

Paulina Niedźwiedzka, Wiesław Deptuła

WYBRANE PROCESY IMMUNOLOGICZNE ZWIĄZANE
Z WIRUSAMI GORĄCZEK KRWOTOCZNYCH*

Katedra Mikrobiologii i Immunologii, Wydział Nauk Przyrodniczych,
Uniwersytet Szczeciński
Kierownik: Wiesław Deptuła

Praca przedstawia poznane dotychczas fakty dotyczące odpowiedzi immunologicznej w zakażeniach wirusami gorączek krwotocznych, które stanowią ogromne zagrożenie dla zdrowia i życia wielu ludzi. Opisano procesy immunologiczne zarejestrowane w zakażeniach wirusami z rodziny Arenaviridae, Bunyviridae, Filoviridae i Flaviviridae. Ponadto omówiono odpowiedź immunologiczną w zakażeniu wirusem RHD (rabbit haemorrhagic disease) z rodziny Caliciviridae, jako potencjalny model zwierzęcy służący do badań nad przebiegiem i mechanizmami patogenicznego działania wirusów gorączek krwotocznych.

Słowa kluczowe: odpowiedź immunologiczna, wirusy gorączek krwotocznych
Keywords: immunological response, viral haemorrhagic fevers

WSTĘP

Wirusy gorączek krwotocznych powodujące schorzenia określane jako VHF (wirusowe gorączki krwotoczne – *viral haemorrhagic fevers*) należą do rodzin: *Arenaviridae*, *Bunyviridae*, *Filoviridae* i *Flaviviridae* (tab. I). Wirusy te posiadają materiał genetyczny RNA i są przyczyną wielu chorób bardzo groźnych dla ludzi, o przebiegu ostrym, z wysoką śmiertelnością (nawet do 70 - 100%) (1,2). Objawy kliniczne tych chorób są nieswoiste, podobne do siebie i charakteryzują się: ogólnym osłabieniem, zapaleniem spojówek, bólami głowy i mięśni, wysoką gorączką oraz przekrwieniem śluzówek i skóry oraz narządów wewnętrznych (1,3). To duże podobieństwo objawów klinicznych utrudnia rozpoznawanie, tym bardziej, że brak jest danych z zakresu swoistego mechanizmu patogenicznego oddziaływania tych wirusów. Stwierdzono jedynie, że infekcje te wzbudzają silną odpowiedź zapalną, a ich powinowactwo do drobnych naczyń krwionośnych – głównie śródbłonna,

* Praca częściowo finansowana z grantu badawczego nr N308 03832/3662

występuje w postaci zespołu wykrzepiania wewnątrznaczyniowego – DIC (*disseminated intravascular coagulations*). W przebiegu tych zakażeń zarejestrowano martwicę w wielu tkankach i narządach (1,3), jak też zmiany w układzie immunologicznym, które przedstawiono poniżej.

Tab.I. Wirusy wywołujące gorączki krwotoczne (VHF) (1-4).

Tab.I. The viruses causing viral haemorrhagic diseases (VHF) (1-4).

Rodzina i materiał genetyczny	Rodzaj	Nazwa wirusa i jednostki chorobowej	Naturalne miejsce występowania
Arenaviridae (ssRNA)	Arenavirus	wirus Lassa - gorączka Lassa	Afryka
		wirus Junin - gorączka argentyńska	Ameryka Płd.
		wirus Machupo - gorączka boliwijska	Ameryka Płd.
		wirus Sabia - gorączka brazylijska	Ameryka Płd.
		wirus Guanarito - gorączka wenezuelska	Ameryka Płd.
Bunyaviridae (ssRNA)	Phlebovirus	wirus Doliny Rift - gorączka Doliny Rift	Afryka
	Nairovirus	wirus Krym-Kongo - gorączka Krym-Kongo	Europa, Azja, Afryka
	Hantavirus	wirus Puumala – gorączka krwotoczna z zespołem nerkowym HFRS (hemorrhagic fever with renal syndrome) wirus Hantaan – gorączka krwotoczna z zespołem płucnym HPS (hantavirus pulmonary syndrome)	Azja, Europa
Filoviridae (ssRNA)	Filovirus	wirus Marburg – gorączka krwotoczna Marburg	Afryka
		wirus Ebola – gorączka krwotoczna Ebola	Afryka
Flaviviridae (ssRNA)	Flavivirus	wirus żółtej febry - żółta febra	Afryka, Ameryka Płd.
		wirus lasu Kyasanur - gorączka lasu Kyasanur	Indie
		wirus Dengue - gorączka Denga	Azja, Ameryka Płn. i Płd., Afryka
		wirus Omsk - gorączka omska	Syberia

