

DERLEME YAZI KUŞ GRİBİNDE SİTOKİN FIRTINASI

REVIEW ARTICLE CYTOKINE STORM IN AVIAN INFLUENZA

Dürdal US¹

ÖZET: 1997 yılında Güneydoğu Asya’da ortaya çıkan kuş gribi epidemisinde saptanan mortalite oranının (>%50), en büyük grip salgını olarak kabul edilen 1918 A/H1N1 pandemisinde saptanan orandan (%5-10) çok daha fazla olması, influenza virus tip A/H5N1 suşlarının yüksek virülansını ifade eden en çarpıcı örnektir. Dünya Sağlık Örgütü tarafından bildirilen ölüm/olgu (208/340) sayısı dikkate alındığında 14.12.2007 itibarıyla mortalite oranı %61’e ulaşmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, kuş gribinde morbidite ve mortalitenin yüksek olmasının, immün regülasyonun bozulmasının bir sonucu olduğunu göstermiştir. İnfluenza A/H5N1 enfeksiyonlarının immünopatogenezindeki en önemli özellik, çok sayıda ve yüksek düzeyde –abartılı- proinflatuvar sitokin salgılanması ile karakterize hipersitokineminin (“sitokin fırtınası”) ortaya çıkmasıdır. Bu olay, enfeksiyonun letal klinik bulguları olan yaygın pulmoner ödem, akut bronkopnömoni, alveolar hemoraji, reaktif hemofagositoz, nekroz ve doku harabiyeti sonucu gelişen akut solunum yetmezliği sendromundan sorumlu tutulmaktadır. Yapılan çok sayıda in vitro, in vivo ve klinik çalışmada, A/H5N1 suşlarının gerek insan gerekse hayvanlarda bazı sitokin ve kemokinlerin [Tümör nekrozis faktör (TNF)- α , İnterferon (IFN)- γ , IFN- α/β , İnterlökin (IL)-6, IL-1, MIP-1 (Macrophage Inflammatory Protein), MIG (Monokine Induced by IFN γ), IP-10 (Interferon- γ -Inducible Protein), MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein), RANTES (Regulated on Activation Normal T-cell Expressed and Secreted), IL-8] çok kuvvetli indükleyicisi olduğu ve olağandışı düzeylerde üretime yol açtığı gösterilmiştir. Sitokin fırtınasının primer hücreleri makrofajlar ve CD8⁺ T lenfositleri, primer sitokinleri ise TNF- α , IL-6 ve IFN- γ olup, fırtınanın oluşumunda virusun yüksek replikasyon hızı, geniş doku tropizmi, sistemik yayılımı ve konağın antiviral yanıtına karşı dirençli olması rol oynamaktadır. Virülansı artıran bu mekanizmaların, özellikle virusun NS1, HA, NA ve PB2 genlerindeki mutasyonlar ile kontrol edildiği belirlenmiştir. NS1 proteininde Glu92 ve Ala149 mutasyonları ile molekülün karboksi ucunda ESEV/EPEV motifi varlığını; PB2 proteininde Lys627 mutasyonunun; hemaglütinin (HA) poliproteini kesim bölgesinde polibazik aminoasit mutasyonlarının ve HA ve nöraminidaz (NA) proteinlerindeki glikozilasyon ve sialilasyon mutasyonlarının, virusun yüksek patojenitesi ile doğrudan ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu derleme yazıda, influenza A/H5N1 virusunun immünopatogenez ve bunun bir parçası olan sitokin fırtınası olayının mekanizmaları güncel veriler eşliğinde tartışılmıştır.

Anahtar sözcükler: İnfluenza virus tip A, H5N1, sitokin fırtınası, hipersitokinemi, immünopatogenez, virülans.

¹ Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara. (durdalus@hacettepe.edu.tr)

ABSTRACT: The most dramatic example of defining the pathogenicity of influenza virus A/H5N1 strains is the higher fatality rate of avian influenza epidemic (>50%) occurred in Southeast Asia in 1997 comparing to the pandemic caused by influenza virus A/H1N1 in 1918 (5-10%) which was recorded as the most destructive pandemic in the world. When considering the fatal/total case numbers (208/340) reported by World Health Organization in respect of December 14th, 2007, the mortality rate has now reached to 61 percent. Recent studies have shown that the high fatality rate of avian influenza virus infections is a consequence of an overactive inflammatory response and the severity of infection is closely related with virus-induced cytokine dysregulation. The most important feature of A/H5N1 immunopathogenesis is the appearance of hypercytokinemia ("cytokine storm") which is characterized by the extreme (exaggerated) production and secretion of large numbers and excessive levels of pro-inflammatory cytokines. This phenomenon is blamed on the emergence of lethal clinical symptoms such as extensive pulmonary oedema, acute bronchopneumoniae, alveolar haemorrhage, reactive haemophagocytosis, and acute respiratory distress syndrome, associated with necrosis and tissue destruction. Numerous in vitro, in vivo and clinical studies have pointed out that A/H5N1 viruses are very strong inducers of various cytokines and chemokines [Tumor Necrosis Factor (TNF)- α , Interferon (IFN)- γ , IFN- α/β , Interleukin (IL)-6, IL-1, MIP-1 (Macrophage Inflammatory Protein), MIG (Monokine Induced by IFN- γ), IP-10 (Interferon- γ -Inducible Protein), MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein), RANTES (Regulated on Activation Normal T-cell Expressed and Secreted), IL-8], in both humans and animals. The privileged cells of cytokine storm are macrophages and CD8⁺ T-lymphocytes, while the primary contributor cytokines are TNF- α , IL-6 and IFN- γ . It has been detected that, mutations of some viral genes (NS1, PB2, HA and NA) are responsible for the cytokine storm, by increasing the viral replication rate, expending the tissue tropism, facilitating the systemic invasion and emerging of resistance against the host antiviral response. It has been shown that Glu92 and Ala149 mutations, and carboxyl-terminal ESEV/EPEV motif of NS1 protein have been implicated as determinants of virulence for A/H5N1 strains. In addition, Lys627 mutation in PB2 protein, polybasic aminoacid mutations in the cleavage region of hemagglutinin (HA) polyprotein, and glycosylation and sialylation mutations in HA and neuraminidase (NA) proteins were found to enhance the immune-mediated pathology of highly virulent A/H5N1 strains. In this review article, the immunopathogenesis of influenza infection and the mechanisms of cytokine storm caused by influenza A/H5N1 viruses have been discussed under the light of recent literature.

Key words: Influenza virus type H5N1, cytokine storm, hypercytokinemia, immunopathogenesis, virulence.

GİRİŞ

Tarih boyunca pandemiler oluşturması, kuş ve memelileri kapsayan geniş konak spektrumu, parçalı genomuna bağlı olarak gen segmentlerinin yeniden yapılanma özelliği ve yüksek antijenik değişim oranı nedeniyle uzun süreli ve etkin bir aşının geliştirilmesindeki zorluklar gibi nedenler, influenza tip A virus enfeksiyonlarının güncelliğini korumasına, hatta öneminin giderek artmasına yol açmıştır. İnfluenza tip A virusları, 20. yüzyılda yeni alt tiplerin ortaya çıkmasıyla üç pandemiye neden olmuşlardır. Bunlar; 1918-19 yıllarında İspanyol gribi (A/H1N1; 50-100 milyon ölüm; mortalite oranı %5-10), 1957-58 yıllarında Asya gribi (A/H2N2; 1-2 milyon ölüm; mortalite oranı <%3) ve 1968-69 yıllarında

