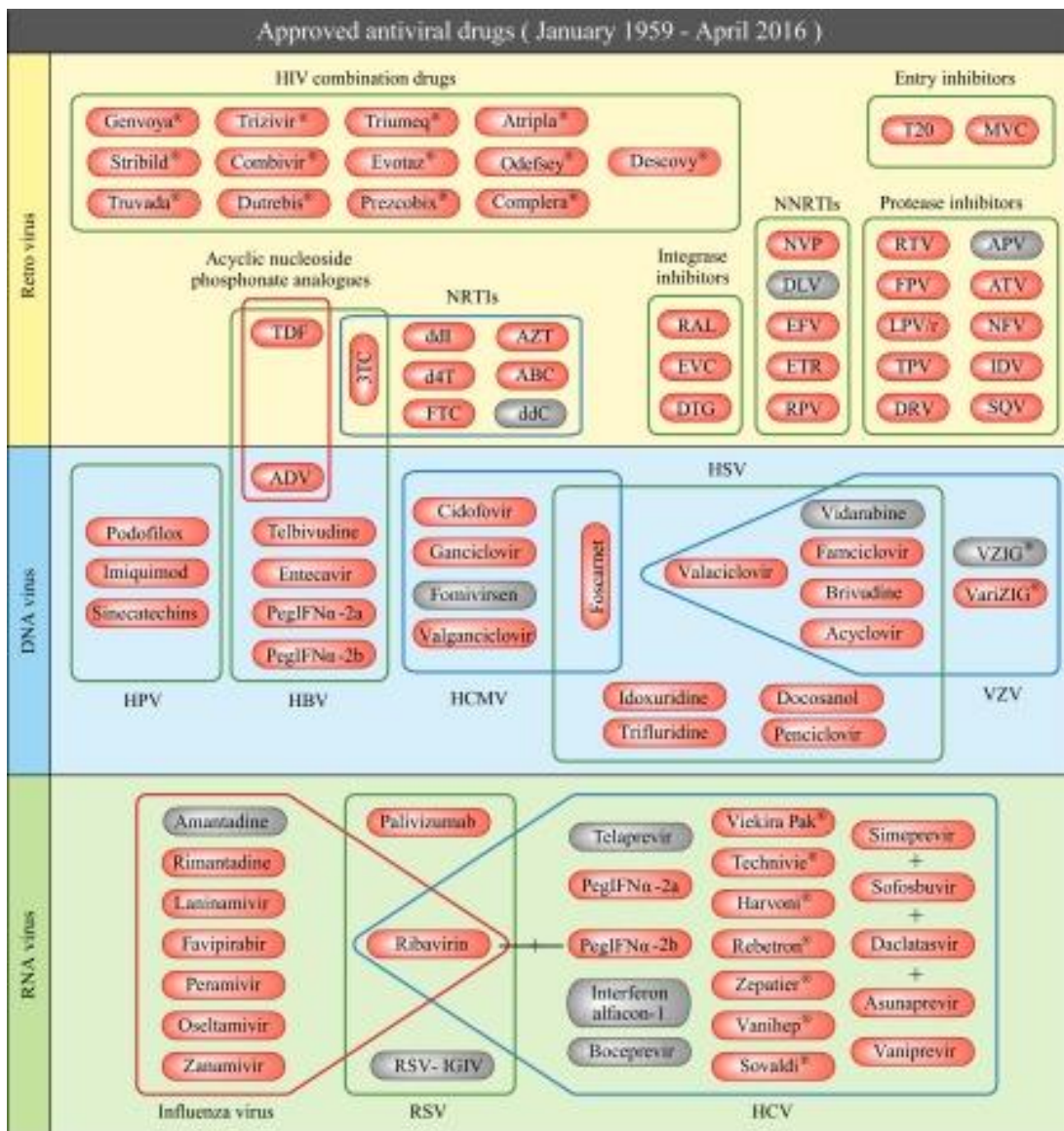
Slika 2. Morfologija i načini prijenosa devet humanih virusa (web 3)

## 2.4. Antivirusni lijekovi

Antivirusni lijekovi su kemijski spojevi koji djeluju protiv određenih virusnih infekcija. Svjetska zdravstvena organizacija ih je okarakterizirala kao lijekove koji nadopunjuju antivirusna cjepiva. Iako se određeni broj antivirusnih lijekova prima injektivno, najčešće intravenski, postoji bitna razlika između cjepiva i antivirusnih lijekova. Cjepiva su osmišljena na način da uzrokuju neprirodnu i neprirodnu imunizaciju cijepljene osobe, dok lijekovi protiv virusa ciljaju strukture bez kojih se ciklus infekcije ne može nastaviti. Cjepiva zaustavljaju infekcije indirektno, dok antivirusni lijekovi djeluju direktno na same virusne čestice. Do sredine 20. stoljeća generalno se vjerovalo da ne postoje tvari koje se mogu primjenjivati kao lijekovi za virusne infekcije. Većina tvari za koje je utvrđeno da pokazuju antivirusno djelovanje, početno nije bila namijenjena borbi protiv virusnih infekcija već borbi protiv drugih bolesti, primjerice raka. Prvi lijek koji je specificiran kao antivirusni agens, idoksurin, sintetiziran je 1959. g. (De Clerq, 2012). Lijek je pokazao djelovanje protiv herpes simplex virusa te se i danas koristi za lokalno liječenje očnih infekcija uzrokovanih tim virusom. Idoksurin je analog nukleozida (slika 3) te je njegovo otkriće pokrenulo sintezu mnogih antivirusnih spojeva od kojih su samo neki prihvaćeni za liječenje. Aciklovir je prvi sintetizirani lijek sa karakteristikama antivirusnog agensa. Danas je na tržištu dostupno 90 antivirusnih lijekova koji se koriste za liječenje prethodno navedenih devet virusnih infekcija (slika 4) (Vardanyan i sur., 2016).



Slika 3. Kemijska struktura idoksurina (web 4)



Slika 4. Antivirusni lijekovi koji djeluju na devet virusnih uzročnika infekcija (web 5)

## 2.5. Mehanizam djelovanja antivirusnih lijekova

Način i djelovanje antivirusnih lijekova vezano je uz životni ciklus virusa. Lijekovi su kreirani na način da inhibiraju neku fazu životnog ciklusa virusa, primjerice fazu vezanja virusa na vanjsku membranu, fazu odmotavanja, proces replikacije i slično. Podjela antivirusnih lijekova temelji se na mehanizmu njihova djelovanja.

### 2.5.1. Inhibicija vezivanja i ulaska virusa u stanicu

Antivirusni lijekovi iz ove skupine djeluju inhibirajuće na vezanje virusa na receptore, koreceptore ili bilo koju drugu tvar koja sudjeluje u prijanjanju virusa na stanicu domaćina. Ovakvi lijekovi mogu pogađati virusne proteine koji strše van kapside ili ovojnice ili mogu biti usmjereni na receptore stanice domaćina.

Enfuvirtid ili T20 je odobren 2003. godine kao prvi lijek inhibitor peptida. To je polipeptid od 36 aminokiselina te je homolog GP41 regiji HIV-a koja ima sedam ponavljanja u virusnom genomu. Ovaj lijek djeluje na virus ljudske imunodeficijencije tip 1 (HIV-1). Lijek uzrokuje konformacijske promjene u receptor vezujućem proteinu zbog čega on morfološki ne pristaje svom receptoru te ne dolazi do interakcije između virusa i stanice domaćina (De Clercq, 2016). Nedostaci u primjeni ovog lijeka su to što ga pacijenti moraju injektirati dvaput dnevno te ga pritom sami pripremati, tj. miješati. Međutim, enfuvirtid je pokazao visoku učinkovitost uz minimalnu toksičnost za stanice domaćina. Zbog toga se često koristi i u liječenju HIV-a, često u kombinaciji s nekim drugim antivirusnim lijekom.

