

# Imunopatogenetski mehanizmi HIV-1 infekcije

---

**Prevedan, Barbara**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Rijeka / Sveučilište u Rijeci**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:193:838193>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-05**

*Repository / Repozitorij:*



[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Biotechnology and Drug Development - BIOTECHRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI  
ODJEL ZA BIOTEHNOLOGIJU  
Preddiplomski sveučilišni studij  
„Biotehnologija i istraživanje lijekova“

Barbara Prevedan  
Imunopatogenetski mehanizmi HIV-1 infekcije  
Završni rad

Rijeka, 2022.

SVEUČILIŠTE U RIJECI  
ODJEL ZA BIOTEHNOLOGIJU  
Preddiplomski sveučilišni studij  
„Biotehnologija i istraživanje lijekova“

Barbara Prevedan  
Imunopatogenetski mehanizmi HIV-1 infekcije  
Završni rad

Rijeka, 2022.

Mentor rada: prof. dr. sc. Hana Mahmutefendić Lučin

UNIVERSITY OF RIJEKA  
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY  
Undergraduate university study programme  
„Biotechnology and drug research“

Barbara Prevedan  
Immunopathogenetic mechanisms of HIV-1 infection  
Undergraduate thesis

Rijeka, 2022

Mentor of thesis: prof. dr. sc. Hana Mahmutefendić Lučin

Završni rad obranjen je dana 21. rujna 2022. godine pod povjerenstvom:

1. izv. prof. dr. sc. Ivana Ratkaj
2. doc. dr. sc. Željka Maglica
3. prof. dr. sc. Hana Mahmutefendić Lučin

Rad ima 47 stranica, 10 slika, 3 tablice i 37 literaturnih navoda.

## SAŽETAK

HIV-1 član je porodice Retroviridae, a ujedno i jedan od najrasprostranjenijih lentivirusa današnjice s poprilično visokom godišnjom stopom prevalencije u svijetu. Kao rezultat zoonotskih prijenosa s primata postao je i humani patogen koji se prenosi preko tjelesnih tekućina, izazivajući u zaražene osobe imunodeficijenciju i narušavanje cjelokupnog zdravstvenog stanja. Izrazito velika mutabilnost HIV-1 genoma predstavlja i najveću prepreku njegovom iskorjenjivanju. Osnovnu građu sferičnog HIV-1 viriona čine ovojnica s ugrađenim šiljcima, kapsida i nukleoproteinski kompleks kojeg čine RNA i proteini važni za njegovu replikaciju. Klasificirano je ukupno 9 HIV-1 gena koji se, prema funkcijama, dijele u strukturne i pomoćne. *Gag* i *env* kodiraju proteine ovojnice i kapside, a *pol* enzimske proteine. Geni *tat* i *rev* zaslužni su za regulaciju genskog izražaja, dok *vif*, *vpr*, *vpu* i *nef* pospješuju virusnu imunopatogenezu. Nakon fuzije viriona s membranom domaćina, ulaska te reverzne transkripcije i integracije novosintetizirane DNA u genom domaćina, slijedi sinteza virusnih proteina i sklapanje novih virusnih čestica. Novonastali virioni potom pupaju, tj. izlaze iz stanice, čime započinje proces diseminacije. U obrani organizma od HIV-1 djeluje urođeni imunosni sustav (dendritičke i NK stanice, makrofagi te citokinska mreža), stečena imunost (CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> limfociti T i limfociti B), te tzv. intrinzični dio imunosnog sustava (APOBEC3G, TRIM5 $\alpha$ , teterina i SAMHD1). Najvažniju ulogu u imunoevaziji virusa ima njegov pomoćni protein Nef koji, između ostalog, smanjuje izražaj MHC-I molekula (molekule glavnog sustava tkivne podudarnosti) usmjeravajući ih u razgradnju kako bi se izbjeglo razaranje zaraženih stanica od strane citotoksičnih limfocita T. Nef također potiče i aktivaciju transkripcijskih faktora, a time i replikaciju virusa. Ostali mehanizmi izbjegavanja imunosnog odgovora podrazumijevaju mutiranje ili maskiranje epitopa, latenciju, greške reverzne transkriptaze i dr. Zbog sve veće HIV-1 prilagodbe nužno je razviti što učinkovitiji lijek ili cjepivo kako bi se zaustavilo širenje ili poboljšala kvaliteta zaraženih.

**Ključne riječi:** Virus humane imunodeficijencije (HIV-1), imunopatogeneza, izbjegavanje imunosnog odgovora (imunoevazija), Nef protein.

## SUMMARY

HIV-1 belongs to the Retroviridae family and is one of the most widespread lentiviruses with a high annual prevalence rate. As a result of zoonotic transmission from primates, it has evolved into a human pathogen that is transmitted through body fluids and causes immunodeficiency and impaired general health in infected individuals. One of the main obstacles to viral eradication is the high mutation rate of the genome. The spherical HIV-1 virus consists of an envelope with built-in spikes, a capsid, and a nucleoprotein complex containing RNA molecules and proteins important for replication. A total of 9 genes have been classified, which are divided into structural and auxiliary genes according to their function. *Gag* and *env* code for envelope and capsid proteins, *pol* for enzyme proteins. The *tat* and *rev* genes are responsible for regulating gene expression, while *vif*, *vpr*, *vpu*, and *nef* promote viral immunopathogenesis. Infection of the host cell begins with fusion of the virion to the host membrane, entry, reverse transcription, and integration of the newly synthesized DNA into the host genome. After the synthesis of late viral proteins, including structural proteins, begins, new virions bud from the infected cell and are disseminated throughout the body. Immune defense mechanisms against HIV-1 include the innate immune system (dendritic cells, NK cells, macrophages, and cytokine network), the adaptive immune response (CD4+ and CD8+ T lymphocytes and B lymphocytes), and the intrinsic immune system (APOBEC3G, TRIM5 $\alpha$ , tetherin, and SAMHD1). The most important role in evading the immune system is played by the accessory HIV-1 protein Nef. One of its most important roles is to downregulate MHC-I molecules so that they are degraded. This prevents lysis of infected cells by cytolytic T cells (CTLs). Nef also promotes activation of transcription factors and thus viral replication. Other immune defence mechanisms mediated by HIV-1 include mutations and/or masking of epitopes, latency, reverse transcriptase errors, and others. Due to the increasing adaptation of HIV-1, it is necessary to develop the most effective drug or vaccine to stop the spread of the virus or improve the quality of life of those infected.

**Key words:** Human immunodeficiency virus (HIV-1), immunopathogenesis, immunoevasion, Nef protein.

## Popis skraćenica

<b>AIDS</b>	sindrom stečene imunodeficijencije
<b>AP2</b>	klatrin adapterski proteinski kompleks 2
<b>APC</b>	antigen predočna stanica
<b>APOBEC3G</b>	enzim za uređivanje mRNA apolipoproteina B, katalitički polipeptid sličan 3G
<b>ART</b>	antiretrovirusna terapija
<b>BST2</b>	stromalni antigen koštane srži 2
<b>CA</b>	kapsida
<b>CRF</b>	cirkulirajući rekombinantni oblici
<b>CTL</b>	citotoksični limfociti T
<b>DC</b>	dendritička stanica
<b>GALT</b>	limfoidno tkivo povezano s probavnim sustavom
<b>GMCSF</b>	faktor stimulacije granulocitno–makrofagnih kolonija
<b>HIV-1</b>	virus humane imunodeficijencije tip 1
<b>HLA</b>	humani leukocitni antigen
<b>IDO</b>	indoleamin-2,3-dioksigenaza
<b>IFN</b>	interferon
<b>Ig</b>	imunoglobulin
<b>IL</b>	interleukin
<b>IN</b>	integraza
<b>LTR</b>	dugi ponavljajući sljedovi
<b>MA</b>	matriks
<b>MAC</b>	kompleks koji lizira membranu
<b>MHC</b>	glavni kompleks histokompatibilnosti
<b>NC</b>	nukleokapsida
<b>Nef</b>	negativni čimbenik
<b>NK stanice</b>	stanice prirodne ubojice
<b>pDC</b>	plazmacitoidne dendritičke stanice



<b>PR</b>	proteaza
<b>PrEP</b>	preekspozicijska profilaksa
<b>RT</b>	reverzna transkriptaza
<b>SAMHD1</b>	SAM-domena HD-domena koja sadrži protein 1
<b>SIV</b>	virus imunodeficijencije majmuna
<b><i>T<sub>h</sub></i> limfociti</b>	pomagački limfociti T
<b>TNF</b>	faktor nekroze tumora
<b>TRIM5α</b>	trodjelni motiv 5α
<b>URF</b>	jedinstveni rekombinantni oblici
<b>Vif</b>	virusni čimbenik infektivnosti
<b>Vpr</b>	virusni protein R
<b>Vpu</b>	virusni protein U

# SADRŽAJ

1. HIV-1 VIRUS .....	1
1.1. Podrijetlo HIV-1 virusa .....	1
1.2. Klasifikacija HIV-1 virusa .....	2
1.3. HIV-1 epidemiologija .....	3
1.3.1 HIV u Hrvatskoj .....	6
1.3.2. Načini prijenosa HIV-1 virusa .....	7
2. GRAĐA I REPLIKACIJSKI CIKLUS HIV-1 .....	9
2.1. Građa HIV-1 virusa .....	9
2.1.1. Glavni strukturni proteini HIV-1 .....	12
2.1.2. Pomoćni geni HIV-1 .....	13
2.2. Replikacijski ciklus HIV-1 .....	14
2.2.1 Vežanje i ulazak virusa .....	14
2.2.2. Reverzna transkripcija .....	15
2.2.3. Integracija .....	15
2.2.4. Genska ekspresija .....	16
2.2.5. Sklapanje i oslobađanje novosintetiziranih virusnih čestica .....	16
3. IMUNOLOŠKI ODGOVOR U HIV-1 INFEKCIJI .....	18
3.1. Koreceptorski i stanični tropizam virusa .....	19
3.2. Odgovor imunološkog sustava na HIV-1 .....	21
3.2.1. Aktivacija imunskog sustava .....	21
3.2.2. Rani urođeni imunološki odgovor .....	22
3.2.3. Odgovor stečenog imunološkog sustava .....	23
3.3. Izbjegavanje imunskog odgovora od strane HIV-1 .....	28
3.3.1. Izbjegavanje odgovora urođenog imunološkog sustava u HIV-1 infekciji .....	30
3.3.2. Izbjegavanje odgovora stečenog imunološkog sustava u HIV-1 infekciji .....	31
3.3.3. HIV-1 proteini koji djeluju u izbjegavanju imunskog odgovora .....	33
3.4. Klinička slika HIV-1 zaraženih osoba .....	38
4. PREVENCIJA I TERAPIJA HIV-1 bolesti .....	39
4.1. Liječenje HIV-1 pozitivnih osoba .....	39
4.2. Problemi razvoja cjepiva protiv HIV-1 i njihova budućnost .....	41
5. SVRHA RADA .....	43
6. LITERATURA .....	44
7. ŽIVOTOPIS .....	48

# 1. HIV-1 VIRUS

## 1.1. Podrijetlo HIV-1 virusa

*HIV-1* (engl. human immunodeficiency virus type 1) prvi puta identificiran je 1981. godine. Time je utvrđen uzročnik neobičnih oportunističkih infekcija i rijetkih malignih bolesti kod sve većeg broja mladih homoseksualnih muškaraca [1]. Okarakteriziran je kao retrovirus i glavni uzročnik jedne od opasnijih zaraznih bolesti današnjice, odnosno sindroma stečene imunodeficijencije - *AIDS-a* (engl. acquired immune deficiency syndrome) [1]. Otkako je otkriven, razlozi njegove iznenadne pojave, širenje epidemije i jedinstvena patogenost predmet su iscrpnog proučavanja. Njegov prvi srodnik pojavio se 1986. godine kada je morfološki sličan, ali antigenski različit virus uzrokovao AIDS u bolesnika u zapadnoj Africi. Taj novi virus, tzv. virus humane imunodeficijencije tip 2 (*HIV-2*) bio je samo u dalekoj vezi s *HIV-om-1*, ali ipak usko povezan s virusom koji je prouzročio imunodeficijenciju u makaki majmuna [1]. Budući da *HIV-2* nije njihov prirodni patogen, smatra se da su makaki zaraženi pri cijepljenju iglom kontaminiranom krvlju i/ili tkivom prirodno zaraženih mangabeya [1]. Ubrzo nakon toga, drugi virusi, zajednički nazvani SIVs (engl. simian immunodeficiency viruses) pronađeni su u različitim primatima iz subsaharske Afrike [1]. Za sve ove vrste virusa, koji uzrokuju kronične trajne infekcije u raznih vrsta sisavaca, uključujući goveda, konje, ovce, mačke i primati, utvrđeno je da pripadaju rodu *lentivirusa*. Infekcija lentivirusima uglavnom je egzogena što znači da se prenose horizontalno između pojedinaca. Međutim, nedavno je otkriveno da su se u prošlosti infiltrirali u zametne linije svojih domaćina i postali endogeni genomske lokusi, koji se prenose vertikalno [1]. Prijenos SIV-a među vrstama rezultirali su nastankom mozaika te porodice virusa, superinfekcijom i rekombinacijom u vrsta koje su već imale neki drugi SIV [1]. Kako su ljudi stekli majmunske prekursore HIV-1 skupina M, N, O i P

nije poznato, no smatra se da se prijenos morao dogoditi preko kože ili izlaganja sluznice krvlju i/ili tjelesnim tekućinama zaraženih majmuna [1]. Takav put zaraze mogao se dogoditi pri tzv. *bushmeat* lovu koji se provodio u svrhu konzumiranja njihovog mesa. Nadalje, ranice u ustima ili dodir otvorene rane s izlučevinama primata samo su mogle dodatno pospješiti infekciju. Dakle, HIV-1 i HIV-2 rezultat su zoonotskih prijenosa virusa koji je u početku inficirao samo primata u Africi.

## **1.2. Klasifikacija HIV-1 virusa**

Glavna karakteristika HIV-a neobična je genetska raznolikost na globalnoj razini što je posljedica njegove velike mutabilnosti. HIV-1 dijeli se u četiri osnovne grupe: M, N, O i P od kojih je svaka nastala kao rezultat neovisnog prijenosa među vrstama. Grupa M prva je otkrivena i predstavlja pandemijski oblik HIV-a-1; njome se zarazilo na milijune ljudi širom svijeta i nalazi se u gotovo svakoj zemlji na svijetu [1]. Grupa O otkrivena je 1990. godine, ali znatno je manje prisutna od skupine M i zastupljena je u manje od 1% globalnih infekcija HIV-om-1. Uglavnom je endemska i ograničena na Kamerun, Gabon i susjedne zemlje [1]. Grupa N identificirana je 1998., a još je manje rasprostranjena nego skupina O. Do sada je zabilježeno samo 13 slučajeva zaraze, a svi su slučajevi bili iz Kameruna [1]. Grupa P otkrivena je 2009. godine u Kamerunke koja živi u Francuskoj i do sada je identificirana u samo još jednoj drugoj osobi, također iz Kameruna [1]. Iako sve skupine uzrokuju iste simptome i posljedice bolesti, razlikuju se u distribuciji, kao što će se diskutirati u sljedećem poglavlju.

Nakon zoonotskog prijenosa s primata, do tada postojeći HIV-1 grupe M podijelio se na podtipove naziva A, B, C, D, F, G, H, J i K [2]. U međuvremenu su nastale i rekombinante (stanice koje sadrže kombinirani genetski materijal različitog porijekla) između podtipova, kao što su cirkulirajući rekombinantni oblici (CRFs) i jedinstveni rekombinantni oblici (URFs) [2]. CRF-ovi su sojevi koji se šire u populaciji, a URF-ovi predstavljaju jedinstvene rekombinantne sekvence za koje ne postoji dokaz

o transmisiji [2]. Širenje HIV-a i njegova evolucija uzrokovali su distribuciju HIV-1 podtipova, CRF-ova i URF-ova po cijelom svijetu, a upravo to je najveća prepreka razvoju dovoljno učinkovitog cjepiva.