Hong Kong gribi (A/H3N2; 700 bin ölüm; mortalite oranı $<0.5\%$) pandemileridir¹. Bu alt tipler halen dünyada dolaşımda olan tiplerdir. 1997 yılında Hong Kong'da doğrudan kuş-insan geçişi ile ortaya çıkan kuş gribi (influenza A/H5N1) epidemisinde ise, mortalite oranının çok yüksek olması, ilginin bu konuya yönelmesine neden olmuştur. Zira kayıtlara geçmiş tarihin en büyük grip salgını olan 1918 A/H1N1 pandemisinde bile mortalite oranı ($5-10\%$), 1997 Hong Kong epidemisinde saptanan mortalite oranından ($>50\%$) çok daha düşük kalmıştır^{1,2}. İnfluenza A/H5N1 enfeksiyonları için Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından 2006 yılında 57% olarak verilen mortalite oranı, 14.12.2007 tarihi itibarıyla bildirilen ölüm/olgu (208/340) sayısı dikkate alındığında 61% 'e ulaşmıştır³. Sporadik olguların mevcudiyetine rağmen, henüz insandan insana doğrudan bulaş yeteneği kazanmamış olan bu virusun, gelecekteki yeni pandemiden sorumlu olabileceği düşüncesi oldukça yaygındır^{1,4}. Hipotetik bir hesaplama göre, 1918 pandemisindeki ölüm oranı, günümüzde ortaya çıkabilecek olası bir H5N1 pandemisine uyarlandığında, tüm dünyada ölüm sayısı 180-360 milyon olacaktır¹. Bu nedenle influenza A/H5N1 pandemisi senaryoları dikkate alınarak ulusal ve uluslararası pandemi planları oluşturulmuştur^{1,4,5}.

Sitokin fırtınası (hipersitokinemi), sağlıklı ve yetkin bir immün sistem tarafından oluşturulan, çok sayıda (>150) ve yüksek düzeyde inflamatuvar mediyatörün (sitokinler, serbest oksijen radikalleri ve koagülasyon faktörleri) salgılanması ile karakterize abartılı immün yanıt olarak tanımlanmaktadır². Bu olayda hem pro-inflamatuvar hem de anti-inflamatuvar sitokinler rol oynamakta ve konakta oluşan immünopatoloji sıklıkla ölümle sonlanmaktadır. Sitokin fırtınasının primer hücreleri makrofajlar, T lenfositleri ve NK hücreleri; primer faktörleri ise tümör nekrozis faktör (TNF)-alfa, interlökin (IL)-6 ve interferon (IFN)- γ 'dır. Metaforik bir terim olan "sitokin fırtınası", ilk kez Ferrara ve arkadaşları tarafından 1993 yılında "graft-versus-host" hastalığı (GVHD) için kullanılmıştır². Sitokin fırtınaları, birçok enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan hastalık sırasında ortaya çıkabilir. Bunlar arasında viral hemorajik ateşler (Marburg, Ebola, Lassa, Junin, Dengue ve hantaviruslar), influenza (A/H1N1, A/H5N1), çiçek, SARS, malarya, Afrika tripanozomiazisi, viseral leşmaniyazis, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS), akut solunum yetmezliği sendromu (ARDS) ve GVHD sayılabilir^{2,6}. Sitokin fırtınasının ortaya çıktığı en klasik örnek ise sepsis ya da septik şok sendromudur. Bilindiği gibi, genellikle gram-negatif bakteri endotoksinlerinin (lipopolisakkarit; LPS) yol açtığı sepsis, hemodinamik kollaps ile sıklıkla letal seyreden bir sendromdur. Sitokin fırtınalarının ayrıca, pandemi ve epidemilerde de önemli rolü olduğu ileri sürülmüş ve 1918 influenza A/H1N1 pandemisinde, 1997 influenza A/H5N1 epidemisinde ve 2003 SARS epidemisinde ortaya çıkan yüksek ölüm oranlarının sitokin fırtınaları ile ilişkili olduğu belirlenmiştir^{2,6}. Günümüzde kuş gribinin yüksek morbidite ve mortalitesinden sorumlu tutulan sitokin fırtınasının, benzer etkiyi 1918 H1N1 pandemisinde de gösterdiği öne sürülmektedir. Bu hipoteze göre, ölümlere neden olan virusun kendisi değil, oluşturduğu olağandışı immün yanıtıdır^{1,6}. Bu görüş, günümüzdeki H5N1 epidemisine benzer olarak 1918 H1N1 pandemisinde ölümlerin büyük

çoğunluğunun sağlıklı ve genç (20-40 yaş) popülasyonda görülmesinin, bu kişilerdeki yetkin ve dinamik immün sistemin yol açtığı sitokin fırtınasından kaynaklandığını vurgulamaktadır.

Kuş gribi virusunun (influenza A/H5N1) mevsimsel influenza tiplerinden en önemli farkı, son derece virülant ve letal olmasıdır. Son 10 yılda, virusun yüksek patojenitesinin nedenleri üzerinde yapılan çalışmalar, bu durumun, virülansı artıran genetik modifikasyonlara bağlı olarak immün regülasyonun bozulması sonucu olduğunu göstermiştir⁷⁻¹⁰. Bu derleme yazıda, influenza A/H5N1 virusunun immünopatogenezi ve bunun bir parçası olan sitokin fırtınası olayının mekanizmaları son yayınlar eşliğinde tartışılmaktadır.

İNFLUENZA VİRUSLARININ GENOM YAPISI

Orthomyxoviridae ailesinde yer alan influenza virusları, 100-120 nm büyüklüğünde, heliksel nükleokapsidli, zarflı, sferik/pleomorfik yapıya sahip RNA viruslarıdır. Negatif tek iplikli sekiz parçadan oluşan RNA, dokuz yapısal (NP, PB1, PB2, PA, NS2, M1, M2, HA, NA) ve bir yapısal olmayan protein (NS1) kodlar⁸. Nükleoprotein (NP) kısmında her birisi RNA polimeraz enzimi taşıyan sekiz ayrı RNA molekülü yer alır. Viral RNP'e bağlanan üç büyük protein (PB1, PB2, PA) ve NS2 ise RNA transkripsiyonu ve replikasyondan sorumludur. Viral zarfın altında yer alan matriks proteini (M1), viral partikülün morfogenezinde rol oynarken, iyon kanalı proteini olan M2, viral nükleik asitlerin sitoplazmaya geçişini sağlamaktadır. Zarf glikoproteinlerinden biri olan hemaglütinin (HA), konak hücre yüzeyindeki sialik asit reseptörlerine tutunmadan ve virus ile konak hücre membranlarının füzyonundan, diğeri olan nöraminidaz (NA) ise olgunlaşma sırasında hücre yüzeyindeki sialik asit ünitelerinin parçalanması ve virusun hücreden serbestleşmesinden sorumludur⁸. HA ve NA glikoproteinleri, gerek influenza viruslarının genetik çeşitliliğini gerekse konağın immün yanıtını belirleyen antijenlerdir. Özyapı proteinleri olan NP ve M proteinlerindeki antijenik farklılıklara göre influenza virusları A, B ve C olmak üzere üç tipe ayrılmış olup bu tipler arasında çapraz reaksiyon bulunmamaktadır¹¹. HA ve NA yüzey glikoproteinlerindeki antijenik farklılıklara göre ise sadece A tipi için alt tiplendirme yapılır. Tanımlanan tüm HA (n: 16) ve NA (n: 9) tipleri kuşlarda bulunurken, insan tipleri sınırlıdır (H1, H2, H3; N1, N2)¹¹.

Viral RNA polimeraz enziminin hata oranı yüksek olduğundan virion içindeki tüm fragmentlerde nokta mutasyonu sıklığı da yüksektir. HA ve NA gen segmentlerinde oluşan nokta mutasyonlarının birikimi sonunda bu antijenlerin değişikliğe uğraması "antijenik drift" olarak bilinmektedir. Ancak nokta mutasyonları ile yeni bir aminoasidin oluşması uzun zaman almaktadır (%0.5-1/yıl). Antijenik drift olayı, her üç tip influenza virusu için de geçerlidir¹¹. Buna karşın, genomun parçalı olması nedeniyle, bir hücreyi aynı anda enfekte eden iki farklı influenza virus tipinin gen segmentlerinde karışımın olması ve bu karışımın gen parçalarının progeni virionlar içine paketlenmesi kaçınılmazdır. Genetik reassortman sonucu HA ve NA'ı kodlayan yeni gen segmentlerinin kazanılması "antijenik shift" olarak bilinmekte ve sadece tip A viruslarında gerçekleşmektedir^{8,11}.

