

Niektóre nowe dane dotyczące wirusologii i zakaźnych gąbczastych encefalopatii

ZDZISŁAW LARSKI

Katedra Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM, ul. Oczapowskiego 13, 10-178 Olsztyn

Larski Z.

Some new data concerning virology and transmissible spongiform encephalopathies

Summary

Data presented in this review concern: mechanism for the unusual severity of H5N1 influenza virus, chronic immune activation - a possible lethal factor in HIV infection; induction of T-cell-specific immunity against herpes simplex virus with CpG-peptide complexes; clinical use of feline recombinant omega interferon in cat and in dog; the antiviral activity of non-nucleosidic inhibitors of hepatitis B virus; inhibition of hepatitis B virus in mice by RNA interference; conversion of PrP in the cytosol; proteasome inhibition and TSEs?; monoclonal antibodies inhibit prion replication in vivo; a prion protein epitope selective for PrP^{Sc}.

Keywords: influenza virus, HIV infection, interferon omega, HBV prion diseases

Postęp w rozszyfrowaniu istoty zjadliwości wirusa grypy H5N1. Cheung i wsp. (5) podjęli badania przyczyny niezwykle ciężkiego przebiegu (33% śmiertelności) zakażenia ludzi tym wyłącznie ptasim wirusem H5N1/97 w 1997 r. w Hongkongu. Stwierdzili, że zakażenie nim hodowli ludzkich makrofagów *in vitro* indukuje znacznie wyższy poziom prozapalnych cytokin w płynie hodowli niż zakażenie ludzkimi wirusami H3N2 lub H1N1. Badania te na tle danych piśmiennictwa omówiły w obszernym komentarzu Zamboni i Barclay (22). Sekwencja genomu wirusa grypy jest znana od prawie 30 lat, jednak nie wyjaśniono dotąd molekularnej podstawy jego chorobotwórczości dla człowieka. O zjadliwości decydować musi coś więcej niż tylko wirusowy kwas nukleinowy. Ostatnio Webster i wsp. stwierdzili, że wysoce zjadliwe wirusy H5N1 charakteryzuje znaczna oporność na hamujące działanie cytokin gospodarza, takich jak interferony i TNF alfa. Cheung i wsp. (5) wskazali, że powstawanie nadmiernych ilości tych cytokin koreluje z nasileniem objawów w czasie sztucznego zakażenia, co sugeruje, że to decyduje o ciężkim przebiegu klinicznym zakażenia wirusem H5N1. Autorki komentarza omawiają też wyniki badań Garcia-Sastre i wsp. wskazujące, że głównym genetycznym komponentem, determinującym ten śmiertelny wirusowy fenotyp H5N1 jest jego małe, niestrukturalne białko NS1, uważane za decydujący czynnik umożliwiający uniknięcie włączenia wrodzonej odporności gospodarza. Jedno z tłumaczeń wysokiego poziomu indukcji cytokin po zakażeniu ludzi wirusem H5N1 zakłada, że białko NS1 nie jest dostatecznie skuteczne w przeciwdziałaniu indukcji odpowiedzi interferonowej u człowieka. Wirusy grypy A, jak H5N1, są natomiast dobrze dostosowane do koegzystencji z ich naturalnymi

ptasimi gospodarzami, których układy odporności wrodzonej różnią się od ludzkich.

