بیماریزایی ویروس انفلوانزای فوق حاد(HPAI) در پستانداران:

در سال های اخیر بروز انفلوآنزای فوق حاد پرندگان (HPAI) در طیور روند افزایشی داشته است. گاهی اوقات این موارد کانونی ممکن است باعث انتقال ویروس آنفلوآنزا به انسان و سایر پستانداران شود که دارای علائمی با طیف گسترده، ازالتهاب ملتحمه چشم تا ذات الریه و مرگ می باشد. در اینجا بر اساس اطلاعات علمی موجود، موارد برجسته و تعیین کننده بیماری زایی ویروس (HPAI) در پستانداران بطور خلاصه مورد بحث قرار می گیرد، به وضوح مکانیزم معمول در خصوص گونه A ویروس آنفلوانزای HPAI و تحت تیپ های آن، علاوه بر تطابق ویروس های آنفلوانزا در پستانداران، قابلیت بیماریزایی را بدست می آورند و یا از دست می دهند.

مقدمه:

هر چند که آنفلوانزای A عموما بعنوان عامل اپیدمی آنفلوانزای سالانه در انسان معرفی می گردند، ولی پرندگان آبزی وحشی بعنوان مخازن طبیعی این ویروس در نظر گرفته می شوند. ویروس های آنفلوانزای نوع A به دوتحت گروه بر اساس ساختار آنتی ژنی پروتئین های هماگلوتینین HA و نور امینیداز NA تقسیم می شوند. در طی چرخش ویروس در طیور، این ویروس ها ممکن است در زیر گونه H5 و H7 در جایگاه اسید امینه(AA) اصلی، در محل جهش ژنی HA دچار تغیراتی شوند که باعث امکان تغییر یا بیماری زایی متفاوت و قابلیت افزایش مرگ و میر تا میزان صد درصد بشوند. گاه و بیگاه ویروس A انفلوانزای طیور از سد گونه اختصاصی(پرنده) گذشته و به انسان سرایت میکند و یک پاندمی می تواند از انتقال این چنین ویروسی به انسان شکل بگیرد که منجر به مرگ و میر بالا گردد.

معرفی تحت تیپ H1N1 ویروس A در جمعیت انسانی در سال ۱۹۱۸ میلادی احتمالا بهترین مثال از یک پاندمی می باشد. ۵۰ میلیون مرگ و میر در انسان که تحت عنوان پاندمی انفلوانزا اسپانیایی نامگذاری شده است. در سال های اخیر افزایش رخداد (HPAI) در طیور و انتقال گاه و بیگاه این ویروس ها به انسان دلیل اصلی ارتباط این ویروس ها به احتمال پاندمی جدید ویروس A انفلوانزا می باشد. چندین طغیان انفلوانزای غیر فوق حاد LPAI و فوق حاد HPAI که منجر به انتقال عامل بیماری به انسان گردید. بیشتر این عفونت ها در یک یا چند فرد رخ داده است، باعث التهاب ملتحمه و گاهی علایم تنفسی خفیف می گردد. اگر چه رخداد HPAI H7N7N در هلند در سال ۲۰۰۳ باعث ابتلای ۸۹ نفر گردید ولی در بیشتر موارد منجر به التهاب ملتحمه و علائم خفیف و در یک مورد منجر به ذات الریه شدید و مرگ بیمار شد.

اولین گزارش مبنی بر انتقال مستقیم ویروس به انسان که منجر به مرگ گردید، در سال ۱۹۹۷ اعلام شد. زمانی که ۱۸ نفر به انفلوانزای HPAI و ویروس H5N1 در فروشگاهی در هنگ کنگ که

شش نفر از مبتلایان فوت شدند. از ۱۹۷۷ ویروس انفلوانزا فوق حاد H5N1 در آسیا چرخش داشته و مجددا در سال ۲۰۳۳ در هنگ کنگ شیوع پیدا کرد.

