

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**

**Přírodovědecká fakulta**

# **Moderní trendy vývoje vakcín a terapeutik proti HIV/AIDS**

Bakalářská práce

**Kateřina Andělová**

školitel: doc. RNDr. Daniel Růžek, Ph.D.

České Budějovice 2014

Andělová, K., 2014: Moderní trendy vývoje vakcín a terapeutik proti HIV/AIDS. [Modern trends in the development of vaccines and therapeutics against HIV/AIDS. Bc. Thesis, in Czech] – 45 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

### **Annotation**

HIV infection represents a major health problem. However, there is still no absolute treatment available. This thesis summarizes and discusses the advantages and problems of the current therapeutic approaches against HIV/AIDS as well as the new trends in the development of new drugs and vaccines.

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracoval/a samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích, 25. 4. 2014

.....  
Kateřina Andělová

# Obsah

1. Úvod .....	1
2. Historie .....	2
3. Virus HIV .....	3
3.1 Původ viru HIV a jeho genetická diverzita .....	3
3.2 Klasifikace viru HIV .....	4
3.3 Stavba viru HIV a jeho začlenění do hostitelské buňky .....	4
3.4 Možnosti přenosu HIV infekce.....	6
3.5 Diagnostika HIV infekce .....	7
4. Nemoc AIDS .....	8
4.1 Klinické příznaky .....	8
4.1.1 Akutní fáze .....	8
4.1.2 Latentní období.....	8
4.1.3 Období nástupu AIDS .....	8
5. Antiretrovirová terapie schválená FDA .....	9
5.1 Nukleosidové/nukleotidové inhibitory reverzní transkriptázy (NRTI/NtRTI).....	10
5.2 Nenukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy (NNRTI).....	12
5.3 Proteázové inhibitory (PI) .....	15
5.4 Inhibitory fúze (FI) .....	18
5.5 Integrazové inhibitory (II) .....	20
5.6 Inhibitory vstupu .....	21
5.7 Kombinovaná antiretrovirová terapie.....	22
6. Antiretrovirová terapie ve fázi vývoje a testování.....	24
6.1 Klinické hodnocení léčiv a jeho úskalí.....	24
6.1.1 Fáze klinického hodnocení .....	24
6.1.2 Ukončení klinického hodnocení .....	24
6.2 Nové nukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy .....	25
6.3 Nové nenukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy.....	26
6.4 Nové proteázové inhibitory .....	26
6.5 Nové inhibitory fúze.....	28
6.6 Nové integrázové inhibitory .....	28
6.6.1 Alosterické integrázové inhibitory (ALLINI) .....	28
6.6.2 Duální inhibitory integrázy a reverzní transkriptázy .....	29
6.6.3 Nepřímé inhibitory integrázy.....	29

6.7 Nové inhibitory vstupu .....	29
6.7.1 Vazebné inhibitory .....	30
6.7.2 Post-vazebné inhibitory .....	30
6.7.3 CCR5 antagonisté .....	30
6.7.4 CXCR4 antagonisté .....	31
6.8 Inhibitory maturace.....	31
6.9 Inhibitory transkripce .....	32
6.10 Inhibitory ribonukleotidové reduktázy (RNRI).....	32
6.11 Cytokiny jako imunomodulátory.....	33
7. Anti-HIV vakcína .....	34
7.1 Výzkumná studie a klinické zkoušky .....	34
7.1.1 Organizace výzkumné studie a klinických zkoušek.....	35
7.2.2 Právě probíhající nebo ukončené klinické zkoušky .....	35
8. Diskuse .....	37
9. Závěr .....	39
10. Seznam použité literatury .....	40

## **Cíl práce**

Cílem mé bakalářské práce je zhodnotit možnosti léčby nákazy virem HIV a léčby nemoci AIDS, kterou tento vir způsobuje, včetně jejich výhod a nevýhod (např. vedlejší účinky a složitý režim podávání léčiva). Nedílnou součástí práce je také podání informace o moderních trendech ve vývoji vakcín a terapeutik, které jsou v současné době v klinické fázi testování.

# 1. Úvod

Podle World Health Organization (WHO) je virem HIV nakaženo téměř 36 milionů lidí, z toho 3,34 milionu dětí převážně ze sub-Saharské Afriky. Tyto africké děti se nejčastěji nakazí od své HIV-pozitivní matky během těhotenství, porodu nebo kojení. Odhaduje se, že každý den se nově nakazí okolo 700 dětí. Ročně na HIV/AIDS zemře téměř 1,6 milionu lidí (WHO 2013).

Přestože je nákaza virem HIV známa již více jak třicet let, neexistuje proti ní absolutní léčba. Existují však léky, které alespoň brání propuknutí nemoci AIDS a tím pacientovi s HIV infekcí výrazně prodlouží a zkvalitní život. Používání těchto terapeutik ovšem není bez rizik. Objevují se nežádoucí účinky například v podobě průjmů, vyrážek nebo metabolických dysfunkcí jater, ledvin a jiných orgánů. Dalším úskalím léčby je samotný režim podávání terapeutik. Dávky musí být podávány v co nejpřesnějším časovém režimu a vynechání již dvou dávek za měsíc může mít vliv na neúspěch léčby. Nemałym problémem je i vznik rezistence na léčbu (Šustková 2011).

V současnosti jsou na trhu nukleosidové/nukleotidové inhibitory reverzní transkriptázy, nenukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy, proteázové inhibitory a nejnověji inhibitory fúze. V dnešní době se ale většinou nepoužívá pouze jedna účinná látka, ale kombinovaná terapie. Nejběžnějším postupem je trojkombinační léčba, tzv. HAART (Highly Active Anti-Retroviral Therapy) (Agrawal, a další 2006).

Vývoj nových léků jde ale neustále kupředu. Řada nových léků je ve fázi preklinického a klinického testování. Nejedná se však pouze o vylepšení již známých tříd terapeutik, ale i o naprosto nové látky, které účinkují ve zcela nových fázích replikačního cyklu viru. Jedná se například o inhibitory integrázy, inhibitory maturace a inhibitory transkripce. Pozornost se věnuje ale i dalším možnostem, jako je použití cytokinů nebo monoklonálních protilátek (Agrawal, a další 2006).

## 2. Historie

Syndrom získané imunitní nedostatečnosti (AIDS) byl poprvé popsán roku 1981. (Gottlieb, a další 1981) Původce tohoto onemocnění byl izolován až o dva roky později (1983) profesorem Lucem Montagnierem a byl nejdříve označen jako LAV (Lymphadenopathy Associated Virus) nebo HTLV III, později přejmenován na HIV<sub>-1</sub>. (Svododa 1996) Téměř současně byl v Africe izolován jiný virus (virus HIV<sub>-2</sub>), který způsoboval onemocnění podobné lehčí formě AIDS a virus SIV (Simian Immunodeficiency Virus) napadající opice. Oficiálně byl virus HIV<sub>-2</sub> uznán až roku 1986 Při studiích genomu těchto virů bylo zjištěno, že virus HIV<sub>-2</sub> má vývojově blíž k SIV než k HIV<sub>-1</sub>. Viry HIV<sub>-1</sub> a HIV<sub>-2</sub> se liší průměrně o 50% (Rajčáni a Čiampor 2006).

Přestože bylo onemocnění AIDS oficiálně popsáno až roku 1981, existují záznamy i o dřívějších případech. Tyto případy však byly spíše ojedinělé, a tak se jim nevěnovala zvýšená pozornost. Zlom nastal právě až v létě roku 1981, kdy se v komunitě předtím zcela zdravých homosexuální mužů, současně projevila nákaza pneumocystovou pneumonií a Kaposiho nemocí. Kombinace dvou extrémně vzácných onemocnění (Svododa 1996).

Předpokládá se, že původním epicentrem HIV/AIDS je Afrika. Odtud se HIV/AIDS šířil do Evropy i USA v důsledku migrace obyvatelstva i sexuální turistiky. Proč je právě Afrika nejpromořenějším kontinentem se nedá s přesností říct. Svou roli v tom ale určitě hrají hygienické podmínky, dostupnost lékařské péče a celková životní úroveň obyvatelstva. Jednou z teorií rozšíření nákazy je nedodržování pravidel sterility při různých očkovacích programech a dalších zásazích veřejného zdravotnictví (Holmes 2009).

### **3. Virus HIV**

Žádný jiný virus není v dnešní době podroben důkladnějšímu zkoumání než virus HIV. Stále však o něm není známo vše. Stále zabijí tisíce lidí ročně a další tisíce se jím nově nakazí. Dosud byly oficiálně uznány pouze dva druhy viru lidského imunodeficitu, ale tento počet nemusí být konečný.

#### **3.1 Původ viru HIV a jeho genetická diverzita**

Dodnes se nedá s určitostí říct, kde se virus HIV vzal. Někteří vědci se přiklánějí k teorii přenosu viru SIV od opic na člověka a následné mutaci SIV na virus HIV. Nejpravděpodobnější teorie říká, že virus HIV<sub>1</sub> se poprvé objevil v centrální Africe na území dnešního Konga již na začátku 20. století a první lidé se jím nakazili po požití kontaminovaného masa od šimpanzů. Podobná teorie platí i pro HIV<sub>2</sub>, s tím rozdílem, že tento virus se pravděpodobně objevil poprvé v západní Africe a přírodním rezervoárem viru byl mangabej kouřový (Holmes 2009). Důležité je uvědomit si, že virus imunodeficitu není vlastní pouze pro lidi (HIV) nebo opice (SIV), napadá také dobytek (BIV) nebo kočky (FIV) (Rajčáni a Čiampor 2006). Toto jen dokládá velkou variability viru a jeho schopnost se měnit a přizpůsobovat (Holmes 2009).

Důkladným zkoumáním genomu HIV bylo zjištěno, že oba viry HIV mají navíc ještě své subtypy, které se mezi sebou značně liší svou virulencí. Jednotlivé subtypy také mají svá specifická místa výskytu na Zemi. Virus HIV<sub>1</sub> má dosud přiřazených šest subtypů (A-F), přičemž člověk nemůže být nakažen více subtypy zároveň (Svododa 1996). V sub-Saharské Africe se nejčastěji objevují subtypy A,C a D. Subtyp B je typický pro Evropu, Asii, Severní i Jižní Ameriku a Austrálii. Zbývající dva subtypy E a F mají velice malou frekvenci výskytu (Holmes 2009).

Celkem čtyři subtypy má virus HIV<sub>2</sub>, a to A-D. Většina HIV<sub>2</sub> pozitivním pacientů je nakažena subtypem A nebo B. Subtypy C a D jsou sice známy, ale jejich výskyt je velice malý. Skoro všechny nákazy HIV<sub>2</sub> jsou zaznamenány na západě Afriky (Holmes 2009).



### 3.2 Klasifikace viru HIV

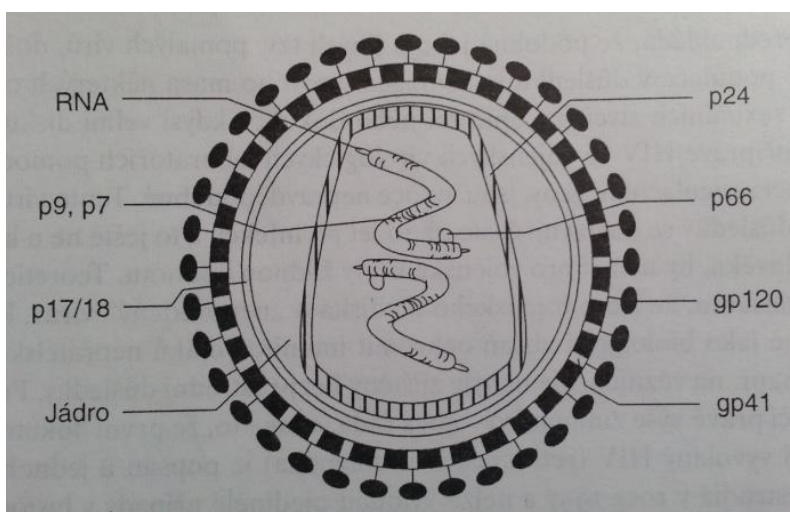
Virus HIV se řadí do čeledi *Retroviridae*. Retroviry mají genetickou informaci uloženou v RNA. Po průniku do hostitelské buňky musí být tato informace přepsána do DNA. Přepis je prováděn pomocí enzymu reverzní transkriptázy (RT), který je zakódován přímo do virového genomu (Bednář, a další 1999).

První retroviry byly zaznamenány již na počátku 20. století u ptáků. První lidský retrovirus byl objeven až roku 1977 a jednalo se o HTLV I (Human T cell leukemia virus), který způsobuje akutní T-lymfoblastickou leukémii a tropickou spastickou paraparézu (Svododa 1996).

*Retroviridae* se člení do tří podčeledí, a to na Spumaviry, Oncoviry a Lentiviry. Mezi Spumaviry patří vakuolizující virus lidí s jediným sérotypem a množství dalších spumavirů zvířat. Oncoviry obsahují onkogeny, které kódují onkoproteiny, což jsou změněné signální proteiny buňky, které aktivují buněčné dělení. Výsledkem je maligní transformace postižených buněk (Rajčáni a Čiampor 2006). Lentiviry, mezi něž patří oba známé viry lidského imunodeficitu a některé další živočišné viry, nejčastěji vyvolávají chronická onemocnění postihující nervovou soustavu. Lentiviry se vyznačují dlouhotrvající virémií a velkou variabilitou. Právě díky variabilitě dokážou unikat imunitnímu systému a v případě HIV ho i ničit (Bednář, a další 1999).

### 3.3 Stavba viru HIV a jeho začlenění do hostitelské buňky

Virus HIV má sférický tvar o průměru kolem 120 nm. U viru rozlišujeme dvě základní části, a to jádro a vnější obal (Obr. 1).



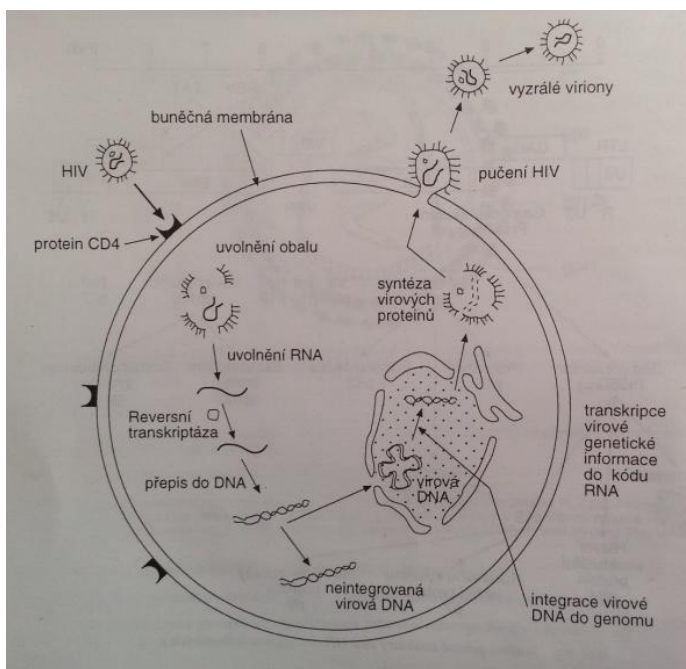
Obr. 1: Stavba virové částice HIV<sub>1</sub> (Svododa 1996).

V jádře jsou uloženy dvě kopie jednovláknové RNA, reverzní transkriptáza, DNA polymeráza, integráza a proteáza. Jádro samotné je ještě kryto proteinovým pouzdrém (p 24), který tvoří vnitřní kapsid (Svododa 1996). Reverzní transkriptáza umožňuje přepsání genetické informace z RNA do DNA, DNA polymeráza vytváří druhé vlákno DNA a tím dává vzniknout dvouvláknové molekule DNA a integráza začleňuje dDNA do jádra infikované buňky (Goto, a další 1998). RNA kóduje celkem 9 genů, 3 základní strukturální geny a 6 regulačních genů. Dále se zde nachází úseky zvané LTR (Long Terminal Repeats), které zahajují specifickou činnost všech strukturních i regulačních genů (Svododa 1996).

