



UPPSALA  
UNIVERSITET

# HIV och effekterna av proteasinhistorer

Sara Karlson

---

Independent Project in Biology  
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, höstterminen 2010  
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

# HIV och effekterna av proteasinhäbitorer

Sara Karlson

Självständigt arbete i biologi 2010

## Sammandrag

I början av 80-talet gjordes en ny upptäckt som skakade om hela världen. HIV och AIDS blev två stora begrepp i forskningsvärlden och fortfarande 30 år senare fortsätter HIV att förbluffa oss. HIV tillhör gruppen retrovirus och består bland annat av ett glykoproteinhölje och enzymer som proteas, integras och omvänt transkriptas. Idag kämpar man fortfarande med att utveckla ett botemedel.

Integrering av virus RNA med värdens DNA försvårar för vårt immunförsvar att hitta viruset och det kan dröja många år innan upptäckt.

Fästandet av dess 120gp glykoprotein till våra celler är det som triggar igång en rad olika händelser som till slut leder till T-cellers apoptos och försvagning av vårt immunförsvar. En HIV infektion kan delas in i fem olika faser beroende på symptom. Innan bromsmedicinernas utveckling och framgång var en HIV infektion dödlig och gav inte de drabbade så många år att leva. Idag, tack vare bromsmedicinerna, kan många drabbade människor leva ett längre och mer normalt liv och påvisar små tecken på sjukdomen. Proteasinhäbitorer är en av bromsmedicinerna som har fått stort framgång och används väldigt flitigt idag. Genom att proteaset häbiteras, ett enzym som sönderdelar proteiner, kan inte de nya viruspartiklarna bli aktiva och därför inte farliga för värden. Proteasinhäbitorer är dessutom en huvudkomponent när man behandlar folk med en kombination av bromsmediciner som kallas för HAART.

Behandling med proteasinhäbitorer är tyvärr ingen dans på rosor, många komplikationer kan uppstå vid användning av proteasinhäbitorer. Från att öka i giftighetsgrad genom att ändra doserna och koncentrationerna till utveckling av insulinresistens och ateroskleros. Resistens är ett annat stort problem vid användning av någon av bromsmedicinerna. Virusets omvända transkriptas har ingen korrekturläsning och därför kan många mutationer uppstå som förändrar de nya virusen från de ursprungliga. Ökad kunskap om viruset och dess livscykel behövs för att kunna skapa nya och förbättrande mediciner. Även spridning av kunskap till bland annat tredje världen krävs för att stoppa nya epidemier.

## Inledning

*Humant Immunbristvirus* är det fullständiga benämningen på HIV, Idag lever 33 miljoner människor med smittan. De första patienterna som drabbades av AIDS eller *Acquired Immune Deficiency Syndrome* upptäcktes i USA i början av 80-talet. Det är vid den tidpunkten som HIV och AIDS fick sina namn. Vid senare studier visade det sig att mystiska sjukdomar som folk drabbades av några decennier tidigare hade samma symptom som AIDS. HIV och AIDS har idag spritt sig runt hela världen, majoriteten sjuka är dock begränsade till Afrika, i länderna söder om Sahara (Gisslén 2008, Smittskyddsinstitutet 2010).

HIV är inte vilket virus som helst, det är ett så kallat retrovirus, och ännu idag har man inte hittat ett botemedel till det. Svårigheten att framställa ett botemedel beror

delvis på att RNA:t hos HIV förvaras i ett proteinhölje som består av glykoproteiner och gör viruset svårupptäckt. Dessa glykoproteiner används för att viruset ska kunna fästa sig på cellen men även för att kunna fusera med cellmembranet. Ett annat karakteristisk egenskap för HIV är att det lagras i bärarens arvs massa (Smittskyddsinstitutet 2010, Gisslén 2008).

Även om HIV är en livslång infektion som kan leda till AIDS är smittovägarna väldigt få och man kan inte bli infekterad vid sociala vardagliga händelser. Oskyddat samlag, kontakt med kroppsvätskor så som blod, sperma, bröstmjölk och slidsekret samt överföring från mor till barn vid graviditet, kan överföra smittan (Gisslén 2008, Smittskyddsinstitutet 2010).

Idag har man utvecklat en rad olika bromsmediciner som verkar vid olika tillfällen i virusets livscykel och på så sätt bromsar sjukdomsförloppet. Detta gör att patienterna kan leva ett någorlunda normalt liv om medicinerna intas regelbundet resten av patientens liv.

Den här artikeln kommer ta upp grundfakta om viruset, effekterna av proteasinhämmare, för- och nackdelar, samt resistensutveckling. Det jag har som fråga är hur proteasinhämmare verkar. Är de verkligen verksamma bromsmediciner trots resistensutveckling och bieffekter och vad krävs det för att göra dem mer effektiva?

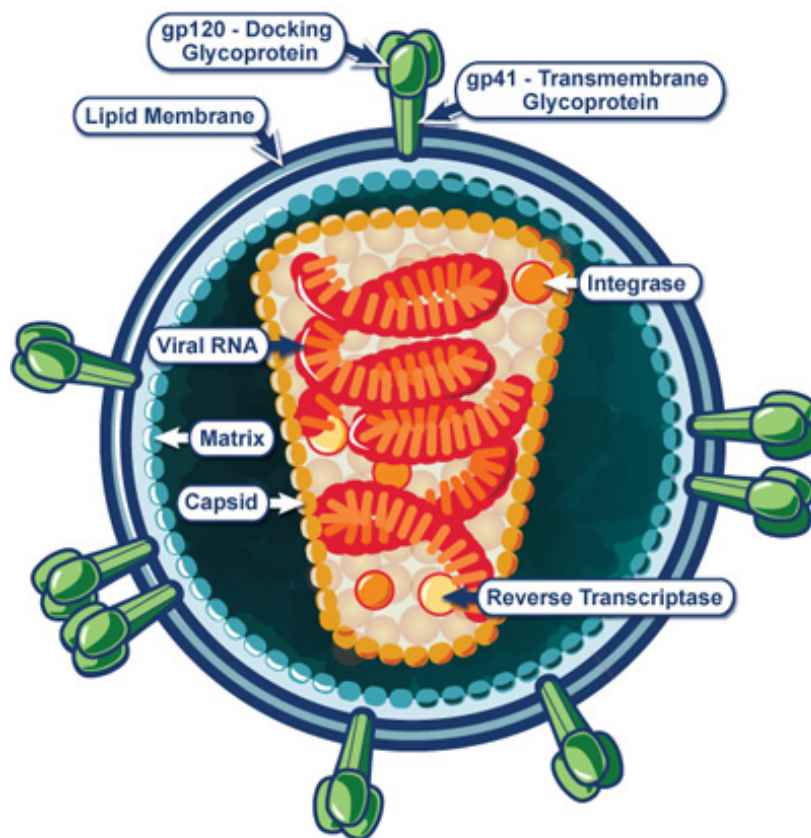
## HIV

Som nämnts tidigare tillhör HIV gruppen retrovirus, en grupp som tidigare var känd i djurvärlden med namnet SIV och var vanligt främst bland apor (Håkansson & Sandström 1994).

