

Patogeneza i imunologija

Georg Behrens in [Matthias Stoll](#)

Prevod: Marko Kovačević

Virus gripa je dobro poznat po svojoj jedinstvenoj karakteristici da prouzrokuje periodične epidemije i globalne pandemije tokom kojih dolazi do eksplozivne pojave akutnih febrilnih oboljenja disajnih puteva i pri tome su zahvaćene sve starosne grupe stanovništva. Epidemijskom širenju virusa gripa pripisane su dve osobine. Prva je da se sposoban da je javlja i da kruži među životinjskim rezervoarima, kod ptica i svinja pomoću genetskog reasortiranja ili preko direktnog prenosa i posle toga da se širi na ljude u nepravilnim vremenskim razdobljima. Druga je kada se nastani u čoveku da brzo i nepredvidivo antigenski menja važne imunske ciljeve.

Visoka zaraznost virusa dovodi do visoke stope morbiditeta i do već poznate smrtnosti. Grip je u stanju da utiče na takav tok događanja. Virus gripa kao uzročnik koji je patogen i koji kruži u populaciji ljudi poznat je najmanje od 16. veka (Cox & Kawaoka 1998). Uzrokuje periodične epidemije febrilnih oboljenja respiratornih organa u razmacima od 1 do 3 godina. Svakog stoleća se pojavio izvestan broj pandemija, koje su brzo širile i zahvatile su sve delove sveta. Uzrok je bila pojava novog virusa protiv kojeg celokupna populacija ljudi na svetu nije posedovala imunitet. Karakteristike pandemija su njihova pojava izvan uobičajene sezone, izuzetno brz prenos bolesti, postojanje istovremenih epidemija u celom svetu i visoka stopa obolevanja stanovništva svih starosnih grupa, prati je visoka stopa umiranja čak i kod mlađih odraslih zdravih osoba. Imajući u vidu porast broja stanovništva sveta, brzi i organizovani međunarodni transport i turizam, preteće epidemije gripa dobijaju potencijal za još brže širenje. Poglavlje je namenjeno opisu patogeneze bolesti i borbe virusa i imunskog sistema radi boljeg razumevanja pozadine globalne pretnje epidemije.

Patogenost i virulenciju virusa gripa određuje više međusobno povezanih faktora:

a. faktori domaćina:

- prisustvo ciljnih receptora na ćelijama domaćina,
- upotrebljivost enzima u ćelijama domaćina bitnih za ulaz virusa u ćeliju i za razmnožavanje virusa,
- stanje imunološke sposobnosti pojedinačnog domaćina,
- specifična imunost prema specifičnim virusnim epitopima u pojedinačnom domaćinu i u ciljnoj populaciji,
- sposobnost imunskog sistema da efikasno savlada razmnožavanje virusa bez da svojim inflamatornim odgovorom prouzrokuje kolateralne štete za domaćina;

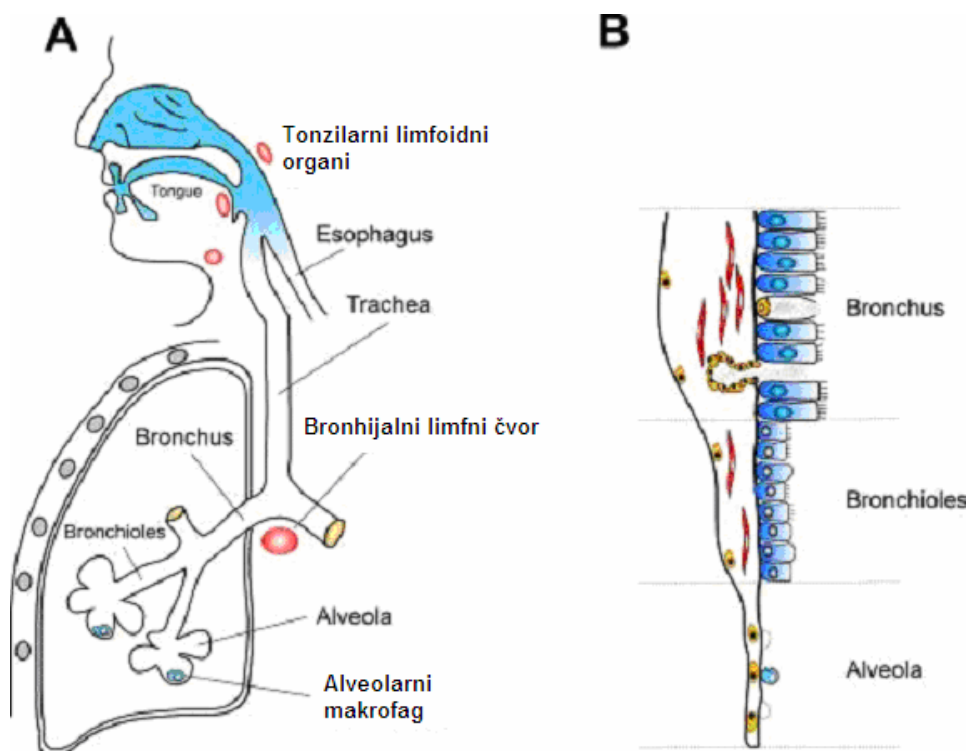
b. faktori virusa:

- sposobnost da se veže za ćelije domaćina,

- sposobnost širenja-sejanja virusa,
- ograničavanje citopatogenih efekata tako da dostigne odgovarajuću ravnotežu između razmnožavanja virusa i savladavanja od strane domaćina,
- izbegavanje imunskog nadzora evolucijom antigenskih varijacija koji vodi selektivni pritisak imunskog odgovora,
- izbegavanje imunskog nadzora pomoću rekombinovanja sa različitim sojevima virusa koji potiču od bolesti od kojih obolevaju životinje,
- prilagođavanje imunskom odgovoru tako da smanji efikasnost mehanizama odbrane domaćina.

Ulaz virusa: Kako virus ulazi u domaćina?

Preovlađujući način prenosa virusa gripa sa čoveka na čoveka je aerosolima i kapljicama. Znači grip ulazi u domaćina preko disajnih organa. U plućima čoveka postoji oko 300 miliona terminalnih vrećica nazvanih alveole koje imaju zadatak razmene gasova između udahnutog vazduha i krvi. Celokupna površina za resorpciju u plućima iznosi od 80 do 120 m². Stepent ventilacije kod čoveka pri mirovanju iznosi oko 6 litara vazduna u minuti. Pri tome se udahne veliki broj stranih čestica i raspršenih kapljica koje mogu da sadrže viruse. Deponovanje stranih tela zavisi od njihove veličine. Inhaliranje vrlo malih delića ne dovodi do resorpcije preko alveola ili preko bronhijalnog sistema. Male kapljice promera 1 do 4 μm se sedimentuju u malim disajnim putevima. Veći delovi čak ne moraju ni da dospeju u respiratorni sistem ili se odlažu u gornjim disajnim putevima (Slika 1A). Domaćin poseduje brojne odbrambene mehanizme uključujući mehaničke prepreke koje sprečavaju zaražavanje organa za disanje. Respiratorni trakt je pokriven mukocilijarnim slojem koji se sastoji od cilijarnih ćelija, od ćelija koje luče sluz i od žlezda (Slika 1B). Strani delići se u nosnoj duplji ili u gornjim disajnim putevima uhvate u sluz, sluz ih vraća u ždrelo i na kraju bivaju progutani. Iz donjih delova respiratornog trakta strani delići se odstranjuju delovanjem cilijarnih i epitelnih ćelija. U alveolama koje nemaju cilije ni sluz za uništavanje stranih delića su zaduženi makrofagi (Slika 1).



Slika 1. Mesta ulaženja virusa gripa u respiratorne organe. (A) Anatomske i funkcionalne strukture čovekovih organa za disanje. Grip najpre inficira gornje respiratorne puteve i cilijarne ćelije u bronhijama i bronhiolima. Klinički sindrom zaraze obuhvata traheitis, bronhitis, bronhiolitis i bronhopneumoniju. Adaptacioni imunološki odgovor otpočinje u limfnim čvorovima koji se nalaze uzduž respiratornih puteva. (B) Epitel respiratornih organa je posebno opremljen za odbranu od patogenih uzročnika slojem sluzi (bronhije), cilijarnih ćelija (bronhije i bronchiole) i alveolarnim makrofagama (alveole).