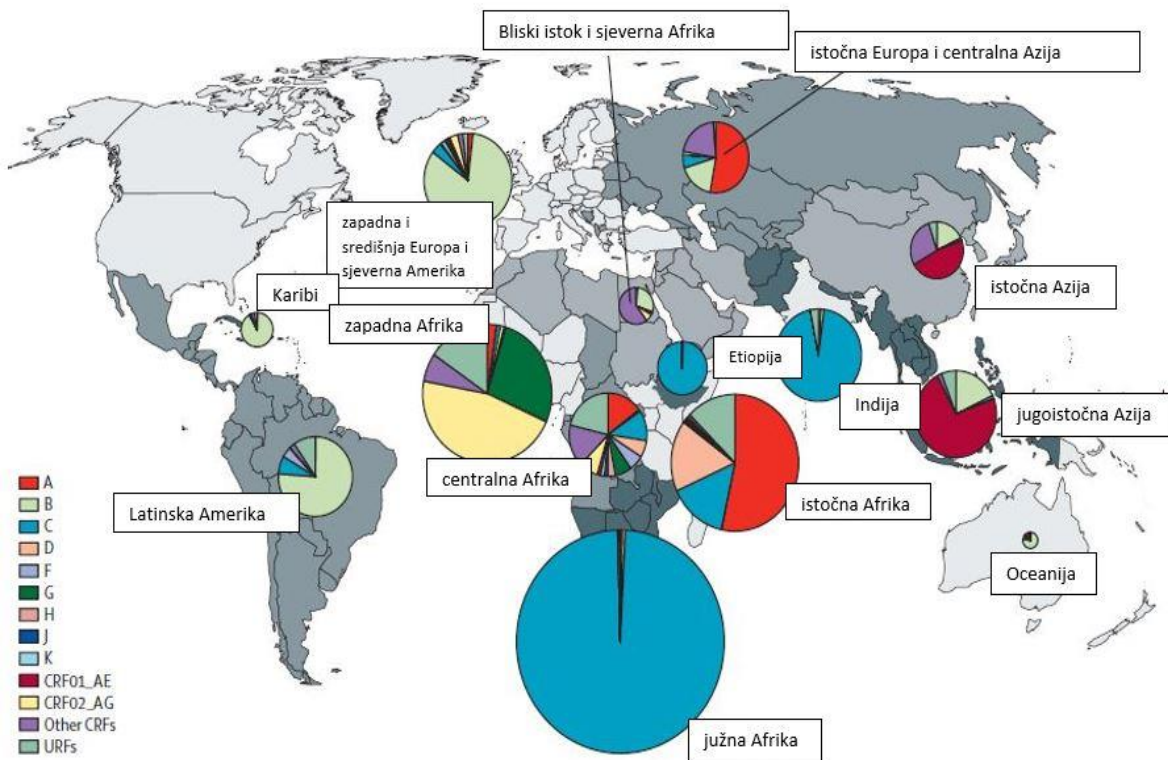
### **1.3. HIV-1 epidemiologija**

Od pojave HIV epidemije 79,3 milijuna ljudi bilo je u nekom trenutku zaraženo tim virusom (podatak iz 2020. godine) [3]. U 2020. godini evidentirano je 37,7 milijuna HIV pozitivnih osoba, od kojih je iste godine novozaraženih bilo 1,5 milijuna [3]. Danas ne postoje mjesto u svijetu u kojem HIV pandemija nije prisutna.

Što se tiče ukupnog broja zaraženih, najteže je pogođena subsaharska Afrika u kojoj trenutno živi više od dvije trećine ljudi s HIV-om u svijetu, a slijede je Azija i Pacifik [4]. Nadalje, Karibi, kao i istočna Europa i središnja Azija također su jako pogođeni [4].

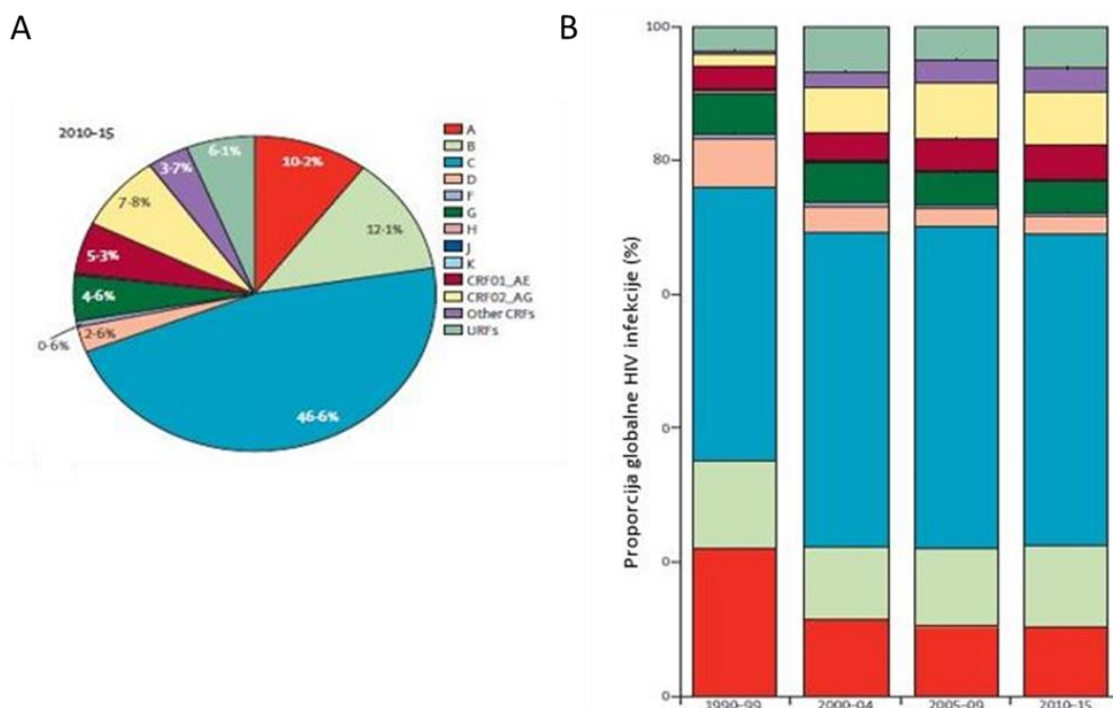
Od početka pandemije 1981. godine, 36,3 milijuna umrlo je od posljedica AIDS-a, a u 2020. godini čak 680 000 [3]. Zemlje u razvoju doživjele su najveći HIV/AIDS morbiditet i mortalitet [2].

U skladu i s velikim brojem zaraženih, raznolikost sojeva najveća je u središnjoj Africi, gdje su pronađeni svi podtipovi HIV-1 i mnogi CRF-ovi i URF-ovi [2]. S druge strane, mala rasprostranjenost sojeva zapažena je na Karibima, Oceaniji, te Bliskom istoku i sjevernoj Africi (slika 1) [2].



**Slika 1. Regionalna raspodjela HIV-1 podtipova, CRF i URF rekombinanti za razdoblje 2010.-2015. godine.** Istom nijansom sive obojane su države koje čine jednu od 14 navedenih regija. Svaka površina druge boje u kružnom grafu odgovara broju ljudi zaraženih nekim podtipom ili rekombinantom virusa HIV-a tipa 1 u pojedinoj regiji. Veličina kruga proporcionalna je broju zaraženih. Preuzeto i prevedeno iz [2].

U razdoblju 2010.-2015. podtip C bio je prisutan u 46,6% svih infekcija HIV-1 u cijelom svijetu [2]. Podtip B bio je odgovoran za 12,1% infekcija, a podtip A za 10,3% infekcija. Potom slijede rekombinante CRF02\_AG (7,7%), CRF01\_AE (5,3%) te podtip G (4,6%) i podtip D (2,7%) [2]. Podtipovi F, H, J i K zajedno su činili 0,9% infekcija [2]. Ostali CRF-ovi činili su 3,7% infekcija, što je ukupan udio CRF-ova od 16,7% [2]. URF-ovi čine 6,1% infekcija, što čini udio od 22,8% svih infekcija HIV-om-1 pripisanih rekombinantima [2] (slika 2).



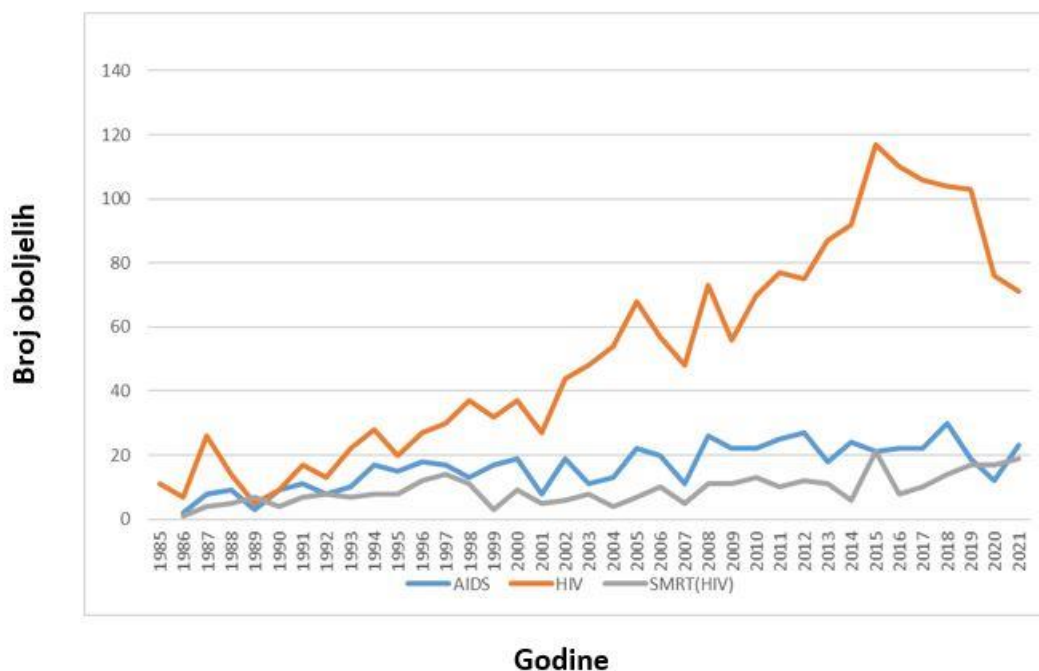
**Slika 2. Globalna distribucija HIV-1 podtipova, CRF i URF rekombinanata u razdoblju 1990.-2015. godine.** (A) Globalni razmjer HIV-1 podtipova, CRF i URF rekombinanata 2010.-2015. godine. (B) Raspodjela tih istih podtipova i rekombinanata za razdoblja 1990.-1999., 2000.-2004., 2005.-2009., 2010.-2015. prikazana grafički. Preuzeto i prevedeno iz [2].

Tijekom vremena uočljive su promjene u globalnoj raspodjeli određenih podtipova. Tako se povećala zastupljenost podtipa C u razdoblju od 1990. do 2009., nakon čega slijedi njegovo smanjenje u razdoblju 2010.-2015. godine [2]. S druge strane, nakon smanjenja između 1990. i 2004., udio podtipa B dosljedno se povećavao tijekom 2000.-2015. [2]. Što se tiče podtipova A, D i G, njihov se udio smanjivao u razdoblju od 1990.-2015. godine, s time da se učestalost podtipova A i D stabilizirala u razdoblju od 2010.-2015. [2]. Podvrste F, H, J i K inače doprinose malom udjelu infekcija, s ukupnim globalnim udjelom od oko 1% 1990.-2015. [2]. Među rekombinantima, povećao se udio CRF02\_AG 1990.-2009., nakon čega je uslijedio pad 2010.-2015. [2]. CRF01\_AE i drugi CRF-ovi imali su ujednačeno povećanje udjela u razdoblju 1990.-2015., dok se URF-ovima povećavao udio tijekom 1990.-2015. [2]. Općenito, stalno povećanje u ukupnom udjelu rekombinanti primijećeno je u periodu 1990.-2015. (slika 2).

### 1.3.1 HIV u Hrvatskoj

U Hrvatskoj od 1985. godine, kada je zabilježen prvi slučaj HIV pozitivne osobe, statistiku oboljelih bilježi i prati Hrvatski zavod za javno zdravstvo (HZJZ) [5]. Stopa incidencije iznosi 2,3 na 100 000 stanovnika godišnje što Hrvatsku svrstava u zemlje s niskom stopom incidencije HIV-a. Naime, u zemljama EU ona iznosi 5,4 na 100 000 stanovnika godišnje [5].

Na slici 3. uočavamo da broj zaraženih u RH tijekom razdoblja od 2010.-2021. fluktuirao, a najveća incidencija bila je 2015. godine (slika 3). U 2021. godini zabilježena je 71 HIV pozitivna osoba, uključujući 23 novooboljelih od AIDS-a te 9 umrlih od njegovih posljedica [5].



**Slika 3.** Broj HIV-1 pozitivnih i AIDS oboljelih osoba za RH u razdoblju 1985.-2021. godine [5].

Od ukupnog broja svih slučajeva HIV-a/AIDS-a u RH (1899), 1691 (89 %) su muškarci i 207 (11 %) žene, a većina zaraza HIV-om dijagnosticira se u dobi od 25 do 44 godina [5]. Najviše HIV pozitivnih slučajeva zabilježeno je u Zagrebu, Primorsko-goranskoj i priobalnim županijama, dok ih je najmanje na krajnjem istoku države, Ličko-senjskoj i županijama središnje



Hrvatske [5]. Velika većina oboljelih zarazila se nezaštićenim spolnim odnosom (89 %) [5]. Najčešći prijavljeni put prijenosa je spolni odnos između muškaraca ili biseksualni kontakt (82 % u 2021.), dok je drugi najčešći put prijenosa spolni odnos između žene i muškarca [5]. Udio zaraženih putem injektiranja droga je 4 % [5]. Vertikalni prijenos (sa zaražene majke na dijete) čini 1 % od ukupnog broja zabilježenih slučajeva zaraze HIV-om [5]. Dijelovi Hrvatske razlikuju se i po putu prijenosa: u Zagrebu je uglavnom zastupljen muški homoseksualni put prijenosa, a u priobalnim županijama heteroseksualni prijenos, najvećim dijelom među pomorcima i njihovim bračnim partnericama.

### **1.3.2. Načini prijenosa HIV-1 virusa**

Za prijenos HIV-a prijeko je potreban kontakt s tjelesnim tekućinama, osobito krvlju, spermom, vaginalnim sekretom, majčinim mlijekom, slinom ili eksudatom iz kožnih promjena, rana i promjena na sluznicama, u kojima se nalaze slobodne čestice virusa ili inficirane stanice [6]. Kada je koncentracija virusa veća, shodno tome veća je i mogućnost prijenosa. To je slučaj tijekom primarne infekcije, pa čak i kada je ona asimptomatska [6]. Prijenos slinom i kapljicama nastalih tijekom kašljanja ili kihanja, iako teoretski izgleda moguć, malo je vjerojatan [6]. HIV se ne prenosi uobičajenim socijalnim kontaktom kao niti bliskim (nespolnim) kontaktom poput grljenja, ljubljenja, rukovanja te dijeljenja hrane i pića. Najčešće do prijenosa dolazi direktnim kontaktom tjelesnih tekućina za vrijeme spolnog odnosa, zajedničkom upotrebom igala i šprica kontaminiranih krvlju, za vrijeme poroda, dojenjem ili prilikom medicinskih zahvata (npr. transfuzijom ili izlaganjem kontaminiranim instrumentima) [6].

Oralni spolni odnosi (felacio i kunilingus) relativno su niskorizični, ali ne i potpuno sigurni što se tiče prijenosa HIV-a. Rizik nije bitno veći ukoliko se sperma ili vaginalni sekret progutaju [6]. Oblici spolnog odnosa s najvećim rizikom prijenosa HIV-a oni su kod kojih nastaju ozljede sluznica [6]. Prisutnost upalnih promjena na sluznicama i spolno prenosivih infekcija

poput gonoreje, klamidijske infekcije, trihomonijaze i bolesti popraćenih pojavom ulceracija (šankroid, herpes, sifilis) dodatno povećavaju rizik prijenosa HIV-a [6].

Sa zaražene majke na dijete HIV se prenosi transplacentarno ili perinatalno i to u 30–50% slučajeva [6]. Dojenje dodatno povećava rizik vertikalnog prijenosa HIV-a na 75% jer se HIV izlučuje i majčnim mlijekom [6]. Stoga, zbog sve veće proširenosti infekcije HIV-om među ženama generativne dobi, povećana je incidencija HIV bolesti i AIDS-a i u djece .

Rizik prijenosa nakon penetrirajuće ozljede medicinskim instrumentom koji je kontaminiran zaraženom krvlju iznosi prosječno 1:300 ukoliko se nakon incidenta ne provede postekspozicijska profilaksa [6]. Pravovremena primjena antiretrovirusnih lijekova nakon incidenta smanjuje ovaj rizik na 1:1 500 [6]. Rizik je nešto veći u slučaju dublje ozljede ili inokulacije krvi (npr. ubod kontaminiranom šupljom iglom) [6]. Nije poznato koliki je rizik prijenosa infekcije na bolesnika sa zaraženog zdravstvenog djelatnika ukoliko se on tijekom rada pridržava standardnih mjera zaštite, ali vjerojatno je minimalan.

Rutinskim testiranjem dobrovoljnih davatelja krvi smanjuje se rizik prijenosa HIV-a transfuzijom, no rizik prijenosa ovim putem ne može se u potpunosti eliminirati [6]. Naime, probirnim (screening) testovima uglavnom se testira prisutnost protuvirusnih protutijela (npr. ELISA testovi), a njihov titar je nizak u prvih 2-3 tjedna nakon infekcije. Stoga može doći do lažno negativnih rezultata, čime se propušta rana dijagnostika infekcije HIV-om [6].

Osobe zaražene HIV-om koje uzimaju ART (engl. antiretroviral therapy) te su time virusno suprimirane, ne prenose HIV na svoje seksualne partnere [7]. Rani pristup ART-u i podrška za ostanak na liječenju važni su, ne samo za poboljšanje zdravlja osoba s HIV-om, već i za sprječavanje njegova daljnjeg prijenosa.