KUŞ GRİBİNDE İMMÜNOPATOGENEZ

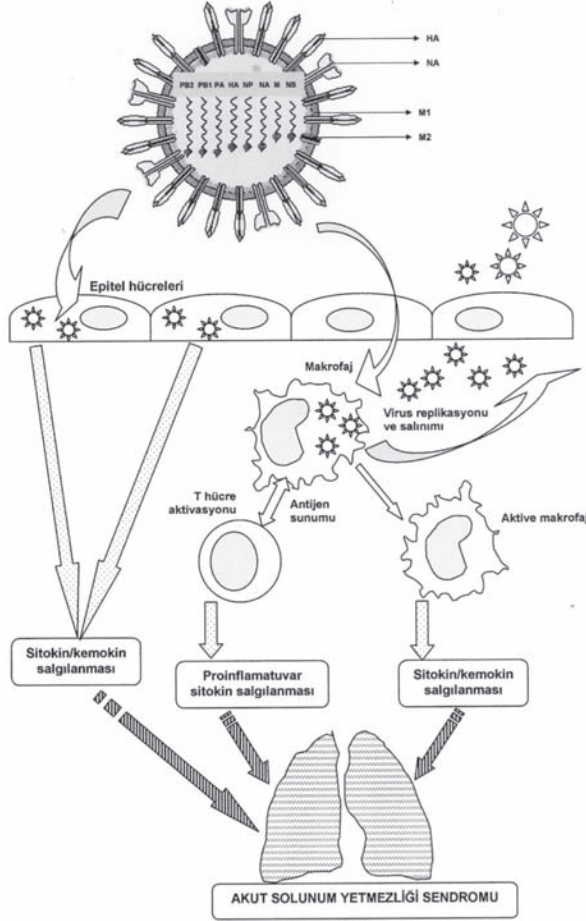
Klinik bulguların immün regülasyon bozukluğu ile ilişkisi:

Influenza A/H5N1 virusu, ani başlangıçlı (24-48 saat) akut bir enfeksiyon oluşturmaktadır. Başlangıç semptomları; ateş ($\geq 38^{\circ}\text{C}$), baş ve boğaz ağrısı, miyalji, gastrointestinal bulgular, öksürük, dispne, balgam çıkarma ve nefes darlığı ile karakterizedir. Klasik influenzaya göre karın ağrısı ve diyare sıklığı daha fazla, farenjit sıklığı daha düşüktür. De Jong ve arkadaşları¹², A/H5N1 enfeksiyonu olan hastaların nazofarenks ve kan örneklerinde saptanan viral yükün, mevsimsel influenza tipleri ile enfekte hastalardan çok daha yüksek olduğunu saptamışlar ve ek olarak A/H5N1 suşlarını rektal örneklerden de izole etmişlerdir. Bu bulgu, kuş gribinde karın ağrısı ve diyare gibi semptomların klasik influenzaya göre çok daha fazla saptandığı bilgisiyle birlikte değerlendirildiğinde, A/H5N1'in gastrointestinal sisteme yayıldığı ve burada da yüksek düzeyde replike olduğunu göstermektedir.

Kuş gribinde klinik gidiş oldukça hızlıdır ve ilk beş gün içinde pnömoni gelişmektedir. Letal semptomlar arasında; yaygın pulmoner ödem ve yoğun mononükleer hücre infiltrasyonuna bağlı alveolar hemorajilerle karakterize akut solunum yetmezliği sendromu (ARDS) yer alır^{4,11}. Ciddi olgularda lenfopeni, lökopeni, trombositopeni, karaciğer enzimleri ve kreatininde artış, hiperglisemi ve çoklu organ yetmezliği ortaya çıkar. Enfeksiyonun en ağır bulgusu "reaktif hemofagositoz"dur¹⁰. Bu sendrom; histiyosit proliferasyonu ve kan hücrelerinin (eritrosit, lökosit, trombosit ve bunların öncülleri) mononükleer hücreler tarafından yoğun olarak fagosite edilmesiyle karakterizedir. Hemofagositik sendromun sitokinler tarafından indüklendiği ve çözünür IL-2 reseptörü (sIL-2R), IL-6, TNF- α ve IFN- γ 'ın yüksek düzeyleri ile ilişkili olduğu saptanmıştır¹⁰. İnfluenza enfeksiyonu sırasında oluşan akciğer patolojisinde TNF- α 'nın rolü, fare modelleri üzerinde yapılan in vivo çalışmalar ile de kanıtlanmıştır¹³. Bu bulgular, enfeksiyonun morbidite ve mortalitesinin immünopatolojik mekanizmalara bağlı olduğunu vurgulamaktadır.

İmmün sistem hücrelerinin immün regülasyon bozukluğu ile ilişkisi:

Solunum yolu epitel hücreleri, influenza A virusunun primer hedefidir. Bu hücrelerde bol miktarda çoğalan virus, daha sonra alveolar makrofajları enfekte eder. Virusla enfekte makrofajlar apoptozis ile, epitel hücreleri ise nekrozla ölürlür. Hücre nekrozu ve/veya apoptozu, immün yanıtı ve sitokin ve kemokinlerin üretimini tetikler. Enfekte akciğer epitel hücreleri ve alveolar makrofajlar tarafından öncül inflamatuvar mediyatörlerin salınması, enfeksiyonun ilk üç günü içinde önce makrofaj ve nötrofillerin daha sonra da T lenfositlerinin periferik kandan akciğer dokusuna göçünü sağlamaktadır¹⁰. Bu hücreler, olağan/mevsimsel influenza A virus tiplerini temizler ve enfeksiyon normal immün yanıt mekanizmaları tarafından sonlandırılır. Ancak A/H5N1 gibi yüksek patojen suşlar, sahip oldukları özellikler nedeniyle erken inflamasyon döneminde immünopatolojik olayların gelişime yol açarlar (Şekil 1).



Şekil 1. İnfluenza A/H5N1 virusunun immünopatogenezi⁴.

Enfekte hücreleri hem doğrudan lizise uğratarak hem de IFN- γ ve TNF- α salgılayarak virusun eliminasyonunda önemli rol oynayan CD8⁺ T hücreleri, diğer taraftan da aynı mekanizmalarla pulmoner harabiyete yol açabilmektedir. Bu durumu etkileyen en önemli faktörün viral yük olduğu transgenik farelerde yapılan çalışmalarda gösterilmiş ve virusun düşük dozlarında CD8⁺ T hücrelerinin koruyucu etkisi saptanırken yüksek dozlarında ciddi patolojiye yol açtığı belirlenmiştir¹⁰. CD8⁺ T hücrelerine bağlı olan immünopatoloji büyük oranda bu hücrelerin salgıladığı IFN- γ 'a bağlıdır. İnsan CD8⁺ T hücrelerinin, H5 eksprese eden dendritik hücrelerle uyarılması ile perforin üretiminin baskılandığı, buna karşın IFN- γ üretiminin arttığı ve uzadığı saptanmış, bu durumun da makrofajların neden olduğu immünopatolojiyi dolaylı olarak artırdığı ileri sürülmüştür¹⁴. H5N1 enfeksiyonlarında CD8⁺ T hücrelerinden perforin salınımının inhibe edilmesi, bu hücrelerin TNF- α üretimini de artırmaktadır. TNF- α ile ilişkili patoloji,