Vezivanje za ćelije domaćina

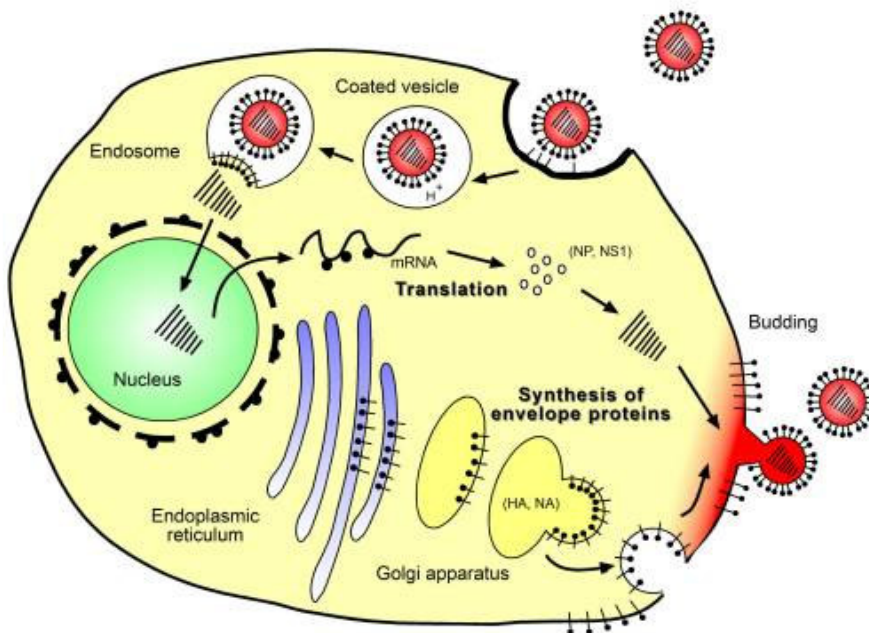
Glavni cilj virusa gripa su stubičaste epitelne ćelije organa za disanje. Ćelije mogu da budu osetljive na infekciju ukoliko je prisutan, efikasan i funkcionalan receptor virusa. Znači determinante za tropizam su virusni receptori. Ipak je ovaj pojednostavljeni model nedovoljan za objašnjenje virusnog tropizma, jer je raspoređenost receptora u domaćinu mnogo više raširena nego što je to utvrđeno za ustanovljeni virusni tropizam.

Prilikom zaražavanja virusom gripa na kraju za vezivanje receptora virusnog hemaglutinina (HA) za vezivanje na spoljašnji zid ćelije domaćina potrebno je prisustvo galaktoznog kraja sijalične kiseline (Weis 1988). Određeni delovi kraja za vezivanje HA kod različitih tipova virusa gripa su vrlo specifični (Daniels 1984). Domaćin može da spreči pričvršćivanje virusa pomoću različitih mehanizama: (1) specifični imunski odgovor i sekrecija specifičnih IgA antitela, (2) nespecifični mehanizmi kao što je mukocilijarno čišćenje ili sekrecija mukoproteina koji se vežu za virusni hemaglutinin i (3) genetičko menjanje domaćinovog receptora (sijalična kiselina) koje je visoko konzervativno kod jednog istog specijesa ali je različito kod ptičjih i humanih receptora (Matrosovich 2000). Rezultat toga je da virus ptičjeg gripa mora da mutira hemaglutinin na kraju za vezivanje za receptor, da bi pomoću toga probio interspecijesnu barikadu između ptica i ljudi. Kod svinja je u tkivima prisutan istovremeni polimorfizam vrsta sijalične kiseline i vezivanje za galaktozu za ljude i za ptice. Zbog toga je kod svinja moguća pojava istovremene infekcije sa ptičjim i sa humanim virusom gripa što omogućava genetsko reasortiranje antigenskih karakteristika obe vrste virusa u istovremeno inficiranim ćelijama. Nedavno je dokazano da su neki od virusa ptičjeg gripa kod čoveka i kod ptica u stanju da se vežu za različite ciljne ćelije (Matrosovich 2004). To objašnjava pojavu većeg broja slučajeva prenosa ptičjeg gripa koji su se pojavili od kraja 1990-tih direktno sa živine na ljude. Virus H5N1 i neki drugi

podtipovi virusa gripa A su u stanju da se vežu za receptore u oku čoveka (Olofson 2005).

Koliko je važno vezivanje virusa gripa toliko je važno njegovo razdvajanje od kraja za vezivanje od ćelije domaćina. Razdvajanje je funkcionalni zadatak virusne neuraminidaze (Chen 1998). Virulencija virusa gripa zavisi od kompatibilnosti neuraminidaze sa hemaglutininom. Kod virulentnog virusa, kada koga je hemaglutinin mutirao, treba da dođe do kompenzatornih mutacija u neuraminidazi da bi mogao da održi svoju virulentnost (Baigent & McCauley 2003, Hulse 2004). Utvrđeno je da je kao posledica toga kod virusa koji su rezistentni na inhibitore neuraminidaze došlo do smanjenja njihove sposobnosti i do smanjenja virulentnosti (Yen 2005).

Kada su ćelijska membrana i virus tesno jedan uz drugog, dolazi do endocistiranja tog kompleksa. Importovanjem H^+ jona u endocistične vrećice u njima se stvara kiselost. Zbog kiselosti virusni HA pretrpi preuređivanje radi prilagođavanja tim uslovima, što uzrokuje sekreciju fusiogeničnog proteina. Spiralni region HA se još više uvije i to uzrokuje još veće približavanje virusne i endozomske ovojnice, tako da je omogućeno njihovu združivanje. Da bi se omogućilo oslobađanje virusne RNA u citoplazmu, kroz M2 jonske kanale se u virionovu unutrašnjost upumpavaju H^+ joni. To po združivanju virusne i endozomske membrane dovodi do disocijacije virusne RNA iz M1 tako što se prekidaju interakcije M1 i ribonukleinskog kompleksa koji su osetljivi na niski pH. Posle toga se na ATP-zavisan način virusna RNA importuje u jedro u kojem će se vršiti transkripcija i translacija (Flint 2004).



Slika 2: Ciklus replikacije virusa influence A. Vežanje i ulazak virusa, združivanje sa membranom endozoma i oslobađanje virusne RNA, razmnožavanje u jedru, sintetisanje strukturnih proteina i proteina ovojnice, budding-pupljenje i oslobađanje viriona koji su sposobni da inficiraju susedne epitelne ćelije (Prilagođeno iz Cox & Kawaoka 1997)

Gde se obavlja primarna replikacija?

Da bi nastao zreo virus potrebno je prisustvo ćelijske proteaze koja rascepi proteine virusa. Na mesto gde se vrši replikacija virusa pored receptora za ulazak virusa u ćeliju utiču i dodatni faktori. Kod čoveka je replikacija virusa gripa u principu ograničena na epitelne ćelije gornjih i donjih disajnih puteva. Razlog za to je ograničenost sekrecije serin proteaze, triptaze Clara koju izlučuju necilijarne

Clara ćelije epitela bronhija. Prečišćeni enzim rascepi polipeptidni lanac HA prekursora H0 koji se nalazi u ekstracelularnim delićima i aktivira HA u virionima i sa time im vrati infektivnost. Neki visoko virulentni sojevi ptičjeg gripa poseduju genetske umetke na rascepljenom kraju HA što omogućava da ih obrađuju sveprisutne proteaze. To verovatno dovodi do izmene tropizma i do dodatnih drugih lokacija za replikaciju kod životinja i kod čoveka (Gamblin 2004). Tkivni tropizam ptičjeg gripa (H5N1) kod čoveka nije u potpunosti razjašnjen. U jednom slučaju je pomoću reakcije reverzne transkripcije polimeraznog lanca bila utvrđena prisutnost virusne RNA u plućima, u crevima i u slezini. Međutim pozitivno savijena RNA, koja ukazuje na replikaciju virusa, bila je ograničena isključivo na pluća i na creva ([Uiprasertkul 2005](#)). Znači replikacija virusa H5N1 kod čoveka verovatno je ograničena na respiratorni i na digestivni trakt za razliku od dokumentovanih diseminovanih infekcija kod drugih sisara i kod ptica.

Kako se zaraza širi u domaćinu?

Kada virus gripa efikasno inficira respiratorne epitelne ćelije, u roku nekoliko sati počne da se razmnožava i nastaju brojni virioni. Infektivni delići se po prioritetu oslobađaju sa apikalnog kraja plazma membrane epitelnih ćelija u disajne puteve uz pomoć procesa nazvanog budding-pupljenje-pupanje. Na taj način se ubrza brzo širenje virusa unutar pluća jer se infekcija brzo prenosi na susedne epitelne ćelije.