PROCESY IMMUNOLOGICZNE W ZAKAŻENIU WIRUSAMI Z RODZINY ARENAVIRIDAE

Zakażenie wirusami z rodziny *Arenaviridae* dotyczy wielu tkanek, w których nie stwierdza się zmian histologicznych, a występujące krwotoki tłumaczy się krążącymi inhibitorami agregacji płytek oraz trombocytopenią. Opisywany przy zakażeniach zespół DIC, uważa się za nieistotny (1,4). W przypadku wirusa gorączki *Lassa* wykazano, że dużą rolę

odgrywają mechanizmy odporności komórkowej, choć brak bliższego sprecyzowania które, a w przypadku innych wirusów z tej rodziny, wykazano, że oprócz udziału wskaźników odporności komórkowej, w odpowiedzi immunologicznej biorą udział także swoiste mechanizmy odporności humoralnej (1,4). Ponadto przy zakażeniu wirusem gorączki *Lassa*, zarejestrowano upośledzoną aktywność komórek dendrytycznych oraz innych spośród komórek prezentujących antygen, co jak się przypuszcza, może doprowadzać do alergii i w konsekwencji większej podatności makroorganizmu na zakażenia (2).

PROCESY IMMUNOLOGICZNE W ZAKAŻENIACH WIRUSAMI Z RODZINY *BUNYAVIRIDAE*

W przypadku zakażeń wirusami z rodziny *Bunyaviridae* (tab.I) stwierdzono, że procesy immunologiczne dotyczące phlebowirusów – wirusa gorączki doliny *Rift*, scharakteryzowane zostały w małym stopniu, jedynie zarejestrowano, że stan ten prowadzi do martwicy w zainfekowanych komórkach (1). Przyjmuje się (2), że zakażenie tym wirusem może zwiększać produkcję IFN γ o małej aktywności przeciwwirusowej, co powoduje ograniczenie odpowiedzi immunologicznej. Natomiast doświadczalnie wykazano, że w przypadku podania IFN α na krótko przed lub po eksperymentalnym zakażeniu małym wirusem *Rift*, stwierdzono pozytywne działanie tej cytokiny, wyrażające się zmniejszoną wiremią i ochronnym działaniem wobec hepatocytów wątroby (4). W bezobjawowym zakażeniu wirusem gorączki *Krym-Kongo* (*Nairovirus*) nie zarejestrowano zmian w układzie immunologicznym, mimo obecności wirusów w wielu komórkach, głównie w monocytach, hepatocytach i komórkach śródbłónka, które obumierały (1).