Det speciella med retrovirus är att de använder sig av omvänd transkription. Istället för att DNA översätts till enkelsträngat RNA, mRNA, översätts ett liknande virus mRNA till dubbelsträngat DNA och på så sätt kan det kopiera in sig i bärarens kromosomer (Håkansson & Sandström 1994).

Även om viruset är väldigt motståndskraftigt mot värdens immunförsvar är dess struktur och sammansättning inte komplicerade. Alla levande organismer på jorden har en arvs massa och virus, även om de ej kan klassas som levande organismer, är inga undantag. Skillnaden är att istället för att ha dubbelsträngat DNA består det av två enkelsträngande RNA-molekyler samt omvänt transkriptas, ett enzym som transkriberar RNA-molekylerna till DNA-molekyler. Arvs massan är skyddad av ett kärnprotein som i sin tur är omgivet av ett matrixprotein. Förutom promotor ingår två viktiga enzymer också i sammansättningen, nukleas, ett proteinklyvande enzym, och integras som har uppgiften att integrera virus DNA med DNA från värden (National Institute of Allergy and Infectious Diseases 2010).

Denna kärnstruktur omges, efter att infektionen har ägt rum, av ett cellmembran som kommer från värdcellen och i vilket ett glykoprotein, gp 120, är fäst som bär virusets receptorer (Håkansson & Sandström 1994). Dessa glykoproteiner är organiserade som trimeriska nålformade utskott på virusets yta. Spikarna fäster sig på ytan med hjälp av gp41 glykoproteinet (figur 1) (Kwong *et al.* 1998).



Figur 1. Detaljerad bild över HIV-1 och dess beståndsdelar (Från National Institute of Allergy and Infectious Diseases, 2010).

Det som gör viruset så speciellt är dess gp120 glykoprotein som är ett höljeprotein. Glykoproteinetns struktur, sammansättning och glykohöljet runt om gör det föränderligt och svårare för våra vita blodkroppar att se det som ett hot. Proteinets struktur är hjärtformad med disulfid bryggor i kärnan (Kwong *et al.* 1998).

HIV försvagar och förstör vårt immunförsvar och cellerna som attackeras är T-hjälparcellerna och makrofager, kärnan i vårt immunförsvar. Produktion av virus hos kontaminerade makrofager sker genom avknoppning till interna vesiklar vilket försvårar för immunförsvaret att upptäcka infektionen.

Virusen som attackerar T-cellerna är snabbreplikerande varianter som tenderar att minska antalet T-celler i vår kropp genom celledöd (Håkansson & Sandström 1994). HIV infektionen karakteriseras av CD4+T-celler och lymfocytens celledöd men det är även hos CD8 celler och B celler som man ser en påverkan av viruset. Även om de själva inte blir infekterade som CD4+ T-celler får de ett förkortat liv. Detta har man påvisat genom att ha sett gradvis förkortning av telomererna hos CD8 celler och B celler (Galvani 2005). Både CD4 och CD8 proteiner agerar som co-receptorer till T-cellernas receptorer. CD8 proteiner kan dessutom hittas på andra celler så som nervcellerna (Galvani 2005).

Det finns två typer av HIV som vi kan bli smittade av, HIV-1 och HIV-2. HIV-2 är den minst vanliga och den minst smittsamma, den sträcker sig endast till länderna i Västafrika. HIV-1 är mer patogen och har spritt sig till alla världsdelar (Reeves & Doms 2002).

Dessa symptom är även annorlunda än symptomen hos HIV-1 patienter samt att HIV-2 har en längre symptomfri period (Gisslén 2008, Smittskyddsinstitutet 2010). Dessa två skiljer sig åt bland annat mellan två gener, HIV-1 kodar för en *vpu*-gen medans HIV-2 kodar för en *vpx*-gen. *Vpx* är viktigt för HIV-2 replikation då den ökar integration av virus RNA i värdcellens genom. Detta är viktigt för att HIV-2 ska kunna sprida sig i kroppen (Mueller *et al.* 2004). *Vpu* å andra sidan är inte viktigt för HIV-1 replikation. Den ökar dock frisläppning av viruspartiklar (Lida S *et al.* 1999). Jämförelsevis med HIV-1 är HIV-2 mer känslig för bromsmediciner och utvecklar väldigt sällan resistens mot medicinerna. Detta ökar deras effektivitet mot viruset och kontrollen av dess spridning och replikation (Reeves & Doms 2002). Även bindningsställen och proteiner kan vara olika mellan dessa två typer. HIV-1 är beroende av både bindning till CD4 och co-receptorer. HIV-2 å andra sidan kan infektera CD4-oberoende, de kan även infektera CD4<sup>-</sup> celler (Reeves & Doms 2002). Enligt Reeves & Doms (2002) ska HIV-2 även göra en immun mot HIV-1 infektioner, resultat som har visats både *in vitro* och *in vivo*. Det är också väldigt få individer med HIV-2 som utvecklar AIDS, mestadels beror det på att HIV-2 är mer kontrollerande, samt inte lika mutagen som HIV-1 (Reeves & Doms 2002).

### **Virusets replikationscykel**

Bromsmediciner har utvecklats genom förståelse av virusets livscykel, på så sätt har man kunnat stoppa virusets utveckling och replikation genom att angripa viruset vid olika faser under dess livscykel (figur 2).