## **2. GRAĐA I REPLIKACIJSKI CIKLUS HIV-1**

HIV tipovi 1 i 2 pripadnici su obitelji *Retroviridae* iz roda *Lentivirusa*. HIV-1 rasprostranjen je po cijelom svijetu, dok se HIV-2 još uvijek pretežno nalazi u zapadnoj Africi. Oba virusa uzrokuju bolest stečene imunodeficijencije - AIDS.

Poznato je da mehanizam replikacije HIV-a podrazumijeva replikaciju jednolančanog RNA genoma putem reverzne transkripcije i integracije nosivnog DNA u kromosom domaćina i karakterističan je za obitelj *Retroviridae*. Međutim, radi se o relativno novom patogenu te se vrše brojna istraživanja u području razumijevanja mehanizma infekcije, prevencije i liječenja simptoma bolesti. Za razliku od drugih retrovirusa, HIV je razvio niz pomoćnih gena [8]. Neki od njih omogućuju uspostavljanje trajne infekcije i kontrolu učinkovitije replikacije koja, u konačnici, izaziva bolest, a ponekad i smrt domaćina [8]. Važno obilježje životnog ciklusa HIV-a potreba je za staničnom aktivacijom koja vodi učinkovitoj replikaciji. Aktivacija rezultira povećanjem učinkovitosti reverzne transkripcije, integracije i ekspresije virusnih gena koji su djelomično uzrokovani i indukcijom staničnih proteina koje virus remodelira u svrhu vlastite produkcije [8].

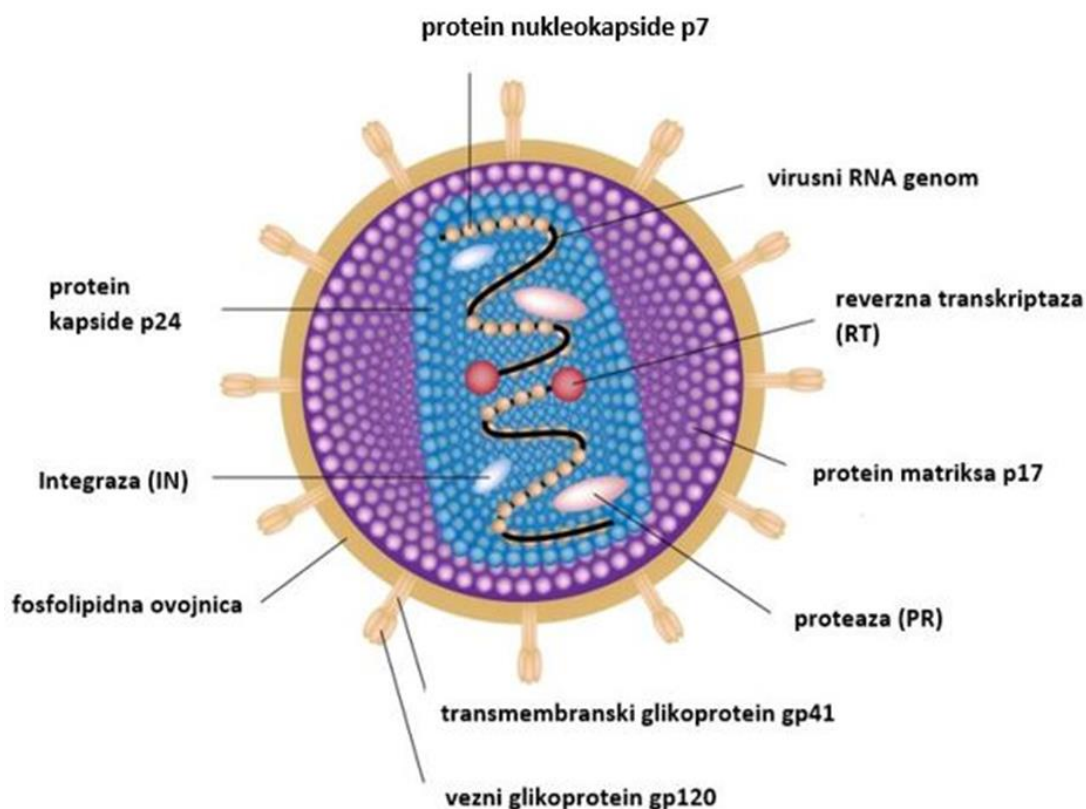
### **2.1. Građa HIV-1 virusa**

HIV-1 virion sferičnog je oblika i veličine otprilike 100 nm u promjeru (slika 4) [9]. Virus se u osnovi sastoji od ovojnice, kapside i nukleoproteinskog kompleksa (tablica 1). Ovojnica čini vanjski dio i u njoj se nalaze glikoproteini bitni za ulazak virusa u stanicu domaćina. Kapsida i nukleoproteinski kompleks nalaze se u unutrašnjosti i sadrže virusni genetski materijal, kao i virusne proteine važne za njegovu replikaciju i patogenezu, kao što će uskoro biti opisano.

**Tablica 1. Najvažniji proteini u strukturi HIV-1 viriona i njihova uloga**  
(prilagođeno prema podacima iz [9]).

STRUKTURA	PROTEIN	ULOGA
OVOJNICA	gp120	vezanje CD4 molekule na površini stanice domaćina
	gp41	internalizacija virusa u stanicu domaćina
MATRIKS (MA)	p17	protein matriksa
KAPSIDA (CA)	p24	strukturni protein kapside
	p7	strukturni protein nukleokapside
NUKLEOPROTEINSKI KOMPLEKS	reverzna transkriptaza (RT) – p66	kataliziranje pretvorbe virusne RNA u DNA
	integraza (IN) – p31	proces integracije virusne DNA u kromosom stanice domaćina
	proteaza (PR) – p15	obrada poliproteinskih prekursora

Na slici 4 shematski je prikazana osnovna građa virusa. Dvoslojna lipidna ovojnica s ugrađenim glikoproteinskim šiljcima (gp41, gp120) okružuje jezgru, tj. srž virusa koju tvore bjelančevine kapside (p24) i okolne bjelančevine matriksa (p17) [9]. Srž je oblika stošca i sastoji se od nukleoproteina u kojoj su smještene dvije kopije jednolančane RNA (genom; 9 kB), RNA-ovisna DNA polimeraza (reverzna transkriptaza (RT)), integraza (IN) i proteaza (PR) [9].



**Slika 4. Struktura HIV-1 viriona.** (preuzeto s <https://neetlessons.com/human-health-and-diseases/367/hiv-virion-structure-and-key-features.html>)

U HIV-1 virusu identificirano je 9 različitih gena (tablica 2), od kojih su samo tri uobičajena za sve retroviruse [10]. Dva od njih, *gag* i *env*, kodiraju glavne strukturne proteine ovojnice i kapside. Treći, *pol*, kodira enzimske proteine potrebne za reverznu transkripciju, integraciju i proteolitičku obradu virusnih proteina, koji su također sastavni dio HIV-1 viriona [10]. Osim njih, HIV-1 posjeduje i druge gene koji kodiraju proteine bitne za regulaciju genskog izražaja, ali i razne imunopatogenetske učinke. O njima će posebno biti govora u ovom radu. U konačnici, dugi terminalni ponavljajući sljedovi (engl. long terminal repeats (LTR)) na svakom kraju genoma zaduženi su za nadziranje izražaja virusnih gena te integraciju i replikaciju virusa [10].

**Tablica 2. Geni i genski produkti HIV-1 viriona s pripadajućim ulogama.** Genske produkte HIV-1 dijelimo u 3 skupine proteina: glavni strukturni, regulacijski i ostali (prilagođeno prema [20]).

GEN	GENSKI PRODUKTI	ULOGA GENSKOG PRODUKTA	SKUPINA PROTEINA
<i>gag</i>	p17 (matriks, MA)	stabilnost viriona	<b>GLAVNI STRUKTURNI</b>
	p24 (kapsida, CA)	sazrijevanje viriona	
	p7 (nukleokapsida, NC)	vezanje na ssRNA, pakiranje RNA	
	p6	uloga u stvaranju i otpuštanju virusnih čestica	
<i>pol</i>	p66/p51 (RT)	reverzna polimeraza	
	p10 (polimeraza)	posreduje u cijepanju gag i gag/pol poliproteina	
	p32 (integraza, IN)	pospješuje integraciju provirusa	
<i>env</i>	gp120 (protein membrane)	posreduje u vezanju receptora	
	gp41 (transmembranski protein)	posreduje u fuziji virusa i stanice	
<i>tat</i>	p14	aktivira transkripciju provirusne DNA	
<i>rev</i>	p19	posttranskripcijski regulator	
<i>nef</i>	p27	povećava kinetiku virusne replikacije, izbjegavanje virusnog odgovora	<b>OSTALI</b>
<i>vif</i>	p23	čimbenik infektivnosti virusa	
<i>vpu</i>	p16	pospješuje sazrijevanje i otpuštanje virusa	
<i>vpr</i>	p15	slabo aktivira transkripciju provirusne DNA	

### 2.1.1. Glavni strukturni proteini HIV-1

Produkt *gag gena* je poliprotein od 55-kd (p55Gag), koji je posttranslacijski pocijepan i modificiran kako bi se iz njega mogli nastati zreli proteinski matriks (MA, p17), nukleokapsida (NC, p7), kapsida (CA, p24), i manji proteini jezgre (p1, p2 i p6) [11].

Svaki od njih ima različitu ulogu u životnom ciklusu virusa. p24 i p7 zajedno čine glavnu komponentu virusne jezgre; p24 okružuje jezgru, a p7 je izravno povezan s RNA genomom [11]. Tijekom sklapanja virusa u stanicama domaćina, N-terminalna MA domena ima za cilj vezivanje proteina na plazmatskoj membrani i služi za ugrađivanje proteina membranskog omotača u novosintetizirane virione u procesu pupanja [11]. S druge strane, nakon ulaska virusa u stanice, MA se odvaja od membrane kako bi se omogućio transport virusnih proteina u jezgru, a time i HIV-1 replikacija u stanicama [11]. Mali protein bogat prolinom, p6, C-terminalni je produkt cijepanja Gag-a koji može biti važan za odvajanje zrelih virusnih čestica i za pakiranje ostalih virusnih proteina unutar viriona [10].

*Pol gen* kodira visoko konzervirane proteine koji djeluju kao enzimi potrebni za sintezu HIV-1 DNA (RT, p66–p51), integraciju (IN) i obradu poliproteinskih prekursora (PR, p10) [10]. Tako je protein PR odgovoran za obradu Gag-a i Gag-Pol prekursora, RT služi za kataliziranje pretvorbe virusne RNA u DNA (reverzna transkripcija) [12], dok IN igra ključnu ulogu u procesu integracije virusne DNA u kromosom stanice domaćina [12]. Svi antiretrovirusni lijekovi odobreni za uporabu u SAD-u djeluju na produkte *pol* gena [12].

*Env gen* kodira glikozilirani prekursorski protein (gp160) koji se cijepa na izvanstanični glikoprotein (gp120), koji je uključen u prepoznavanje i vezanje na receptore ciljnih stanica domaćina, te na manji hidrofobni transmembranski protein (gp41) koji je uključen u fuziju membrane [13]. gp120 nekovalentno je vezan na gp41, i može se odvojiti od površine viriona [13]. Ti proteini ključni su za prepoznavanje, vezanje i ulazak u ciljne stanice [10].

### **2.1.2. Pomoćni geni HIV-1**

U HIV-1 i SIV virusima postoje složeni regulatorni sustavi koji se ne nalaze u drugim retrovirusima, a čine ih nestrukturani proteini kodirani u šest

preklapajućih otvorenih okvira čitanja, tzv. pomoćni geni *tat*, *rev*, *vif*, *nef*, *vpr* i *vpu* [10]. Proteini kodirani tim genima igraju važnu ulogu u životnom ciklusu virusa tako što nadziru replikaciju i izbjegavanje imunskog odgovora domaćina dajući pritom svojstva prilagodbe koja pridonose postojanosti virusa [10]. Sve precizne uloge ovih novih gena u životnom ciklusu virusa nisu u potpunosti poznate [14]. Dva od svih šest pomoćnih HIV-1 gena (*tat* i *rev*) potrebna su za replikaciju u stanicama domaćina [14]. Replikacijski ciklus objasniti će se u sljedećim odjeljcima, dok će ostali pomoćni geni koji sudjeluju u procesu izbjegavanja imunskog odgovora (primjerice *nef*) biti opisani kasnije kada bude riječi o samoj imunopatogenezi virusne infekcije.

## **2.2. Replikacijski ciklus HIV-1**

Replikacija HIV-1 zahtijeva reverznu transkripciju RNA virusnog genoma kako bi nastao dvolančani DNA intermedijer koji se može stabilno integrirati u kromosomsku DNA domaćina. Ovaj proces rezultira nastankom provirusa [10]. Rani koraci replikacije dovode do uspostavljanja infekcije u ciljnim stanicama, tijekom koje virus može biti i u stanju mirovanja (latencije) [10]. Kasna faza replikacije uključuje transkripciju i obradu virusne RNA, translaciju i modifikaciju virusnih proteina te oslobađanje potomaka viriona pupanjem kroz plazmidnu/staničnu membranu [10].

### **2.2.1 Vežanje i ulazak HIV-1 u stanicu domaćina**

U svrhu ulaska HIV-1 virusa u stanicu domaćina, njegova ovojnica mora se fuzionirati s membranom ciljne stanice [10]. U prvoj fazi dolazi do visokoafinitetnog vežanja proteina virusne ovojnice - glikoproteina gp120, sa staničnim receptorom CD4 (slika 5), koji se nalazi na površini pomoćničkih limfocita T ( $T_h$  limfocita), monocita, makrofaga, mikroglija, te dendritičkih i Langerhansovih stanica. One zbog toga ujedno predstavljaju i ciljne stanice infekcije HIV-om [15]. U svakom slučaju, vezivanje proteina



gp120 sa molekulom CD4 rezultira konformacijskim promjenama u gp120, a time i izlaganjem novih epitopa koji omogućuju interakciju s odgovarajućim kemokinskim receptorom [15]. Poznato je da kemokinski receptor CXCR4, koji je izražen na T staničnim linijama i kemokinski receptor CCR5, izražen na makrofagima i nekim memorijskim stanicama T, djeluju kao koreceptori za HIV. Pri tome, virus se može vezati se na jednog ili na oba od njih, ovisno o kojem soju se radi [15]. U svakom slučaju, vezanjem koreceptora dolazi do konformacijske promjene u proteinu gp41 koji potom izlaže svoju hidrofobnu regiju (fuzijski peptid). Ona se, uslijed tog procesa, integrira u staničnu membranu, čime naposljetku dolazi do spajanja/fuzije membrana virusa i stanice domaćina [15].

### **2.2.2. Reverzna transkripcija HIV-1 RNA**

Kada virion HIV-a uđe u stanicu, nukleoproteinska srž se razgradi, a sadržaj virusne jezgre ulazi u citoplazmu [16]. Tada slijedi sinteza DNA na osnovu RNA kalupa iz HIV-1 genoma. U tom procesu, RT vrši sintezu linearne dvolančane DNA, na osnovu sekvence jednolančanog RNA genoma, u procesu pod nazivom reverzna transkripcija (slika 5) [16]. Cjelovita virusna DNA sadrži duplicirane terminalne regije U3RU5 nazvane LTR koje su neophodne za kasniju integraciju [16]. Reverzna transkripcija događa se unutar virusnog preintegracijskog kompleksa koji se sastoji od Gag proteina matriksa (p17), Vpr-a i integraze, a koji se aktivno prenosi u jezgru stanice [17].

### **2.2.3. Integracija HIV-1 u kromosom domaćina**

Integraza katalizira integraciju virusne cDNA u kromosom domaćina [18]. Taj proces uključuje prepoznavanje specifičnih sekvenci LTR-a virusne cDNA pomoću proteina integraze, a potreban je za replikaciju. Potom slijedi kolinearna insercija u kromosomsku DNA što rezultira stvaranjem provirusa (slika 5). Dalje se virusni geni repliciraju zajedno s kromosomskom DNA

domaćina u tzv. latentnoj fazi, te mogu biti prisutni tijekom cijelog života stanice [18]. HIV-1, kao i drugi lentivirusi, razlikuje se od drugih razreda retrovirusa po svojoj sposobnosti da se repliciraju, kako u nedjeljivim, tako i u stanicama koje se dijele [18]. Ostale funkcije specifične za replikaciju u stanicama koje se ne dijele mogu biti osigurane od nekih od dodatnih genskih proizvoda, ponajviše Vpr [18].

