

# Lijekovi protiv herpes simpleks virusa 1 i 2

---

**Krišto, Ruža**

**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:193:436380>

*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“

Ruža Krišto  
Lijekovi protiv herpes simpleks virusa 1 i 2  
Završni rad

Rijeka, 2022.

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

Ruža Krišto  
Lijekovi protiv herpes simpleks virusa 1 i 2  
Završni rad

Rijeka, 2022.  
Mentor: izv. prof. dr. sc. Igor Jurak

Završni rad obranjen je dana 26.07.2022.

pred povjerenstvom:

1. izv. prof. dr. sc. Ivana Munitić

2. doc. dr. sc. Jurica Novak

3. izv. prof. dr. sc. Igor Jurak

Rad sadrži 28 stranica, 16 slika i 40 literaturnih navoda.

# Sadržaj

1.	UVOD .....	1
2.	HERPES SIMPLEKS VIRUSI .....	4
2.1.	GRAĐA .....	4
2.2.	REPLIKACIJA .....	5
2.3.	FAZA LATENCIJE I REAKTIVACIJA .....	8
3.	KLINIČKE MANIFESTACIJE .....	10
3.1.	INFEKCIJE HSV-1 .....	10
3.2.	INFEKCIJE HSV-2 .....	11
3.3.	NEONATALNE INFEKCIJE .....	12
3.4.	HSV INFEKCIJE U IMUNOKOMPROMISIRANIH OSOBA .....	13
4.	LIJEKOVI PROTIV HSV VIRUSA .....	15
4.1.	NUKLEOZIDNI ANALOZI .....	15
4.1.1.	ACIKLOVIR .....	17
4.1.2.	PENCIKLOVIR .....	20
4.1.3.	CIDOFOVIR .....	21
4.2.	ANALOG PIROFOSFATA: FOSKARNET .....	21
4.3.	INHIBITORI HELIKAZA- PRIMAZA KOMPLEKSA .....	22
4.4.	INHIBICIJA VEZANJA I FUZIJE VIRUSA .....	23
5.	CIJEPIVO PROTIV HSV .....	24
	LITERATURA .....	26
	ŽIVOTOPIS .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

## SUMMARY

Herpes simplex virus (HSV) infections are one of the most common and widespread viral infections. There are two herpes simplex viruses: HSV-1, which most often causes oropharyngeal infections, and HSV-2, which most often causes genital infections. HSV are DNA viruses that belong to the virus family *Herpesviridae*. The replication cycle of HSV consists of three phases: the phase of productive infection, the phase of latency and the phase of reactivation. The most common HSV infections are not dangerous and can be treated quickly, but in case of immunocompromised persons and newborns, serious complications, often even death, can occur. Mortality of untreated adult patients with encephalitis is about 70%, and 80% for newborns. The vast majority of adults and newborns who recover from encephalitis have permanent neurological damage. A big problem is the increasing rate of HSV-2 infection. The most commonly used drugs for the treatment of HSV infections are nucleoside analogues. The leader of this group is acyclovir. As nucleoside analogues require activation by the viral thymidine kinase (TK), resistance to them occurs very often due to a mutation in the viral TK. For this reason, drugs that do not need TK activation have been developed. An example of such a drug is cidofovir. Foscarnet is a phosphonate analog. New classes of drugs in development target the helicase-primase complex to stop viral replication. Another approach is drugs that act on the entry of the virus into the cell itself. Despite numerous efforts, no successful anti-HSV vaccine has been found to date. Although antiviral therapy has enabled continuous and significant improvement in the treatment of primary and recurrent infections, resistance to currently available drugs and long-term toxicity represent a current and future threat that needs to be addressed by the development of antiviral compounds directed against new targets.

## KEY WORDS:

Herpes simplex virus, HSV, HSV-1, HSV-2, HSV infection, HSV treatment, acyclovir, foscarnet, HSV vaccines

## SAŽETAK

Infekcije herpes simpleks virusima (HSV) jedne su od najčešćih i najraširenijih virusnih infekcija. Razlikujemo HSV-1 koji najčešće uzrokuje orofaringealne infekcije i HSV-2 koji najčešće uzrokuje genitalne infekcije. HSV su DNA virusi koji pripadaju virusnoj obitelji *Herpesviridae*. Replikacijski ciklus HSV sastoji se od tri faze: faza produktivne infekcije, faza latencije te faza reaktivacije. Najčešće HSV infekcije nisu opasne i brzo se liječe, ali u imunokompromitiranih osoba i novorođenčadi one mogu dovesti do ozbiljnih komplikacija, a nerijetko i smrti. Komplikacije koje se najčešće javljaju su keratitis koji potencijalno vodi do sljepoće, encefalitis te brojne sistemske bolesti. Smrtnost neliječenih odraslih pacijenata s encefalitisom je oko 70%, a novorođenčadi 80%. Velika većina odraslih i novorođenčadi koja prebole encefalitis imaju trajna neurološka oštećenja. Veliki problem predstavlja sve veća stopa zaraženih HSV-2. Najčešće korišteni lijekovi za liječenje HSV infekcija su nukleozidni analozi. Oni ciljaju virusnu DNA polimerazu kako bi spriječili replikaciju virusa. Predvodnik ove skupine je aciklovir. Kako nukleozidni analozi zahtijevaju aktivaciju putem virusne timidin kinaze (TK), vrlo često dolazi do rezistencije na njih zbog mutacije u virusnoj TK. Zbog toga su razvijeni lijekovi koji ne trebaju aktivaciju TK-om. Primjer takvog lijeka je cidofovir. Uz nukleozidne analoge, postoje i analozi pirofosfata koji također ne zahtijevaju fosforilaciju virusnom TK. Primjer ovakvog lijeka je foskarnet. Novije skupine lijekova u razvoju ciljaju helikaza- primaza kompleks kako bi zaustavili virusnu replikaciju. Drugi pristup su lijekovi koji djeluju na sam ulazak virusa u stanicu. Unatoč brojnim naporima, do danas nije pronađeno uspješno protu-HSV cjepivo. Iako je protuvirusna terapija omogućila kontinuirano i značajno poboljšanje u liječenju primarnih i ponovljenih infekcija, otpornost na trenutno dostupne lijekove i dugotrajna toksičnost predstavljaju trenutnu i buduću prijetnju s kojom se treba pozabaviti razvojem protuvirusnih spojeva usmjerenih na nove ciljne molekule.

## 1. UVOD

Infekcije herpes simpleks virusima (HSV) jedne su od najstarijih dokumentiranih virusnih infekcija. Riječ herpes dolazi iz grčke riječi „*herpein*“ što znači puzati i označuje latentnu ponavljajuću infekciju.<sup>1</sup> Tom riječju je Hipokrat prije 2500 godina opisao lezije na koži, dok su Sumerani u svojoj literaturi opisali genitalni herpes. Herodot je povezo vrućicu s lezijama na ustima koju je nazvao „*herpes febrilis*“.<sup>2</sup> Mnoga od ovih zapažanja proizašla su iz Galenove dedukcije da je pojava lezija bila pokušaj tijela da se riješi „zlog raspoloženja“. Francuski liječnik Jean Baptiste Émile Vidal 1893. prepoznaje prijenos HSV s čovjeka na čovjeka.<sup>2</sup> U 20. stoljeću uslijedile su broje histopatološke studije u kojima su promatrane biološke manifestacije HSV, njihova transmisija kako s čovjeka na čovjeka tako i s čovjeka na druge organizme te strukture ovih virusa.<sup>3</sup> Razlikujemo dva srodna herpes simpleks virusa: herpes simpleks-1 i herpes simpleks-2. Jedna od najvažnijih otkrića bile su antigenske razlike između ova dva tipa.<sup>1</sup> Povijesno gledano, HSV-1 je češće bio povezivan s ne genitalnim infekcijama (infekcije iznad struka), dok je HSV-2 bio povezivan s genitalnim infekcijama (ispod struka). Na ovim pretpostavkama temelje su brojne studije prošlog stoljeća.<sup>3</sup> Danas se zna da oba oblika HSV mogu biti nađena u oralnoj šupljini i u genitalnom traktu, dok je HSV-1 postao sve češći uzročnik infekcija genitalnog trakta.<sup>1</sup> HSV su DNA virusi koji pripadaju virusnoj obitelji *Herpesviridae*.<sup>4</sup> Kroz vrijeme ovi su se virusi jako dobro evolucijski prilagodili svome domaćinu; pronađeni su u mnogo kralježaka i u najmanje jednom od beskralježnjaka.<sup>1</sup> Do danas je poznato oko 120-ak pripadnika obitelji herpes virusa, no smatra se da je to samo mali dio ove obitelji. *Herpesviridae* obuhvaća viruse s umotanom dvostrukom DNA i relativno složenim genomom. Repliciraju se u jezgri stanice.<sup>4</sup> Oba HSV inficiraju ljude svih dobnih skupa dok su češće infekcije HSV-1.<sup>2</sup> Seroprevalencija ima tendenciju porasta u starijim dobnim skupinama te u zemljama



