

❖❖❖❖ **ARTYKUŁY PRZEGLĄDOWE** ❖❖❖❖

ZDZISŁAW LARSKI
Olsztyn

Niektóre nowe dane dotyczące wirusologii

Wczesne mechanizmy zakażenia komórki przez wirusy bezotoczkowe

Znane są jego kolejne główne fazy: adsorpcja wirusa na receptorach komórkowych, penetracja, uwalnianie materiału genetycznego, produkcja wczesnych białek („narzędzi” syntezy, nie wchodzących w strukturę wiriona), replikacja kwasu nukleinowego, powstawanie białek późnych (strukturalnych, tworzących kapsomery), łączenie się ich z kwasem nukleinowym, opuszczanie komórki przez gotowe wiriony; wirusy otoczkowe otrzymują ponadto otoczkę lipidową w trakcie pączkowania z błony komórkowej (u herpeswirusów z błony jądra). Bardziej szczegółowe badanie poszczególnych faz ma nie tylko znaczenie teoretyczne ale też praktyczne – poznanie ich może przyczynić się do opracowania nowych, wciąż jeszcze bardzo nielicznych leków przeciwwirusowych. Wirus wnikałszy do komórki zostaje ulokowany wewnątrz endosomalnego pęcherzyka, endosomu. Aby doszło do uwolnienia materiału genetycznego wirus musi przejść do cytoplazmy. Do niedawna sądzono, że decydujące znaczenie ma tu niskie pH endosomu. Obecnie wiadomo, że nie stanowi to reguły dla wszystkich wirusów, a wykazano te różnice przy użyciu makrolidowego antybiotyku bafilomycyny A1 (Bafilomycin A1), hamującej zakwaszenie endosomów komórek gospodarza (10). Dzięki temu można było łatwo potwierdzić konieczność niskiego pH endosomu dla przechodzenia np. wirusa Lasów Semliki i *stomatitis vesicularis*, a z wirusów nagich (bezotoczkowych) – rinowirusów, natomiast należące też do rodziny *Picornaviridae* – wirusy EMC (*encephalomyocarditis*) i polio, nie wymagały takiego odczynu endosomu (cyt. wg 10). Espinoza i Kuznar (10) wykazali tą metodą, że niskie pH endosomu nie stanowi koniecznego warunku również dla należącego do rodziny *Birnaviridae* bezotoczkowego wirusa martwicy trzustki, IPN (*infectious pancreatic necrosis*) – wysoce śmiertelnej choroby młodych ryb, u starszych przebiegającej bezobjawowo i powodującej trwale nosicielstwo wirusa. Autorzy uważają, że prosta struktura wirusa IPN czyni go dogodnym modelem w badaniach wyjaśniających molekularne podstawy uwalniania wirusów bezotoczkowych z endosomów do cytoplazmy.

Nowa koncepcja poszukiwania leków przeciwwirusowych

Nikłe osiągnięcia w tej dziedzinie wynikające z unikatowego charakteru wirusów, niemożności bezpośredniego oddziaływania na nie lekami oraz stosowane obecnie preparaty hamujące syntezę wirusa, omówiono w innym artykule (16); podano tam również zachęcające perspektywy użycia dwu nowych strategii – strategii „tripleksu” i strategii „antysensu”, też przy użyciu rybozymów, w terapii zakażeń wirusowych. Nową koncepcję ograniczenia syntezy wirusa przez hamowanie montażu jego kapsydu omówił Prevellige (21). Tu celowe będzie krótkie przypomnienie struktury wirusów. Wykazują one dwa rodzaje symetrii – dwudziestościenną i helikalną (błędnie określaną jako spiralną). Wirus o symetrii dwudziestościennej to białkowy dwudziestościenny kapsyd (płaszcz) złożony z połączonych ze sobą kapsomerów, wewnątrz którego mieści się kwas nukleinowy – DNA lub RNA; niektóre z tych wirusów posiadają ponadto zewnętrzną otoczkę. U wirusa o symetrii helikalnej kapsomery są nanizane na nić RNA tworząc razem nukleokapsyd; ten przyjmuje ułożenie helikalne (śrubowe) w kształcie kuli (jak np. wirus grypy) lub cylindra (wirus wścieklizny); całość posiada otoczkę.