perforin yokluğunda enfekte hücrelerin TNF- α tarafından direk lizisi, alveolar epitel hücrelerinden kemokin (MCP-1 ve MIP-2) indüksiyonu ve makrofajların bu bölgeye göçünün artışı sonucu ortaya çıkar¹⁰. CD8⁺ T hücrelerine bağlı immünopatolojide, T hücre yüzeyinde bulunan OX40 ile antijen sunan hücrelerin yüzeyinde bulunan OX40L (ligand) ilişkisinin de rolü olduğu ileri sürülmektedir¹⁵. TNF reseptör süperailisinin bir üyesi olan OX40 (CD134), aktive T hücreleri, B hücreleri, dendritik hücreler ve vasküler endotel hücrelerinin yüzeyinde bulunmakta ve T hücrelerinin göçü, proliferasyonu ve sitokin üretiminde rol oynamaktadır. Humphreys ve arkadaşları¹⁵, OX40-OX40L arasındaki bağlanmanın inhibisyonu ile CD8⁺ ve CD4⁺ T hücreleri ile nötrofillerin pulmoner infiltrasyonunun ve CD8⁺ T hücreleri tarafından TNF- α üretiminin azaldığını göstermişlerdir. Dolayısıyla günümüzdeki veriler, CD8⁺ T hücreleri ile ilişkili patolojinin büyük oranda endojen sitokin üretimindeki fonksiyon bozukluğuna bağlı olduğunu düşündürmektedir. Bu patoloji genellikle virus temizlenmesinin geciktiği ve CD8⁺ T hücre yanıtının uzadığı durumlarda ortaya çıkmaktadır.

Inflüzanın immünopatolojisi ve sitokin fırtınasından büyük ölçüde monosit ve makrofajlar sorumlu tutulmaktadır^{10,16,17}. Akciğer parenkimi ve alveolar boşluklarda virus ile enfekte olan makrofajlar, 24-48 saat içinde apoptozise uğrarlar. Ancak apoptozisten önce, enfekte monosit/makrofajlarda hızlı bir şekilde (2. saatte) proinflamatuvar ve kemotaktik sitokin (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IFN- α/β) transkripsiyonu başlamaktadır¹⁰. Bu durum, enfeksiyon bölgesine daha fazla kan monositleri, T ve B hücrelerinin göçüne ve aktivasyonuna yol açarak akciğer patolojisini artırır. Ek olarak TNF- α , IL-1 β , ve IFN- α/β tarafından MCP-1, MCP-3 ve IP-10 kemokinlerinin indüklenmesi, inflamatuvar ve kemotaktik sinyallerin daha da fazla büyümesine ve daha fazla monosit/makrofaj ve T lenfosit göçüne neden olmaktadır. Bu hücrelerin pulmoner infiltrasyonu, sitokin ve kemokin üretiminin giderek artmasına ve olayın amplifikasyonuna yol açar¹⁰.

Elimizdeki veriler, monosit/makrofajlar tarafından üretilen kemokin tiplerinin, virusun enfektivitesine bağlı olarak farklılık gösterdiğini düşündürmektedir^{10,18}. Örneğin, ısı ve UV ile RNA polimeraz ve genomun inaktive edildiği influenza suşlarının bazı kemokinlerin (MIP-1 α , MCP-1) üretimini etkilemediği; diğer bir deyişle bu kemokinlerin üretimi için viral replikasyona gereksinim duyulmadığı gösterilmiştir¹⁸. Bu kemokin yolları, virusun monosit/makrofajlara adsorpsiyonu, endositozu ve/veya füzyonu ile aktive olabilmektedir. Bunun aksine IP-10 kemokini, RNA bütünlüğünü kaybetmiş influenza suşları tarafından indüklenmemekte, yani IP-10 üretimi için virusun aktif replikasyonu gerekmektedir¹⁸. Dawson ve arkadaşları¹⁹, CCR5 kemokin reseptör eksikliği olan farelerde, influenza A virus enfeksiyonunun yoğun makrofaj infiltrasyonuna bağlı olarak ciddi pnömoni ve yüksek mortalite ile seyrettiğini, buna karşın CCR2 kemokin reseptör eksikliği olanlarda akciğerde makrofaj birikiminin olmadığını ve sağkalım oranlarının arttığını göstermişlerdir. Bu veriler, konağın antiviral immün yanıtı ile enfeksiyonunun sonucu arasındaki dengenin, monosit ve makrofajlar tarafından salgılanan sitokin ve kemokinler ile kontrol edildiğini ve monosit/makrofajların belirli durumlara göre bu sitokin/kemokin tiplerini değiştirmek suretiyle immün yanıtın ve enfeksiyonun gidişini belirlediğini vurgulamaktadır.

İMMÜNOPATOGENEZDE SİTOKİN VE KEMOKİNLERİN ROLÜ

İnfluenza A/H5N1 virus enfeksiyonu sırasında, inflamatuvar sitokin regülasyonunun bozulması ve olağandışı üretimi, yani sitokin fırtınası sonucu, yaygın pulmoner ödem, akut bronkopnömoni, alveolar hemoraji, nekroz ve doku harabiyeti sonucu ARDS ortaya çıkmaktadır⁴ (Şekil 1). Kuş gribindeki sitokin fırtınasında rol alan ve immünopatolojik etkiye sahip çok sayıda sitokin ve kemokin tanımlanmıştır (Tablo I)¹⁰.

Tablo I. İnfluenza İmmünopatogenezinde Rolü Olan Sitokin ve Kemokinler

Sitokin/kemokin*	Fonksiyon	Üreten hücre
TNF- α	Direk antiviral etki; nötrofil kemoatraktanı; makrofaj fagositozunun stimülasyonu ve IL-1 üretimi; damar geçirgenliğinin artışı	T lenfositleri, NK hücreleri
IFN- γ	Viral replikasyonun inhibisyonu; sitotoksik T hücre aktivitesinin artışı; MHC-I ekspresyonunun artışı; makrofaj ve nötrofil aktivasyonu; T hücre proliferasyonunun artışı	T lenfositleri, monosit/makrofajlar, dendritik hücreler, nötrofiller
IL-1	Endoteliumda adezyon faktörlerinin ekspresyonunun artışı; damar geçirgenliğinin artışı; IL-6 üretiminin stimülasyonu	Monosit/makrofajlar, dendritik hücreler
IL-6	Proinflamatuvar sitokin; T hücre aktivasyonu	Solunum yolu epitel hücreleri, T lenfositleri, monosit/makrofajlar, dendritik hücreler
MIP-1 β (CCL4)	Monosit ve T hücre kemoatraktanı; nötrofil aktivasyonu	Monosit/makrofajlar, nötrofiller, T lenfositleri, dendritik hücreler
MIG (CXCL9)	Monosit ve T hücre kemoatraktanı	Solunum yolu epitel hücreleri, monosit/makrofajlar
IP-10 (CXCL10)	Monosit ve T hücre kemoatraktanı	Monosit/makrofajlar, T lenfositleri, solunum yolu epitel hücreleri
MCP-1	Monosit kemoatraktanı	Monositler, T lenfositleri, dendritik hücreler
RANTES (CCL5)	Monosit, T hücre ve dendritik hücre kemoatraktanı; T hücre aktivasyonu	T lenfositleri, solunum yolu epitel hücreleri
IL-8 (CXCL8)	Nötrofil ve T hücre kemoatraktanı; nötrofil aktivasyonu	Solunum yolu epitel hücreleri, monosit/makrofajlar, nötrofiller

TNF: Tümör nekrozis faktör; IFN: İnterferon; IL: İnterlökin; MIP: "Macrophage Inflammatory Protein"; MIG: "Monokine Induced by IFN- γ "; IP: Interferon- γ -Inducible Protein"; MCP: "Monocyte chemoattractant Protein"; RANTES: "Regulated on Activation Normal T cell Expressed and Secreted".