Jedná se o strukturní geny *env*, *gag* a *pol* (Bednář, a další 1999). Gen *env* kóduje informaci pro prekurzorový glykoprotein gp 160, který se štěpí na gp 120 a gp 41. Gp 120 je povrchový glykoprotein, který vyčnívá z virového obalu a zajišťuje vazbu s receptorem CD4 na povrchu T<sub>H</sub> lymfocytů. Tato vazba je nezbytná pro vstup HIV do cílové buňky. Gp 41 je transmembránový glykoprotein zajišťující zakotvení gp 120 v membráně obalu (Lieberman-Blum, a další 2008). Gen *gag* kóduje několik proteinů, z nichž nejdůležitější jsou p 24 a p 17. P 17 je matrixový protein, který tvoří vnější kapsid a zprostředkovává pučení virové částice, p 24 tvoří vnitřní kapsid. Gen *pol* kóduje nezbytné enzymy obsažené v jádře (reverzní transkriptáza, DNA polymeráza a integráza) (Rajčáni a Čiampor 2006).

Regulační geny můžeme rozdělit do dvou skupin, a to na geny kódující nestrukturní regulační proteiny transkripce (*tat*, *rev*, *nef*) a geny kódující jiné pomocné proteiny (*vif*, *vpu*, *vpr*). Protein Tat umožňuje a řídí přepis všech virových proteinů a glykoproteinů, protein Ref působí na úrovni mRNA a ovlivňuje tak tvorbu virových proteinů, protein Nef (někdy také označován jako protein F) zajišťuje negativní regulaci a tím řídí rychlost replikace viru v hostitelské buňce (Bednář, a další 1999).

Pro vstup viru HIV do cílové buňky je nezbytně nutná vazba gp 120 s receptorem CD4. Po proniknutí viru do buňky dojde k dekapsulaci v cytoplazmě buňky a následnému přepisu virové RNA do sDNA pomocí RT, která je součástí virové částice. Aby mohla být virová DNA začleněna do genomu hostitelské buňky jako provirus, musí být nejdříve k sDNA nasyntetizováno druhé vlákno DNA, tím vznikne dDNA. Tento proces zajišťuje DNA polymeráza. Pomocí integrázy je dDNA začleněna do jádra a tím se stane již na vždy součástí genomu infikované buňky i všech jejích buněk dceřiných. Virus následně využívá syntetického aparátu buňky k tvorbě nových virových částic (Obr. 2) (Cambell a Hope 2008).



Obr. 2: Replikace viru HIV-1 (Svododa 1996).

### 3.4 Možnosti přenosu HIV infekce

Možností přenosu HIV infekce je celá řada. Nejběžnější cestou je pohlavní styk s HIV-positivním člověkem. Je v podstatě jedno zda se jedná o styk heterosexuální nebo homosexuální. K nákaze může dojít i při orálním sexu (Svododa 1996). Další významnou cestou přenosu HIV je sdílení jehel, stříkaček nebo roztoku drogy mezi intravenózními uživateli (Ginzburg, a další 1985). Nemalý podíl na počtu nově nakažených má i přenos infekce z HIV-positivní matky na dítě, a to během těhotenství, v průběhu porodu nebo při kojení (Ziegler, a další 1985).

Do roku 1985 docházelo v Severní Americe a také západní Evropě k infekci krevní transfuzí nebo krevní konzervou od HIV-positivního dárce. Tento problém byl vyřešen zavedením testu ELISA na HIV. Někdy může také dojít k nákaze transplantací orgánu nebo darováním spermatu. Rizikovou skupinou pro příjem infekce HIV jsou také zdravotníci nebo policisté, kteří zasahují u HIV-positivních pacientů či narkomanů. Při manipulaci s těmito lidmi může dojít k poranění zdravotníka či policisty infikovanou jehlou nebo k zasažení sliznic či kožní oděrky infikovanou tělní tekutinou (Marcus, a další 1989).

### 3.5 Diagnostika HIV infekce

Diagnostika HIV infekce se nejčastěji provádí detekcí specifických protilátek proti HIV<sub>-1</sub> /HIV<sub>-2</sub> metodou ELISA. Pokud je tento test pozitivní provádí se ještě kontrolní sérologický test metodou westernového přenosu, při kterém se identifikují protilátky proti jednotlivým antigenům virového jádra a glykoproteinovým antigenům virového obalu. Test se vyhodnocuje jako pozitivní v případě prokázání protilátek proti alespoň dvěma glykoproteinovým antigenům a alespoň třem proteinovým antigenům (Svododa 1996).

Další metodou je detekce virové RNA a provirové DNA v krvi pomocí metody PCR nebo metodou hybridizace a následné kolorimetrické detekci navázaného reakčního produktu nebo monitorováním transkripce. Nejspolehlivější je metoda RT-PCR. Detekce virové RNA se většinou provádí spolu se stanovením poměru CD4 lymfocytů k CD8 lymfocytům (Rajčáni a Čiampor 2006).

Poslední metodou je klasická izolace viru z lymfocytů periferní krve. Tato metoda se v současné době k diagnostice již nepoužívá (Rajčáni a Čiampor 2006).

## 4. Nemoc AIDS

Nemoc AIDS (syndrom získané imunodeficiency) byla poprvé diagnostikována v roce 1981 (Gottlieb, a další 1981). Příčinou této nemoci je virus HIV, který napadá T<sub>H</sub>-lymfocyty a způsobuje tak rozvrat imunitního systému. Bez fungujícího imunitního systému nemá organismus možnost bránit se četným infekcím a podléhá. Dodnes na tuto nemoc neexistuje lék. Existují pouze terapeutika, která prodlouží a zkvalitní život, ale i ta mají svá úskalí (Rajčáni a Čiampor 2006).

### 4.1 Klinické příznaky

Po nákaze virem HIV rozeznáváme tři stádia, akutní fázi, latentní období a období nástupu AIDS. Délka jednotlivých stádií je individuální pro každého nakaženého a liší se také klinickými příznaky (Bednář, a další 1999).

#### 4.1.1 Akutní fáze

Akutní fáze trvá v průměru 4 – 8 týdnů od primární infekce virem HIV. Může probíhat zcela bezpříznakově nebo jen s mírnými a nespecifickými příznaky (horečka, malátnost, bolesti hlavy, průjmy, vyrážka). Při laboratorním vyšetření je zjištěna změna poměru CD4/CD8 lymfocytů (Rajčáni a Čiampor 2006).

#### 4.1.2 Latentní období

Latentní fáze trvá 5 – 10 let (bez zásahu léčiv), výjimečně více jak 10 let (asi 20 %). Latentní období má dvě formy, a to séropozitivitu bez virémie nebo séropozitivitu s virovou RNA v plazmě (Bednář, a další 1999).

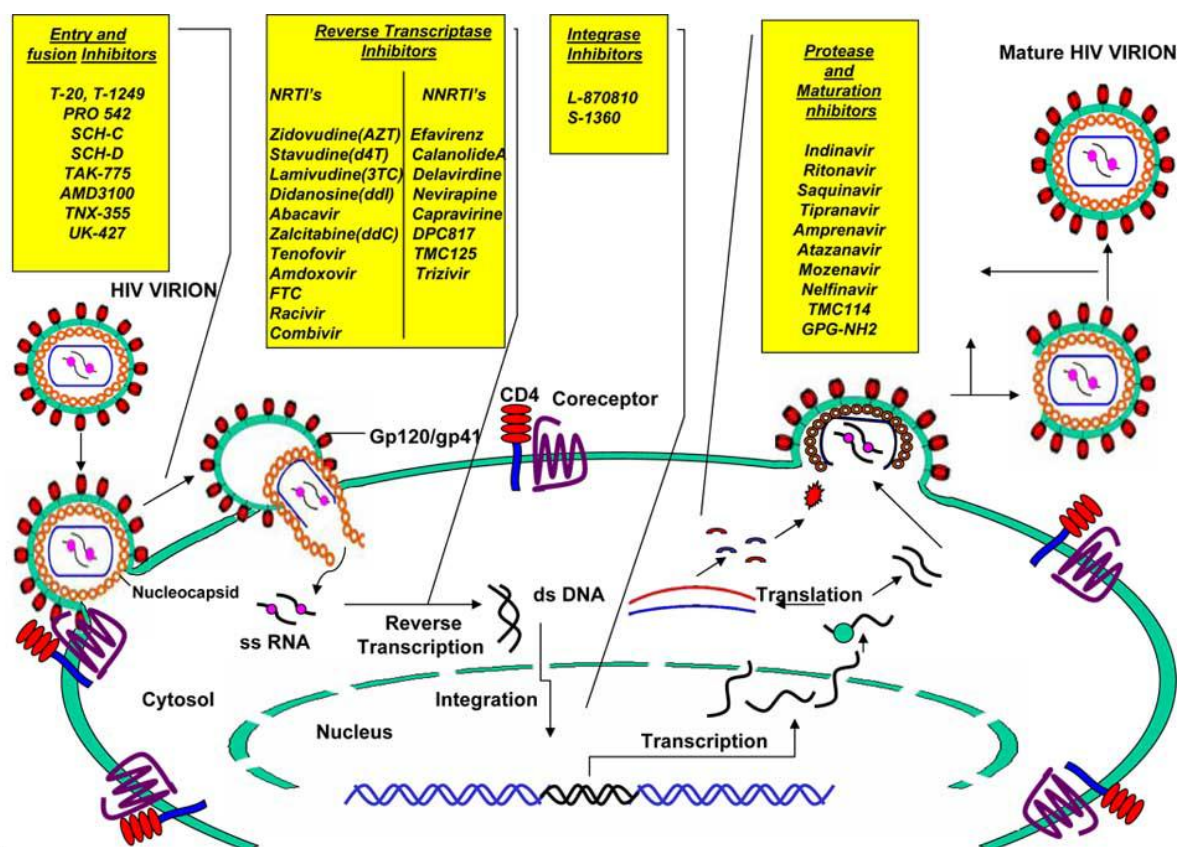
#### 4.1.3 Období nástupu AIDS

Choroba AIDS začíná zvětšením lymfatických uzlin a kožními vyrážkami. S postupujícím rozvratem imunitního systému se objevuje zápal plic způsobený houbou *Pneumocystis carinii*, virem CMV nebo mykobakteriemi, toxoplasmosvá encefalitida, cytomegalovirová retinitida s částečnou nebo úplnou ztrátou zraku, meningitidy, objevují se některé druhy lymfomů a Kaposiho sarkom. S nefunkčním imunitním systémem se organismus nemůže bránit postupujícím infekcím a pacient umírá (Svododa 1996).

## 5. Antiretrovirová terapie schválená FDA

Antiretrovirová terapie dala naději na delší a kvalitnější život milionům lidí nakažených HIV. Výrazně ovlivnila klinický průběh infekce a z dříve jednoznačně fatálního onemocnění udělala onemocnění chronické. Bez antiretrovirové léčby většina nakažených umírala do dvou let od prvoinfekce. Proto bylo vyvinuto značné úsilí na vytvoření terapeutika, které by průběh infekce zastavilo nebo alespoň zpomalilo. Úspěch se dostavil již roku 1987, tedy již 4 roky po identifikaci viru HIV, a na trh byl uveden první antiretrovirový lék zidovudin (Furman, a další 1986). Ten však nebyl bez rizik a limitů, což vedlo k vyvíjení nových účinnějších terapeutik. Účinnost léků se dá monitorovat pomocí virové nálože RNA HIV v krvi pacienta. Všechna terapeutika mají méně či více závažné nežádoucí účinky. Objevují si i rezistentní kmeny. V takovém případě musí dojít ke změně léčby (Staňková 2008).

Doposud schválená terapeutika můžeme rozdělit celkem do šesti tříd. Každá z těchto šesti tříd působí na specifickou fázi replikačního cyklu viru (Obr. 3). Nukleotidové a nukleosidové/nukleotidové inhibitory reverzní transkriptázy působí proti přepisu virové RNA na DNA (Cihlár a Rya 2010). Proteázové inhibitory zabraňují štěpení polyproteinů na funkční jednotky (Pokorná, a další 2009). Inhibitory vstupu a fúze působí proti vstupu viru do hostitelské buňky (Henrich a Kuritzkes 2013). Integrazové inhibitory zabraňují integráze začlenit provirovou DNA do genomu hostitelské buňky (Croxtall a Keam 2009). Protože monoterapie jednotlivými terapeutiky se ukázala být neúčinnou, přistupuje se ke kombinované léčbě (Agrawal, a další 2006).



Obr. 3: Replikační cyklus viru a cíle účinku jednotlivých terapeutik (Agrawal, a další 2006).

## 5.1 Nukleosidové/nukleotidové inhibitory reverzní transkriptázy (NRTI/NtRTI)

Po vstupu virové částice do hostitelské buňky musí dojít k přepisu virové RNA na DNA pomocí reverzní transkriptázy. RT využívá k syntéze DNA nukleosidy hostitelské buňky. Nukleosidové/nukleotidové inhibitory reverzní transkriptázy jsou vlastně nukleosidové/nukleotidové analogy, které napodobují nukleosidy/nukleotidy buněčné. Pokud RT připojí analog místo nukleosidu/nukleotidy, reverzní transkripce se zastaví a tím i replikační proces viru (Cihlář a Rya 2010).

V současné době je na trhu celkem sedm NRTI/NtRTI (abacavir, didanosin, emtricitabin, lamivudin, stavudin, tenofovir a zidovudin), které jsou schválené FDA pro terapeutické použití. NRTI/NtRTI jsou nedílnou součástí většiny terapeutických režimů (Staňková 2008).

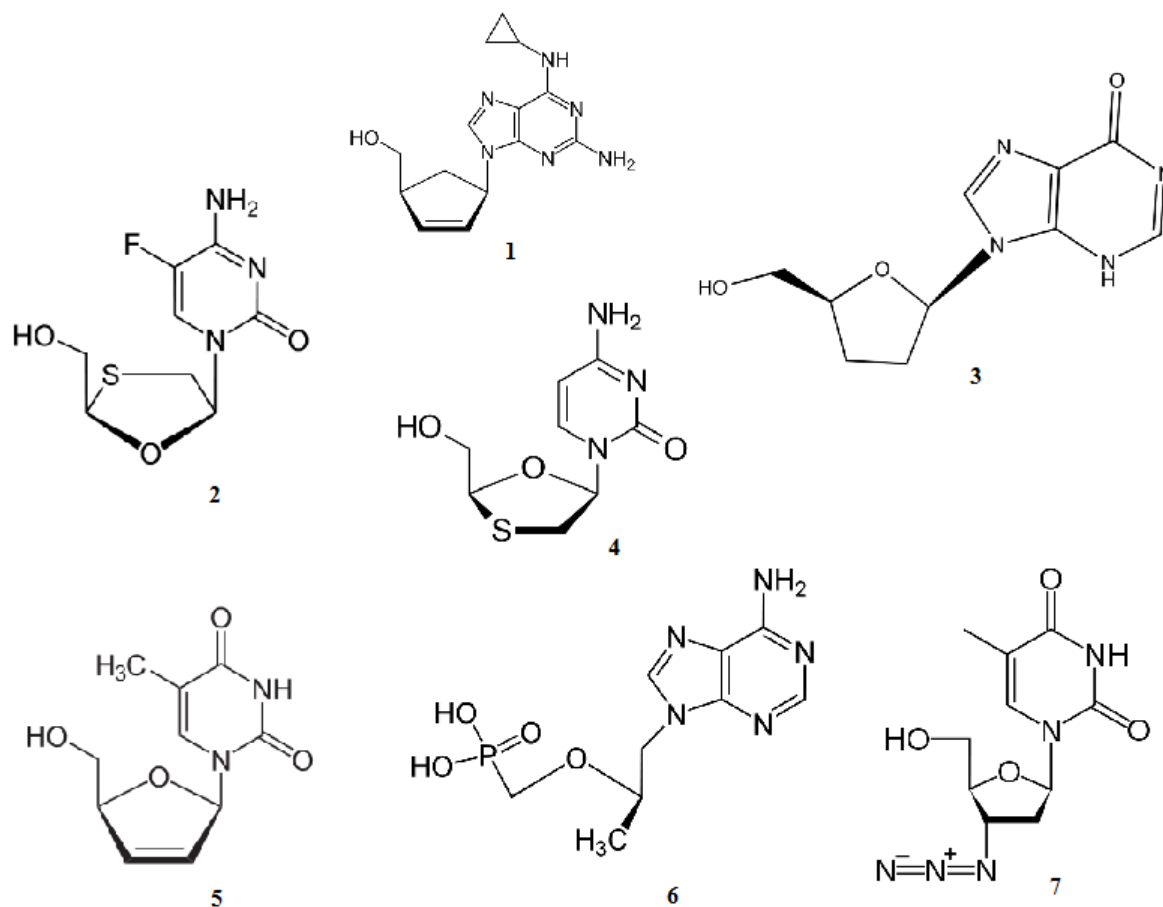
V tabulce I jsou uvedeny všechny schválené NRTI/NtRTI včetně hlavních nežádoucích účinků a režimu a formy podávání terapeutik.