متعاقبا ویروس های H5N1، HPAI در پرندگان ظاهر شده و در مهاجرت پرندگان وحشی در نیمکره شرقی پراکنده و باعث بیماری در گوشتخواران و انسان شدند. در انسان تقریبا ۴۰۰ مورد از HPAI H5N1 تا این تاریخ گزارش شده است. بیماران مبتلا به H5N1 و HPAI اغلب از ذات الریه شدید به سمت عوارض تنفسی حاد و پیشرونده مبدل شده و معمولا همراه با درصد مرگ ومیر بالا، تقریبا شصت درصد از موارد ابتلا می باشد، در مبتلایان به ویروس H5N1 نه تنها در دستگاه تنفس بلکه در خون و مایع مغزی نخاعی(CSF) و دستگاه گوارش نیز مشاهده گردیده است. در ادامه بیماری زایی ویروس ها HPAI در پستانداران بطور خلاصه مورد بحث قرار می گیرد.

مجموعه ریبو نوکلئو پروتئین ویروس A انفلوانزا، حاوی چهار پروتئین است که برای تکثیر ویروس ضروری است که این پروتئین ها شامل PA,NP،PB1،PB2 می باشد، جایگزینی های چند گانه در ساختار پروتئین های پلیمراز شرح داده شده است، از جمله PB2 مهمترین عامل تطابق ویروس برای تکثیر شدن در میزبان پستاندار می باشد. یک گلوتامیک اسید E به لیزین K که در موقعیت ۶۲۷ پروتئین PB2 جایگزین می گردد که این روند قابلیت تکثیر در میزبان در محیط آزمایشگاهی نشان داده شده و جایگاه 627E بطور مشخص در ویروس طیور، در حالی که ویروس های انسانی معمولا این موقعیت 627K می باشند. در موش ها برای عفونت H7N7 وH5N1 HPAI این جایگزینی بعنوان عامل تعیین کننده بیماری زایی نشان داده شده است.

جهش در موضع 627K PB2 مهم ترین دلیل اینکه چرا ویروس HPAI H5N1 از بیماران مبتلا منجر به مرگ در سال ۱۹۹۷ جدا گردیده است، می تواند در مدل آزمایشی موش باعث بیماری سیستمیک گردد، در صورتی که ویروس جدا شده از بیمار با علائم نسبتا ملایم تنفسی خفیف گردید. در اثر این جهش E627K در موضع ویروس جدا شده، از مورد عفونت HPAIH7N7 در هلند در سال ۲۰۰۳ در موش بسیار بیماری زا بوده و در مقایسه با موردی که فقط التهاب ملتحمه یا کونژکتوتیت داشته است. سایر دلایل حایز اهمیت در جهش و جایگزینی E627K در PB2، از جمله بررسی حدت جدایه A/EQINE/LONDON/1416/73/H7N7 فاقد جایگزینی مذکور در مقایسه با مواردی از جمله جایگزین E627K در پروتئین PB2 که باعث بیماری زایی ۱۰۰۰ برابری ویروس جدا شده، می گردد.

مقایسه ویروس HPAIH7N1 که در PB2 دارای جایگزینی 627K در ویروس جدا شده از اپیدمی ایتالیا در سالهای ۲۰۰۰-۱۹۹۹ که بسیار بیماری زا بوده در مقایسه با ویروس هایی که فاقد این جایگزین بوده اند. زیرا جایگزین E627K در پروتئین PB2 موجب قابلیت تکثیر بسیار شدید ویروس در

دستگاه تنفس موش ها می گردد و ویروس های طیوری که فاقد E627K بطور خود بخودی از طریق یکبار پاساژ در موش این قابلیت را بدست می آورند. هیچ رابطه مستقیمی بین حضور 627K در PB2 پیامد بیماری در ویروس HPAI H7N1 در انسان مبتلا ندارد، اما این موضوع ناشی از این می باشد که در ویروس هایی که فاقد E627K می باشند دارای جایگزینD701N در پروتئین های پلیمراز بوده که قابلیت تکثیر در پستانداران را دارا می باشد.