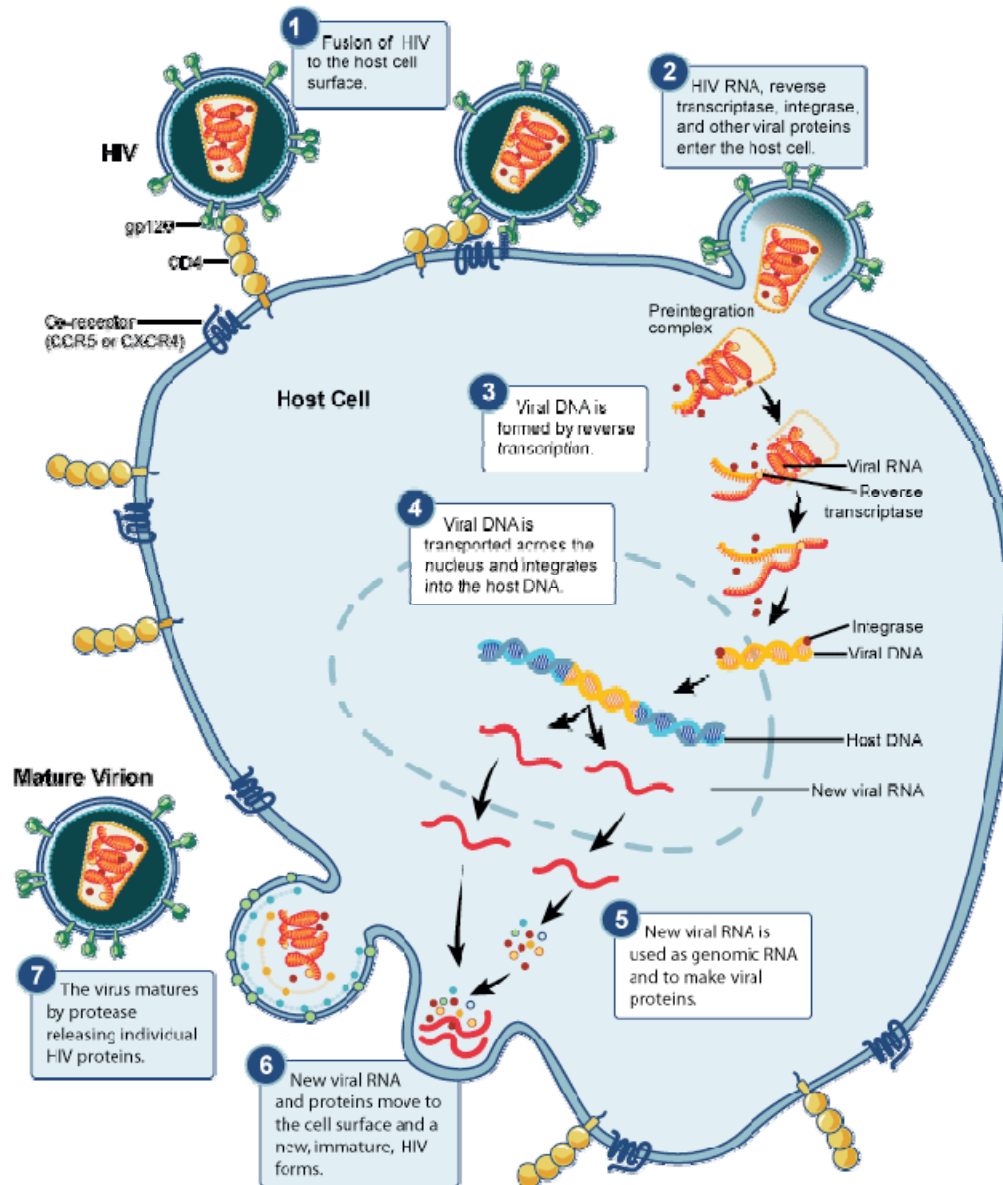
Viruset känner igen cellen som den ska fästa sig till med hjälp av receptorer på cellens yta. Cellerna som först angrips är T-celler och lymfocyter, de har en igenkänningsmolekyl, CD4, som är själva fästpunkten för virusets gp120 glykoprotein och fungerar som den primära receptorn. Även om de binder till varandra både med van der Waals bindningar och vätebindningar är passformen mellan CD4 och gp120 dålig (Kwong *et al.* 1998).

Denna sammanfogning leder till utseendeförändringar på virusets glykoprotein som i sin tur ger upphov till nya bindningsställen för specifika kemokinreceptorer på världens membran som fungerar som sekundära receptorer för viruset att binda till (Kwong *et al.* 1998). Bindning av glykoproteinet till kemokinreceptorer ger ytterligare strukturförändringar.

Genom omvänd transkription översätts enkelsträngat virus RNA till dubbelsträngade cirkulära DNA-molekyler. Virus har inga korrekturläsande funktioner som kan rätta till misstag, på grund av detta kan fel baser sättas in som ökar mutationsfrekvensen och ger upphov till nya varianter av ursprungsformen.

Sammanmältningen med provirus-molekylerna och värdcellens DNA som sker kort därefter gör infektionen livslång genom att alla smittade celler inte dör även när virustillverkningen pågår. När HIV infekterar cellerna förblir den gömd för vårt immunsystem genom att gömma sig i cytoplasman eller genom integration med världens kromosomer (National Institute of Allergy and Infectious Diseases 2010). Viruset är dock fortfarande aktivt genom att produktion av viruspartiklar sker samt att det förstör våra T-celler. I början är mängden viruspartiklar få och immunförsvaret förmår kontrollera dem. Vid en allvarligare infektion eller en sjukdom triggas värdcellens aktivitet igång, immunförsvaret, och detta ökar virusets aktivitet som i sin tur förstör värdcellen och skapar fler omogna viruspartiklar som transporteras till cellens ytmembran för att avknoppas. Mognaden av dessa partiklar sker med hjälp av

ett enzym som kallas proteas. Dess uppgift är att dela polyproteiner som viruspartiklarna använder sig av för att skapa egna proteiner. När de mognar är de redo att infektera andra friska T-celler genom att binda till CD4 molekyler, i och med att virusen har ett hölje av värdcellens membran anses de inte som ett hot för T-cellerna förrän det är försent. De kan även blockera T-cellernas receptorer så att de inte kan binda till antigener. (Håkansson & Sandström 1994).



Figur 2. Översiktlig bild på virusets replikationscykel (Från National Institute of Allergy and Infectious Diseases, 2010).

### De fem faserna

HIV-infektion kan då delas in i fem faser, inkubationstid, en akut sjukdomsbild, serokonversion, symptomfria fasen och en kronisk fas. Från tidpunkten då personen blir smittad med HIV tills AIDS utvecklas i sista fasen med en rad olika sjukdomar (Håkansson & Sandström 1994).

*Inkubationstiden* är tiden mellan infektionstidpunkten till starten av påvisande symptom på sjukdomen. Inkubationstiden är vanligtvis mellan 4-5 år, studier påvisar dock att det finns fall då det kan dröja 8-10 år om inte längre (Anderson & May 1987).

När man har kommit in i *akut sjukdom* börjar de första symptomen på den primära HIV-infektionen visa sig. Det är även då kroppen börjar utveckla antikroppar mot viruset. Symptom så som halsont, diarré, muskelvärk, och liknade är vanliga under den perioden. En tredjedel eller hälften av patienterna påvisar sådana symptom och det pågår i minst en vecka. Under den tiden når virusen lymfnoderna, produktion av nya viruspartiklar sätts igång och halten T-hjälparceller börjar sjunka (Håkansson & Sandström 1994, The Body 2008).

*Serokonversion* är en mellanfas då kroppen börjar producera vita blodkroppar och ökar sin resistens mot viruset. Testar man sig då för HIV kan testet visa sig negativt även om man är smittad (The Body 2008).