Yapılan çok sayıda in vitro, in vivo ve klinik çalışmada, A/H5N1 suşlarının yüksek düzeyde sitokin ve kemokin indüksiyonuna neden olduğu gösterilmiştir^{10,12,13,16,20-25}. Kaiser ve arkadaşları²⁰ ile To ve arkadaşları²¹, hastalığın şiddeti ile yüksek TNF- α , IL-6, IFN- α , IFN- γ ve sIL-2R düzeyleri arasındaki ilişkiyi ortaya koymuş; Cheung ve arkadaşları¹⁶ da in vitro çalışmalarında, H5N1/97 suşu ile enfekte edilen makrofajların, H3N2 ve H1N1 suşları ile enfekte edilenlere göre çok daha yüksek düzeylerde TNF- α ve IFN- β ürettiğini göstermişlerdir. Bu araştırmacılar, özellikle indüklenen TNF- α düzeyinin *Escherichia coli* lipopolisakaridi ile stimülasyon sonucu elde edilen değerlere benzer olduğunu vurgulamışlardır¹⁶. Peiris ve arkadaşları²² 2003 yılında A/H5N1 ile enfekte olan hastalarda yaptıkları çalışmada, hasta serumlarında olağandışı kemokin (IP-10 ve MIG) düzeyleri saptamışlar ve özellikle fatal olgularda bu değerlerin çok yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Chan ve arkadaşları²³, primer insan alveolar ve bronşiyal epitel hücre kültürlerinde Hong Kong H5N1/97 ve Vietnam H5N1/04 suşlarının, H1N1'e göre 10 kattan daha fazla inflamatuvar sitokin indüksiyonuna neden olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada, H5N1/97 ve H5N1/04 suşları ile hücrelerin enfeksiyonundan 24 saat sonra IP-10 düzeyleri sırasıyla 1750 pg/ml ve 2200 pg/ml'e ulaşırken, H1N1 ile enfekte hücrelerde bu düzey sadece 200 pg/ml'de kalmıştır. Araştırmacılar, diğer kemokin ve sitokinler ile de benzer sonuçlar elde ettiklerini ifade etmişlerdir²³. Bu bulguları destekleyen bir başka çalışmada da, influenza virus H5N1/97 suşlarıyla enfekte edilen insan makrofajları tarafından kemokin ve kemokin reseptörleri ekspresyonunun (CCL2, CCL3, CCL5, CXCL10), H1N1/98 suşları ile enfekte edilen makrofajlardan çok daha yüksek olduğu gösterilmiştir²⁴.

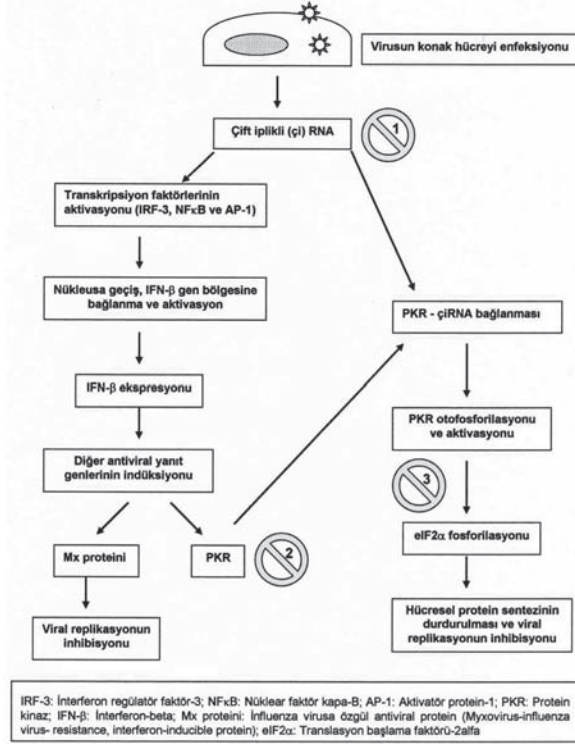
De Jong ve arkadaşlarının¹² yaptıkları klinik çalışmada, 2004-05 yıllarında A/H5N1 enfeksiyonu olan 18 hasta (13 ölüm) ile mevsimsel influenza (A/H3N2 ve A/H1N1) enfeksiyonu olan sekiz hasta (ölüm yok) virolojik ve immünolojik açıdan araştırılmıştır. H5N1 ile enfekte hastaların serumlarında IP-10, MCP-1 ve MIG düzeyleri, diğer tipler ile enfekte hastalardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Araştırmacılar özellikle ölümle sonlanan enfeksiyonlarda kemokin düzeylerinin olağandışı yüksekliğine dikkat çekmişler ve yoğun sitokin yanıtının önlenmesinin tedavi için önem taşıdığını vurgulamışlardır¹².

SİTOKİN FIRTINASININ MOLEKÜLER TEMELİ

Kuş gribi sırasında meydana gelen ve sitokin fırtınasını da kapsayan tüm immünopatolojik olayların moleküler temelinde, virusun replikasyon hızını artıran, doku tropizmini genişleten, sistemik yayılımını kolaylaştıran ve konağın antiviral immün yanıt mekanizmalarından kaçışını sağlayan bir takım genetik değişikliklerin yer aldığı anlaşılmıştır^{7,9}. Bunların arasında en çok suçlananlar NS1, HA, NA ve PB2 genlerindeki mutasyonlardır²⁶⁻³¹.

NS1 mutasyonları:

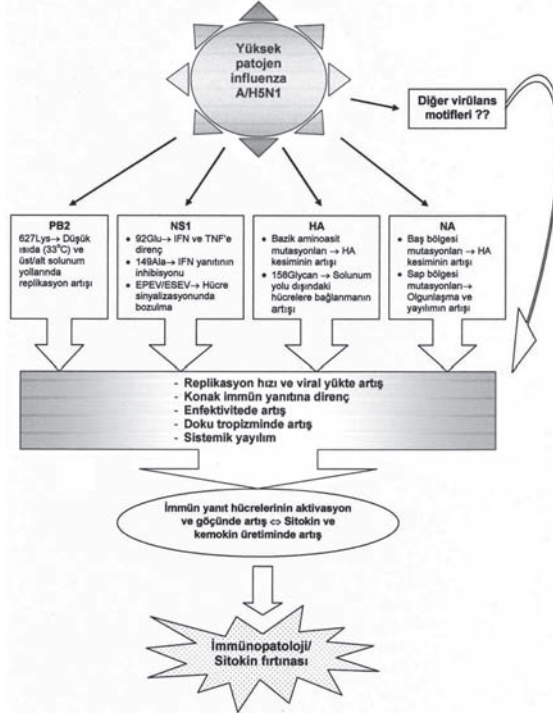
Virusun yapısal olmayan dimerik NS1 proteini, RNA'ya bağlanmak suretiyle çeşitli etkiler göstermektedir. Bu protein, konağın mRNA translasyonunu inhibe etmekte, viral pre-mRNA'ların "splicing" olayını, mRNA'ların translasyonunu ve viral polimeraz aktivitesini düzenlemekte ve dsRNA'nın indüklediği antiviral yanıtı baskılamaktadır⁸ (Şekil 2).



Şekil 2. Hücrenin antiviral yanıtı ve viral NS1 proteininin rol aldığı kaçış mekanizmaları:
1) Çift iplikli RNA'nın ayrılması (ayrı tutulması); 2) PKR'e doğrudan bağlanarak inhibisyon;
3) Hücresel protein p58 aktivasyonu vasıtasıyla PKR inhibisyonu.