بیماری زایی واریانت SC35M، H7N7-A/SEAL/MASSACHUSEHS/1/80 که بشدت در موش بیماری زا است بدلیل ترکیب موتاسیون دو جایگزینی D701N وS714R در پروتیین PB2 می باشد. این جایگزینی باعث افزایش توان آنزیم پلیمراز در سلول های انسانی میشود. توصیف قابل قبول در خصوص افزایش توان تکثیر می توان بدلیل جایگزینی D71ON در PB2 و N319Kدر پروتئین NP که منجر به افزایش موثر اتصال این پروتئین ها به ایموپورتین در سلول های انسانی است ولی در سلول های پرندگان نمی باشد. (IMPORTIN الفا یک ،KARYOPHERIN است که باعث انتقال مولکول های پروتئینی از سیتوپلاسم سلول به هسته می شود). این تغییر یا جهش منجر به جایگزینی D7O1N در PB2 همچنین در ویروس های HPAI H5N1 انفلوانزا از سال ۱۹۹۹ به بعد از اردک سالم جدا شده، دیده شده است. ویروس هایی که در ساختارشان PB2 دارند دارای 7O1N بوده و نسبت به انهایی که در701D PB2 دارند در موش ها تاثیر پاتوژنی بیشتری داشته اند.

اگر چه اثرات ناشی از بروز جایگزینی در PB2,PB1 منجر به تغییر پاتوژنسیتی (بیماری زایی) ویروس A/VIETMAM/203/04 در مقایسه با A/CHIKEN/VIETNAM/C58 /04 در موش ها و موش خرما شد، در هر دو مدل جدایه، در جوجه کشنده نیست در صورتیکه جدایه انسانی به میزان قابل توجهی کشنده می باشد. در سول های انسان، فعالیت پلیمراز A/VIETMAM/203/04 POLYMERASE ACTIVITY به میزان قابل توجهی بیشتر از پلیمراز جوجه می باشد که این نشان دهنده افزایش توان تکثیر، رابطه مستقیم با بیماری زایی ویروس دارد.

مقایسه سکانس(توالی) ویروس های آنفلوانزای تیپ A در انسان و پرندگان نشان دهنده ۵۲ جایگاه مرتبط به گونه در ژنوم ویروس انفلوانزا تیپپ A می باشد. که از این ۵۲ موقعیت ، ۳۵ مورد مربوط به کمپلکس پلیمراز است.در مقایسه مشابهی از ژنوم های جایگاه ۳۲ اسید امینه(AA) مبنای تفکیک ویروس های آنفلوانزای انسانی و پرندگان بوده که ۲۶ مورد در NP،PA،PB2 می باشد. بنابراین این جهش ها در پروتئین های کمپلکس پلیمراز میتواند در توان تطابق ویروس در سلول های پستانداران و در نتیجه توان بیماری زایی را سهولت بخشد.

یافته های اخیر در خصوص پروتئینPB1-F2 در مرحله رونویسی از چارچوب تناوبی ژن PB1 منجر به القا مرگ زودهنگام (APOPTOSIS) سلول های آلوده می شود. در موش، PB1-F2 در

پاتوژنز ویروس H5N1 HPAI جدا شده در سال ۱۹۹۷ نقش اساسی دارد. همه ویروس های جدا شده که در موش ها توان بیماری زایی دارند، دارای ژن 66S در پروتئین PB1-F2 می باشند. در صورتیکه تعداد اندکی از ویروس ها بیماری زا دارای جایگاه 66N می باشند. جایگزینی در N66S منجر به عفونت شدید و تیتر بالای ویروس و افزایش تولید سیتوکنین های اینترفرون(IFNگاما) وTFN الفا (TUMOR) ECROSIS FACTOR در ریه های موش آلوده می شود. انچه که جالب توجه است،وجود 66S همچنین در پروتئین PB1-F2 ویروس آنفلوانزای اسپانیایی نیز در سال ۱۹۱۸ مشاهده شده است.

به وضوح یکی از عوامل تعیین کننده در HA ویروس های HPAI دارا بودن سایت های برش چند گانه تقسیم سلولی که موجب تشدید بیماری زایی در جوجه از طریق تسهیل تقسیمات سیستمیک می شود. یک سویه از ویروس آنفلوانزای فوق حاد H5N1 که در سال ۱۹۹۷ در هنگ کنگ جدا شده، بشدت در موش بیماری زایی دارد. کاهش بیماری زایی و تخفیف حدت این سویه را با جایگزین کردن سایت برش های چند گانه با ویروس هایی با توان بیماری زایی کمتر انجام گردید.