Natomiast objawowe zakażenie hantawirusami (tab.I), aktywuje mechanizmy immunologiczne i przyjmuje się, że to one odgrywają znaczącą rolę w patogenezie zakażenia (5,6,7). Udowodniono, że w zakażeniu HFRS (*hemorrhagic fever with renal syndrome*) u gryzoni, podobnie jak u ludzi, główną rolę odgrywają komórki Tc (8). Dowiedziono również (5), że wirus ten, zakażając ludzkie komórki dendrytyczne, nie powoduje w nich lizy i nie włącza w tych komórkach procesu apoptozy, natomiast bardzo efektywnie oddziałuje na niedojrzałe komórki dendrytyczne, wpływa na ilość ich molekuł kostymulujących i adhezyjnych, w tym cząstek MHC klasy I. Ponadto w czasie tego zakażenia dochodzi do zwiększonej cytotoksyczności limfocytów T oraz aktywizacji tych komórek, w kierunku stymulującego oddziaływania na inne komórki zainfekowane wirusem, w tym komórki śródbłónka naczyńniowego (5). Opisano również, że podczas infekcji hantawirusami uwalniana jest duża ilość IFN- γ i TNF, które to cytokiny powodują zwiększoną przepuszczalność śródbłónka naczyńniowego oraz powstawanie wybroczyn (6). Wirus ten wchodząc w interakcje z integryną Beta3 – odpowiedzialną za przepuszczalność naczyń krwionośnych, dodatkowo zwiększa dysfunkcję komórek śródbłónka (7). *Markotić* i wsp. (9) badając przypadek zakażenia hantawirusem *Puumala*, potwierdzili, że limfocyty T oraz IL-2, IL-6 już w czasie wylegania choroby, a także w okresie objawów klinicznych, w dużym stopniu zmieniają się i ich poziom prawdopodobnie warunkuje przebieg choroby. W badaniach tych wykazano, że najlepszym wskaźnikiem prognozującym rozwój tego zakażenia jest określanie poziomu IL-6 oraz sIL-2R α (9). Dowiedziono (8), że miano wirusa *Puumala* u zakażonych zwierząt, jest najwyższe w makrofagach między 4 a 10 dniem, zaś w śledzionie w 14 dniu po zakażeniu.

PROCESY IMMUNOLOGICZNE W ZAKAŻENIACH WIRUSAMI Z RODZINY *FILOVIRIDAE*

Wirusy z tej rodziny (tab.I) powodujące gorączki VHF, ze względu na skutki, uznawane są za najniebezpieczniejsze wśród wszystkich wirusów gorączek krwotocznych. Wykazano, że w czasie infekcji wirusem *Marburg* i *Ebola*, dochodzi głównie do zakażenia komórek dendrytycznych, monocytów i makrofagów (komórek MN) oraz neutrofilii (komórki PMN), co prowadzi do uwolnienia przez nie wielu cytokin prozapalnych, w tym TNF i IFN γ . Interakcja neutrofilii i innych białych ciałek krwi z wirusami, poprzez receptory TREM (*triggering receptors on myeloid cells*) i TLR, prowadzi do uwolnienia przez nie wielu mediatorów zapalenia. Oprócz receptorów TLR i TREM, które mają wpływ na wiązanie się wirusów z neutrofilami, a także komórkami dendrytycznymi, monocytami i makrofagami, dochodzi już we wczesnym stadium infekcji, do aktywacji innych receptorów występujących na komórkach, w większości niespecyficznych dla filowirusów, choćby C-lektyn takich jak: DC-SIGN (*DC-specific ICAM3 grabbing non-integrin*), L-SIGN (*liver/lymph node SIGN*) i hMGL (*human macrophage C-type lectin specific for galactose*) (10). Laktoferyna występująca w ziarnistościach komórek PMN, w czasie zakażenia wirusem *Marburg* i *Ebola*, może wzmacniać ich adsorbcję nawet na niedojrzałych komórkach dendrytycznych, co może mieć różne konsekwencje immunologiczne. W czasie zakażenia tymi wirusami dochodzi głównie na neutrofilach do wzrostu ekspresji TLR1 i TLR2, które doprowadzają do ich silnej aktywacji oraz innych elementów układu odpornościowego. Ścieżkę syntezy IFN zakłócają filowirusy, gdyż ich białko VP35 zapobiega produkcji IFN typu I (α i β), zaś proteina VP24 zaburza funkcję IFN α , β , γ (10). Pomimo braku replikacji wirusów *Ebola* i *Marburg* w limfocytach, dochodzi do ich apoptozy, co tłumaczy zwiększającą się w trakcie tego zakażenia limfocytopenię (2,11). Nie wykazano jednakże poprzez którą ścieżkę włączana jest apoptoza limfocytów, choć przyjmuje się, że obecność TNF α oraz Fas i jego ligandów, wskazuje, że zjawisko to uruchamiane jest poprzez te receptory (2,11).