Tab.I: Nukleosidové/nukleotidové inhibitory reverzní transkriptázy. (Agrawal, a další 2006), (Skokanová a Staňková 2007), (Staňková 2008)

Generikum Zkratka	Terapeutikum	Schválení FDA	Nežádoucí účinky	Dávkování	Poznámka
Abacavir (ABC)	Ziagen	1998	hypersenzitivní reakce, slabost, nevolnost, nespavost	1 × 300 mg tableta každých 12 hodin 2 × 300 mg tableta každých 24 hodin	opakované nasazení léčby po alergických projevech může ohrozit život
Didanosin (ddI)	Videx EC	2000	periferní neuropatie, pankreatitida, poškození jater, laktátová acidóza, nevolnost, bolest hlavy	1 × 400 mg tobolka každých 24 hodin pro pacienty ≥ 60kg 1 × 250 mg tobolka každých 24 hodin pro pacienty < 60kg	bez potravního omezení
Emtricitabin (FTC)	Emtriva	2003	hyperpigmentace dlaní, plosek a nehtů, nevolnost, bolest hlavy, průjem, ojediněle	1 × 200 mg tobolka každých 24 hodin	vyvinuto českým vědcem prof. RNDr. Antonínem Holým, DrSC
Lamivudin (3TC)	Epivir	1995	neutropenie, únava, bolest hlavy	1 × 150 mg tableta každých 12 hodin 1 × 300 mg tableta každých 24 hodin	zpomaluje progresi onemocnění, účinný proti AZT-rezistentním kmenům HIV
Stavudin (d4T)	Zerit	1994	svalové křeče, nespavost, útlum kostní dřeně, periferní neuropatie, pankreatitida	1 × 40 mg tobolka každých 12 hodin pro pacienty ≥ 60kg 1 × 30 mg tobolka každých 12 hodin pro pacienty < 60kg	jedno z nejdůležitějších terapeutik používaných v kombinované léčbě díky snadnému dávkování, penetraci do mozkomíšního moku a minimální interakci s ostatními léky
Tenofovir (TDF)	Viread	2001	únava, průjem, zvracení, renální insuficience, neutropenie, zvýšená sekrece parathormonu	1 × 300 mg tableta každých 24 hodin	vyvinuto českým vědcem prof. RNDr. Antonínem Holým, DrSC
Zidovudin (ZDV) (AZT)	Retrovir	1987	anémie, neutropenie, myopatie, xerostomie	1 × 300 mg tableta každých 12 hodin	úplně první terapeutikum proti HIV



Na obrázku 4 jsou zobrazeny struktury jednotlivých nukleosidových/nukleotidových inhibitorů reverzní transkriptázy, které jsou schválené FDA pro použití v klinické praxi.

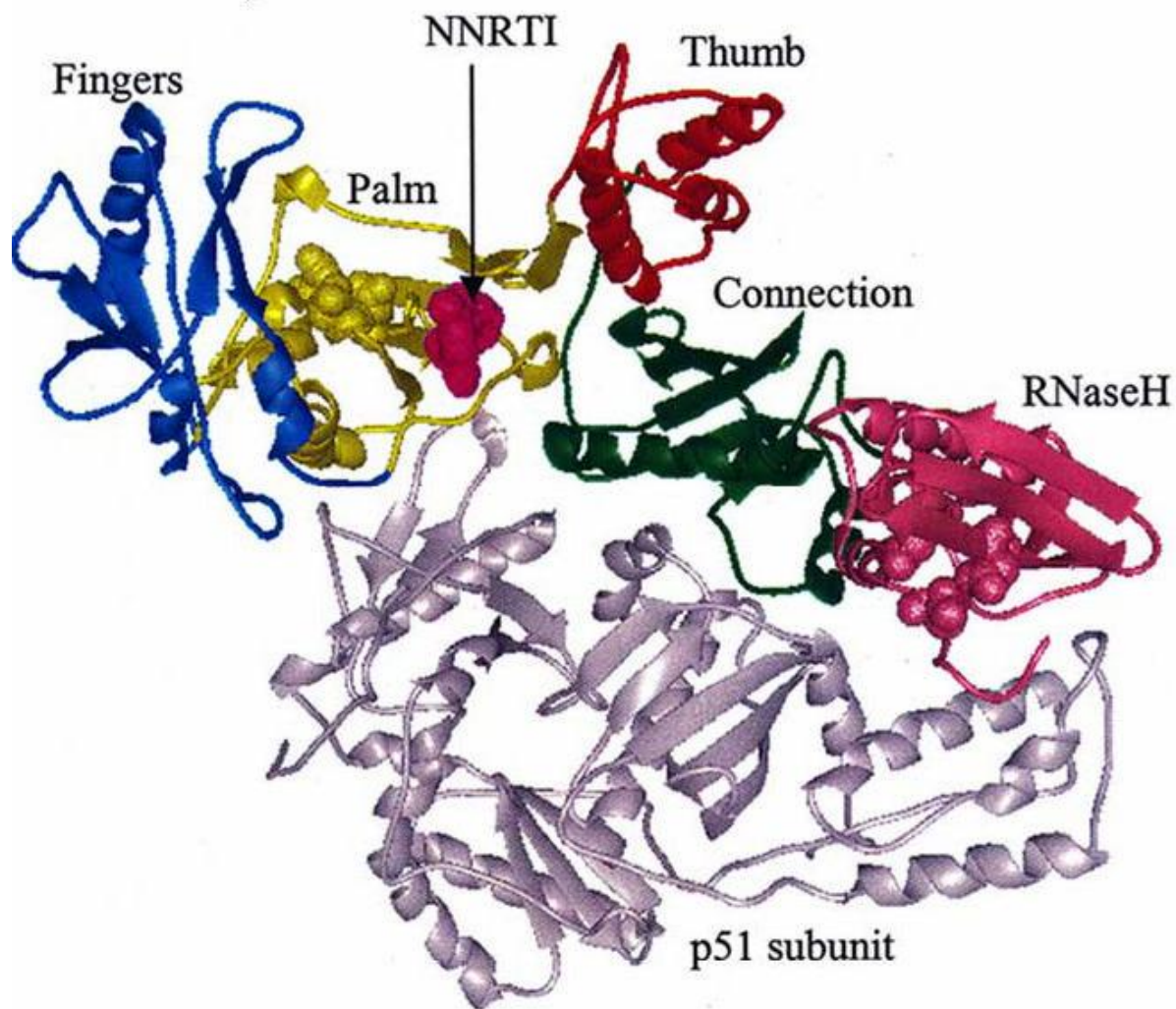


Obr. 4: Struktura NRTI/NNRTI schválených FDA pro klinickou praxi.

1 – Abacavir<sup>[1]</sup>; 2 – Didanosin<sup>[2]</sup>; 3 – Emtricitabin<sup>[3]</sup>; 4 – Lamivudin<sup>[4]</sup>;  
5 – Stavudin<sup>[5]</sup>; 6 – Tenofovir<sup>[6]</sup>; 7 – Zidovudin<sup>[7]</sup>

## 5.2 Nenukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy (NNRTI)

Po vstupu virové částice do hostitelské buňky musí dojít k přepisu virové RNA na DNA pomocí reverzní transkriptázy. RT je asymetrický heterodimer skládající se ze dvou podjednotek (p66, p51). Přestože NNRTI nejsou z chemického hlediska homogenní skupinou, všechny se vážou na reverzní transkriptázu na stejném místě, a to na podjednotce p66 v místě zvaném NNRTI binding pocket (NNRTI-BP). Vazba NNRTI na NNRTI-BP vyvolává konformační změny ve struktuře enzymu (Obr. 5). Bylo navrženo několik mechanismů inhibice. Patří mezi ně konformační změny, které naruší aktivní místo DNA polymerázy, konformační změny mající vliv na domény pohybu enzymu a konformační změny v interakční podjednotce enzymu (Sluis-Cremer, a další 2004).



Obr. 5: Konformační změna ve struktuře enzymu po navázání NNRTI (Sluis-Cremer, a další 2004).

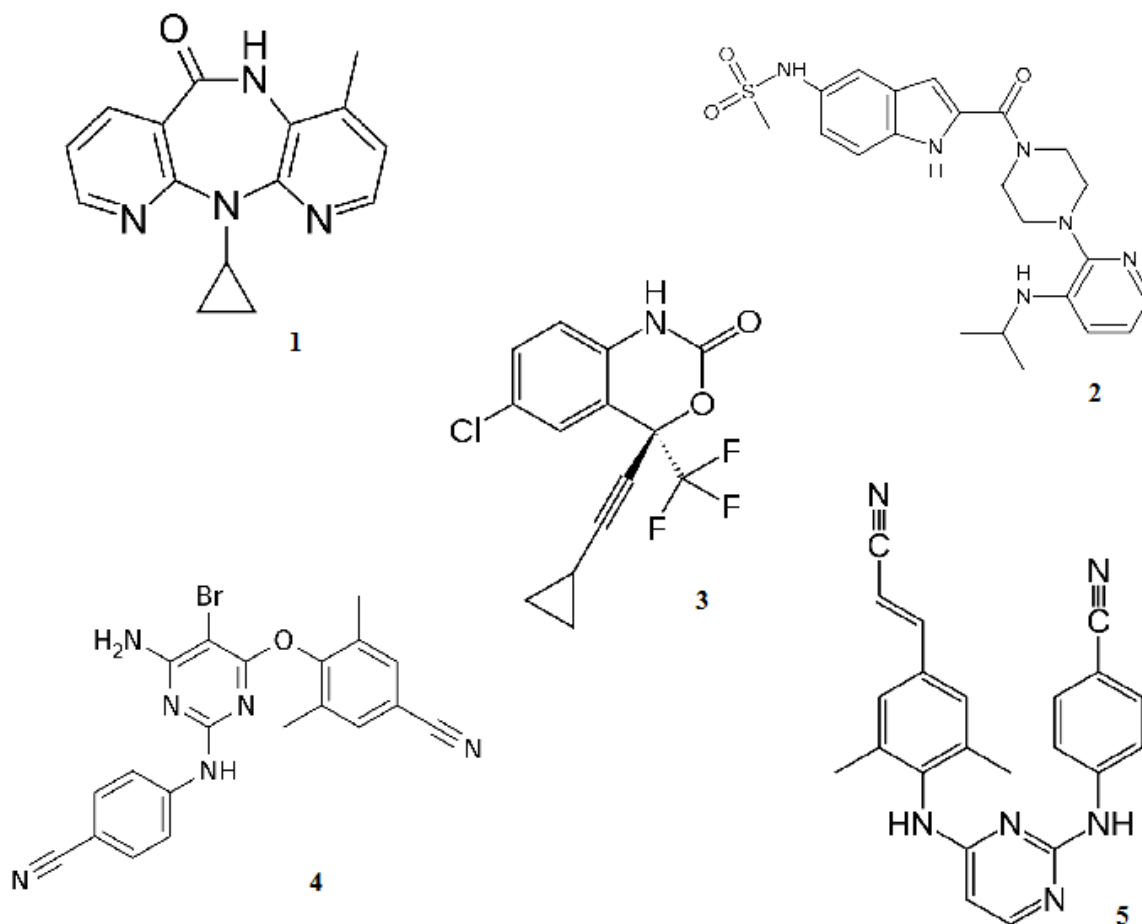
Zatím bylo představeno pět NNRTI. Mezi NNRTI první generace patří nevirapin, delavirdin a efavirenz. Mezi NNTRI druhé generace řadíme etravirin a rilpivirin. Terapeutika druhé generace vykazují nižší procento rezistence (Agrawal, a další 2006), (Schafer a Short 2012).

V tabulce II jsou uvedeny všechny schválené NNRTI včetně hlavních nežádoucích účinků a režimu a formy podávání terapeutik.

Tab. II: Nenukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy (Agrawal, a další 2006), (Skokanová a Staňková 2007), (Schafer a Short 2012).

Generikum Zkratka	Terapeutikum	Schválení FDA	Nežádoucí účinky	Dávkování	Poznámka
Nevirapin (NVP)	Viramune	1996	vyrážka, jaterní selhání	1 × 200 mg tableta každých 24 hodin	rychlý nástup rezistence
				1 × 200 mg tableta každých 12 hodin	
Delavirdin (DLV)	Rescriptor	1997	makulopapulární vyrážka	4 × 100 mg tableta každých 24 hodin (rozpustit ve vodě)	použití s ještě alespoň 2 antiretrovirovými léčivy
Efavirenz (EFV)	Sustiva Stocrin	1998	makulopapulární vyrážka, nespavost, zmatenost	1 × 600 mg tableta každých 24 hodin	neúčinný proti HIV-2
				3 × 200 mg tobolka každých 24 hodin	
Etravirin (ETR)	Intence	2008	vyrážka, průjem, bolest hlavy, úzkost nespavost, nevolnost, levinové selhání	2 × 100 mg tableta každých 12 hodin	musí být vždy podán v kombinaci s jinými antiretrovirovými léčivými přípravky
				1 × 200 mg tableta každých 12 hodin	
Rilpivirin (RPV)	Edurant	2011	nespavost, deprese, bolest hlavy, závratě, vyrážka, zvýšení hladiny cholesterolu	1 × 25 mg tableta každých 24 hodin	určeno pro dosud neléčené pacienty s VL ≤ 100 000 kopií RNA/ml; nutno užívat spolu s jídlem

Na obrázku 6 jsou zobrazeny struktury jednotlivých nenukleosidových inhibitorů reverzní transkriptázy, které jsou schválené FDA pro použití v klinické praxi.



Obr. 6: Struktura NNRTI schválených FDA pro klinickou praxi.

1 – Nevirapin<sup>[8]</sup>; 2 – Delavirdin<sup>[9]</sup>; 3 – Efavirenz<sup>[10]</sup>; 4 – Etravirin<sup>[11]</sup>; 5 – Rilpivirin<sup>[12]</sup>

### 5.3 Proteázové inhibitory (PI)

Virová proteáza je enzym zodpovědný za maturaci virové částice v infekční virion. Proteáza systematicky štěpí jednotlivé polyproteiny Gag a Gag-pol na funkční podjednotky pro tvorbu nové virové kapsidy. PI se navážou přímo na virovou proteázu a zabrání jí tak ve štěpení polyproteinů a tím i kompletaci a maturaci infekční částice (Agrawal, a další 2006).