Maraviroc je lijek koji inhibira receptore CCR5 na površini CD4 stanica i makrofaga, stanica bitnih za imunološki odgovor. Alosterički ometa vezanje HIV gp120 proteina za receptor. Lijek se veže za receptor čime ometa vezanje virusa. Stoga je prema načinu djelovanja maraviroc receptorski antagonist. Tijekom rane infekcije HIV-R5 napada receptore CCR5, a HIV-R4 napada receptore CXCR4. Maraviroc je lijek namijenjen isključivo receptorima CCR5 (De Clercq, 2016). Ovaj lijek ne može spriječiti infekciju HIV-om R4. Primjenjuje se oralno.

RSV-IGIV (intravenski imunoglobulin respiratornog sincicijskog virusa) je lijek koji se proizvodi od 1996. godine. Djeluje na receptor vezujuće glikoproteine F i G respiratornog sincicijskog virusa (RSV). RSV-IGIV je sterilan ljudski imunoglobulin proizveden iz plazme s visokom koncentracijom neutralizirajućih protutijela prema RSV (Sandritter i Kraus, 1997). Zbog visoke cijene i strogih smjernica u primjeni, ovaj lijek nije više u upotrebi, te ga je 2004. godine zamijenio lijek pod nazivom palivizumab. Palivizumab, pod komercijalnim nazivom Synagis, je humanizirani monoklonalni mišji imunoglobulin koji specifično cilja epitop A antigena, odnosno mjesto vezanja fuzijskog proteina RSV-a (De Clercq, 2016). Najčešće se upotrebljava za



novorođenčad te djecu u dobi do jedne godine koja boluju od kronične plućne bolesti ili srčanih oboljenja.

Dokosanol je lijek koji je na tržištu od 2000. godine, a poznat je kao behenil alkohol. To je zasićeni masni alkohol koji sadrži 22 atoma ugljika. Djeluje na viruse sa lipidnom ovojnicom (HSV, RSV, HCMV, VZV), pri čemu mehanizam djelovanja nije u potpunosti poznat. Lijek interferira sa receptorima na membranama epitelnih stanica, zbog čega se virusi ne mogu vezati za iste, pa ni ući u stanicu. Dokosanol je jedini lijek koji se može izdati bez recepta kao terapija za kožna oboljenja uzrokovana virusnim infekcijama. Na tržištu se najčešće može naći kao krema sa 10% aktivne supstance.

VZIG (varicella-zoster imunoglobulin) je lijek koji je otkriven 1969. godine na temelju antitijela izoliranih kod bolesnika inficiranih varicella zoster virusom. Kod tih pacijenata su napravljena serološka ispitivanja i pronađene su visoke koncentracije ovog globulina. Većinom se koristi kao lijek koji će smanjiti kliničke komplikacije kod bolesnika sa povećanim rizikom za razvoj teške bolesti (Andreykanich i sur., 2016). Na tržište je 2012. godine izašao lijek pod nazivom VariZIG koji je nastao na temelju ideje prethodnog lijeka. VariZIG (varicella zoster imunoglobulin) je liofizirani pripravak imunoglobulina G koji je tretiran deterdžentom. Uz to, sadrži visoke koncentracije antitijela na ovaj virus. VariZIG je lijek koji se koristi za pasivnu imunizaciju pacijenata koji nemaju nikakve dokaze o postojanju VZV antitijela. Mora se primijeniti unutar 96 sati nakon kontakta sa VZV. Temeljni je lijek u liječenju infekcije ovim virusom, a najčešće se koristi u kombinaciji sa nekim drugim antivirusnim lijekom ili imunoglobulinskom terapijom (De Clercq, 2016).

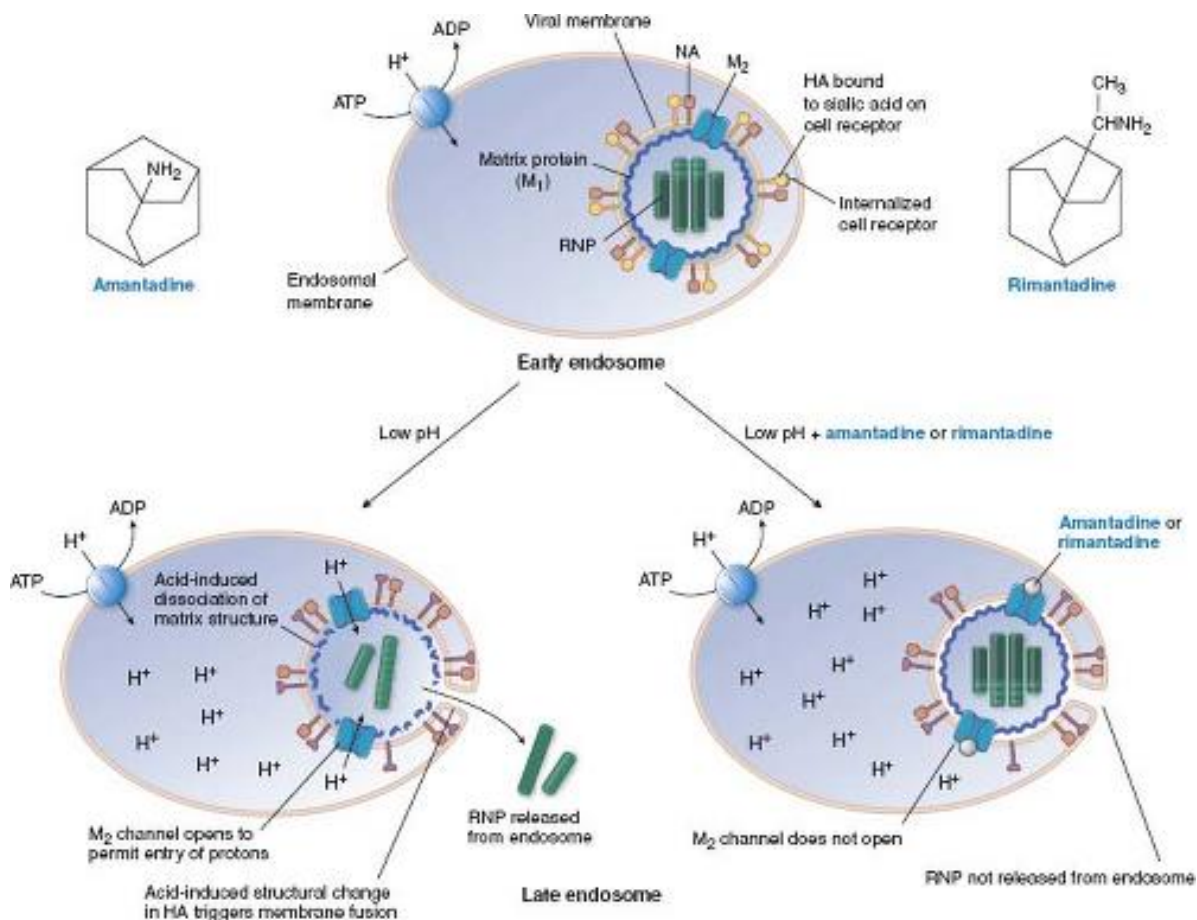
### 2.5.2. Inhibitori odmotavanja virusa

Lijekovi iz ove kategorije djeluju nakon faze vezanja virusa za membranu stanice domaćina. Zaustavljaju drugu fazu, odnosno fazu u kojoj virus otpušta svoju ovojnicu odnosno „odmotava se“. Ovi lijekovi su derivati adamantana, organskog spoja sastavljenog od tri cikloheksanska prstena, čiji je raspored atoma u prostoru jednak onome kristala.