Geisbert i wsp. (12) podają, że apoptoza limfocytów podczas infekcji wirusem *Ebola* i *Marburg*, może być indukowana także poprzez uwolnienie innych mediatorów pochodzących z limfocytów zakażonych wirusem albo stymulację białkiem wirusa innych komórek układu odpornościowego. Podaje się także (11), że osłabione funkcjonowanie komórek DC w czasie infekcji wirusem, może przyczyniać się do zmniejszenia liczby limfocytów, jako że zakażenie to dotyczy także komórek NK oraz limfocytów z receptorem CD4+ i CD8+, a te ostatnie są ważnym źródłem IFN γ . Dlatego ich śmierć i zmniejszanie się substancji syntetyzowanych przez nie, prowadzi do zmniejszenia aktywności wielu komórek wpływających hamująco na replikację wirusa *Ebola* i *Marburg*, w tym makrofagów – bardzo ważnych elementów obronnych w zakażeniu (11).

PROCESY IMMUNOLOGICZNE W ZAKAŻENIACH WIRUSAMI Z RODZINY *FLAVIVIRIDAE*

Podczas zakażenia wirusem żółtej febry dochodzi do gwałtownego niszczenia zainfekowanych komórek, szczególnie komórek węzłów chłonnych, śledziony, szpiku kostnego, ale także wątroby, płuc i nadnerczy (1,4). Natomiast infekcje wirusem gorączki lasu Kyananur i omskiej, powodują głównie martwicę komórek wątroby, śledziony i jelit, choć mimo tych danych niewiele wiadomo o mechanizmie ich patogennego działania na elementy i komórki układu odpornościowego (1,3). Wykazano jedynie (1), że w zakażeniu wirusem

Denga (Flaviviridae) dużą rolę odgrywają krążące przeciwciała, gdyż spadek ich stężenia, poniżej poziomu neutralizującego, ułatwia wniknięcie wirusa do komórek śródbłonka oraz hepatocytów, co prowadzi do ich dysfunkcji oraz obumierania. Zakażenie wirusem *Denga* (13), prowadzi do aktywacji limfocytów T pamięci, co objawia się wydzielaniem cytokin, a także zwiększoną aktywnością komórek tucznych.

PROCESY IMMUNOLOGICZNE W ZAKAŻENIACH WIRUSEM RHD

Rodzinę tę reprezentują wirusy chorobotwórcze dla zwierząt, to jest wirus RHD (*rabbit haemorrhagic disease*) i EBHS (*European Brown Hare Syndrome*), a także chorobotwórcze dla ludzi wirus hepatitis typu E. Wirus RHD jest chorobotwórczy tylko dla królików, lecz ze względu na tempo rozwoju infekcji oraz zmiany w narządach wewnętrznych, w tym zmiany w postaci DIC w obrębie naczyń krwionośnych, stanowi dobry model do oceny patogennego oddziaływania wirusów gorączek krwotocznych (14) oraz poznawania i opisanego zjawiska odpornościowych przy zakażeniach innymi wirusami gorączek krwotocznych. Może to przyczynić się do lepszego poznania patogenyzy np. VHF, ponieważ prowadzenie badań nad tymi wirusami jest trudne i ryzykowne.