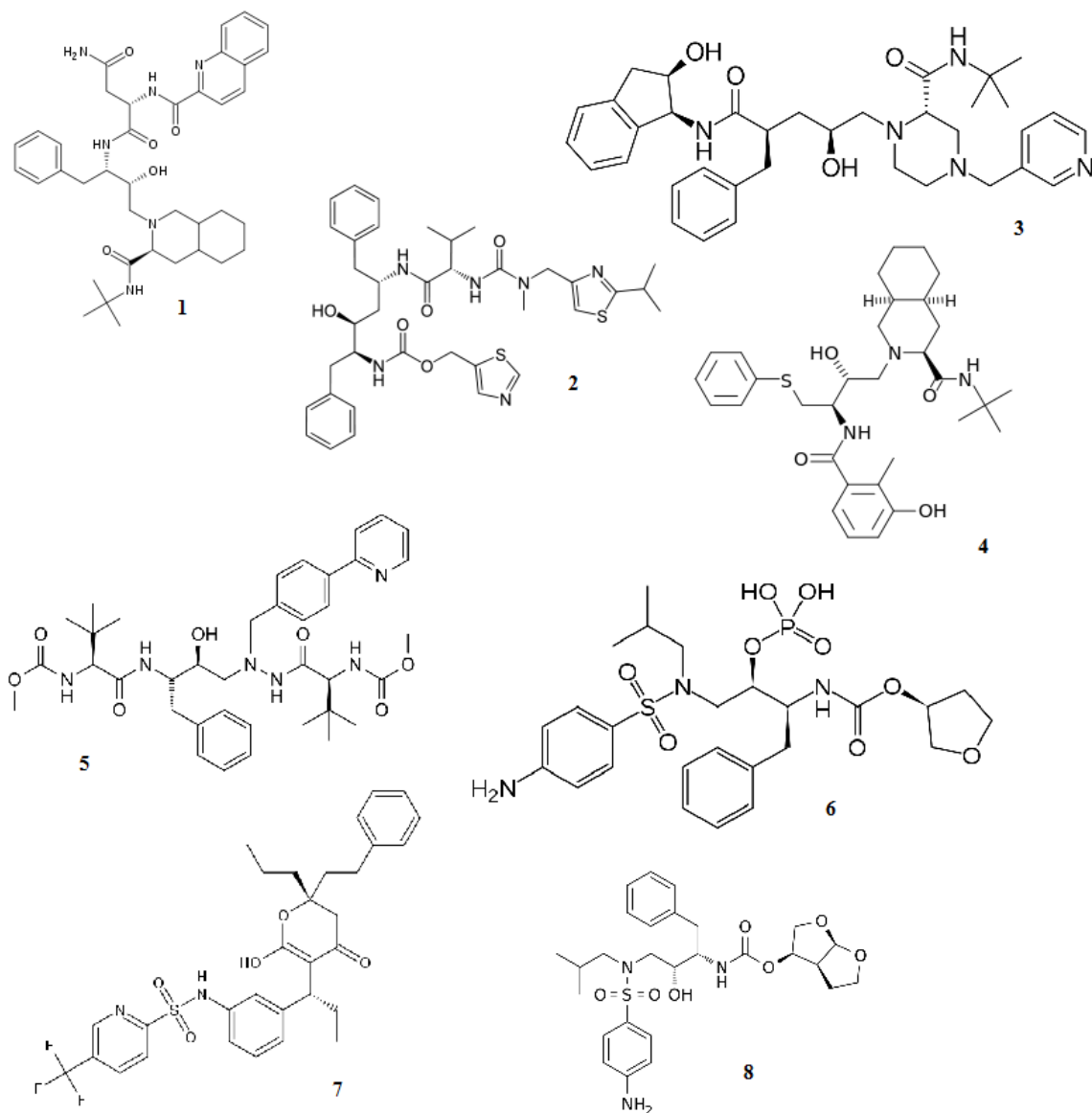
První proteázový inhibitor byl představen již na počátku devadesátých let minulého století (Roberts, a další 1990). Dodnes jich bylo schváleno již devět a staly se nedílnou součástí kombinované léčby. Proteázové inhibitory výrazně zpomalují rozvoj onemocnění a tím i výskyt oportunních infekcí (Staňková 2008).

V tabulce III jsou uvedeny všechny schválené PI včetně hlavních nežádoucích účinků a režimu a formy podávání terapeutik.

Tab. III: Proteázové inhibitory (Agrawal, a další 2006), (Phung a Yeni 2011), (Staňková 2008), (Skokanová a Staňková 2007).

Generikum Zkratka	Terapeutikum	Schválení FDA	Nežádoucí účinky	Dávkování	Poznámka
Saquinavir (SQV)	Invirase	1995	nevolnost, zvracení, vyzážka, hypoglykémie	5 × 200 mg tobolka každých 12 hodin 2 × 500 mg tableta každých 12 hodin	dávkování souběžně s přípravkem Norvir 1 × 100 mg tobolka
Ritonavir	Norvir	1996	gastrointestinální problémy, zvýšené jaterní enzymy	6 × 100 mg želatinová tobolka každých 12 hodin	využívá se ke zvyšování účinnosti ostatních PI (booster efekt)
Indinavir (IDV)	Crixivan	1996	abnormality nehtů a kůže, nefrolitiáza, hyperbilirubinémie,	2 × 400 mg tobolka každých 8 hodin	důležitý je přísun tekutin alespoň 1,5 litru denně
Nelfinavir (NFV)	Viracept	1997	průjmy, slabost, deprese	5 × 250 mg tableta každých 12 hodin 3 × 250 mg tableta každých 8 hodin 2 × 625 mg tableta každých 12 hodin	užívat s jídlem
Lopinavir/ ritonavir (LPV/r)	Kaletra	2000	průjem, abnormální hladiny lipidů, bolesti hlavy, slabost	3 × kombinovaná tobolka 133,3/33,3 mg každých 12 hod 2 × kombinovaná tableta 200/50 mg každých 12 hodin	při kombinaci s EFV nebo NVP nutno zvýšit dávky
Atazanavir (ATV)	Reyataz	2003	hyperbilirubinémie, vyzážka	2 × 150 mg tobolka každých 24 hodin 2 × 200 mg tableta každých 24 hodin	dávkování souběžně s přípravkem Norvir 1 × 100 mg tobolka
Fosamprena vir (FPV)	Lexiva Telzir	2003	vyzážka, průjem, bolest hlavy	1 × 700 mg tableta každých 12 hodin	dávkování souběžně s přípravkem Norvir 1 × 100 mg tobolka
Tipranavir (TPV)	Aptivus	2005	nevolnost, zvracení, vyzážka,	2 × 250 mg tobolka každých 12 hodin	dávkování souběžně s přípravkem Norvir 2 × 100 mg tobolka
Darunavir	Prezista	2006	průjem, nespavost, periferní neuropatie, vyzážka, únava	1 × 800 mg tobolka každých 24 hodin 1 × 600 mg tableta každých 12 hodin	dávkování souběžně s přípravkem Norvir 1 × 100 mg tobolka

Na obrázku 7 jsou zobrazeny struktury jednotlivých proteázových inhibitorů, které jsou schválené FDA pro použití v klinické praxi.

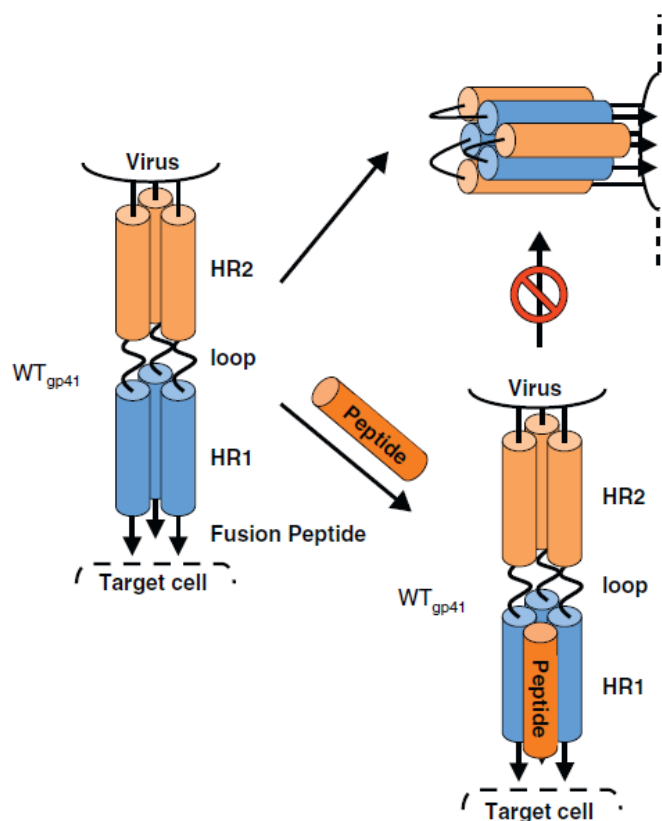


Obr. 7: Struktura PI schválených FDA pro klinickou praxi (Pokorná, a další 2009).  
 1 – Saquinavir; 2 – Ritonavir; 3 – Indinavir; 4 – Nelfinavir; 5 – Atazanavir;  
 6 – Fosamprenavir; 7 – Tipranavir; 8 – Darunavir

## 5.4 Inhibitory fúze (FI)

Aby virion HIV mohl vstoupit do buňky, musí dojít k fúzi mezi membránou viru a hostitelské buňky. Tento vstup je zprostředkován glykoproteiny gp 120 a gp 41. Ty jsou ve virové membráně uspořádány jako trimer tří trans-membránových podjednotek gp 41 a tři nekovalentně připojených podjednotek gp 120 na povrchu membrány. Glykoprotein gp 41 se skládá z několika funkčních domén: trans-membránové domény (TM), dvou domén HR (HR1 a HR2) a hydrofobního fúzního peptidu (FP) na N-konci (Ashkenazi, a další 2011).

Podjednotky gp 120 zprostředkují vazbu k cílové buňce přes receptor CD4. Tato vazba vyvolá konformační změny v glykoproteinu a odhalí se vazebné místo pro chemkinový koreceptor CCR5 nebo CXCR4. Vazba na receptor CD4 i chemkinový koreceptor vyvolá další konformační změnu a tím se aktivuje fúzní mechanismus gp 41. Nejprve je FP začleněn do membrány cílové buňky a domény HR1 vytvoří meta-stabilní prefúzní meziproduct. Následně se domény HR2 začlení k HR1 za vzniku stabilního 6-helix svazku (Obr. 8), který zodpovídá za vzájemné postavení a propojení virové a buněčné membrány pro fúzi (Berkhout, a další 2012).



Obr. 8: Mechanismus působení inhibitorů fúze (Berkhout, a další 2012).

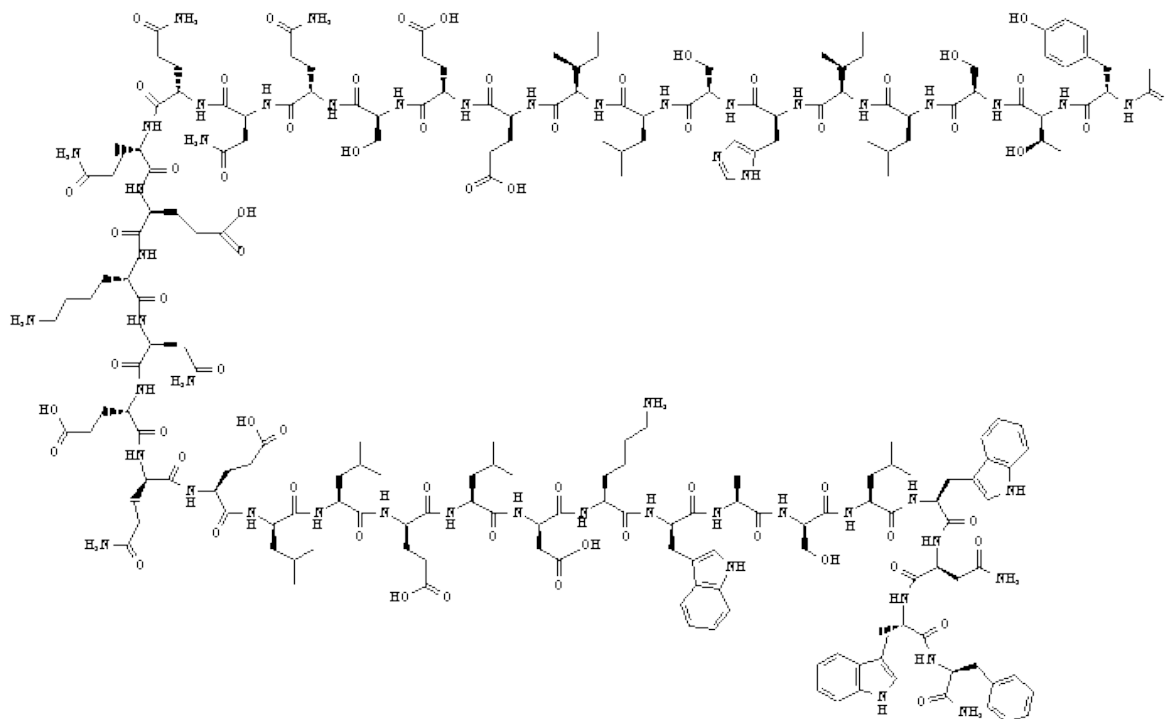
Inhibitory fúze byly první třídou terapeutik, které působily extracelulárně. Zatím jediným FI schváleným FDA (roku 2003) je enfuvirtid (Fuzeon) (Williams 2003). Enfuvirtid se váže na doménu HR1 glykoproteinu gp 41 a zabrání tak správnému složení domén HR1a HR2 ve stabilní 6-helix svazek (Obr. 8) a fúze nemůže proběhnout (Berkhout, a další 2012).

Enfuvirtid (Fuzeon) vyžaduje podkožní aplikaci díky své nestabilitě v zažívacím traktu. Fuzeon se aplikuje podkožní injekcí (1 × 90 mg) každých 12 hodin do horní části paže, přední plochy stehna nebo břicha. Injekční aplikace je složitá a při nesprávném provedení vznikají v místě vpichu bolestivé infiltráty (Skokanová a Staňková 2007). Při léčbě Fuzeonem se objevují záněty horních cest dýchacích nebo i pneumonie (Williams 2003). Z těchto důvodů je zařazen do kategorie záchranných léků a podává se pouze v případech, kdy pacientovy není možno nasadit kombinovanou léčbu z běžných antiretrovirik kvůli výskytu multirezistencí (Staňková 2008).

Na obrázku 9 je zobrazena struktura enfuvirtidu, který je zatím jako jediný schválený FDA pro použití v klinické praxi.

#### Enfuvirtide

$C_{204}H_{301}N_{51}O_{64}$



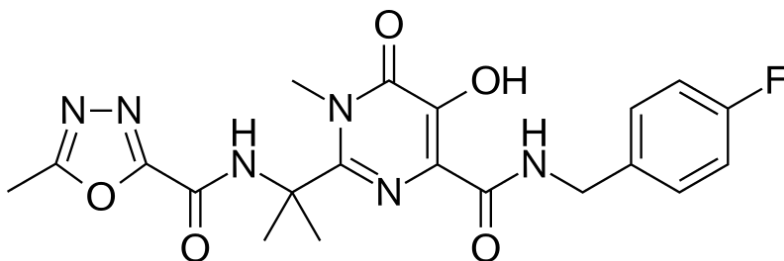
Obr. 9: Struktura enfuvirtidu – inhibitoru fúze<sup>[13]</sup>.



## 5.5 Integrázové inhibitory (II)

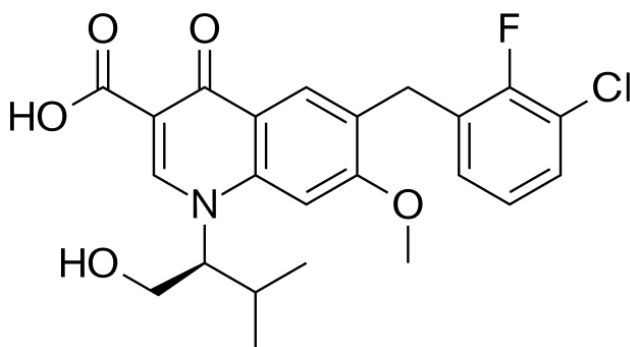
Po proniknutí viru HIV do hostitelské buňky musí dojít k přepisu virové RNA do DNA. Tato DNA je následně importována do jádra hostitelské buňky a začleněna do jejího genomu jako DNA provirus. Za proces začlenění zodpovídá enzym virová integráza, který si virus přináší s sebou. II inhibují enzymatickou činnost integrázy, a tím zabraňují přenosu a začlenění DNA proviru do genomu, které je následně důležité pro tvorbu nových virionů. Protože hostitelská buňka nevykazuje integrázovou činnost, použití II neovlivňuje normální aktivitu buňky (Croxtall a Keam 2009).