Artykuł Prevellige’a (11) podaje przegląd reguł kontrolowanej polimeryzacji białka szczególnie pod kątem możliwości hamowania montażu kapsydu wirusa. Za interesowani znajdują tam wiele szczegółowych danych, tu tylko skrótowe omówienie tych spraw. Tak jak w przypadku innych leków przeciwwirusowych warunkiem ich skuteczności jest niszczenie biochemicznych zjawisk unikatowych dla wirusa, a nie dotyczących gospodarza. Dotychczasowe leki działają m.in. na enzymy biorące udział w replikacji i przetwarzaniu białka wirusowego. Ale przecież celem działania leków nie muszą być enzymy, a unikatowe i wysoce swoiste wzajemne oddziaływania białko – białko, niezbędne do montażu wirusa. Dotąd sprawy te są stosunkowo mało badane, częściowo z powodu niedostatecznego doceniania podstaw polimeryzacji białka i montażu wirusa. Dotyczy to głównie wirusów mających kapsyd, a więc o symetrii dwudziestościenną. Szczegółowe badania zwłaszcza polimerizacji białka bakteriofaga P22 po-

zwoliły lepiej zrozumieć proces montażu jego kapsydu. Następuje to przez wielokrotne wzajemne oddziaływanie określonych podjednostek białka w ściśle określony sposób. Komputerowe badania modelowe wykazały słabe (wrażliwe) punkty tego montażu i dostarczyły informacji potrzebnej do wykazania możliwości jego hamowania przez niskomolekularne inhibitory. Skuteczność jednego z nich – hydrofobowego barwnika, kwasu anilino-naftaleno-dwusulfonowego (BisANS) wykazano *in vitro*. Konieczne są teraz badania możliwości wykorzystania tych danych w odniesieniu do patogennych wirusów różnych rodzin; ich cykle syntezy, a zwłaszcza montażu wirionów, wykazują zarówno uderzające podobieństwa jak i różnice.

Stwierdzenie zakażenia ludzi wirusem H5N1 ptasiej grypy

Dla zrozumienia spraw związanych z grypą (właściwiej byłoby mówić o influenzy, gdyż terminem „grypa” określa się potocznie cały szereg schorzeń wywołanych u ludzi przez różne czynniki zakaźne, głównie przez wirusy), konieczne jest przypomnienie pewnych podstawowych danych. Wirus grypy (właściwiej, influenzy), izolowany po raz pierwszy w 1932 r., należy do rodziny *Orthomyxoviridae*. Jego cząstki (wiriony) kształtu kulistego, mają otoczkę, posiadającą dwa rodzaje zewnętrznych wypustek (antygenów powierzchniowych) – pałeczkowate, zawierające hemaglutyninę (H) i buławkowate, zawierające neuraminidazę (N). Wyróżnia się trzy typy wirusa influenzy – A, B i C. Typ A wywołujący epidemie choroby u człowieka, koni, świń i ptaków, szczególnie u ptactwa wodnego, dzieli się na wiele podtypów na podstawie posiadania wymienionych antygenów powierzchniowych – H i N. Stwierdzono dotąd 13 odmian H (H1–H13) i 9 N (N1–N9). Na przykład izolowany od koni w 1963 r. w USA wirus miał strukturę antygenową H3N8, różniącą się od wirusa stwierdzonego u koni w 1956 r. w Czechosłowacji, u kaczek izolowano w 1977 r. podtyp H1N8, a od indyków w 1966 r. – H9N2. Uderzającą cechą wirusa influenzy A jest jego wielka zmienność, a pojawianie się wciąż nowych odmian jest przyczyną naszych niepowodzeń w walce z tą groźną chorobą.