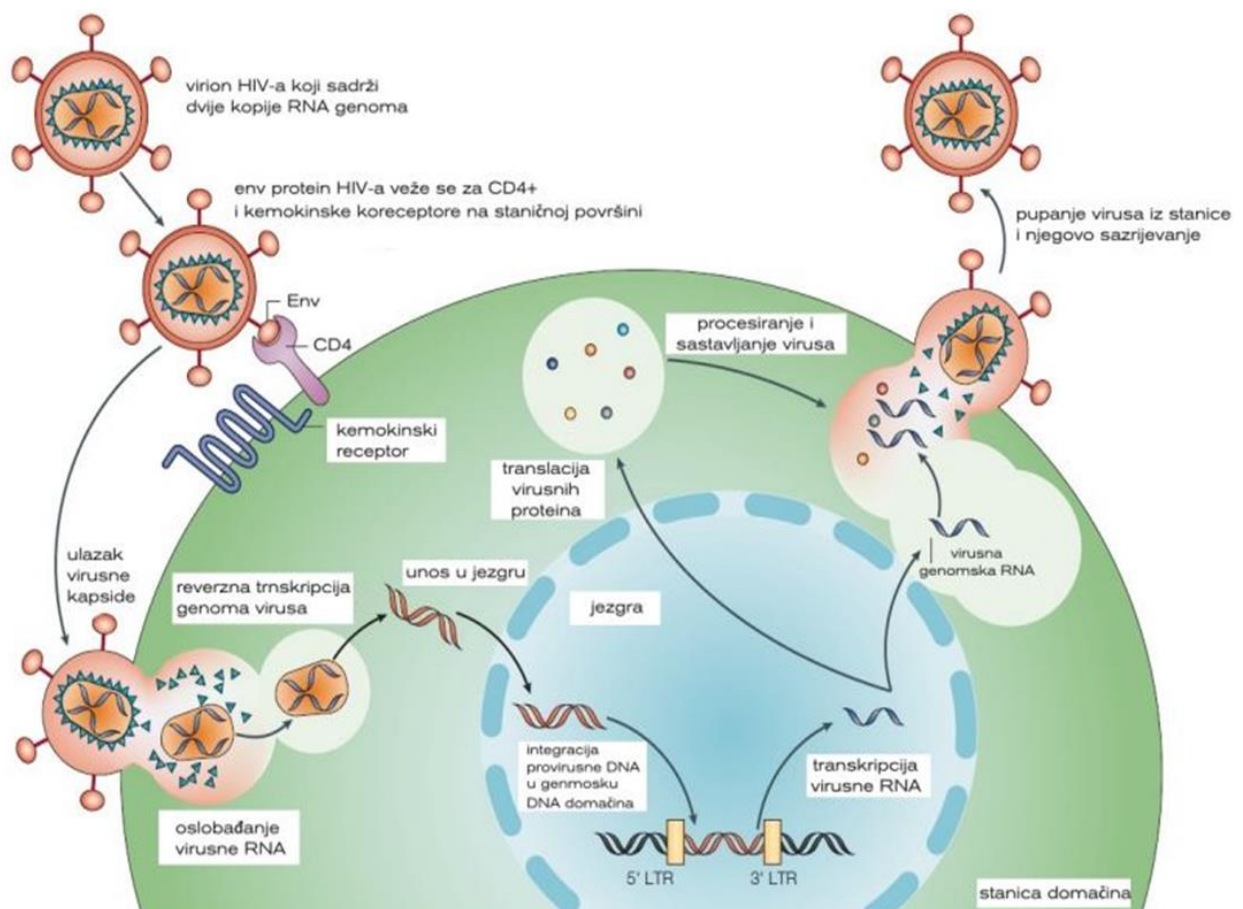
#### **2.2.4. Genska ekspresija aktiviranog HIV-1**

Prepisivanje gena provirusa HIV-a u T stanicama započinje T staničnom aktivacijom, primjerice antigenima ili citokinima, kao što su IL-2, faktor tumorske nekroze (TNF, engl. tumor necrosis factor), IFN- $\gamma$ , GMCSF, limfotoksini itd. Potom slijedi aktivacija NF- $\kappa$ B u staničnoj citoplazmi, koji prelazi u jezgru gdje se veže na nukleotidne slijedove u LTR-u [15]. Tijekom tog procesa sintetizira se virusni protein Tat koji omogućuje DNA-ovisnoj RNA polimerazi da ostane vezana za DNA virusa sve dok se ne dovrši transkripcija i stvori nova molekula mRNA [15]. Različite bjelančevine HIV-a kodirane su različitim mRNA koje potječu iz jednog transkripta pune dužine izloženog različitim oblicima izrezivanja (*splicinga*) [15]. Tijekom ranog stadija izražavanja regulacijskih gena u citoplazmi nastaju Rev, Tat i Nef - bjelančevine kodirane potpuno izrežanim mRNA molekulama, a tijekom kasnog izražavanja strukturnih gena nastaju Env, Gag i Pol kodirane izrežanom ili neizrežanom mRNA [15].

#### **2.2.5. Sklapanje i oslobađanje novosintetiziranih virusnih čestica**

Prekursor Gag poliproteina, p55gag, proteolitički se cijepa u polipeptide p24, p17 i p15, tj. proteine kapside koji su, zajedno s RNA provirusnim genomom i enzimima koje kodira *pol*, nužni za stvaranje virusnih čestica [15]. Nadalje, glikoprotein mase 160 kd, koji je produkt *env* gena, cijepa se unutar endoplazmatske mrežice na proteine ovojnice gp120 i gp41 [15]. Nukleoproteinski kompleks prenosi se na staničnu membranu, gdje

membranski vezan MA posreduje oligomerizaciju i sastavljanje Gag jedinica [10]. Protein matriksa se također povezuje s domenom Env-a vezanom na membranu i glikoproteinima domaćina, koje time postaju dijelom virusne ovojnice, te pokreće proces pupanja [15]. Nakon nastanka viriona i kasno tijekom pupanja, odvija se konačna obrada poliproteina virusnom proteazom, stvaraju se nezavisni HIV enzimi i strukturni proteini, a zrela virusna čestica u konačnici se oslobađa izvan inficirane stanice (slika 5) [19].



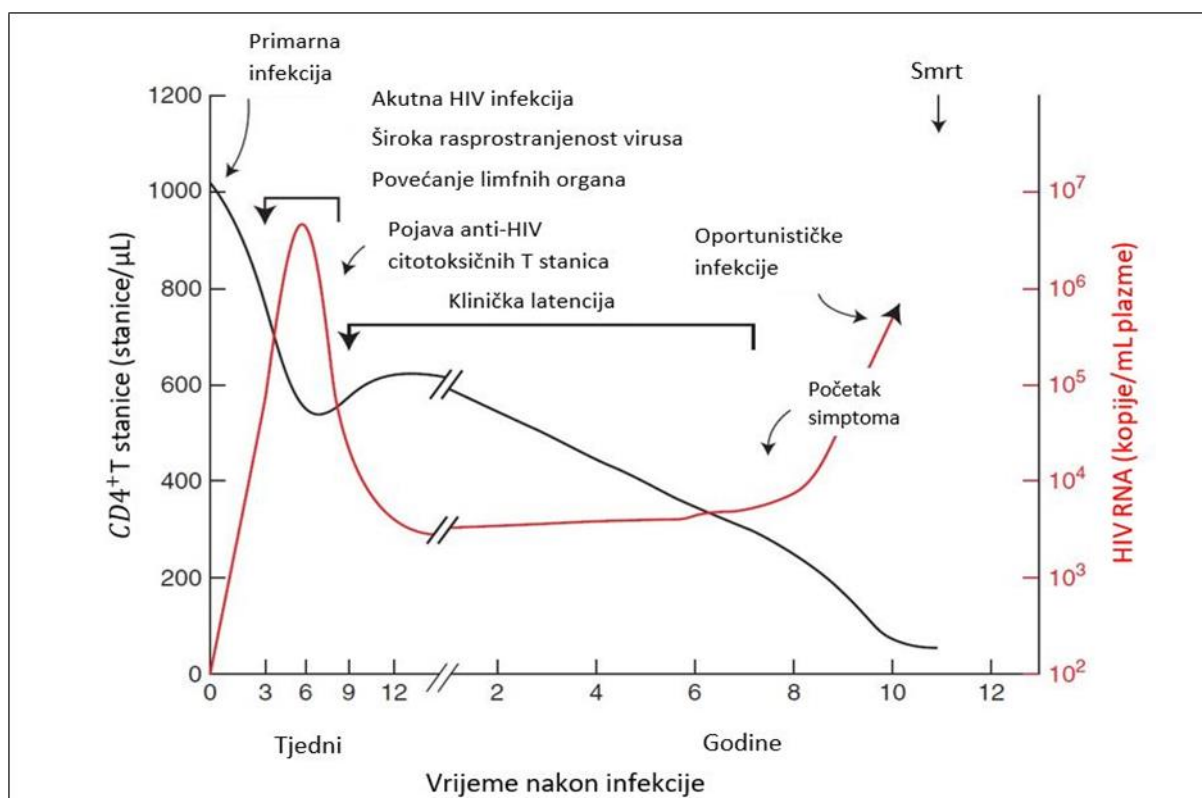
**Slika 5. Replikacijski ciklus HIV-1 virusa.** Virus se veže na stanicu nakon prepoznavanja odgovarajućih receptora, uslijed čega slijedi fuzija virusne i domaćinove membrane te proces reverzne transkripcije kojom je omogućena integracija virusne DNA u genom domaćina. Takav novonastali provirus dugo vremena može biti u latentnoj fazi. Nakon indukcije, često faktorima imunskog sustava, dolazi do aktivacije virusnih gena i sinteze strukturnih i regulacijskih virusnih proteina. U potpunosti sklopljene čestice (virioni) spremne su vezati se na domaćinovu membranu, čime stječu ovojnicu, pupaju i oslobađaju se iz stanice u potrazi za novom stanicom domaćinom. Detaljnije objašnjenje cijelog procesa nalazi se u tekstu iznad (preuzeto i prevedeno iz [21]).

### **3. IMUNOLOŠKI ODGOVOR U HIV-1 INFEKCIJI**

Nakon ulaska, tijekom razdoblja od 1-2 tjedna, HIV-1 se širi od početnog mjesta infekcije do mnogih tkiva i organa koji predstavljaju povoljna mjesta za replikaciju [22]. Prisustvo virusa u krvi tada još nije moguće detektirati zbog malog titra, a isto tako imunološki odgovor i simptomi nisu vidljivi [22].

Tijekom sljedeća 2 tjedna javlja se akutna (primarna) faza infekcije karakterizirana relativno visokom viremijom ( $10^7$  ili više virusnih RNA/mm<sup>3</sup> krvi) i velikim brojem zaraženih CD4<sup>+</sup> T stanica u krvi i limfnim čvorovima [22]. Često su u zaražene osobe prisutni i simptomi nalik gripi – povećani limfni čvorovi i povišena tjelesna temperatura. Na vrhuncu viremije dolazi do nastanka protutijela na sve virusne proteine, kao i aktivacije CD8<sup>+</sup> T staničnog odgovora na HIV-1 antigene [22]. Viremija će biti to veća što je rana aktivacija imunskog odgovora slabija, a to je i cilj djelovanja virusa, kao što će kasnije biti opisano. Na kraju ove faze, broj virusnih čestica naglo opada, stotruko ili čak i više, što je rezultat imunološke kontrole ili iscrpljivanja ciljnih CD4<sup>+</sup> stanica čija se brojnost također smanjuje [22].

Stalan ili spor porast viremije ( $1-10^5$  kopija RNA/mL krvi) te stabilna ili sporo padajuća brojnost CD4<sup>+</sup> T stanica (1000 stanica/ $\mu$ L krvi) obilježavaju fazu kronične infekcije ili tzv. kliničke latencije koja se javlja u razdoblju između 1 i 20 godina nakon prve infekcije [22]. Većina bolesnika su asimptomatski i, nerijetko nesvjesni da su zaraženi [22]. Bitno je napomenuti da, unatoč pojmu latencija u nazivu, tijekom tog razdoblja, veliki broj CD4<sup>+</sup> T stanica biva zaražen i usmrćen svaki dan [22]. Kada njegov broj padne do 200/ $\mu$ L krvi dolazi do neuspješnog savladavanja dodatnih infektivnih agensa imunskim sustavom i pojave oportunističkih infekcija [22]. Prestaje kontrola nad HIV-om, razina viremije raste i može doći do nastanka AIDS-a i smrti bolesnika [22]. Vremenski tijek HIV-1 infekcije prikazan je grafički na slici 6.



**Slika 6. Grafički prikaz vremenskog tijeka tipične HIV infekcije.** Klinička slika HIV-1 infekcije razvija se postepeno, od početne, akutne i kronične infekcije sve do pojave oportunističkih infekcija i smrti, a ovisi o broju virusnih čestica (kopija RNA), te broju pomoćničkih CD4<sup>+</sup> limfocita T domaćina (preuzeto iz [22]).

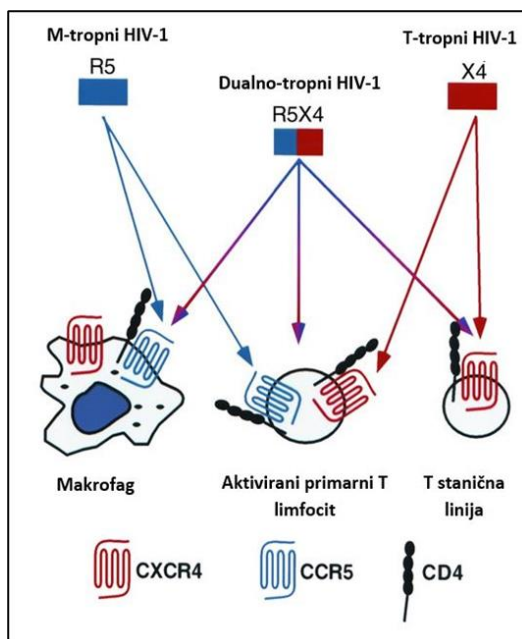
### 3.1. Koreceptorski i stanični tropizam HIV-1

HIV-1 ubrajamo u izrazito polimorfne viruse, čija se priroda može izravno pripisati reverznoj transkriptazi sklonoj greškama i složenosti procesa stvaranja cDNA [23]. Zajedno s drugim čimbenicima domaćina, evolucija virusnog genoma osnova je svih promjena bioloških karakteristika HIV-1 virusa, uključujući citopatsku sposobnost, imunološko izbjegavanje, uporabu koreceptora i tropizam [23].

Kada je riječ o koreceptorskom tropizmu, HIV-1 dijeli se na dva soja. Razlikujemo R5 i X4 viruse ovisno koriste li CCR5, odnosno CXCR4 koreceptor [23]. Neki sojevi koriste oba kemokinska koreceptora za ulazak

u stanicu pa su to sojevi dvojnog tropizma. Do uspostave većine novih infekcija dolazi pomoću virusnih varijanti koje koriste CCR5 receptor [23].

Na temelju staničnog tropizma sojevi se mogu podijeliti u tri skupine (slika 7). Postoje makrofagno-tropni (M-tropni) sojevi, T-stanično-tropni (T-tropni) i dualno-tropni HIV-1 sojevi [23]. M-tropne varijante inficiraju mononuklearne stanice periferne krvi, monocite, makrofage i limfocite T korištenjem CCR5 koreceptora, ali ne i T stanične linije koje izražavaju CXCR4 [23]. Varijante T-tropnih virusa koje koriste koreceptor CXCR4 inficiraju T limfocite i T stanične linije, no ne i monocite i makrofage, te se javljaju u kasnijem stadiju infekcije i povezane su s progresijom u AIDS [23]. S druge strane, zbog toga što dualno-tropne varijante mogu koristiti CCR5 i CXCR4, inficiraju i monocite/makrofage i T stanične linije [23].



**Slika 7. Vrsta koreceptora određuje ulazak virusa u različite tipove stanica.** Makrofagi i primarni T limfociti izražavaju CCR5 i CXCR4, dok T stanične linije izražavaju samo CXCR4. Makrofagno (M)-tropni HIV-1 sojevi inficiraju makrofage i limfocite pomoću CCR5, dok T-stanično (T)-tropni sojevi inficiraju limfocite i T stanične linije (ali ne i makrofage) pomoću CXCR4. Sva tri tipa stanica mogu se inficirati dualno-tropnim sojevima korištenjem bilo kojeg koreceptora za unos. T limfocite moguće je inficirati svim sojevima HIV-a. (preuzeto i prevedeno iz [24])

Za razliku od CXCR4 i CCR5, kemokinski receptori CCR3 i CCR2b manje su zastupljeni koreceptori za ulazak HIV-1.

## **3.2. Odgovor imunološkog sustava na HIV-1**

Kao što je ranije navedeno, učinkovitost imunološkog sustava ima važnu ulogu u kontroli HIV-1 infekcije. Kao i u svakom imunološkom odgovoru, važna je pravodobna aktivacija imunoloških stanica i njihova učinkovitost u eliminaciji virusa. U sljedećim poglavljima biti će opisano kako organizam domaćina kontrolira HIV-1.

### **3.2.1. Aktivacija imunskog sustava u HIV-1 infekciji**

Virus HIV-a koji dospije u epitel sluznice prelazi tu barijeru transcitozom ili uspostavljanjem izravnog kontakta s dendritima intraepitelnih dendritičnih stanica (DC) [25]. Također se pretpostavlja da se virioni mogu kretati i kroz međustanične prostore u epitelu kako bi se uspostavio početni kontakt s mukoznim Langerhansovim stanicama koje potom endocitiraju i predočavaju virus pomoćničkim CD4<sup>+</sup> limfocitima T [25].