Amantadin i rimantadin su lijekovi koji su odobreni isključivo za liječenje infekcija uzrokovanih virusom influence A, a nemaju utjecaja na virus influence B i C. Ovi lijekovi djeluju na način da blokiraju prijenos vodikovih iona kroz proteinske kanale u unutrašnjost virusne čestice zbog čega

se zaustavlja uklanjanje virusnog omotača unutar endosoma u stanici domaćinu (Kuzman i Puljiz, 2011.). Ovi spojevi se vežu za M2 protein na vanjskoj strani kanala što dovodi do promjene konformacije kanala koja rezultira zatvaranjem istoga pa je spriječen prolazak vodikovih iona važnih za odmotavanje virusa. Na proces odmotavanja virusa izrazito utječe pH vrijednost endosoma. Pad pH vrijednosti dovodi do konformacijskih promjena na omotaču virusa zbog čega on puca i odvaja se od kapside. Kada je na protein omotača vezan amantadin ili rimantadin, omotač se ne odvaja uspješno od ostatka virusa. Posljedično, virus ne može nastaviti niti završiti svoj životni ciklus jer nukleinska kiselina ne može izaći dok se omotač ne ukloni (slika 5). Nakon ova dva lijeka sintetizirani su njihovi derivati koji nisu pokazali dovoljnu učinkovitost u borbi protiv infekcija virusom influence. Nadalje, amantadin i rimantadin su neučinkoviti u liječenju kroničnih infekcija, pa se mogu primjenjivati samo za simptomatsko liječenje ili blaže infekcije. Dodatni problem je povećana rezistencija pacijenata na ove lijekove jer su virusne čestice pri koncentracijama od  $1\mu\text{M}$  do  $100\mu\text{M}$  otporne na lijek zbog mutacija koje lijek izaziva (De Clercq, 2016). Povećane koncentracije ovoga lijeka koje mogu biti djelotvorne su potencijalno toksične za zdrave stanice domaćina. Međutim, povećava se interes za ove lijekove u svrhu liječenja ranih simptoma Parkinsonove bolesti o čemu za sada nema dovoljno kliničkih dokaza (Evidente i sur., 1999). Oba lijeka se primjenjuju oralno te se u današnjoj medicini rijetko koriste zbog sve šire rezistencije.





Slika 5. Mehanizam djelovanja amantadina i rimantadina (web 6)

### 2.5.3. Inhibitori replikacije virusa

Lijekovi koji inhibiraju replikaciju virusa imaju različita ciljna mjesta u tom procesu, na čemu se temelji njihova daljnja kategorizacija.

#### 2.5.3.1. Aciklički analozi gvanozina

U ovoj skupini antivirusnih lijekova postoji šest odobrenih spojeva, a to su: aciklovir, ganciklovir, valaciklovir, valaganciklovir, penciklovir i famciklovir. Aciklovir je antivirusni nukleozidni analog koji je građen od gvaninske baze koja je vezana na linearnu molekulu strukturno sličnu glukozi. Panciklovir, valaciklovir i famciklovir su derivati aciklovira koji su minimalno modificirani u svrhu olakšane oralne primjene. Ova četiri lijeka djeluju na sličan način opisan na primjeru djelovanja aciklovira. Lijekovi djeluju protiv herpes simplex i varicella zoster

virusa. Mehanizam djelovanja je ovisan o virusnom enzimu timidin kinazi kojem je prirodni supstrat timidin. Enzim se nalazi u HSV i VZV pa su ovi lijekovi zbog toga pogodni samo za infekcije ovim virusima. Gvaninski dio aciklovira stupa u interakciju sa virusnom timidin kinazom zbog čega se aciklovir fosforilira. Ovim procesom nastaje spoj aciklovir monofosfat koji se dalje prevodi u aciklovir difosfat i aciklovir trifosfat. Navedene reakcije provode stanični enzimi. Fosforilirani aciklovir u obliku aciklovir trifosfata inhibira DNA polimerazu HSV-a i VZV-a. Aciklovir trifosfat inhibira vezanje deoksigvanozin trifosfata (dGTP), nakon čega se ugrađuje u rastući lanac na komplementarni citozinski ostatak. Kada DNA polimeraza pokuša nastaviti lanac na mjestu aciklovir trifosfata dolazi do terminacije, odnosno prekida replikacije lanca jer aciklovir nema slobodnu -OH skupinu za koju bi se vezao nadolazeći deoksinukleotid. Rezultat je deaktivacija DNA polimeraze i zaustavljanje replikacije virusne DNA. Prednost aciklovira je visoka specifičnost koja je ovisna o virusnoj timidin kinazi. Ovako modificirane dušične baze se ne ugrađuju u genom stanice domaćina jer virusna timidin kinaza ima stotinu puta veći afinitet prema acikloviru od staničnih timidin kinaza. Prema tome, fosforilirani aciklovir će se ugrađivati u virusni genom stanica koje su isključivo zaražene virusom. Nadalje, aciklovir je izuzetno aktivan prema HSV 1 i 2 dok je njegova aktivnost ponešto manja za VZV (De Clercq, 2016). Lijek se uzima intravenozno, uz korištenje proliječka kako bi se povećala učinkovitost aciklovira. Ulogu proliječka imaju famciklovir i valaciklovir. Neki od tih lijekova mogu zamijeniti „glavni lijek“, primjerice famciklovir je zamijenio aciklovir, zbog visoke tržišne cijene, nedostupnosti aciklovira i jednostavnijeg načina primjene.

Ganciklovir je lijek koji se ne primjenjuje toliko učestalo u liječenju HSV i VZV infekcija. Češće se koristi u liječenju infekcija HCMV-a, na kojeg aciklovir nema učinka jer virus ne posjeduje timidin kinazu. Mehanizam djelovanja je sličan djelovanju aciklovira s nekoliko manjih razlika. Ganciklovir također mora biti fosforiliran da bi djelovao. HCMV posjeduje posebnu HCMV protein kinazu koja vrši fosforilaciju ganciklovira u inficiranim stanicama. Podatak je suprotan prijašnjem mišljenju znanstvenika koji su tvrdili da fosforilaciju vrše timidin kinaze stanica domaćina, čija bi posljedica bila izrazito niska specifičnost lijeka. Kada HCMV protein kinaza fosforilira ganciklovir, fosforilaciju dalje provode stanične kinaze. Produkt je ganciklovir trifosfat koji je supstrat DNA polimeraze, uz to i inhibitor iste. Druga razlika je što ganciklovir trifosfat nije nužno i terminator DNA polimeraze. Naime, fosforilirani ganciklovir ima slobodan -OH kraj za

vezanje deoksinukleotida, što znači da na mjestu umetanja ganciklovir trifosfata DNA polimeraza dodaje još jedan nukleotid na ganciklovir trifosfat i tek na tom mjestu prestaje replikacija virusne DNA. Nedostatak ovog lijeka je njegova toksičnost koja se često očituje kao supresija koštane srži.