Därefter kommer man till en fas som kallas *symptomfri*, då symptomen på infektionen börjar minska och man tror att man är frisk, viruset är dock fortfarande aktivt och fortsätter försvaga vårt immunförsvar. Under den tiden kan man ovetande smitta folk med HIV (The Body 2008).

Femte och sista fasen är *den kroniska fasen* som ofta relateras till sjukdomen AIDS. Dock behöver inga symptom påvisas inom loppet av många år under denna period. Små avbrytningar uppkommer emellertid med symptom såsom viktminskning, diarré, feber och trötthet.

Därefter kan flera virusinfektioner bryta ut men även bakteriella infektioner och svampinfektioner uppträder (Håkansson & Sandström 1994, The Body 2008).

Även om HIV sprids till alla cellerna i kroppen visar den sig inte i hjärncellerna förrän sent under sjukdomsförloppet. Demens och skador i hjärnstammen är vanliga tecken på en HIV infektion.

De vanligaste symptomen som dyker upp regelbundet är hud och slemhinneutslag, sådana som även personer utan HIV kan få, det kan röra sig om herpesutslag, acne, eksem, psoriasis och bland annat förändringar i naglarna (Håkansson & Sandström 1994). När en person utvecklar AIDS från en HIV infektion kan CD4+ T-celler sjunka till 50 stycken i hela kroppen. Ett drastiskt fall om man jämför med en frisk person som kan ha upp till 1200 CD4+ T-celler per kubikmillimeter av blod (National Institute of Allergy and Infectious Diseases 2010).

Symptom uppkommer mer eller mindre med jämna mellanrum, de är dock väldigt svaga i sig för att försäkra en att man är smittad med HIV. Ett test som intygar faktumet att man är HIV-positiv kräver serologisk examination, det betyder att man undersöker blodserumet för antikroppar till HIV-viruset (Anderson & May 1987). Dessutom är man inte säker på att alla med HIV-infektion utvecklar AIDS längre fram. Det skiljer sig mellan olika personer hur snabbt infektionen sprider sig samt vilka symptom man kommer utveckla. Det har funnits människor som har blivit HIV infekterade med inte utvecklat AIDS (Anderson & May 1987). Enligt resultat av beräkningar gjorda av Anderson och May, 1987, där förhållandet av seropositiva och frekvensen av AIDS utveckling som en funktion av tiden från startpunkten då infektionen skedde, visar det att endast 30 % utvecklar AIDS. Dessa beräkningar är gjorda på en genomsnittlig inkubationstid på fem år.

För att se i vilken fas en person befinner sig i mäter man antalet CD4 celler i kroppen. Ett lågt antal celler visar att man befinner sig i ett allvarigare skede av sjukdomen (Griffiths *et al.* 2006).

## **Bromsmediciner**

När man upptäckte HIV i början av 80-talet och insåg faktumet att den ledde till AIDS hade ännu inga mediciner utvecklats och HIV infektioner ansågs som dödliga. Med tiden utvecklade man fram bromsmediciner. Även om de inte eliminerar viruset från kroppen helt och hållet kan de bromsa sjukdomsförloppet genom att verka vid olika faser på virusets livscykel (National Institute of Allergy and Infectious Diseases 2010).

Idag har man forskat fram 31 olika bromsmediciner som är godkända och används vid HIV infektioner. Dessa har blivit indelade i fyra stora klasser, där varje klass verkar på olika enzymer och olika faser i virusets livscykel.

De fyra stora klasserna är proteasinhämmare, integrasinhämmare, fusionhämmare och inhibitorer av omvänt transkriptas (National Institute of Allergy and Infectious Diseases 2010). Använder man drogerna inkorrekt kan det leda till virusresistens (Deeks *et al.* 1997).

Vid användning av kombinerande bromsmediciner använder man ordet HAART, som står för Highly Active Antiretroviral Therapy eller ART som står för Antiretroviral Therapy. De mest flitigt använda medicinerna är omvänt transkriptas och proteasinhämmare (Dulivand 1999). Denna metod används för att öka en patients CD4+ T-celler och resistens mot infektioner. En metod som har varit väldigt effektiv och som har förändrat infektionens utfall (Alemayehu *et al.* 2009). Vid dess introduktion och användningen i mitten av 90-talet har dödligheten, orsakad av HIV och AIDS, minskat med en femtedel (Mocroft & Lundgren 2004). Även så har nackdelar uppkommit, bland annat resistens mot bromsmedicinerna och att medicinerna kan påverka patienterna negativt genom att öka uppkomsten av andra sjukdomar. Några har visat sig vara giftiga för kroppen vid ökad dos eller genom interaktioner mellan de olika bromsmedicinerna (Mocroft & Lundgren 2004). Med ökad kunskap om viruset har bromsmedicinerna effektiviserats och gjort HAART mer verkningsfull, antalet CD4+ T-celler har ökat mer hastigt (Mocroft & Lundgren 2004). AIDS relaterade infektioner har minskat kraftigt och om terapin börjar i sinom tid kan man motverka utvecklandet av AIDS (Davey *et al.* 1999). Hur effektiva medicinerna än är kan ett uppehåll i medicineringen ge negativa konsekvenser. Även efter en lång tids behandling med bromsmediciner kan en liten paus återställa virusets replikationsförmåga på ett sätt som om viruset aldrig blev behandlat (Davey *et al.* 1999). Detta visar att viruset är fortfarande aktivt på ett tyst sätt i samband med HAART. Studier har stärkt denna hypotes genom att ha påvisat att ett protein, Tat, som är viktig för virulent replikation fortsatt att produceras även under lyckad behandling (Ensoli *et al.* 2010).

## **Proteasinhämmare**

För bästa effekt ska man ta en liten cocktail av medicinerna för att bäst motverka virusets replikation. Som nämnts ovan är en av bromsmedicinerna



proteasinhistorerna. Dessa har fortfarande idag nyckelrollen i minskningen av virus RNA och spelar en stor roll vid hämmandet av aktiva virus. Dessa brukar användas först när man påbörjar drogterapi med inhibitorer (Flexner 2002). Forskning av dessa pågår fortfarande för att effektivisera deras påverkan på viruset för att undgå ökning av virulent resistens (Vermeire 2004).

Sedan upptäckten av viruset och tillverkningen av proteasinhistorer har många tester utförts för att se deras effekt på viruset och även så tidigt vid utvecklingen såg man slående resultat som visade minskad mängd av virus RNA och ökning av T-celler (Vermeire 2004).

För att förstå hur proteasinhistorerna verkar måste man ta en närmare titt på HIV-proteas och dess funktion.