U fazi primarne infekcije virus i/ili stanice zaražene virusom dopijevaju u drenažni limfni čvor gdje se susreću s aktiviranim CD4<sup>+</sup> CCR5<sup>+</sup> T stanicama koje predstavljaju cilj infekcije. Ovaj proces potpomažu dendritičke stanice koje vežu i internaliziraju virus i prenose ga aktiviranim T stanicama. B stanice također mogu biti uključene u rano širenje infekcije vezanjem virusa na receptor komplementa CD21 [25].

Virus se u stanicama domaćina brzo replicira i širi po cijelom tijelu na druga limfna tkiva, posebno limfoidno tkivo povezano s crijevima/probavnim sustavom (GALT, eng. Gut Associated Lymphoid Tissue) gdje su aktivirane CD4<sup>+</sup> CCR5<sup>+</sup> memorijske T-stanice prisutne u velikom broju [25].

Mnogi događaji pridonose imunološkoj aktivaciji, uključujući izravne virusne infekcije imunoloških stanica, proizvodnju proupalnih citokina stanicama urođene imunosti, ulazak mikrobnih proizvoda u krv kroz oštećeni crijevni epitel, gubitak virusom zaraženih regulatornih T stanica te kronične mikobakterijske koinfekcije [25]. Međutim, imunološka aktivacija povezana je i s ranom i opsežnom apoptozom B i T stanica, što dovodi do oslobađanja

apoptotičkih mikročestica u krv i povećane površinske ekspresije faktora nekroze tumora (TNF- $\alpha$ ), TRAIL i FAS liganda na neinficiranim imunskim stanicama. Otprilike se 60% neinficiranih CD4<sup>+</sup> T stanica aktivira i umire apoptozom, što može potisnuti imunološku funkciju [25]. Iako se B stanice ne iscrpljuju tijekom rane HIV-1 infekcije, odgovori B stanica oslabljeni su zbog uništavanja drugih vrsta stanica koje su važne za razvoj germinalnih središta [25].

### **3.2.2. Rani urođeni imunološki odgovor u HIV-1 infekciji**

Prvi otkriveni urođeni imunološki odgovor podrazumijeva povećanje razine nekih proteina akutne faze, kao npr. serumskog amiloida A, nakon čega slijedi odgovor citokina na brzo povećanje viremije u plazmi [25]. Proizvodnja proteina akutne faze može biti potaknuta proupalnim citokinima (npr. interleukin-1 (IL-1)) i vanjskim čimbenicima kao što su lipopolisaharidi (LPS) [25].

Rastom viremije rastu i razine citokina i kemokina u plazmi [25]. Razine IL-15, interferona tipa 1 (IFN-I) i CXC-kemokinskog liganda 10 (CXCL10) povećavaju se brzo, ali prolazno [25]. Količine IL-18, TNF- $\alpha$ , IFN- $\alpha$  i IL-22 također se brzo povećavaju, ali su i održivi na visokim razinama [25]. Interferoni tipa I, IL-15 i IL-18 pojačavaju urođene i stečene imunološke odgovore, no intenzivan citokinski odgovor tijekom akutne HIV infekcije također može istodobno potaknuti replikaciju virusa i posrednu imunopatologiju [25]. Stanični izvori citokina akutne faze i kemokina tijekom rane HIV-1 infekcije vjerojatno uključuju zaražene CD4<sup>+</sup>CCR5<sup>+</sup> T stanice, aktivirane dendritičke stanice (DC), monocite, makrofage, NK stanice, NKT stanice i HIV-specifične T stanice [25].

#### **3.2.2.1. Dendritičke stanice u HIV-1 infekciji**

Broj dendritičkih stanica (DC) značajno je smanjen tijekom akutne HIV-1 infekcije. Brzi pad cirkulirajućih DC, osobito plazmacitoidnih DC (pDC),



može biti posljedica smrti stanice izazvane aktivacijom ili migracijom aktiviranih DC u limfne čvorove, gdje se mogu dodatno inficirati s HIV-1 [25]. pDC se aktiviraju nakon vezivanja proteina virusne ovojnice za CD4 molekulu izraženu na njihovoj površini. Potom slijedi endocitoza viriona i aktiviranje Toll-sličnog receptora 7 (TLR7) virusnom RNA [25]. Konvencionalne (klasične) DCs izložene HIV-u ne aktiviraju se do kraja i nefunkcionalno proizvode IL-12, dok pDC izložene HIV-u proizvode IFN- $\alpha$  [25]. pDC izložene HIV-u također proizvode indoleamin 2,3-dioksidogenazu (IDO), koji inducira diferencijaciju CD4<sup>+</sup> T stanica u regulacijske limfocite T (T<sub>Reg</sub> stanice) koje mogu potisnuti odgovore imunološkog sustava specifičnih za HIV [25].

#### **3.2.2.2. NK i NKT stanice u HIV-1 infekciji**

NK i NKT stanice aktiviraju se tijekom akutne HIV infekcije i mogu kontrolirati replikaciju HIV-a putem citolize virusom inficiranih stanica i proizvodnje antivirusnih citokina i kemokina [25]. One mogu komunicirati s dendritičkim stanicama i time utjecati na T-stanične odgovore, a njihova citotoksičnost ovisi o IL-2 [25].

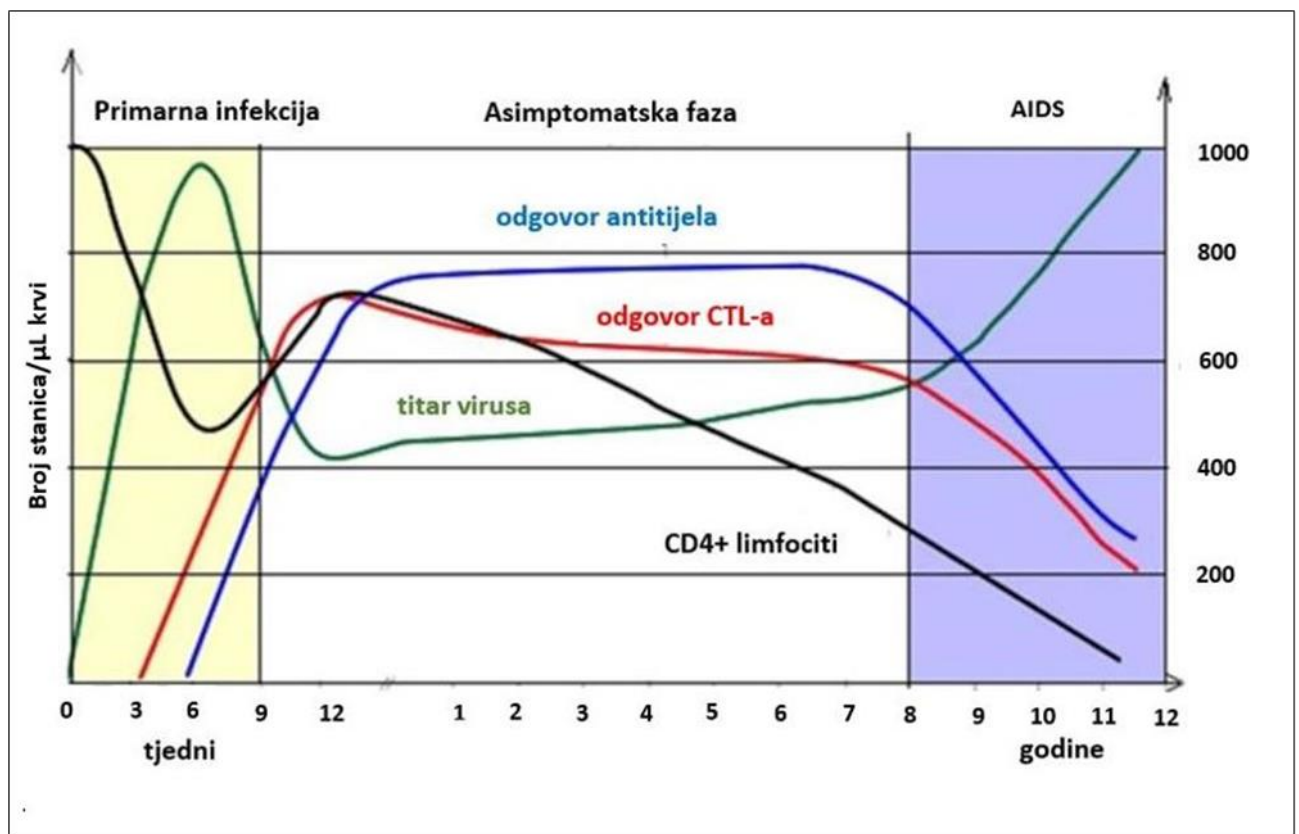
#### **3.2.2.3. Monociti i makrofagi u HIV-1 infekciji**

Smatra se da su makrofagi zaslužni za rasprostranjivanje virusa po tijelu jer ih se može pronaći u limfnim čvorovima, mozgu, krvi, koštanoj srži, plućima i koži seropozitivnih osoba. U neke od poremećaja funkcije HIV-1 inficiranih monocita/makrofaga ubrajamo nepravilnosti kemotaksije, djelovanja Fc receptora, aktivacije komplementa, te smanjenja stimulacije proliferacije limfocita T [25].

#### **3.2.3. Odgovor stečenog imunološkog sustava**

Glavnu ulogu u djelovanju stečenog imunološkog sustava imaju citotoksični (CTL ili CD8<sup>+</sup>) i pomoćnički limfociti T (T<sub>h</sub> ili CD4<sup>+</sup>). Obzirom da pomoćnički,

CD4<sup>+</sup> limfociti T, značajno sudjeluju u CTL aktivaciji, uslijed smanjenog lučenja citokina od strane inficiranih CD4<sup>+</sup> stanica dolazi i do posljedičnog opadanja broja i funkcije CD8<sup>+</sup> limfocita. Time opada učinkovitost eliminacije virusa iz tijela zaraženim stanicama, čime bi se oslabila njegova replikacija (slika 8) [25]. Krajnji rezultat nemogućnosti kontroliranja bolesti je razvoj AIDS-a. U konačnici, pravilan rad CD8<sup>+</sup> stanica može biti onemogućen uslijed toga što T stanični receptor ne može prepoznati sve virusne proteine zbog virusnih mutacija ili je titar virusa jednostavno prevelik [25].



**Slika 8. Broj stanica imunološkog sustava kao odgovor na HIV-1 infekciju.** Tijekom vremena i napretkom bolesti titar virusa se povećava, dok brojnost CD4<sup>+</sup> limfocita progresivno opada. Odgovor virus-specifičnih CTL-a, kao i antivirusnih protutijela u početku raste i održava se tijekom asimptomatske faze, ali se narušava u trenutku progresije HIV-1 bolesti u AIDS (preuzeto i prevedeno iz [26]).

### **3.2.3.1. CD4<sup>+</sup> T limfociti u HIV-1 infekciji**

Kao što je ranije opisano, kemokini iz dendritičkih stanica mogu regrutirati osjetljive CD4<sup>+</sup> T stanice do žarišta infekcije, a aktivirane dendritične stanice mogu prenijeti virus CD4<sup>+</sup> T limfocitima [25]. Imunološka aktivacija izazvana urođenim imunološkim odgovorom i posljedična proizvodnja proupalnih citokina i kemokina mogu poticati replikaciju HIV-1 [25]. S druge strane, interferoni tipa I i TNF djeluju proapoptotički, te time mogu pridonijeti gubitku aktiviranih DC i uništenju CD4<sup>+</sup> T stanica, ali i limfocita B [25].

Iscrpljenost T-stanica, uslijed dugotrajne infekcije, identificirana je prvi put u CD8<sup>+</sup> T stanicama, ali sada je prihvaćeno da su i CD4<sup>+</sup> T stanice također podložne iscrpljivanju što dovodi do smanjene proizvodnje IL-2 (i ekspresije njegovog receptora), IFN- $\gamma$  i TNF- $\alpha$ . HIV-1 također inficira i značajno iscrpljuje i memorijske CD4<sup>+</sup> T stanice. Nadalje, iscrpljene T stanice imaju slab ili različit odgovor na homeostatske citokine uključujući IL-7 i IL-15 odgovorne za održavanje memorijskih T stanica.

### **3.2.3.2 CD8<sup>+</sup> T limfociti u HIV-1 infekciji**

Tijekom akutne faze HIV-1 infekcije, broj virus specifičnih CTL-a najveći je i vremenom opada kako bolest napreduje prema završnoj fazi (slika 8) [25]. Rani porast CD8<sup>+</sup> T stanica može se objasniti pokušajem imunskog sustava da postigne homeostazu ukupnog broja limfocita T uslijed konstantnog opadanja broja CD4<sup>+</sup> T limfocita. Međutim, padom brojnosti i smanjenjem funkcije CD4<sup>+</sup> T limfocita dolazi i do disfunkcije CTL-a [25].

Zanimljivo, čak i uz pomoć oslabljenog repertoara CD4<sup>+</sup> T stanica, prvi su odgovori CD8<sup>+</sup> T stanica jaki, no njihova progresija u stanice dugoročne memorije mogla bi ipak biti oštećena (slika 8) [25].

### **3.2.3.3. Limfociti B u HIV-1 infekciji**

Teška akutna HIV-1 infekcija utječe na limfocite B u krvi i tkivima [25]. U početku, infekcija dovodi do ranog prekapčanja razreda protutijela u poliklonskim B stanicama i povezana je s izrazitim povećanjem broja memorijskih B stanica krvi, tkiva i plazma stanica, kao i sa smanjenjem broja naivnih B stanica [25].

U induktivnim mikrokolišima B stanica sluznice, kao što su Peyerove ploče, gdje se HIV-1 snažno replicira tijekom akutne infekcije, virus može potaknuti lizu folikularnih B stanica, masivnu apoptozu B stanica i gubitak ~50% germinativnih centara unutar prvih 80 dana infekcije [25]. Ovaj rani gubitak germinativnih centara može dovesti do nedostatka sposobnosti brzog stvaranja HIV-1 visokoafinitetnih protutijela što dovodi do odgode u indukciji specifičnih protutijela koja neutraliziraju virus [25].

U većine osoba zaraženih HIV-om visok je titar protutijela na proteine virusne ovojnice, tj. anti-gp120 i anti-gp41 protutijela, a također su u serumu detektirana protutijela na p24, proizvode gena *gag* i *pol* te reverznu transkriptazu.

### **3.2.3.4. Intrinzički imunوسي odgovor u HIV-1 infekciji**

Intrinzički imunوسي sustav domaćina podrazumijeva djelovanje nekoliko restriksijskih faktora domaćina koji imaju važnu ulogu u narušavanju normalnog tijeka životnog ciklusa retrovirusa koji inficiraju eukariotske stanice [27]. To uključuje njegovu replikaciju, sklapanje novih čestica i izlazak iz stanice. Postoje četiri glavna razreda retrovirusnih restriksijskih faktora, uključujući APOBEC3G, TRIM5 $\alpha$  (trodijelni motiv 5- $\alpha$ ), teterin i SAMHD1 (SAM-domena HD-domena koja sadrži protein 1) [27].

#### **3.2.3.4.1. APOBEC3G**

APOBEC3G (engl. apolipoprotein B mRNA-editing enzyme, catalytic polypeptide-like 3G; enzim za uređivanje mRNA apolipoproteina B,

katalitički polipeptid sličan 3G) prvi je otkriveni domaćinov restriksijski faktor protiv HIV-a [27]. Kako će kasnije biti riječi, APOBEC3G suzbija transkripciju HIV-a uzrokujući zamjenu gvanina u adenin (G u A) u HIV genom. Od posljedica tih virusnih mutacija osobito je važna zamjena Trp kodon u stop kodon, čime se zaustavlja proces translacije. Ipak, virus, te posebne karakteristike APOBEC3G, koristi i za stimulaciju vlastitih mutacija što mu pomaže u izbjegavanju imunskog odgovora [27].

#### **3.2.3.4.2. TRIM5 $\alpha$**

TRIM5 $\alpha$  (engl. tripartite motif 5 $\alpha$ ) prvi put je pronađen u stanicama majmuna [27]. Ovaj protein kontrolira replikaciju virusa tako što se veže za virusne kapside u citoplazmi i remeti pravodoban proces njihovog rasklapanja. Time se narušava normalan replikacijski ciklus virusa uključujući ulazak u jezgru replikacijskog kompleksa i reverznu transkripciju [27]. Međutim, HIV-1 može pobjeći napadu TRIM5 $\alpha$  mutiranjem sekvence virusnog kapsidnog proteina tako da se TRIM5 $\alpha$  ne može vezati za virusnu kapsidu [27].

#### **3.2.3.4.3. Teterin**

Teterin, također nazvan BST-2 (stromalni antigen koštane srži 2), CD317 ili HM1.24 najnoviji je identificirani domaćinov restriksijski faktor [27]. U odsutnosti HIV 1 virusnog proteina U (Vpu), teterin je stanični protein domaćina koji inhibira HIV infekciju sprječavajući otpuštanje zrelih viriona prema staničnoj površini [27]. Iako nije izražen u primarnim CD4<sup>+</sup> T stanicama, može biti snažno induciran djelovanjem interferona tipa I [27].

#### **3.2.3.4.4. SAMHD1**

Nedavne studije pokazale su da dominantni restriksijski faktor specifičan za mijeloidne stanice, SAM-domena HD-domena koja sadrži protein 1 (SAMHD1), može ograničiti stupanj reverzne transkripcije nakon ulaska virusa, ne samo kod HIV-1, već i kod HIV-2 i SIV infekcija [27].