#### 2.5.3.2. Aciklički nukleozid fosfonatni analozi

U ovoj skupini antivirusnih lijekova postoji deset odobrenih lijekova za šire korištenje. Ovo su sintetički lijekovi koji nastaju hibridizacijom adenina sa fosfooctenom kiselinom uz nastanak spoja HPMPA (De Clercq, 2016). Ovaj spoj je 1986. g. prijavljen kao novo antivirusno sredstvo. Iako nikada nije bio prikladan za komercijalnu upotrebu, poslužio je kao prototip za stvaranje drugih lijekova iz ove skupine. U ovoj skupini postoji deset lijekova, a njihova tržišna imena su: Vistidae, Hepsersa, Viread, Truvada, Atripla, Complera, Eviplera te Striblid. Neki od ovih lijekova, primjerice Atripla i Complera, se primjenjuju u kombinaciji od dva ili više lijekova. Za njihovo djelovanje ključno je postojanje fosfonatne skupine nukleozida. Fosfonatna skupina se veže za nukleozid što onemogućava djelovanje enzima esteraze i takva veza se ne može hidrolizirati. Nadalje, ova veza daje izrazitu stabilnost analogima nukleozida. Kada se analozi jednom vežu u lanac, ne mogu izaći iz nastajućeg lanca i lanac se ireverzibilno prekida. Fosfonatni analozi nukleozida moraju biti fosforilirani od strane enzima stanice domaćina (De Clercq, 2003).

Cidofovir je aciklički fosfonatni analog citozina. Koristi se kod infekcija humanim citomegalovirusom. Cidofovir je analog deoksicitidin monofosfata (dCMP). Kada cidofovir dospije u stanicu, fosforilira se djelovanjem staničnih enzima te nastaje monofosfat, a kao krajnji produkt nastaje trifosfat. Za proces terminacije DNA polimeraze bitan je difosforilirani oblik cidofovira koji je strukturni analog dCMP-a. Lijek se mora vezati na dva uzastopna mjesta u rastućem lancu DNA kako bi potpuno zaustavio DNA polimerazu. Kada se ugradi samo na jedno mjesto, usporava DNA polimerazu, ali je ne zaustavlja. Prema tome, cidofovir je terminator lanca samo kada su dvije aktivirane molekule ugrađene u dva uzastopna mjesta u lancu. Nadalje, ovaj lijek ima znatno veći afinitet prema DNA polimerazi HCMV-a nego prema staničnim polimerazama, što doprinosi učinkovitosti, tj. netoksičnosti lijeka. Vrijeme poluraspada cidofovira u stanici je dugo, zbog kolinskog ostatka vezanog za fosforilirane oblike. Kolina usporava razgradnju lijeka, zbog čega antivirusni lijek ima produženo vrijeme djelovanja (De Clercq, 2003). Nedostatak cidofovira je nabijena fosfonatna skupina koja otežava unos i apsorpciju lijeka u stanice prilikom oralne

primjene. Zbog toga ovaj lijek nije prvi izbor u liječenju virusnih infekcija. Može se koristiti sa predlijekom adefovinom koji pospješuje apsorpciju lijeka. Nadalje, cidofovir se može koristiti za liječenje drugih infekcija uzrokovanih DNA virusima, ali i za liječenje HCMV infekcija otpornih na ganciklovir.

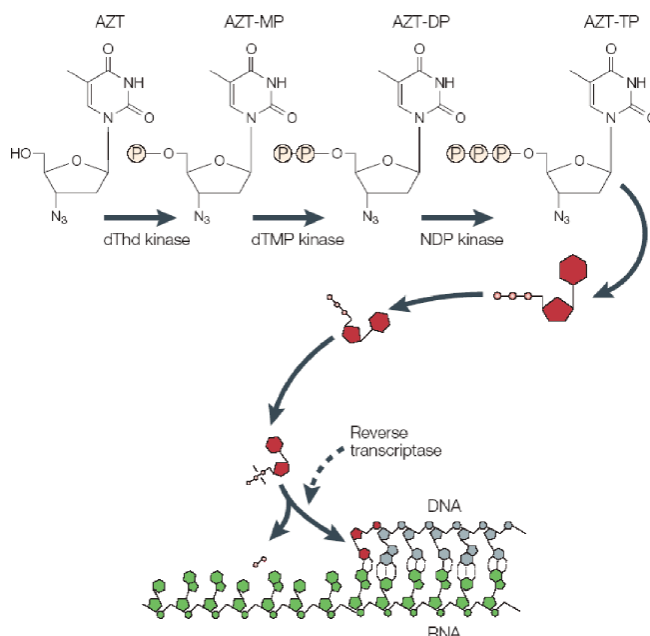
#### 2.5.3.3. Analози pirofosfata

Foscarnet ili trinatrijev fosfonoformat je lijek poznat od 1978. godine. Ovaj lijek zaustavlja virusnu DNA polimerazu, ali za razliku od drugih analoga ne mora biti fosforiliran kako bi djelovao. Foscarnet djeluje na širi spektar virusnih infekcija, primjerice infekciju herpes simplex virusom 1 i 2, varicella zoster virusom, humanim citomegalo virusom, humanim virusom imunodeficijencije te na infekcije uzrokovane virusom hepatitisa C. Lijek ne djeluje na RNA viruse, osim na one koji posjeduju reverznu transkriptazu pa se primjenjuje za liječenje infekcija uzrokovanih DNA virusima. Foscarnet je analog fosfata i veže se na njegovo mjesto čime blokira vezanje pravog pirofosfata zbog čega se pirofosfat ne može odcijepiti od deoksinukleotid trifosfata. DNA polimeraza ne može nastaviti replikaciju i biva prekinuta (Kausar, 2021). Koncentracije u kojima lijek djeluje na virusnu DNA polimerazu su znatno manje od koncentracija koje bi mogle utjecati na staničnu DNA i proces replikacije. Budući da ovom lijeku nije potrebna fosforilacija nakon ulaska u stanicu kako bi postao aktivan često se koristi u liječenju infekcija virusima kod kojih je razvijena rezistencija na njihove prvotno preporučene lijekove. Lijek se uzima intravenski i izrazito je nefrotoksičan te se primjenjuje samo za infekcije u kojima drugi lijekovi nemaju učinka.

#### 2.5.3.4. Nukleozidni inhibitori reverzne transkriptaze

Svi lijekovi iz ove skupine su poznati kao 2,3-dideoksinukleozid analози. Djeluju kao terminatori rastućeg DNA lanca. Zidovudin je prvi lijek iz ove skupine koji je pokazao visoku učinkovitost u borbi protiv infekcija HIV-om te hepatitisom B pa je na temelju njega nastalo i ostalih šest upotrebljivih lijekova iz ove skupine. Njihova komercijalna imena su: Didanozin, Zalcitabin, Stavudin, Lamivudin, Abakavir i Emitricitabin. Nadalje, ovi lijekovi se u terapijama ne primjenjuju samostalno, već u kombinaciji s nekim drugim antivirusnim lijekom koji cilja fazu životnog ciklusa virusa koja nije replikacija genoma. Neki od ovih lijekova mogu imati neurotoksične učinke.

Zidovudin ili izidotimidin (AZT) je prvotno namijenjen liječenju raka. 1985. godine je utvrđeno njegovo djelovanje protiv HIV-a. Zidovudin je nukleozidni analog timidina sa modificiranim šećernim dijelom gdje je umjesto hidroksilne skupine na 3 C atom vezana azido skupina. Kada lijek uđe u stanicu mora se fosforilirati kako bi postao aktivan, a taj proces obavljaju stanične timidin kinaze. Fosforilacija se ne provodi virusnim timidin kinazama jer HIV ne kodira takve. AZT se fosforilira u AZT monofosfat te prolazi kroz još dva ciklusa fosforilacije kojima nastaje krajnji produkt, AZT trifosfat. Selektivnost ovog lijeka je mala tako da se može pronaći u svim stanicama, a ne samo u zaraženim stanicama. AZT trifosfat ima visoku specifičnost za reverznu transkriptazu HIV-a tako da ne ometa staničnu DNA polimerazu u procesu transkripcije. AZT trifosfat se ugrađuje u lanac, a budući da nema hidroksilnu skupinu na 3 C atomu terminira nastajući lanac (slika 6) (web 7). AZT je toksičan za stanice domaćina, posebice za stanice živčanog sustava u kojima se nakuplja, te degradira koštanu srž. Uz antivirusna, zidovudin ima i antibakterijska svojstva.



