

Mecanisme patogenetice în infecția cu virusul West Nile

Virusul West Nile (WNV) este un arbovirus zoonotic, din familia Flaviviridae, gen Flavivirus, emergent în Europa de Sud-Est în ultimii ani. WNV are cel puțin cinci lineage diferite. Lineage 1, universal răspândit, prezintă două variante, 1a și 1b. Varianta 1a, a fost izolată din America, Africa, Asia, Europa și Orientul Mijlociu, fiind ulterior subîmpărțită în subvariantele A și B. Subvarianta 1b, este cunoscută ca varianta atenuată a WNV sau Kunjin virus (KUNV), recunoscut ca endemic în Australia, fiind doar ocazional implicat în îmbolnăviri la om.

Lineage 2 este răspândit în Africa sub-Sahariană, Madagascar, Africa de Sud și în unele țări din Europa: Rusia, Ungaria, Grecia, Italia. WNV lineage 2 din Europa își are originea din Africa, în ultimele două decade devenind endemic. Acest genotip este rar implicat în manifestări neurologice (encefalite). Este posibilă prezența ambelor lineage (1 și 2), în același teritoriu, situație descrisă în Ungaria în perioada 2003-2004, la păsări și om.

Lineage 3-Rabensburg virus, a fost izolat de la *Culex pipiens* din Republica Cehă, Moravia de Sud, în timp ce lineage 4 a fost izolat din zona Caucaz (Rusia), după o mușcătură de Dermacentor, apoi și de țânțari. WNV lineage 5, considerat varianta 1c a lineage-ului 1, a fost izolat de la om și țânțari, în India. Se discută și de un posibil lineage 6, izolat din *Culex pipiens* în Spania, precum și de Koutango virus izolat din Senegal, ca al 7-lea lineage al WNV.

În invazia SNC sunt implicați Toll-like receptorii 3, receptorul CCR5 și ligandul acestuia, CCL5, stimulați de WNV, cu migrarea locală a limfocitelor T CD4, CD8, NK1.1 și a macrofagelor. Invazia virală a SNC se produce de la o celulă la alta, cu apariția inflamației locale, a edemului cerebral și encefalitei, cu afectarea mai ales a hipocampului, talamusului, regiunii temporale, substanței neagre și cerebelului.

Se acceptă ideea că invazia sistemului nervos central (SNC) este consecința răspunsului imun sistemic inefficient, care permite o importantă replicare virală, cu afectarea SNC proporțional cu nivelul și durata viremiei. Au fost propuse mai multe mecanisme de pătrundere a WNV prin bariera hematoencefalică, evidențiate experimental la șoareci: trecerea pasivă la nivelul celulelor epiteliale ale plexului coroid, la nivelul neuronilor olfactivi sau prin intermediul celulelor imune infectate. Acțiunea WNV este primar neuronală, la nivelul microgliei,

astrocitelor, celulelor endoteliale, oligodendrocitelor, celulelor neuroblastice dar și la nivel medular- cornul anterior fiind afectat cu precădere.

Apariția cazurilor severe la persoane imunodeprimite și vârstnici, pare să fie explicată prin scăderea răspunsului imun la antigene noi, secundar diminuării celulelor T eliberate de timus, precum și răspunsului ineficient în anticorpi IgM neutralizanți.

