

Virusologija humane influencee

[Lutz Gürtler](#)

Prevod: Dimitrije Ponomarev

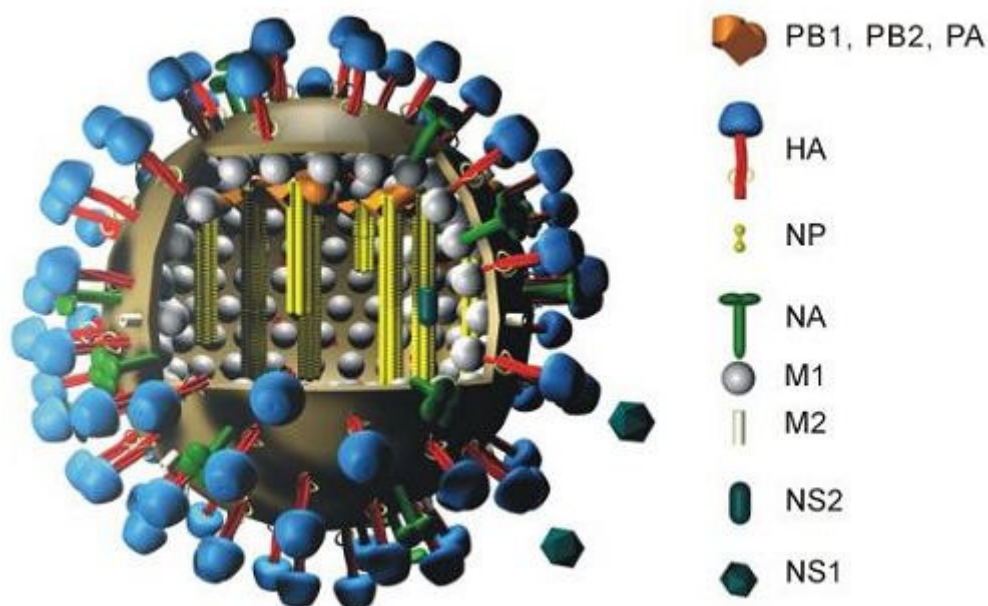
Virusi humane influence su članovi porodice ortomiksovirusa, koju čine rodovi virusa influence A, B i C i Thogovirus (kod krpelja). Kod ljudi, samo su virusi influence A i B od epidemiološkog značaja.

Glavne antigenske determinante virusa influence A i B su transmembranski glikoproteini hemaglutinin (H ili HA) i neuraminidaza (N ili NA). Na osnovu antigenosti ovih glikoproteina virusi influence A dalje se dele na šesnaest H (H1-H16) i devet N (N1-N9) podtipova. Puna nomenklatura izolata virusa influence zahteva navođenje tipa virusa (A ili B), domaćinske vrste (izostavlja se ako je u pitanju čovek), geografskog porekla, serijskog broja, godine izolacije i, najzad, H i N varijanti u zagradi, naprimer: A/guska/Guangdong/1/96 (H5N1).

Virusi influence obično se prenose vazduhom putem kapljica i kontaminiraju sluznicu respiratornog trakta. Oni su u stanju da prodru kroz mucinski sloj na spoljašnjoj površini respiratornog trakta i uđu u ćelije respiratornog epitela kao i u druge ćelije. Replikacija je veoma brza: posle samo 6 sati prvi virusi influence se rasipaju iz inficiranih ćelija. Deo virusnih proteina, kao što je fuzioni peptid i NS2, deluju kao toksini i podstiču produkciju virusa influence. Brzi porast bakterija, najčešće *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* i *Haemophilus influenzae*, može početi u vrlo ranoj fazi replikacije virusa (za više podataka, videti poglavlje [Patogeneza](#)).

Struktura

Virusi influence su pleomorfnog izgleda, sačinjeni od jednostruke RNA sa omotačem, prosečnog prečnika 120 nm. Površinu partikule prekrivaju izbočine hemaglutinina i neuraminidaze (Slika 1).