Chroniczna immunologiczna aktywacja – być może letalny czynnik w zakażeniu HIV. Wyniki pracy van Liera i wsp. omówione przez Senior (18) stanowią wsparcie teorii, że HIV powoduje dysfunkcję komórek T i ich utratę wskutek chronicznej immunologicznej aktywacji. Wykazano, że przyczynia się ona do utraty populacji dziewiczych komórek T, czego następstwem są oportunistyczne zakażenia, być więc może stanowi letalny czynnik w AIDS. Efekt tej chronicznej aktywacji badano na transgenicznym myszom CD70, dających ekspresję ligandu CD70 na komórkach B. Ta ekspresja sprzyjała tworzeniu się efektorowych komórek T i u myszy wykazano wzrastającą przemianę dziewiczych komórek T w efektorowe komórki pamięci, co wyrażało się utratą tych pierwszych w węzłach chłonnych i śledzionie. Mimo posiadania nadaktywnego systemu odpornościowego transgeniczne myszy ginęły w wieku 6-8 miesięcy wskutek zakażenia *Pneumocystis carinii*, typowej cechy T-komórkowego niedoboru immunologicznego. Zdaniem przytoczonej przez Senior opinii Al-Harhi z USA te cenne badania wyjaśniają decydującą rolę nadmiernej stymulacji w rozwoju AIDS; powoduje to przyspieszenie procesów w grasicy, być może przez indukcję steroidowych hormonów, co prowadzi do jej inwolucji. Może to mieć szczególne znaczenie w zakażeniu HIV u dzieci, gdyż u nich rozwój AIDS jest dużo szybszy niż u dorosłych. Van Lier podkreśla, że główną metodą leczenia seropozytywnych pacjentów pozostaje osłabienie namnażania się wirusa, lecz sugeruje, że do mieszaniny tak działających leków może okazać się celowe dodanie dodatkowych, wpływających na nadmierną aktywację immunologiczną.

Indukcja odporności przeciw wirusowi *Herpes simplex* przy użyciu kompleksów CpG-peptyd. Niepowodzenia z kilkoma konwencjonalnymi szczepionkami przeciw wirusowi *Herpes simplex* (HSV) wymagają szukania nowych sposobów postępowania (9). Obecnie uwaga skupia się na szczepionkach genetycznych DNA, mocnych induktorach mechanizmów odporności komórkowej; ta ich immunogenność jest uwarunkowana częściowo ich wewnętrzną aktywnością adiuwancyjną powodowaną posiadaniem niemetylowanych par CpG w bakteryjnym DNA, kodujących immunogen. Udało się już otrzymać syntetyczne CpG, zawierające oligodeoksynukleotydy (ODN) i wykazano ich mocną aktywność adiuwancyjną przy łącznym użyciu z antygenami białkowymi, przekraczającą niekiedy uzyskiwaną przy użyciu kompletnego adiuwantu Freund. Wiadomo, że u części osób latentnie zakażonych HSV występują nawroty klinicznych objawów, lecz stwierdzono, że ich częstość i nasilenie są najmniejsze u pacjentów z silną odpowiedzią komórek CD8⁺. Celowe jest więc jej pobudzenie, a ponieważ wykazano to w kilku innych układach przy użyciu kompleksów CpG-peptyd, Gieryńska i wsp. (9) podjęli takie badania z HSV na myszach. Uodpornili je bioaktywnym CpG ODN połączonym z immunodominującym epitopem glikoproteiny B wirusa. Nasilenie i trwałość swoistej odpowiedzi oceniali na podstawie peptydowo-swoistych tetrametrów, ekspresji śródkomórkowego interferonu gamma oraz niewrażliwości na zakażenie ogólnoustrojowe i dopochwowe. Autorzy wykazali, że taki sposób immunizacji stwarza nadzieję selektywnej indukcji komórek CD8⁺.

Interferonoterapia wirusowych chorób małych zwierząt. Wykryty przed prawie 50 laty interferon, ważny element pierwszej linii obrony organizmu przed zakażeniem wirusowym, okazał się w dalszych badaniach bardzo zróżnicowaną grupą białek. Obecnie dzielimy je na interferony typu I i typu II. Do pierwszego zalicza się interferon alfa, interferon beta, interferon omega i interferon tau, a typ II obejmuje interferon gamma, określane jako immunologiczny; u ludzi, koni, bydła, psów, kotów i myszy wykazano liczne geny kodujące podtypy interferonu alfa (21). Metody biologii molekularnej pozwalają obecnie otrzymać dowolne ilości interferonów rekombinacyjnych w różnych systemach ekspresyjnych.

Leopold-Temmler (13) omawia badania przeciwwirusowego działania interferonu *in vitro* na enteropatogenne wirusy kotów, a także udane kliniczne próby leczenia rekombinacyjnym interferonem omega tych zwierząt zakażonych kaliciwirusami. Rekombinacyjny koci interferon omega okazał się szczególnie skuteczny u psów zakażonych parwowirusem psów, co stanowiło zaskoczenie, gdyż cechą interferonu jest na ogół jego swoistość gatunkowa. W grupie zwierząt leczonych śmiertelność wynosiła 7%, a w grupie placebo 29%; szczegóły terapii omawiają De Mari i wsp. (6).