W badaniach odpowiedzi immunologicznej u królików zakażonych eksperymentalnie różnymi szczepami wirusa RHD, oceniane są parametry odporności nieswoistej komórkowej (zdolność adherencji komórek PMN, zdolność pochłaniania komórek PMN, zdolność bójcza komórek PMN mierzona testem cytochemicznym i spektrofotometrycznym NBT), nieswoistej humoralnej (aktywność mieloperoksydazy, stężenie i aktywność lizozymu) oraz swoistej komórkowej (procent limfocytów T i ich subpopulacji) i humoralnej (procent limfocytów B, ogólna ilość surowiczych immunoglobulin) (15-20). Wykazano, że zmiany we wskaźnikach odporności nieswoistej komórkowej badanych 13 różnych szczepów wirusa RHD dotyczą, w przeważającej większości, wzrostu wartości parametrów oceniających zdolność komórek PMN do fagocytozy (zdolność bójcza i pochłaniania komórek PMN) i przypadają na początkowe godziny zakażenia (4-8 h po zakażeniu) oraz tuż przed śmiercią zwierząt (56-60 h po zakażeniu). Parametry nieswoistej odporności humoralnej (aktywność MPO oraz ilość i aktywność LZM) badane przy 15 różnych szczepach wirusa RHD, wykazały zarówno wzrost, jak i spadek o podobnym nasileniu, choć były rejestrowane najczęściej w początkowej fazie zakażenia (4-12 h po zakażeniu).

Mniej intensywne zmiany u zwierząt zakażonych 7 różnymi szczepami wirusa RHD zarejestrowano w zakresie parametrów swoistej odporności komórkowej (procent limfocytów T i ich subpopulacji Th, Tc, Tc/s), które utrzymywały się z różnym natężeniem przez niemal cały okres trwania doświadczenia (4-60 h po zakażeniu). Natomiast w zakresie swoistej odporności humoralnej (odsetek limfocytów B i produktów przez nie wydzielanych – IgG) badając 7 szczepów wirusa RHD, wykazano że natężenie zmian w tych wskaźnikach jest niewielkie i głównie objawia się ich wzrostem, przypadającym na 24-48 h po zakażeniu, a jest to czas największego nasilenia objawów klinicznych.

PODSUMOWANIE

Reasumując, trzeba stwierdzić, że dotychczas mało jest danych dotyczących mechanizmów immunologicznych w zakażeniach wirusami gorączek krwotocznych. Badania

dotyczące wirusów są niebezpieczne do wykonania, a obraz zmian w odpowiedzi immunologicznej, stworzyłby podstawy do poznania ich patogenego działania. Zarejestrowane obserwacje dotyczące odpowiedzi immunologicznej u królików zakażonych wirusem RHD, który daje bardzo wiele podobnych i swoistych zmian, jakie zarejestrowano przy VHF (14), mogą stanowić ważny krok w badaniach biologii zjawisk immunologicznych, przy wirusach wywołujących VHF.

P Niedźwiedzka, W Deptuła

SELECTED IMMUNOLOGICAL PROCESSES IN VIRAL HAEMORRHAGIC FEVERS INFECTIONS

SUMMARY

The paper reviews the known facts on the immunological response in infections with viral haemorrhagic fevers – dangerous pathogens for life and health of people. Immunological process registered in infections with viruses from *Arenaviridae*, *Bunyaviridae*, *Filoviridae* and *Flaviviridae* have been described. Moreover, the immunological response in infection with the RHD (rabbit haemorrhagic disease) virus from *Caliciviridae* family have been shown as a potential model for laboratory research on the duration and pathogenesis of viral haemorrhagic fevers.