Są dwa główne mechanizmy tak dużej zmienności tego wirusa – dryf antygenowy (antigenic drift) i przesunięcie antygenowe (antigenic shift). Dryf antygenowy występuje w obrębie podtypu i jest następstwem serii drobnych zmian (zwykle mutacji punktowych). Wyrażają się one powstaniem wariantów („szczepów”), z których każdy kolejny tylko nieznacznie różni się od poprzednika (26) ale na tyle, że staje się niewrażliwy na indukowane przez niego przeciwciała; mówi się, że dryf antygenowy jest przejawem inteligencji biologicznej wirusa influenzy. W odróżnieniu od dryfu antygenowego, przesunięcie antygenowe jest wyrazem użyskania genu dla zupełnie nowej hemaglutyniny lub neuraminidazy. Następuje to prawdopodobnie wskutek genetycznego oddziaływania między różnymi szczepami

mi ludzkimi lub między szczepami ludzkimi i zwierzęcymi wirusa influenzy. Za tą drugą możliwością przemawia zarówno izolowanie od ludzi szczepów posiadających wspólne antygeny z wirusami influenzy świń, indyków, kaczek i koni, jak też uzyskanie takich szczepów w laboratorium.

Powstający w następstwie przesunięcia antygenowego nowy podtyp, wobec którego populacja jest zupełnie bezbronna, może wywołać nie tylko duże epidemie ale nawet pandemię obejmującą całe kontynenty. Tak było np. w 1957 r., gdy nastąpiła zmiana podtypu H1N1 (izolowanego w 1947 r.) w H2N2, a w 1968 r. H2N2 w H3N2. Ponieważ wszystkie kombinacje podtypów H i N są teoretycznie możliwe, liczba ewentualnych przyszłych podtypów wirusa influenzy jest w tym samym stopniu nieograniczona.

I właśnie w maju 1997 r. izolowano w Hongkongu od zmarłego 3-letniego chłopca nowy podtyp wirusa influenzy określony jako H5N1. Do dziś (luty 1998 r.) zakażenie nim stwierdzono u 16 osób, z których 4 zmarły. Jest to pierwsze izolowanie od człowieka takiego podtypu. Jego naturalnym rezerwuarem jest ptactwo wodne i drób, i jako apatogenny zarazek wykazano go u tych zwierząt w Niemczech (1); w ostatnich latach dominowały u człowieka podtypy H1N1 i H3N2, ale oprócz tych, w Południowo-Wschodnich Chinach, u osób intensywnie zajmujących się hodowlą drobiu badania serologiczne wykazały obecność przeciwciał dla H7, N4 i N8. Obecne przesunięcie antygenowe, podobnie jak trzy poprzednie, nastąpiło w Chinach i powszechnie uważa się, że sprzyja temu duże zagęszczenie tam populacji ludzkiej, zwłaszcza wiejskiej, żyjącej w ścisłym kontakcie ze zwierzętami domowymi (kaczki, kury, świny). Świnia uważana jest za idealnego gospodarza dla powstania lub adaptacji nowych podtypów nie występujących dotąd u ludzi (1); pojawienie się nowego podtypu może powodować duże epidemie lub pandemię, podstawowym jednak decydującym warunkiem ich powstania jest namnażanie się wirusa u człowieka i przenoszenie się z ludzi na ludzi. Podtyp H5N1 jest obecnie przedmiotem badań Światowej Organizacji Zdrowia (WHO). Przygotowuje się diagnostyczne zestawy do badań serologicznych i do wykrywania samego wirusa H5N1 przy pomocy polimerazowej reakcji łańcuchowej (PCR). Obecne szczepionki przeciw grypie nie będą skuteczne w profilaktyce zakażenia nowym podtypem. Amantadyna, lek dopuszczony do zapobiegania i terapii influenzy A okazał się skuteczny w zakażeniu nowym podtypem H5N1, ale wiadomo, że niektóre szczepy zawierające H5 szybko wytwarzają oporność na ten lek (1). WHO przystąpiła do prac nad sporządzeniem szczepionki przeciw zakażeniu nowym podtypem, jednak trzeba mieć na uwadze zjawisko osłabiające skuteczność jakichkolwiek szczepionek przeciw grypie. Jest to tzw. „pierworodny grzech immunologiczny”, stwierdzony najpierw u wirusów grypy A, a następnie u niektórych paramyksowirusów, toga-, flawi-, entero- i adenowirusów (26).