Wymagane są dalsze badania przydatności powszechnego stosowania interferonów, poczynając od ustalenia ich przeciwwirusowego działania *in vitro*. Badania takie kociego rekombinacyjnego interferonu omega (firmy Virbagen-omega) na kocie wirusy: dwa herpes-

wirusy, dwa koronowirusy, kaliciwirus, wirus panleukopenii kotów oraz parwowirus psów, wykonali w hodowlach komórek dwu typów Truyen i wsp. (19). Użycie interferonu omega spowodowało we wszystkich przypadkach redukcję miana wirusa, największą u herpeswirusów, a najmniejszą u kaliciwirusa.

Leopold-Temmler (13) podaje przyjęte w Niemczech wskazania do użycia rekombinacyjnego kociego interferonu omega (Virbagen Omega, Virbac SA) oraz jego dawkowanie przy: parwowirusowym zakażeniu psów, kaliciwirusowym zakażeniu kotów (w *stomatitis-gingivitis*), zakażeniach retrowirusowych kotów (białaczka kotów, niedobór immunologiczny kotów) i parwowirusowym zakażeniu kotów.

Nowy potencjalny lek przeciw zakażeniu wirusem zapalenia wątroby B (HBV). Obecnie w terapii tego groźnego procesu chorobowego znajduje zastosowanie jedynie interferon alfa i nukleozydowe inhibitory wirusowej polimerazy – 3TC i adefowir (7); ich wartość leczniczą ograniczają jednak szkodliwe uboczne działania interferonu oraz znaczna oporność wirusa HBV (hepatitis B virus) na wymienione inhibitory. Derea i wsp. (7) opisali nowe silnie działające nienukleozydowe inhibitory dojrzewania nukleokapsydu HBV. Związek ten Bay41-4109 wykazuje silne działanie przeciwwirusowe na HBV *in vitro* i *in vivo* u transgenicznym myszy. Powoduje zarówno hamowanie tworzenia się cząstek wirusowych, jak i zwiększenie degradacji białka rdzenia. Działanie badanego leku ma charakter swoisty w odniesieniu do ludzkiego wirusa, brak było bowiem takiego wpływu na wirus zapalenia wątroby B kaczek, DHBV (duck hepatitis B virus).

Hamowanie replikacji wirusa zapalenia wątroby B (HBV) u myszy przez interferencję RNA (RNAi). Historię odkrycia tego fascynującego zjawiska ostatnich lat, jego mechanizm oraz możliwości praktycznego wykorzystania, zwłaszcza w walce z zakażeniem wirusowym, omówiłem w poprzednim artykule (12); wykazano hamowanie *in vitro* wirusów HIV, polio i HBV oraz *in vivo* – wirusa zapalenia wątroby C (HCV). A teraz, w badaniach skomentowanych przez Andino (2), McCaffrey i wsp. (16) stwierdzili, że krótkie, kształtu szpilki do włosów, fragmenty RNA, shRNAs (short hairpin RNAs) hamują HBV *in vivo*. Autorzy używali techniki hydrodynamicznej transfekcji do wprowadzenia plazmidów kodujących genom HBV łącznie z HBV – swoistymi shRNAs do wątroby myszy. Wykonali to przez szybką iniekcję dużej ilości inokulum roztworu DNA do żyły ogonowej myszy. Wśród narządów, które uległy transfekcji (wątroba, śledziona, nerki, trzustka), wątroba wykazywała najwyższy poziom genetycznej ekspresji (około 40% hepatocytów). Wydzielany antygen powierzchniowy wirusa (HBsAg) uległ redukcji o 84,5% w surowicy myszy, a immunohistochemiczne badanie rdzennego antygeny (HBcAg) wykazało ponad 99% redukcję w barwionych hepatocytach. Autorzy porównali skuteczność RNAi u myszy normalnych i myszy z ciężkim złożonym niedoborem immunologicznym – SCID (severe-combined immunodeficiency); nie wykazano różnic hamowania replikacji HBV. Ponieważ u myszy ze SCID użytych

w tej pracy brak było dojrzewających limfocytów B i T, natomiast makrofagi, komórki dendrytyczne i komórki NK były w normie, sugeruje to, że limfocyty B i T nie są potrzebne do podstawowych funkcji RNAi. Skuteczność RNAi w hamowaniu replikacji HBV w wątrobie ssaków stwarza nadzieję, że taka metoda będzie mogła być użyta także w leczeniu innych zakażeń wirusowych. Pozostaje jednak do rozwiązania znalezienie takiego sposobu wprowadzenia shRNA dużym zwierzętom i człowiekowi, aby dotarły do narządu zaatakowanego przez wirus.