SAMHD1 je jako izražen u HIV-1 nepermissivnim stanicama, dok ga nema u nizu staničnih linija osjetljivih na HIV-1 [27]. Vpx uzrokuje relokaciju SAMHD1 u citoplazmu češće nego što ga usmjerava u proteasomalnu degradaciju [27].

### **3.3. Izbjegavanje imunskog odgovora od strane HIV-1**

Svoju uspješnost u preživljavanju HIV-1 velikim dijelom duguje upravo kompromitiranjem imunskog sustava domaćina. Naime, osim što izravno inficira i uništava CD4<sup>+</sup> imunsko stanice (limfocite T, DC, makrofage i sl.), HIV-1 također narušava i ostale elemente urođenog i stečenog imuniteta domaćina, uključujući i intrinzični imunitet [27].

HIV je posebno razvio taktiku imunoevazije antagoniziranjem antivirusnih restrikcijских faktora pomoćnim proteinima ili pomoću genetski varijabilnog glikoproteina na ovojnici [28]. Elementi domaćinskog protuvirusnog imunskog odgovora i virusni proteini koji ga remete sumarno su prikazani u tablici 3, a biti će opisani i sljedećim odjeljcima.

**Tablica 3. Podjela imunskog sustava domaćina s pripadajućim mehanizmima obrane, antagonističkim mehanizmima imunološkog izbjegavanja od strane virusa, te virusnim genima i svojstvima koja to omogućuju [29].**

ODGOVOR IMUNOSNOG SUSTAVA	OBRANA DOMAĆINA	ANTIVIRUSNI ODGOVOR DOMAĆINA	ANTAGONISTIČKI MEHANIZAM/ VIRUSNO IZBJEGAVANJE	VIRUSNI FAKTORI ILI SVOJSTVA KOJA OMOGUĆUJU IMUNOLOŠKO IZBJEGAVANJE
Urođeni imunski odgovor	NK stanice	Liza inficiranih stanica	Selektivno smanjivanje izražaja HLA-A,-B, ali ne HLA-C,-E	Nef
Stećeni imunski odgovor	CD4 <sup>+</sup> pomagački limfociti T	Pomagačka funkcija u poboljšanju odgovora protutijela i CTL-a	Uništenje infekcijom ili apoptozom, nishodna regulacija izražaja CD4, CD3, CD28 i CXCR4	Nef, Vpu, virusna citopatogeničnost
	CD8 <sup>+</sup> pomagački limfociti T	Liza inficiranih stanica, inhibitorni citokini	Smanjenje izražaja MHC-I, mutacije, latentna infekcija	Nef, visoka varijabilnost HIV-1
	Limfociti B, protutijela	Neutralizacija	Antigenska varijabilnost, glikozilacija, pokrivanje funkcionalnih epitopa, inhibicija izotipskog prekapčanja u IgG2 i IgA	Visoka varijabilnost, N-glikozilacija, Env proteini, Nef
	Antigen-predočne stanice (APC)	Predočavanje virusnih antigena, aktivacija pomagačkih T limfocita	Remodeliranje izražaja površinskog invarijantnog lanca (CD74)	Nef
Intrinzični imunski odgovor	APOBEC3G	Letalne hipermutacije	Poliubikvitinacija i degradacija	Vif
	TRIM5 $\alpha$	Nepravovremeno rasklapanje virusne ovojnice	Povećana varijabilnost kapsidnih proteina	Visoka varijabilnost
	Teterin	Koči otpuštanje viriona	Sekvestracija s mjesta pupanja virusa	Vpu, Nef, Env

### **3.3.1. Izbjegavanje odgovora urođenog imunološkog sustava u HIV-1 infekciji**

Izbjegavanje odgovora urođene imunosti od strane HIV-1 prvenstveno podrazumijeva kočenje djelovanja stanica NK i djelovanje komplementa. Nadalje, HIV-1 može modulirati i upalni odgovor organizma, pa je tako poznato da Nef (HIV-1 negativan regulatorni čimbenik) dovodi do povećanja proizvodnje i stimulativne funkcije proinflamatornih citokina kao što su IL-12 i IL-15 [28]. O ovim učincima će biti riječi u sljedećim odjeljcima.

#### **3.3.1.1. Izbjegavanje odgovora stanica NK u HIV-1 infekciji**

Poznato je da stanice NK nespecifično prepoznaju i liziraju virusom zaražene stanice. Stoga virusi primjenjuju različite strategije kako bi izbjegli odgovor NK stanica, a niti HIV-1 nije iznimka. Kao što će kasnije biti objašnjeno, u svrhu izbjegavanja odgovora citotoksičnim limfocitima T, HIV-1 Nef protein nishodno regulira klasične MHC-I molekule (HLA-A i HLA-B). Međutim, obzirom da bi potpuno uklanjanje MHC-I molekula uzrokovalo stimulaciju odgovora NK stanica, Nef protein ne djeluje na neklasične MHC-I molekule, poput HLA-C i HLA-E. Stoga se na površini zaraženih stanica i dalje izražavaju nekonvencionalne MHC-I koje ne predočavaju virusne proteine citotoksičnim limfocitima T klasičnim putem. Njihov značaj je što, samim svojim prisustvom, sprječavaju aktivaciju citolitičkih mehanizama od strane NK stanica i ubijanje zaražene stanice [27, 28]. Nadalje, poznato je da HIV može modulirati NK diferencijaciju i njihovo sazrijevanje, poticati apoptozu NK stanica, kao i disregulaciju izražaja NK receptora i proizvodnje citokina koji aktiviraju NK stanice [27].

#### **3.3.1.2. Izbjegavanje aktivacije komplementa u HIV-1 infekciji**

Vežanje antigena za protutijelo može potaknuti sustav komplementa klasičnim putem, iako se komplement može aktivirati i alternativnim putem, odnosno spontanom hidrolizom C3 komponente. Krajnji rezultat aktivacije klasičnih i alternativnih puteva stvaranje je kompleksa koji lizira



membranu (MAC, engl. membrane attack complex), a tvori transmembranske kanale što rezultira razgradnjom viriona ili stanica inficiranih virusom [17]. Iako, s jedne strane, komplement može pospješiti uklanjanje HIV-a, s druge strane može povećati njegovu infektivnost time što omogućuje vezanje komplementom obloženog virusa na specifične stanice, kao što su makrofagi ili dendritičke stanice. Naime, one izražavaju receptor komplementa CR3 i CR4. Time se olakšava širenje virusa [27].

### **3.3.2. Izbjegavanje odgovora stečenog imunološkog sustava u HIV-1 infekciji**

Stečeni imunosni odgovor ima važnu ulogu u kontroli HIV-1 infekcije. Stoga, osim što inficira, a posljedično i eliminira pomoćničke CD4<sup>+</sup> limfocite T, niti ne čudi što je virus razvio različite mehanizme kako bi spriječio učinkovito antigensko predočavanje te pravodoban i snažan učinak drugih elemenata specifične imunosti. U to ubrajamo proizvodnju i djelovanje protuvirusnih protutijela i ubijanje zaraženih stanica od strane citotoksičnih limfocita T.

#### **3.3.2.1. Izbjegavanje djelovanja neutralizirajućih protutijela u HIV-1 infekciji**

HIV obično koristi dvije strategije za izbjegavanje djelovanja neutralizirajućih antitijela. Jedna od njih je snažna i brza mutageneza virusnih proteina. Naime, tijekom vremena od 2-3 tjedna, koliko je potrebno za proizvodnju učinkovitih visokoafinitetnih protutijela protiv HIV-a, moguće su rane mutacije u ciljnim HIV proteinima. Time odgovor novostvorenih protutijela prestaje biti učinkovit jer ona više ne mogu prepoznati mutirane epitope [27]. Drugo, visok stupanj glikozilacije proteina virusne ovojnice (Env) (gotovo 50% mase gp120, površinskog dijela HIV-1 Env-a je ugljikohidrat) rezultira maskiranjem kritičnih epitopa. Naime, mnoga neutralizirajuća protutijela prepoznaju upravo epitope proteina ovojnice. One su samo prolazno izložene u vrijeme ulaska virusa,

kada se HIV-1 glikoproteini vezuju za proteine na staničnoj membrani ciljne stanice [27].

### **3.3.2.2. Izbjegavanje djelovanja citotoksičnih limfocita T u HIV infekciji**

Citotoksični limfociti T (CTL) imaju važnu ulogu u uklanjanju virusom zaraženih stanica obzirom da ih uništavaju nakon prepoznavanja virusnih peptida u kompleksu s domaćinskim MHC-I molekulama na njenoj površini [17]. Stoga nije neočekivano da su klasične MHC-I molekule važan cilj djelovanja Nef proteina HIV-a. Tako nakon nishodne regulacije klasičnih MHC-I molekula, virus ostaje sakriven unutar zaražene stanice u kojoj može biti latentan ili se aktivno replicirati [28,29].

Nadalje, visoka mutabilnost HIV proteina predstavlja također važan mehanizam u izbjegavanju djelovanja CTL-a jer onemogućava njihovo prepoznavanje. Virus sam potencira što veću promjenjivost vlastitih proteina svojom tolerancijom na varijabilnost sekvenci i nedostatkom vjerodostojnosti funkcije svoje reverzne transkriptaze. Stoga antigenski repertoar HIV-a postaje izrazito polimorfan, osobito što se tiče proteina koji nastaju iz virusnog Env gena [27]. U prosjeku, svaki put kada se 10 kb HIV genoma replicira, nastaje jedna nukleotidna supstitucija. Time potencijal varijacije postaje ogroman, osobito stoga što se se svaki dan proizvodi na milijune virusa u vrlo kratkom vremenskom roku [27]. Naravno, učinkovitost ubijanja CTL-om značajno se smanjuje uslijed mutacija ovih virusnih epitopa [27].

HIV također može izbjeći CTL napad u fazi latencije pri čemu se HIV može „sakriti“ na najmanje dva mjesta: glija stanicama u središnjem živčanom sustavu i T limfocitima u mirovanju [27]. Tijekom tog vremena ekspresija virusnih gena može biti ograničena antiretrovirusnim lijekovima ili imunološkim odgovorom domaćina [27].

### **3.3.3. HIV-1 proteini koji djeluju u izbjegavanju imunskog odgovora**

U izbjegavanju imunskog odgovora domaćina osobito važnu ulogu imaju neki HIV-1 proteini, poput Nef, Vif i Vpr. Sudjeluju u narušavanju urođene i stečene imunosti, a osobito intrinzičkog odgovora.

#### **3.3.3.1 Vif**

Vif (engl. virion infectivity factor) je HIV-1 protein od 23 kDa koji je bitan za replikaciju virusa u primarnim limfocitima T [29]. Pokazano je da u nedostatku Vif-a, APOBEC3G u virionima inhibira sintezu virusne DNA tijekom reverzne transkripcije i katalizira deaminaciju citidina u uridin tijekom sinteze negativnog lanca DNA [29]. Ova promjena dovodi do degradacije virusne DNA i/ili gvanozin-adenozin (G-u-A) hipermutacija [29]. APOBEC3G posebno je učinkovit u deaktivaciji virusa jer preferirano cilja GG dinukleotide. Time dovodi do mutacije u kojoj se kodon TGG (triptofan) mijenja u TAA, odnosno stop kodon, čime se zaustavlja translacija proteina virusa [30]. Vif služi kao adaptorska molekula za povezivanje kompleksa jedne E3 ubikvitin ligaze sa APOBEC3G čime inducira njegovu poliubikvitinaciju i naknadnu proteasomsku razgradnju, sprječavajući njezino pakiranje u pupajuće virione [29]. Nadalje, posreduje i degradaciju APOBEC3F, još jednog snažnog HIV-1 inhibitora.

#### **3.3.3.2. Vpr**

Vpr (engl. HIV-1 viral protein R) je HIV-1 protein od oko 14 kDa [29]. Višestruke aktivnosti Vpr-a su aktivacija provirusne transkripcije, zaustavljanje staničnog ciklusa u G2 fazi, indukcija stanične smrti i povećanje vjernosti reverzne transkripcije [29]. Iako se zaustavljanje u G2 fazi staničnog ciklusa događa pomoću Vpr proteina iz različitih lentivirusa primata, nije poznato kako aktivnost doprinosi replikaciji virusa [30]. Vpr također olakšava infekciju makrofaga [29].

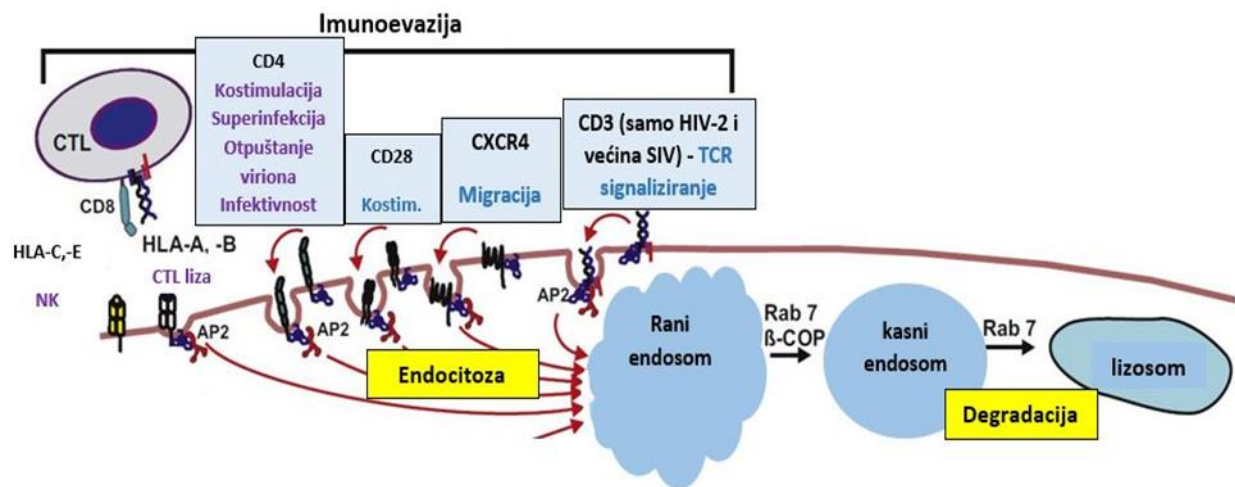
### **3.3.3.3. Vpu**

Vpu je integralni membranski protein od 16 kDa, proizveden zajedno s Env proteinima tijekom kasne faze životnog ciklusa virusa [29]. Vpu ima dvije glavne funkcije. Prvo, ulazi u interakciju s novosintetiziranom CD4 molekulom u endoplazmatskom retikulumu, te regrutira kompleks ubikvitin ligaze na njegov citoplazmatski rep posredujući procesu poliubikvitinilacije i proteasomalne degradacije [29]. Drugo, Vpu može ući i u interakciju s transmembranskom domenom teterina na vrlo specifičan način i usmjeriti ga do trans-Golgijske mreže ili do ranih endosoma. Time se površinska razina izražaja teterina smanjuje, a time i njegov inhibicijski učinak na HIV-1 infekciju koji nastaje kao posljedica sprječavanja otpuštanja zrelih viriona na površinu stanice [29]. Vpu također može smanjiti izražaj MHC-I proteina na staničnoj površini, što može zaštititi zaražene stanice od prepoznavanja i ubijanja od strane citotoksičnih T limfocita [30].

### **3.3.3.4. Nef**

Nef (engl. negative factor) je miristoilirani protein HIV-1 virusa, veličine oko 27 kDa koji se veže za membrane u staničnoj citoplazmi. Najizraženiji je u ranoj fazi životnog ciklusa virusa [29]. Nef proteini imaju značajnu ulogu u HIV infekciji i ključni su za ubrzano napredovanje bolesti kod zaraženih osoba [29]. Njegovo djelovanje obuhvaća remodeliranje straničnog prometovanja, kontrolu genske ekspresije, te promjene u staničnom signaliziranju [29]. Nadalje, deregulacijom komunikacije između T stanica i antigen predočnih stanica (APS) narušava se antigensko predočavanje što otežava aktivaciju stečene imunosti, a time i sintezu antivirusnih protutijela, odnosno aktivaciju CTL-a [29]. U limfocitima T zaraženim HIV-om-1, Nef znatno smanjuje razinu izražaja molekula CD4, MHC-I, ali djelomično CD28 i CXCR4 (CXCL12) na način da povećava stopu njihove endocitoze, odnosno da ih preusmjerava u lizosome za razgradnju (slika 9) [29]. Svi ovi navedeni učinci koje posreduje Nef zajedno štite virusom zaražene T stanice od CTL lize, smanjuju njihovu migraciju kao odgovor na kemokin SDF-1 (CXCL12),

sprječavaju superinfekciju te mogu olakšati oslobađanje infektivnih viriona [29].

