

KATARZYNA NAZIMEK¹, MONIKA BOCIĄGA-JASIK², KRZYSZTOF BRYNIARSKI¹, ALEKSANDER GALAŚ³,
ALEKSANDER GARLICKI², ANNA GAWDA¹, GRZEGORZ GAWLIK⁴, KRZYSZTOF GIL⁵,
MAGDALENA KOSZ-VNENCHAK⁶, DOROTA MROŻEK-BUDZYN³, RAFAŁ OLSZANECKI⁴,
ANNA PIĄTEK², BARBARA ZAWILIŃSKA⁶, JANUSZ MARCINKIEWICZ¹

EBOLA VIRUS DISEASE

GORĄCZKA KRWOTOCZNA EBOLA: ETIOLOGIA, EPIDEMIOLOGIA, OBJAWY KLINICZNE, PATOGENEZA, DIAGNOSTYKA, PROFILAKTYKA I LECZENIE

Abstrakt: Gorączka krwotoczna Ebola jest odzwierzęcą chorobą wirusową, o najwyższym wskaźniku śmiertelności wśród chorób zakaźnych ludzi, dochodzącym nawet do 90%. Liczba ofiar epidemii, która wybuchła w krajach Afryki w 2014 roku, przekroczyła już 8000. Odnotowane w Zachodniej Europie i Stanach Zjednoczonych zgony osób z gorączką krwotoczną Ebola zwróciły uwagę na zagrożenie związane z możliwym rozprzestrzenieniem się tej epidemii poza Afrykę. Dlatego zakażenia wirusem Ebola uznano za międzynarodowy problem epidemiologiczny, wynikający głównie z braku odporności ludzi, jak również braku zatwierdzonej swoistej terapii. Wirus Ebola, którego naturalnym rezerwuarem jest nietoperz *Myonycteris torquata*, należy do rodziny Filowirusów. Wczesne objawy zakażenia są niecharakterystyczne, a dramatyczne zaburzenia funkcjonowania układów immunologicznego i krzepnięcia w przebiegu zakażenia prowadzą do ciężkich zmian krwotocznych i niewydolności wielonarządowej będących bezpośrednią przyczyną zgonu. Obecnie za najczulszą metodę wykrywania obecności wirusa w materiale laboratoryjnym uważana jest technika real-time RT-PCR. Ze względu na aktualny brak zarejestrowanych swoistych terapeutyków u chorych z gorączką krwotoczną Ebola wprowadza się leczenie objawowe i eksperymentalne. Ponadto prowadzone są intensywne badania nad metodami czynnego (szczepienia) i biernego (seroterapia) uodparniania organizmu. Niniejszy artykuł podsumowuje aktualny stan wiedzy o przebiegu oraz sposobach zapobiegania i zwalczania zakażeń wywołanych wirusem Ebola.

Abstract: Ebola is one of the most virulent zoonotic RNA viruses causing in humans haemorrhagic fever with fatality ratio reaching 90%. During the outbreak of 2014 the number of deaths exceeded 8,000. The “imported” cases reported in Western Europe and USA highlighted the extreme risk of Ebola virus spreading outside the African countries. Thus, haemorrhagic fever outbreak is an international epidemiological problem, also due to the lack of approved prevention and therapeutic strategies. The editorial review article briefly summarizes current knowledge on Ebola virus disease epidemiology, etiology, pathogenesis, clinical presentation, diagnosis as well as possible prevention and treatment.

Słowa kluczowe: wirus Ebola, gorączka krwotoczna, epidemia gorączki krwotocznej Ebola, patomechanizm i profilaktyka zakażeń wirusem Ebola, objawy, diagnostyka i terapia gorączki krwotocznej Ebola.

Key words: Ebola virus, haemorrhagic fever, Ebola virus disease.