Na patogenost i na tropizam virusa dramatično utiču promene na kraju za kačenje HA kod mutanata koji nastaju na prirodan način. To se može utvrditi prema ostalim ćelijskim proteazama. Ovime bi se mogla objasniti činjenica da su brojni pojedinci zaraženi ptičjim gripom (H5N1) u Hong Kongu imali gastrointestinalne simptome, simptome zahvaćenosti jetre i bubrega, kao i respiratorne simptome što je i razlog da virusi koji su poticali od ovih bolesnika bili nerovirulentni za miševе (Park 2002). Ostalo je nerazjašnjeno da li su simptomi bili rezultat hematogene diseminacije ili su odražavali neplućne načine ulaska virusa u domaćina. Ipak pantropsku prirodu gripa može delimično da objasni mutiranje NA. Npr. soj virusa gripa WSN/33, dobijen laboratorijski, koji je varijanta prvog humanog virusa koji je do sada izolovan, za razliku od većine humanih sojeva virusa gripa može da se razmnožava *in vitro*, bez prisustva i bez dodavanja tripsina. Virus ima ograničenu deleciju koja odstranjuje glikolizacioni kraj na ostatku 46 NA omogućavajući neuraminidazi da se veže i da sekvestira plazminogen. To dovodi do povećanja lokalne koncentracije ovog prekursora ubikvitarne proteaze i time povećava mogućnost cepljenja HA. To ukazuje na načine pomoću kojih virusi gripa A, i verovatno drugi virusi, mogu da postanu visokopatogeni za ljude (Goto & Kawaoka 1998). Istraživanja genetski rekonstruisanog pandemijskog soja virusa španskog gripa iz 1918. g. (H1N1) otkrila su dodatne mehanizme rascepljivanja HA koje posreduje NA, a možda su važni za razmnožavanje i za virulenciju ovog virusa (Tumpey 2005). Istraživanja na životinjama pokazala su da mesto inokulacije može da određuje put-način širenja virusa gripa u domaćinu. Npr., neurotropni NWS soj se hematogenim širenjem diseminira u mozak kada ga se inokulše intraperitonealno, međutim u centralni nervni sistem stiže preko senzornih neurona kada se virus inokulše kroz nos (Flint 2004). Ovaj poslednji način je dokazan i za virus H5N1 Hong Kong (Park 2002).

Kakav je početni odgovor domaćina?

Iako je oboljenje vrlo često kod gripa čoveka još uvek nisu u potpunosti poznati načini specifičnog inflamatornog odgovora ili regulacija imunskog odgovora, kao ni patogeneza citopatoloških efekata. Većina činjenica je dobijena istraživanjima na životinjama kod kojih je ptičji grip rašireno oboljenje. Patofiziologija kod ovih modela može ogromno da se razlikuje od patofiziologije kod čoveka.

Citokini i temperatura

Glavno pitanje je kako infekcija, koja je u suštini ograničena na respiratorni trakt, može da prouzrokuje teške opšte simptome. Kao što je to kod brojnih drugih zaraznih bolesti, radi se o nespecifičnom i adaptacijskom imunskom odgovoru koji značajno doprinosi pojavi i vrsti kliničkih znakova i simptoma gripa i konačno vodi ka savladavanju zaraze. Imunski mehanizmi mogu da prouzrokuju lokalne i sistemske efekte. Citokini, koje odmah po infekciji izlučuju epitelne i imunske ćelije respiratorne sluzokože, lokalni su hormoni koji aktiviraju ćelije, a posebno ćelije unutar imunskog sistema. Hemokini su podgrupa citokina koji deluju kao hemoatraktanti za ćelije imunskog sistema. Npr. infekcija virusom gripa u plazmocitima čoveka i u mijeloidnim dendritičnim ćelijama aktivira program sekrecije hemokina koji omogućava koordinisano prizivanje različitih imunskih činilaca (Piqueras 2005, Schmitz 2005). Najvažniji citokini služe kao endogeni pirogeni i uključeni su u patogenezu povišene temperature: IL-1 α / β , TNF α / β , IL-6, interferon (IFN) α / γ , IL-8 i makrofagni inflamatorni protein (MIP)-1 α .

Prisustvo većine ovih citokina utvrđeno je u brisevima nosa i grla ljudi koji su bili inficirani virusom gripa na eksperimentalni način ili prirodnim putem (Brydon 2005). Postoji mišljenje, da citokini koji nastaju lokalno ili sistemski posle interakcije sa egzogenim pirogenima (npr. grip), u centralni nervni sistem dospeju zajedno sa fagocitima. U hipotalamusu je predeo sa nazivom Organum vasculosum laminae terminalis koji ima nisku krvno-moždanu barijeru i omogućava prelaz pirogena. Na tom mestu pirogeni na način zavisen od doze prouzrokuju produkciju prostaglandina, posebno prostaglandina E₂. Ovi medijatori poviše termostatsku tačku i aktiviraju termoregulacione mehanizme tako da se poveća telesna temperatura. Činjenica da ni jedan od gore pomenutih citokina pri infekciji virusom gripa nije u korelaciji sa težinom bolesti govori u prilog njihovoj pleiotropiji i izukrštanosti puteva signala.

Značaj citokina je različit kod različitih sojeva virusa gripa i različit je kod pojedinaca. Prilikom infekcije virusom gripa sojem H5N1 Hong Kong iz 1997. godine su istraživači smatrali da ovaj uzročnik jako utiče na pojavu proinflamatornih citokina (posebno TNF α) preko produkta NS gena (Cheung 2002, Lipatov 2005, Chan 2005). Prilikom istraživanja i identifikacije ostalih komponenti viriona koje uzrokuju oslobađanje citokina utvrđeno je da su dvostruko spiralna (ds) RNA koja je izolovana iz pluća miševa, kao i sintetisana RNA, pirogene kada ih se injicira u CNS komoru miša. Ovakvu dsRNA oslobađaju inficirane ćelije prilikom njihovog uginjavanja. Na taj način stimulišu produkciju citokina. Nedavne studije ukazuju da se u epitelnim ćelijama pluća stvori tzv. Toll-like receptor (TLR) 3, koji prepoznaje dsRNA. Utvrđeno je da TLR3 neposredno doprinosi imunskom odgovoru respiratornih epitelnih ćelija (Guillot 2005, Akira i Takeda 2004). Izgleda da kod čoveka početak prirodnog imunskog odgovora protiv gripa zavisi od prepoznavanja jednostruko spiralne RNA preko TLR 8, a ne preko detekcije dsDNA pomoću TLR 3. Febrilnost mogu da prouzrokuju i delići virusa, kao što su virozomi bez RNA koji sadrže samo virusni lipid, hemaglutinin i neuraminidazu. Pojedine komponente virusa, koje nisu pirogene, verovatno objašnjavaju činjenicu da vakcine sačinjene od celog virusa mogu da prouzrokuju gripu slične simptome, ali ne i vakcine sačinjene od podjedinica virusa (Brydon 2005).

Respiratorni simptomi

Kod gripa se obično javljaju hiperreaktivnost bronhijalnog sistema (Utell 1980, Little 1978), opstrukcija, uglavnom sitnih respiratornih puteva (Hall 1976) i smanjena sposobnost difuzije (Horner 1973). Hiperreaktivnost i opstrukcija bronhija može da traje duže vreme posebno kod alergijskih oboljenja (Kondo & Abe 1991), i kao rezultat imaju pojavu proinflamatornog citokinskog profila koji ometa mogućnost nastajanja tolerancije na aerosolizirane alergene (Tsitoura 2000).

Pri infekciji humanim virusom gripa vrlo retko se javlja teška upala alveola koja se vidi kao primarna virusna pneumonija. Obično se javlja obliku raširene upale donjeg i gornjeg respiratornog trakta uz gubitak cilijarnih ćelija, što dovodi do stvaranja hiperemijskih ili hijalinskih membrana i infiltracije neutrofila i mononuklearnih ćelija (Yeldandi & Colby 1994).

Za razliku od primarne virusne pneumonije kod humanog gripa česta je bakterijska superinfekcija i ona prouzrokuje ozbiljan morbiditet i letalitet, uglavnom kod starijih odraslih osoba. Utvrđeno je postojanje većeg broja činilaca koji bi mogli da objasne povećan rizik za pojavu bakterijske infekcije respiratornog trakta. Tu spadaju oštećenje kolumnarnih epitelnih ćelija zajedno sa prekidanjem epitelnoćelijske barijere (Mori 1995), smanjenje mukocilijarnog čišćenja (Levandovski 1985), povećanje adherencije bakterija (McCullers 2002) i funkcionalna oštećenja neutrofila (Abramson 1986, Cassidy 1988).

Citopatološki efekti

Humani grip dovodi do pojave složenih citopatoloških efekata, koji se većinom nalaze na kolumnarnim epitelnim ćelijama respiratornih organa, što rezultira nastajanjem akutnog oboljenja pluća i disajnih puteva. Infekcija i razmnožavanje virusa gripa u ćelijama respiratornih organa dovodi do oštećenja koje je prouzrokovano smanjenjem regulacije sinteze proteina u ćelijama domaćinima (Katze 1986, Sanz-Esquerro 1995) i do apoptoze (Wiley 2001a). Apoptoza, koja je nazvana i programirano uništenje ćelije, jeste serija definisanih događaja u ćeliji koji na kraju imaju za rezultat efikasno odstranjivanje ćelije i njenog sadržaja. Apoptozu mogu da iniciraju različiti mehanizmi, prate je morfološke promene, uključujući prekidanje citoskeletona, kondenzacija plazme i hromatina, gubitak funkcije mitohondrija, fragmentiranje DNA i konačno oblikovanje malih u membranu zavijenih delića poznatih pod nazivom apoptotska telašca, koja pometu fagocitarne ćelije kao što su makrofage i dendritične ćelije.