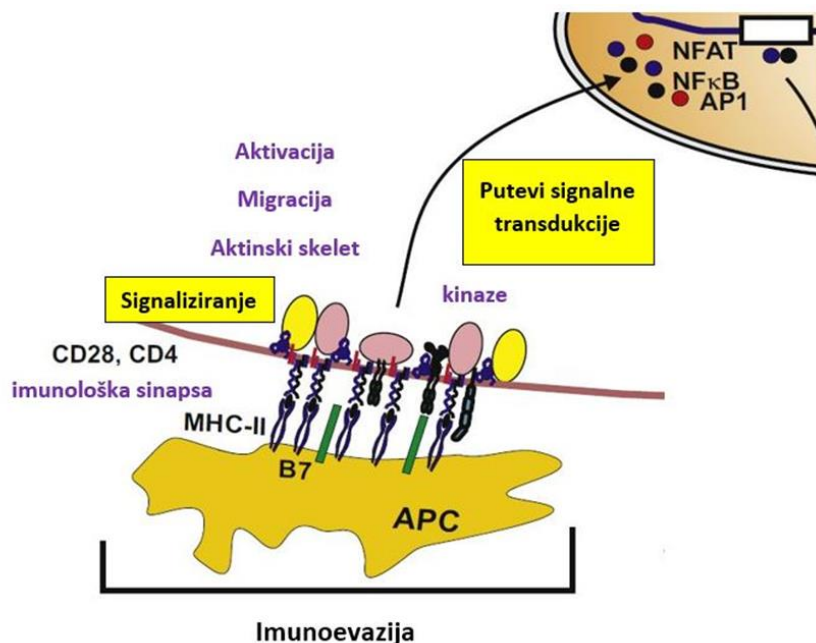


**Slika 9. Mehanizmi HIV-1-posredovanog izbjegavanja imunološkog odgovora Nef proteinom.** HIV-1 protein Nef dovodi do smanjenog izražaja CD4, CD28, CXCR4 i CD3 s površine aktiviranih CD4<sup>+</sup> limfocita T. Nakon povećane endocitoze navedenih proteina, u procesu koji je posredovan adaptorskim proteinom-2 (AP-2), slijedi njihova degradacija u lizosomima [29]. Ove Nef funkcije smanjuju CTL lizu, potiskuju migraciju stanica, olakšavaju oslobađanje virusa i moduliraju prijenos signala pomoću imunološke sinapse. Preuzeto i prevedeno iz [29].

Kao što je ranije navedeno, ubrzana endocitoza CD4 s površine inficiranih stanica predstavlja jednu od najznačajnijih učinaka Nef-a [30]. Ovaj proces započinje njegovom interakcijom s citoplazmatskim repom CD4. Potom slijedi regrutiranje AP2 (klatrin adaptorski proteinski kompleks 2), internalizacija kroz jamice obložene klatrinom i kasniji transport do endosoma, a zatim lizosoma za razgradnju (slika 9) [30]. Osim CD4, Nef selektivno smanjuje i površinski izražaj HLA-A i -B, ali ne HLA-C ili -E alela iz stanice. Time se omogućuje izbjegavanje lize zaražene stanice od strane CTL-a, ali uz istodobnu zaštitu od napada NK stanica, kao što je ranije objašnjeno (odjeljak 3.3.1.1.) [29]. Pretpostavlja se da se nishodna regulacija MHC-I molekula može odvijati pomoću 2 mehanizma. Prema prvom, Nef dolazi u interakciju sa citoplazmatskim repom HLA-A/B i regrutira AP1 komplekse na membranama trans-Golgi mreže. Posljedično

se MHC-I molekule, umjesto na staničnu površinu, preusmjeravaju u endosome. Prema drugom mehanizmu Nef preko Src kinaze potiče signalni put koji inducira endocitozu MHC-I molekula [30]. Kao što je navedeno, ova nishodna regulacija MHC-I molekula otežava citotoksičnim limfocitima T prepoznavanje, a time i uklanjanje virusom zaraženih stanica što predstavlja značajnu prednost za virus [30].

Nadalje, Nef djeluje i na različite stanične kinaze modulirajući stanično signaliziranje osobito preko T staničnog receptora, čime se remeti aktivacija odgovarajućih limfocita T [30]. Također, HIV-1 Nef protein potiče aktivaciju staničnih transkripcijskih faktora, kao što su NF-AT, NF- $\kappa$ B, i AP-1, koji povećavaju transkripciju virusnog LTR promotora i time replikaciju virusa (slika 10) [29]. Osim toga, Nef također utječe na predočavanje antigena MHC-II molekula remodeliranjem izražaja invarijantnog lanca [29].



**Slika 10. Učinak Nef proteina na predočavanje MHC-II molekulama i aktivaciju transkripcijskih faktora.** Smanjenjem izražaja invarijantnog lanca smanjuje se i predočavanje antigena MHC-II molekulama. Također, Nef protein potiče aktivaciju staničnih transkripcijskih faktora NF-AT, NF- $\kappa$ B, i AP-1, koji povećavaju transkripciju virusnog LTR promotora i shodno tome replikaciju virusa. Preuzeto i prevedeno iz [29].

Kako bi limfociti T postali osjetljiviji na HIV-1 infekciju, Nef može izazvati izlučivanje citokina iz HIV-1 zaraženih makrofaga koji ujedno i privlače T stanice [29]. U konačnici, pretpostavlja se da Nef može pokrenuti apoptozu susjednih CD4<sup>+</sup> stanica, te narušiti proces izotipskog prekapčanja u limfocitima B (u IgG2 i IgA) [29].

### **3.3.3.5. Ostali mehanizmi kojima HIV-1 izbjegava imunosni odgovor**

Jedan od najvažnijih mehanizama pomoću kojih HIV-1 izbjegava imunološki odgovor je skrivanje ili latencija. Tako su mnoge stanice zaražene ovim virusom minimalno aktivirane ili u stanju mirovanja i ne mogu biti prepoznate i uklonjene djelovanjem imunološkog sustava sve dok ne izraze virusne antigene [29]. Neke latentno zaražene stanice prežive mnogo godina, čime se onemogućuje iskorjenjivanje virusa [29].

Drugi mehanizam je „nesavršenost“ rada reverzne transkriptaze. Reverzna transkriptaza čini oko jednu grešku na 10 000 nukleotida. Obzirom da je vrijeme generacije HIV-1 kratko, te da se svaki dan proizvede milijarde novih virusa, potencijal za varijaciju je ogroman [29]. Stoga se HIV-1 brzo razvija, što rezultira i brzom selekcijom virusnih kvazivirusta koje imaju prednost u rastu jer ih ne prepoznaju antitijela ili citotoksični T limfociti domaćina [29].

Također, većina protutijela vrlo slabo reagiraju s nativnom oligomernom proteinskom ovojnicom prisutnom na HIV-1 površini [29]. Razlozi za to su već ranije navedeni - otprilike polovica mase Env glikoproteina se sastoji od varijabilnih ugljikohidrata, dok su funkcionalne domene maskirane varijabilnim petljama i samo prolazno izložene tijekom ulaska virusa [29].

Na kraju, HIV-1 može se širiti i izravno iz zaraženih u nezaražene stanice putem viroloških sinapsi što može zaštititi virus sterički i kinetički od imunološkog efekorskog mehanizma [29].

### **3.4. Klinička slika HIV-1 zaraženih osoba**

Klinički tijek HIV-1 bolesti može se razlikovati među pacijentima, ali uobičajeno se prvo razvija HIV-1 bolest, koja podrazumijeva stanje infekcije koje je više ili manje kontrolirano imunskim odgovorom domaćina i može uključivati višegodišnje razdoblje latencije. U kasnoj fazi, kao posljedica potpunog „imunološkog sloma“ kod dijela pacijenata, osobito onih koji su izvan adekvatne terapije, ne reagiraju na nju ili su je prekasno počeli primati, može se razviti AIDS – stanje potpunog nedostatka imuniteta koje završava smrću.

Neki ljudi iskuse kratku bolest poznatu kao serokonverzijska bolest ubrzo nakon što se zaraze HIV-om, a njeni simptomi uključuju simptome slične gripi, kao što su glavobolja, povišena tjelesna temperatura, pretjeran umor, osip na koži i natečeni limfni čvorovi na vratu i preponama [31]. Kod nekih osoba su ti simptomi toliko blagi da prođu nezamijećeno ili pacijenti misle kako se uistinu i radilo o gripi [31]. Serokonverzija je ujedno i razdoblje najvećeg rizika da osoba zarazi nekoga drugoga HIV-om [31].

Nakon završetka serokonverzije, većina ljudi osjeća se dobro i ne osjeća nikakve simptome [31]. To se naziva asimptomatski stadij i može potrajati nekoliko godina. Iako se u ovoj fazi možda osjećaju dobro, virus je aktivan, umnožava se u limfnim čvorovima i oštećuje sposobnost imunološkog sustava da se bori protiv bolesti [31].

Što dulje osoba živi s HIV-om bez liječenja, to je veći rizik od razvoja infekcija protiv kojih se oslabljeni imunološki sustav ne može boriti: određenih vrsta raka, kao i izravnih učinaka HIV-a [31]. Kada se one razvijaju, za pacijenta kažemo da ima simptomatski HIV.

Uzrokuje li HIV veliku štetu imunološkom sustavu, osoba se može razboljeti od određenih ozbiljnih oportunističkih infekcija (upala pluća i tuberkuloza) i/ili karcinoma (Kaposijev sarkom, invanzivni cervikalni karcinom, NeHodgkinov limfom). Uz navedene, mogu se javiti još neki simptomi, poput naglog gubitka težine, kašljanja ili problema s disanjem, noćnog



znojenja, temperature koja se stalno vraća, proljeva koji traje više od tjedan dana, ranica u ustima, u analnom području ili na genitalijama, bijelih mrlja na koži ili unutar usta, nosa ili kapaka, problema s pamćenjem, depresije [31]. Ove bolesti definirane su kao AIDS. Koliko je vremena potrebno HIV-u da postane AIDS različito je za svakoga - ako se ne liječi, može proći 10 do 15 godina, a uz liječenje, možda nikada ne dođe do AIDS-a [31].

U slučaju rane dijagnostike i liječenja većina ljudi koji žive s HIV-om nikada ne iskuse kasnu fazu HIV-1 bolesti, odnosno AIDS [31]. Nadalje, zdrav način života ključan je za dobar život s HIV-om, uključujući redovito vježbanje, uredan san i dobru prehranu, prestanak pušenja i brigu o mentalnom blagostanju.

## **4. PREVENCIJA I TERAPIJA HIV-1 bolesti**

### **4.1. Liječenje HIV-1 pozitivnih osoba**

Liječenje lijekovima protiv HIV-a naziva se antiretrovirusna terapija (ART). ART se preporučuje svim osobama koje su HIV-1 pozitivne, a s terapijom se treba započeti što je prije moguće. Osobe na ART-u uzimaju kombinaciju lijekova (koktel) protiv HIV-a svaki dan [32]. Početni režim liječenja općenito uključuje tri lijeka za HIV iz najmanje dvije različite klase lijekova za HIV [32]. Antiretrovirusni lijekovi ometaju jedan od nekoliko koraka virusne infekcije i replikacije, kao što je, primjerice, ulazak HIV-a u CD4<sup>+</sup> stanice, reverzna transkripcija virusne RNA u DNA, integracija virusnog genoma u genom domaćina i sklapanje HIV proteina i RNA genoma u novu virusnu česticu [33]. Učinci terapije podrazumijevaju smanjenje količine virusa u tijelu, smanjenje rizika prijenosa i razvitka bolesti u AIDS te samim time zaštitu imunskog sustava [33]. Lijekovi se mogu podijeliti u više kategorija, ovisno koji enzim ili koji stadij ciklusa virusa ciljaju.

*Nukleozidni i nenukleozidni inhibitori reverzne transkriptaze* blokiraju, odnosno mijenjaju reverznu transkriptazu zaustavljajući pritom stvaranje novih kopija virusa [34]. *Integrazni inhibitori* blokiraju integrazu, a *proteazni inhibitori* proteazu, stoga je njihova uloga također sprječavanje nastanka čestica HIV-a [34]. Kako sugerira i samo ime, *inhibitori fuzije* blokiraju da uopće dođe do fuzije, a potom i do ulaska virusa u stanicu [34]. Blokiranjem CCR5 koreceptora (CCR5 antagonisti) ili neutralizacijom virusa pomoću gp120 protutijela isto tako sprječava se ulazak i infekcija CD4<sup>+</sup> T limfocita [34]. Noviji razredi monoklonskih protutijela, tzv. inhibitori postvezivanja virusa, onemogućuju širenje virusa iz već zaraženih stanica [34]. Takvu vrstu lijeka primaju odrasle, HIV-om zaražene osobe čiji je virus postao rezistentan na ostale vrste terapija [34]. Postoje slučajevi koji zahtijevaju produljenje boravka lijeka u organizmu, pri njegovim visokim koncentracijama, tj. potrebno je pojačati djelotvornost. Ovi lijekovi se kategoriziraju kao farmakokinetički pojačivači i funkcioniraju tako da usporavaju raspad drugih lijekova [34].

Tenofovirdizoproksil fumarat (Viread) i emtricitabin (Emtriva) inhibitori su reverzne transkriptaze i sigurni su lijekovi [33]. Tenofovirdizoproksil fumarat postiže osobito visoke koncentracije u rektalnom tkivu, a emtricitabin to postiže u ženskom genitalnom traktu pa su kategorizirani kao preekspozicijska profilaksa (PrEP) [33]. U vidu PrEP-a upotrebljavaju se za sprječavanje prijenosa HIV-a s majke na dijete, ali učinkoviti su i kao postekspozicijska profilaksa [33].

Razvoj Nef inhibitora trenutno predstavlja područje interesa i novu strategiju ciljanja virusa. Blokiranje Nef-a omogućilo bi imunološkom sustavu učinkovitiju borbu protiv stanica zaraženih HIV-om-1 te njihovo trajno uništenje povećanjem antigenskog predočavanja.

Iako ART ne može izliječiti HIV, smanjuje rizik prijenosa bolesti na druge i pomaže osobama s HIV-om da žive kvalitetnije i dulje.

## **4.2. Problemi razvoja cjepiva protiv HIV-1 i njihova budućnost**

Iako trenutno vrlo korištena antiretrovirusna terapija omogućuje kontrolu replikacije virusa, osim sporadično opisanih rijetkih slučajeva, HIV-1 nije moguće u potpunosti ukloniti. Problem stvara latentni rezervoar karakteriziran latentno zaraženim memorijskim CD4<sup>+</sup> T stanicama u mirovanju. Stoga izlječenje od HIV-a nije moguće sve dok rezervoar nije pročišćen [35]. Nadalje, oko 90% zaraženog stanovništva živi u zemljama u razvoju gdje antiretrovirusni lijekovi nisu dostupni pa bi razvoj sigurnog i učinkovitog profilaktičkog cjepiva bilo najbolje rješenje za konačnu eliminaciju HIV-1 pandemije [35].

Neutralizirajuća protutijela bila su prvi izbor za postizanje imuniteta potaknutog cjepivom protiv HIV-1 [35]. U tu svrhu korišten je monomerni HIV-1 Env gp120 protein za induciranje Env specifičnog humoralnog imunološkog odgovora [35]. Međutim, u ranoj fazi kliničkog ispitivanja, iako su gp120 imunogeni izazvali proizvodnju specifičnih protutijela, nisu uspjeli potaknuti proizvodnju neutralizirajućih protutijela te nisu pružali zaštitu od HIV-1 infekcije kod ljudi [35].

Stoga se ponovno pokrenulo istraživanje aktivacije specifičnog staničnog imunološkog odgovora [35]. Cilj je bio odrediti može li cjepivo biti sposobno aktivirati T staničnu imunost i osigurati prevenciju od HIV-1 infekcije ili barem smanjiti količinu virusa u plazmi nakon infekcije [35]. Cjepivo se, nažalost, nije pokazalo uspješnim [35].

Najveću prepreku razvoju učinkovitog cjepiva protiv HIV-a velikim dijelom stvara raznovrsnost virusnih podtipova i raznolikost proteinskih sekvenci [35]. Kao što je i ranije navedeno, reverzna transkriptaza enzim je "sklon pogreškama" tako da i unutar zaraženih pojedinaca može nastati ogromna raznolikost među stalno evoluirajućim populacijama virusa [35]. Tako se aminokiselinske sekvence Env-a mogu se razlikovati i do 20% unutar određenog podtipa, dok razlika između podtipova može doseći i do 35% [35]. Drugo, trimer glikoproteina HIV ovojnice sadrži već opisanu N-vezanu

glikozilaciju koja učinkovito štiti epitope od prepoznavanja protutijelom [35]. Treće, virus potencira i nakupljanje mutacija u epitopima limfocita T, što remeti imunološko prepoznavanje i uzrokuje izbjegavanje stanične imunološke kontrole [35]. U konačnici postoje i drugi problemi, kao npr. nerazumijevanje preciznih imunoloških mehanizama, nedostatak relevantnog životinjskog modela, a moguće i farmaceutskog interesa [35].

Danas se sve više razvijaju nove strategije cjepiva te se, između ostalog, konstruiraju imunogeni *in silico* analizom globalnih sekvenci HIV-1 kako bi se osigurala maksimalna pokrivenost raznolikosti virusnih sekvenci [36].