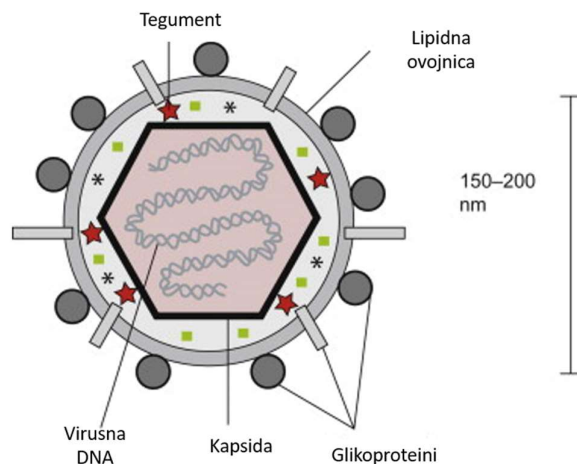
slabijeg socioekonomskog stanja. Infekcije HSV-1 više su raširene u SAD-u nego u Europi.<sup>5</sup> Faktori koji doprinese nastajanju infekcije HSV-2 su dob (stariji ljudi češće obolijevaju), slabiji socioekonomski status, prijašnje spolno prenosive bolesti, velik broj seksualnih partnera i dr.<sup>5</sup> Nakon što dođe do primarne infekcije, HSV virusi se povlače do senzornog ganglija gdje ostaju latentni neodređeno vrijeme.<sup>3</sup> Oni se mogu ponovno aktivirati u različitim fazama života domaćina i uzrokovati produktivne, litičke infekcije.<sup>1</sup> One mogu uzrokovati brojne vidljive simptome kao što su lezije kože, čireve na genitalnim organima, keratitis (upala rožnice) i mnoge druge.<sup>5</sup> U ekstremnim slučajevima, HSV mogu uzrokovati smrtonosne sistemske infekcije ili encefalitis, probleme koji su obično najčešće povezani s imunokompromitiranim pacijentima.<sup>3</sup> Infekcije HSV jedne su od najčešćih virusnih infekcija. Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) procijenjeno je da 3.7 milijardi (67%) ljudi ispod 50 godina imalo infekciju HSV-1. Procijenjeno je i da je 491 (13%) milijun ljudi u dobnoj skupini između 15 i 49 godina imao zarazu HSV-2.<sup>6</sup> Cilj svakog virusa je umnažanje i širenje. Replikacijski ciklus HSV sastoji se od tri faze: faze replikacije u kojoj se virus aktivno umnaža i ulazi u okolne stanice, faze latencije u kojoj su glavni geni utišani ili se transkriptiraju niskom frekvencijom te faze reaktivacije u kojoj se virus ponovno replicira i prenosi u blizinu mjesta početne infekcije te se ciklus ponavlja.<sup>1</sup> U liječenju infekcija uzorkovanih HSV mogu se koristiti topikalni, oralni ili intravenski protuvirusni agensi.<sup>3</sup> Istraživanja lijekova protiv infekcija HSV dobila su zamah nakon što je 1962. Američka agencija za hranu i lijekove (FDA) odobrila idoksuridin, analog nukleozida, u tu svrhu.<sup>3</sup> Od tada napreduje poznavanje genetike i enzimologije HSV što je otvorilo vrata novim, sintetskim lijekovima. Većina protu-HSV lijekova su nukleozidni analozi koji direktno ciljaju DNA polimerazu kada su u svom aktivnom obliku.<sup>3</sup> DNA polimeraza jedan je od najvažnijih enzima replikacije te njegova inhibicija dovodi do zaustavljanja umnažanja virusa. Problem kod ovih lijekova je što potencijalno mogu inhibirati i ljudsku DNA polimerazu što je jako toksično.<sup>4</sup> Jedan od najčešće korištenih lijekova za liječenje

HSV infekcija je nukleozidni analog, aciklovir. Aciklovir je predvodnik ove skupine lijekova zbog svoje učinkovitosti i niske toksičnosti.<sup>7</sup> Penciklovir je također nukleozidni analog koji se često koristi zbog svoje dobre selektivnosti i niske toksičnosti, no slabije se apsorbira od aciklovira.<sup>8</sup> Trifluridin i idoksuridin, iako još u upotrebi, mnogo su rjeđe korišteni protu-HSV zbog njihove toksičnosti.<sup>3</sup> Neki ljudi mogu razviti rezistenciju na ove lijekove zbog mutacija na virusnoj timidin kinazi koja je potrebna za njihovu aktivaciju.<sup>3</sup> Zbog ovoga su razvijeni lijekovi koji ne zahtijevaju fosforilaciju ove kinaze; npr. cidofovir.<sup>4</sup> Uz nukleozidne analoge, postoje i analozi pirofosfata koji također ne zahtijevaju fosforilaciju timidin kinaze. Primjer ovakvog lijeka je foskarnet.<sup>9</sup> Novije skupine lijekova u razvoju ciljaju helikaza- primaza kompleks kako bi zaustavili virusnu replikaciju. Drugi pristup su lijekovi koji djeluju na sam ulazak virusa u stanicu.<sup>3</sup> Unatoč brojnim naporima cjepivo protiv HSV još nije pronađeno. I dalje se ulažu brojni naponi u istraživanja lijekova protiv HSV kako bi se riješio problem rezistencije.<sup>2</sup> Kako HSV jednako zahvaća i zapadne razvijene zemlje, farmaceutska industrija ima veliku dobit od takvih protuvirusnih lijekova. Posljedica toga su današnja brojna istraživanja kako bi se razvili što povoljniji protu-HSV lijekovi. U ovom radu donesen je pregled postojećih protu-HSV lijekova te onih koji su u određenim fazama kliničkih ispitivanja i daju obećavajuće rezultate. Isto tako, opisan je put istraživanja protu-HSV cjepiva te fokusi i izazovi za protu-HSV cjepiva u budućnosti.

## 2. HERPES SIMPLEKS VIRUSI

### 2.1. GRAĐA

Članovi obitelji herpesvirusa dijele mnoga zajednička obilježja; sličnu strukturu, reprodukcijski ciklus i sposobnost latencije. No, također se i razlikuju u mnogo aspekata pa su podijeljeni u tri skupine:  $\alpha$ -herpesvirusi,  $\beta$ -herpesvirusi i  $\gamma$ -herpesvirusi.<sup>1</sup> HSV-1 i HSV-2 pripadaju skupini  $\alpha$ -herpesvirusa. Virusni koji se ubrajaju u skupinu  $\alpha$ -herpesvirusa su neurotropni virusi koji zahvaćaju živčana tkiva i imaju relativno kratak replikacijski ciklus.<sup>3</sup> Jako su učinkoviti u uništavanju raznih stanica domaćina. Promjer čestice HSV (viriona) je 150-200nm.<sup>10</sup> Struktura čestice HSV se sastoji od četiri koncentrične komponente. U sredini čestice nalazi se jezgra koja sadrži relativno veliku virusnu DNA (veću od 150kB) obavijenu poliaminima.<sup>4</sup> Virusni DNA materijal štiti ikozaedarska kapsida koja se sastoji od kapsomera. Slijedeća komponenta je tegument, koja se nalazi između nukleokapside i virusne ovojnice.<sup>1</sup> To je amorfni sloj proteina i enzima koji nadgledaju procese u stanici te djeluju odmah neposredno nakon ulaska virusa u stanicu.<sup>1</sup> Proteini tegumenta su važni u virusnoj replikaciji i kod izbjegavanja imunološkog sustava domaćina. Ovojnica je građena od lipida i učvršćena je s glikoproteinima.<sup>10</sup>



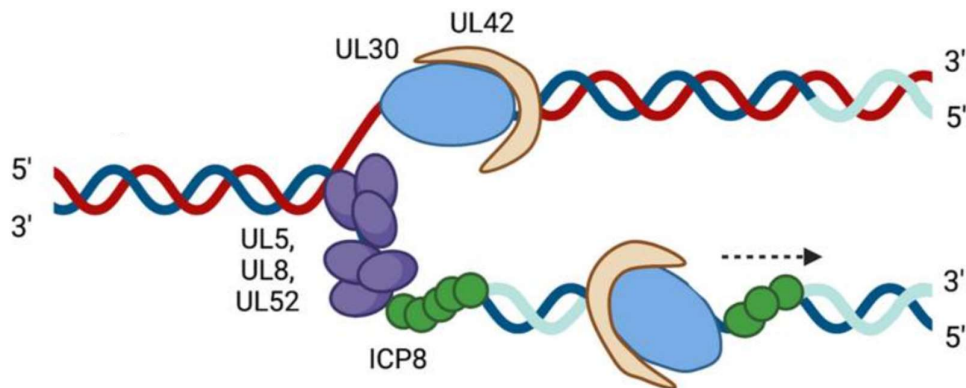
Slika 1. Shematski prikaz strukture HSV: proteini tegumenta prikazani su crvenim zvjezdicama i žutim kvadratićima, dok su membranski glikoproteini prikazani pravokutnicima i krugovima

Genom HSV sastoji se od dvostruke DNA koja sadrži oko 152 tisuće parova baza.<sup>1</sup> Njega grade dvije međusobno kovalentno povezane sekvence: mala jedinstvena sekvenca (US) i velika jedinstvena sekvenca (UL), omeđene s ponavljajućim sljedovima.<sup>3</sup> Genom HSV kodira za najmanje 100 transkripata, od kojih se 84 prevodi u proteine. Njih 46 su „neobavezni“ proteini za replikaciju virusa.<sup>1</sup> Njihova funkcija je omogućavanje efektivne replikacije i efikasnog širenja te sprečavanja odgovora domaćina na infekciju. Iako su oni nazvani „neobavezni“, virusi bez njih još nisu izolirani iz čovjeka.<sup>3</sup> Proteini HSV su multifunkcionalni. Pojedine funkcije su određene postranslacijskim modifikacijama, dok se ostale ostvaraju u određenim dijelovima replikacije.<sup>3</sup>