Apoptozu koju inicira virus gripa vode Fas-posredovani mehanizmi i Fas-nezavisni signali, kao što je stvaranje kompleksa FADD/caspase-8 pomoću protein kinaze R (PKR) koji otpočinje kaskadu caspase. PKR je ključni regulacioni element brojnih apoptotskih puteva i nju aktivira IFN. Aktivaciju IFN vrši dsDNA (Brydon 2005). Kao treći put ka apoptozi virus gripa preko virusne neuraminidaze aktivira transformacijski faktor rasta (TGF)- β . NA može da aktivira latentni TGF- β na površini ćelije tako da olakšava prelaz TGF- β u njegov aktivni oblik. TGF- β otpočinje signalnu kaskadu tako da aktivira c-Jun N-terminalne kinaze (JNK) ili stresom aktiviranu protein kinazu (SAPK). Rezultat je aktiviranje faktora transkripcije i povećavanje stvaranja proapoptoskog gena. Ovaj put, zajedno sa efektima na stabilnost malog proteina na mitohondrijskoj membrani, kojeg kodira alternativni +1 reading okvir u proteinu PB1 (Chen 2001), bio je povezan sa apoptozom limfocita i može da bude objašnjenje za limfopeniju koja se otkriva prilikom akutne infekcije.

Oštećenje tkiva pluća, koje nastaje prilikom infekcije virusom gripa, povezano je sa oksidativnim stresom ćelija, sa nastajanjem reaktivnih vrsta kiseonika (ROS) i sa aktiviranjem sintetaze-2 azotovog oksida koji vodi do nastajanja toksičnih reaktivnih azotovih intermedijara. Međutim antioksidanti su imali mali efekat na apoptozu u linijama bronhiolarnih ćelija *in vitro*.

Simptomi H5N1 infekcije

Ptičji grip je zarazno oboljenje ptica koje prouzrokuju sojevi virusa gripa tipa A. Do sada su sve epidemije visokopatogenog oblika bile prouzrokovane virusima gripa A podtipova H5 i H7. Za sada nije poznato da li ptičji grip kod ljudi (H5N1) ima iste citopatogene efekte kao što su već gore navedeni. Izvedeno je samo nekoliko ispitivanja na teškim ili na slučajevima sa smrtnim ishodom. Moguće je da se pojavi bezsimptomni oblik ili oblik oboljenja koji prate blagi simptomi (Buxton Bridges 2000, Katz 1999). Incidencija ovakvog oblika je potcenjena.

Najčešći početni simptomi gripa H5N1 kod čoveka su visoka temperatura i kod bolesnika, koji su tražili lekarsku pomoć u bolnicama, bili su registrovani pneumonija, faringitis, simptomi gastrointestinalnog trakta, konjunktivitis i akutni encefalitis (Yuen 1998, Tran 2004, Yuen i Wong 2005). Kod odraslih bolesnika, koji su imali početne znake pneumonije, oboljenje je često napredovalo u ARDS-u slično oboljenje. Kod obolelih od H5N1-gripa sa letalnim ishodom opisani vodeći sindrom je reaktivni hemofagocitni sindrom. Opisane tegobe sa plućima su organizovano difuzno oštećenje alveola i intersticijska fibroza. Od vanplućnih manifestacija opisani su opsežna centralno lobularna nekroza jetre, akutna tubularna nekroza bubrega i limfoidna deplecija (To 2001). Prisutnost virusa u opisanim promenama nije bila dokazana izolacijom, reakcijom reverzne transkriptaze ni pomoću imunskog bojenja. Utvrđeno je povećanje solubilnih interleukin-2 receptora, interleukina-6 i gama interferona. Pored toga je u plućnom tkivu drugih lica, koja su obolela od gripa H5N1, bilo utvrđeno prisustvo faktora tumorske nekroze alfa mRNA ([Uiprasertkul 2005](#)).

U poređenju sa humanim virusima H1N1 (Hayden 1998) za soj Hong Kong H5N1 iz 1997. g. bilo je utvrđeno da možda preko produkata NS gena aktivira proinflamatorne citokine, uključujući IL-10, IFN β , RANTES, IL-6, a posebno TNF α (Cheung 2002, Lipatov 2005, Chan 2005). Autori ovih studija postavili su hipotezu da kod smrtonosnih infekcija ljudi s ptičjim H5N1 podtipom početno razmnožavanje virusa aktivira hipercitokinemiju koju zakomplikuje reaktivni hemofagocitni sindrom. Ovaj sindrom pri infekciji sa uobičajenim humanim podtipovima ima patogenezu koja je različita od patogeneze pri zarazi ptičjim podtipom H5N1 (To 2001). Kod zaraze ptičjim H5N1 sa smrtnim ishodom nije bila nađena bakterijska superinfekcija (To 2001). Ovo bi moglo biti i pogrešno tumačeno zbog ranog smrtnog ishoda kod obolelih sa najtežim oblikom oboljenja, jer nije bilo vremena za razvoj superinfekcije.

Kako se grip prenosi na druge?

Prenos respiratornim putem uglavnom zavisi od produkcije delića i aerosola, koji sadrže viruse. Aerosoli nastaju prilikom govora i prilikom normalnog disanja. Za izlučivanje iz nosne duplje je potrebno kihanje i ono je vrlo efikasno ukoliko zaraza prouzrokuje sekreciju iz nosa. Kijanjem nastaje do 20.000 kapljica, kašljanjem samo nekoliko stotina. Najveće kapljice padaju na tlo već posle nekoliko metara. Ostale kapljice putuju na razdaljine koje su srazmerne njihovoj veličini. Kapljice promera 1-4 μ m mogu da ostanu suspendovane u vazduhu dugo vremena i dospevaju u donje disajne puteve. Ekperimenti prenosa gripa na dobrovoljcima su pokazali da bronhijalna inhalacija malih kapljica ima prednost u odnosu na inokulaciju velikih kapljica u gornje respiratorne puteve ili u konjunktivu (Alford 1966, Little 1979, Bridges 2003). Ukoliko virus u donjim respiratornim putevima počne rano da se razmnožava tada nastaju manje kapljice koje sadrže veći broj virusa i one imaju veću zaraznost jer se nije još uspostavio specifični imunski nadzor. Prenos H5N1 sa životinja na čoveka je moguć na različite načine: direktnim (kao i indirektnim) kontaktom sa inficiranom životinjom.

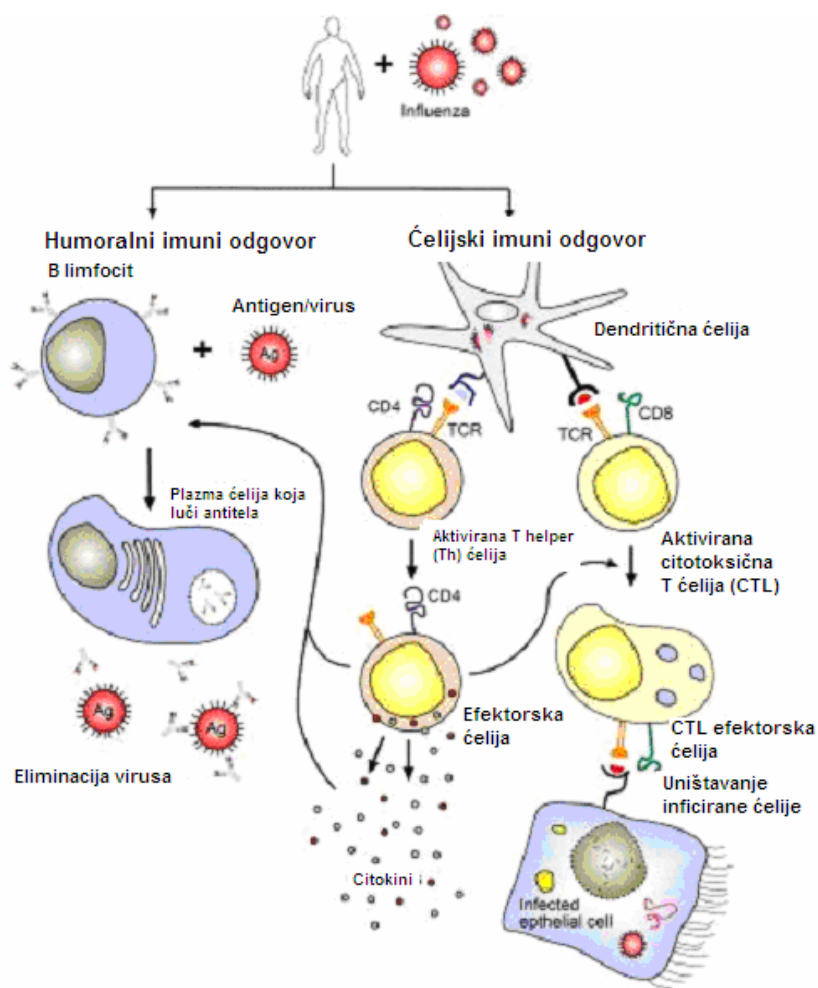
Da bi došlo do epidemije gripa A potreban je visok stepen obolevanja. Zbog toga se epidemije koje nastaju u zimskom periodu u Evropi i u severnoj Americi objašnjavaju činjenicom da u zimskom periodu dolazi do bližeg međusobnog kontakta ljudi koji obitavaju u zatvorenim prostorijama, koje se u tom periodu godine provetravaju u manjoj meri. Virus gripa je vrlo dobro adaptiran: iz još nepoznatih razloga najbolje preživljava na nižoj relativnoj vlažnosti i na nižim spoljašnjim temperaturama (Hemmes 1960). Ptičji grip (H5N1) izgleda da je manje adaptiran na prenos kapljicama: ima dužu inkubaciju (Chotpitayasunondh 2005), što teoretski u epidemiji dovodi do toga da početak pojave oboljenja kod većeg broja nije toliko istovremen kao kod klasičnog gripa. Razmnožavanje virusa ptičjeg gripa otpočinje prvo u digestivnom traktu, te se simptomi od strane organa za probavu pojave pre respiratornih simptoma, čak i do 7 dana ranije (Apisarnthanarak 2004). To omogućava da se specifični imunski odgovor javi pre