Prvním léčivem v této nové třídě antiretrovirových terapeutik byl raltegravir (Isentress). Raltegravir byl schválen roku 2007 a od té doby je používán jako součást kombinované léčby, která účinná i proti multirezistentním kmenům HIV (Cahn a Sued 2007). Jeho účinnost u dosud neléčených pacientů dosahuje dobrých výsledků, hlavně ve snížení virové nálože. Raltegravir je většinou užívateli dobře snášen. Mezi jeho nežádoucí účinky patří především průjem, nevolnost a bolest hlavy, ale frekvence jejich výskytu je poměrně nízká (do 4 %). Dávková raltegraviru je  $1 \times 400$  mg tableta každých 12 hodin (Sayana a Khanlou 2008).



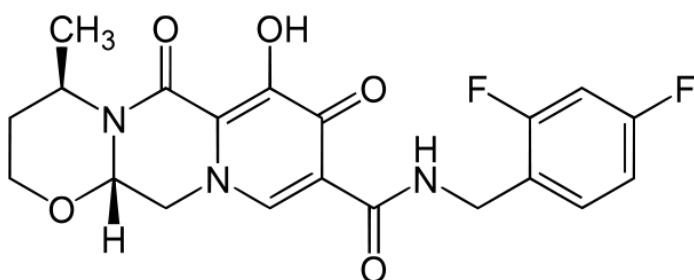
Obr. 10. Chemická struktura raltegraviru (Croxtall a Keam 2009).

Dalším generikem této třídy je elvitegravir, který byl schválen FDA v roce 2012. Jedná se ale o schválení pouze pro kombinovanou terapii (Johnson a Saravolatz 2014).



Obr. 11: Chemická struktura elvitegraviru<sup>[14]</sup>.

Zatím posledním schváleným terapeutikem je dolutegravir (Tivicay). Tento lék byl schválen teprve v srpnu 2013 (U.S. Food and Drug Administration 2013). Stejně jako všechna nová terapeutika se podává v kombinaci s ještě alespoň jedním antiretrovirovým léčivým přípravkem. Zatím se dolutegravir jeví slibně, především kvůli jeho odolnosti při tvorbě rezistence. Jeho velkou výhodou je režim dávkování;  $1 \times 50$  mg každých 24 hodin. Díky odolnosti vůči rezistenci a snadnému režimu podávání je také nazýván integrázovým inhibítorem druhé generace. Mezi jeho hlavní nežádoucí účinky patří poruchy spánku, bolesti hlavy, nevolnost a průjem (Ballantyne a Perry 2013).



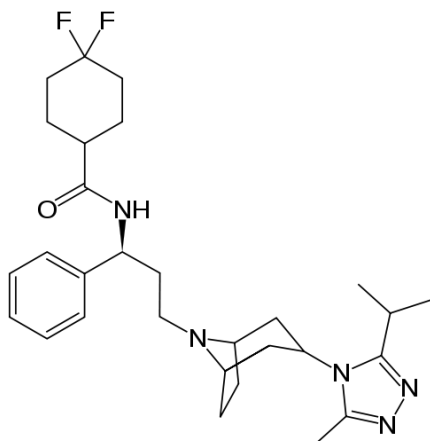
Obr. 12: Chemická struktura dolutegraviru (Ballantyne a Perry 2013).

## 5.6 Inhibitory vstupu

Vstup viru HIV do buňky je složitý vícestupňový proces. Prvním krokem je navázání glykoproteinu gp 120 na CD4 receptor na povrchu hostitelské buňky. Tato vazba vyvolá konformační změny ve vnějším obalu viru a odhalí se vazebná místa pro chemokinový koreceptor (CCR5 nebo CXCR4). Vazba na koreceptor je pro vstup viru do buňky také nutností (Berkhout, a další 2012). Inhibitory vstupu se vážou právě na tyto chemokinové koreceptory na povrchu hostitelské buňky a brání tak navázání glykoproteinu gp 120 viru. Tím dojde k přerušení procesu vstupu viru do buňky. Vazba inhibitoru na koreceptor je poměrně stála, ale není trvalá (Lieberman-Blum, a další 2008).

Maravirok (Selzentry) byl FDA schválen v létě 2007 a je zatím jediným v relativně nové třídě antiretrovirových terapeutik. Jedná se o nízkomolekulární inhibitor koreceptoru CCR5 a zdá se být vysoce účinný proti všem subtypům HIV<sub>1</sub>. Nepůsobí ovšem proti virům vázající se přes koreceptor CXCR4. V klinické fázi testování byl Maravirok snášen poměrně dobře, mezi jeho hlavní vedlejší účinky patří kašel, infekce horních cest dýchacích, horečka, vyrážka, bolest břicha a závrať (Carter a Keating 2007). V klinické fázi byla zkoušena jak monoterapie, tak kombinovaná léčba. Přestože monoterapie vykazovala poměrně dobré výsledky v oblasti poklesu virové nálože, terapeutikum bylo schváleno pouze pro použití

spolu s dalšími antiretrovirovými léčivy. Dávkování Maraviroku je nejčastěji  $1 \times 300$  mg tableta každých 12 hodin (Lieberman-Blum, a další 2008).



Obr. 13: Chemická struktura maraviroku (Carter a Keating 2007).

## 5.7 Kombinovaná antiretrovirová terapie

Kombinovaná terapie je terapie založená na kombinaci nejméně dvou léčivých přípravků, které se užívají ve stejný čas a pro stejné onemocnění. Když byl roku 1987 zaveden první lék Zidovudin (Retrovir) proti HIV infekci znamenalo to úspěch (Furman, a další 1986). Přesto však míra mortality neklesla na uspokojivou úroveň. Postupem času ale byla zaváděna nová a nová terapeutika a v klinických studiích se začalo experimentovat s jejich kombinacemi. Ukázalo se, že kombinace více terapeutik přináší lepší výsledky oproti monoterapii (Agrawal, a další 2006).

Od poloviny 90. let se standardním léčebným postupem stala tzv. HAART (High Active Antiretroviral Therapy) kombinující PI, NRTI a NNRTI. Jako nejúčinnější se ukázalo kombinace 2 NRTI + 1 NNRTI nebo 2 NRTI + 1 PI, možná, ale méně častá, je i kombinace 1 NRTI + 1 PI + 1 NNRTI. Další kroky vedly ke zjednodušení režimu podávání terapeutik. Cílem bylo vytvořit kombinovanou tabletu, která by obsahovala všechny léčivé složky, a interval podání by byl pouze jednou za 24 hodin (Staňková 2008).

První kombinovaný lék byl FDA schválen roku 2006 a jednalo se o kombinaci tenofoviru, emtricitabinu a efavirenzu. Novinkou v kombinované léčbě HIV infekce je tableta obsahující celkem čtyři složky: tenofovir, emtricitabin, elvitegravir a cobicistat. Tato kombinovaná tableta byla schválena v roce 2012 pod názvem Stribild a užívá se pouze jednou denně s jídlem (Johnson a Saravolatz 2014).

V následující tabulce IV jsou uvedeny kombinované tablety schválené FDA pro klinické použití včetně jejich složení a režimu dávkování.

Tab. IV: Kombinované tablety schválené FDA (Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents 2011).

<b>Generikum</b>	<b>Složení</b>	<b>Dávkování</b>
Trizivir	Abacavir (300 mg) Zidovudin (300 mg) Lamivudin (150 mg)	1 tableta každých 12 hodin
Epzicom	Abacavir (600 mg) Lamivudine (300 mg)	1 tableta každých 24 hodin
Atripla	Tenofovir (300 mg) Emtricitabin (200 mg) Efavirenz (600 mg)	1 tableta každých 24 hodin
Truvada	Tenofovir (300 mg) Emtricitabin (200 mg)	1 tableta každých 24 hodin
Combivir	Zidovudin (300 mg) Lamivudin (150 mg)	1 tableta každých 12 hodin
Complera	Tenofovir (300 mg) Emtricitabin (200 mg) Rilpivirin (25mg)	1 tableta každých 24 hodin
Stribild	Elvitegravir (150 mg) Cobicistat (150 mg) Emtricitabin (200 mg) Tenofovir (300 mg)	1 tableta každých 24 hodin

Stejně jako monoterapii i kombinovanou terapii provází více či méně závažné nežádoucí účinky plynoucí z toxicity jednotlivých složek, proto se pravděpodobnost jejich výskytu zvyšuje. Nejčastěji se jedná o vyrážku, průjem a nevolnost. Tyto a další nezávažné vedlejší účinky se dají redukovat užíváním léků nebo mastiček. Pacientům, kteří trpí průjmy, se doporučuje dieta s vyšším obsahem vlákniny. Pokud nežádoucí účinky neodezní nebo dojde ke zhoršení, je nutné přehodnotit léčbu a pacientovi předepsat jinou kombinaci léků (Sedláček, a další 2007).

## **6. Antiretrovirová terapie ve fázi vývoje a testování**

Přestože je na trhu celkem 26 schválených antiretrovirových terapeutik, vývoj nových jde neustále kupředu. Mnoho je jich ve II. a III. fázi klinického testování. Vývoj nových léčivých přípravků se nezaměřuje pouze na stávající třídy terapeutik, ale snaží se vytvářet i třídy nové. Nemalá pozornost je také věnována zmírnění vedlejších účinků a snazšímu režimu podávání (Agrawal, a další 2006).

### **6.1 Klinické hodnocení léčiv a jeho úskalí**

Každé nově vyvinuté léčivo musí před schválením a uvedením na trh projít klinickým hodnocením, které má za cíl zjistit účinnost, bezpečnost a kvalitu léku. Tento proces trvá několik let a je finančně i organizačně velmi náročný. Samotnému klinickému hodnocení léku předchází tzv. preklinické testování na zvířatech, kdy se hodnotí hlavně toxicita, ale i jiné nežádoucí účinky. Při klinickém hodnocení musí být dodržena celá řada předpisů a nařízení (tzv. Správná klinická praxe), a jejich porušení může znamenat ukončení fáze testování a zastavení celé studie (SÚKL, Jak probíhá klinické hodnocení léků?).

#### **6.1.1 Fáze klinického hodnocení**

Celý proces klinického hodnocení je rozdělen do čtyř fází. Ve fázi I je lék poprvé podán lidem (v řádu desítek) a hodnotí se jeho vliv na lidský organismus. V této fázi se stanovuje maximální tolerovaná dávka léku a hodnotí se první nežádoucí účinky. Ve fázi II se počet dobrovolníků zvýší (v řádu stovek) a opět se sleduje chování léku v organismu a možné nežádoucí účinky (Vian, a další 2013). Pokud se v této fázi testování neprojeví závažný nežádoucí účinek, lék postupuje do fáze III klinické studie, do které je zařazen již velký počet pacientů (v řádech tisíců). Pokud se ani v této fázi neobjeví závažné komplikace, lék je navrhnout na schválení pro užití v běžné klinické praxi. Po uvedení léku na trh se ale jeho účinnost a bezpečnost dále sleduje (fáze IV) a případně aktualizuje příbalový leták a souhrn údajů o přípravku (SÚKL, Jaké jsou fáze testování?).

#### **6.1.2 Ukončení klinického hodnocení**

Pokud se v průběhu kterékoliv fáze klinické studie objeví závažný nežádoucí nebo dojde k poškození zdraví pacienta, klinické hodnocení je pozastaveno nebo zrušeno (SÚKL, Jak probíhá klinické hodnocení léků?). Někdy může studii ukončit i sám zadavatel, například pro neefektivnost léku (Henrich a Kuritzkes 2013).

## 6.2 Nové nukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy

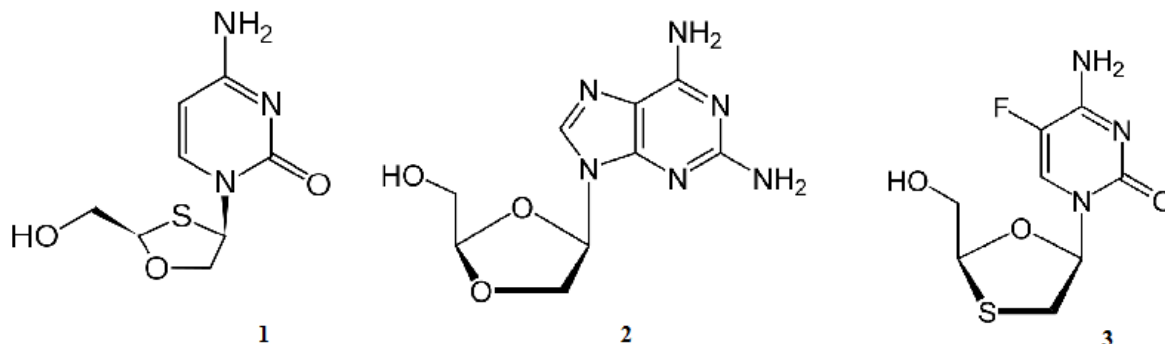
Když byl před 27 lety uveden na trh první lék proti infekci HIV zidovudin (Retrovir), znamenalo to obrovský úspěch a byl tak položen základní kámen antiretrovirové terapie (Furman, a další 1986). Od té doby bylo schváleno dalších šest NRTI a mnoho je jich v současné době ve fázi klinického testování. Protože NRTI jsou nedílnou součástí kombinované terapie, je na ně kladen vysoký nárok, co se týče interakce s jinými léky, stability v organismu a nežádoucích účinků. Nové NRTI musí být bezpečnější, efektivnější, pokud možno dlouhodobě užitelné a musí mít co nejméně nežádoucích účinků (Cihlář a Rya 2010).

Apricitabine (ATC) je v současné době v poslední fázi klinického testování na pacientech, kteří již mají zkušenost s antiretrovirovou léčbou (Desai, a další 2012). Ve fázi I byla testována monoterapie ATC v rozmezí 400 – 1600 mg na den. Ve fázi II se testovala účinnost a bezpečnost ATC spolu s lamivudinem (3TC) (Gu, a další 2006). Ve fázi III byla optimální dávka ATC stanovena na 800 mg dvakrát denně spolu se 150 mg 3TC. Veškeré údaje a výsledky klinické studie byly již předloženy FDA a čeká se na rozhodnutí o schválení apricitabinu (Desai, a další 2012).

Amdoxovir (DAPD) se ve fázi I testoval jak na dříve neléčených pacientech, tak na pacientech, kteří již mají zkušenost s terapií. Těmto subjektům byl DAPD pouze přidán k jejich dosavadní léčbě. U obou skupin se jako neúčinnější ukázala dávka 500 mg DAPD dvakrát denně. Protože ale u již dříve léčených pacientů nebyl přínos DAPD velký, do fáze II již zařazení nebyli. Ve fázi II se pokračovalo s léčbou 500 mg DAPD dvakrát denně a k této dávce byly experimentálně přidány další antiretrovirika. Jako neúčinnější se ukázala kombinace 500 mg amdoxoviru s 200 mg zidovudinu. Zatím jedinými nežádoucími účinky byly zaznamenány bolesti hlavy a nevolnost. Amdoxovir je v současné době ve fázi III klinického testování (Murphy, a další 2010).