WPROWADZENIE

Do czasu obecnej epidemii gorączki krwotocznej Ebola (EVD, Ebola virus disease) chorobę tę uważano za lokalny, samoograniczający się problem epidemiologiczny o niezwykle wysokim współczynniku śmiertelności, ale dotyczący jedynie krajów Afryki i związany ze specyfiką tamtejszych warunków sanitarno-epidemiologicznych. Natomiast podczas ostatniej epidemii EVD, która rozpoczęła się w 2014 roku, osoby migrujące z Afryki a mające wcześniej kontakt z chorymi, jak również zakażeni obywatele krajów pozaafrykańskich przekazani do specjalistycznej opieki szpitalnej stanowili potencjalne źródło zagrożenia rozprzestrzenienia się epidemii poza Afrykę. Zagrożenie to jest także związane z nieograniczonym i bardzo szybkim przemieszczaniem się ludności oraz brakiem odporności organizmu ludzkiego na zakażenie wirusem Ebola (EBOV, Ebola virus) z rodziny RNA Filowirusów. Zagrożenie to w powiązaniu ze strategią ochrony zdrowia publicznego w krajach zachodnich dowodzi, że EVD jest problemem międzynarodowym i wymaga globalnej interwencji. Dlatego opracowanie skutecznych metod profilaktyki zakażenia tym wirusem (zwłaszcza szczepień ochronnych) oraz swoistych strategii terapeutycznych jest niezwykle istotnym wyzwaniem.

Niniejszy artykuł redakcyjny przedstawia i podsumowuje aktualny stan wiedzy o epidemiologii, patomechanizmie, etiologii, profilaktyce, objawach, diagnostyce i terapii EVD, której rozszerzenie zawarto w równoległe opublikowanych artykułach przeglądowych.

EPIDEMIOLOGIA [1–4]

Pierwsze zachorowania na gorączkę krwotoczną wywołaną filowirusem (wirusem Marburg) zarejestrowano w 1967 roku. Dotyczyły one pracowników laboratoriów w Niemczech i byłej Jugosławii, którzy mieli kontakt ze zwierzęcymi nosicielami tego wirusa (makakami przywiezionymi z Ugandy). Natomiast pierwsze naturalne epidemie EVD wybuchły w 1976 roku w Sudanie i w Zairze (obecnie Demokratyczna Republika Kongo), rozprzestrzeniały się przede wszystkim na skutek bezpośredniej opieki członków rodzin nad chorymi i doprowadziły do śmierci odpowiednio 53% i 88% zakażonych osób. Obecna fala zachorowań jest 21. i najtragiczniejszą w historii epidemią EVD (za epidemię uznano co najmniej 10 przypadków potwierdzonego zachorowania). Rozpoczęła się ona 10 marca 2014 roku w Guekedou w Gwinei i objęła swym zasięgiem Liberię, Sierra Leone i Nigerię, doprowadzając do śmierci 7905 osób spośród 20 206 zakażonych (raport WHO z dnia 31 grudnia 2014 roku). Śmiertelność pacjentów z EVD oszacowano na 43% w Gwinei oraz 74% w Sierra Leone.

EBOV, którego nazwa pochodzi od rzeki w Zairze, należy do rodziny *Filoviridae* (łac. *filum* 'nić, włókno' charakteryzuje typowy kształt wirusów, przypominający

poskręcaną nitkę) i rodzaju *Ebolavirus*, w obrębie którego wyróżniono 5 gatunków (*Ebola-Zair*, *Ebola-Sudan*, *Ebola-Bundibugyo*, *Ebola-Tai Forest*, *Ebola-Reston*). Cztery gatunki pochodzą z Afryki, natomiast niechorobotwórczy dla człowieka *Ebola-Reston* z Azji. Warto podkreślić, że zakażenia gatunkiem *Ebola-Zair* charakteryzują się najwyższym wskaźnikiem śmiertelności.