## 2.2. REPLIKACIJA

Replikacija HSV definirana je mehanizmima koje kodira čestica virusa te imunskim odgovorom stanice domaćina.<sup>1</sup> Kako bi inicirao infekciju, virion se prvo svojim glikoproteinima veže za membranske receptore i time potiče ulazak u stanicu. Kada virion uđe u stanicu, on otpušta nukelokapsidu i oko 20 proteina tegumenta u citoplazmu domaćina. Nukelokapsida se transportira do jezgrinih pora.<sup>3</sup> DNA virusa se ispušta kroz jezgrine pore u nukleoplazmu. Pojedini proteini tegumenta se također prenose do jezgre. Nakon što je virusna DNA ispuštena kroz jezgrine pore u jezgru domaćina, jezgrini proteini domaćina tvore kompleks ND10.<sup>1</sup> Organizator ovog kompleksa je promijelocitna leukemija protein (PML).<sup>3</sup> Ovaj kompleks ima za zadaću utišati virusnu DNA deacetilacijom histona i metilacijom. Kako bi virusna DNA mogla krenuti u replikaciju, mora zaobići odgovor jezgre domaćina.<sup>1</sup> To se dešava kada proteini tegumenta uđu u jezgru. Najvažniji proteini tegumenta su VP16 i pUL47. VP16 potiče nekoliko transkripcijski faktora i time započinje ekspresija virusnih gena što vodi do replikacije.<sup>3</sup> Prvi su izraženi neposredno rani geni (alfa geni)

koji imaju dvije funkcije. Njihova prva funkcija je onemogućiti imunosti odgovor domaćina na stranu DNA i na strane proteine. Druga funkcija im je omogućavanje učinkovite ekspresije virusnih gena kroz subverziju i regrutiranje proteina domaćina.<sup>11</sup> Nakon toga se eksprimiraju rani geni (beta geni).<sup>1</sup> Oni kodiraju proteine koji sudjeluju u replikaciji virusne DNA. Proteini koji sudjeluju u replikaciji virusne DNA su česte mete lijekova protiv HSV.<sup>11</sup> Sedam virusnih proteina esencijalni su u procesu replikacije virusne DNA.<sup>12</sup> Prvo se za ishodišta replikacije veže protein UL9 i tako inicira početak replikacije. UL9 ima intrinzičnu aktivnost ATP-aze i helikaze te zbog toga može odmotati DNA na ishodištima replikacije.<sup>12</sup> Sljedeći protein je ICP8 koji stimulira DNA polimerazu i helikaza-primaza kompleks te u interakciji s drugim virusnim i staničnim proteinima potiče replikaciju virusne DNA. Nakon interakcije između UL9 i ICP8, helikaza-primaza kompleks se regrutira na replikacijske rašlje. Helikaza-primaza kompleks se sastoji od UL5 proteina (helikaza), UL8 proteina (dodatni protein) i UL52 proteina (primaza).<sup>1</sup> Nakon regrutacije ovog kompleksa na replikacijske rašlje, UL5 dalje odmotava dvolančanu virusnu DNA, a UL52 zatim dodaje kratke RNA početnice. Nakon toga na red dolazi DNA polimeraza (UL30) i dolazi do elongacije novorastućeg lanca. DNA polimeraza ima i egzonukleaznu aktivnost; može popraviti krivo sparane baze. Bez DNA polimeraze virusna replikacija nije moguća. Važnu ulogu u sintezi novorastućeg lanca ima i protein koji se naziva faktor procesivnosti (UL42). UL42 povećava afinitet UL30 za virusnu DNA.<sup>12</sup>



Slika 2. Shematski prikaz proteina replikacije HSV: Nakon što se protein UL9 (nije prikazan) veže za ishodišta replikacije, DNA se odmotava. Potom helikaza- primaza kompleks (prikazan ljubičasto) dodaje početnice. Protein ICP8 (prikazan zeleno) potiče replikaciju virusne DNA. Virusna polimeraza UL30 (prikazana plavo) i faktor procesivnosti UL42 (prikazan smeđe) provode sintezu vodećeg (gore) i sporednog (dolje) lanca. RNA početnice prikazane su svijetloplavom bojom.

Izvor: Jessica E. Packard and Jill A. Dembowski. 2015. HSV-1 DNA Replication—Coordinated Regulation by Viral and Cellular Factors

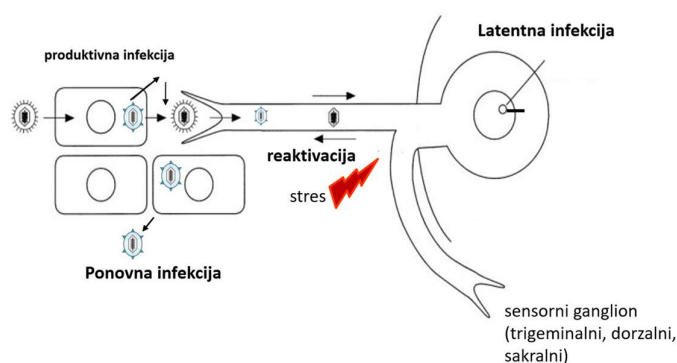
Zadnji se ekprimiraju kasni geni (gama geni). To su geni koji uglavnom kodiraju za strukturne proteine viriona.<sup>1</sup> Paralelno s ekspresijom virusnih gena, stanica domaćina prepoznaje stranu DNA i kreće u transkripciju gena važnih za imunski odgovor.<sup>2</sup> Prepisuje se nekoliko stotina gena koji kodiraju za stresne mRNA. Nakon ulaska u stanicu domaćina i otpuštanja proteina tegumenta, VHS se veže za 5' kapu prethodno formiranih staničnih mRNA. On cijepa 5' kapu i takve mRNA se brzo degradiraju od 5' do 3' kraja staničnim enzimima.<sup>3</sup> Na ovaj način virus oslobađa domaćinove ribosome kako bi bili dostupni za translaciju virusni proteina.<sup>2</sup> VHS veže se i za mRNA nastale kao odgovor na virus (stresne mRNA) te im cijepa 3' kraj. Cilj HSV kada uđu u stanicu je i degradacija PML i blokada lučenja interferona.<sup>3</sup> Kako je PML važan protein ND10 kompleksa koji zaustavlja transkripciju virusnog genoma, njegovom degradacijom virus si osigurava neometanu replikaciju.<sup>1</sup> Degradacija je posredovana proteinom ICP0; ubikvitin ligaza koja usmjerava proteine za degradaciju.<sup>2</sup> Prezentacija virusnih peptida blokirana je na površini zaražene stanice. ICP47,  $\alpha$  protein, veže Tap1/Tap1 i blokira transport i prezentaciju antigenetskih peptida.<sup>12</sup> Zbog ovoga stečeni imunski sustav ne prepoznaje zaražene stanice sve do kasnije u infekciji.<sup>3</sup> Dolazi i do nagomilavanja komplementarnih transkripata sposobnih za stvaranje dvolančane (ds) RNA. Prisutnost dsRNA aktivira protein kinazu R (PKR), koja fosforilira faktor inicijacije translacije eukariota (eIF-2 $\alpha$ ). To dovodi do prestanka

sinteze proteina i smrti stanice domaćina.<sup>1</sup> Kako je virusu potrebna stanica domaćina za umnažanje, pomoću svojih proteina dovodi do defosforilacije eIF-2 $\alpha$  i omogućava dovršetak sinteze virusnih proteina.<sup>3</sup>

### 2.3. FAZA LATENCIJE I REAKTIVACIJA

Nakon primarne infekcije, HSV odlazi u senzorne neurone ili u stražnji korijen leđne moždine.<sup>1</sup> HSV ulazi u senzorne neurone na mjestu primarne infekcije te se nukleokapsida virusa potom prenosi putem aksona do središnjeg živčanog sustava. Prijenos nukleokapside do živaca najbolje je istražen na mišjem modelu.<sup>3</sup> Prijenos virusa do trigeminalnog živca u zaraženom mišu dešava se u manje od 24 sata. Tada započinje primarna faza u kojoj se uspostavlja latencija. Potom slijedi faza održavanja latencije koju karakterizira doživotno zadržavanje genoma HSV u organizmu.<sup>14</sup> U ovoj fazi genom virusa je utišan pomoću ND10 kompleksa i brojnih mehanizama koji još nisu istraženi te se transkriptira nasumično na niskim razinama. Jedina visoko eksprimirana regija tijekom ove faze je ona veličine 9 tisuća parova baza koja kodira za tkz. transkripte povezane s latencijom (LAT).<sup>15</sup> LAT generiraju dugačke nekodirajuće RNA i mikroRNA. Transkripti povezani s latencijom bitni su za održavanje neurona koji nose latenciju te za samo održavanje virusa tijekom latencije.<sup>15</sup> Najčešći uzroci reaktivacije HSV su UV svjetlo, povišena tjelesna temperatura, emocionalni i fizički stres, menstruacija i dr. Reaktivacija se može desiti i kod neuronske ozljede te kod korištenja proapoptotičkih lijekova (protutumorski lijekovi).<sup>14</sup> Sam molekularni mehanizam reaktivacije HSV još uvijek nije poznat. Znanstvenici se susreću s nizom poteškoća kod istraživanja ove pojave. Različiti modeli zahtijevaju različit pristup i različit način istraživanja.<sup>10</sup> Sljedeći problem proizlazi iz činjenice da je reaktivacija neučinkovit proces sa samo malim udjelom neurona koji sadrže virusne genome koji reagiraju umnažanjem virusa. Zbog ovoga je teško predvidjeti koji će se neuroni reaktivirati.<sup>3</sup> Do sada je uočeno da su najviše podložni reaktivaciji neuroni koji sadrže velike količine virusne DNA.<sup>10</sup> Jedan od najvažniji virusnih proteina za

reaktivaciju je ICP0. ICP0 je aktivator transkripcije kojemu je primarni način djelovanja ubikvitin E3 ligaza koja posreduje u ciljanoj proteolizi staničnih proteina, posebno onih nuklearnog kompleksa ND10.<sup>14</sup> Smatra se da ICP0 stvara okruženje koje pogoduje transkripciji, vjerojatno usmjeravajući na uništavanje staničnih represora.<sup>5</sup> Virusne miRNA, njih oko 30, su također pronađene u primarno zaraženim stanicama, neuronima koji nose latentan virus te u neuronima u kojima se dešava reaktivacija virusa.<sup>3</sup> U neuronima koje nose latenciju miRNA potiskuju urođenu imunost, dok u neuronima u kojima se dešava reaktivacija potiskuju samu virusnu replikaciju. Jako su važan mehanizam supresije replikacije virusnih gena u neuronima.<sup>14</sup>