Proteas är som en levande sax, det är ett enzym med funktionen att sönderdela virala proteiner så att de omogna viruspartiklarna kan använda sig av dem för att bygga egna proteiner. Detta händer i sista fasen av virusets replikationscykel. Det är en process som är viktig för att virusen ska kunna mogna, bli aktiva och infektera nya celler. Proteinerna som klyvs är polyproteiner, som gal pro-polyproteinerna. HIV proteaset är byggt av två identiska dimerer. Det aktiva stället återfinns i mitten av de två dimererna, respektive monomer bidrar gemensamt till en aktiv yta (Deeks *et al.* 1997).

Enligt Deeks och hans medarbetare sammanställde man enzymets utseende 1988, genom att utkristallisera det och få fram en 3D struktur, på så sätt kunde man ta fram en ihistor till enzymet.

Proteasinhistorerna har som uppgift att hämma proteasens aktivitet och på så sätt förhindra bildandet av aktiva virus. Proteasinhistorerna verkar vid sista fasen av virusets livscykel (Deeks *et al.* 1997). Inhibitorn binder med vätebindningar till proteasens konserverade aktiva ställen och på så sätt hämmar proteasens aktivitet (Colman 2009).

Vidare studier visar att genom att ta olika proteasinhistorer har halten T-celler ökat medan mängden virus RNA har minskat, kraftigt i vissa fall (Deeks *et al.* 1997).

Det finns bland annat fyra proteasinhistorer som används flitigt, Saquinavir, Ritonavir, Indinavir och Nelfinavir.

Saquinavir var den första godkända proteasinhistoren i USA, 1995. Enligt många tester har man kommit fram till att proteasinhistorer fungerar bäst i kombination med andra proteasinhistorer eller andra bromsmediciner (Deeks *et al.* 1997).

Andra tester har visat att när proteasinhistorer kombinerats med andra bromsmediciner har mängden virus RNA minskat medan CD4+ T-celler ökat. Man kan redan se fyra dagar efter påbörjat behandling en ökning i T-celler (Bangsberg 2000, Estaquier 2002).

### *Resistens*

Det är väldigt viktigt att komma ihåg att kombinera bromsmedicinerna på rätt sätt. Alla har en hämmande effekt och i vissa fall kan de hämma varandra. Inte bara att de minskar varandras verkningsgrad, men fel kombination kan ge kräkreaktioner som leder till minskat intag av medicinerna och viruset kan utveckla resistans mot inhibitorerna (Deeks *et al.* 1997).

Resistens är ett stort problem vid utveckling av nya bromsmediciner samt när man strävar för att få de äldre medicinerna att behålla sin effekt.

Virusets transkriptas har ingen korrekturläsning och därför kan många mutationer uppstå som förändrar de nya virusen från de ursprungliga. Risken för att mutationer ska inträffa är mycket större med tanke på att viruset har en replikationshastighet på  $10^{10}$  nya viruspartiklar per dag (Deeks *et al.* 1997). Om det nu sker en mutation per ny viruspartikel innebär det  $10^{10}$  nya mutationer per dag, där ett hundratal av dem kan ha utvecklat resistens mot minst en av proteasinhistorerna eller resistens mot en annan bromsmedicin. Den här kombinationen är något som alla läkare och forskare försöker undvika för att detta ökar svårigheten att hitta ett botemedel som eliminerar viruset från kroppen helt och hållet. Det som händer är att när en medicin misslyckas med att hämma proteaset och vidare bildandet av nya aktiva virus sker en selektion bland virus varianter som har utvecklat motstånd mot bromsmedicinerna (Dulioust 1999).

Resistens mot de fyra ovannämnda proteasinhistorerna har uppkommit genom mutationer i proteasgenen. Specifik resistens har man hittat mot proteasinhistorern Saquinavir, genom att ha upptäckt mutation på kodonerna 48 och 90 som har lett till ändrad aminosyra (Deeks *et al.* 1997). Fler eller andra mutationer på andra kodoner som leder till ändrade aminosyror leder till resistens mot resterande proteasinhistorer. Även om primära mutationer gör inhibitorerna ineffektiva till en viss nivå krävs det att sekundära mutationer också inträffar för att ge långvarig effekt och ökning av resistens. Dessa mutationer sker utanför proteasens aktiva yta (Dulioust 1999). Enligt undersökningar har man hittat såkallade primära mutationer som uppkommer i samband med att behandlingen med bromsmediciner misslyckas (Little *et al.* 1999) Virusresistens ökar dessutom när man håller doserna läkemedel på en lägre nivå än vad som egentligen behövs för att motverka sjukdomen. Detta tillåter fortsatt HIV replikation, ökad mutationfrekvens samt ökad dödlighet bland patienterna (Deeks *et al.* 1997, Little *et al.* 1999).

Det är inte bara mutationer i proteasgenen som leder till resistens, även i klyvningsstället för gag-pol polypeptider kan mutationer ske, en upptäckt som man gjorde i mitten av 90-talet då man hittade samband mellan mutationer i proteasgenen och mutationer i klyvningsställena (Koch 2001). Dessa mutationer kallas för Off-target resistens för att de inte har något att göra med att proteasinhistorerna inte kan binda till proteaset. Dessa mutationer uppkommer i själva proteinerna som proteaset ska klyva och inte på själva enzymet (Colman 2009).

Mutationer kan även uppkomma om man behandlar patienten med endast proteasinhistorer. Behandling med endast proteasinhistorer är effektiv men ger inte den effektiva verkan som krävs vid långvarig behandling. Bästa effekt får man om man kombinerar flera bromsmediciner tillsammans som sätter virusets replikationscykel ur funktion på ett sätt som försvårar att nya virus mognar och blir aktiva (Deeks *et al.* 1997).

Mutationer hos HIV proteas som ger resistens mot proteasinhistorer har hittats både *in vitro* och *in vivo* (Dulioust *et al.* 1999). Studier visar även att det sker korsmutationer när man använder flera proteasinhistorer samtidigt eller direkt efter varandra. I en undersökning, 1999, gjord av Dulioust och kollegor visade dem att när de behandlade patienter med en proteasinhistor och efter en viss tid avslutade behandlingen såg man inga spår av mutationer för resistens. När man sedan ändrade inhibitor utvecklade virusen resistens mot den forna inhibitorn även om den inte användes längre. Ett tecken på att mutationerna var så få i början är att de inte kunde

konkurrera ut vildtypen men när inhibitor ändrades ökade de i antal hastigt för att det inte fanns något hinder som kunde hämma deras utveckling. Detta visar att mutanternas fitness är reducerad än vildtypens och det krävs ytterligare en sekundär mutation för att mutanterna ska få en fenotypisk reaktion också (Verhofstede 1999). Det visade sig dock att när man hade behandlat en patient med en viss bromsmedicin såg man att virusen utvecklade successivt mutanter som var resistenta mot denna bromsmedicin. Det intressanta med detta var att när man avslutade behandlingen med denna medicin, efter ett par år, återgick mutanterna till vildtypsvarianten igen. Man hade kunnat tro att efter alla dessa år skulle vildtypen ha minskat i antal hastigt för att till slut dö ut på grund av deras minskning av fitness samt den naturliga processen "survival of the fittest" och att till slut skulle mutanten ta över (Verhofstede 1999). Nyligen gjorda studier har visat att proteasinhistorerna inte binder till mutantstammarna som de binder till vildtypen. Att en proteasinhistor kan binda till proteaset har med substratformen att göra som binder till virusets hölje. Att det kan passa perfekt i början har med att proteasinhistorerna har en perfekt passform till virusets proteas. Mutationer gör att den passformen försvinner och proteasinhistorerna är inte längre dugliga (Colman 2009).