Luki w naszej wiedzy o chorobach prionowych.

Wskazują na to obrady Sympozjum Molekularnych Aspektów Zakaźnych Gąbczastych Encefalopatii w kwietniu 2003 r. w Breckenridge, Colorado. Omawiają je Aguzzi i Heikenwalder (1), pisząc na wstępie, że po tak olbrzymiej liczbie przypadków choroby szalonych krów i po dwu nagrodach Nobla za badania nad chorobami prionowymi powinniśmy już wiedzieć o nich wszystko, a tak nie jest. Nawet hipoteza prionowa, uważana obecnie niemal za dogmat, została zaatakowana. Nowy laureat nagrody Nobla Kurt Wüthrich wskazał na ciągły brak uzyskania zakaźności *in vitro* przez modyfikację białka prionowego; nie udało się też zniesienie struktury (i zakaźności) PrP^{Sc} działaniem specyficznych soli, a następnie przywrócenie zakaźności przez odtworzenie pierwotnej struktury. Zdaniem Wüthricha, priony PrP^{Sc} to po prostu śmieci, odpady (garbage); uważa on, że musimy poznać funkcję normalnego białka prionowego zanim potrafimy zrozumieć mechanizm chorób prionowych.

Następna sprawa dotyczyła zjawiska zróżnicowania szczepów prionowych stwierdzanych nawet w jednej populacji zwierząt chowu wsobnego. Wydaje się, że cechy szczepu dominują nad sekwencją aminokwasową prionu zakażonego gospodarza. To brzmi zaskakująco, lecz może nie będzie niemożliwe (uda się) pogodzenie tych danych z wyłącznie białkową hipotezą prionową; może szczepowo-swoiste właściwości są rzeczywiście zakodowane w trzecio-, a nawet czwartorzędowej strukturze PrP^{Sc}.

Przy omawianiu zmienności ludzkiego genu, który chroni część populacji przed rozwojem CJD, Collinge przedstawił frapującą koncepcję tego zjawiska. Zakłada ona, że te ochronne zmiany zostały wyselekcjonowane w trakcie ewolucji, ale dlaczego były potrzebne? Collinge sugeruje, że chroniły one przed chorobami prionowymi przenoszonymi przez kanibalizm, który, jego zdaniem, był kiedyś czymś powszechnym wśród naszych przodków i że choroby prionowe (podobnie jak kuru w Nowej Gwinei przenoszone przez rytualny kanibalizm), pustoszyły ludzkie populacje w bardzo odległej przeszłości. Tu warto odesłać czytelnika do popularnego omówienia tej koncepcji, a także do informacji, że wg danych prof. P. Liberskiego 61% Polaków jest genetycznie podatnych na vCJD (4).

Przedmiotem obrad była też diagnostyka chorób prionowych, przy czym przedstawiono bardzo obiecującą metodę ilościową, drogą, na razie przydatną w badaniach na myszach, lecz dającą wynik w ciągu kilku dni. Mały postęp zanotowano w próbach leczenia chorób prionowych. Przeciwnalaryczny lek atebryna podany chorym

powoduje ciężkie uszkodzenie wątroby. Niepowodzenia w poszukiwaniu metod leczenia potwierdzono też w grudniu 2002 r. w Paryżu na pierwszej Międzynarodowej Konferencji poświęconej wyłącznie terapii chorób prionowych (8).