PIŚMIENNICTWO

1. Zieliński A, Rosińska M, Gut W. Gorączki krwotoczne – epidemiologia i klinika. *Przegl Epidemiol* 2003; 57: 639-654.
2. Bray M. Pathogenesis of viral hemorrhagic fever. *Curr Opin Immunol* 2005; 17: 399-403.
3. Jahrling PB. Viral hemorrhagic fevers. W: *Textbook of Military Medicine Part 1: Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare*. Red. Sidwell F.R., Takafuji E.T., Franz D.R. Washington Office of the Surgeon General, Walter Reed Army Medical Center 1997: 591-602.
4. Borio L, Inglesby T, Peters CJ, i in. Hemorrhagic fever viruses as biological weapons. *JAMA* 2002; 287: 2391-2405.
5. Raftery MJ, Kraus AA, Ulrich R, i in. Hantavirus infection of dendritic cells. *J Virol* 2002; 76: 10724-10733.
6. Geimonen E, Neff S, Raymond T, Kocer SS, Gavrillovskaia IN, i in. Pathogenic and nonpathogenic hantaviruses differentially regulate endothelial cell responses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 13837-13842.
7. Gavrillovskaia IN, Peresleni T, Gaimonen E, i in. Pathogenic hantaviruses selectively inhibit beta3 integrin directed endothelial cell migration. *Arch Virol* 2002; 147: 1913-1931.
8. Asada H, Tamura M, Kondo K, i in. Cell-mediated immunity to virus causing haemorrhagic fever with renal syndrome: generation of cytotoxic T lymphocytes. *J Gen Virol* 1988; 69: 2179-2188.
9. Markotić A, Gagro A, Dašić G, i in.: Immune parameters in hemorrhagic fever with renal syndrome during incubation and acute disease: case report. *Croatian Med J* 2002; 43: 587-590.
10. Mohamadzadeh M, Chen L, Schmaljohn A. How Ebola and Marburg viruses battle the immune system. *Nat Rev Immunol* 2007; 7: 556-566.
11. Bray M, Geisbert TW. Ebola virus: the role of macrophages and dendritic cells in the pathogenesis of Ebola hemorrhagic fever. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; 37: 1560-1566.

12. Geisbert TW, Hensley LE, Gibb TR, i in. Apoptosis induced in vitro and in vivo during infection by Ebola and Marburg viruses. *Lab Invest* 2000; 80: 171-186.
13. King CA, Anderson R, Marshall JS. Dengue virus selectively induces human mast cell chemokine production. *J Virol* 2002; 76: 8408-8419.
14. Kęsy A, Fitzner A, Niedbalski W, i in. Rabbit haemorrhagic disease – an animal model for human viral haemorrhagic fevers. *Acta Haematol Pol* 2000; 31: 127-137.
15. Tokarz-Deptuła B, Deptuła W. Pomór królików ze szczególnym uwzględnieniem zjawisk odpornościowych. *Med Wet* 2002; 58: 497-500.
16. Deptuła W, Kęsy A, Tokarz-Deptuła B, Stosik M, i in. Dynamics of selected parameters in rabbits infected with rabbit haemorrhagic disease virus. *Folia Veterinaria* 1999; 43:186-190.
17. Nahurska A, Tokarz-Deptuła A, Hukowska B, i in. Selected indices of non-specific humoral immunity in rabbits experimentally infected with non-hemagglutinogenic strain of VHD (viral hemorrhagic disease) virus. *Pol J Vet Sci* 2003; 6: 25-27.
18. Tokarz-Deptuła B, Deptuła W. Non-specific cell-mediated immunity in rabbits experimentally infected with four various doses of VHD (viral haemorrhagic disease) virus, French strain Fr-2. *Pol J Vet Sci* 2003; 6: 64-66.
19. Tokarz-Deptuła B, Deptuła W. T and B lymphocytes and their subpopulations in peripheral blood in rabbits experimentally infected with Fr-2 strain of viral haemorrhagic disease (VHD) virus. *Bull Vet Inst Pulawy* 2004; 48: 367-370.
20. Tokarz-Deptuła B, Deptuła W. The immunity during immunization with the viral haemorrhagic disease (VHD) in rabbits. *Centr Eur J Immunol* 2004; 29: 58-62.

Otrzymano: 18.12.2007 r.

Adres autora:

Dr n. biol. Paulina Niedźwiedzka
Katedra Mikrobiologii i Immunologii
Wydział Nauk Przyrodniczych Uniwersytet Szczeciński
ul.Felczaka 3c, 71-412 Szczecin
tel. 091 444 16 05; 091 444 16 09
email: kurp13@univ.szczecin.pl