En annan fråga som dyker upp när man tänker på resistens är vid vilken tidpunkt av behandlingen man ska byta till nya bromsmediciner för att undkomma resistens. Patienter kan under behandlingen tvingas byta bromsmediciner av medicinska skäl eller på grund av att nya och förbättrande mediciner har börjat användas. Mellan detta byte brukar ökning av resistens ske (Kantor 2004).

Det är inte bara viktigt att veta vilka mediciner man ska ta eller hur man ska kombinera dem. Det är grundläggande att justera drogdosen för att hålla en jämn koncentration. Medicinkoncentrationerna som patienterna blir ordinerade måste hållas i en jämn nivå och får inte vara för höga eller för låga. En hög dos kanske minskar mängden virus RNA men är giftig för kroppen och kan orsaka andra komplikationer. En låg dos i sig kan minska effekten på medicinen och öka transkription av virus RNA samt antal mutationer. Resistens mot medicin uppkommer lättast vid låga doser (Flexner 2002). Små förändringar i doser eller koncentrationer kan orsaka resistens, och när viruset har blivit resistent mot en medicin har den förlorat sin verkan. Varje patient kan också behöva olika doser och koncentrationer av bromsmedicinerna. Varför en patient ändrar medicin kan bero på bieffekterna, olika mediciner påverkar patienter på olika sätt, eller att nya, förbättrade mediciner har kommit ut i marknaden. Även om patienterna är infekterade med likadant virus kan det ändå svara annorlunda mot bromsmedicinerna (Flexner 2002).

### *Biverkningar och komplikationer*

Även biverkningar har uppkommit, det finns inga starka mediciner som är helt fria från biverkningar.

Enligt Deeks och medarbetare, 1997, har fall uppkommit då patienter har haft kraftiga blödningar när de har medicinerats med proteasinhistorer. Det är dock oklart om endast detta är orsaken till de kraftiga blödningarna.

Studier har visat att patienter som behandlas med proteasinhistorer har utvecklat andra komplikationer som bland annat hyperlipidemi, insulinresistens samt ateroskleros. Man har även upptäckt att proteasinhistorer stör cellulär lipid homoostas genom att halten bindande protein (sterol regulatory element-binding

proteins (SREBPs)) ökar (Zhou *et al.* 2005). Detta kan leda till att proteiner (ER chaperoner proteiner) i den endoplasmiska reticulum viker sig fel eller att de inte rättas ut som kan leda till stress och om processen fortsätter en längre tid kan det leda till celledöd (Zhou *et al.* 2005). Förutom detta har man även upptäckt att proteasinhistorer öka halten fri kolesterol i blodet som kan leda till att makrofagerna dör och ökar risken för åderförkalkning (Zhou *et al.* 2005).

Det är inte endast sådana komplikationer som kan uppstå. Många forskare frågar sig om behandling med endast proteasinhistorer eller en blandning av bromsmediciner ger bäst effekt. Svaret i sig kan vara ganska självklart kan man ju tänka sig. Men forskning visar att båda behandlingarna ger lika mycket framsteg som de ger komplikationer. En behandling utan proteasinhistorer hade dock varit mindre effektiv eftersom de blockerar en viktig fas som har med virusets mognad att göra (Mendoza *et al.* 1999).

## Framtida aspekter och forskning

Än idag är HIV en infektion som många personer i framförallt u-länderna har lite kunskap om. För att minska dess spridning måste fler människor bli medvetna om dess konsekvenser. Ett vaccin känns fortfarande långt borta och anledningen till det är många. Även om HIV är spridd runt hela världen är antalet infekterade människor i utvecklingsländerna alldeles för många och detta minskar chansen dessutom att infektionen kommer att avta så småningom. Anledningen till detta är många men som Montaner och kollegor (2006) skriver finns det tre huvudsakliga anledningar: arbete för att förebygga HIV utnyttjas inte effektivt, det är fortfarande svårt att få ett grepp om hur man ska tillverka ett vaccin och läkemedlen som finns till hands nu kan inte eliminera HIV för gott.

Även om proteasinhistorer och inhibitorer av omvänt transkriptas har en motverkande effekt på viruset och ger patienterna ett mycket längre liv än förväntat kan man inte undgå fakta, nämligen att viruset utvecklar resistens mot medicinerna med en hög hastighet. Virusets mutationsfrekvens är väldigt hög och det kommer antagligen inte dröja många år till innan viruset utvecklat total resistens mot dagens mediciner (Vermeire 2004).

Risken idag vid användning av flera bromsmediciner är att medicinerna kan utöva antagonistiska interaktioner som kan slå ut en medicins verkan. Ett problem som man måste ta itu med för framtida utveckling av bromsmediciner samt användning av kombinerande bromsmediciner (Vermeire 2004).

Forskare fortsätter att leta efter vaccin mot viruset men än så länge har inga stora framsteg gjorts. De kanske verkar ett litet tag när man ser ökning på CD4+ T-celler och minskning på virus RNA men efter en tid, kan handla om veckor eller år, ser man en minskning av CD4+ T-celler igen.

Väldigt många forskare var på den Internationella AIDS konferensen när den ägde rum i Wien 2010 och många trodde att de hade en lösning mot HIV men som tyvärr gav för lite resultat. Terapeutiska HIV vacciner verkade dock lovande. Dessa testades både på människor som hade behandlats med bromsmediciner men även människor i tredje världen som inte fick någon medicin. Det krävs fortfarande mer forskning för att öka deras effektivitet (Abbott 2010).

Dagens forskning försöker satsa mer på att hitta nya bromsmediciner, nya sätt att slå ut virusets replikationssystem och samtidigt förbättra de äldre medicinerna. Man försöker forska fram mediciner som motverkar fusion, genom förståelse av membranets sammansättning, mediciner som kan penetrera virusets hölje samt mediciner som verkar både mot vildtypen samt mutantvarianterna. En medicin som motverkar mutantvarianter samt resistens ligger högt upp på prioriteringslistan, för det är mutanterna som gör medicinerna inaktiva och sänker deras effektivitet (Gulick 2002, Herogs 2000, Colman 2009).