LyCD4⁺ susțin răspunsul local în SNC al LyCD8⁺ de clearance viral, acestea din urmă fiind responsabile de controlul infecției, prevenirea persistenței virale la nivel tisular. Anticorpii de tip IgM și IgG sunt responsabili de controlul viremiei și prevenirea evoluției fatale. A fost studiat și rolul pe care îl au în infecția WNV astrocitele, microglia, și oligodendrocitele. Astrocitele, prezente într-o ratio de 1.4 față de neuroni, reprezintă suportul metabolic neuronal, cu importante funcții în homeostazia cerebrală. Au un rol limitat în sinteza de proteine de fază acută și citokine proinflamatorii dar au rol crucial în controlul influxului leucocitar în CNS, menținând integritatea barierei meningocerebrale (Blood-Brain-Barrier - BBB) prin rețeaua denumită *glia limitans*. Microglia, reprezintă macrofagele SNC, activate în cursul bolilor inflamatorii sau sub acțiunea injuriilor neuronale, care în aceste condiții, prin funcțiile plastice pe care le posedă, este aptă să își modifice celularitatea numeric, morfologic, și ca expresie a receptorilor de suprafață, precum și să producă factori de creștere și citokine proinflamatorii. După peak-ul viremiei, are loc pătrunderea WNV în SNC, producându-se recrutarea leucocitară prin transmigrare din periferie la nivelul BBB, la nivelul endoteliul vascular, fiind reținute în spațiul perivascular. Migrarea leucocitară este influențată de mecanisme incomplet cunoscute în prezent. Este evidentă acțiunea TNF- α , de creștere a permeabilității vasculare, expresia C-X-C motif chemokine 12 (CXCL12), și acțiunea matrix-metalloproteinazelor (MMP) produse de astrocite, care favorizează migrarea leucocitelor în spațiul perivascular și la nivelul *glia limitans*. Migrarea leucocitară în parenchimul cerebral, este apanajul leziunilor apărute la nivelul unor componente ale *glia limitans*: degradarea colagenului sub acțiunea cisteine-protease cathepsinelor K, S, și L, conversia plasminogenului în plasmină, cu degradarea fibronectinei sau lamininei. În cursul invaziei CNS a WNV, se produce o creștere a expresiei a două chemokine CXC, respectiv CXCL1 și CXCL2 care contribuie la recrutarea neutrofilelor la nivel cerebral, fiind cele mai importante celule imune care intervin precoce în apărarea locală. WNV produce apoptoza neuronală dependentă de calea caspazei-3 și caspazei-9, activate la prezența proteinei capsidei WNV în SNC, dar și prin activarea calphainei și cathepsinei. Prezența WN la animalele de experiență, activează liniile celulare, activează caspaza-3, eliberarea citocromului c, expune

phosphatidylserina la exteriorul membranei plasmatică, cu apariția apoptozei în 2-3 zile. Apoptoza celulară este rezultatul replicării virale, unele dintre proteinele virale fiind implicate direct în acest proces, ca de exemplu proteina NS3.

Nivelele mari ale proteinelor nonstructurale ale WNV (NS2A, 2B, 4A, 4B) și ale glicoproteinei E, pot induce apoptoza prin stressul reticulum endoplasmatic (ER). Cercetările în patogenia infecției WNV neuroinvasive, confirmă intensificarea acțiunii virale prin eliberarea de către neuroni a citokinelor proinflamatorii precum IL-1 β , -6, -8 și TNF- α (48).

Rolul neuroprotectiv al administrării anticorpilor neutralizanți anti IL-1 β și TNF- α , este semnificativ la 2 zile de la administrare pe liniile celulare umane neuroblastice SK-N-SH infectate cu WNV, în timp ce administrarea anticorpilor neutralizanți anti-IL-6 și anti-IL -8, nu aduce modificări favorabile în evoluție.

Diferențele de virulență între tulpinile de WNV, se explică prin capacitatea tulpinilor virulente –de exemplu WNV New York 1999-NY99, de a se comporta ca un antagonist potent al alpha/beta interferon (IFN- α/β), mediat de Janus kinase-signal transducer și activator of transcription (JAK-STAT) prin inhibiția JAK phosphorylării, prin intervenția proteinelor nonstructurale NS2A, NS2B, NS3, NS4A, și NS4B.

S-a emis deasemenea ipoteza potrivit căreia, insuficiența macrofagelor care reduc expresia TLR3, prezentă la vârstnic, este responsabilă de prezența unor nivele înalte de citokine proinflamatorii, cu acțiune vasculogenică. Dintre proteinele nonstructurale ale WNV, NS1, joacă rol antagonist al apărării antivirale prin inhibiția activării complementului, transducției semnalului TLR3 și a activării STAT1/STAT2.

Cunoașterea mecanismelor patogenetice este extrem de importantă în înțelegerea evoluției manifestărilor neurologice ale infecției WN dar și în posibile intervenții terapeutice, pe care doresc să le cercetez. Voi axa cercetarea pe modificările în activarea trombinei în encefalita WN, ca potențial factor predictor al evoluției nefavorabile.