Slika 3. Shematski prikaz uspostave latencije: Nakon primarne infekcije, virus s mjesta primarne infekcije odlazi u senzorne neurone. Tada slijedi faza latencije. Virus može ponovo biti aktiviran uslijed stresa i tada dolazi do ponovljene infekcije.

Izvor: Lippincott Williams & Wilkins; Field's Virology, 5<sup>th</sup> Ed. By Knipe D.M. and Howley P.M



## 3. KLINIČKE MANIFESTACIJE

### 3.1. INFEKCIJE HSV-1

HSV- 1 uzročnik je orofaringealnih infekcijama. Simptomi primarne zaraze ovim virusom jako variraju od pojedinca po pojedinca.<sup>3</sup> Asimptomatske infekcije su dva puta češće od onih simptomatskih.<sup>16</sup> Kliničke manifestacije mogu varirati od potpuno asimptomatske infekcije do infekcije s vrućicom, natečenim grlom, herpetičnim gingivostomatitisom, edemima, lokaliziranom limfadenopatijom i mnogim drugima.<sup>3</sup> Period inkubacije je u rasponu od 2 do 12 dana međutim, najčešće su to 4 dana. Tijekom primarne infekcije virus se najčešće zadržava od 7 do 10 dana, no može se zadržati i do 23 dana.<sup>16</sup> Neutralizirajuća protutijela pronalazimo u krvi između 4 do 7 dana, a njihova je najveća koncentracija nakon 3 tjedna. Kod djece se javlja herpetični gingivostomatitis. Simptomi bolesti su bolne vezikule na bukalnoj i gingivalnoj sluznici popraćene visokom temperaturom, malaksalosti, natečenim limfnim čvorovima i grlom. Trajanje ovih simptoma je oko 2 od 3 tjedna.<sup>3</sup> U odraslih su simptomi blaži. Također dolazi do pojave bolnih lezija u području sluznice usta, a može doći i do povišene temperature te faringitisa i neki drugih simptoma.<sup>17</sup> Infekcije izazvane reaktivacijom se dešavaju kod 1% djece te kod 1-5% imunokompetentnih osoba.<sup>13</sup> Reaktivaciju virusa najavljuje peckanje, trnci i/ili svrbež u predjelu usana koji obično traju do 6 sati. Nakon toga se pojavljuju bolne vezikule (njih 3-5) na području usana i infekcija je obično lokalizirana.<sup>17</sup> Unutar 72-96 sati lezije se počinju sušiti te se u potpunosti povlače. Potpuno ozdravljenje se događa u periodu od 8 do 10 dana. Učestalost ponavljajuće infekcije varira među pojedincima.<sup>3</sup>



Slika 4. *herpes labialis*

Izvor: <https://www.beoderma.com/herpes-simplex/>

### 3.2. INFEKCIJE HSV-2

Primarne infekcije genitalnim herpesom manifestiraju se pojavom makula i papula, vezikula, pustula i čireva na sluznicama genitalnog trakta. Ove lezije traju oko 3 tjedna.<sup>3</sup> Od simptoma se još mogu pojaviti i vrućica, disurija, malaksalost, a može doći i do parestezije i disestezije.<sup>18</sup> Kod žena lezije zahvaćaju vulvu i vrat maternice, a rjeđe mogu zahvatiti i perineum, zadnjicu i vaginu.<sup>19</sup> Lezije su izrazito bolne i popraćene sindromom retencije urina. U nekih žena razvija se aseptični meningitis.<sup>3</sup> U muškaraca se lezije pojavljuju na glavici ili osnovi penisa. Mogu se razviti kao i u žena, na bedrima, stražnjici te perineumu. Kod homoseksualaca česta je analna infekcija.<sup>18</sup> Trajanje simptoma kod genitalnog herpesa je oko 2 tjedna.<sup>19</sup> Žene imaju puno veći rizik za razvoj komplikacija; sistemske komplikacije kod muškaraca su rijetke iako se može razviti aseptični meningitis.<sup>20</sup> Postojeća antitijela na HSV-1 ublažavaju simptome infekcije. Simptomi infekcije izazvane reaktivacijom HSV-2 su lezije na penisu i vulvi (u manjoj količini nego kod primarne infekcije), parestezija i disestezija.<sup>18</sup> Trajanje bolesti je 7 do 10 dana. U jedne trećine zaraženih bolest izazvana reaktivacijom virusa dešava se 8 do 9 puta na godinu, kod druge trećine 2 do 3 na godinu. Preostala trećina imati će infekciju izazvanu reaktivacijom 4 do 7 puta na godinu.<sup>3</sup> Pojedinci mogu prenijeti virus na svoje seksualne partnere spolnim putem najčešće kod asimptomatske reaktivacije.<sup>18</sup> Velika količina virusne DNA može se detektirati PCR-om u genitalnim sekretima i između dvije faze reaktivacije.<sup>20</sup> Zbog ovoga je jako važno educirati

pacijente o potencijalnim opasnostima i važnosti korištenja prezervativa za njihovo i partnerovo zdravlje.

### 3.3. NEONATALNE INFEKCIJE

Neonatalna bolest uzrokovana HSV je rijetka, ali razorna infekcija novorođenčeta sa velikim posljedicama. Oba oblika HSV mogu uzrokovati neonatalnu bolest, no češći je uzročnik HSV-2.<sup>3</sup> Kako je već spomenuto, infekcije HSV su najčešće asimptomatske. Iznimka nisu ni infekcije trudnica; dvije trećine trudnica koje dobiju genitalnu HSV infekciju tijekom trudnoće nemaju simptome. Rizik transmisije virusa na fetus kod primarne infekcije majke je 30-50%, dok je kod ponavljajuće infekcije on dosta niži, oko 3%.<sup>21</sup> Postoje tri načina prijenosa virusa s majke na dijete. Prvi način je *in utero* infekcija koja je jako rijedak oblik transmisije (1 u 200 tisuća novorođenih).<sup>3</sup> Simptomi su vidljivi odmah pri porodu; lezije na koži, mikrocefalija ili hidranencefalija te ozbiljna stanja očiju. Drugi način je prijenos tijekom poroda kada fetus dolazi u kontakt sa zaraženim majčinim genitalnim izlučevinama.<sup>21</sup> Čak 75-80% zaražene novorođenčadi dobiju infekciju na ovaj način. Do prijenosa može doći i postnatalno.<sup>3</sup> HSV-1 je uzročnik postnatalnih infekcija u 15-29% slučajeva.<sup>21</sup> Izvor zaraze postnatalno predstavljaju osim majke, rodbina i bolničko osoblje. Neonatalna bolest gotovo uvijek ima ozbiljne izražene simptome i često je smrtonosna.<sup>3</sup> Od iznimne je važnosti infekciju dijagnosticirati u prvih 48 sati od rođenja. Ako se dijagnoza ne postavi na vrijeme, dolazi do širenja bolesti na razne organe kao što su pluća, jetra, središnji živčani sustav, srce, gušterača, nadbubrežna žlijezda, bubrezi i dr.<sup>3</sup> Smrtnost, ukoliko nema dostatne terapije, iznosi 80%.<sup>21</sup> Najčešći uzrok smrti su virusom uzrokovana upala pluća i diseminirana intravaskularna koagulacija (DIK).<sup>3</sup> Najčešći simptomi su vezikule na koži, očima i ustima. Lezije se opetovano pojavljuju prvih 6 mjeseci dječjeg života bez obzira na to je li primana terapija.<sup>21</sup> Kod očiju zahvaćenih infekcijom može doći do razvoja keratokonjuktivitisa i retinitisa. Može doći i do dugoročnih problema kao što sljepoća.<sup>18</sup> Gotovo u jedne trećine novorođenčadi s neonatalnom

bolesti razvija se encefalitis. Encefalitis je upala mozga najčešće uzrokovana virusima.<sup>20</sup> Ona može obuhvatiti cijeli živčani sustav. Virus do mozga može doći krvlju ili putem aksona. Kliničke manifestacije encefalitisa su napadaji, letargija, razdražljivost, nagle promjene tjelesne temperature, a većina djece ima kožne vezikule (njih 60%).<sup>20</sup> Izazov predstavlja dijagnoza djece kod kojih nisu izražene kožne vezikule. Smrtnost se javlja u oko 50% ne liječene djece i najčešće je povezana sa zahvaćenošću moždanim deblom.<sup>3</sup> U većini slučajeva, djeca koja prebole encefalitis, imaju teška neurološka oštećenja.<sup>20</sup> Ta oštećenja mogu biti mikrocefalija, hidranencefalija, poteškoće u učenju, spastična kvadriplegija i mnoga druga.<sup>3</sup> Stopa incidencije neonatalne bolesti varira u pojedinim dijelovima svijeta ovisno o stopi nataliteta te o stopi seroprevalencije HSV. Ona je veća u SAD-u nego u Europi, gdje je procijenjeno da bolest zahvaća 5-33 novorođenčadi na 100 tisuća živorođenih. To upućuje na 1500 zaraženih godišnje.<sup>21</sup> Ukupna globalna stopa incidencije neonatalnih HSV infekcija, na temelju seroprevalencije, nataliteta i infekcija, je procijenjena na 10 zaraženih novorođenčadi na 100 tisuća živorođenih što označava 14 tisuća slučajeva godišnje.<sup>3</sup> Iako je neonatalna bolest uzrokovana HSV relativno rijetka, ona uzrokuje velike posljedice u novorođenčadi, a u većini slučajeva i smrt. Zbog toga ju je nužno pravovremeno dijagnosticirati i primijeniti odgovarajuću terapiju.