Mechanizmy zmiany białka prionowego PrP. Dotychczasowe badania nie potrafiły wyjaśnić patogennych mechanizmów chorób prionowych. Dwie nowe prace – Ma i wsp. (14) oraz Ma i Lindquist (15) pogłębiają naszą wiedzę w tym zakresie. Rośnie liczba dowodów, że samo PrP^{Sc} nie jest neurotoksyczne; nie ma go w kilku dziedzicznych i eksperymentalnie wywołanych chorobach prionowych, a myszy pozbawione PrP nie są wrażliwe nawet na duże dawki PrP^{Sc} wprowadzone domóżgowo. A więc neurotoksyczność wiąże się z jakimiś zaburzeniami metabolizmu endogennego PrP. Większość białka PrP, powstającego w siateczce endoplazmatycznej, przechodzi przez aparat Golgiego i pojawia się jako normalna forma PrP^C na powierzchni komórki. Pewna część (około 10%) naturalnie błędnie sfałdowanego PrP zostaje cofnięta do cytosolu, gdzie ulega szybkiemu degradacji przez proteasom (komórkowy mechanizm degradacji białek). Jeżeli aktywność proteasomu jest upośledzona, dochodzi do nagromadzenia się błędnie sfałdowanego PrP w cytosolu i ulega ono niekiedy konformacyjnej przemianie w postać PrP^{Sc}-podobną (PrP^{Sc}-like form). Wydaje się jednak, że ta frakcja ma mały wpływ na toksyczność. Biorąc pod uwagę powyższe dane i obserwacje, Ma i wsp. podjęli próby wyjaśnienia zależności między błędnym fałdowaniem PrP, hamowaniem proteasomów i gromadzeniem się PrP w cytosolu a neurotoksycznością. Wykazali, że akumulacja nawet małych ilości cytosolowego PrP czyni je wysoce toksycznym, co wykazano w hodowlach komórek i u transgenicznych myszy. Zwierzęta rozwijały się normalnie, lecz później wystąpiła u nich ciężka ataksja ze zwyrodnieniem mózdzku i gliozą. Wskazuje to na mechanizm przemiany normalnego PrP w postać neurotoksyczną, odmienną od samoreplikującej się izoformy PrP^{Sc} i sugeruje potencjalne wspólne ramy dla pozornie różnych prionowych procesów neurodegeneracyjnych. PrP występuje w całym organizmie, ale patologiczne zmiany choroby prionowej ograniczają się do ośrodkowego układu nerwowego, co tę selektywną lokalizację tłumaczą autorzy wykazaniem wysokich poziomów endogennego PrP w mózgu, a niskich w sercu i mięśniach szkieletowych. Badania Ma i Lindquist (15) stanowią próbę wyjaśnienia nieznanego dotąd mechanizmu inicjacji powstawania PrP^{Sc}. Udział naturalnego, trwałego procesu wstecznego transportu do cytosolu błędnie sfałdowanego PrP w jego konwersji sugeruje model wyjaśniający rzadkie spontaniczne powstanie PrP^{Sc}. Na zwiększony napływ PrP do cytosolu wywierają wpływ mogą urazy, toksyny, starzenie się organizmu i mutacje związane z procesami chorobowymi – szansa konwersji do PrP^{Sc} wzrasta z szybkością pojawiania się PrP w cytosolu.

Nawiązuje do wyników tych badań Hooper (10) w interesującym artykule „Czy hamowanie proteasomu może powodować chorobę szalonych krów?”. Autor pisze, że skoro takie hamowanie wzmacnia neurotoksyczne właści-

wości białka prionowego (przyczyny BSE) i jego konformacyjną przemianę do formy zakaźnej, to można zakładać, że inhibitory proteasomu mogą ułatwiać rozwój chorób prionowych. To nasuwa dwa pytania: 1) czy osobnicy z upośledzoną aktywnością proteasomu, w następstwie działania czynników środowiskowych, genetycznych i innych (stres, starzenie się), są bardziej wrażliwi na choroby prionowe niż normalni osobnicy i 2) czy stosowanie inhibitorów może sprzyjać spontanicznemu rozwojowi chorób prionowych. Na pierwsze pytanie mogą odpowiedzieć badania na myszach ze zmienioną aktywnością proteasomów, na drugie odpowiedź jest, według Hoopera, dość trudna. Inhibitory proteasomów są bowiem stosowane w klinicznych próbach leczenia raka, a związki używane jako inhibitory proteazy wirusa HIV hamują także proteasomy; nie wiadomo też, czy inne inhibitory proteaz stosowane w leczeniu nadciśnienia, zastoinowej niewydolności serca i chorobie Alzheimer'a modulują również aktywność proteasomu. Autor uważa, że nie oznacza to wykluczenia tych leków z terapii, ale, gdzie to tylko możliwe, zastępowanie ich głównie takimi, które nie przechodzą przez barierę krwio-mózgową.