Racivir (RCV) byl ve fázi Ib i IIa testován na dříve neléčených pacientech. Ve fázi IIa se k monoterapii RCV přidal stavudin nebo efavirenz. Došlo k výraznému poklesu virové nálože a obě tyto kombinace byly velice dobře snášeny. Do fáze IIb byli zařazení i dříve léčení pacienti, u kterých se zkoušela kombinace RCV a lamivudinu. Racivir je v současné době ve fázi III klinického testování. Jeho hlavní výhodou je režim dávkování, pouze jedna tableta denně (Cihlář a Rya 2010).

Apricitabin, amdoxovir i racivir se jeví jako slibné nové NRTI. Jejich hlavní výhodou je účinnost proti rezistentním a multirezistentním kmenům viru. V klinickém testování jsou zařazeny i další NRTI (elvucitabin, alovudin, lagociclovir, KP-1212 nebo CMX-157). Klinická studia elvucitabinu a alovudinu bude ale nejspíše zastavena kvůli toxickým účinkům. Lagociclovir a CMX-157 jsou zatím pouze ve fázi I (Cihlár a Rya 2010).



Obr. 14: Chemická struktura NRTI ve fázi testování.

1 – Apricitabin<sup>[15]</sup>; 2 – Amdoxovir<sup>[16]</sup>; 3 – Racivir<sup>[17]</sup>

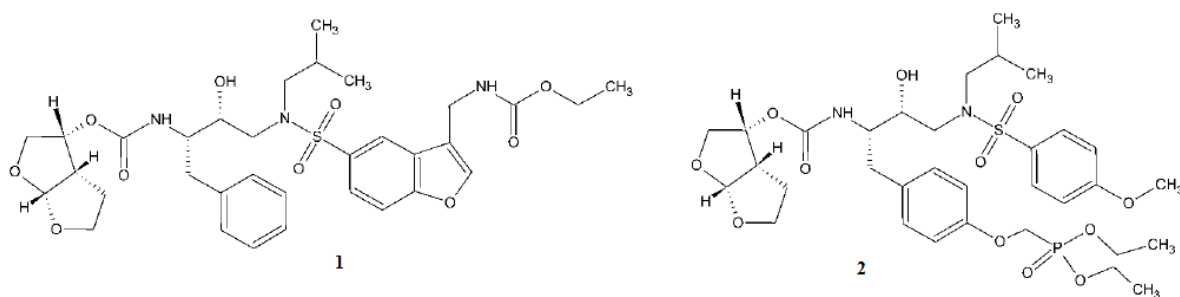
### 6.3 Nové nenukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy

V této skupině antivirotik bylo doposud schváleno pět terapeutik. Přestože NNRTI tvoří důležitou součást kombinované terapie, v současné době se ve fázi III ani IIb klinického výzkumu netestuje žádný nový nukleosidový inhibitor RT. Slibnými se ještě v roce 2012 jevíly Iersivirin a GSK 2248761 (fáze IIb). V únoru 2013 se ale ViiV Healthcare, společnost zodpovědná za vývoj Iersivirinu, rozhodla jeho testování ukončit, protože nepřinášel výrazné zlepšení oproti stávajícím lékům. Podobný osud měl o 2 roky dříve i GSK 2248761. Jeho testování pozastavila FDA kvůli čtyřem vážným záchvatům u pacientů v klinické studii. Ve fázi IIa probíhá testování RDE806 a BILR 355 BS. Zda se z těchto potenciálních léků stanou léky v klinické praxi, ukáže pouze čas (Usach, a další 2013).

### 6.4 Nové proteázové inhibitory

V dnešní době je k dispozici devět proteázových inhibitorů schválených FDA. Ty jsou nedílnou součástí počáteční i záchranné kombinované léčby. Ne všichni HIV-pozitivní k nim v počáteční terapii ale mají přístup, důvodem je jejich cena. Cílem vývoje nových proteázových inhibitorů je vytvořit účinnější, bezpečnější, méně toxické látky, které by měly minimum vedlejších účinků a jejich výroba stála co možná nejméně peněz. Aktuálně je ve fázi vývoje několik potenciálních terapeutik (Pokorná, a další 2009).

Slibnou budoucnost jako PI měla sloučenina PL-100, která vynikla hlavně svou odolností k vývoji rezistence. Dokázala působit i proti vysoce odolným rezistentním kmenům HIV a zároveň vykazovala inhibiční aktivitu proti CYP450 3A4/5, což umožnilo upravit režim dávkování pouze na jednu tabletu denně (Dandache, a další 2007). Přesto však Merc, společnost zodpovědná za vývoj PL-100, v létě roku 2008 oznámila pozastavení vývoje. Stejný osud měl i brecanavir, jehož vývoj byl ukončen roku 2006 (Hazen, a další 2007). Aktuálně jsou ve fázi I klinického výzkumu testovány celkem dvě sloučeniny, a to SPI-256 a GS 8374. Zatím oba vykazují dobré výsledky v rámci působení proti mutantním virům (Pokorná, a další 2009).



Obr. 15: Chemická struktura PI ve fázi testování (Pokorná, a další 2009).

1 – SPI-256; 2 – GS 8374

V současné době se vývoj zaměřil také na nepeptidické HIV PI (v této podskupině je již schválen tipranavir a darunavir). Jedná se především o snahu vyvinout inhibitor s co možná nejmenší molekulovou hmotností a současně maximalizovat interakci s virovou proteázou. Předlohou pro některé nové nepeptidické PI je darunavir, v jehož struktuře byly provedeny změny za současného zachování vysoké antivirové aktivity (Pokorná, a další 2009). Dalším relativně nekonvenčním řešením je použití ikosaedrických karboranů jako kostry pro inhibitor. Tyto sloučeniny nahradí v molekule objemné boční řetězce aminokyselin a tím se sníží molekulová hmotnost (Armstrong a Valliant 2007).

Všechny doposud představené sloučeniny působí v aktivním místě proteázy. Existují zde ale návrhy alternativních inhibitorů, které by působily na funkční domény mimo aktivní místo enzymu. Mezi tyto domény patří například jádro aktivního místa nebo substrát vázající místo. Je tu možnost, že by se v těchto místech nemusely vytvářet mutace a tím by nevznikala rezistence na daný přípravek. Tento typ inhibitorů je zatím pouze konceptem, ale v budoucnu by se mohl stát realitou (Pokorná, a další 2009).



## 6.5 Nové inhibitory fúze

Fúze virové a buněčné membrány je nezbytný proces pro vstup viru do buňky. Zprostředkovávají ho glykoproteiny gp 120 a gp 41 na povrchu viru. Právě proti těmto glykoproteinům je zaměřen mechanismus působení inhibitorů fúze. V současné době je na trhu pouze jeden schválený FI, a to enfuvirtid (Fuzeon, T-20). Ten je ale velice nestabilní a vyžaduje injekční podkožní aplikaci. Proto je zdě snaha zefektivnění FI a zajistit jejich větší bezpečnost (do Canto, a další 2007).

Nyní se ve fázi II klinického výzkumu testuje přípravek T-1249. T-1249 je stabilnější než enfuvirtid, a proto vyžaduje podkožní aplikaci pouze jednou denně. Průběžné výsledky testování také ukazují větší afinitu k virové membráně oproti dosud používanému Fuzeonu. Zároveň je T-1249 podle dosavadních výsledků účinný i proti T-20 rezistentním kmenům (A. M. do Canto, a další 2012).

## 6.6 Nové integrázové inhibitory

Dosud schválené integrázové inhibitory první i druhé generace působí v katalytickém místě integrázy. V tomto vazebném místě se ale tvoří mutace, a tím vzniká rezistence vůči terapeutiku (Croxtall a Keam 2009). Třetí generace integrázových inhibitorů se proto zaměřuje na jiná vazebná místa a mechanismus působení. Pozornost je zaměřena na vývoj alosterických inhibitoru integrázy, duálních inhibitorů zaměřených jak na integrázu, tak na jiné enzymy a nepřímé inhibitory integrázy (Di Santo 2014).

### 6.6.1 Alosterické integrázové inhibitory (ALLINI)

Alosterické integrázové inhibitory se od první a druhé generace II liší především mechanismem účinku. ALLINI může rozdělit do dvou skupin, a to na skupinu inhibitorů s alosterickým mechanismem účinku a na inhibitory interakcí mezi buněčnými kofaktory. První skupina se váže na enzym v odlišném místě než je aktivní místo vázající substrát, ale zároveň tato vazba inhibuje enzymatickou aktivitu. Druhá skupina inhibuje vazby mezi integrázou a buněčnými kofaktory, které jsou pro integraci nezbytné (Di Santo 2014).

Prvotního úspěchu bylo dosaženo v druhé skupině alosterických integrázových inhibitorů. Bylo zjištěno, že jedním z kofaktorů, na které se váže integráza, je LEDGF/p75. Vědci zatím dokázali vyvinout malé molekuly peptidů, které dokážou účinně inhibovat vazbu mezi LEDGF a integrázou. Tyto sloučeniny byly zařazeny do skupiny LEDGIN

a některé z nich se v současné době nachází v preklinické fázi testování, zároveň se usiluje o jejich zařazení do klinické fáze (Masuda 2011).

### **6.6.2 Duální inhibitory integrázy a reverzní transkriptázy**

Duální inhibitory jsou vlastně látky, které svým působením ovlivňují více mechanismů najednou (jedna molekula vykazuje dvojitou inhibiční aktivitu). Přínosem duálních inhibitorů je zjednodušení léčebného režimu a snížení farmakologické zátěže. To znamená omezení vedlejších účinků i lékových interakcí. Duální inhibitory mohou inhibovat dvě různé biologické aktivity, mohou být zaměřeny proti dvěma různým receptorům, případně efektorům mechanismu, mohou inhibovat dva různé enzymy nebo mohou působit proti dvěma různým aktivitám jednoho enzymu (Patyar, a další 2011).

V současné době se některé duální inhibitory testují v onkologické léčbě. K léčbě HIV se zatím žádný klinicky netestoval, ale pracuje se na jeho vývoji (Di Santo 2014). Duální inhibitory k léčbě HIV jsou zaměřeny proti virové integráze a reverzní transkriptáze. Důvodem k vybrání těchto dvou enzymů je strukturální podobnost jejich aktivních míst. Zda se podaří vyvinout dostatečně účinnou, a přesto bezpečnou látku požadovaných vlastností, se uvidí teprve časem (Wang, a další 2007).

### **6.6.3 Nepřímé inhibitory integrázy**

K aktivaci enzymatické aktivity integrázy je zapotřebí její acetylace. Bylo zjištěno, že tuto acetylaci provádí lidské enzymy (zejména P300 a GCN5) patřící mezi histonové acetyltransferázy. Je tedy snaha vytvořit inhibitor právě proti těmto lidským enzymům a tím zabránit aktivaci virové integrázy. Protože variabilita lidských enzymů je nižší než těch virových, předpokládá se, že se sníží pravděpodobnost tvorby rezistence a terapeutikum bude moci být užíváno dlouhodobě (Di Santo 2014).

## **6.7 Nové inhibitory vstupu**

Vstup viru do buňky je prvním krokem jeho replikačního cyklu. Pro vstup do hostitelské buňky využívá virus receptory a koreceptory na jejím povrchu. Inhibitory vstupu zabraňují vazbě s těmito receptory a koreceptory, a tím inhibují vstup viru do buňky a jeho následné množení (Lieberman-Blum, a další 2008). První inhibitor vstupu maravirok (Selzentry) byl FDA schválen roku 2013 a jedná se o CCR5 antagonistu (Carter a Keating 2007). Jeho užívání přináší pozitivní výsledky, a proto se vývoj zaměřil na tuto relativně

novou třídu antiretrovirik se snahou rozšířit spektrum léků, které by bylo možno použít například proti rezistentním kmenům vůči maraviroku (Lieberman-Blum, a další 2008).

### **6.7.1 Vazebné inhibitory**

Zpočátku se vědci zaměřili na vývoj a testování rekombinantní rozpustné molekuly CD4, která by měla schopnost vyvázat virové částice a ty by se poté nemohli navázat na skutečný receptor CD4 na povrchu buňky. Byl vyvinut protein PRO 542, který měl velice slibné výsledky *in vitro*. V klinické fázi testování ale účinný nebyl, a proto byl jeho vývoj zastaven (Agrawal, a další 2006).

Mnohem lepší výsledky přinesla studie zaměřená na inhibitor CD4 vázajícího místa glykoproteinu gp 120. Tento inhibitor nese označení BMS-626529 a v současné době se jeho vývoj nachází ve fázi IIb klinické studie. Testuje se v kombinaci s raltegravirem a tenofovirem ve dvanácti i dvaceti-čtyř hodinových intervalech. Zatím vykazuje pozitivní výsledky s minimem vedlejších účinků (Henrich a Kuritzkes 2013).

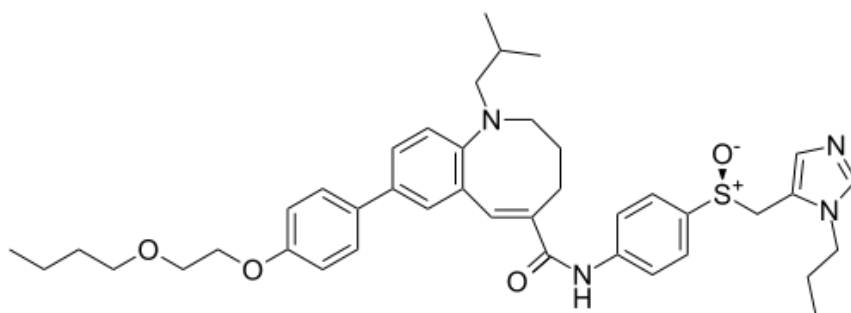
### **6.7.2 Post-vazebné inhibitory**

Monoklonální protilátka ibalizumab (dříve TNX-355) se po vazbě glykoproteinu gp 120 na receptor CD4 náváže na C2 doménu receptoru CD4 a zabrání tak této konformační změně a následnému navázání na koreceptory. Ibalizumab se aplikuje jednou za dva nebo čtyři týdny intravenózně především pacientům s rezistencí na více jak pět antiretrovirik. U těchto pacientů dochází k výraznému poklesu virové nálože. Pokud ale pacient vynechá jen jedinou aplikaci, antiretrovirový účinek se rychle ztrácí. V současné době je ibalizumab ve fázi II klinického testování (Fessel, a další 2011).

### **6.7.3 CCR5 antagonisté**

CCR5 antagonisté jsou významnou skupinou antiretrovirových terapeutik. Úspěchu bylo dosaženo již zavedením maraviroku do klinického použití (Carter a Keating 2007). Jsou zde ale i další velice slibné přípravky. Jedním z nich byl i alpavirok, který dokázal výrazně snížit virovou nálož již po deseti dnech užívání. V průběhu klinické studie se ale u pěti subjektů rozvinula léková hepatitida a jeho testování bylo ukončeno (Nichols, a další 2008). Pro neefektivnost bylo ukončeno i testování vicriviroku (Caseiro, a další 2012).

V současné době se v klinické studii (fáze IIb) testuje CCR5 antagonistu cenicrivirok (TBR-652, dříve TAK-652). Díky jeho delšímu poločasu je možné dávkování pouze jednou denně a navíc inhibuje i receptor CCR2, který je spojen s různými zánětlivými onemocněními. V průběhu klinické studie se zatím neobjevily závažné nežádoucí účinky (Marier, a další 2011).



Obr. 16: Chemická struktura cenicriviroku<sup>[18]</sup>.

#### 6.7.4 CXCR4 antagonisté

Jediným dosud testovaným CXCR4 antagonistou byl AMD3100. Jeho vývoj byl ale zastaven z důvodu ovlivnění činnosti srdce (prodloužení QT intervalu). O vývoji nových CXCR4 antagonistů se zatím neuvažuje (Henrich a Kuritzkes 2013).