İnfluenza A/H5N1 suşlarının patogeneğinde artışa neden olan farklı NS1 mutasyonları bildirilmiştir. Seo ve arkadaşları²⁶ ters genetik rekombinasyon yöntemi ile gerçekleştirdikleri çalışmada, A/H5N1/97 suşunun NS1 proteininin Glu92 mutasyonunun, virüsü IFN- α/γ ve TNF- α 'nın antiviral etkisinden koruduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada, NS1 proteininin 92.pozisyonunda aspartik asidin yer aldığı diğer influenza A tiplerinin (H3N2, H1N1, H2N9, H7N2) in vitro olarak IFN- α/γ ve TNF- α ile muamele edildiklerinde replikasyonlarının tamamen durduğu gösterilirken, aynı pozisyonda glutamik asit içeren A/H5N1/97 suşlarının hiç etkilenmedikleri ve replikasyonlarının aynı şiddette devam ettiği saptanmıştır²⁶. Bu bulgu, virus replikasyonunun konak tarafından kontrol altına alınamadığını, dolayısıyla da artan viral yükün daha şiddetli sitokin yanıtına yol açtığını vurgulamaktadır. Yapılan bir diğer çalışmada da, Glu92-Asp mutasyonu olan H5N1/97 suşuna ait NS1 geninin nakledilmesiyle oluşturulan reasortan H1N1 virusunun, fare modelinde pulmoner inflamatuvar sitokinlerin (IL-1, IL-6, IFN- γ) düzeylerini artırdığı belirlenmiştir²⁸. Li ve arkadaşları³⁰ ise, NS1 genindeki başka bir mutasyonun (Ala149-Val) virülans üzerindeki etkisini göstermişlerdir. Bu araştırmacılar, yüksek patojen olan ve olmayan rekombinant H5N1 suşları ile tavuk embriyo fibroblast hücre kültürlerinde yaptıkları çalışmada, Ala149 içeren

NS1 proteinine sahip suşların interferon indüksiyonu üzerinde antagonistik etki yaptığını, Val149 içeren suşların ise bu özelliği göstermediğini saptamışlardır³⁰. NS1 geninde Ala149-Val mutasyonu olan suşlar, interferon indüksiyonu ile ilişkili transkripsiyon faktörlerini ve/veya interferon pre-mRNA'larının işlenmesini inhibe etmek suretiyle interferon yanıtını baskılamaktadırlar (Şekil 3).



Şekil 3. Yüksek patojen influenza A/H5N1 suşlarının virülansında etkili olan mutasyonlar.

Patogenezi artıran bir diğer NS1 mutasyonu da, Obenhauer ve arkadaşlarının³², kanatlılardan izole edilen 169 avian influenza virus genomunda yaptıkları dizi analizi ile ortaya konmuştur. Bu kuş izolatlarının çoğunda, NS1 proteininin karboksil ucunda ESEV motifinin (Glu-Ser-Glu-Val) bulunduğu ve bu motifin hücre sinyalizasyon yolağı proteinlerindeki transmembran bir bir kangala (PDZ) bağlanmadan sorumlu olduğu belirlenmiştir. Buna karşın düşük virülanslı insan influenza A tiplerinde, NS1 proteininin aynı pozisyonunda PDZ ile ilişkisi olmayan farklı bir motif (RSKV; Arg-Ser-Lys-Val) mevcuttur. Ancak ilginç olan, virülanslı yüksek bazı H5N1 insan izolatlarında ESEV motifinin bulunması, bazılarında da bu motifin farklı olduğunun (EPEV motifi; Glu-Pro-Glu-Val) gösterilmesidir³². Bu bulgular, yüksek patojen H5N1 suşlarındaki NS1-EPEV motifinin, virusa, sinyal proteinlerinin PDZ kangalına bağlanma özelliği kazandırmak suretiyle hücre sinyalizasyonunda bozukluğa yol açtığını düşündürmektedir.

HA ve NA mutasyonları:

Viral zarf glikoproteini olan HA, virusun konak hücre yüzeyindeki sialik asit (SA) reseptörlerine tutunmasından ve virus ile hücre membranlarının kaynaşmasını sağlayarak genomun hücre sitoplazmasına penetrasyonundan sorumludur. Viral replikasyon döngüsü sırasında poliprotein olarak sentez edilen HA, fonksiyonel olabilmek için tripsin benzeri hücre proteazlarla kesime gereksinim duymaktadır⁸. HA polipeptidinin kesimi virusun enfektivitesini artırır. Hücre yüzeyindeki SA ünitelerinin parçalanmasından sorumlu olan NA ise, gerek virusun hücreden çıkışında gerekse solunum yolu mukusu içinde yayılımının kolaylaşmasında rol oynamaktadır. HA'ın SA'lere bağlanma özelliği ve NA'ın SA'leri parçalama aktivitesi birbirleri ile hassas bir denge halinde olup, virusun konak özgüllüğü, doku tropizmi ve virülansı ile yakından ilişkilidir⁸. Yapılan çalışmalar, virülansı yüksek influenza A/H5N1 suşlarının patogeneğinde HA ve NA mutasyonlarının da büyük önem taşıdığını ortaya koymuştur^{8,27,33-37} (Şekil 3).

Yüksek patojen A/H5N1 viruslarında, HA'ın kesim bölgesinde çok sayıda bazik aminoasit bulunması ile virülans arasında doğrudan bir ilişkili olduğu saptanmıştır^{9,29}. Bu ilişki, kesim bölgesinde polibazik aminoasit içeren HA polipeptidinin, sadece tripsin benzeri proteazlar ile değil, hücre içinde ve hücreler arası bölgelerde bol miktarda bulunan furin enzimi dahil, birçok hücre proteaz tarafından da kesilebilme özelliği kazanmasından kaynaklanmaktadır. Böylece HA polipeptidini, hücrenin her bölgesinde ve çok daha fazla miktarda kolayca kesilebilecek, dolayısıyla da virusun enfektivitesi ve yayılımı artacaktır. Hulse ve arkadaşları²⁷, HA proteininin 97 (aspartik asit), 108 (izolösin), 126 (aspartik asit), 138 (lösin), 212 (glutamik asit) ve 217 (prolin) pozisyonlardaki aminoasitlerin, yüksek virülans H5N1 suşlarının patojenitesinde önem taşıdığını ters genetik rekombinasyon yöntemiyle göstermişlerdir. Ayrıca bu aminoasitlerin gerek 1997 yılı gerekse 2003 yılı yüksek patojen insan izolatlarında da aynı pozisyonlarda bulunduğu saptanmıştır²⁷. Gao ve arkadaşları³⁸ da, HA'ın hücre yüzeyi reseptörüne bağlanma bölgesinin yanında yer alan bir aminoasit (Asn158) yerine glikan mevcudiyetinin, farelere patojenitenin artışında rol oynadığını rapor etmişlerdir.

Daha kısıtlı sayıda olmakla birlikte NA ile ilgili çalışmalarda, NA mutasyonlarının virülansı dolaylı olarak artırdığı ve bu etkiyi HA kesimi üzerinden gerçekleştirdiği görüşü kuvvet kazanmıştır. Örneğin bir çalışmada, yüksek virülans H5N1 suşlarında NA proteininin globüler (baş) kısmında fazladan bir glikozilasyon bölgesinin olduğu saptanmış ve bu bölgenin hücrelerde HA kesiminin artmasına yol açtığı düşünülmüştür²⁷. Bu mekanizma, yüksek derecede glikozillenmiş olan NA'ın konak proteazlarını aktive etmek suretiyle viral HA'ların kesimini kolaylaştırması ile gerçekleşiyor olabilir³³. NA'ın aktif bölgesini taşıyan transmembran uzantısının (sap) da aminoasit dizilişi ve uzunluğu, fonksiyonu üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Katz ve arkadaşları³⁹, yüksek patojen A/H5N1/97 suşlarında NA sapında yer alan bir aminoasit mutasyonunun (Ile223) virülansla ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir.