#### 3.4. HSV INFEKCIJE U IMUNOKOMPROMIRANIH OSOBA

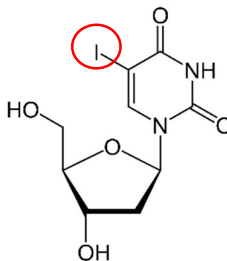
Pacijenti s oslabljenim imunim sustavom imaju povećani rizik za razvoj teške HSV infekcije. Poseban rizik imaju osobe koje koriste imunosupresivnu terapiju kod autoimunih bolesti ili kod transplantacija.<sup>3</sup> Kod primaoca organa prisutnost antitijela za HSV povećava rizik za razvijanje ponovljene infekcije. Kod takvih pacijenata može se razvit progresivna bolest koja zahvaća respiratorni trakt, jednjak i gastrointestinalni trakt.<sup>3</sup> Stupanj težine progresivne bolesti u izravnoj je povezana s jačinom imunosupresivne terapije. Jedan od najčešćih simptoma u imunokomprimiranim pacijenata je infekcija jednjaka;

ezofagitis.<sup>21</sup> Može doći i do razvoja najrazornije posljedice HSV infekcije; encefalitisa.<sup>21</sup> Kod starije djece i odraslih, manifestacije encefalitisa su povezane s regijom mozga koja je zakvačena infekcijom. Najčešće je zahvaćen temporalni režanj mozga, a simptomi su najčešće vrućica i bizarno ponašanje.<sup>20</sup> Smrtnost neliječenih pacijenata je oko 70%, dok njih samo 2.5% nema nikakvih trajnih neuroloških oštećenja.<sup>3</sup>

## 4. LIJEKOVI PROTIV HSV VIRUSA

### 4.1. NUKLEOZIDNI ANALOZI

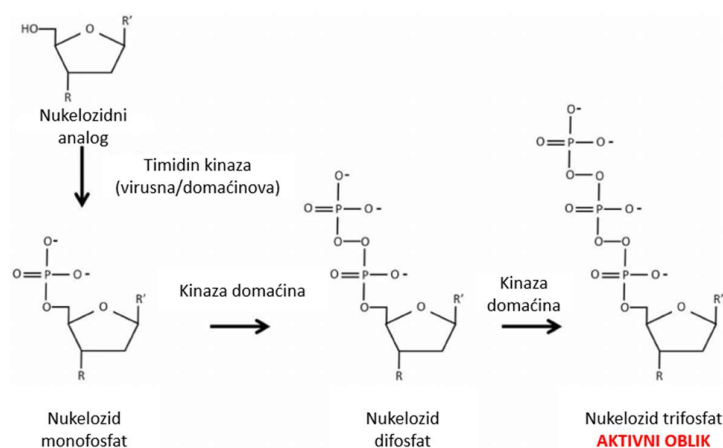
Većina protu-HSV lijekova su nukleozidni analozi koji u svojoj aktivnoj formi direktno ciljaju virusnu DNA polimerazu.<sup>3</sup> Kako je DNA polimeraza ključan enzim virusne replikacije, njena inhibicija zaustavlja virusnu replikaciju.<sup>22</sup> Prvi odobreni protu-HSV lijek bio je 5'-iodo-2'- deoksiuridin (odobren 1962.). Koristio se za liječenje keratitisa uzrokovanim HSV, a primjenjivao se toplikalno.<sup>3</sup> Molekularni mehanizam njegovog djelovanja temelji se na jodu u njegovoj strukturi koji sprječava sparivanje baza i tako prekida produženje lanca.<sup>23</sup> Problem idoksuridina je to što ne djeluje kod infekcija HSV-2.<sup>3</sup> Otkriće idoksuridina pružilo je temelj za liječenje virusnih infekcija nukleozidnim analogima (inhibicija polimeraze).<sup>23</sup>



Slika 5. Prikaz strukture idoksuridina: Crvenim krugom označen je atom joda koji je zaslužan za molekularni mehanizam djelovanja idoksuridina

Svi nukleozidni analozi moraju proći kroz trostruku fosforilaciju kako bi bili aktivirani.<sup>23</sup> Sljedeći sintetiziran lijek bio je vidarabin (adenin arabionozid) koji je baziran na nukleozidu izoliranom iz karipske spužve (*Tethya crypta*). On se prvo ispitivao kao protutumorski lijek, no kasnije se vidjelo da je puno bolji kao protuvirusni lijek. Karakteristike ovog lijeka su dobra djelotvornost, uspješnost prolaženja krvno moždane barijere, ali i velika toksičnost. Sve tri fosforilacije obavljaju stanične kinaze i zbog toga dolazi do slabije selektivnosti, a može doći i do inhibicije domaćinove DNA

polimeraze.<sup>24</sup> Problem također stvara i kemijska stabilnost. Kod novijih nukleozidni analoga, prvu fosforilaciju obavlja virusni enzim, timidin kinaza (TK).<sup>23</sup> Druge dvije fosforilacije odrađuju stanični enzimi. Prednost ovakvog puta aktivacije je ta što se lijek može aktivirati samo u stanicama koje su zaražene i posjeduju virusnu TK. Ako nema virusne TK, ne dolazi do aktivacije lijeka i nema rizika od inhibicije DNA polimeraze domaćina.<sup>3</sup> U određenim slučajevima, može se desiti da TK domaćina napravi prvu fosforilaciju, ali i tako aktivirani lijek ima veći afinitet za virusnu DNA polimerazu od DNA polimeraze domaćina.<sup>23</sup>

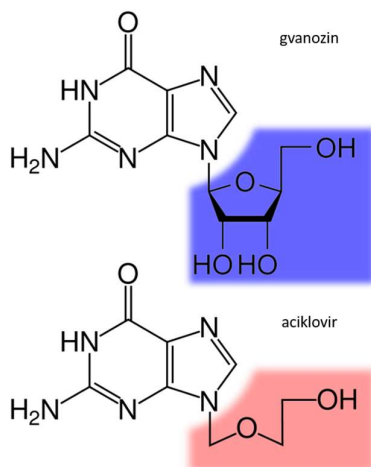


Slika 6. Shematski prikaz aktivacije nukleozidnih analoga: Svaki nukleozidni analog mora proći tri fosforilacije. Prvu fosforilaciju obavlja timidin kinaza (domaćinova ili virusna). Nakon toga sljedeće dvije fosforilacije obavljaju domaćinove kinaze. Nakon sve tri fosforilacije, nukleozidni analog je u svom aktivnom obliku.

Danas najčešće korišten lijek za liječenje HSV infekcija je aciklovir. Može se primjenjivati oralno, toplikalno i intravenozno.<sup>25</sup> Dosta je djelotvoran i siguran za korištenje.<sup>26</sup> Uz njega se još koriste valaciklovir (perkursor aciklovira), penciklovir, famciklovir, dicofavir i dr.<sup>3</sup> Najveći problem u liječenju HSV infekcija predstavlja rezistencija na nukleozidne analoge.<sup>23</sup> Ona se može razviti zbog samo jedne mutacije. Najčešće dolazi do mutacije u virusnoj TK koja dovodi do toga da nema prve fosforilacije nukleozidnog analoga, a samim time ni aktivacije lijeka.<sup>27</sup>

### 4.1.1. ACIKLOVIR

Aciklovir (ACV) je jedan od najčešće korištenih nukelozidnih analoga u liječenju HSV infekcija. ACV je analog gvanozina.<sup>3</sup> Njegova struktura, kao i strukture većine protuvirusnih nukelozidnih analoga, bazirana je na strukturi deoksigvanozina.<sup>25</sup>