Slika 1. Struktura virusa influence A. copyright za sliku Dr. Markus Eickmann, Institute for Virology, Marburg, Germany. Upotrebjeno sa dozvolom. - <http://www.biografix.de>

Genomi virusa influenzae A i B sačinjeni su od 8 posebnih segmenata prekrivenih nukleokapsidnim proteinom. Zajedno, grade ribonukleoprotein (RNP), a svaki segment kodira jedan funkcionalno važan protein:

1. polimeraza B2 protein (PB2),
2. polimeraza B1 protein (PB1),
3. polimeraza A protein (PA),
4. hemaglutinin (HA ili H),
5. nukleokapsidni protein (NP),
6. neuraminidaza (NA ili N),
7. matriksni protein (M): M1 gradi matriks; samo kod virusa influenzae A M2 se ponaša kao jonska kanalska pumpa za smanjenje ili održavanje pH endosoma,
8. nestrukturani protein (NS) njegova je funkcija hipotetska.

Aktivna RNA-RNA polimeraza, koja je odgovorna za replikaciju i transkripciju, formira se iz PB2, PB1 i PA. Ona poseduje endonukleaznu aktivnost i vezana je za RNP. Proteini NS1 i NS2 imaju regulatornu funkciju da podstiču sintezu virusnih komponenti u zaraženoj ćeliji (videti dole).

Omotač virusa je lipidna dvoslojna membrana koja vodi poreklo od ćelije koja proizvodi virus i koja sadrži izbočine koje štrče, a čine ih HA i NA, kao i M2 protein. Lipidni sloj prekriva matriks koji sačinjava M1 protein.

Influenca C virus ima samo 7 segmenata genoma, i na svojoj površini nosi samo jedan glikoprotein. Pošto on ima nisku patogenost kod ljudi, ovde se neće detaljnije razmatrati.

Hemaglutinin

Hemaglutinin (HA ili H) je glikoprotein koji sadrži 2 ili 3 mesta glikozilacije, sa molekulskom masom od približno 76 000. Prolazi kroz lipidnu membranu tako da se veći deo, koji sadrži bar 5 antigenskih domena, prezentuje na spoljašnjoj površini. HA služi kao receptor, vezujući se za sialnu kiselinu (N-acetil neuraminsku kiselinu) i indukuje penetraciju unutrašnjeg dela virusne čestice, tako što se fuzioniše sa membranom. Hemaglutinin je glavni antigen virusa influenzae, a antigenska mesta su A, B (nosi mesto vezivanja receptora), C, D i E. Antigenska mesta se prezentuju kod glave molekula, dok su 'noge' utopljene u lipidni sloj. Telo molekula HA sadrži region peteljke i fuziogeni domen koji je potreban za fuziju membrane kada virus inficira novu ćeliju. Pri niskoj vrednosti pH, fuzioni peptid se okreće ka unutrašnjosti ćelije. HA formira trimere, a nekoliko trimera stvara fuzionu poru.

Izražene mutacije na antigenskim mestima smanjuju ili inhibišu vezivanje neutrališućih antitela i tako omogućavaju da se novi podtip širi u neimunnoj populaciji. Ovaj fenomen naziva se **antigenski drift** ili **antigenski otklon**. Mutacije koje ga izazivaju su molekulske objašnjenje za sezonske epidemije influenzae tokom zime u umerenim klimatskim zonama. Imunskom odgovoru na antigenska mesta HA sledi proizvodnja neutrališućih antitela, što je osnova za rezoluciju infekcije u obolelom pojedincu i ponekad predstavlja deo unakrsnog imuniteta koji se nalazi kod starijih osoba kad se pojavi nov pandemijski soj.

Antigenski šift ili **antigenski pomak** takođe nazvan genomskim preraspoređivanjem ili samo preraspoređivanjem – javlja se kad se izmeni HA u nekom virusu, naprimer kada se H1 zameni sa H5 što rezultuje nastankom mozaičnog virusa. Ovo se može dogoditi kada je ćelija inficirana sa 2 različita virusa influenzae i kada se tokom replikacije izmene segmenti njihovih genoma.

Ova pojava preraspoređivanja genoma često se viđa kod vodenih ptica, posebno pataka. Iako su inficirane ptice retko imaju simptome, virus se rasipa kroz njihovu stolicu tokom nekoliko meseci.