Analiza retrospektywna poprzednich epidemii wskazuje, iż wraz ze wzrostem liczby pasażerów EBOV między ludźmi maleje współczynnik śmiertelności, co sugeruje obniżenie wirulencji samego wirusa poprzez wielokrotne transmisje. Najistotniejszą drogą przenoszenia EBOV jest bezpośredni kontakt personelu medycznego i rodziny z zakażonym, zwłaszcza przy niezachowaniu najwyższych standardów aseptyki i antyseptyki oraz przy braku właściwych środków ochrony osobistej. Najważniejszymi czynnikami ryzyka zakażenia EBOV w przypadku transmisji szpitalnej są: brak lub niedokładna sterylizacja narzędzi, brak bieżącej wody, ograniczona ilość lub nieprawidłowo używana odzież ochronna oraz brak rutynowych procedur postępowania z osobą zakażoną. Dodatkowo niezachowanie należytej ostrożności zwiększa ryzyko przypadkowego kontaktu z przedmiotami skażonymi wydzielinami chorego. Zakaźność pacjenta wzrasta wraz z rozwojem choroby i jest najwyższa w jej terminalnym stadium, a także po jego śmierci. Przypuszcza się, że terminalnie chorzy mogą wykazywać zakaźność nawet drogą kropelkową. W przypadku członków rodziny osoby zakażonej EBOV czynnikiem ryzyka jest przede wszystkim bezpośredni kontakt z chorym i jego wydzielinami podczas opieki oraz dzielenie z nim łóżka lub posiłku. Istotne ryzyko stanowi również niezachowanie podstawowych zasad aseptyki w postępowaniu ze zwłokami chorych na EVD oraz tradycyjne rytuały pogrzebowe, w tym całowanie zwłok. Należy podkreślić, że w wyniku braku skutecznych metod profilaktyki, a zwłaszcza szczepień ochronnych, cała populacja ludzka, z wyjątkiem ozdowieńców, pozostaje narażona na zakażenie EBOV, gdyż nie wykształciła dotąd odporności immunologicznej przeciw temu wirusowi.

W Polsce postępowanie epidemiologiczne z osobą z podejrzeniem zakażenia EBOV regulowane jest przepisami Ministerstwa Zdrowia i Państwowej Inspekcji Sanitarnej. Podejrzenie zakażenia musi zostać zarejestrowane, a pacjent winien być niezwłocznie odizolowany i przewieziony przy zastosowaniu najwyższych standardów bezpieczeństwa do jednego z 10 specjalistycznych oddziałów zakaźnych na terytorium Rzeczypospolitej. Referencyjne laboratorium diagnostyczne znajduje się w Narodowym Instytucie Zdrowia Publicznego. Oprócz jednostek medycznych, procedury postępowania w przypadku osób powracających z krajów objętych epidemią EVD (obejmujące aktywną obserwację lub bezwzględną kwarantannę) opracowano i wdrożono na polskich lotniskach. Przy zachowaniu zasad zdrowego rozsądku i unikaniu ryzykownego zachowania polska służba zdrowia i system sanitarno-epidemiologiczny zdają się być przygotowane na ewentualność pojawienia się w Polsce przypadku EVD.

IMMUNO-PATOGENEZA GORĄCZKI KRWOTOCZNEJ EBOLA (EBOLA HEMORRHAGIC FEVER) [5]

Zakażenie wirusem Ebola charakteryzuje się skrajnie wysoką patogennością i śmiertelnością. Tylko w nielicznych przypadkach zakażenie wywołuje przejściowe objawy grypopodobne i kończy się całkowitym wyzdrowieniem. W odróżnieniu od wielu asymptomatycznych zakażeń wirusowych przebieg EVD jest ciężki z towarzyszącymi początkowo nudnościami i wymiotami, a następnie wielonarządowymi krwotokami i encefalopatią.

DLACZEGO EBOV WYKAZUJE TAK WYSOKĄ WIRULENCJĘ I PATOGENNOŚĆ?

EBOV, którego dawka zakaźna jest bardzo niska, jest wirusem pantropowym. Po zakażeniu organizmu człowieka może on wnikać i namnażać się w każdej komórce. Wiadomo, że w pierwszej kolejności (zwykle we wrotach zakażenia) wirus namnaża się w makrofagach i komórkach dendrytycznych, blokując prawidłowe mechanizmy odporności naturalnej i nabytej. W dalszej kolejności atakuje komórki śródbłonna, uszkadzając system naczyniowy. Gwałtowne i masywne namnażanie wirusa powoduje nadmierną, niekontrolowaną syntezę cytokin prozapalnych. Ta „burza cytokinowa” (ang. *cytokine storm*) jest odpowiedzialna za napływ neutrofilów i eozynofików do zakażonych tkanek, indukcję zaburzeń krzepnięcia i zwiększenie przepuszczalności naczyń. W zaawansowanym stadium choroby, z rozsiewem wirusa do różnych narządów, dochodzi do niewydolności wątroby (skutkującej obniżoną produkcją czynników krzepnięcia krwi) i gruczołów kory nadnerczy (z blokadą produkcji kortykosterydów) oraz do uszkodzenia błony śluzowej przewodu pokarmowego (będącego przyczyną biegunki). Niezwykle wysoka cytotoksyczność EBOV powoduje wieloogniskową i wielonarządową martwicę z objawami niewydolności krążenia i terminalnego wstrząsu, prowadzących do śmierci pacjenta.