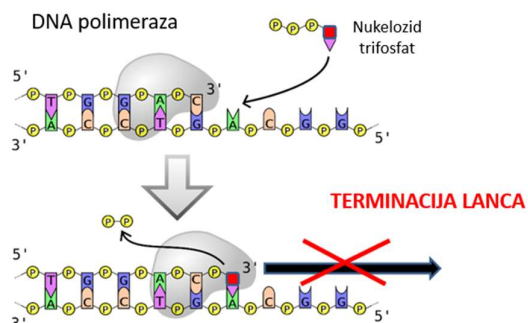


Slika 7. Prikaz struktura aciklovira i gvanozina

Prvu fosforilaciju ACV-a obavlja virusna timidin kinaza, dok ostale dvije odrađuju stanične kinaze. ACV djeluje na dva načina; inhibicijom virusne TK te inhibicijom virusne DNA polimeraze.<sup>23</sup> Nefosforilirani ACV djeluje kao kompetitivni inhibitor virusne TK, a ACV- trifosfat (ACV-TP) djeluje kao kompetitivni inhibitor virusne DNA polimeraze.<sup>25</sup> ACV-TP inhibira virusnu DNA replikaciju na tri načina. Prvi način je kompetitivno inhibiranje vezanja dGTP-a. On obuhvaća ugradnju ACV- TP-a u rastući lanac kao supstrat nasuprot citidinu što dovodi do terminacije lanca. Drugi način je da virusna DNA polimeraza preskoči ACV-TP i pređe na drugi nukleotid, no ne može se dodati novi dNTP jer nema slobodnog 3'OH na AVC i također dolazi do terminacije lanca. U trećem načinu dolazi do dodavanja novih nukleotida nakon ACV-TP. Virusna DNA polimeraza ne može svojom egzonukeaznom aktivnosti izrezati ACV-TP i popraviti rastući lanac pa zapinje u ciklusu u kojem stalno dodaje nove nukleotide pa ih miče i tako



u krug.<sup>26</sup> ACV je uspješan u potpunom prekidu virusne replikacije, a samim time i u blokiranju stvaranja zrelih virusnih čestica.<sup>23</sup>



Slika 8. Shematski prikaz mehanizma djelovanja ACV-a

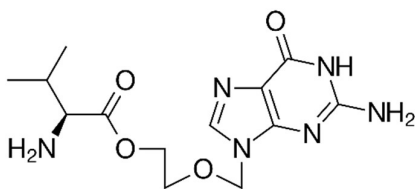
Izvor: D H King . King, D. H.1988. History, pharmacokinetics, and pharmacology of acyclovir. Journal of the American Academy of Dermatology

Najučinkovitiji oblik liječenja primarnog genitalnog herpesa ACV-om je intravenozna terapija.<sup>3</sup> Intravenozna terapija smanjuje vrijeme „lučenja“ virusa, smanjuje bol te ubrzava vrijeme izlječenja (s 14 na 8 dana).<sup>23</sup> Ovakva primjena najčešće zahtjeva hospitalizaciju pa se u većini slučajeva koristi kod osoba s teškim simptomima i komplikacijama.<sup>25</sup> Drugi učinkovit oblik primjene ACV kod primarnog genitalnog herpesa je oralna terapija.<sup>3</sup> Ako se daje oralno 200 mg ACV-a 5 puta na dan, dolazi do približno jednake učinkovitosti kao kod intravenozne terapije. Zbog toga je oralna terapija prva linija u liječenju infekcija HSV-2.<sup>24</sup> Treći oblik primjene ACV-a kod primarnog genitalnog herpesa je topikalna terapija.<sup>3</sup> Takav oblik terapije smanjuje duljinu „lučenja“ virusa i ubrzava sušenje lezija, no manje je učinkovita nego oralna ili intravenozna terapija.<sup>25</sup> Niti jedan od oblika primjene ACV-a ne sprječava ili smanjuje učestalost ponovljenih infekcija.<sup>3</sup> Kod *herpesa labialis*-a najčešće se koristi oralna terapija koja ima slab učinak ukoliko se ne primjeni u ranijim fazama infekcija i to u većoj dozi.<sup>3</sup>

Kako kod ponovljenih infekcija HSV-2 dolazi do smanjenih simptoma i kraćeg trajanja infekcije, teže je uvesti učinkovitu terapiju ACV-om.<sup>26</sup> Oralna primjena ACV-a kod ponovljenih infekcija smanjuje duljinu virusnog „lučenja“ i vrijeme izlječenja ako se primjeni dovoljno rano (u 24 sata od izbijanja simptoma).<sup>3</sup> Dugotrajna primjena oralnog ACV-a uspješno potiskuje izbijanje ponovljenih genitalnih infekcija.<sup>3</sup> Dnevno uzimanje ACV smanjuje učestalost ponovljenih infekcija za do 80%, a 25-30% pacijenata nema ponovljenih infekcija dok koristi ACV.<sup>25</sup> Zabilježena je uspješna supresija i do 10 godina, bez značajnih nuspojava.

Kod novorođenčadi s neonatalnom bolesti koja je zahvatila središnji živčani sustav ili druge organe, primjenjuje se doza 20 mg/kg ACV svakih 8 sati kroz 21 dan. Takva doza smanjuje stopu smrtnosti s 10-50% na 5-25%.<sup>21</sup> Oko 35% tako liječene novorođenčadi nema daljnje zdravstvene tegobe. Administracija 10 mg/kg ACV svakih 8 sati kod novorođenčadi s encefalitisom smanjuje stopu smrtnosti za oko 19%. Nema povezanosti terapije ACV-om sa smanjenjem dugotrajnih neuroloških oštećenja.<sup>3</sup>

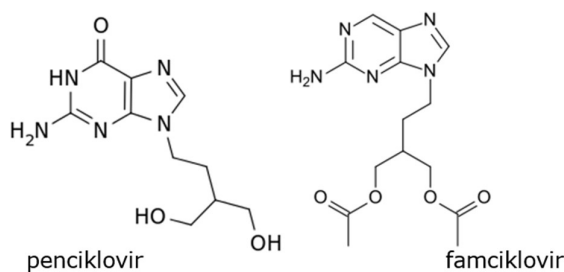
Toksičnost ACV izrazito je niska zbog zahtjeva da prvu fosforilaciju mora obaviti virusna TK.<sup>25</sup> Jedan od najvećih problema terapije ACV-om je jednak kao i kod terapije ostalim nukleozidnim analogima; virusna rezistencija. Ako dođe do mutacije na virusnoj TK, nema prve fosforilacije ACV-a i samim time on nije aktivan i ne može zaustaviti virusnu replikaciju.<sup>27</sup> Drugi problem kod ACV predstavlja njegova relativno slaba oralna biorasploživost.<sup>23</sup> Ovaj problem je izbjegnuto sintezom lijeka valaciclovira (VaCV), prekursor aciklovira.<sup>3</sup> To je prolijek ACV-a kojem je dodan valin esterifikacijom. VaCV ima veću apsorpciju u gastrointestinalnom traktu što rezultira boljom oralnom biorasploživosti od ACV-a. VaCV se kroz metabolizam u jetri i bubrezima pretvara u ACV i valin. Takav ACV dalje prolazi aktivaciju fosforilacijama kako je prethodno opisano.<sup>23</sup>



Slika 9. Prikaz strukture valaciklovira

#### 4.1.2. PENCIKLOVIR

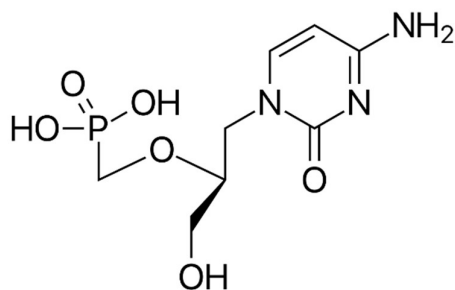
Penciklovir (PCV) je kao i ACV, analog gvanozina.<sup>23</sup> Iako su ova dva lijeka analozi istog nukleozida, manje razlike u njihovoj strukturi su dovele do razlika u njihovim farmakološkim svojstvima.<sup>8</sup> U usporedbi s ACV-om, PCV ima 100 puta veći afinitet za virusnu TK. Posljedica toga je veća razina PCV-TP nego ACV-TP *in vivo*.<sup>23</sup> S druge strane, ACV-TP ima veći afinitet za virusnu DNA polimerazu u odnosu na PCV-TP.<sup>3</sup> Razlika u molekularnim strukturama ACV i PCV dovodi do toga da PCV ima značajno slabiju oralnu apsorpciju nego ACV. Oralna bioraspoloživost PCV je 1.5%, dok mu je poluživot 2-2 i pol sata.<sup>23</sup> Kako bi se riješio ovaj problem, PCV je acetiliran. Tako je sintetiziran prolijek PCV; famciklovir (FamCV). FamCV ima dosta bolju oralnu bioraspoloživost, čak do 73% doze. FamCV se jako brzo metabolizira u jetri pomoću aldehyd oksidaze u PCV, nakon čega PCV ulazi u cirkulaciju.<sup>8</sup> FamCV i VaCV su jako često korišteni protu-HSV lijekovi zbog toga što imaju dobru bioraspoloživost i u tijelu se brzo metaboliziraju u PCV i ACV, no ni takvoj PCV i ACV nije poboljšana poluživot.<sup>23</sup>



Slika 10. Prikaz strukture penciklovira i famciklovira

### 4.1.3. CIDOFOVIR

Problem kod lijekova do sada opisanih je taj što može doći do rezistencije zbog mutacija u virusnoj TK. To se može izbjeći ako se koriste nukleozidni analozi koji na sebi imaju već jedan fosfat i ne zahtijevaju prvu fosforilaciju virusnom TK da bi bili aktivni.<sup>23</sup> Jedan takav lijek je cidofovir (CDV) koji je baziran na strukturi deoksicitozin monofosfata.<sup>28</sup> Drugu i treću fosforilaciju, kao i kod drugih nukleozidnih analoga, odrađuju stanične kinaze.<sup>23</sup> Nastali CDV-TP se veže na virusnu DNA polimerazu te je ugrađen u rastući lanac virusne DNA. On tako smanjuje brzinu virusne replikacije. Nadalje, ako su dva CDV-TP inkorporirana u rastući lanac, dolazi do terminacije lanca.<sup>28</sup> Rezistencija na CDV-TP se može dogoditi zbog mutacija na virusnoj DNA polimerazi; najčešće dolazi do supstitucije aminokiselina u manje konzerviranim regijama enzima. Drugi problem je i veća toksičnost za domaćina od do sad opisanih lijekova.<sup>29</sup> Zbog ograničene biorasploživosti CDV-a, sintetiziran je njegov prolijek brincidofovir koji je trenutno u fazi kliničkih istraživanja. Cilj je povećati biorasploživost ovog lijeka kako bi manja doza bila dovoljno uspješna, a samim time što se koristi manja doza bi se smanjila i toksičnost.<sup>23</sup>