İnfluenza virusları kuşlarda enterotropik özellik göstermekte, yani primer replikasyon barsakta gerçekleşmektedir. Bunun aksine insana adapte olan tipler, enterositlerde SA reseptörü olmasına rağmen, barsakta değil solunum yollarında replike olurlar. Ciddi gastrointestinal semptomlara yol açan Hong Kong H5N1 virusunun, insan barsağında üreyebilme yeteneğini HA ve NA mutasyonlarıyla kazandığı ve bir ara konakta adaptasyona gerek duymaksızın tavuklardan insana doğrudan geçtiği düşünülmektedir¹⁰. Bu mutasyonlar; viral HA'in reseptöre bağlanma bölgesindeki glikozilasyon ve sialidasyon farklılıklarına yol açarak daha az reseptör varlığında bile bağlanma özelliği kazandırabileceği gibi, viral NA'ın düşük pH'da fonksiyon kazanmasına yol açarak sindirim sisteminde de etkili olmasını sağlayabilmektedirler⁸.

PB2 mutasyonları:

PB2 proteini, nükleoprotein ve viral RNA'larla ilişki virion içi heterotrimerik P kompleksinin (PA, PB1, PB2) bir parçası olup, viral RNA'nın transkripsiyon ve replikasyonunda rol oynamaktadır. Bu proteinin 627.pozisyonunda Glu→Lys değişiminin virusun patojenitesini artırdığı gösterilmiştir^{34,38,40}. Hatta ve arkadaşları⁴⁰ fare modelinde yaptıkları çalışmada, Lys627 mutasyonu olan H5N1 suşlarının, memelilerin üst ve alt solunum yolu epitellerinde ve düşük ısılarında (33°C) diğer tiplere göre çok daha yüksek oranda replike olduğunu saptamışlar ve bu mutasyonun virusa hızlı replikasyon ve etkili yayılım için bir avantaj sağlayarak patojeniteyi artırdığını ifade etmişlerdir (Şekil 3). Ayrıca PB2 proteininde Lys355, Lys198 ve Ile317 mutasyonları olan suşların da fareye daha patojen olduğu ve memeli hücre kültürlerinde (MDCK) daha fazla ve büyük çaplı plak oluşumuna neden olduğu da bildirilmiştir³⁹.

SİTOKİN FIRTINASININ ÖNLENMESİ TEDAVİ AMAÇLI KULLANILABİLİR Mİ?

İnfluenza A/H5N1 enfeksiyonunun patogenezinde immün modülasyonun bozulması ve sitokin fırtınasının ortaya çıkışı, bu enfeksiyonların tedavisinde erken dönemde uygulanan antiviral ilaçların yanında immün yanıtı baskılayan ilaçların (immün modülatör) kullanımını da gündeme getirmiştir. Özgül antiviral tedavi (nöraminidaz inhibitörleri), sitokin fırtınası tetiklendikten sonra etkili olmamaktadır. Sitokin yanıtının baskılanmasında kortikosteroidlerin rolü olabileceği düşünülse de, klinik uygulamalarda herhangi bir yararın saptanmaması, hatta aksine sekonder pnömoni ve mortalite riskini artırması nedeniyle, DSÖ sistemik kortikosteroid kullanımını önermemektedir⁴¹. Büyüme hormonu (growth hormon), NSAID (non-steroidal anti-inflammatory drugs) ve anti-TNF gibi immün modülatör ajanlar da, klinik denemelerde A/H5N1 enfeksiyonlarında ortaya çıkan sepsis tedavisinde etkili bulunmamışlardır⁴¹. İmmün modülatör ajanlar arasında adı geçen bir diğer ilaç, kolesterol düzeyinin düşürülmesi amacıyla kullanılan statinlerdir. Statinlerin, anti-inflamatuvar etkilerinden ve bir pandemi sırasında potansiyel yararlarından bahsedilmekle birlikte, influenza tedavisindeki faydaları ile ilgili yayınlanmış bir klinik çalışma yoktur⁴².

İnfluenza immünopatogenezinin ve sitokin yanıtının azaltılmasında, farklı mekanizmalar üzerinde yapılan araştırmalar da mevcuttur. Bir hayvan çalışmasında⁴³, önceden intranasal kitin mikropartikülleri uygulanmış farelerin letal influenza suşlarıyla enfekte edildiklerinde sağkalım oranlarında, kontrollere göre önemli oranda artış olduğu saptanmış ve ayrıca nazal mukozada IL-6 ve IP-10 düzeylerinin azaldığı belirlenmiştir. Araştırmacılar, profilaktik intranasal kitin mikropartikülleri uygulamasının, NK hücrelerinin bu bölgedeki lokal birikimini artırdığını ve böylece sitokinlerin olağandışı üretiminin baskılandığını öne sürmüşler ve bu uygulama ile oluşan doğal immün yanıtın H5N1 patogenezinin azaltılabileceğini düşünmüşlerdir⁴³. Buna karşın son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda, sitokin yanıtının baskılanmasının H5N1 enfeksiyonunun fatal gidişi üzerinde etkisi olmadığı bildirilmektedir^{44,45}. Szretter ve arkadaşları⁴⁴, çeşitli sitokin yollarında eksiklik oluşturdukları transgenik fareleri, yüksek virülen H5N1 ile enfekte etmişler ve mortalite oranlarının kontrol grubu ile fark göstermediğini belirlemişlerdir. Salomon ve arkadaşlarının⁴⁵ yaptığı çalışmada da, sitokin yanıtı inhibisyonunun farelerde fatal enfeksiyonu önleyip önlemediği araştırılmış ve hem H5N1/04 suşu ile enfekte edilen transgenik farelerde (TNF- α , IL-6 ve MCP-1 genleri eksik) hem de sitokin yanıtının glukokortikoidlerle baskılandığı normal farelerde, enfeksiyonun, kontrol grubunda olduğu gibi ölümlerle sonuçlandığı saptanmıştır. Ancak her bir sitokin eksikliğinin münferit olarak araştırıldığı ve seçilmiş bir anda seçilmiş bir sitokin yanıtı inhibisyonu ile yapılan bu çalışmalarda elde edilen veriler, çok sayıda sitokin yolağının iç içe geçmiş olduğu doğal immün modülasyon mekanizmalarının etkisini değerlendirmek için yeterli değildir. Burada göz ardı edilmemesi gereken bir diğer nokta ise, sitokinlerin konak savunması üzerindeki pozitif etkileri, yani virüsü eradike etme özellikleridir. Dolayısıyla immün modülatör ilaç kullanımında önemli olan, bir sitokin yanıtının tamamen inhibe edilmesi değil, pozitif ve negatif etkiler arasındaki dengenin korunmasını sağlamaktır.

SONUÇ

Yüksek virülansı, insandan insana bulaş yeteneği kazanma olasılığı, antiviral ilaçlara karşı direnci, etkin bir aşının henüz geliştirilememesi ve geliştirilse bile global üretim ve dağıtımının büyük sorun oluşturması gibi nedenlerden dolayı, influenza A/H5N1 virüsü son yıllardaki olası pandemi senaryolarının merkezinde yer almaktadır. Dolayısıyla avian influenza virus enfeksiyonları ile mücadelede, öncelikle virüsün patojenite mekanizmalarının tam olarak anlaşılması gereklidir. Günümüzde elde edilen veriler, kuş gribinin yüksek morbidite ve mortalitesinin, immün regülasyon bozukluğuna bağlı olduğunu ortaya koymuştur. Enfeksiyonun immünopatogenezinde, yüksek düzey sitokin ve kemokin üretimi sonucu gelişen sitokin fırtınasının büyük önemi vardır. Bu durum, virus replikasyonunu ve viral yükü artıran, virüsün doku tropizminin genişlemesini ve sistemik yayılımını sağlayan ve konağın immün yanıtına karşı virüse direnç kazandıran birtakım mekanizmalar sonucu ortaya çıkmaktadır. Virülansı artıran bu mekanizmaların özellikle NS1, HA, NA ve PB2 genlerindeki mutasyonlar ile kontrol edildiği, bunların dışında henüz aydınlatılamamış moleküler mekanizmaların da yer

alabileceği düşünülmektedir. Sonuç olarak bu veriler ışığında, influenza A/H5N1 enfeksiyonlarında uygulanacak olan tedavi ve aşı protokollerinin, immün regülasyon bozukluklarının düzenlenmesine ve sitokin fırtınasının önlenmesine yönelik olması konusunda günümüzde görüş birliği oluşmuştur.