بنابراین HA نه تنها از عوامل تعیین کننده بیماری زایی در طیور بلکه در پستانداران نیز می باشد..HA هماگلوتینین نقش اساسی در تطابق ویروس در سلو ل های میزبان با توجه به دارا بودن گیرنده های اتصال پروتئینی در ساختار خود، دارد. در صورتیکه در ویروس انفلوآنزای انسانی(الفا-2,6) LINKED SIALIC ACID بعنوان گیرنده بکار می رود .در مطالعات مربوط به اتصالات ویروسی، ویروس انسانی H3N2 مشخصا به نای انسان، درست بر عکس ویروس انفلوانزای فوق حاد HPAI H5N1 می چسبد. ویروس انفلوانزای فوق حاد پرندگان تمایل به اتصال به گیرنده های الفا-2,3 LINKED SIALIC ACID دارد. این ویروس HPAI H5N1 تمایل دارد در قسمت های تحتانی دستگاه تنفس ،غالبا به سلول های ریوی تیپ دو(PNEUMOCTE TYPE2)، ماکروفاژهای حبابچه های ریوی و سلول های پوششی مکعبی فاقد مژک در ناحیه انتهایی برونشیول ها متصل شود.

نوع و فرم اتصال این ویروس H5N1 به این سلول ها بطور هماهنگ با ضایعات پراکنده مشاهده شده در موارد عفونت با HPAI H5N1 مطابقت دارد.در این فرم اتصال ویروس انفلوانزای فوق حاد پرندگان H5N1 مشاهده شده که گیرنده های الفا 2,3- LINKED SIALIC ACID مشخصا در سلول های پوششی و مکعبی فاقد مژک ، پنوموسیت های تیپ دو وجود دارد و سلول های فوقانی دستگاه تنفس انسانی فاقد این گیرنده ها می باشند.

مطالعات ایمنو شیمیایی سلولی روی نمونه های ریوی اخذ شده از بیماران مبتلا به ویروس آنفلوانزای فوق حاد H5N1 HPAI نشان میدهد که سلول های پنوموسیت تیپ دو به شدت با ویروس عفونت پیدا کرده است. هر چند که در مطالعات بافتی با منشا قسمت های فوقانی ریه انسانی تکثیر و

تزاید ویروس H5N1 HPAI نشان داده شده است. موتاسیون های انجام شده در HA که بر شدت بیماری زایی آن تاثیر گذار است مشخص گردیده است ولی نحوه تاثیر این جهش ها روی گیرنده های اتصالی نامشخص است.

در موضع I227S در HA ویروس انفلوانزای فوق حاد پرندگان HPAI H5N1 که از یک مورد مبتلا منجر به مرگ در سال ۱۹۹۷ اپیدمی هنگ کنگ جدا شده، نشان داد که بیماری زایی ویروس در موش ها به شدت افزایش نشان میدهد. با حذف موضع گلیکولیزاسیون در موقعیت ژن 154 پروتئین HA ویروس H5N1 مورد نظر در سال 1997 افزایش بیماری زایی کاملا مشهود می باشد. پروتئین HAویروس H5N1 HPAI جدا شده از مورد کشنده هلند در سال ۲۰۰۳ که حاوی ۳ جهش می باشد، در مقایسه با ویروسی که از بیمار با علائم التهاب ملتحمه جدا شده ، مشابه موردی با جهش القایی در موضع گلیکولیزاسیون در نزدیکی محل اتصال میباشد.

این HA (هماگلوتینین) باعث افزایش تیتر ویروس در ریه ها و پراکندگی در ارگان های مختلف موش های الوده می شود . در مطالعات جهت بررسی نحوه اتصال ویروس ،مشاهده گردید که یک تفاوت نا محسوس بین نحوه اتصال ویروس کشنده جدا شده از قسمت تحتانی دستگاه تنفس و ویروس عامل التهاب ملتحمه وجود دارد.این ممکن است در میزان بیماری زایی موثر بوده باشد.