Hamowanie replikacji prionów przez przeciwciała monoklonalne. Stwierdzenie przez Peretza i wsp. (cyt. 20), że monoklonalne przeciwciała anty-PrP o małym lub braku powinowactwa do PrP^{Sc} mogą *in vitro* zapobiegać wcieleniu PrP^C do powielających się prionów, skłoniło White'a i wsp. (20) do podjęcia prób wykazania takiego hamującego efektu *in vivo*. W badaniach z użyciem modelu mysiej trzęsawki (scrapie) stwierdzili, że obwodowe poziomy i zakaźność prionowa ulegają znacznej redukcji nawet wtedy, gdy przeciwciała wprowadzono późno, w momencie okresu najwyższego nagromadzenia PrP^{Sc} w śledzionie.

To jest szczególnie istotne, gdyż w przypadku prawie wszystkich poprzednich prób terapeutycznych, podejmowanych przez innych autorów lek podawano przed lub bardzo wcześnie po inokulacji, a więc wynik mógł być następstwem zwykłej, prostej neutralizacji inokulum. Ponadto w badaniach White'a i wsp. zakażone myszy, u których kontynuowano podawanie przeciwciał, pozostały zdrowe przez ponad 300 dni dłużej niż padłe nieleczone zwierzęta kontrolne. Uzyskane wyniki wskazują na celowość dalszych poszukiwań immunoterapeutycznych strategii w ludzkich chorobach prionowych. Brak efektu przy podawaniu przeciwciał w późnym okresie inkubacji, gdy rozwijały się objawy kliniczne, był prawdopodobnie następstwem niedostatecznego przechodzenia przeciwciał przez barierę krwio-mózgową.

Opartą na innej koncepcji metodę seroterapii chorób prionowych, omówioną przez Kossobudzkiego (11), zasugerował ostatnio zespół Cashmana (17). Organizm nie broni się wytworzeniem przeciwciał przeciw patologicznym prionom PrP^{Sc}, gdyż są one podobne do normalnych jego prionów PrP^C. Autorzy stwierdzili jednak, że PrP^{Sc} różni się od normalnych prionów nie tylko strukturą i właściwościami fizycznymi, ale także bliższą powierzchnią cząsteczki lokalizacją fragmentów łańcuchów trójki aminokwasów, tyrozyna-tyrozyna-arginina. Utworzone o takich właściwościach sztuczne białko wstrzyk-

nięto królikowi, a otrzymane przeciwciała dodane do próbek mózgu myszy zdrowych i zakażonych PrP^{Sc} dawały reakcję tylko z tymi drugimi. Autorzy uważają, że użycie takich przeciwciał nie tylko usprawni i przyspieszy diagnostykę zakażenia, ale być może znajdzie zastosowanie w leczeniu chorób prionowych.

Konieczne i pilne są poszukiwania takich i innych sposobów terapii, zwłaszcza w przypadku vCJD. Wprowadzone dane wskazują na spadek liczby przypadków tej choroby w W. Brytanii, poczynając od 2000 r., lecz nie można wykluczyć wzrostu liczby zachorowań w przyszłości wskutek wtórnej transmisji z człowieka na człowieka, np. przez zakażone narzędzia chirurgiczne lub transfuzję krwi (3).