nego što virus počne da se širi preko inficiranih kapljica. Posledica toga je da se virus ptičjeg gripa mnogo manje razmnožava u nazofarinksu nego virus humanog gripa (Peiris 2004), ali je zato njegovo razmnožavanje produženo (Beigel 2005). Do sada je prenos H5N1 između ljudi retkost (Buxton Bridges 2000, Ungchusak 2005) i mogli bi reći da je neefikasan. U zaključku, virus ptičjeg gripa (H5N1) verovatno zahteva veći broj pasaža-prelazaka da bi stekao sposobnost da se prenosi sa čoveka na čoveka i da konačno dostigne stepen zaraznosti koja će biti dovoljno efikasna da može da prouzrokuje epidemiju ili pandemiju.

Imunologija

Grip uzrokuje akutnu zarazu kod domaćina i time pokreće kaskadu imunskih reakcija koje aktiviraju skoro sve delove sistema imunološke odbrane. Najveći deo početnog urođenog odgovora obuhvata oslobađanje citokina (IFN α/β), dotok neutrofilnih granulocita ili prirodnih ćelija ubica (Mandelboim 2001, Achdount 2003), kao i aktiviranje ćelija; sve to je odgovorno za pojavu akutnih kliničkih simptoma. Prirodni imunitet – otpornost je značajni preduslov za adaptacioni imunski odgovor. Prvo, ograničava početno razmnožavanje virusa i teret antigena. Drugo, aktivira za antigen specifične limfocite iz adaptacionog imunskog odgovora preko molekula koji su nastali na ćelijama prirodnog imuniteta prilikom njihove interakcije sa virusima (Slika 3). Virusi, da bi se usprotivili i da bi nadvladali ćelijski odgovor sa IFN α/β , pokreću mehanizme za stvaranje nestrukturnog proteina 1 (NS1). NS1 je verovatno sekvestar virusne dsRNA, koji sprečava ćelijske senzore da prepoznaju opasne molekule, a time sprečava i pokretanje sekrecije IFN α/β (Garcia-Sastre 1998, Garcia-Sastre 2005).

Za razvoj adaptacionog imunskog odgovora potrebno je nekoliko dana. Tada ovaj počne efikasno da deluje tako što pomaže u obuzdavanju širenja virusa, uništava virus i na kraju stvori memorijski odgovor za dugoročnu otpornost na ponovne infekcije homolognim virusom. Retko kada je bila nađena unakrsna zaštita unutar podtipova virusa gripa. Infekcije u suštini ne prouzrokuju stvaranje zaštite protiv podtipova ili među tipovima virusa A i B (Treanor 2005). Infekcija virusom gripa pokreće nastajanje sistemskih i lokalnih antitela (humoralni imunitet), kao i odgovor preko citotoksičnih T ćelija (ćelijski imunitet). Svaka vrsta ovih imunoloških odgovora je važna za ozdravljenje od akutnog oboljenja i za stvaranje otpornosti protiv ponovnih infekcija.



Slika 3. Humoralni i ćelijski imunski odgovor na infekciju virusom gripa. Humoralna grana imunskog sistema se sastoji od B-limfocita (*levo*), koji se posle interakcije sa virusom gripa diferenciraju u plazma ćelije koje luče antitela. Čelijski odgovor (*desno*) počinje sa prezentacijom antigena preko MHC I (crni) i II (plavi) molekula iz dendritičnih ćelija koji posle toga dovodi do aktivacije, proliferacije i diferencijacije antigen-specifičnih T ćelija (CD4 ili CD8). Ove ćelije steknu funkciju efektorskih ćelija tako da mogu direktno da pomažu u oslobađaju citokina ili da posreduju citotoksično posle prepoznavanja antigena (Pripremljeno iz Flint 2004). Nije prikazan nastanak ćelijskog memorijskog imunskog odgovora i različiti oblici prirodnog imuniteta prouzrokovanog gripom.

Humoralni imunski odgovor

Antitela (npr. IgG, IgA) stvaraju i luče plazma ćelije i to je finalna faza razvoja B ćelija. U toj fazi su B ćelije prepoznale antigen, izvršena je njihova stimulacija od strane CD4 T ćelija i citokina koji potiču iz T ćelija (Slika 3). Za razliku od T ćelija, B ćelije su u stanju da prepoznaju antigen u njegovom prirodnom obliku. Specifičnost antigena potiče od slučajnih preuređivanja gena koji upravljaju hipervarijabilnim regionom imunoglobulina u ćelijama još dok su u kostnoj srži. Neiskusne B ćelije posle toga prelaze u cirkulaciju i krvlju i limfotokom putuju kroz tkiva i limfoidne organe. U limfnim čvorovima neiskusne B ćelije prepoznaju antigen istog izvora preko antitela koja se nalaze na spoljašnjem omotaču tih ćelija, aktiviraju se i sa proizvodnje IgM prelaze na proizvodnju IgG (klasni prelaz). Pri tome im se povećava imunoglobulinska specifičnost i afinitet, te se preoblikuju u plazma ćelije ili u memorijske B ćelije tako što nastave da se dele u prisustvu citokina. Imunoglobulin IgA se transportuje kroz epitel sluzokože gornjih respiratornih puteva, tu obavlja funkciju neutralizacije i čišćenja virusne infekcije. Imunoglobulini IgG su prvenstveno odgovorni za zaštitu donjih disajnih puteva (Palladino 1995, Renegar 2004).

Infekcija virusom gripa rezultira sistemskom produkcijom antitela protiv oba glikoproteina virusa gripa HA i NA kao i antitela protiv M i NP proteina. Npr. HA specifični imunoglobulini uključujući IgM, IgA i IgG se pojavljuju unutar 2 nedelje

od inokulacije virusa. Razvoj anti-NA antitela je razvoj antitela koja inhibišu hemaglutinin, hemaglutinin-inhibitorna antitela. Vrhunac titrova antitela nastaje između 4-7 nedelja od infekcije, posle toga titrovi postepeno opadaju. Postojanje antitela je moguće utvrditi još godinama posle infekcije čak iako nije bilo ponovnog zaražavanja. Antitela protiv HA štite od obolevanja i od zaražavanja homolognim virusom i jedan od glavnih ciljeva imunizacije vakcinama protiv gripa je stvaranje neutrališućih antitela. Od infekcije štite serumska HA inhibitorna antitela u titru 1:40 ili višem, ili serumska neutralizaciona antitela u titru 1:8 ili višem. Za potpunu zaštitu starijih lica potreban je viši nivo antitela (Treanor 2005).

Za razliku od antitela protiv HA, antitela protiv NA ne neutrališu infektivnost virusa, umesto toga ona smanjuju efikasno oslobađanje virusa iz inficiranih ćelija (Johansson 1989). Razlog za to je da neuraminidaza razdvaja rezidue sijalične kiseline na ćelijskim receptorima na koje se kače novooblikovani virusi. Antitela protiv NA mogu da štite od obolevanja, rezultat njihovog delovanja je smanjeno izlučivanje virusa i ozbiljnosti simptoma bolesti. Slične efekte bi verovatno imala antitela protiv M2 proteina virusa gripa A, iako uopšteno gledajući antitela protiv unutrašnjih antigena nisu neutralizaciona, mnogo brže nestaju i izgleda da nemaju neku ulogu u zaštitnom imunitetu.