Zjawisko to polega na tym, że osobnik po pierwszym zetknięciu się (zakażenie, szczepienie) z danym wirusem występującym w kilku serotypach, zostaje niejako immunologicznie napiętnowany tym pierwszym kontaktem. Wskutek tego, przy następnym zakażeniu lub szczepieniu dowolnym innym serotypem tego wirusa, wytworzy przeciwciała głównie dla odmiany antygenowej z pierwszego kontaktu. A więc nawet stosowanie szczepionki zawierającej aktualny w tej chwili podtyp wirusa grypy A może w efekcie dać słabą odpowiedź immunologiczną przeciw niemu, a główną przeciw podtypowi z pierwszego kontaktu. Nie wyjaśniono dotąd istoty tego zjawiska. Można je przezwyciężyć jedynie przez użycie dużych dawek szczepionki, co byłoby jednak w masowej profilaktyce grypy nie tylko kosztowne, ale mogłoby powodować skutki toksyczne.

Wirus odry koni, EMV (*equine morbillivirus*)

We wrześniu 1994 r. w Queensland w Australii stwierdzono ciężkie schorzenie układu oddechowego z wysoką gorączką do 41°C u 18 koni, ich trenera i stajennego, które zakończyło się śmiercią 14 koni i jednego człowieka (20). Izolowany wirus oznaczono jako wirus odry koni (EMV) i zaliczono do rodzaju *Morbillivirus* w rodzinie *Paramyxoviridae* (18). Jego przynależność do tej rodziny jest oczywista, natomiast brak pewności czy nie należałoby uznać go za odrębny rodzaj (20), a może jest to wirus, który sforsował barierę gatunkową, podobnie jak to miało miejsce w przypadku innego morbilliwirusa – wirusa nosówki, sprawcy zachorowań u fok i delfinów (24). Nie stwierdzono jednak wyraźnego pokrewieństwa między EMV a innymi członkami rodzaju *Morbillivirus*, wirus zakaża wiele różnych hodowli komórek oraz wywołuje zachorowanie u sztucznie zakażonych kotów i świnek morskich (cyt. wg 23); w poszukiwaniu zwierzęcych rezerwuarów EMV przebadano serologicznie ponad 40 różnych gatunków zwierząt i przeciwciała dla wirusa stwierdzono u nietoperzy w Queensland, a następnie izolowano od tych zwierząt wirus bardzo podobny lub identyczny z EMV. Wang i wsp. (23) podkreślają potrzebę prowadzenia badań epidemiologicznych w celu wyjaśnienia pochodzenia wirusa oraz jego naturalnego szerzenia się u zwierząt domowych i dzikich. Ponieważ wytwarzanie i rozprowadzanie dużych ilości antygeny do badań serologicznych napotka na trudności wynikające z operowania żywym wirusem, autorzy podjęli udane próby otrzymania rekombinacyjnego antygeny do testów serologicznych. Na ograniczonej liczbie dostępnych posiadanych 7 surowic końskich, dwu króliczych i jednej ludzkiej wykazali 100% zgodność między odczynami Western blot i seroneutralizacji. EMV atakuje układ oddechowy koni i ludzi, ale ostatnio O'Sullivan i wsp. (20) opisali wywołany przez ten wirus przypadek śmiertelnego zapalenia mózgu u człowieka.