Slika 6. Mehanizam djelovanja zidovudina (web 8)

#### 2.5.3.5. Nenukleozidni inhibitori reverzne transkriptaze

Lijekovi ove skupine su otkriveni u kasnim 1980.-im godinama, a do sada se koristi pet lijekova ovog tipa, a to su: Nevirapin, Delaviridin, Efavirenz, Etravirin i Rilpivirin. Ovi lijekovi su specifični za infekcije izazvane HIV-om. Ovi lijekovi se ireverzibilno vežu na alosteričko mjesto

enzima reverzne transkriptaze, čime uzrokuju konformacijske promjene u aktivnom, tj. katalitičkom mjestu enzima, zbog čega je enzim ireverzibilno inhibiran. Nekompetitivni su inhibitori. Nedostatak je što samo jedna mutacija gena koji kodira reverznu transkriptazu može dovesti do potpune inaktivacije lijeka, odnosno velika je mogućnost razvijanja rezistencije virusa na ove lijekove. Zbog aktivnog metaboliziranja u jetri, prilikom njihovog korištenja povećava se koncentracija jetrenih enzima (Yoli i Yeni, 2000). Mogu se koristiti u kombinaciji sa drugim lijekovima protiv HIV infekcija, ali samo u iznimnim slučajevima jer se rezistencija virusa na njihovo djelovanje razvija jako brzo nakon početka terapije. Lijekovi iz ove skupine, posebice nevirapin u kombinaciji sa zidovudinom, sprječavaju prijenos virusa sa majke na dijete prilikom poroda ili dojenja za čak 50% (Yoli i Yeni, 2000). Nadalje, nevirapin i većina ovih lijekova je učinkovita za liječenje infekcija uzrokovanih HIV-1 virusom, dok zbog strukturne razlike na alosteričkom mjestu reverzne transkriptaze ne utječu na infekcije uzrokovane virusom HIV-2. Česte nuspojave su jak kožni osip te jaka vrtoglavica (Yoli i Yeni, 2000).

#### 2.5.4. Inhibitori integraza

Ova kategorija lijekova se razvija od 2000.-ih godina. Prvi lijek je raltegravir koji je na tržište prisutan od 2007. godine. Lijek cilja HIV integrazu, enzim koji kodira *pol* gen virusa HIV-a. Ovaj enzim katalizira inserciju virusnog genoma u staničnu DNA. Raltegravir je lijek koji inhibira prijenos virusnog genoma prema staničnom genomu kojega vrši enzim integraza. Aktivni dio lijeka su diketokiseline koje ulaze u interakciju sa aktivnim mjestom enzima integraze te na taj način zaustavljaju katalitičku sposobnost enzima (Jóźwik i sur., 2020) te ne može doći do integracije virusnog genoma u stanični genom. Elvitoglavir je lijek koji je strukturno različit od raltoglavira, ali djeluje na isti način. Elvitoglavir je dobar odabir za liječenje HIV infekcija jer je njegova toksičnost za stanice domaćina niska, ima visoku stopu učinkovitosti te blage nuspojave kod pacijenata. Ovaj lijek se ne smije primjenjivati kod bolesnika koji su razvili rezistenciju na raltegravir jer imaju isto alosteričko mjesto na enzimu preko kojega djeluju. Prema tome, rezistencija je u tom slučaju razvijena za oba lijeka.

#### 2.5.5. Inhibitori sastavljanja virusnih čestica (inhibitori proteaza)

U ovoj skupini lijekova se nalaze dvije kategorije inhibitora proteaze, a to su HIV inhibitori proteaza te HCV inhibitori proteaza.

HIV inhibitori proteaza inhibiraju proteaze HIV-a. Proteaze HIV-a su enzimi koji cijepaju *gag* i *gag-pol* poliproteinski prekursor kodiran genomom virusa (Ly i sur., 2015). Cijepanjem virusnom proteazom nastaju enzimi neophodni za životni ciklus virusa kao što su Rnaza H, integraza te reverzna transkriptaza. 1995. godine sintetiziran je prvi inhibitor proteaze pod nazivom sakvinavir, a od tada ih je na tržište izašlo još devet. Navedeni lijekovi su strukturno i načinom djelovanja slični, a njihova aktivnost rezultira blokiranjem virusne proteaze. Sakvinavir je lijek čija aktivna jedinica sadrži aminokiseline prolin i alanin. Ovo je u vezi sa HIV-proteazom koja cijepa svoj supstrat, tj. protein upravo između tih dviju aminokiselina (Ly i sur., 2015). Eukariotske proteaze ne cijepaju proteine između aminokiselina prolina i alanina, zbog čega je lijek specifičan za virusne proteaze i siguran za stanice domaćina. Inhibicija virusa se događa vezanjem molekule vode na karbonilni ostatak aminokiseline lijeka te prijenosa na enzim proteazu čime dolazi do interakcije između lijeka i enzima proteaze zbog čega je proteaza trajno i ireverzibilno inhibirana. Lijek djeluje većinom na HIV-1 infekcije dok je kod HIV-2 infekcija učinkovitost manja. Zbog toga je razvijen indinavir koji ima jednaku učinkovitost protiv obiju infekcija, ali nedostatak lijeka je netopljivost u vodi, zbog čega se koncentracija u organizmu ubrzano smanjuje (Ly i sur., 2015). Zbog toga su potrebne visoke dnevne koncentracije lijeka što može imati toksične učinke na stanice. Ovi lijekovi se najčešće koriste u kombinaciji sa drugim retroviralnim lijekovima u liječenju AIDS-a.

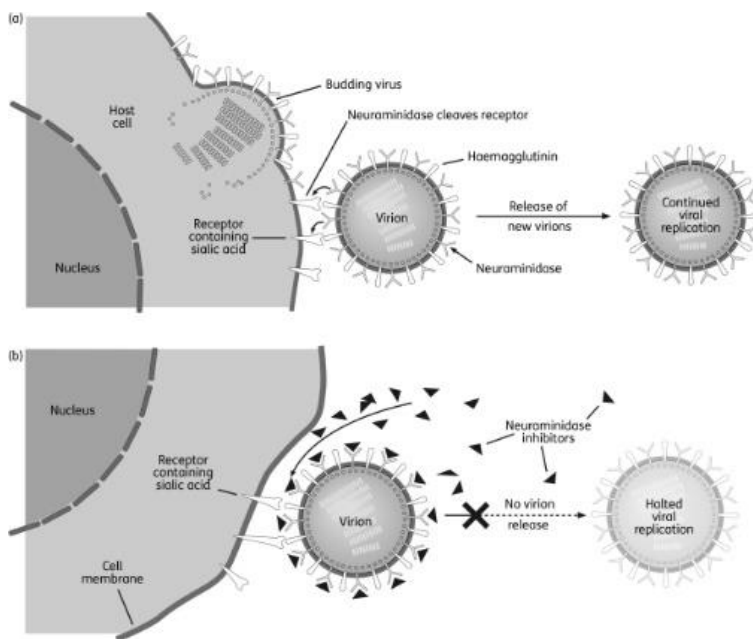
Proteaza virusa hepatitisa C je serinska proteaza za razliku od proteaze HIV-a koja je asparaginska. Mehanizam njihova djelovanja je sličan. Proteaza HCV-a cijepa proteine do njihovog aktivnog oblika (de Leuw i Stephan, 2017). Ova proteza sadrži dvije domene, NS3 domena ima katalitičku ulogu, dok NS4A domena usidrava kompleks u staničnu membranu domaćina. Simeprevir je lijek koji je pokazao visoku stopu učinkovitosti kada se koristio u kombinaciji sa ribavirinom (de Leuw i Stephan, 2017). Tisuću puta je specifičniji za virusne, nego za ljudske proteaze. Pokazuje veću učinkovitost u liječenju infekcija HCV1 i HCV4 (de Leuw i Stephan, 2017).