Imunski odgovor sluzokože protiv gripa bio je meren u sekretu iz nosa. Odgovor je značajan po prisustvu IgA i IgG₁ naspram HA. Nivoi sluzokožnih anti-HA IgG su u dobroj korelaciji sa nivoima imunoglobulina u serumu, što ukazuje na njihovo pasivno pronicanje iz sistemskih delova organizma. Imunoglobulini IgA nastaju lokalno. Istraživanja ukazuju da je otpornost na ponovnu infekciju uglavnom posredovana od strane lokalno nastalih HA specifičnih IgA, iako bi mogli biti u jednakoj meri važni i IgG (Renegar 2004). Bez obzira na to da li su antitela iz sluzokoža ili su samo sistemskog porekla, ona uspešno štite ukoliko su prisutna u dovoljnim koncentracijama. Optimalna zaštita nastaje kada su prisutna i serumska i antitela iz nosne sluzokože (Treanor 2005). U imunitetu protiv gripa antitela deluju tako što vrše neutralizaciju virusa ili liziranjem inficiranih ćelija preko ćelijske toksičnosti koju aktivira sistem komplementa ili preko ćelijske toksičnosti koja je zavisna od antitela.

Domaćini koji prežive akutnu virusnu infekciju i koji se oslobode virusa postaju imuni na ponovne infekcije istim virusom. Bez obzira na to, akutne infekcije prouzrokovane virusom gripa javljaju se ponovo uprkos aktivnoj imunskoj barijeri. Razlog je u tome što virus gripa ima strukturnu plastičnost i u stanju je da pretrpi brojne izmene aminokiselina u svojim strukturnim proteinima, a da mu se pri tome ne smanji infektivnost. Kao primer je molekul HA za vezivanje sa receptorom sa sijaličnom kiselinom, koji je odgovoran za ulazak virusa u ciljnu ćeliju koji je isto tako glavni cilj neutralizacionih antitela i za citotoksične T-limfocite. To ukazuje na neprekidni imunološki pritisak. Ova imunološka selekcija ili različitost, koja nastaje kao rezultat popravljivanja grešaka, izaziva blago variranje HA u vremenu. Ove varijacije omogućavaju virusu da izbegne humanom imunskom odgovoru (antigenski drift). Ove izmene predstavljaju i razlog za epidemijsko širenje gripa koje se javlja svake sezone, kao i razlog za potrebe stvaranja i izrade nove vakcine za svaku epidemijsku sezonu. Suprotno tome, antigenski šift predstavlja veliku promenu na spoljašnjim proteinima viriona, jer geni programiraju potpuno nove spoljašnje proteine. Ovakvu promenu može da prouzrokuje rekombinacija ili reasortiranje genoma ili segmenata genoma. Antigenski drift je moguć uvek, pri svakoj replikaciji genoma. Suprotno tome, antigenski šift se pojavi samo pod određenim okolnostima što je relativno retko i to je verovatni razlog za pojavu pandemija.

Ćelijski imunski odgovor

Za dendritične ćelije je dokazano da imaju centralnu ulogu u otpočinjanju i u vođenju odgovora pomoću T-limfocita. Dendritične ćelije su difuzno raspoređena

migratorna grupa leukocita koji potiču iz kostne srži. Specijalizovane su za razumevanje, transport, obradu i za predstavljanje antigena T-ćelijama (Slika 3). Osnovni obrazac je da dendritične ćelije, koje su raspoređene u plućima, uhvate napadački patogen. Pri tome se one aktiviraju i putuju u lokalne drenažne limfne žlezde (Legge i Braciale 2003). Uzorak antigena se preradi i pričvrsti se spoljašnjost dendritičnih ćelija u obliku peptida koji se predstave uz pomoć glavnih kompleksnih histokompatibilnih molekula (MHC) (Silver 1992). U limfnim žlezdama sada već zrele dendritične ćelije efikasno aktiviraju odgovor preko bilo koje od T-ćelija koja ima receptor koji je specifičan za strani-peptidni-MHC kompleks na spoljašnjosti dendritične ćelije (Shortman i Liu 2002). Unutrašnje antigene dobijene od virusa, koji je prouzrokovao infekciju, dendritične ćelije obrade i zatim ih predstave na MHC I molekulima CD8 T ćelijama. Spoljašnje antigene preko MHC II molekula predstave CD4 T limfocitima. Druga mogućnost je da dendritične ćelije, uhvaćene antigene iz inficiranih ćelija ili dobijene transferom od susednih dendritičnih ćelija, predstave u limfnoj žlezdi u kojoj se posle toga otpočne odgovor CD8 T ćelija preko procesa nazvanog bočno predstavljanje (Belz 2004, Heath 2004, Wilson 2006). Novoaktivirane T ćelije stiču funkciju efektnih ćelija i migriraju na mesto infekcije u plućima i tamo prenose svoje antivirusne aktivnosti (Slika 3).

Posle ozdravljenja ostaju posledice na imunološkoj memoriji tako da je pojedinac u stanju da lakše i bolje savlada buduću infekciju istim patogenom (Ahmed i Gray 1996). Memoriju održavaju antigenski specifične T ćelije koje su sada prisutne u većem broju što smanjuje potrebu za istovremenim stimulacionim signalima kao što je to potrebno kod virginalnih T ćelija. One brzo reaguju na ponovnu antigensku stimulaciju (Woodland i Scott 2005). Postoje i dokazi u prilog prikupljanja koje je specifično za lokaciju za grip specifičnih CD8 memorijskih T ćelija. One se prikupljaju u plućima čoveka zbog neposredne i momentane imunološke zaštite od ponovne infekcije pluća (de Bree 2005, Wiley 2001b). Tokom infekcije virusom gripa reaguju obe podgrupe memorijskih T ćelija CD4 i CD8 sa ciljem da intervenišu pri savladavanju ponovne infekcije virusom gripa, što je upravo obrnuto događajima prilikom primarne infekcije, kada čišćenje virusa gripa zavisi samo od CD8 T limfocita (Woodland 2003).

Druga važna pojava koju treba naglasiti prilikom infekcije virusom gripa, jeste da CD4 T limfociti pomažu B limfocitima da proizvode antitela anti-HA i anti-NA (Slika 3). Epitopi na HA, koje prepoznaju CD4 T helper ćelije, razlikuju se od epitopa koje prepoznaju antitela. Helper T ćelije (Th) su u stanju i da podstiču generisanje virus specifičnih CD8 citotoksičnih T limfocita. Th ćelije mogu da se razdele još najmanje na Th1 i Th2 ćelije što zavisi od vrste citokina koje proizvode. Kod miševa infekcija virusom gripa dovodi do snažnog odgovora Th1, ali su u plućima zaraženih životinja otkrili i prisustvo Th2 citokina (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10). Neki dokazi ukazuju na to da je zaštitni imunitet posredovan odgovorima sličnim Th1. Pri infekciji virusom gripa CD8 citotoksični T limfociti (CTL) prepoznaju epitope iz HA ili unutrašnje proteine M, NP, ili PB2 koji su predstavljeni na molekulima MHC klase I (Treanor 2005). Zavisno od njihove antigenske specifičnosti CTL ćelije mogu da budu podtip specifične ili u sličaju da prepoznaju unutrašnje antigene postaju široko unakrsno reaktivne sa virusom gripa A. Ekperimenti na životinjama uz korišćenje usvojenog transfera CTL-ova otkrili su u toku infekcije njihovo proliferisanje i migratorne obrasce (Lawrence i Braciale 2004, Lawrence 2005), kao i njihov potencijal za posredovanje ozdravljenja infekcije virusom gripa. Ipak, nisu bezuslovno potrebni za savladavanje virusa gripa.

T limfocitni odgovori su kod čoveka na vrhuncu oko 14 dana posle infekcije. Nivoi za grip specifičnih CTL-ova korelišu sa smanjivanjem trajanja i sa nivoom razmnožavanja virusa kod odraslih. Memorijske CD8 T ćelije imaju ulogu u ublažavanju težine oboljenja i u ubrzanju ozdravljenja prilikom reinfekcije. Nedavna istraživanja na životinjama ukazuju na to da se ponovni odgovor u plućima sastoji od više različitih faza koje se razlikuju vremenski i anatomski. Prvu fazu aktiviraju memorijske T ćelije koje su stalno u respiratornim putevima

(Woodland i Radall 2004). Važno je da su ćelije u stanju da reaguju na prve znakove infekcije kada je broj virusa još uvek mali. Pošto nisu u stanju da se razmnožavaju zbog ograničenja u sredini respiratornih puteva, one proizvode citokine koji ograničavaju razmnožavanje virusa i njegovo širenje u epitel. Drugu fazu reagovanja aktiviraju T ćelije koje se brzo prikupljaju u respiratornim putevima već u roku prvih nekoliko dana reagovanja. Treća faza je ekspanzija memorijskih T ćelija nastalih u sekundarnim limfnim organima koju aktiviraju antigeni. Ove memorijske ćelije se razmnožavaju u limfnim organima više dana i u respiratornim putevima se prikupljaju tek posle 5 dana od infekcije (Woodland i Randall 2004). Nije poznato da li je ove složene modele, koji su nastali u eksperimentima, moguće primeniti i na ljude. Ipak ovo je značajno saznanje za bolje razumevanje vrsta imunskih odgovora i generisanja i postojanja efikasnog reagovanja T ćelija tokom infekcije virusom gripa u cilju poboljšavanja budućih postupaka vakcinacije i oblikovanja vakcina protiv gripa.