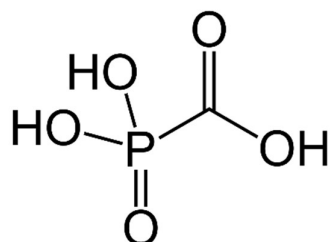


Slika 11. Prikaz strukture cidofovira

### 4.2. ANALOG PIROFOSFATA: FOSKARNET

Foskarnet je pirofosfatni analog koji se reverzibilno veže za virusnu DNA polimerazu.<sup>9</sup> Odmah je u svom aktivnom obliku te zbog toga ne zahtjeva aktivaciju pomoću virusne TK.<sup>23</sup> Za razliku od drugih protu-HSV lijekova,

vezanje foskarneta ne uzrokuje terminaciju novonastalog DNA lanca. On djeluje na način da se veže za vezno mjesto pirofosfata na DNA polimerazi i tako sprječava vezanje nukelotida za njihovo vezno mjesto i samim time sprječava da nukelotidi budu inkorporirani u rastući DNA lanac.<sup>30</sup> Kako ovaj lijek ne zahtijeva fosforilaciju, najčešće se koristi kod pacijenata s rezistencijom na nukelozidne analoge.<sup>23</sup> Problem foskarneta je njegova slaba selektivnost. Kako ne zahtijeva aktivaciju virusnim enzimom, može zahvatiti i zdrave stanice domaćina te u njima inhibirati domaćinovu DNA polimerazu.<sup>31</sup> Iako su istraživanja pokazala da foskarnet ima 100 puta veći afinitet prema virusnoj DNA polimerazi nego ljudskoj, to kod neki pacijenata nije dovoljno.<sup>23</sup> Oni mogu patiti od nuspojava kao što su nefrotoksičnost, hipokalcijemija, poremećaj elektrolita, mučnina, napadaji i metabolički poremećaji.<sup>30</sup> Uočeno je da se s povećanjem doze foskarneta dijeljenja stanica smanjuje za 50%. Do rezistencije na foskarnet dovode mutacije na veznom mjestu pirofosfata virusne DNA polimeraze.<sup>31</sup>

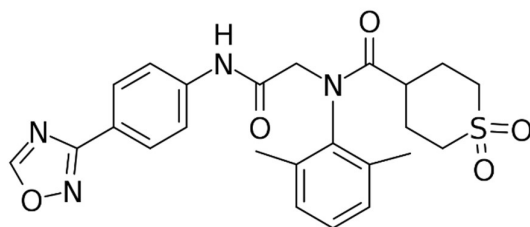


Slika 12. Prikaz strukture foskarneta

### 4.3. INHIBITORI HELIKAZA- PRIMAZA KOMPLEKSA

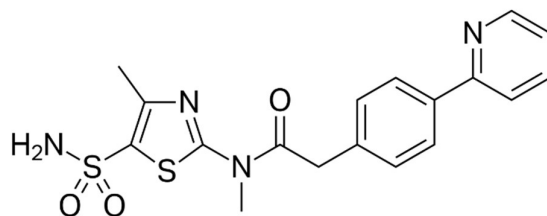
Svi do sada opisani lijekovi zaustavljaju virusnu replikaciju u koraku elongacije, što dovodi do toga da se rezistencija može razviti zbog mutacije na samo jednom genu virusne TK ili virusne DNA polimeraze.<sup>23</sup> Iz ovog razloga danas su istraživanja okrenuta na to kako zaustaviti druge faze virusne replikacije. Novija skupina lijekova su inhibitori helikaza-primaza kompleksa koji ne zahtijevaju aktivaciju fosforilacijom virusne TK.

Jedan od takvih lijekova je amenamevir koji je odobren za kliničku upotrebu u Japanu.<sup>31</sup>



Slika 13. Prikaz strukture amenamevira

Drugi takav lijek je i prilelivir koji je još uvijek u fazi kliničkih istraživanja.<sup>33</sup> Oba lijeka su u svom aktivnom obliku i ne zahtijevaju metaboličke promjene da bi došlo do aktivacije. Amenamevir i pritelivir zaustavljaju stvaranje helikaza- primaza kompleksa onemogućujući vezanje određenih proteina helikaze i primaze.<sup>23</sup> Iako sam mehanizam pomoću kojeg ovi lijekovi inhibiraju stvaranje kompleksa nije u potpunosti jasan, zna se da se rezistencija može pojaviti zbog mutacije u helikazi, primazi ili u oboje.<sup>34</sup>

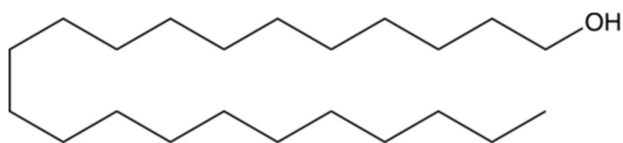


Slika 14. Prikaz strukture prilelivira

#### 4.4. INHIBICIJA VEZANJA I FUZIJE VIRUSA

Jedan od pristupa liječenja HSV infekcija je djelovanje na stanicu domaćina kako bi došlo do inhibicije vezanja virusa te inhibicije samog ulaska virusa u stanicu.<sup>35</sup> Prednost ovakvog pristupa je ta što do rezistencije dolazi dosta rjeđe jer nisu potrebni virusni enzimi za aktivaciju lijeka.<sup>23</sup> Iako se mogu desiti i mutacije u stanici domaćina i tako izazvati rezistenciju na ovakav lijek, virusne mutacije su dosta češće od ljudskih.<sup>36</sup>

S druge strane, ciljanje funkcija stanice domaćina može dovesti do veće toksičnosti, potencijalno ograničavajući terapijsku upotrebu samo na virusne sojeve koji su otporni na sigurnije terapije. 1- dokožanol, poznatiji kao behenil alkohol, jedan je od ovih lijekova.<sup>23</sup> To je dugolančani primarni alkohol s 22 ugljika koji je dostupan bez recepta.<sup>37</sup> Vjeruje se da djeluje na širok broj virusa koji ispuštaju virusni genom u citoplazmu domaćina. Najvjerojatniji mehanizam djelovanja ovog alkohola je ometanje fosfolipida membrane stanice domaćina koji su potrebni virusu za ulazak u stanicu.<sup>38</sup> Ovaj lijek se može koristiti u sinergiji s ostalim protu-HSV lijekovima, ali mu je najčešća primjena kod pacijenata s rezistencijom na nukleozidne analoge. 1- dokožanol se koristi topikalno tijekom pojave lezija kako bi se smanjila težina lezija i njihovo trajanje.<sup>37</sup> Može se koristiti kod orofaringealnih infekcijama (najčešće HSV-1 infekcije), ali ne i kod genitalnog herpesa (infekcije HSV-2).<sup>23</sup>



Slika 15. Prikaz strukture 1- dokožanola

## 5. CIJEPIVO PROTIV HSV

Istraživanja o cjepivima protiv HSV započela su 1920-ih godina. Unatoč brojim naporima, ni sto godina nakon znanstvenici nisu došli do otkrića efikasnog cjepiva protiv HSV.<sup>3</sup> Iako su ohrabrujući rezultati proizlazili iz eksperimenata na različitim životinjskim modelima, istraživanja na ljudima su, nažalost, razočaravajuća.<sup>39</sup> U početku su istraživanja bila okrenuta prema pronalasku terapijskog cjepiva; cjepiva za prevenciju ponavljajuće infekcije. Posljednjih par godina perspektiva se prebacila na pronalazak cjepiva za prevenciju inicijalne HSV-2 infekcije.<sup>40</sup> Strategije cjepiva koje su do danas bile podvrgnute kliničkoj evaluaciji uključuju autoinokulaciju živog HSV-a, cjelovita inaktivirana cjepiva, atenuirane žive

virusne vakcine, cjepiva s modificiranim živim virusnim podjedinicama, cjepiva s podjedinica dobivenih iz stanične kulture, rekombinantna podjedinična (glikoproteinska) cjepiva, virusni vektori te cjepiva s golom virusnom DNA. Cjepivo koje najviše obećava je HSV-2 gD s alumom.<sup>39</sup> Utvrđeno je da ovo cjepivo ima uspješnost prevencije genitalnog herpesa u 74% HSV seronegativnih žena, no nije učinkovito u muškaraca i seropozitivnih žena.<sup>40</sup> S razvojem tehnologije, posljednjih godina je moguće genetski modificirati HSV kako bi se proizveo soj cjepiva koji je protektivan bez izazivanja bolesti kod ljudi. Primjer takvog cjepiva je živo atenuirano cjepivo iz kojeg je uklonjen gen neurovirulencije (gamma1 34.5). Kako iz godine u godinu raste broj zaraženih HSV-2, u tijeku su intenzivna istraživanja i ispitivanja cjepiva protiv ovog virusa.<sup>39</sup>