تطابق HA در ایجاد اتصال کافی و موثر با گیرنده الفا 2,6-LINKED SIALIC ACID بعنوان یکی از مهمترین پیش نیاز های لازم برای انتقال موثر انسان –انسان و در نتیجه اهمیت توجه و اورژانسی در بروز یک پاندمی جدید در نظر گرفته می شود. اگر چه چندین ویروس انفلوانزای فوق حاد H5N1 HPAI با گرایش افزایش موتاسیون در HA برای گیرنده 2.6LINKED SIALIC ACID جدا شده است اما یک HA با گرایش اختصاصی و انحصاری برای گیرند های انسانی تا کنون شناخته نشده است.تکثیر ویروس انفلوانزای A بطور ذاتی واکنش ایمنی را تحریک و یا القا می کند ، که این میزان القا توسطNS1 تنظیم می شود. در اصل میزان بیماری زایی از طریق NSI تعیین می شود. بر عکس گذشته ،سویه انفلوانزا فوق حاد H5، سویه جدا شده H5N1 HPAI در اپیدمی ۱۹۹۷ هنگ کنگ منجر به افزایش تولید سیتوکین پیش التهابی بتا TRANSFORMING GROWTH-FACTOR بتا در سرم موش ها نشده است.یک گلوتامیک اسید در موقعیت ۹۲ باعث می شود ویروس H5N1 HPAI جدا شده در سال ۱۹۹۷ نسبت به ترکیباتی نظیر اینتروفن الفا و گاما در محیط ازمایشگاهی غیر حساس نشان داده شود، که این موضوع میزان بیماری زایی را در خوک الوده تعیین می نماید.

ویروس های H5N1 HPAI که در موش ها پاتوژن می باشد می توا نند میزان تولید سیتوکین پیش التهابی بیشتری در ریه های موش ها تولید نمایند. میزان سیتوکین پیش التهابی که از مونوسیت

های مشتق شده از ماکروفاژهای انسانی، که با ویروس HPAI H5N1 ۱۹۹۷ الوده شده است ، بیش از موردی می باشد که با ویروس های انسانی H1N1 یا H3N2 الوده شده باشد.

در برانش های اولیه و سلول های پوششی الوئول های ریه انسان در اثر آلودگی با ویروس های H5N1 HPAI سالهای۱۹۹۷ و ۲۰۰۴ میزان بیشتری سیتوکین پیش التهابی در مقایسه با الودگی با ویروس انسانی H1N1 تولید می شود.

NS1 ویروس H5N1 هنگ کنگی ۱۹۹۷ نمیتواند اتصال موثری با CPSF30 داشته باشد این امر در نتیجه افزایش میزان تولید mRNA INF-B (اینتروفن بتا) بوده که باعث مهار تکثیر ویروس می شود. افزایش قابلیت اتصال ویروس H5N1 هنگ کنگی از CPSF30 و در نتیجه تکثیر موثر ویروس در محیط آزمایشگاهی می تواند بدلیل جایگزینی در L1O3F و i106M در NS1 باشد. عدم اتصال NS1 به CPSF30 را میتوان تا حدی از طریق ژنهای داخلی ویروس برطرف کرد.در ویروس H5N1 HPAI جدا شده از اردک ها در سال ۱۹۹۷ جایگزینی در P42S پروتیین NS1 منجر به افزایش ۱۰۰۰۰ برابری بیماری زایی ویروس در موش ها میشود، این امر به دلیل کاهش تولید اینتر فرون الفا و بتا بوده ،که در شرایط آزمایشگاهی نشان داده شده است.در پایان NS سویه A/VIETNAM/203/4 عامل تعیین کننده بیماری زایی در سمور ها می باشد. در بیماران الوده شده با ویروس H5N1 HPAI در ویتنام ۲۰۰۵ –۲۰۰۴ میزان سیتوکینی در خون محیط افزایش نشان داده بخصوص در بیماران منتهی به مرگ آیا این بستگی به NS1 دارد و یا فقط به دلیلی افزایش تکثیر ویروس می باشد. به همین ترتیب در حال حاضر مشخص نیست که چه عاملی باعث افزایش تولید سیتوکین می شود. عاملی که منجر به تعیین میزان بیماری زایی می باشد.