Zaključak

Upoznali smo se sa načinom nastajanja akutnog febrilnog oboljenja respiratornih organa prouzrokovanog virusom gripa. Patogenezu karakteriše brzo razmnožavanje i širenje virusa u plućima što dovodi do lokalne i sistemske upale i do oslobađanja citokina. Ovi događaji zajedno sa adaptivnim imunskim odgovorom pomažu u smanjivanju broja virusa u eliminisanju virusa i aktiviranju ozdravljenja. Humoralni i ćelijski imunski odgovori, koji su prouzrokovani infekcijom ili vakcinacijom, pojedincima i stanovništvu omogućavaju dugotrajni zaštitni imunitet od srodnih sojeva virusa. Uzročnik gripa ipak može da podriva imunitet koji je stečen infekcijom ili vakcinacijom stalnim izmenama antigena – šift ili drift. To može da rezultira pojavom epidemija ili pandemija. Tehnički napredak, kao što su genetska i funkcionalna istraživanja pomoći će da se postigne bolje razumevanje patogeneze istorijskih sojeva gripa koji sada kruže. Ova saznanja i napredak u razumevanju antivirusnih imunskih odbrambenih mehanizama u plućima čoveka pomoći će u razvoju mogućnosti boljeg lečenja i razvoja efikasne vakcine protiv sadašnjih i budućih varijanti virusa i treba ih distribuirati svetu.

Literatura

- Abramson JS, Wheeler JG, Parce JW, et al. Suppression of endocytosis in neutrophils by influenza A virus in vitro. J Infect Dis 1986; 154: 456-63. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=3734493>
- Achdout H, Arnon TI, Markel G, et al. Enhanced recognition of human NK receptors after influenza virus infection. J Immunol 2003; 171: 915-23. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12847262>
- Ahmed R, Gray D. Immunological memory and protective immunity: understanding their relation. Science 1996; 272: 54-60. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8600537>
- Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. Nat Rev Immunol 2004; 4: 499-511. <http://amedeo.com/lit.php?id=15229469>
- Alford RH, Kasel JA, Gerone PJ, Knight V. Human influenza resulting from aerosol inhalation. Proc Soc Exp Biol Med 1966; 122: 800-4. <http://amedeo.com/lit.php?id=5918954>
- Apisarnthanarak A, Kitphati R, Thongphubeth K, et al. Atypical avian influenza (H5N1). Emerg Infect Dis 2004; 10: 1321-4. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15324560>

- Baigent SJ, McCauley JW. Influenza type A in humans, mammals and birds: determinants of virus virulence, host-range and interspecies transmission. *Bioessays* 2003; 25: 657-71. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12815721>
- Beigel JH, Farrar J, Han AM, et al. Avian influenza A (H5N1) infection in humans. *N Engl J Med* 2005; 353: 1374-85. <http://amedeo.com/lit.php?id=16192482>
- Belz GT, Smith CM, Kleinert L, et al. Distinct migrating and nonmigrating dendritic cell populations are involved in MHC class I-restricted antigen presentation after lung infection with virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 8670-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15163797>
- Bridges CB, Kuehnert MJ, Hall CB. Transmission of influenza: implications for control in health care settings. *Clin Infect Dis* 2003; 37: 1094-101. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14523774>
- Brydon EW, Morris SJ, Sweet C. Role of apoptosis and cytokines in influenza virus morbidity. *FEMS Microbiol Rev* 2005; 29: 837-50. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16102605>
- Buxton Bridges C, Katz JM, Seto WH. Risk of influenza A (H5N1) infection among health care workers exposed to patients with influenza A (H5N1), Hong Kong. *J Infect Dis* 2000; 181: 344-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10608786>
- Cassidy LF, Lyles DS, Abramson JS. Synthesis of viral proteins in polymorphonuclear leukocytes infected with influenza A virus. *J Clin Microbiol* 1988; 26: 1267-70. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=3045149>
- Chan MC, Cheung CY, Chui WH, et al. Proinflammatory cytokine responses induced by influenza A (H5N1) viruses in primary human alveolar and bronchial epithelial cells. *Respir Res* 2005; 6: 135. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16283933>
- Chen W, Calvo PA, Malide D, et al. A novel influenza A virus mitochondrial protein that induces cell death. *Nat Med* 2001; 7: 1306-12. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11726970>
- Cheung CY, Poon LL, Lau AS, et al. Induction of proinflammatory cytokines in human macrophages by influenza A (H5N1) viruses: a mechanism for the unusual severity of human disease? *Lancet* 2002; 360: 1831-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12480361>
- Chotpitayasunondh T, Ungchusak K, Hanshaoworakul W, et al. Human disease from influenza A (H5N1), Thailand, 2004. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 201-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15752436>
- Cox NJ, Kawaoka Y. Orthomyxoviruses: Influenza. In: Topley & Wilson's *Microbiology and Microbial Infections*, 9th ed., Collier L, Balows A., Sussman M., eds., Edward Arnold, London Vol.1, 1997: 385-433.

- Daniels RS, Douglas AR, Skehel JJ, et al. Antigenic analyses of influenza virus haemagglutinins with different receptor-binding specificities. *Virology* 1984; 138: 174-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=6208680>
- de Bree GJ, van Leeuwen EM, Out TA, Jansen HM, Jonkers RE, van Lier RA. Selective accumulation of differentiated CD8+ T cells specific for respiratory viruses in the human lung. *J Exp Med* 2005; 202: 1433-42. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16301748>
- Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, Skalka AM. Principles of virology. Molecular biology, pathogenesis, and control of animal viruses. 2nd Edition, ASM Press, Washington, DC, USA, 2004
- Gamblin SJ, Haire LF, Russell RJ, et al. The structure and receptor binding properties of the 1918 influenza hemagglutinin. *Science* 2004; 303: 1838-42. Epub 2004 Feb 5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14764886>
- Garcia-Sastre A, Egorov A, Matassov D, et al. Influenza A virus lacking the NS1 gene replicates in interferon-deficient systems. *Virology* 1998; 252: 324-30. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9878611>
- Garcia-Sastre A. Antiviral response in pandemic influenza viruses. *Emerg Infect Dis* 2006 (in press).
- Goto H, Kawaoka Y. A novel mechanism for the acquisition of virulence by a human influenza A virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 10224-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9707628>
- Guillot L, Le Goffic R, Bloch S, et al. Involvement of toll-like receptor 3 in the immune response of lung epithelial cells to double-stranded RNA and influenza A virus. *J Biol Chem* 2005; 280: 5571-80. Epub 2004 Dec 3. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15579900>
- Hall WJ, Douglas RG Jr, Hyde RW, Roth FK, Cross AS, Speers DM. Pulmonary mechanics after uncomplicated influenza A infection. *Am Rev Respir Dis* 1976; 113: 141-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=1247227>
- Hayden FG, Fritz R, Lobo MC, Alvord W, Strober W, Straus SE. Local and systemic cytokine responses during experimental human influenza A virus infection. Relation to symptom formation and host defense. *J Clin Invest* 1998; 101: 643-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9449698>
- Heath WR, Belz GT, Behrens GM, et al. Cross-presentation, dendritic cell subsets, and the generation of immunity to cellular antigens. *Immunol Rev* 2004; 199: 9-26. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15233723>
- Hemmes JH, Winkler KC, Kool SM. Virus survival as a seasonal factor in influenza and polimyelitis. *Nature* 1960; 188: 430-1. <http://amedeo.com/lit.php?id=13713229>
- Horner GJ, Gray FD Jr. Effect of uncomplicated, presumptive influenza on the diffusing capacity of the lung. *Am Rev Respir Dis* 1973; 108: 866-9. <http://amedeo.com/lit.php?id=4741881>

- Hulse DJ, Webster RG, Russell RJ, Perez DR. Molecular determinants within the surface proteins involved in the pathogenicity of H5N1 influenza viruses in chickens. *J Virol* 2004; 78: 9954-64. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15331729>
- Ishikawa E, Nakazawa M, Yoshinari M, Minami M. Role of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in immune response to influenza virus infection in mice. *J Virol* 2005; 79: 7658-63. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15919918>
- Johansson BE, Bucher DJ, Kilbourne ED. Purified influenza virus hemagglutinin and neuraminidase are equivalent in stimulation of antibody response but induce contrasting types of immunity to infection. *J Virol* 1989; 63: 1239-46. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=2915381>
- Katz JM, Lim W, Bridges CB, et al. Antibody response in individuals infected with avian influenza A (H5N1) viruses and detection of anti-H5 antibody among household and social contacts. *J Infect Dis* 1999; 180: 1763-70. <http://amedeo.com/lit.php?id=10558929>
- Katze MG, DeCorato D, Krug RM. Cellular mRNA translation is blocked at both initiation and elongation after infection by influenza virus or adenovirus. *J Virol* 1986; 60: 1027-39. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=3023655>
- Kondo S, Abe K. The effects of influenza virus infection on FEV1 in asthmatic children. The time-course study. *Chest* 1991; 100: 1235-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=1935277>
- Lawrence CW, Braciale TJ. Activation, differentiation, and migration of naive virus-specific CD8+ T cells during pulmonary influenza virus infection. *J Immunol* 2004; 173: 1209-18. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15240712>
- Lawrence CW, Ream RM, Braciale TJ. Frequency, specificity, and sites of expansion of CD8+ T cells during primary pulmonary influenza virus infection. *J Immunol* 2005; 174: 5332-40. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15843530>
- Legge KL, Braciale TJ. Accelerated migration of respiratory dendritic cells to the regional lymph nodes is limited to the early phase of pulmonary infection. *Immunity* 2003; 18: 265-77. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12594953>
- Levandowski RA, Gerrity TR, Garrard CS. Modifications of lung clearance mechanisms by acute influenza A infection. *J Lab Clin Med* 1985; 106: 428-32. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=4045299>
- Lipatov AS, Andreansky S, Webby RJ, et al. Pathogenesis of Hong Kong H5N1 influenza virus NS gene reassortants in mice: the role of cytokines and B- and T-cell responses. *J Gen Virol* 2005; 86: 1121-30. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15784906>