ZAKAŻENIE EBOV I ODPOWIEDŹ IMMUNOLOGICZNA

Równowaga pomiędzy zakażającym wirusem a wydolnością układu immunologicznego pacjenta stanowi o rokowaniu na każdym etapie przebiegu infekcji. W immunopatogenezie zakażenia EBOV dominuje niewydolność zarówno miejscowych, jak i systemowych mechanizmów obronnych. Główny mechanizm przeciwwirusowej odporności naturalnej, ograniczający namnażanie wirusa we wrotach zakażenia jest związany z produkcją IFN- α przez zaatakowane komórki. Jednakże EBOV posiada białka strukturalne nukleokapsydu, VP35 i VP24 zdolne do całkowitego zablokowania syntezy i aktywności (sygnalizacji wewnątrzkomórkowej) IFN- α .

Wykazano, że zahamowanie odporności naturalnej zależnej od IFN- α przez białka VP35 i VP24 silnie koreluje z podwyższoną wirulencją i patogennością EBOV.

Unikanie skutecznej odpowiedzi immunologicznej przez EBOV, poza zablokowaniem całego systemu interferonów (IFN-alfa, -beta, -gamma), jest związane z obniżoną odpornością typu humoralnego i komórkowego. Zakażenie makrofagów prowadzi do niekontrolowanego odczynu zapalnego, a zakażenie komórek dendrytycznych, głównych komórek prezentujących antygen, wpływa na brak indukcji humoralnej odpowiedzi immunologicznej z zahamowaniem produkcji antygenowo-swoistych przeciwciał (anty-Ebola Ig). Ponadto u chorych wykazuje się masową apoptozę limfocytów T CD4, T CD8 i komórek NK. Ciężka postać EVD, prowadząca do śmierci pacjenta charakteryzuje się brakiem swoistych IgG i niskimi poziomami swoistych IgM. Natomiast wczesna i silna odpowiedź humoralna jest czynnikiem ochronnym, korelującym pozytywnie z czasem przeżycia i szansą wyzdrowienia pacjentów z objawami zakażenia.

Powyższe dane potwierdzają kluczową rolę układu immunologicznego i odporności w przebiegu EVD i jednoznacznie wskazują, że podanie szczepionki jest najskuteczniejszą strategią w ochronie przed zakażeniem.

ETIOLOGIA, OBJAWY KLINICZNE I ICH ŁAGODZENIE [6]

Ponieważ jedynym znanym naturalnym rezerwuarem zwierzęcym EBOV jest owocożerny nietoperz kołnierzowy *Myonycteris torquata*, pierwsze zakażenie człowieka wymaga kontaktu z jego tkankami i wydzielinami zawierającymi wiriony, a nawet z owocami wcześniej spożywanymi przez nietoperze. Do zakażenia może również dojść poprzez kontakt z tkankami i wydzielinami zwierząt uznanych za nosicieli pośrednich, jak np. małpy, gryzonie i antylopy. W czasie epidemii wirus przenosi się głównie drogą bezpośredniego kontaktu z zakażonym człowiekiem. Najbardziej zakaźnymi płynami ustrojowymi i wydzielinami są krew, stolec oraz wymiociny, a najważniejszym czynnikiem ryzyka jest bezpośredni kontakt z nimi poprzez skórę lub błony śluzowe. Obecność EBOV potwierdzono także w kobiecym mleku, nasieniu i moczu, a sprzeczne dane uzyskano w przypadku śliny, łez oraz potu osób zakażonych.