Wirusy jako narzędzie genoterapii

Za datę narodzenia się tej nowej metody leczenia, polegającej na wprowadzeniu do komórki normalnego genu w celu skorygowania jej wadliwej funkcji, uważa się dzień 14. września 1990 r. Wtedy u 4-letniej dziewczynki w USA, przez wprowadzenie kopii brakującego genu usunięto wrodzony ciężki zespół niedoboru immunologicznego. Wykonać to można przy użyciu różnych wektorów (przenośników), zwłaszcza niechorobotwórczych wirusów zapewniających maksymalne szanse umieszczenie genu we właściwym miejscu genomu komórki. I właśnie problem znalezienia optymalnych wektorów stanowi przeszkodę w upowszechnianiu genoterapii. Trudności te przedstawia dość szczegółowo Mitchell (17), przytaczając opinie wielu specjalistów, poświęcając przy tym sporo uwagi użyciu wirusów, co warto pokrótce omówić. Adenowirusy są łatwo przyjmowane przez komórki ludzkie, jednak jako bardzo immunogenne, są szybko usuwane z organizmu przez układ immunologiczny, a genetyczne złagodzenie ich immunogenności upośledza ich wnikanie do komórek. Największe nadzieje na znalezienie wydajnego wektora wiąże się z lentiwirusami – retrowirusami, które mogą zakażać nie dzielące się komórki, stąd zainteresowanie wirusem HIV-1. Na konferencji w Narodowych Instytutach Zdrowia (NIH) w USA w marcu 1998 r. dyskutowno m.in. czy ten genetycznie zmodyfikowany wirus mógłby stanowić wektor i czy uda się przekonać ludzi aby zgodzili się na „wstrzyknięcie AIDS”. Aby uniknąć takiej ewentualności prowadzone są prace z lentiwirusowymi wektorami opartymi na wirusie anemii zakaźnej koni. Są one skuteczne w dostarczaniu genów do nie dzielących się komórek, a mają oczywiście lepszą opinię niż wirus HIV-1. Prowadzone są też badania nad wektorami opartymi na herpeswirusach i wirusach towarzyszących adenowirusom. W okresie czekania na znalezienie idealnego wirusowego wektora bada się zalety i wady niewirusowych wektorów, takich jak: liposomy, zawierające cholesterol liposomy, złożone wektory peptydo-lipidowe, aktywowane dendrymery (rozgałęzione łańcuchy węglowodanowe wiążące DNA). Ostatnio różnicę między układami niewirusowymi a wirusowymi zaciera utworzenie sztucznych wirusów, gdzie wirusowe komponenty połączone są z liposomami; np. dodatnie hemaglutyniny wirusa grypy wzmacnia w sposób bardzo wyraźny zdolność liposomów do przenoszenia genów, jednak niewiele jeszcze wiadomo o skuteczności tych prób. Uważa się, że obecnie znane niewirusowe wektory są zbyt nieefektywne w leczeniu chorób genetycznych i większości nabytych. Jednak względy bezpieczeństwa mogą zaważyć na szali w kierunku wektorów niewirusowych, istnieje bowiem niepokój, że wektory wirusowe mogą ulegać rekombinacji z wirusami endogennymi lub, że komórki zarodkowe ulegną przypadkowej modyfikacji.

Postęp w badaniach nad zakaźnymi gąbczastymi encefalopatiami, TSEs (transmissible spongiform encephalopathies)

Utrzymujące się zainteresowanie weterynarii tymi chorobami powodowane jest sugerowanym możliwym powiązaniem między należącą do nich BSE (gąbczastą encefalopatią bydła) a nowym wariantem choroby Creutzfeldta-Jakoba (vCJD). Sprawa ta daleka jest od wyjaśnienia, a istniejące niepewności omawia w niedawnym szczegółowym artykule Chesebro (9), przedstawiając m.in. argumenty za i przeciw zakaźnemu charakterowi nienormalnego białka prionowego. Autor kończy swe rozważania następująco: „Jesteśmy w bardzo wczesnej fazie tych badań i byłoby bardzo niedobrze gdyby ostatnio przyznana nagroda Nobla spowodowała samouspokojenie odnośnie do pozostałych niejasności. To nie są zwykłe detale lecz raczej ściśle mówiąc, centralne sedno problemu, które wymaga wyjaśnienia”. Podobny pogląd na te sprawy wyrażają Farquhar i wsp. (11), przy czym skłaniają się raczej do zakładanej w 1990 r. przez Kimberlina (13) koncepcji, że TSEs wywoływane są przez subwirusowe wirino, będące bardzo małym, nie ulegającym translacji kwasem nukleinowym, tworzącym czynnik zakaźny przez połączenie z białkiem PrP gospodarza, albo ukrytym w tym białku. Przeciw wyłącznie prionowej etiologii TSEs przemawiają wyniki badań Nandi'ego (19), który dla zrozumienia istoty tych chorób użył syntetycznego peptydu prionowego, PrP106-126, jako modelu. Jako pierwszy wykazał, że ten prionowy fragment jest w stanie wiązać się z DNA z siłą porównywalną do działającej między retrowirusowym białkiem p10 a modelowymi kwasami nukleinowymi. Jeżeli udałoby się wykazać, że całe białko również wiąże się tak mocno z DNA w odpowiednich warunkach, wspierałoby to hipotezę, zakładającą obecność jeszcze dotąd niezidentyfikowanego czynnika zakaźnego i, że to oddziaływanie indukuje zmiany przestrzenne białka normalnego w patologiczne, powodujące chorobę. Nandi stwierdził w dalszych badaniach modelowych, że użyty DNA, zarówno plazmidowy jak i linearny, powodował polimerizację syntetycznego peptydu PrP106-126 w amyloid w warunkach, w których sam peptyd nie polimeryzował.