Nadalje, kako je koevolucija s virusom dovela do poticanja stvaranja HIV-1 neutralizirajućih protutijela, sada se pokušavaju izazvati slična neutralizacijska protutijela oponašanjem evolucije HIV ovojnice putem sekvencijalnog cijepljenja [35]. Drugi pristup je dizajn imunogena koji bi mogli specifično aktivirati B stanice koje izražavaju protutijela germinativne linije. Naime, inženjeringom, odnosno *in silico* dizajnom, pokazano je da se imunogen mogao vezati i aktivirati germinalnu liniju BCR-a [35]. Ovi imunogeni možda neće izravno inducirati neutralizirajuća protutijela, ali bi mogli poslužiti kao obećavajuće cjepivo.

Na kraju je bitno napomenuti da se eksperimentalno mRNA cjepivo protiv HIV-a farmaceutske tvrtke Moderna pokazalo sigurno na životinjama, a trenutno je u fazi kliničkih ispitivanja na ljudima. U ovom pristupu koristi se mRNA koja kodira za protein šiljka koje organizam domaćina prepoznaje te započinje stvarati imunološki odgovor [37]. Takva tehnologija pokazala se učinkovitom za cjepiva protiv novih koronavirusa, a znanstvena zajednica, oboljeli i ugroženi polažu sve nade u njegovu istu ili još bolju učinkovitost u borbi protiv pandemije HIV-a.

## **5. SVRHA RADA**

Pretraživanjem i uspoređivanjem rezultata iz relevantne znanstvene literature o HIV-1 imali smo sljedeće ciljeve:

1. Opisati i razumjeti građu i replikacijski ciklus HIV-1 virusa i povezati ga sa njihovim životnim ciklusom u stanici.
2. Razumjeti osnovne imunosne mehanizme kojima zaraženi organizam domaćina pokušava ukloniti HIV-1.
3. Razumjeti i analizirati mehanizme kojima HIV-1 narušava odgovor organizma izbjegavajući i narušavajući funkciju njegovog imunosnog sustava.
4. Na osnovu razumijevanja imunopatogenetskih mehanizama u HIV-1 infekciji analizirati i objasniti moguće pristupe terapiji i razvoju cjepiva u borbi protiv ovog virusa.

## 6. LITERATURA

- [1] Sharp PM, Hahn BH. Origins of HIV and the AIDS pandemic. Cold Spring Harb Perspect Med. 2011;1(1):a006841. doi:10.1101/cshperspect.a006841
- [2] Hemelaar J, Elangovan R, Yun J, et al. Global and regional epidemiology of HIV-1 recombinants in 1990-2015: a systematic review and global survey. Lancet HIV. 2020;7(11):e772-e781. doi:10.1016/S2352-3018(20)30252-6
- [3] <https://www.who.int/data/gho/data/themes/hiv-aids>
- [4] Fattig J, Swaminathan M, Murrill CS, Kaplan JE. Global epidemiology of HIV. Infect Dis Clin North Am. 2014;28(3):323-337. doi:10.1016/j.idc.2014.05.001
- [5] <https://www.hzjz.hr/sluzba-epidemiologija-zarazne-bolesti/epidemiologija-hiv-infekcije-i-aids-a-u-hrvatskoj/>
- [6] <http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-prirucnik/infektologija/virus-humane-imunodeficijencije>
- [7] <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids>
- [8] Korber B, Gaschen B, Yusim K, Thakallapally R, Kesmir C, Detours V. Evolutionary and immunological implications of contemporary HIV-1 variation. Br Med Bull. 2001;58:19-42. doi:10.1093/bmb/58.1.19
- [9] Wang WK, Chen MY, Chuang CY, Jeang KT, Huang LM. Molecular biology of human immunodeficiency virus type 1. J Microbiol Immunol Infect. 2000;33(3):131-140.
- [10] Ferguson MR, Rojo DR, von Lindern JJ, O'Brien WA. HIV-1 replication cycle. Clin Lab Med. 2002;22(3):611-635. doi:10.1016/s0272-2712(02)00015-x
- [11] Wills JW, Craven RC. Form, function, and use of retroviral gag proteins. AIDS. 1991;5(6):639-654. doi:10.1097/00002030-199106000-00002

- [12] Goff SP. Genetics of retroviral integration. *Annu Rev Genet.* 1992;26:527-544. doi:10.1146/annurev.ge.26.120192.002523
- [13] Moore JP, McKeating JA, Weiss RA, Sattentau QJ. Dissociation of gp120 from HIV-1 virions induced by soluble CD4. *Science.* 1990;250(4984):1139-1142. doi:10.1126/science.2251501
- [14] Feinberg MB, Jarrett RF, Aldovini A, Gallo RC, Wong-Staal F. HTLV-III expression and production involve complex regulation at the levels of splicing and translation of viral RNA. *Cell.* 1986;46(6):807-817. doi:10.1016/0092-8674(86)90062-0
- [15] Stanična i molekularna imunologija; Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman, Shiv Pillai, 8. izdanje
- [16] Jonckheere H, Anné J, De Clercq E. The HIV-1 reverse transcription (RT) process as target for RT inhibitors. *Med Res Rev.* 2000;20(2):129-154. doi:10.1002/(sici)1098-1128(200003)20:2<129::aid-med2>3.0.co;2-a
- [17] Heinzinger NK, Bukrinsky MI, Haggerty SA, et al. The Vpr protein of human immunodeficiency virus type 1 influences nuclear localization of viral nucleic acids in nondividing host cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994;91(15):7311-7315. doi:10.1073/pnas.91.15.7311
- [18] Shin CG, Taddeo B, Haseltine WA, Farnet CM. Genetic analysis of the human immunodeficiency virus type 1 integrase protein. *J Virol.* 1994;68(3):1633-1642. doi:10.1128/JVI.68.3.1633-1642.1994
- [19] Cheng-Mayer C, Seto D, Tateno M, Levy JA. Biologic features of HIV-1 that correlate with virulence in the host. *Science.* 1988;240(4848):80-82. doi:10.1126/science.2832945
- [20] Planinić, A. (2014). Mutacije povezane s rezistencijom virusa ljudske imunodeficijencije tipa 1 na antiretrovirusne lijekove (Disertacija). Preuzeto s <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:752606>

- [21] Šimičić, P. (2015). Patogeneza infekcije virusom ljudske imunodeficijencije (Završni rad). Preuzeto s <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:952121>
- [22] Coffin J, Swanstrom R. HIV pathogenesis: dynamics and genetics of viral populations and infected cells. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013;3(1):a012526. Published 2013 Jan 1. doi:10.1101/cshperspect.a012526
- [23] Naif HM. Pathogenesis of HIV Infection. *Infect Dis Rep*. 2013;5(Suppl 1):e6. Published 2013 Jun 6. doi:10.4081/idr.2013.s1.e6
- [24] Rollins BJ. Physiological coreceptor use by dual-tropic HIV-1: one plus one equals one. *J Clin Invest*. 1999;104(5):531-532. doi:10.1172/JCI8160
- [25] McMichael AJ, Borrow P, Tomaras GD, Goonetilleke N, Haynes BF. The immune response during acute HIV-1 infection: clues for vaccine development. *Nat Rev Immunol*. 2010;10(1):11-23. doi:10.1038/nri2674
- [26] Mostafa, K., Khalid, H. and Noura, Y. (2014) Modeling the Adaptive Immune Response in Hiv Infection Using a Cellular Automata. *International Journal of Engineering and Computer Science*, 3, 5040-5045
- [27] Lu L, Yu F, DU LY, Xu W, Jiang SB. Tactics used by HIV-1 to evade host innate, adaptive, and intrinsic immunities. *Chin Med J (Engl)*. 2013;126(12):2374-2379.
- [28] Larijani MS, Sadat SM, Ramezani A. HIV-1 Immune evasion: The main obstacle toward a successful vaccine. *Arch Asthma Allergy Immunol*. 2018; 2: 013-015. <https://doi.org/10.29328/journal.aaai.1001013>
- [29] Kirchhoff F. Immune evasion and counteraction of restriction factors by HIV-1 and other primate lentiviruses. *Cell Host Microbe*. 2010;8(1):55-67. doi:10.1016/j.chom.2010.06.004
- [30] Malim MH, Emerman M. HIV-1 accessory proteins--ensuring viral survival in a hostile environment. *Cell Host Microbe*. 2008;3(6):388-398. doi:10.1016/j.chom.2008.04.008



- [31] <https://www.webmd.com/hiv-aids/guide/hiv-aids-difference>
- [32] <https://hivinfo.nih.gov/understanding-hiv/fact-sheets/fda-approved-hiv-medicines>
- [33] US Preventive Services Task Force, Owens DK, Davidson KW, et al. Preexposure Prophylaxis for the Prevention of HIV Infection: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. JAMA. 2019;321(22):2203-2213. doi:10.1001/jama.2019.6390
- [34] <https://medlineplus.gov/hivaidsmedicines.html>
- [35] Wang HB, Mo QH, Yang Z. HIV vaccine research: the challenge and the way forward. J Immunol Res. 2015;2015:503978. doi:10.1155/2015/503978
- [36] Rolland M. HIV-1 immune evasion-a threat to effective vaccines?. Nat Med. 2016;22(6):580-581. doi:10.1038/nm.4119
- [37] <https://investors.modernatx.com/news/news-details/2022/IAVI-and-Moderna-Launch-Trial-of-HIV-Vaccine-Antigens-Delivered-Through-mRNA-Technology/default.aspx>

## 7. ŽIVOTOPIS



europass



**Barbara Prevedan**

---

**Datum rođenja:**06/04/2000 | **Državljanstvo:**hrvatsko | **Spol:** Žensko

[barbara.prevedan@gmail.com](mailto:barbara.prevedan@gmail.com)

### ● RADNO ISKUSTVO

---

23/06/2018 – 01/09/2018 – Banjole, Medulin, Hrvatska

**ANIMATOR ZA DJECU I ODRASLE – SAMARCANDA ENTERTAINMENT D.O.O.**

---

### ● OBRAZOVANJE I OSPOSOBLJAVANJE

---

2011 – 2016 – Hrvatska

**ZAVRŠENA OSNOVNA GLAZBENA ŠKOLA –** Glazbena škola Jan  
Vlašimsky, Virovitica

---

**Adresa** Hrvatska | **Područje studija** Tambura - brač, solfeggio

2015 – 2019 – Hrvatska

**ZAVRŠENA SREDNJA ŠKOLA –** Gimnazija Petra Preradovića Virovitica

---

**Adresa** Hrvatska

**STUDENT** – Sveučilište u Rijeci, Odjel za biotehnologiju, Biotehnologija i istraživanje lijekova

## ● **KONFERENCIJE I SEMINARI**

---

12/2019 – 12/2020 – Kampus Trsat

### **Konferencija "Budućnost i perspektiva"**

---

Na konferenciji "Budućnost i perspektiva" sudjelovala sam kao pasivni sudionik (slušatelj u publici) 2019. i 2020. (online) godine. Konferenciju organiziraju studenti svake godine. Njegov glavni cilj je upoznati studente s predstavnicima industrije, njihovom budućnošću, područjem rada i pokazati im kako se najbolje pripremiti za pronalazak posla.

<http://www.usbri.uniri.hr/konferencija-buducnost-i-perspektiva/>  
<https://uniri.hr/vijesti/konferencijastudenata-biotehnologije/>

01/04/2022 – 02/04/2022 – Kampus Trsat

### **Seminar "Sve što student mora znat' o biri"**

---

Seminar je bio o osnovnim sirovinama za proizvodnju piva, procesu proizvodnje piva, stilovima piva i njihovim karakteristikama, fizikalno-kemijskim i mikrobiološkim ispitivanjima. Na kraju smo imali priliku isprobati senzorsku analizu piva u praksi.

[https://sz.uniri.hr/vijesti/projekt-studentsko-pivo-rijeka/?fbclid=IwAR2YdOVWMCSI7vGBH2KJb8HHIbI4\\_rXkVGilWx1tb0xAysb0CZQIjAOcKys](https://sz.uniri.hr/vijesti/projekt-studentsko-pivo-rijeka/?fbclid=IwAR2YdOVWMCSI7vGBH2KJb8HHIbI4_rXkVGilWx1tb0xAysb0CZQIjAOcKys)

16/05/2022 – pub Bačva

### **Predavanje "Samo doza čini otrov"**

---

Dr. sc. Stribor Marković, mag.pharm. prezentirao je o slučajnim otkrićima otrovnih biljnih vrsta i kako smo odabrali pravu dozu i prešli sa smrtonosnih na metode za spašavanje života.

<https://www.facebook.com/events/1084280188968240/?ref=newsfeed>

## JEZIČNE VJEŠTINE

Materinski jezik/jezici: **HRVATSKI**

Drugi jezici:

	RAZUMIJEVANJE		GOVOR		PISANJE
	Slušanje	Čitanje	Govorna produkcija	Govorna interakcija	
<b>ENGLESKI</b>	B2	B2	B2	B2	B2
<b>NJEMAČKI</b>	A2	A2	A2	A2	A2

*Razine: A1 i A2: temeljni korisnik; B1 i B2: samostalni korisnik; C1 i C2: iskusni korisnik*

## VOZAČKA DOZVOLA

Vozačka dozvola: B

## HOBIJI I INTERESI

10 godina bila sam članica KUC-a Virovitica (Kulturno-umjetnički centar) i tamo sam plesala suvremeni ples.

Svirala sam i instrument tamburu u orkestru HPD-a Rodoljub u Virovitici šest godina.

Akademске godine 2019./2020. (5 mjeseci) pohađala sam sat standardnih plesova "Dansel" Elia Bašana. "Analogni foto film" klub pohađala sam 2021. godine u sklopu projekta EPK (Europska prijestolnica kulture) u Rijeci.

2022. godine bila sam dio treće i posljednje "Škole trčanja" (tečaj) u organizaciji SCRI-a (Studentski centar Rijeka).

U slobodno vrijeme volim fotografirati, planinariti i plesati.

## **VOLONTIRANJE**

---

15/10/2020 – 17/10/2021

### **Volonterski projekt 72 sata bez kompromisa**

---

otok Krk

„72 sata bez kompromisa“ međunarodni je volonterski projekt koji potiče mlade ljude i promiče solidarnost, zajedništvo, kreativnost i volontiranje. Sudjelovala sam 2020. godine kao voditeljica tima u vrtiću Katarina Frankopan te 2021. godine kao volonter u domu za starije i nemoćne Mali kartec.

<https://72sata.hr/>

03/05/2022

### **Otvoreni dan odjela za biotehnologiju**

---

Kampus Trsat

U sklopu Dana otvorenih vrata laboratorija sudjelovala sam kao volonter u laboratoriju dipl.ing. Tomislava Pavlešića gdje smo djeci objašnjavali teoriju vezanu za temu "Mirisi oko nas". Nakon toga, isti dan volontirala sam i na "Malim znanstvenim radionicama" - "Šarenilo kemije" čiji je cilj bio prikazati neke složene kemijske reakcije na jednostavan i zanimljiv način.

<https://www.biotech.uniri.hr/hr/otvoreni-dan.html>

2020 – TRENUTAČNO

### **Udruga studenata biotehnologije**

---

Rijeka

Kao student redovito volontiram od 2020. godine u Udruzi studenata biotehnologije (USBRI) u Rijeci u sklopu projekata "Naturis" - izrada prirodne kozmetike i "Putujući znanstvenici" - popularizacija znanosti u mlađoj populaciji. Također, svakog prosinca izrađujemo božićne kuglice koje prodajemo kako bismo prikupili novac u dobrotvorne svrhe kao dio projekta "Kuglice dobrih želja".

Od akademske godine 2021./22. mentor sam studentima u sklopu aktivnosti Studenti mentori (također dio USBRI). Zadatak je razmjena znanja, iskustava i informacija o fakultetu, profesorima,

kolegijima, aktivnostima i projektima s onima na prvoj godini fakulteta i pomoći im da premoste prve dane fakultetskog života.

<https://www.youtube.com/channel/UCAkMnbRVkvk3YCiX9xqvDvA> <http://www.usbri.uniri.hr/> [

## ● **DIGITALNE VJEŠTINE**

---

Izvršno služenje MS Office paketom (Word, Excel, Power point) | Google (Google Meet, Google Docs, Google Classroom, Google Forms, Google Drive, Google Slide); Social Media/Social Network | Gmail  
preciznost i posvećenost detaljima | Timski rad i suradnja analitičke vještine | Izvršne verbalne i komunikacijske vještine | Osnovne vještine korištenja programa : PyMol, Chimerra, Avogadro, MarvinSketch VMD | GAMESS - computational chemistry program

## ● **KOMUNIKACIJSKE I MEĐULJUDSKE VJEŠTINE**

---

Moja verbalna i neverbalna komunikacija je prilično dobra, a također sam vrlo fleksibilna osoba koja rješava probleme. Smatram da sam vrijedna, odgovorna i moje organizacijske i sposobnosti planiranja su izvršne. Timski ili individualni rad, svejedno, kod mene je sve u redu jer se lako prilagodim. Motivacija i znatiželja su karakteristike koje me tjeraju da isprobavam nove zanimljive stvari. Također, empatičan sam slušatelj što je itekako potrebno u komunikaciji s ljudima. Samostalnost u donošenju odluka mi je jako bitna.