- Little JW, Douglas RG Jr, Hall WJ, Roth FK. Attenuated influenza produced by experimental intranasal inoculation. *J Med Virol* 1979; 3: 177-88. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=479857>
- Little JW, Hall WJ, Douglas RG Jr, Mudholkar GS, Speers DM, Patel K. Airway hyperreactivity and peripheral airway dysfunction in influenza A infection. *Am Rev Respir Dis* 1978; 118: 295-303. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=358877>
- Mandelboim O, Lieberman N, Lev M, et al. Recognition of haemagglutinins on virus-infected cells by NKp46 activates lysis by human NK cells. *Nature* 2001; 409: 1055-60. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11234016>
- Matrosovich M, Tuzikov A, Bovin N, et al. Early alterations of the receptor-binding properties of H1, H2, and H3 avian influenza virus hemagglutinins after their introduction into mammals. *J Virol* 2000; 74: 8502-12. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10954551>
- Matrosovich MN, Matrosovich TY, Gray T, Roberts NA, Klenk HD. Human and avian influenza viruses target different cell types in cultures of human airway epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 4620-4. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15070767>
- McCullers JA, Rehg JE. Lethal synergism between influenza virus and *Streptococcus pneumoniae*: characterization of a mouse model and the role of platelet-activating factor receptor. *J Inf Dis* 2002; 186: 341-50. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12134230>
- Mori I, Komatsu T, Takeuchi K, Nakakuki K, Sudo M, Kimura Y. In vivo induction of apoptosis by influenza virus. *J Gen Virol* 1995; 76: 2869-73. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=7595397>
- Olofsson S, Kumlin U, Dimock K, Arnberg N. Avian influenza and sialic acid receptors: more than meets the eye? *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 184-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15766653>
- Palladino G, Mozdzanowska K, Washko G, Gerhard W. Virus-neutralizing antibodies of immunoglobulin G (IgG) but not of IgM or IgA isotypes can cure influenza virus pneumonia in SCID mice. *J Virol* 1995; 69: 2075-81. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=7884853>
- Park CH, Ishinaka M, Takada A. The invasion routes of neurovirulent A/Hong Kong/483/97 (H5N1) influenza virus into the central nervous system after respiratory infection in mice. *Arch Virol* 2002; 147: 1425-36. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12111416>
- Peiris JS, Yu WC, Leung CW, et al. Re-emergence of fatal human influenza A subtype H5N1 disease. *Lancet* 2004; 363: 617-9. <http://amedeo.com/lit.php?id=14987888>
- Piqueras B, Connolly J, Freitas H, Palucka AK, Banchereau J. Upon viral exposure myeloid and plasmacytoid dendritic cells produce three waves of distinct chemokines to recruit immune effectors. *Blood* 2005; Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16317096>

- Renegar KB, Small PA Jr, Boykins LG, Wright PF. Role of IgA versus IgG in the control of influenza viral infection in the murine respiratory tract. *J Immunol* 2004; 173: 1978-86. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15265932>
- Sanz-Ezquerro JJ, Zurcher T, de la Luna S, Ortin J, Nieto A. The amino-terminal one-third of the influenza virus PA protein is responsible for the induction of proteolysis. *J Virol* 1996; 70: 1905-11. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8627716>
- Schmitz N, Kurrer M, Bachmann MF, Kopf M. Interleukin-1 is responsible for acute lung immunopathology but increases survival of respiratory influenza virus infection. *J Virol* 2005; 79: 6441-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15858027>
- Shortman K, Liu YJ. Mouse and human dendritic cell subtypes. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 151-61. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11913066>
- Silver ML, Guo HC, Strominger JL, Wiley DC. Atomic structure of a human MHC molecule presenting an influenza virus peptide. *Nature* 1992; 360: 367-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=1448154>
- Taubenberger JK. Influenza virus hemagglutinin cleavage into HA1, HA2: no laughing matter. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 9713-5. <http://amedeo.com/lit.php?id=9707539>
- To KF, Chan PK, Chan KF, et al. Pathology of fatal human infection associated with avian influenza A H5N1 virus. *J Med Virol* 2001; 63: 242-6. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11170064>
- Tran TH, Nguyen TL, Nguyen TD, et al. Avian influenza A (H5N1) in 10 patients in Vietnam. *N Engl J Med* 2004; 350: 1179-88. <http://amedeo.com/lit.php?id=14985470>
- Treanor JJ. Influenza virus. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6th ed. Churchill Livingstone; 2004: 2060-2085.
- Tsitoura DC, Kim S, Dabbagh K, Berry G, Lewis DB, Umetsu DT. Respiratory infection with influenza A virus interferes with the induction of tolerance to aeroallergens. *J Immunol* 2000; 165: 3484-91. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10975869>
- Tumpey TM, Basler CF, Aguilar PV, et al. Characterization of the reconstructed 1918 Spanish influenza pandemic virus. *Science* 2005; 310: 77-80. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16210530>
- Uiprasertkul M, Puthavathana P, Sangsiriwut K, et al. Influenza A H5N1 replication sites in humans. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 1036-41. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16022777>
- Ungchusak K, Auewarakul P, Dowell SF, et al. Probable person-to-person transmission of avian influenza A (H5N1). *N Engl J Med* 2005; 352: 333-40. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15668219>

- Utell MJ, Aquilina AT, Hall WJ, et al. Development of airway reactivity to nitrates in subjects with influenza. *Am Rev Respir Dis* 1980; 121: 233-41. <http://amedeo.com/lit.php?id=7362132>
- Weis W, Brown JH, Cusack S, Paulson JC, Skehel JJ, Wiley DC. Structure of the influenza virus haemagglutinin complexed with its receptor, sialic acid. *Nature* 1988; 333: 426-31. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=3374584>
- Wiley JA, Cerwenka A, Harkema JR, Dutton RW, Harmsen AG. Production of interferon-gamma by influenza hemagglutinin-specific CD8 effector T cells influences the development of pulmonary immunopathology. *Am J Pathol* 2001a; 158: 119-30. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11141485>
- Wiley JA, Hogan RJ, Woodland DL, Harmsen AG. Antigen-specific CD8(+) T cells persist in the upper respiratory tract following influenza virus infection. *J Immunol* 2001b; 167: 3293-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11544317>
- Wiley JA, Tighe MP, Harmsen AG. Upper respiratory tract resistance to influenza infection is not prevented by the absence of either nasal-associated lymphoid tissue or cervical lymph nodes. *J Immunol* 2005; 175: 3186-96. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16116209>
- Wilson NS, Behrens GMN, Lundie RJ. Systemic activation of dendritic cells by TLR ligands or malaria infection impairs cross cross-priming and anti-viral immunity. *Nat Immunol* 2006 (in press)
- Woodland DL. Cell-mediated immunity to respiratory virus infections. *Curr Opin Immunol* 2003; 15: 430-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12900275>
- Woodland DL, Randall TD. Anatomical features of anti-viral immunity in the respiratory tract. *Semin Immunol* 2004; 16: 163-70. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15130500>
- Woodland DL, Scott I. T cell memory in the lung airways. *Proc Am Thorac Soc* 2005; 2: 126-31. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16113480>
- Yeldandi AV, Colby TV. Pathologic features of lung biopsy specimens from influenza pneumonia cases. *Hum Pathol* 1994; 25: 47-53. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8314260>
- Yen HL, Herlocher LM, Hoffmann E, et al. Neuraminidase inhibitor-resistant influenza viruses may differ substantially in fitness and transmissibility. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 4075-84. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16189083>
- Yuen KY, Chan PK, Peiris M, et al. Clinical features and rapid viral diagnosis of human disease associated with avian influenza A H5N1 virus. *Lancet* 1998; 351: 467-71. <http://amedeo.com/lit.php?id=9482437>

- Yuen KY, Wong SS. Human infection by avian influenza A H5N1. Hong Kong Med J 2005; 11: 189-99. Abstract:
<http://amedeo.com/lit.php?id=15951584>