Piśmiennictwo

1. Aguzzi A., Heikenwelder M.: Cannibals and carbage piles. *Nature* 2003, 423, 127-128.
2. Andino R.: RNAi puts lid on virus replication. *Nature Biotechnol.* 2003, 21, 629-630.
3. Andrews N. J., Farrington C. P., Ward H. T. J., Cousens S. N., Smith P. G., Molesworth A. M., Knight R. S. G., Ironside J. W., Will R. G.: Deaths from variant Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet* 2003, 361, 751-752.
4. Anon.: Prionożercy. *Wiedza i Życie* 2003, nr 6, 6.
5. Cheung C. Y., Poon L. L. M., Lau A. S., Luk W., Shortridge K. F., Gordon S., Guan Y., Peiris J. S.: Induction of proinflammatory cytokines in human macrophages by influenza A (H5N1) viruses: a mechanism for the unusual severity of human disease? *Lancet* 2002, 360, 1831-1837.
6. De Mari K., Maynard L., Eun H. M., Lebreux B.: Treatment of canine parvoviral enteritis with interferon-omega in placebo-controlled field trial. *Vet. Rec.* 2003, 152, 105-108.
7. Dereza K., Schröder C. H., Paessens A., Goldman S., Hacker H. J., Weber O., Krämer T., Niewöhner U., Pleiss U., Stoltefuss J., Graef E., Koletzki D., Masantchek R. N. A., Reimann A., Jaeger R., Gross R., Beckermann B., Schlemmer K. H., Haebich D., Rubsamens-Waigmann H.: Inhibition of hepatitis B virus replication by drug-induced depletion of nucleocapsids. *Science* 2003, 299, 893-896.
8. Follette P.: Prion disease treatment's early promise unravels. *Science* 2003, 299, 191-192.
9. Gieryńska M., Kumaraguru U., Eo S. K., Lee S., Krieg A., Rouse B. T.: Induction of CD8 T-cell-specific systemic and mucosal immunity against herpes simplex virus with CpG-peptide complexes. *J. Virol.* 2002, 76, 6568-6576.
10. Hooper N. M.: Could inhibition of the proteasome cause mad cow disease? *Trends Biotechnol.* 2003, 21, 144-145.
11. Kossobudzki P.: Polowanie na priony. *Gaz. Wyb. Nauka* 2003, nr 131, 16.
12. Larsi Z.: Niektóre nowe dane dotyczące wirusologii i zakaźnych gąbczastych encefalopatii. *Medycyna Wet.* w druku.
13. Leopold-Temmler B.: Klinische Anwendungsmöglichkeiten von Interferonen. *Prakt. Tierarzt* 2002, 83, 874-879.
14. Ma J., Wollmann R., Lindquist S.: Neurotoxicity and neurodegeneration when PrP accumulates in the cytosol. *Science* 2002, 298, 1781-1785.
15. Ma J., Lindquist S.: Conversion of PrP to a self-perpetuating PrP^{Sc}-like conformation. *Science* 2002, 298, 1785-1788.
16. McCaffrey A. P., Nakai H., Pandey K., Huang Z., Salazar F. H., Xu H., Wieland S. F., Marion P. L., Kay M. A.: Inhibition of hepatitis B virus in mice by RNA interference. *Nature Biotechnol.* 2003, 21, 639-644.
17. Paramithiotis E., Pinard M., Lawton T., LaBoissiere S., Leathers V. L., Zou W. Q., Estey L. A., Lamontagne J., Lehto M. T., Kondejewski L. H., Francoeur G. P., Papadopoulos M., Haghghat A., Spatz S. J., Head M., Will R., Ironside J., O'Rourke K., Tonelli Q., Ledebur H. C., Chakrabarty A., Cashman N. R.: A prion protein epitope selective for the pathologically misfolded conformation. *Nature Medicine* 2003, 9, 893-899.
18. Senior K.: Chronic immune activation: a lethal factor in HIV infection? *Lancet* 2002, 360, 1946.
19. Truyen U., Blewaska S., Schultheiss U.: Untersuchungen der antiviralen Wirksamkeit von Interferon-Omega gegen ausgewählte Viren von Hund und Katze. *Prakt. Tierarzt* 2002, 83, 863-865.
20. White A. R., Enever P., Tayebi M., Mushens R., Linehan J., Brandner S., Anstee D., Colinge J., Hawke S.: Monoclonal antibodies inhibit prion replication and delay the development of prion disease. *Nature* 2003, 422, 80-83.
21. Wonderling R., Powell T., Baldwin S., Morales T., Snyder S., Keiser K., Hunter S., Best E., McDermott M. J., Milhausen M.: Cloning, expression and biological activity of five feline type I interferons. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2002, 89, 13-27.
22. Zambon M., Barclay W.: Unravelling the mysteries of influenza. *Lancet* 2002, 360, 1801-1802.

Adres autora: prof. dr hab. Zdzisław Larski, Kortowo bl. 105, 10-957 Olsztyn