Classification	Candidate	Company	Composition	Status	Phase	Identifier <sup>1</sup>	Completion
Subunit vaccine	gD2	Novartis (previous Chiron)	gD2 plus alum	Stopped after Phase II trial	Phase I	-	1992
	gD2/gB2		gD2 and gB2 plus MF59		Phase II	-	1997
	Simplirix/Herpevac	Glaxo-SmithKline (GSK)	gD2 and AS04 (dMPL)	Stopped after Phase III trial	Phase III	NCT00057330	2009
	GEN-003	Genocea	gD2 and Matrix M2	Stopped after Phase II trial	Phase I/II	NCT01667341	2014
						NCT02114060	2016
					Phase II	NCT02300142	2016
						NCT02515175	2017
						NCT03146403	2018
	HerpV (previous AG-707)	Agenus	Peptide vaccine + QS-21 Stimulon	Stopped after Phase II trial	Phase I	NCT00231049	2006
					Phase II	NCT01687595	2015
Live-attenuated vaccine	ICP10ΔPK	AuRx	ICP10ΔPK	Stopped after Phase I/IIa trial	Phase I/IIa	-	2002
	HSV529	Sanofi Pasteur	Replication defective HSV2, UL5, UL29 deletion	Phase II trial ongoing	Phase I	NCT01915212	2017
					Phase I/II	NCT02571166	2018
					NCT04222985	2023	
DNA vaccine	pPJV7630	Powder-Med	Ubiquitinated and unmodified gD2	Stopped after Phase I trial	Phase I	NCT00274300	2005
						NCT00310271	2006
	VCL-HB01	Vical	gD2 +/- UL46 and Vaxfectin DNA vaccine	Stopped after Phase II trial	Phase I/II	NCT02030301	2016
						NCT02837575	2018
	COR-1	Anteris (previous ADMEDUS)	gD2 codon optimized DNA vaccine	Stopped after Phase I/IIa trial	Phase I/IIa	-	2017

Slika 16. Tablica prikazuje status pojedinih protu- HSV cjepiva

Izvor: Kim, H. C., & Lee, H. K. 2020. Vaccines against Genital Herpes: Where Are We? Vaccines



## LITERATURA

1. Mladen Mintas i Karlo Wittine. 2016. Strategije razvoja protuvirusnih lijekova. Rijeka: Medicinska naklada
2. Widly P. 1973. Herpes: History and classification. New York: Academic Press
3. Douglas D. Richman, Richard J. Whitley, Frederick G. Hayden. 2016. Clinical Virology 4th Edition. ASM Press
4. Whitley, R. J., & Roizman, B. 2001. Herpes simplex virus infections. The Lancet
5. Leo Mandić i Tomislav Suhina. 2012. Sinteza novih acikličkih analoga nukleozida iz reda 3-supsituiranih derivata 1,2,4-triazola i gvanina kao potencijalnih antivirotika. Sveučilište u Zagrebu: Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije
6. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus> 4.5.2022.
7. Wagstaff, A. J., Faulds, D., & Goa, K. L. 1994. Aciclovir. Drugs
8. Sacks, S. L., & Wilson, B. 1999. Famciclovir/Penciclovir. Advances in Experimental Medicine and Biology
9. Zeichner, S. L. 1998. Foscarnet. Pediatrics in Review
10. R.L. La Femina. 2009. Antiviral Research Strategies on Antiviral Drug Discovery
11. John H. Subak-Sharpe i Derrick J. Dargan. 1998. Hsv Molecular Biology: General Aspects of Herpes Simplex Virus Molecular Biology
12. Jessica E. Packard and Jill A. Dembowski. 2015. HSV-1 DNA Replication—Coordinated Regulation by Viral and Cellular Factors
13. Lippincott Williams & Wilkins; Field's Virology, 5th Ed. By Knipe D.M. and Howley P.M
14. Arvin A, Campadelli-Fiume G, Mocarski. 2007. Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis. Cambridge University Press
15. Doina Atanasiu , Jennifer R Kent, Jared J Gartner, Nigel W Fraser. 2006. The stable 2-kb LAT intron of herpes simplex stimulates the expression of heat shock proteins and protects cells from stress. Virology

16. Salvatore Crimi , Luca Fiorillo i dr. 2019. Herpes Virus, Oral Clinical Signs and QoL: Systematic Review of Recent Data. *Viruses*
17. Michael J Bradshaw i Arun Venkatesan. 2016. Herpes Simplex Virus-1 Encephalitis in Adults: Pathophysiology, Diagnosis, and Management. *Neurotherapeutics*
18. Jacob Mathew Jr i Amit Sapra. 2022. Herpes Simplex Type 2. *StatPearls*
19. Manuel Parra-Sánchez. 2019. Genital ulcers caused by herpes simplex virus. *Enferm Infecc Microbiol Clin*
20. B K Kleinschmidt-DeMasters i D H Gilden. 2001. The expanding spectrum of herpesvirus infections of the nervous system. *Brain Pathology*
21. James, S. H., & Kimberlin, D. W. 2015. Neonatal Herpes Simplex Virus Infection. *Infectious Disease Clinics of North America*
22. Karima Zarrouk , Jocelyne Piret i dr. Guy Boivin. 2017. Herpesvirus DNA polymerases: Structures, functions and inhibitors. *Virus research*
23. Lauren A Sadowski, Rista Upadhyay i dr. 2021. Current Drugs to Treat Infections with Herpes Simplex Viruses-1 and -2. *Viruses*
24. Igor Jurak. 2020. Protu-herpesvirusni inhibitori. *Protuvirusni lijekovi*
25. Gnann, J. W., Barton, N. H., & Whitley, R. J. 1983. Acyclovir: Mechanism of Action, Pharmacokinetics, Safety and Clinical Applications. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*
26. D H King . King, D. H. 1988. History, pharmacokinetics, and pharmacology of acyclovir. *Journal of the American Academy of Dermatology*
27. Piret, J., & Boivin, G. 2016. Antiviral resistance in herpes simplex virus and varicella-zoster virus infections. *Current Opinion in Infectious Diseases*
28. Lea, A. P., & Bryson, H. M. 1996. Cidofovir. *Drugs*
29. Jacob P. Lalezari, Robert J. Stagg i dr. 1996. A Preclinical and Clinical Overview of the Nucleotide-Based Antiviral Agent Cidofovir (HPMPC). *Antiviral Chemotherapy* 4
30. Vashishtha A.K. i Kuchta R.D. 2016. Effects of Acyclovir, Foscarnet, and Ribonucleotides on Herpes Simplex Virus-1 DNA Polymerase: Mechanistic Insights and a Novel Mechanism for Preventing Stable Incorporation of Ribonucleotides into DNA. *Biochemistry*
31. Crumpacker C.S. 1992. Mechanism of action of foscarnet against viral polymerases. *Am. J. Med.*

32. Shoji N., Tanese K. i dr. 2020. Pharmaceuticals and Medical Device Agency approval summary: Amenamevir for the treatment of herpes zoster. *J. Dermatol*
33. Shiraki K. 2018. Antiviral Drugs Against Alphaherpesvirus. *Adv. Exp. Med. Biol.*
34. Field H.J., Biswas S. 2011. Antiviral drug resistance and helicase-primase inhibitors of herpes simplex virus. *Drug Resist. Updates*
35. Lin K., Gallay P. 2013. Curing a viral infection by targeting the host: The example of cyclophilin inhibitors. *Antivir. Res.*
36. Drake J.W., Hwang C.B. 2005. On the mutation rate of herpes simplex virus type 1. *Genetics*
37. Katz D.H., Marcelletti J.F. i dr. 1991. Antiviral activity of 1-docosanol, an inhibitor of lipid-enveloped viruses including herpes simplex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*
38. Pope L.E., Marcelletti J.F. i dr. 1998. The anti-herpes simplex virus activity of n-docosanol includes inhibition of the viral entry process. *Antivir. Res.*
39. Whitley, R., & Baines, J. 2018. Clinical management of herpes simplex virus infections: past, present, and future. *F1000Research*
40. L. Stanberry 1998. Herpes. *Vaccines for HSV. Dermatologic Clinics*



## Ruža Krišto

Državljanstvo: hrvatsko ☎ (+385) 77593853 Datum rođenja: 11/01/2001

Spol: Žensko ✉ E-adresa: [ruzakristo2001@gmail.com](mailto:ruzakristo2001@gmail.com)

📍 Adresa: (Hrvatska)

### OBRAZOVANJE I OSPOSOBLJAVANJE

---

#### Biotehnologija i istraživanje lijekova

*Odjel za biotehnologiju* [ 2019 – Trenutačno ]

#### Farmaceutski tehničar

*Srednja škola Viktorovac* [ 2015 – 2019 ]

### STRUČNA PRAKSA

---

#### Ljekarna Kovačićek

[ 2018 ]

#### Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada (IMI)

[ 2022 ]

### MREŽE I ČLANSTVA

---

#### Erasmus Student Network (ESN)

[ 2021 – Trenutačno ]

#### Udruga studenata biotehnologije Sveučilišta u Rijeci (USBRI)

[ 2019 – Trenutačno ]

### KONFERENCIJE I SEMINARI

---

#### Konferencija "Budućnost i perspektiva"

[ 2019 – 2021 ]

### DIGITALNE VJEŠTINE

---

#### Moje digitalne vještine

Microsoft Office programi / molecular design software (PyMol, Avogadro, Marvin) / Online communication skills  
/ Social network (Facebook Instagram Linked in)