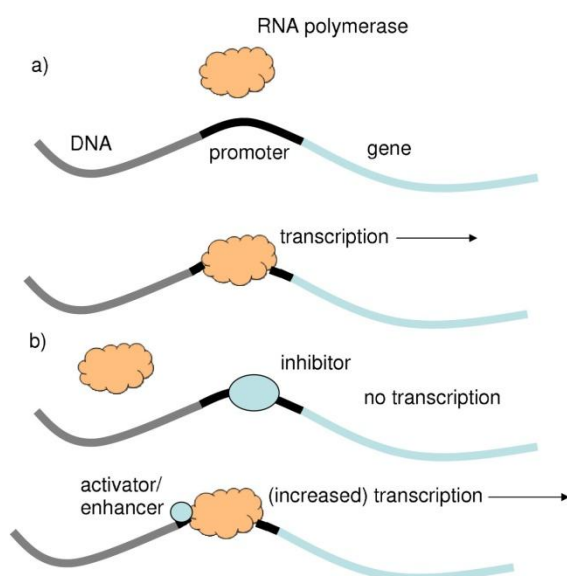
#### 6.8 Inhibitory maturace

Proces zrání nové virové částice je nezbytnou součástí replikačního cyklu viru. Proces zrání je zahájen během nebo krátce po uvolnění viru z infikované buňky. Dochází k postupnému štěpení polyproteinu Pr55Gag na jednotlivé zralé Gag proteiny, které jsou hlavní součástí strukturálního uspořádání. Inhibitory maturace působí právě proti procesu štěpení polyproteinu Pr55Gag a tím způsobí defektní jádrové uspořádání. Výsledkem je uvolnění virových partikulí, které ale nejsou infekční, a proto nemohou šířit infekci do dalších buněk (Waki, a další 2012).

Úplně prvním generikem vyvinutým v této třídě antiretrovirových terapeutik je bevirimat (BVM, betulinic acid). Ten inhibuje štěpení meziprojektu CA-SP1 na kapsidové proteiny (Fujioka, a další 1994). V současné době se BVM nachází ve fázi II klinického testování. Výsledky jsou zatím rozporuplné, protože u některých pacientů došlo ke snížení virové nálože, kdežto ostatní na léčbu vůbec nereagovali. Pomocí genotypové analýzy bylo objeveno, že důvodem je polymorfismus SP1. Stejným mechanismem i účinkem se vyznačuje i druhý inhibitor maturace PF-46396 (Waki, a další 2012).

## 6.9 Inhibitory transkripce

Virová genetická informace je do genomu buňky začleněna v podobě provirové DNA. Ta poté slouží jako předloha pro syntézu virové RNA. Je snaha tento proces zablokovat a zamezit tak tvorbě vRNA, která by byla použita k sestavení nové infekční částice. Inhibitor transkripce se váže na LTR promotor a tím zakryje vazebná místa pro aktivátory transkripce. Pozornost je zaměřena hlavně na zablokování LTR promotoru pro Tat (trans-aktivující) protein, který je zodpovědný za aktivaci transkripce (Obr. 17). Bylo popsáno již několik sloučenin, které působí jako inhibitory transkripce, a to u akutně i chronicky infikovaných buněk. Asi nejlepších výsledků zatím dosahuje temacrazin, který blokuje transkripci RNA podle provirové DNA, aniž by zasahoval do přepisu jakýchkoliv buněčných genů (Agrawal, a další 2006).



Obr. 17: Zjednodušené schéma inhibice transkripce<sup>[19]</sup>.

## 6.10 Inhibitory ribonukleotidové reduktázy (RNRI)

Jednou z vlastností viru HIV je vysoká míra mutace ( $3 - 9 \times 10^{-5}$  mutace/pár bází/cyklus). Existuje ovšem hranice, po jejímž překročení dochází k znehodnocení viru. Tohoto faktu využívá strategie tzv. letální mutace. KP-1212 indukuje především mutace bází  $G \rightarrow A$  a  $A \rightarrow G$  (v menší míře  $T \rightarrow C$  a  $C \rightarrow T$ ). V klinických studiích byl KP-1212 dobře snášen, ale nezpůsobil snížení virové nálože (Harris, a další 2005). Proto byla navržena kombinace KP-1212 s inhibitory ribonukleotidové reduktázy. V testování je používán gemcitabin nebo resveratrol (Rawson, a další 2013).

RNRI mají trojí mechanismus účinku. Zaprvé inhibují syntézu retrovirové DNA přes vyčerpání deoxynukleosid trifosfátu (dNTP), zadruhé RNRI brání syntéze pouze některých dNTP, čímž vzniká nerovnováha podporující mutace a zatřetí celkově snižuje koncentraci dNTP. Kombinace RNRI s KP-1212 vede k nárůstu mutací G→C a dochází ke snížení infekčnosti HIV. V současné době se pracuje hlavně na formě léku, který by se vyznačoval co nejnižší toxicitou, lepší účinností a stabilitou (Rawson, a další 2013).

## **6.11 Cytokiny jako imunomodulátory**

Velkým problémem při HIV infekci je snížení počtu CD4<sup>+</sup> buněk. Proto se hledalo řešení, jak tento počet zvýšit. Ukázalo se, že jednou z možností je podávat pacientovi k jeho dosavadní léčbě ještě dávky cytokinů, především IL-12 a IL-2. IL-12 zvyšuje proliferaci aktivovaných T-buněk a NK buněk a zvyšuje aktivitu cytotoxických T-lymfocytů. IL-2 podporuje expanzi aktivovaných T-lymfocytů a B-lymfocytů. Podle dosavadních výsledků klinické studie vzrostl počet CD4<sup>+</sup> lymfocytů a prodloužila se životnost buněk stávajících. Nevýhodou ale zůstávají vedlejší účinky obou IL, mezi něž patří horečky, bolesti hlavy, kloubů a svalů a těžká únava (Agrawal, a další 2006).

## 7. Anti-HIV vakcína

Již dvě desetiletí se vědci snaží vyvinout účinnou vakcínu proti viru HIV, která by zdravému organismu poskytovala ochranu proti této infekci a v již infikovaného organismu ideálně zapříčinila eradikaci viru nebo alespoň zastavila progresi onemocnění. Hlavní překážkou ve vývoji vakcíny je obrovská variabilita viru. Existují dva typy HIV a každý z nich má ještě své subtypy, které se navzájem antigenově liší. Velkým problémem je i rychlost, s kterou virus mutuje. Tyto mutace způsobují změny v sekvencích aminokyselin, takže vyvinutá protilátka nemusí být třeba již za měsíc účinná, protože u viru došlo k antigenní změně. Problémem je i morální aspekt věci. Vakcína by se totiž měla testovat na zdravých subjektech a existuje zde riziko, že u některého z dobrovolníků by mohlo dojít k nákaze virem HIV v důsledku zpětného aktivování viru (např. v případě použití atenuovaného viru) (Lucchese, a další 2011), (Svododa 1996).

Ideální by anti-HIV vakcína měla být hlavně bezpečná, cenově dostupná, velmi dobře tolerována a měla by vyvolat efektivní a dlouhotrvající imunitní odpověď. Ideálně by měla vyvolat tvorbu jednak neutralizačních protilátek, které by zabránili infekci přes sliznice, a také tvorbu cytotoxických T lymfocytů, které by kontrolovali šíření a množení viru. Ideálně by měla mít jak profylaktický, tak terapeutický účinek (Munier, a další 2011).

Problémem při vývoji vakcíny je i absence ideálního živočišného modelu, na kterém by se mohli jednotlivé vakcíny zkoušet. V současné době se testování nejvíce využívají makakové nebo SCID-myši. Ovšem ani u jednoho modelu se nedá vyvolat právě onemocnění AIDS (Munier, a další 2011).

### 7.1 Výzkumná studie a klinické zkoušky

Výzkum a vývoj jakékoliv vakcíny má svá pravidla a nařízení. V průběhu klinických zkoušek se musí dodržovat mezinárodní standardy bez ohledu na to, v jaké zemi studie probíhá. To znamená, že účastníci studie v Africe musí mít stejné podmínky jako účastníci studie například v Americe. Dosáhnou těchto rovnocenných podmínek je ale někdy složité. Hlavním problémem v Africe je nedostatek vhodně vyškoleného personálu, celkově špatná úroveň infrastruktury a komunikačních možností a v neposlední řadě i nevědomost a neznalost obyvatelstva pramenící z nízké nebo vůbec žádné vzdělanosti (Vian, a další 2013).

### **7.1.1 Organizace výzkumné studie a klinických zkoušek**

Obecně lze celý proces vývoje vakcíny rozdělit na výzkumnou studii a následné klinické zkoušky. Výzkumná studie zahrnuje observační studii, při které se pozoruje přirozený výskyt viru a jeho chování v organismu v průběhu času, a pre-klinické zkoušky, při kterých se zhotovená vakcína zkouší experimentálně na zvířatech. Po této fázi přichází samotné klinické testování. Klinické zkoušky lze rozdělit do čtyř fází. Ve fázi I je vakcína testována na malé skupině lidí (20 – 80) za účelem stanovení optimální dávky a vyzkoušení její bezpečnosti. Ve fázi II se počet lidí zvýší na 100 –300 a pozornost se věnuje hlavně efektivnost vakcíny a samozřejmě její bezpečnost. Ve fázi III se vakcína podává skupině čítající 1000 – 3000 lidí pro potvrzení kladných výsledků z fáze II. Fáze IV tzv. post-marketingová studie určuje rizika a výhody vakcíny a její optimální využití (Vian, a další 2013).

### **7.2.2 Právě probíhající nebo ukončené klinické zkoušky**

Bylo zahájeno více jako dvacet vakcinačních programů proti HIV, žádný ale zatím nedosáhl uspokojivého výsledku. Některé tyto programy jsou již ukončené, jiné stále běží. Nejvíce jsou zaměřeny proti subtypům B,C a A HIV-1. Snaha je ale i o vývoj vakcíny, která by zasahovala proti všem subtypům (Munier, a další 2011).

V tabulce V je uveden přehled vakcinačních programů, které se nacházejí nebo nacházeli ve fázi II a III klinického testování.



Tab. V: Anti-HIV vakcíny (Munier, a další 2011).

Fáze výzkumu	Vakcinační program	Vakcinační strategie	Zaměřeno na subtyp	Status
III	RV144	Rekombinantní vakcína Vektor: canyripox virus	B,E	Dokončeno Účinnost 31,2%
	VAX 003	Syntetická vakcína	B,E	Dokončeno Neúčinná
	VAX 004	Syntetická vakcína	B	Dokončeno Neúčinná
IIb	HVTN 502	Rekombinantní vakcína Vektor: adenovirus	B	Ukončeno z důvodu neúčinnosti
	HVTN 503	Rekombinantní vakcína Vektor: adenovirus	B	Ukončeno
	PAVE 100	Holá vakcína Plazmid DNA	A, B, C	Staženo
IIa	HTVN 205	Holá vakcína Plazmid DNA	B	Stále probíhající
	IAVI 010	Holá vakcína Plazmid DNA	A	Dokončeno
	HTVN 068	Rekombinantní vakcína Vektor: adenovirus	B	Dokončeno
II	VAC18	Syntetická vakcína	B	Dokončeno
	AVEG 201	Syntetická vakcína	B	Dokončeno
	AVEG 202	Rekombinantní vakcína Vektor: canyripox virus	B	Dokončeno
	HIVNET 026	Rekombinantní vakcína Vektor: canyripox virus	B	Dokončeno
	HTVN 203	Rekombinantní vakcína Vektor: canyripox virus	B	Dokončeno
	HTVN 204	Holá vakcína Plazmid DNA	B	Dokončeno
	HTVN 505	Holá vakcína Plazmid DNA	Multi	Stále probíhající
	IAVI A002	Rekombinantní vakcína Vektor: adenovirus	C	Dokončeno
	IAVI V002	Holá vakcína	Multi	Staženo

## 8. Diskuse

Přestože je infekce virem HIV v popředí zájmu více jak třicet let, doposud nebyla vyvinuta léčba, která by rozvoj onemocnění zcela zastavila, a pacient by byl definitivně vyléčen. Bylo zjištěno, že virus HIV má pravděpodobně prvotní ohnisko výskytu v Africe, ze které se postupně rozšířil do celého světa, a z HIV infekce se tím pádem stalo globální onemocnění postihující muže, ženy i děti všech věkových kategorií bez ohledu na rasovou příslušnost (Holmes 2009).

Co ale z viru HIV dělá zatím neporazitelného soupeře? Je to především obrovská míra variability, která v podstatě znemožňuje jakoukoliv cílenou léčbu. Sekvence aminokyselin v epitopech se mění takovou rychlostí, že zatím není v našich silách vytvořit dostatečně rychle účinnou protilátku (Harris, a další 2005). A i kdybychom ji dostatečně rychle vytvořili, nedokážeme zastavit mutaci viru. Další výhodou viru HIV je, že napadá přímo buňky imunitního systému (Cambell a Hope 2008). Pokud bychom se tedy snažili o stimulaci imunitního systému, jako je tomu při léčbě jiných onemocnění, podpoříme tím množení viru. Problém zůstává i schopnost viru tvořit perzistentní rezervoáry v organismu (např. v mozku) .

I když je virus HIV těžkým soupeřem, studiem jeho struktury a mechanismu replikace v organismu jsme dokázali vyvinout relativně účinná terapeutika, která z dříve smrtelného onemocnění vytvořila onemocnění chronické. Tato terapeutika se dělí do jednotlivých tříd a působí v různých fázích replikačního cyklu viru (Agrawal, a další 2006). Protože se ale na jednotlivé léky vytváří rezistentní kmeny, je velice důležité nepolevovat ve vývoji účinnějších a bezpečnějších léků. V dnešní době se pozornost věnuje hlavně inhibitorům vstupu (Lieberman-Blum, a další 2008). Je zde totiž myšlenka, že pokud by se zablokoval vstup viru do zatím zdravých buněk a zároveň se zničili buňky již napadené, mohlo by dojít k eradikaci viru z organismu. Pro tuto myšlenku ale platí, že infekce virem HIV by musela být diagnostikovaná velice brzo po nákaze, tedy ještě před vytvořením rezervoáru v organismu.

Jak se ukázalo, včasné odhalení nákazy virem HIV je klíčovým faktorem v úspěšnosti léčby. Dokládají to dva případy vyléčených novorozenců, kteří se narodili HIV pozitivním matkám, které během těhotenství neužívali doporučenou léčbu. Lékaři ale poukazují na to, že svou roli v těchto případech hraje i nevyzrálost imunitního systému novorozenců a nedá se tedy s určitostí tvrdit, že stejný postup zabere i v případě dospělého

pacienta (Persaud a Luzuriaga 2014). Přesto je to ale velký úspěch a dává naději ještě nenarozeným dětem, jejich matky z jakéhokoliv důvodu neužívají během těhotenství vhodná terapeutika.

Velká pozornost je věnována i případu dvou mužů, kteří trpěli infekcí HIV, a po transplantaci kostní dřeně došlo k vymizení viru z organismu. Lékaři nedokážou s určitostí objasnit, co vedlo k vymizení viru z organismu, ale předpokládá se, že svou roli sehrála chemoterapie a užívání imunosupresiv po transplantaci (Zou, a další 2013). Jestli budou moct být tito pacienti označeni za definitivně vyléčené, ukáže pouze čas. Přesto se jedná o úspěch a poskytuje nám jiný úhel pohledu.

Úsilí vědců se ale nezaměřuje pouze na vývoj terapeutik, ale i na vytvoření vakcíny. Nejnovější odhady tvrdí, že účinná vakcína bude představena roku 2015. Přestože pokroky přichází každý den, musíme brát tento odhad s rezervou. Při vývoji vakcíny se totiž stále potýkáme se zatím nepřekonatelnými problémy, jedná se hlavně o velmi malou účinnost (Munier, a další 2011). Průlom by mohl přijít s úplným odhalením mechanismu, jakým se imunitní systém jedinců s přirozenou imunitou proti HIV brání útokům viru a využitím tohoto poznatku při konstrukci vakcíny. Musíme doufat, že se to jednou podaří a celosvětová hrozba bude jednou pro vždy zažehnána.