Rola PrP^{Sc} jak też normalnego endogennego PrP pozostają jeszcze niecałkowicie wyjaśnione, a ostatnio Hedge i wsp. (12), wśród których jest Prusiner, wykazali obecność niezwykle śródkomórkowej transmembranowej formy białka prionowego. Może ono wywołać neurodegeneracyjne zmiany u transgenicznym myszy, a także ma związek z pewną dziedziczną ludzką chorobą prionową tego typu, przy braku zakaźnego białka prionowego. Wskazuje to, że błędna regulacja biogenezy białka w siateczce endoplazmatycznej może powodować zmiany neurodegeneracyjne.

Znaczne osiągnięcie stanowi otrzymanie przez 17 szwajcarskich badaczy z kilku placówek medycznych i

weterynaryjnych (2, 15) przeciwciał monoklonalnych swoistych dla epitopu (antygenu cząstkowego) PrP^{Sc}. Będą one nieocenione w odróżnianiu normalnej komórkowej i patologicznej postaci PrP, a tym samym w rozpoznawaniu TSEs, takich jak BSE i CJD u ludzi w odczynie immunoprecypitacji homogenatu mózgu. Te monoklonalne przeciwciała (15B3) reagują swoiście z PrP^{Sc} bydła, myszy i człowieka natomiast nie z PrP komórkowym. Autorzy tych badań uważają, że uzyskane przez nich wyniki mogą stanowić punkt wyjścia do sporządzenia dalszych preparatów nie tylko diagnostycznych ale też terapeutycznych. Dalszy postęp w tym kierunku to omówione przez Bradbury (6) osiągnięcia dwu grup badaczy, dotyczące odkrycia receptorów komórkowych dla PrP. Prion wywołujący gąbczastą encefalopatię wchodzi do komórki i wywołuje w niej przemianę przestrzenną PrP w PrP^{Sc}, prawdopodobnie w endosomach. Wydaje się, że wnikięcie do komórki wymaga obecności odpowiednich receptorów. Stwierdzenie możliwości oddziaływania na nie stanowić może ważny krok w leczeniu nowego wariantu choroby Creutzfeldta-Jakoba (vCJD).

Ważne są badania wskazujące na udział układu odpornościowego w patogenezie BSE. Brown i wsp. (7) stwierdzili, że myszy z ciężkim złożonym niedoborem immunologicznym, SCID (severe combined immunodeficiency), a więc dotyczącym równocześnie niesprawności limfocytów B i T, wykazują znaczną rezystencję nawet na łączne dootrzewnowe i domózgowe wprowadzenie im homogenatu mózgu krowy chorej na BSE. Z 22 zakażonych myszy z SCID, BSE rozwinęła się tylko u 5 zwierząt po średnim okresie inkubacji 573 dni, natomiast u wszystkich myszy immunologicznie sprawnych BSE wystąpiła po średnim okresie inkubacji 456 dni. Wskazuje to, że namnażanie się czynnika zakaźnego w obwodowych tkankach limfoidalnych może ułatwić szerzenie się zakażenia do ośrodkowego układu nerwowego. Dane te znalazły wsparcie w badaniach Kleina i wsp. (14), precyzujących udział w tym immunitetu humoralnego. Autorzy wykazali bowiem decydującą rolę limfocytów B w neuroinwazyjności w przebiegu trzęsawki, scrapie (5, 22). Autorzy użyli do badań kilku szczepów myszy pozbawionych metodami inżynierii genetycznej poszczególnych elementów układu odpornościowego. Wykazali, że brak limfocytów T lub interferonu odpornościowego (gamma) nie ma wpływu na rozwój klinicznej trzęsawki u myszy zakażonych dootrzewnowo, natomiast wszystkie zaburzenia różnicowania i odpowiedzi limfocytów B zapobiegają wystąpieniu objawów chorobowych. Autorzy podkreślają, że ich obserwacje dotyczą możliwości przenoszenia choroby drogą krwi w warunkach laboratoryjnych, ale nie stanowią dowodu, że tak samo jest u ludzi i zwierząt w warunkach naturalnych. Nie stwierdzono ani jednego przypadku przeniesienia CJD (choroby Creutzfeldta-Jakoba) przez transfuzję krwi, również dane epidemiologiczne przemawiają przeciw takiej możliwości. Tak jest jednak w odniesieniu do