نتیجه:

تطابق پروتئین های کمپلکس پلیمراز شامل NP،PB1-F2،HA و NS1 همگی از فاکتور های موثر در قابلیت بیماری زایی ویروس انفلوانزای پرندگان در انسان می باشند. اگرچه در مطالب بالا بطور خلاصه تمرکز روی ویروس های فوق حاد پرندگان از جمله H5N1 HPAI می باشد،تشابه قابل توجهی با عامل بیماری انفلوانزای اسپانیا یی در سال ۱۹۱۸ مشاهده می شود. مشخص شد که ویروس ۱۹۱۸ در کمپلکس پلیمراز شامل PB1-F2f،PB2 E627K با 66N و NA HA و احتمالا NS1 نقش موثری در پاتوژنسیتی (بیماری زایی) ویروس دارند. براساس این اطلاعات و داده ها،دو نتیجه گیری را میتوان متصور شد.اول، اینکه بیماری زایی ویروس انفلوانزا A توسط چندین ژن تعیین می گردد و دوم اینکه یک مکانیزم مشترک در خصوص ویروس انفلوانزا A ،در گونه ها و تحت تیپ هایی که قابلیت تطابق در پستاندارن و پرندگان را دارا می باشند و از این طریق قابلیت بیماری زایی را بدست می اورد ویا از دست می دهد.در صورتیکه عوامل تعیین کننده و موثر در قابلیت بیماریزایی انفلوانزا

پرندگان و پستاندان روشن شده ولی عوامل مربوط به قابلیت انتقال بین پستاندارن تا حدودی نامشخص و نیازمند توجه و بررسی بیشتر در آینده می باشد.

منابع:

Patterson, K.D. and Pyle, G.F. (1991) **"The geography and mortality of the 1918 influenza pandemic**". Bulletin of the History of Medicine, 65, 4-21.

Skowronski, Danuta M., et al. (2006) **" Human illness and isolation of low-pathogenicity avian influenza virus of the H7N3 subtype in British Columbia, Canada"** The Journal of infectious diseases 193.6 : 899-900.

Kurtz, John, Ruth J. Manvell, and Jill Banks(1996). **" Avian influenza virus isolated from a woman with conjunctivitis"** *The Lancet* 348.9031: 901-902.Vaccine.Author manuscriot: available in pmc 2009 sep 12.

Butler, Declan (2006). **" Thai dogs carry bird-flu virus, but will they spread it? "** Nature 439.7078: 773-774.

Mase, Masaji, et al. (2006) **" Recent H5N1 avian influenza A virus increases rapidly in virulence to mice after a single passage in mice"** Journal of general virology 87.12: 3655-3659

. Salomon, Rachelle, et al**.** (2006) **" The polymerase complex genes contribute to the high virulence of the human H5N1 influenza virus isolate A/Vietnam/1203/04 "** The Journal of experimental medicine 203.3: 689-697.

بیماریزایی ویروس انفلوانزای فوق حاد(HPAI) در پستانداران:

نام و نام خانوادگی مترجم: دکتر محمد مهدی یزدانپناه راوری[۱]، همکار: حامد خادمیه[۲]

۱- دکتری عمومی دامپزشکی ، رییس اداره بهداشت و مدیریت بیماری های طیور،زنبور عسل و کرم ابریشم اداره کل دامپزشکی استان کرمان، شماره تماس ۰۹۱۳۱۴۵۱۵۰۵ ، شماره تماس محل کار:۰۳۴۳۲۱۳۴۷۲۶

۲- فوق لیسانس باکتری شناسی دامپزشکی، کارشناس اداره بهداشت و مدیریت بیماری های طیور، زنبور عسل و کرم ابریشم اداره کل دامپزشکی استان کرمان، شماره تماس ۰۹۳۶۹۸۴۰۳۷۹، شماره تماس محل کار: ۰۳۴۳۲۱۳۴۷۲۶