Neuraminidaza

Kao i HA, neuraminidaza (NA ili N) je glikoprotein koji se takođe nalazi kao izbočina na površini virusa. On formira tetramerske strukture prosečne molekulske mase od 220 000. Molekul NA prezentuje svoj glavni deo na spoljašnjoj površini ćelije, prolazi celom dubinom lipidnog sloja i ima mali 'rep' u citoplazmi.

NA deluje kao enzim, otkida sijalnu kiselinu iz molekula HA, iz drugih molekula NA i glikoproteina i glikolipida ćelijske površine. Takođe ima ulogu kao važno antigensko mesto i, uz to, izgleda da je neophodna za prodiranje virusa kroz mucinski sloj respiratornog epitela.

Antigenski pomak može da se javi i kod NA. Ona nosi nekoliko važnih aminokiselinskih ostataka koji, ako mutiraju, mogu dovesti do rezistencije na inhibitore neuraminidaze. Zapažene su sledeće mutacije:

- R292K
- H274Y, R152K, E119V

Slova predstavljaju aminokiseline (R – arginin, K – lizin, H – histidin, Y – tirozin, E – glutaminsku kiselinu, V – valin): prvo slovo predstavlja originalnu aminokiselinu, a poslednje aminokiselinu nastalu posle mutacije.

Kada aminokiselina arginin (R) zameni lizin (K) na poziciji 292 neuraminidaznog glikoproteina, može se javiti kompletna rezistencija. Mutacija R u K povezana je sa zamenom jednog nukleotida iz AGA u AAA u N genu. Pozicija 292 je veoma važna jer mutacija može izazvati rezistenciju ne samo protiv supstancije oseltamivir već i protiv zanamavira i još dva nova prekursora aktivnih lekova.

M2 protein

Kada virusna čestica dospe u endosom, aktivnost M2 jonskog kanala se pojačava tako da joni naviru u česticu, stvarajući nizak pH. Kao rezultat ovoga remeti se veza HA-M1, čestica se otvara, fuzioni peptid unutar HA se translocira i HA se fuzioniše sa unutrašnjim slojem endosomske membrane. Ribonukleoproteini se oslobađaju u citoplazmu ćelije i transportuju do jedra, gde se kompleks cepa i počinje sinteza virusne RNA.

Aktivnost M2 proteina inhibišu amantadin, rimantadin i srodne supstancije.

Moguće funkcije NS1

Humana informaciona RNA (mRNA) nosi poli-A rep na svom 5' kraju. NS1, molekulske mase 26 000, formira dimer koji inhibiše izlazak iz jedra mRNA koji sadrže poli-A, tako dajući prednost virusnoj RNA koja se transportuje do ribosoma i prenosi se translira. NS1 možda inhibiše i uplitanje pre-mRNA. Uz to, NS1 je verovatno u stanju da suprimiše odgovor na interferon ćelija inficiranih virusom, što dovodi do neporemećene produkcije virusa.

Moguća funkcija NS2

NS2 je mali molekul, molekulske mase 11 000. U virusnoj čestici verovatno je vezan za M1 protein. Veruje se da je njegova funkcija da olakša transport nosivih RNP iz jedra u citoplazmu da bi se ubrzala produkcija virusa.

Ciklus replikacije

Adsorpcija virusa

Virus influence vezuje se na površinu ćelije pričvršćivanjem spoljašnjeg vrha HA na sijalnu kiselinu glikoproteina i glikolipida ćelije. Veza sijalne kiseline sa pretposlednjom galaktozom, bilo alfa 2,3 (kod ptica) ili alfa 2,6 (kod ljudi), određuje specifičnost prema

domaćinu. Pošto ugljeni hidrati koji prezentuju sijalnu kiselinu postoje na nekoliko vrsta ćelija u organizmu, sposobnost vezivanja HA objašnjava zašto mogu biti inficirane razne vrste ćelija.

Ulazak virusa

Posle vezivanja virus ulazi u ćeliju pomoću procesa endocitoze preko receptora obloženih klatrinom. Kada se dospe u unutrašnjost ćelije, molekuli klatrina se oslobađaju i vezikula koja sadrži ceo virus fuzioniše se sa endosomima. Sadržaj vezikule obično biva digeriran uz stepenasto sniženje pH u fagosomu.