Det är inte endast mediciner som inhiberar enzymerna som man lägger stor vikt på. Man försöker även angripa viruset på andra sätt. Neutraliserande antikroppar och motverkning av fusion är två viktiga forskningsområden just nu. Neutraliserande antikroppar har som uppgift att neutralisera virusen genom att binda till deras antigener. Ett exempel på en neutraliserande antikropp är B12, den binder till CD4 bindningstället på virusets gp120 protein. Deras effektivitet måste dock fortfarande testas för att se om de kan fungera som bromsmediciner (Colman 2009). För att kunna utveckla mediciner som motverkar fusion måste man utveckla en bättre förståelse på virusets membransammansättning innan och efter fusion samt värdens cellsammansättning. Förhindra att cellerna binder till varandra hade varit ett stort framsteg för att motverka fusion. Tyvärr har inga sådana mediciner utvecklats ännu men forskningen är på gång och man hoppas på framsteg (Colman 2009).

En annan viktig aspekt vid utveckling av nya bromsmediciner är att minska bieffekterna och giftighetsgraden. Väldigt många fall av svåra biverkningar har uppkommit vid användning av bland annat proteasinhämmare (Paredes 2003). En del forskare säger dock att genom att öka koncentrationerna kan man öka effektiviteten mot mutanterna (Colman 2009).

Även om bromsmediciner har utvecklats behövs det ytterligare förståelse om viruset, dess immunitet samt undersökningar av människor med HIV-infektion men som ej har utvecklat AIDS. Forskning idag fokuserar mycket på antikroppsbaseade HIV vacciner, som neutraliserar viruset. Vad man måste göra för att göra dem mer effektiva. Att viruset ändrar form i samband med kontakt med mänskliga celler är en annan viktig aspekt som måste ges mer fokus (Katsnelson 2010).

Det är tyvärr inte endast läkemedelstillverkning och viruskunskapen som måste förbättras. En annan anledning till varför AIDS har utvecklats till en epidemi beror på bristande kunskap om sjukdomen, dess allvarliga verkan och metoder som motverkar dess framskridning i bland annat u-länderna, där viruset har haft sin största påverkan (Griffiths *et al.* 2006).

## Diskussion

Oavsett hur effektiva medicinerna än är har de även sina nackdelar. Varje framgång medför även att nya komplikationer tillstöter.

Bromsmedicinernas effektivitet och framgång har jämnats ut med resistens och biverkningar som har uppkommit efter användningen av de olika bromsmedicinerna. Stora framsteg har dock gjorts för att hålla tillbaka virusets verkan. En infektion som under en lång tid sågs som dödlig och tog många människors liv har man idag lyckats nedtrycka samt utvecklat en bättre förståelse över dess utveckling. En framgång som

har förlängt många människors liv och gjort det mer okomplicerat för dem att leva sitt liv. Framstegen i att förstå virusets livscykel och utveckla olika mediciner som verkar vid olika tidpunkter är något viktigt och stort, och något som förhoppningsvis kommer att utvecklas med tiden. Inte bara till nya och förbättrade bromsmediciner men även till utvecklingen av en medicin som eliminerar viruset för gott. Att förstå ett virus livscykel samt hur och när mutationer sker är inte bara viktigt för HIV och AIDS forskningen men även för framtida sjukdomar som kan dyka upp. Sådan forskning behöver inte endast koncentrera sig på nuläget men den behövs även för att förhindra framtida epidemier och infektionssjukdomar. Bättre förståelse om hur resistens utvecklas samt hur biverkningar uppkommer är också ett steg närmare till ett botemedel.

Mycket kan förändras på en kort tid, speciellt inom medicinvärlden. Medicinernas framgång har stor betydelse för förändringar för människor när det kommer till alla slags sjukdomar som en gång ansågs som dödliga. Även om en HIV infektion är väldigt allvarlig och fortfarande ej botbar, har bromsmedicinerna ingett hopp. Inte endast för att de har förlängt människors liv men även möjligheten att hitta ett botemedel mot HIV i framtiden har ökat dramatiskt. Fortfarande idag tacklas man med frågor såsom resistens, biverkningar och mutationer, tre stora orsaker som bromsar medicinernas framskridning och chansen att utveckla ett botemedel. För att inte nämna bristen på kunskap om HIV som återfinns, mestadels, i tredje världen. Brist på kunskap är en stor anledning till varför AIDS har utvecklats till en epidemi. Den kunskapen som forskare behöver för att kunna utveckla fram nya och mer funktionella mediciner måste även spridas till människor runt om i världen för att motverka virusets framskridning. Motarbetning av viruset måste ske både inom forskarvärlden men även utanför dess ramar så att även resten av befolkningen ska kunna göra sitt för att arbeta mot viruset och sjukdomen.

## Referenslista

- Abbott A. 2010. Therapeutic HIV vaccines show promise. Scientific American. WWW dokument. (<http://www.scientificamerican.com/article.cfm?id=therapeutic-hiv-vaccines>) Hämtad: 2010-11-14.
- Alemayehu YK, Bushen OY, Muluneh AT. 2009. Evaluation of HIV/AIDS clinical care quality: The case of a referral hospital in North West Ethiopia. International Journal for Quality in Health Care **21**: 356-362.
- Anderson RM, May RM. 1987. Transmissions dynamics of HIV infection. Nature **326**: 137-142.
- Bangsberg DR. 2000. Adherence to protease inhibitors, HIV-1 viral load and development of drug resistance in an indigent population. AIDS – Official Journal of the International AIDS Society **14**: 357-366.
- Colman PM. 2009. New antivirals and drug resistance. Annual Reviews of Biochemistry **78**: 95-118.