klasycznej CJD, jednak może być inaczej w nowym jej wariantcie vCJD. Zdaniem Kleina i wsp. tu właśnie układ immunologiczny może odgrywać większą rolę. O ile bowiem w migdałkach pacjentów przy klasycznej CJD nienormalnego białka nigdy nie stwierdzono, to migdałki chorych na nowy wariant tej choroby są go pełne. Autorzy uważają, że skoro limfocyty B są niezbędne do rozwoju procesu chorobowego, mogą one również zawierać (szczególnie w migdałkach) czynnik zakaźny i przenosić go. Być może więc supresja limfocytów B mogłaby, w przypadku kontaktu z materiałem zakaźnym, być jedną z postaci poekspozycyjnej profilaktyki TSEs, łagodzącej ich przebieg.

Brown (8) omawiając wyniki badań Kleina i wsp. (14) podkreśla ich wartość szczególnie w aspekcie sugerowanego związku między vCJD a spożywaniem zakaźnych produktów bydła chorego na gąbczastą encefalopatię bydła (BSE). Przypomina też badania innych autorów, dotyczące patogenyzy TSEs, m.in. te wskazujące, że po wprowadzeniu czynnika scrapie do różnych miejsc obwodowych, w tym też do żołądka, zakaźność pojawiła się najpierw w układzie siateczkowo-limfatycznym – w migdałkach, grasicy, węzłach chłonnych, a zwłaszcza w śledzionie. Tam następuje pierwsza faza replikacji zarazka w częściach bogatych w limfocyty B, a zakaźność tych i innych znacznie odległych od siebie narządów nasuwa wniosek, że zarazek przenosi się z prądem krwi (stwierdzono to wykazując jej zakaźność zarówno w przedklinicznej jak też klinicznej fazie choroby), a dopiero później wykrywa się zakaźność w ośrodkowym układzie nerwowym. Taka kolejność jest zdaniem Browna uzasadniona zarówno przy przyjęciu wirusowej jak i prionowej etiologii scrapie. Autor zwraca też uwagę, że sugerowany przez Kleina i wsp. udział dojrzałych limfocytów B w neuroinwazji zarazka wymaga bardziej ścisłej oceny tego zjawiska m.in. na przykład czy limfocyty B działają jako nosiciele czynnika zakaźnego czy też wykazują swe działanie w śledzionie. Z omawianych przez Browna kilku dróg neuroinwazji najwydajniejszą wydaje się polegająca na kontakcie limfocytów z terminalnymi zakończeniami nerwowymi w śledzionie. Do fizycznego przejścia czynnika zakaźnego z limfocytu do komórki nerwowej może być potrzebna drobina ligandu, np. tajemniczego „białka X”. Perspektywy wykorzystania terapeutycznego wynikające z badań Kleina i wsp. są zdaniem Browna problematyczne. Brak jeszcze testów przedklinicznych wskazujących zakażone osoby, którym zagraża wystąpienie vCJD, i dlatego nie może wchodzić w rachubę zastosowanie eliminacji limfocytów B. Dopiero gdy pozna się dokładnie sposób w jaki te komórki wpływają na neuroinwazję, byłoby możliwe znieść ich działanie bez uciekania się do ich całkowitego usunięcia.

Zainteresowani patogenizacją BSE znajdą wiele ważnych danych w pracy Wellsa i wsp. (25). Autorzy ci zakazili *per os* 40 cieląt, w wieku 4 miesięcy, podając im po 100 g materiału ze zmieszanych pni mózgu z 75

przypadków BSE, a następnie po trzy zwierzęta podawali ubojowi w określonych odstępach czasu – od 2. do 40. miesiąca po zakażeniu. Pobierano od nich różne tkanki do prób zakaźności na myszach, do wykrywania obecności PrP^{Sc} i do badań histopatologicznych.