KAYNAKLAR

1. Simonsen L, Olson DR, Viboud C, et al. Pandemic influenza and mortality: past evidence and projections for the future, pp: 89-114. In: Knobler S, Mack A, Mahmoud A, Lemon S (eds), The Threat of Pandemic Influenza: Are We Ready? Workshop Summary, 2005. The National Academies Press, Washington, DC.
2. Petrosino AL. Cytokine storm and the influenza pandemic. <http://www.cytokinestorm.com/>
3. WHO. http://www.who.int/cr/disease/avian_influenza/country/cases_table_2007_12_14/en/index.htm
4. Osterholm MT. Preparing for the next pandemic. *N Engl J Med* 2005; 352: 1839-42.
5. T.C.Sağlık Bakanlığı, Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü. Pandemik İnfluenza Ulusal Faaliyet Planı. <http://www.grip.saglik.gov.tr/Upp.pdf>
6. Clark IA. The advent of the cytokine storm. *Immunol Cell Biol* 2007; 85: 271-3.
7. Palese P, Basler CF, García-Sastre A. The makings of a killer. *Nat Med* 2002; 8: 927-8.
8. 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.
9. Krug RM. Virology. Clues to the virulence of H5N1 viruses in humans. *Science* 2006; 311: 1562-3.
10. La Gruta NL, Kedzierska K, Stambas J, Doherty PC. A question of self-preservation: immunopathology in influenza virus infection. *Immunol Cell Biol* 2007; 85: 85-92.
11. Monto AS. Pandemic influenza: Framing the threat. www.medscape.com/viewarticle/544862
12. de Jong MD, Simmons CP, Thanh TT, et al. Fatal outcome of human influenza A (H5N1) is associated with high viral load and hypercytokinemia. *Nat Med* 2006; 12:1203-7.
13. Bruder D, Srikiatkachorn A, Enelow RI. Cellular immunity and lung injury in respiratory virus infection. *Viral Immunol* 2006; 19: 147-55.
14. Hsieh SM, Chang SC. Insufficient perforin expression in CD8+ T cells in response to hemagglutinin from avian influenza (H5N1) virus. *J Immunol* 2006; 176: 4530-3.
15. Humphreys IR, Walzl G, Edwards L, Rae A, Hill S, Hussell T. A critical role for OX40 in T cell-mediated immunopathology during lung viral infection. *J Exp Med* 2003; 198: 1237-42.
16. 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.
17. Seo SH, Webby R, Webster RG. No apoptotic deaths and different levels of inductions of inflammatory cytokines in alveolar macrophages infected with influenza viruses. *Virology* 2004; 329: 270-9.
18. Kaufmann A, Salentin R, Meyer RG, et al. Defense against influenza A virus infection: essential role of the chemokine system. *Immunobiology* 2001; 204: 603-13.
19. Dawson TC, Beck MA, Kuziel WA, Henderson F, Maeda N. Contrasting effects of CCR5 and CCR2 deficiency in the pulmonary inflammatory response to influenza A virus. *Am J Pathol* 2000; 156: 1951-9.
20. Kaiser L, Fritz RS, Straus SE, Gubareva L, Hayden FG. Symptom pathogenesis during acute influenza: interleukin-6 and other cytokine responses. *J Med Virol* 2001; 64: 262-8.
21. 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.
22. Peiris JS, Yu WC, Leung CW, et al. Re-emergence of fatal human influenza A subtype H5N1 disease. *Lancet* 2004; 363: 617-9.

23. 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.
24. Zhou J, Law HK, Cheung CY, Ng IH, Peiris JS, Lau YL. Differential expression of chemokines and their receptors in adult and neonatal macrophages infected with human or avian influenza viruses. *J Infect Dis* 2006; 194: 61-70.
25. Casey J. Bird flu: A cytokine storm? *Nature China*. <http://www.nature.com/nchina/2007/070228/full/nchina.2007.17.html>
26. Seo SH, Hoffmann E, Webster RG. Lethal H5N1 influenza viruses escape host anti-viral cytokine responses. *Nat Med* 2002; 8: 950-4.
27. 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.
28. 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 (Pt 4): 1121-30.
29. Ren EC. Know the enemy. *Nat Biotechnol* 2006; 24: 330-1.
30. Li Z, Jiang Y, Jiao P, et al. The NS1 gene contributes to the virulence of H5N1 avian influenza viruses. *J Virol* 2006; 80: 11115-23.
31. Lin D, Lan J, Zhang Z. Structure and function of the NS1 protein of influenza A virus. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2007; 39: 155-62.
32. Obenauer JC, Denson J, Mehta PK, et al. Large-scale sequence analysis of avian influenza isolates. *Science* 2006; 311: 1576-80.
33. Goto H, Wells K, Takada A, Kawaoka Y. Plasminogen-binding activity of neuraminidase determines the pathogenicity of influenza A virus. *J Virol* 2001; 75: 9297-301.
34. Hatta M, Gao P, Halfmann P, Kawaoka Y. Molecular basis for high virulence of Hong Kong H5N1 influenza A viruses. *Science* 2001; 293:1840-2.
35. Banks J, Plowright L. Additional glycosylation at the receptor binding site of the hemagglutinin (HA) for H5 and H7 viruses may be an adaptation to poultry hosts, but does it influence pathogenicity? *Avian Dis* 2003; 47(3 Suppl): 942-50.
36. Lee CW, Suarez DL, Tumpey TM, et al Characterization of highly pathogenic H5N1 avian influenza A viruses isolated from South Korea. *J Virol* 2005; 79: 3692-702.
37. Zhou JJ, Fu J, Fang DY, et al. Molecular characterization of the surface glycoprotein genes of an H5N1 influenza virus isolated from a human in Guangdong, China. *Arch Virol* 2007; 152: 1515-21.
38. Gao P, Watanabe S, Ito T, et al. Biological heterogeneity, including systemic replication in mice, of H5N1 influenza A virus isolates from humans in Hong Kong. *J Virol* 1999; 73: 3184-9.
39. Katz JM, Lu X, Tumpey TM, Smith CB, Shaw MW, Subbarao K. Molecular correlates of influenza A H5N1 virus pathogenesis in mice. *J Virol* 2000; 74: 10807-10.
40. Hatta M, Hatta Y, Kim JH, et al. Growth of H5N1 influenza A viruses in the upper respiratory tracts of mice. *PLoS Pathog* 2007; 3: 1374-9.
41. Clinical management of human infection with avian influenza A (H5N1) virus, 2007. http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/ClinicalManagement07.pdf.
42. Fedson D. Pandemic influenza: a potential role for statins in treatment and prophylaxis. *Clin Infect Dis* 2006; 43:199-205.
43. Ichinohe T, Nagata N, Strong P, et al. Prophylactic effects of chitin microparticles on highly pathogenic H5N1 influenza virus. *J Med Virol* 2007; 79: 811-9.
44. Szretter KJ, Gangappa S, Lu X, et al. Role of host cytokine responses in the pathogenesis of avian H5N1 influenza viruses in mice. *J Virol* 2007; 81: 2736-2744.
45. Salomon R, Hoffmann E, Webster RG. Inhibition of the cytokine response does not protect against lethal H5N1 influenza infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 12479-81.