- Davey RT, Bhat N, Yoder C, Chun TW, Metcalf JA, Dewar R, Natarajan V, Lempicki RA, Adelsbergers JW, Miller KD, Kovacs JA, Polis MA, Walker RE, Falloon J, Masur H, Gee D, Baseler M, Dimitrov DS, Fauci AS, Lane HC. 1999. HIV-1 and T cell dynamics after interruption of highly active antiretroviral therapy (HAART) in patients with a history of sustained viral suppression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **96**: 15109-15114.
- Deeks S, Smith M, Holodniy M, Kahn J. 1997. HIV-1 protease inhibitors. *The journal of the American Medical Association* **277**: 145-153.
- Duloust A, Paulous S, Guillemot L, Delavalle AM, Boué F, Clavel F. 1999. Constrained evolution of human immunodeficiency virus type 1 protease during sequential therapy with two distinct protease inhibitors. *Journal of Virology* **73**: 850-854.
- Ensoli B, Bellino S, Tripiciano A, Longo O, Francavilla V, Marcotullio S, Cafaro A, Picconi O, Paniccia G, Scoglio A, Arancio A, Ariola C, Ruiz Alvarez MJ, Campagna M, Scaramuzzi D, Iori C, Esposito R, Mussini C, Ghinelli F, Sighinolfi L, Palamara G, Latini A, Angarano G, Ladisa N, Soscia F, Mercurio VS, Lazzarin A, Tambussi G, Visintini R, Mazzotta F, Di Petro M, Massimo G, Rusconi S, Carosi G, Torti C, Di Perri G, Bonora S, Ensoli F, Garaci E. 2010. Therapeutic immunization with HIV-1 Tat reduces immune activation and loss of regulatory T-cells and improves immune function in subjects on HAART. *PLoS One*, doi [10.1371/journal.pone.0013540](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013540).
- Estaquier J, Lelièvre JD, Petit F, Brunner T, Moutouh-de Parseval L, Richman DD, Ameisen JD, Corbeil J. 2002. Effects of antiretroviral drugs on human immunodeficiency virus type 1-induced CD4+ T-cell death. *Journal of Virology* **76**: 5966-5973.
- Flexner CW. 2002. Concentration – targeted therapy and the future of HIV management. *AIDS - Official Journal of the International AIDS Society* **16**: S1-S3.
- Galvani AP. 2005. The role of mutation accumulation in HIV progression. *Proceedings of the Royal Society* **272**: 1851-1858.
- Gisslén M, 2008. HIV och aids. WWW -dokument 2008-11-18: <http://1177.se/artikel.asp?CategoryID=33284&PreView>. Hämtad 2010-11-10.
- Griffiths JD, Lawson ZF, Williams JE. 2006. Modeling treatment effects in the HIV/AIDS epidemic. *Journal of the Operational Research Society* **57**: 1413–1424.
- Gulick RM. 2002. New drugs för HIV therapy. *AIDS - Official Journal of the International AIDS Society* **16**: 135-144.
- Hertogs K. 2000. Phenotypic and genotypic analysis of clinical HIV-1 isolates reveals extensive protease inhibitor cross-resistance: a survey of over 6000 samples. *AIDS - Official Journal of the International AIDS Society* **14**: 1203-1210.
- Håkansson C, Sandström E. 1994. HIV-infektioner och aids. I: Hallén A, Sandström E (red.). *Sexuellt överförbara sjukdomar*, ss. 222-230. Studentlitteratur, Lund.

- Kantor R. 2004. Evolution of resistance to drugs in HIV-1-infected patients failing antiretroviral therapy. *AIDS - Official Journal of the International AIDS Society* **18**: 1503-1511.
- Katsnelson A. 2010. Strategy to fight HIV shapes up. *Nature*. doi:10.1038.
- Koch N. 2001. Mutations in HIV gag cleavage sites and their association with protease inhibitors. *AIDS - Official Journal of the International AIDS Society* **15**: 526-528.
- Kwong PD, Wyatt R, Robinson J, Sweet RW, Sodroski J, Hendrickson WA. 1998. Structure of an HIV gp120 envelope glycoprotein in complex with the CD4 receptor and a neutralizing human antibody. *Nature* **393**: 648-659.
- Lida S, Fukumori T, Oshima Y, Koyama AH, Adachi A. 1999. Growth characteristics of T-cell tropic HIV-1 vpu gene mutants in human peripheral blood mononuclear cells. *The Journal of Medical Investigation* **46**: 43-47.
- Little SJ, Daar ES, D`Aquila RT, Keiser PH, Connick E, Whitcomb JM, Hellmann NS, Petropoulos CJ, Sutton L, Pitt JA, Rosenberg ES, Koup RA, Walker BD, Richman DD. 1999. Reduced antiretroviral drug susceptibility among patients with primary HIV infection. *The journal of the American Medical Association* **282**: 1142-1149.
- Mendoza C, Soriano V, Rodríguez-Rosado R, González-Lahoz J. 1999. Higher antiviral activity of antiretroviral regimens including protease inhibitors. *AIDS - Official Journal of the International AIDS Society* **13**: 998.
- Mocroft A, Lundgren JD. 2004. Starting highly active antiretroviral therapy; why, when and response to HAART. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **54**: 10-13.
- Montaner JSG, Hogg R, Wood E, Kerr T, Tyndall M, Levy AR, Harrigan PR. 2006. The case for expanding access to highly active antiretroviral therapy to curb the growth of the HIV epidemic. *Lancet* **368**: 531-536
- Mueller SM, Jung R, Weiler S, Lang SM. 2004. Vpx proteins of SICmac239 and HIV-2ROD interact with the cytoskeletal protein  $\alpha$ -actinin 1. *Journal of General Virology* **85**: 3291-3303.
- National Institute of Allergy and Infectious Diseases 2010. HIV/AIDS – How HIV causes AIDS. WWW – dokument 2010-07-01:  
<http://www.niaid.nih.gov/topics/hivaids/Pages/Default.aspx>. Hämtad 2010-11-12.
- Paredes R. 2003. New antiretroviral drugs and approaches to HIV treatment. *AIDS - Official Journal of the International AIDS Society* **17**: 85-96.
- Reeves JD, Doms MW. 2002. Human immunodeficiency virus type 2. *Journal of General Virology* **83**: 1253-1265.
- Smittskyddsinstitutet 2010. Sjukdomsinformation om Hivinfektion. WWW-dokument 2010-07-29:  
<http://www.smittskyddsinstitutet.se/sjukdomar/hivinfektion/>. Hämtad 2010-11-10.
- The Body – the complete HIV/AIDS resource. 2008. The stages of HIV disease. WWW – dokument 2008-08-22:  
<http://www.thebody.com/content/whatis/art2506.html#primary>. Hämtad 2010-11-18.
- Verhofstede C. 1999. Interruption of reverse transcriptase inhibitors or a switch from reverse transcriptase to protease inhibitors resulted in a fast reappearance of virus strains with a reverse transcriptase inhibitor-sensitive genotype. *AIDS - Official Journal of the International AIDS Society* **18**: 2541-2546.



- Vermeire K. 2004. CADA, a novel CD4-targeted HIV inhibitor, is synergic with various anti-HIV drugs in vitro. *AIDS - Official Journal of the International AIDS Society* **18**: 2115-2125.
- Youle M. 2002. Strategies of HIV management-when to switch. *AIDS - Official Journal of the International AIDS Society* **16**: S151-S155.
- Zhou H, Pandak WM, Lyall V, Natarajan R, Hylemon PB. 2005. HIV protease inhibitors activate the unfolded protein response in macrophages: Implication for atherosclerosis and cardiovascular disease. *Molecular Pharmacology* **68**: 690-700.