Najnowsze badania (3) wykazały obecność czynnika zakaźnego BSE w zwojach nerwowych korzeni grzbietowych (tkanek nerwowych leżących w obrębie kości kręgosłupa), w zwojach nerwu trójdzielnego w czaszce, a także prawdopodobnie w szpiku kostnym. Zwoje nerwu trójdzielnego nie stanowią zagrożenia, ponieważ cała głowa podlega zniszczeniu. Badania zakaźności mięsa i krwi dały ponownie wynik ujemny. Chociaż czynnik zakaźny w szpiku kostnym stwierdzono tylko u zwierząt wykazujących objawy kliniczne, jednak w celu zwiększenia marginesu bezpieczeństwa wprowadzono obowiązek odkostniania całego mięsa wołowego (zarówno brytyjskiego jak i importowanego) od zdrowego bydła w wieku ponad 6 miesięcy. Minister Rolnictwa W. Brytanii wydał w grudniu 1997 r. zakaz sprzedaży mięsa wołowego z kością (3, 4).

Na podstawie szeregu „pesymistycznych” założeń, uwzględniających różne elementy dotyczące ewentualnego przenoszenia się BSE na ludzi, brytyjski Komitet Doradczy ds. Gąbczastych Encefalopatii (SEAC) ocenia na 95% prawdopodobieństwo nie wystąpienia ani jednego przypadku, a na 5% – jednego przypadku nowego wariantu CJD w następstwie ekspozycji w 1998 r. (3).

Piśmiennictwo

1. Anon.: Tierärztl. Umsch. 53, 110, 1998.
2. Anon.: Vet. Rec. 141, 531, 1997.
3. Anon.: Vet. Rec. 141, 610, 1997.
4. Anon.: Vet. Rec. 141, 635, 1997.
5. Anon.: Vet. Rec. 142, 27, 1998.
6. Bradbury J.: Lancet 350, 1603, 1997.
7. Brown K. L., Stewart K., Bruce M. E., Fraser H.: J. gen. Virol. 78, 2707, 1997.
8. Brown P.: Nature 390, 662, 1997.
9. Chesebro B.: Science 279, 42, 1998.
10. Espinoza J. C., Kuznar J.: Arch. Virol. 142, 2303, 1997.
11. Farquhar C. F., Somerville R. A., Bruce M. E.: Nature 391, 345, 1998.
12. Hedge R. S., Mastriani A., Scott M. R., DeFea K. A., Tremblay P., Torchia M., DeArmond S. J., Prusiner S. B., Lingappa V. R.: Science 279, 827, 1998.
13. Kimberlin R. H.: Nature 345, 763, 1990.
14. Klein M. A., Frigg R., Flechsig E., Raeber A., Kalinke U., Bluethmann H., Bootz F.: Nature 390, 687, 1997.
15. Korth C., Stierli B., Streit P., Moser M., Schaller O., Fischer R., Schulz-Schaeffer W.: Nature 390, 74, 1997.
16. Larski Z.: Medycyna Wet. 52, 8, 1996.
17. Mitchell P.: Lancet 351, 346, 1998.
18. Murray K., Selleck P., Hooper P., Hyatt A., Gould A., Gleeson L., Wetsbury H., Hiley L., Selvey L., Rodwell B., Ketterer P.: Science 268, 94, 1995.
19. Nandi P. K.: Arch. Virol. 142, 2537, 1997.
20. O'Sullivan J. D., Allworth A. M., Paterson D. L., Samarasingha H., Boots R., Gleeson L., Snow T., Bradfield J.: Lancet 349, 93, 1997.
21. Prevellige P. E. Jr.: Trends Biotechnol. 16, 61, 1998.
22. Vogel G.: Science 278, 2050, 1997.
23. Wang L. F., Gould A. R., Selleck P.: Arch. Virol. 142, 2269, 1997.
24. Weiss R. A.: Nature 391, 327, 1998.
25. Wells G. A. H., Hawkins S. A. C., Green R. B., Austin A. R., Dexter I., Spencer Y. I., Chaplin M. J., Stack M. J., Dawson M.: Vet. Rec. 142, 103, 1998.
26. White D. O., Fenner F. J.: Medical Virology. Academic Press, Orlando 1986.

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