#### 2.5.6. Inhibitori otpuštanja virusnih čestica

Lijekovi ove skupine djeluju na zadnju fazu životnog ciklusa virusa, u kojoj virusna čestica napušta stanicu spremna za novi ciklus infekcije.

Zanamivir je analog sijalične kiseline i snažan inhibitor neuraminidaze virusa influence A i B (Dunn i Goa, 1999). Neuraminidaza je sijalični enzim koji katalizira cijepanje glikozidnih veza te je neophodan u aktivnom obliku kako bi virus mogao izaći iz stanice. Lijek se veže na aktivno mjesto enzima neuraminidaze zbog čega je blokirano vezanje supstrata te enzim gubi svoju funkciju (slika 7). Lijek može skratiti trajanje infekcije na period od jednog dana, ako se koristi u roku od trideset sati nakon infekcije. Ovaj lijek se na tržištu nalazi u obliku inhalirajućeg praha, zbog čega dopijeva direktno u pluća. Zbog načina primjene, nuspojave su kratkotrajna oštećenja dišnog sustava, posebice kod pacijenata koji boluju od astme.

Oseltamivir se uzima u obliku oralnog predlijeka koji se brzo metabolizira i prelazi u svoj aktivni oblik oseltamivir karboksilat (Davies, 2010). Oseltamivir djeluje na sve dosad dokazane podtipove neuraminidaze (Davies, 2010). Visoko je specifičan samo za neuraminidazu virusa influence te ne ulazi u interakciju sa neuraminidazama ostalih virusa niti staničnim neuraminidazama.



Slika 7. Replikacija virusa influence u (a) odsutnosti i (b) prisutnosti inhibitora neuraminidaze (web 9)

### 2.5.7. Interferoni

Interferoni nisu kemijski sintetizirani lijekovi, već su dio prirodnog obrambenog sustava našeg organizma. Ovi lijekovi ciljaju strukture virusa koje su bitne za životni ciklus virusa ili aktiviraju



imunološki sustav domaćina kako bi se lakše i uspješnije izborio sa virusnom infekcijom. Interferoni su proteini koji induciraju nespecifičnu otpornost na virusnu infekciju pomoću nekoliko mehanizama, uključujući inhibiciju sinteze proteina, inaktivaciju virusne RNA i pojačanje fagocitnih i citotoksičnih mehanizama (Houglum, 1983). Interferone izlučuje organizam, tj. stanica koja je inficirana, u svrhu signaliziranja ostalih stanica. Najčešći oblik djelovanja je apoptoza inficiranih stanica jer potiču lučenje p53 čimbenika. Tri su kategorije interferona odobrene za liječenje hepatitis B i C infekcija, a to su interferon alfa, beta i gama (De Clercq, 2016). Ovi lijekovi ne postoje u oralnom obliku, već se primjenjuju intravenski jer su izrazito osjetljivi na probavne enzime. Interferon alfa je nedavno izbačen sa tržišta jer je uzrokovao neplodnost. U ostalim slučajevima, nuspojave koje se pojavljuju su blage i prolazne. Interferoni nisu specijalizirani samo za obranu od virusnih bolesti, već se primjenjuju i za liječenje drugih bolesti, primjerice multiple skleroze, a provode se istraživanja o utjecaju interferona na stanice raka.

## 2.6. Antivirusna rezistencija

Antivirusna rezistencija kao i antibakterijske rezistencije, predstavlja rastući medicinski problem. Razvoj rezistencije virusa je jednostavniji proces od razvoja rezistencije bakterija. Rezistencija se razvija zbog mutacija, najčešće točkastih, a virusi zbog manjeg genoma te brojnosti čestica mogu brzo mijenjati genom u svrhu preživljavanja.

### 2.6.1. Čimbenici koji pridonose razvoju rezistencije

Virusi imaju sposobnost ulaska u latentno stanje koje omogućava virusu da ostane u domaćinu cijeli život te da bude „nevidljiv“ imunološkom sustavu domaćina (Hodge i Field, 2011). U tom obliku virus može započeti ciklus infekcije u nejednakim vremenskim intervalima te može uzrokovati simptome u stanici domaćina kada se aktivira. Ovaj mehanizam je proučen kod herpesvirusa. Antivirusni lijekovi mogu zaustaviti aktivirani virus te smanjiti simptome infekcije, ali ne mogu ukloniti latentni herpesvirus iz organizma (Hodge i Field, 2011).

Integracija virusa je mehanizam uspostavljanja latentnog stanja, a odvija se na drugačiji način od inaktivacije virusa. Primjerice, HIV nakon infekcije svoju RNA prepisuje u DNA koja se integrira u genom domaćina. Lijekovi koji se koriste za zaustavljanje replikacije HIV-a ciljaju protein kinazu ili enzim integrazu koji katalizira proces integracije virusne DNA u staničnu DNA. Takvi lijekovi mogu zaustaviti integraciju, ali ne mogu „izbrisati“ već ugrađenu virusnu DNA iz genoma domaćina (Hodge i Field, 2011). To je latentno stanje virusa HIV-a i iz tog razloga oboljeli nikada ne mogu u potpunosti izbaciti virus iz organizma, bez obzira na visoku učinkovitost terapije koju koriste.

Učinkovitost lijekova smanjuje i činjenica da postoje virusi koji imaju preko 100 genotipova ili serotipova. Primjer su rinovirusi koji uzrokuju običnu prehladu te papiloma virusi (Hodge i Field, 2011). Lijekovi koji se razvijaju u svrhu liječenja infekcija uzrokovanih ovim virusima neće djelovati na sve postojeće serotipove.

Najveći uzročnik rezistencije virusa na lijekove su mutacije. Kvantitativno se mutacije izražavaju kao stopa mutacija, a teorijski je to vjerojatnost da se tijekom jedne replikacije genoma virusa promijeni položaj nukleotida (Hodge i Field, 2011). Postoje virusi koji imaju više i niže

stope mutacija. RNA virusi imaju više stope mutacija od DNA virusa za 3 do 4 reda veličina. Razlog tome je što RNA virusi nisu razvili mehanizme popravka repliciranog genoma. Bez obzira što DNA virusi imaju niže stope mutacija od RNA virusa, ipak mutiraju 1000 puta učestalije od staničnog genoma (Hodge i Field, 2011). Najbrže mutirajući virusi su HIV i HCV. Ovi virusi imaju visoke stope mutacija po replikaciji ( $10^{-4}$ ), a osim toga stvaraju veliki broj čestica (od  $10^9$  do  $10^{12}$  u danu) kod neliječenih pacijenata. Zbog toga mogu nastati novi genotipovi virusa unutar jednoga domaćina koji mogu biti visoko infektivni, a pritom rezistentni na antivirusne lijekove. Većina mutacija nije značajna, a nerijetko mutacije dovode i do samouništenja novog genotipa. Primjerice, događaju se mutacije koju uzrokuju promjene u proteinima koji su bitni za neku fazu životnog ciklusa virusa, zbog čega protein ili enzim postaje nefunkcionalan. Takve mutacije neće dovesti do razvoja novih sojeva. Međutim, kod HIV-a se točkaste mutacije događaju 100 000 puta na dan (Hodge i Field, 2011) pri čemu neka od tih mutacija može rezultirati rezistencijom na lijekove koji se primjenjuju.