Oslobađanje virusa od omotača

Kada se dostigne određeni nivo, snižavanje pH prestaje usled dejstva M2 proteina koji indukuje delimično oslobađanje fuzionog peptida HA. Ovo omogućava fuziju HA sa membranom vezikule i oslobađanje ribonukleoproteina (RNP) u citoplazmu, kao što je gore opisano. Jonski priliv iz endosoma prema virusnoj čestici dovodi do razbijanja veza različitih virusnih proteina; prekida se agregacija M1 proteina i RNP više ne adheriraju za kompleks M1-protein. Oslobađanje virusa od omotača završeno je 20-30 minuta od vezivanja virusa za membranu.

Sinteza virusne RNA i virusnih proteina

RNP se transportuju do jedra, gde se polimerazni kompleks vezuje za virusnu RNA, cepa je svojom endonukleaznom aktivnošću i istovremeno dovodi do izduživanja. Produkciju virusne RNA ograničava NP u korist mRNA. I jedna i drugi transportuju se do citoplazme, gde se na ribosomu stvaraju virusni proteini. Deo virusne mRNA se upliće pod dejstvom ćelijskih enzima, tako da konačno mogu da se bez daljeg cepanja sintetišuju virusni proteini kao što je M1 i NS2. Neki od novosintetisanih virusnih proteina transportuju se do jedra gde se vezuju na virusnu RNA da bi stvorili RNP. Drugi novosintetisani virusni proteini obrađuju se u endoplazmatskom retikulumu i Golgijevom aparatu, gde dolazi do glikozilacije. Ovi modifikovani proteini transportuju se do ćelijske membrane, gde se zabijaju u lipidni dvosloj. Kada dostignu dovoljno visoku koncentraciju na plazmatskoj membrani, RNP i M1 proteini se gomilaju i kondenzuju da bi stvorili virusnu česticu. Konačno, čestica se istiskuje iz membrane i oslobodiće se neuraminidaznom aktivnošću. Vreme od ulaska do nastanka novog virusa iznosi približno 6 sati.

Rasipanje virusa i infektivnost (zaraznost)

Imunohistohemijske slike pokazuju da su fokusi ćelija koje proizvode viruse grupisani u sluzavom sloju respiratornog trakta, u crevu i, čak, u slojevima endotela, miokarda i mozga. Nazalnim sekretom rasipaju se milioni virusnih čestica po mililitru, tako da jedna čestica aerosola od 0,1 µl sadrži više od 100 virusnih čestica. Jedinična HID (humana infektivna doza) virusa influence može biti između 100 i 1 000 čestica. Bar u ranom toku infekcije, virus može da se nađe i u krvi i drugim telesnim tečnostima.

Infektivnost virusnih čestica influence održava se zavisno od temperature, PH i saliniteta vode i ultraljubičastog zračenja. Na 4°C, poluživot infektivnosti je oko 2-3 sedmice u vodi. Usled konformacije lipidnog dvosloja, preživljavanje pod normalnim uslovima okruženja trebalo bi da je kraće.

Infektivnost čestica virusa influence lako se inaktiviše dezinficijensima na bazi alkohola, hlora ili aldehida. Koliko je poznato, temperature preko 70°C će uništiti infektivnost za nekoliko sekundi.

Literatura

1. Nicholson KG, Webster RG, Hay AJ. Textbook of Influenza. Blackwell Science, Oxford, 1998.

2. Lamb RA, Krug RM. Orthomyxoviridae: The viruses and their Replication. In: Fields Virology fourth edition, Knipe DM, Howley PM eds, Lippincott, Philadelphia 2001, pp 1487-1531

3. Wright PF, Webster RG. Orthomyxoviruses. In: Fields Virology fourth edition, Knipe DM, Howley PM eds, Lippincott, Philadelphia 2001, pp 1533-1579

Specijalna referenca

4. Wetherall NT, Trivedi T, Zeller J, Hodges-Savola C, McKimm-Breschkin JL, Zambon M, Hayden FG. Evaluation of neuraminidase enzyme assays using different substrates to measure susceptibility of influenza virus clinical isolates to neuraminidase inhibitors: report of the neuraminidase inhibitor susceptibility network. J Clin Microbiol 2003; 41: 742-750. Full text at <http://jcm.asm.org/cgi/content/full/41/2/742?view=long&pmid=12574276>