## 9. Závěr

Odhaduje se, že na celém světě je nakaženo virem HIV téměř 36 milionů lidí. Toto číslo je alarmující, vzhledem k tomu, že na tuto infekci neexistuje absolutní léčba. Alarmující je i počet dětí, které jsou tímto virem doposud postiženy, a stále jich přibývá. Nemoc AIDS je spolu s rakovinou problémem lidstva, který je nutno řešit.

V současné době je na trhu více jak dvacet schválených antiretrovirových terapeutik, které alespoň HIV-pozitivním pacientům zkvalitňují a prodlužují život. Většinou se přistupuje ke kombinaci několika z nich. Problémem ale je, že dostupnost těchto léků není v různých regionech světa srovnatelná. Například v Africe má k moderním terapeutikům přístup jen malé procento nakažených.

Protože i stávající léky mají svá úskalí, je snaha vyvinout nová, modernější terapeutika, která by byla účinná proti rezistentním i multi rezistentním kmenům viru HIV a zároveň měla minimum nežádoucích účinků. Nemalé úsilí i finanční obnosy jsou věnovány také na vývoj vakcíny proti viru HIV. V této oblasti ovšem nebyl zatím zaznamenán výraznější úspěch.

Protože infekce virem HIV je přenášena hlavně pohlavním stykem, jediným zatím účinným mechanismem obrany je provozování bezpečného sexu za použití prezervativu. Tento fakt by si podle mého názoru měl uvědomit každý sexuálně aktivní člověk, protože v případě nákazy tímto virem se nejedná pouze o jeho zdraví, ale i o zdraví jeho intimních partnerů/partnerek. Nemalé úsilí by mělo být věnováno i osvětě mezi mladými, dosud sexuálně nezkušenými lidmi.

## 10. Seznam použité literatury

Agrawal, L., Xihua L., Qingwen J., a Ghalib A.. „Anti-HIV Therapy: Current and Future Direction.“ *Current Pharmaceutical Design*, 2006: 12(16): 2031-2055.

Armstrong, A. F., a Valliant J. F.. „The bioinorganic and medicinal chemistry of carboranes: from new drug discovery to molecular imaging and therapy.“ *Dalton Transactions*, 2007: 38: 4240-4250.

Ashkenazi A., Wexler-Cohen Y., a Shai Y.. „Multifeceted action of Fuzeon as virus-cell membrane fusion inhibitor.“ *Biochimica et Biophysica Acta*, 2011: 1808 (10): 2352-2358.

Ballantyne A. D., a Perry C. M.. „Dolutegravir: First Global Approval.“ *Drugs*, 2013: 73(14): 1627-1637.

Bednář, M, Fraňková V., Schindler J., Souček A., a Vávra J.. „Lékařská mikrobiologie.“ 421-485. Praha: Marvil, 1999.

Berkhout B., Eggink D., a Sanders R. W.. „Is there a future for antiviral fusion inhibitors?“ *Current Opinion in Virology*, 2012: 2(1): 50-59.

Cahn, P., a Sued O.. „Raltegravir: a new antiretroviral class for salvage therapy.“ *Lancet.*, 2007: 369(9569): 1235-1236.

Cambell, E. M., a Hope T. J.. „Live cell imaging of the HIV-1 life cycle.“ *Trends in Microbiology*, 2008: 16(12): 580-587.

Carter, N.J., a Keating G.M.. „Maraviroc.“ *Drugs*, 2007: 67(15): 2277-2288.

Caseiro M. M., a další. „Vicriviroc plus optimized background therapy for treatment-experienced subjects with CCR5 HIV-1 infection: final results of two randomized phase III trials.“ *The Journal of Infection*, 2012: 65(4): 326-335.

Cihlář T., a Rya A. S.. „Nucleoside and nucleotide HIV reverse transcriptase inhibitors: 25 years after zidovudine.“ *Antiviral Research*, 2010: 58(1): 39-58.

Croxtall J. D., a Keam S. J.. „Raltegravir: a review of its use in the management of HIV infection in treatment-experienced patients.“ *Drugs*, 2009: 69(8): 1059-1075.

Dandache S., a další. „In vitro antiviral activity and cross-resistance profile of PL-100, a novel protease inhibitor of human immunodeficiency virus type 1.“ *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2007: 51(11): 4036-4043.

Desai M., Iyer G., a Dikshit R.K.. „Antiretroviral drugs: critical issues and recent advances.“ *Indian Journal of Pharmacology*, 2012: 44(3): 288-298.

Di Santo R.. „Inhibiting the HIV Integration Process: Past, Present, and the Future.“ *Journal of Medicinal Chemistry*, 2014: 57(3): 539-566.

do Canto A. M. T. M., Carvalho A. J. P., Ramalho J. P. P., a Loura L. M. S.. „Molecular Dynamics Simulation of HIV Fusion Inhibitor T-1249: Insights on Peptide-Lipid Interaction.“ *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, 2012: 1-14. [Epub ahead of print]

do Canto, A. M. T. M., Carvalho A. J. P., Ramalho J. P. P., a Loura L. M. S.. „T-20 and T-1249 HIV fusion inhibitors' structure and conformation in solution: a molecular dynamics study.“ *Journal of Peptide Science*, 2007: 14(4): 442-447.

Fessel W. J., a další. „The efficacy of an anti-CD4 monoclonal antibody for HIV-1 treatment.“ *Antiviral Research*, 2011: 92(3): 484-487.

Fujioka T. Kashiwada Y., a další. „Anti-AIDS agents, 11. Betulinic acid and platanic acid as anti-HIV principles from *Syzygium claviflorum*, and the anti-HIV activity of structurally related triterpenoids.“ *Journal of Natural Product*, 1994: 57(2): 243-247.

Furman P.A., a další. „Phosphorylation of 3'-azido-3'-deoxythymidine and selective interaction of the 5'-triphosphate with human immunodeficiency virus reverse transcriptase.“ *Proceeding of the National Academy of Science of the United States of America*, 1986: 83(21): 8333-8337.

Ginzburg H. M., Weiss S. H., a MacDonald M. G.. „HTLV-III Exposure among Drug Users.“ *Cancer Research*, 1985: 45(9): 4605-4608.

Goto T., Nakai M., a Ikuta K.. „The Life-cycle of Human Immunodeficiency Virus Type 1.“ *Micron*, 1998: 29(2-3): 123-138.

Gottlieb M.S., a další. „Pneumocystis carinii pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency.“ *The New England Journal of Medicine*, 1981: 305(24): 1425-1431.

Gu Z., a další. „In vitro antiretroviral activity and in vitro toxicity profile of SPD754, a new deoxycytidine nucleoside reverse transcriptase inhibitor for treatment of human immunodeficiency virus infection.“ *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2006: 50(2): 625-631.

Harris K.S., Brabant W., Styrchak S., Gall A., a Daifuku R.. „KP-1212/1461, a nucleoside designed for the treatment of HIV by viral mutagenesis.“ *Antiviral Research*, 2005: 67(1): 1-9.

Hazen R., a další. „In vitro antiviral activity of the novel, tyrosyl-based human immunodeficiency virus (HIV) type 1 protease inhibitor brecanavir (GW640385) in combination with other antiretrovirals and against a panel of protease inhibitor-resistant HIV.“ *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2007: 51(9): 3147-3154.

Henrich T. J., a Kuritzkes D. R.. „HIV-1 entry inhibitors: recent development and clinical use.“ *Current Opinion in Virology*, 2013: 3(1): 51-57.

Holmes, Edward C. „The Evolution and Emergence of RNA Viruses.“ 167-180. Oxford: Oxford University Press, 2009.

Johnson L. B., a Saravolatz L. D.. „The Quad Pill, a Once-Daily Combination Therapy for HIV Infection.“ *Clinical Infectious Diseases*, 2014: 58(1): 93-98.

Lieberman-Blum S. S., Fung H. B., a Bandres J. C.. „Maraviroc: A CCR5-Receptor Antagonist for the Treatment of HIV-1 Infection.“ *Clinical Therapeutics*, 2008: 30(7): 1228-1250.

Lucchese G., Stufano A., a Kanduc D.. „Searching for an effective, safe and universal anti-HIV vaccine: Finding the answer in just one short peptide.“ *Self/Nonself*, 2011: 2(1): 49-54.

Marcus R., Kay K., a Mann J. M.. „Transmission of human immunodeficiency virus (HIV) in health-care setting worldwide.“ *Bulletin of the World Health Organ*, 1989: 67(5): 577-582.

Marier J.F., Trinh M., Pheng L.H., Palleja S.M., a Martin D.E.. „Pharmacokinetics and pharmacodynamics of TBR-652, a novel CCR5 antagonist, in HIV-1-infected, antiretroviral treatment-experienced, CCR5 antagonist-naïve patients.“ *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2011: 55(6): 2768-2774.

Masuda T. „Non-Enzymatic Functions of Retroviral Integrase: The Next Target for Novel Anti-HIV Drug Development.“ *Frontiers in Microbiology*, 2011: 2(210): 1-5.

Munier C. M. L., Andersen Ch. R., a Kelleher A. D.. „HIV Vaccine.“ *Drugs*, 2011: 71(4): 387-414.

Murphy R.L., a další. „Antiviral activity and tolerability of amdoxovir with zidovudine in a randomized double-blind placebo-controlled study in HIV-1-infected individuals.“ *Antiviral Therapy*, 2010: 15(2): 185-192.

Nichols W.G., a další. „Hepatotoxicity observed in clinical trials of aplaviroc (GW873140).“ *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2008: 52(3): 858-865.

Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. „Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents.“ *AIDSinfo*. 2011. <http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/adultandadolescentgl.pdf> (přístup získán 31. Březen 2014).

Patyar S., Prakash A., a Medhi B.. „Dual inhibition: a novel promising pharmacological approach for different disease conditions.“ *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2011: 63(4): 459-471.

Persaud D., a Luzuriaga K.. „Absence of HIV-1 after treatment cessation in an onfant.“ *The New England Journal of Medicine*, 2014: 370(7): 678.

Phung B. C., a Yeni P.. „Darunavir: an effective protease inhibitor for HIV-infected patients.“ *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 2011: 9(6): 631-643.

Pokorná J., Machala I., Řezáčová P, a Konvalinka J. „Current and Novel Inhibitors of HIV Protease.“ *Viruses*, 2009: 1(3): 1209-1239.

Rajčáni J., a Čiampor F.. „Lekárska Virologia.“ 367-376. Bratislava: Slovenská akadémia vied, 2006.

Rawson J. M., a další. „5,6-Dihydro-5-aza-2'-deoxycytidine potentiates zhe anti-HIV-1 activity of ribonucleotide reductase inhibitors.“ *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2013: 21(22): 7222-7228.

Roberts N. A., a další. „Rational design of peptide-based HIV proteinase inhibitors.“ *Science*, 1990: 248(4953): 358-361.

Sayana S., a Khanlou H.. „Raltegravir: the first in a new class of integrase inhibitors for the treatment of HIV.“ *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 2008: 6(4): 419-426.

Sedláček D., a další. „Komplexní postup antiretrovirové léčby osob infikovaných virem lidské imunodeficiency (HIV) v České republice.“ *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství*, 2007: 13(1): 28-34.

Schafer J. J., a Short W. R.. „Ralpivirine, a novel non-nucleoside reverse transkriptase inhibitor for the management of HIV-1 infection: a systematic review.“ *Antiviral Therapy*, 2012: 17(8): 1495-1502.

Skokanová V., a Staňková M.. „Historie a perspektivy antiretrovirové terapie infekce HIV/AIDS.“ *Remedia*, 2007: 17(2): 175-180.

Sluis-Cremer N., Temiz A. N., a Ivet B.. „Conformational Changes in HIV-1 Reverse Transcriptase Induced by Nonnucleoside Reverse Transkriptase Inhibitor Binding.“ *Current HIV Research*, 2004: 2(4): 323-332.

Staňková M.. „Novinky v antiretrovirové terapii HIV/AIDS infekce.“ *Interní medicína pro praxi*, 2008: 10(11): 498-501.

SÚKL. „Jak probíhá klinické hodnocení léků?“ *O léčích*.  
<http://www.olecich.cz/encyklopedie/jak-probiha-klinicke-hodnoceni-leku> (přístup získán 18. Duben 2014).

SÚKL. „Jaké jsou fáze testování?“ *O léčích*.  
<http://www.olecich.cz/encyklopedie/jake-jsou-faze-testovani-1> (přístup získán 18. Duben 2014).

Svododa J.. „Imunologie v klinické praxi I.“ 25-141. Praha: Marvil, 1996.

Šustková L.. *Léčba HIV/AIDS*. Prosinec 2011.  
[http://www.olecich.cz/uploads/infoLISTY/infoLISTY\\_prosinec.pdf](http://www.olecich.cz/uploads/infoLISTY/infoLISTY_prosinec.pdf) (přístup získán 17. Březen 2014).



U.S. Food and Drug Administration. „FDA approves new drug to treat HIV infection.“ 12. August 2013.

<http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm364744.htm> (přístup získán 17. Duben 2014).

Usach I., Melis V., a Peris J. E.. „Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors: a review on pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety and tolerability.“ *Journal of the International AIDS Society*, 2013: 16(1): 1-14.

Vian T., Koseki S., Feeley F., a Beard J.. „Strengthening capacity for AIDS vaccine research: analysis of the Pfizer Global Health Fellows Program and the International AIDS Vaccine Initiative.“ *BMC Health Services Research*, 2013: 13(1): 378.

Waki K., Durell S. R., Soheilian F., Nagashima K., Butler S. L., a Freed E. O.. „Structural and Functional Insight into the HIV-1 Maturation Inhibitor Binding Pocket.“ *PLOS Pathogens*, 2012: 8(11): e1002997.

Wang Z., Bennett E. M., Wilson D. J., Salomon C., a Vince R.. „Rationally designed dual inhibitors of HIV reverse transcriptase and integrase.“ *Journal of Medicinal Chemistry*, 2007: 50(15): 3416-3419.

WHO. *10 facts on HIV/AIDS*. Listopad 2013.

<http://www.who.int/features/factfiles/hiv/facts/en/index2.html> (přístup získán 7. Březen 2014).

Williams I.G. „Enfuvirtide (Fuzeon): the first fusion inhibitor.“ *International Journal of Clinical Practice*, 2003: 57(10): 890-897.

Ziegler J. B., Cooper D. A., a Gold J.. „Postnatal transmission of AIDS-associated retrovirus from mother to infant.“ *Lancet*, 1985: 1(8434): 896-898.

Zou S., Glynn S., Kuritzkes D., Shah M., Cook N., Berliner N.. „Hematopoietic cell transplantation and HIV cure: where we are and what next?“ *Blood*, 2013: 122(18): 3111-3115.

## Internetové zdroje obrázků

- [1] – <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Abacavir.svg>
- [2] – <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Didanosine2.png>
- [3] – [http://en.wikipedia.org/wiki/File:Emtricitabine\\_skeletal.svg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Emtricitabine_skeletal.svg)
- [4] – [http://en.wikipedia.org/wiki/File:Lamivudine\\_structure.svg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Lamivudine_structure.svg)
- [5] – <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Stavudin.svg>
- [6] – <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Tenofovir.svg>
- [7] – <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Zidovudine.svg>
- [8] – <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Nevirapine.svg>
- [9] – <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Delavirdine.svg>
- [10] – [http://en.wikipedia.org/wiki/File:Efavirenz\\_skeletal.svg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Efavirenz_skeletal.svg)
- [11] – <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Etravirine2DCSD.svg>
- [12] – <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Rilpivirine.svg>
- [13] – <http://www.answers.com/topic/enfuvirtide>
- [14] – [http://en.wikipedia.org/wiki/File:Elvitegravir\\_structure.svg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Elvitegravir_structure.svg)
- [15] – <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Apricitabine.svg>
- [16] – <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Amdoxovir.png>
- [17] – <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Racivir.svg>
- [18] – <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Cenicriviroc.svg>
- [19] – <http://www.biomedcentral.com/1752-0509/3/25/figure/F1?highres=y>