Neki virusi imaju segmentirane genome, primjerice virus gripe čiji se genom sastoji od osam segmenata (Hodge i Field, 2011). Kada dva soja simultano inficiraju stanicu, segmenti se mogu razvrstati u velikom broju kombinacija u nove virusne čestice. Ako pri navedenome stanicu inficira visoko zarazni soj sa visokom osjetljivošću na lijek te nisko zarazni soj sa niskom osjetljivošću na lijek, kombinacija genoma može dati visoko zarazni virus sa niskom ili gotovo nikakvom osjetljivošću na lijek. Pri tome nastaje visokozarazni rezistentni soj.

## 2.6.2. Virus koji su razvili rezistenciju i kliničke tegobe

### 2.6.2.1. Herpes simplex virus

Otpornost HSV-a na aciklovir povezana je sa mutacijama virusne timidin kinaze ili DNA polimeraze. Virusna timidin kinaza je enzim koji aktivira aciklovir, koji se nakon obrade ovim enzimom može vezati za DNA polimerazu u svrhu zaustavljanja transkripcije virusne DNA. Mutacije koje se događaju u genu koji kodira timidin kinazu najčešće su uzrokovane adicijom ili delecijom nukleotida u nizovima homopolimera gvanina i citozina što rezultira pomakom okvira čitanja (Strasfeld i Chou, 2010). Timidin kinaza gubi svoju katalitičku aktivnost. Zbog neaktivne timidin kinaze lijek ne može prijeći u aktivni oblik te se nastavlja infektivni ciklus virusa. Za razvijanje rezistencije je dovoljno da postoji smanjena brojnost aktivnih timidin kinaza u stanici

(Strasfeld i Chou, 2010). Sojevi koji nisu osjetljivi na aciklovir zbog mutacije timidin kinaze i dalje mogu biti visoko osjetljivi na lijekove kojima je ciljno mjesto DNA polimeraza (foscarnet i cidofovir). Međutim, neki sojevi unakrsno mutiraju, odnosno imaju mutirani gen i za timidin kinazu i za DNA polimerazu. Takvi sojevi su rezistentni na sve lijekove predviđene za liječenje herpes simplex virusa.

Dok se rezistencija herpesvirusa na lijekove pojavljuje relativno često u kulturi tkiva, raširena klinička upotreba antivirusnih lijekova protiv herpesvirusa rijetko je ograničena pojavom rezistencije kod imunokompetentnih pacijenata (Hodge i Field, 2011). Rezistencija se češće javlja kod bolesnika sa oslabljenim imunitetom. Kod imunokompromitiranih osoba učestalost rezistencije na aciklovir je 5% do 20%. Lijek koji je pokazao dobre rezultate u zamjeni terapije kod rezistentnih sojeva je cidofovir.

#### 2.6.2.2. Varicella-zoster virus

Za infekcije uzrokovane varicella-zoster virusom se primjenjuju isti lijekovi kao i za infekcije uzrokovane herpesvirusom. Aciklovir je najčešći lijek izbora. Sojevi VZV otporni na aciklovir su rijetki, što je zabilježeno u koinfekciji sa HIV-om, ili u pacijenata koji su primili transplantat (Strasfeld i Chou, 2010). Rezistencija nastaje zbog mutacija u genu za timidin kinazu što rezultira inaktivacijom enzima. U zamjenu se za liječenje koristi foscarnet. Ne predstavlja urgentni klinički problem.

#### 2.6.2.3. Humani citomegalo virus

Infekcije humanog citomegalovirusa se tretiraju ganciklovirom i valaganciklovirom. Rezistentni sojevi su izolirani iz pacijenata koji imaju kompromitirani imunološki sustav te kod pacijenata koji su podvrgnuti transplantaciji. Učestalost pojave rezistentnih sojeva varira između 0% do 13% (Strasfeld i Chou, 2010). Infekcije CMV-om se često pojavljuju kao koinfekcije HIV-u, zbog čega je CMV oportunistički patogen.

Rezistencija CMV-a na lijekove je uzrokovana mutacijama. Mutacije odgovorne za razvoj rezistencije se događaju u genomskoj regiji virusne UL97 kinaze čime se smanjuje funkcija kinaznog enzima kojim se fosforilira ganciklovir, bez čega lijek ne može izvršiti svoju funkciju. Međutim, takvom mutacijom se ne mijenja aktivnost enzima koja je potrebna u provođenju replikacije virusne DNA. U 90% sojeva CMV-a otpornih na ganciklovir, uzročnik rezistencije je

mutacija u regiji UL97 (Strasfeld i Chou, 2010). Mutacija se može dogoditi i u regiji UL54 DNA polimeraze zbog čega virus ne reagira ili blago reagira na bilo kakve antivirusne lijekove namijenjene liječenju CMV-a. U tom slučaju virus razvija rezistenciju na ganciklovir, cidofovir i foskarnet (Strasfeld i Chou, 2010). Mutacije DNA polimeraze nastupaju sekundarno, odnosno prethode im mutacije UL97 kinazne regije koja povećava mogućnost mutacije u regiji UL 54 DNA polimeraze u slučaju kada se terapija prima u produljenom vremenskom intervalu.

Simptomi kod pacijenata zaraženih rezistentnim CMV sojem su jednaki kao i kod neliječenih pacijenata. Za suzbijanje infekcija rezistentnim CMV-om u zamjenu za ganciklovir koristi se foskarnet ako je utvrđeno da ne postoji mutacija DNA polimeraze, a u suprotnom se koristi cidofovir (Strasfeld i Chou, 2010).

#### 2.6.2.4. Virus hepatitisa B

U liječenju infekcija i bolesti uzrokovanih ovim virusom se koriste lijekovi iz kategorije analoga nukleozida koji ciljaju virusnu DNA polimerazu, a za aktivnost im je potrebna fosforilacija od strane staničnih enzima. Najčešći lijek koji se primjenjuje za ovaj tip infekcija je adefovir. Ovaj virus može ostati trajno pohranjen u hepatocitima u obliku kružne DNA (Strasfeld i Chou, 2010). Na latentni virus nijedan lijek nema učinka. Iz tog razloga je infekcija hepatitisom B kronična.

Direktni uzročnik rezistencije su mutacije u regijama reverzne transkriptaze, koja je katalitička podjedinica HBV DNA polimeraze. Zbog mutacije u toj regiji je onemogućena interakcija lijeka sa polimerazom. Ne mutira uvijek ista regija DNA polimeraze pa ovisno o tome nastaju sojevi koji su otporni na različite lijekove koji se primjenjuju za liječenje HBV infekcija. Klinički problem je činjenica da se pacijenti često ne drže propisane terapije te se zbog toga dogodi proboj virusa. Ovo otežava dijagnosticiranje i pravovremenu promjenu terapije (Strasfeld i Chou, 2010).

#### 2.6.2.5. Humani virus imunodeficijencije

Najčešći lijekovi koji se koriste u liječenju HIV infekcija su zidovudin i enfuvirtid, uz druge rjeđe primjenjivanje lijekove. Rezistencija na zidovudin i nevirapin se događa zbog mutacije reverzne transkriptaze zbog čega lijek ne poprima svoj aktivni oblik i ne može se ugraditi u rastući lanac, a samim time ne može inhibirati DNA polimerazu (Zdanowicz, 2006). Rezistencija na lijek iz skupine inhibitora proteaze, enfuvirtid, nastaje zbog točkaste mutacije u genomu koja dovodi do

zamjene aminokiseline na veznom mjestu lijeka, zbog čega lijek nema učinka, a proces sazrijevanja virusnih proteina se neometano nastavlja (Zdanowicz, 2006).

HIV je razvio rezistenciju na svaku skupinu do sada razvijenih lijekova, kada bi se isti koristili kao pojedinačna terapija. Zbog toga je tretiranje infekcija HIV-a kompleksnije od tretiranja ostalih infekcija. Za ove infekcije se koristi visokodjelotvorna antiretroviralna terapija (HAART, Highly Active Antiretroviral Treatment). To je kombinirana terapija od triju ili više lijekova koja cilja različite faze u životnom ciklusu HIV-a. Kombinirana terapije bazirana je na činjenici da virus ne može biti rezistentan na tri lijeka istovremeno. Primjerice, kada bi HIV bio rezistentan na zidovudin, mala je vjerojatnost da je rezistentan i na nevirapin ili enfuvirtid. Ne postoje podatci o rezistenciji na sva tri lijeka iz kombinirane terapije. Ovakvu terapiju pacijent uzima svaki dan te je kao takva izrazito učinkovita. Stoga je najdjelotvorniji način borbe protiv rezistentnih sojeva pronalazak novih kombiniranih terapija koje će biti visokoučinkovite bez izazivanja ozbiljnih nuspojava u pacijenata.

### 3. ZAKLJUČCI

- Virusi kao obligatni stanični paraziti inficiraju ljudske, animalne i bakterijske stanice te su česti uzročnici bolesti u ljudi i životinja
- Za infekcije uzrokovane HIV-om, HPV-om, RSV-om, HCMV-om, HSV-om, VZV-om, virusom hepatitisa B i C te virusom influence dopuštena je upotreba antivirusnih lijekova
- Antivirusni lijekovi djeluju direktno na virus ili na stanične komponente bez kojih virus ne može završiti infektivni ciklus
- Lijekovi koji ciljaju proteine na virusnoj kapsidi ili receptore na stanicama domaćina inhibiraju ulazak virusa u stanice
- Odmotavanje virusa, odnosno otpuštanje virusne ovojnice inhibiraju lijekovi poput amantadina i rimantadina
- Inhibitori replikacije virusnog genoma djeluju na način da zaustavljaju DNA polimerazu ili reverznu transkriptazu
- Inhibitori integraza onemogućavaju inserciju virusne DNA u stanični genom
- Inhibitori proteza sprječavaju sazrijevanje virusnih proteina
- Zanamivir i oseltamivir inhibiraju virusnu neuraminidazu i izlazak virusa iz inficirane stanice
- Antivirusna rezistencija nastaje zbog učestalih i brzih mutacijama virusnog genoma, smanjuje učinkovitost lijekova te predstavlja rastući klinički problem
- Kombinirana terapija u kojoj se primjenjuje dva ili više lijekova pokazuje obećavajuće rezultate kod razvoja rezistencije virusa na lijekove
- Uz postojeća cjepiva, antivirusni lijekovi su supstance koje se uz razvoj znanosti i tehnologije kontinuirano razvijaju s ciljem prevencije i suzbijanja bolesti i infekcija uzrokovanih virusima

## 4. LITERATURA

1. Andreykanich S, Rode M, Oroši D, Škrabić I, Vukelić D. (2016). Prednosti i nedostaci cijepljenja protiv vodenih kozica i herpes-zostera. *Infektološki glasnik*, 36(2), 61-68.
2. Benenson AS, Kaslow RA. (1997). *Viral Infections of Humans: Epidemiology and Control*. New York: Plenum Publishing, 861-864.
3. Davies BE. (2010). Pharmacokinetics of oseltamivir: an oral antiviral for the treatment and prophylaxis of influenza in diverse populations. *Antimicrob Chemother*, 65(2).
4. De Clercq E. (2003). Clinical potential of the acyclic nucleoside phosphonates cidofovir, adefovir, and tenofovir in treatment of DNA virus and retrovirus infections. *Clinical Microbiology*, 16(4):569-96.
5. De Clercq, E. (2012). Milestones in the discovery of antiviral agents: nucleosides and nucleotides. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2(6), 2535–548.
6. De Clercq E, Li G. (2016). Approved antiviral drugs over the past 50 years. *Clinical Microbiology*, 29:695–747.
7. De Leuw P, Stephan C. (2017). Protease inhibitors for the treatment of hepatitis C virus infection. *GMS Infectious Diseases*, 5.
8. Dunn CJ, Goa KL. (1999). Zanamivir: a review of its use in influenza. *Drugs*. 58(4):761-84.
9. Evidente VG, Adler CH, Caviness JN, Gwinn-Hardy K. (1999). A pilot study on the motor effects of rimantadine in Parkinson's disease. *Clinical Neuropharmacology*, 22(1):30-2.
10. Vere Hodge A, Field HJ. (2011). General Mechanisms of Antiviral Resistance. *Genetics and Evolution of Infectious Disease*, 339–62.
11. Houghlum JE. (1983). Interferon: mechanisms of action and clinical value. *Clinical Pharmacology*, 2(1):20-8.
12. Józwick IK, Passos DO, Lyumkis D. (2020). Structural Biology of HIV Integrase Strand Transfer Inhibitors. *Trends In Pharmacological Sciences*, 41(9):611-626.
13. Joly V, Yeni P. (2000). Inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse [Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors]. *Ann Med Interne (Paris)*, 151(4):260-7.



14. Kausar S, Said Khan F, Ishaq Mujeeb Ur Rehman M, Akram M, Riaz M, Rasool G, Hamid Khan A, Saleem I, Shamim S, Malik A. (2021). A review: Mechanism of action of antiviral drugs. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 35.
15. Kuzman, I., Puljiz, I. (2011). Protivirusni lijekovi i liječenje influence. *Medicus*, 20: 87-93.
16. Lv Z, Chu Y, Wang Y. (2015). HIV protease inhibitors: a review of molecular selectivity and toxicity. *HIV AIDS*, 8;7:95-104.
17. Mateu MG. (2013). Introduction: the structural basis of virus function. *Subcellular Biochemistry*, 68:3-51.
18. O'Carroll IP, Rein A. (2016). Viral Nucleic Acids. *Encyclopedia of Cell Biology*, 517–24.
19. Ryu WS. (2017). Virus Life Cycle. *Molecular Virology of Human Pathogenic Viruses*. 31–45.
20. Rampersad S, Tennant P. (2018). Replication and Expression Strategies of Viruses. *Viruses*, 55–82.
21. Sandritter TL, Kraus DM. (1997). Respiratory syncytial virus-immunoglobulin intravenous (RSV-IGIV) for respiratory syncytial viral infections: part I. *Journal of Pediatric Health Care*, 11(6):284-91.
22. Smith AE, Helenius A. (2004). How viruses enter animal cells. *Science*, 304(5668):237-42.
23. Strasfeld L, Chou S. (2010). Antiviral drug resistance: mechanisms and clinical implications. *Infectious Disease Clinics of North America*, 809-33.
24. Vardanyan R, Hruby V. (2016). Antiviral Drugs. *Synthesis of Best-Seller Drugs*, 687–736.
25. Zdanowicz MM. (2006). The pharmacology of HIV drug resistance. *American Journal of Pharmacy Education*, 70(5):100.

Mrežni izvori:

[web 1: https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=64800](https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=64800)

[web 2: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7158286](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7158286)

[web 3: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/)

[web 4: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=idoxuridine](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=idoxuridine)

[web 5: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/)

[web 6: https://basicmedicalkey.com/antiviral-agents-3/#R89-13](https://basicmedicalkey.com/antiviral-agents-3/#R89-13)

[web 7: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31855348/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31855348/)

[web 8: https://www.researchgate.net/](https://www.researchgate.net/)

[web 9: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)