Okres inkubacji zakażenia waha się u ludzi od 2 do 21 dni. Obecnie pacjenci w Zachodniej Afryce zgłaszają się do placówki medycznej między 3. a 7. dniem od pojawienia się niepokojących objawów. Niestety, pierwsze objawy kliniczne EVD są niecharakterystyczne i przypominają wiele chorób tropikalnych, w tym malarię czy cholere. Dlatego wywiad i badania laboratoryjne mają niezwykle istotne znaczenie w szybkim i prawidłowym rozpoznaniu EVD.

Pierwszymi objawami EVD są: nagle występująca wysoka gorączka, zmęczenie, bóle głowy i mięśni oraz złe samopoczucie. Następnie dołączają zazwyczaj ostre objawy ze strony przewodu pokarmowego, w tym nudności, wymioty, biegunka, bóle

brzucha i jadłowstręt. Pierwszym objawom EVD może ponadto towarzyszyć kaszel i obniżenie ciśnienia tętniczego krwi. U 30–70% pacjentów rozwijają się zmiany krwotoczne o zróżnicowanym stopniu ciężkości, w tym wysypka grudkowa, przedłużone krwawienie z miejsc zranień, wylewy podskórne i podśluzówkowe oraz krwotoki z przewodu pokarmowego i moczowo-płciowego. Ostro i ciężki przebieg choroby prowadzi do wstrząsu hipowolemicznego wynikającego z masywnej utraty płynów oraz niewydolności wielonarządowej z uszkodzeniem wątroby, nerek i płuc. Towarzyszą im napady drgawek i czasem śpiączka, a w konsekwencji niewydolności wielonarządowej dochodzi do śmierci, zwykle do 11 dni od wystąpienia pierwszych objawów.

W badaniach laboratoryjnych stwierdza się początkowo leukopenię, a następnie leukocytozę z atypową limfocytozą. W obrazie parametrów krzepnięcia obserwowane jest wydłużenie APTT (czasu częściowej trombosplastyny po aktywacji) oraz wzrost INR (znormalizowanego czasu protrombinowego) z zaburzeniem funkcji układu. Wymioty i biegunka u pacjentów z EVD są przyczyną znacznych zaburzeń elektrolitowych i równowagi kwasowo-zasadowej.

Łagodzenie objawów polega przede wszystkim na uzupełnianiu płynów ustrojowych oraz wyrównywaniu zaburzeń elektrolitowych (drogą doustną, ewentualnie dożylną — wówczas roztworem Ringera z unikaniem roztworów koloidowych w związku z możliwym uszkodzeniem nerek). Ponadto w określonych stanach klinicznych należy rozważyć podanie leków przeciwwymiotnych i przeciwbiegunkowych. Przy znacznej utracie krwi zaleca się jej transfuzję, a dla skorygowania zaburzeń hemostazy podanie czynników krzepnięcia. Przy próbie unormowania ciśnienia tętniczego krwi należy zastosować dopaminę lub norepinefrynę. W przypadku niewydolności wielonarządowej należy wdrożyć terapię wspomagającą, w tym dializoterapię czy wspomaganą lub mechaniczną wentylację. Dodatkowo, przy podejrzeniu współistniejącego zakażenia bakteryjnego, wirusowego lub pasożytniczego do terapii powinny zostać włączone odpowiednie leki przeciwdrobnoustrojowe. Podanie antybiotyków należy również rozważyć u pacjentów z podejrzeniem zapalnego uszkodzenia jelit ze względu na istotne ryzyko zakażeń oportunistycznymi lub patogennymi bakteriami flory jelitowej. W łagodzeniu bólu lekami z wyboru są opioidy i acetaminofen. Z uwagi na możliwość pogłębienia zmian krwotocznych i niewydolności nerek stosowanie niesteroidowych leków przeciwzapalnych, jako leków nefrotoksycznych o aktywności inhibitorów cyklooksygenazy płytek krwi, jest przeciwwskazane. Należy także pamiętać o właściwym odżywianiu pacjenta drogą doustną lub, gdy jest to niemożliwe, drogą pozajelitową.

DIAGNOSTYKA LABORATORYJNA [4]

Ponieważ w klasyfikacji najbardziej niebezpiecznych patogenów Centrum Zwalczenia i Zapobiegania Chorobom (CDC) EBOV został uznany jako czynnik najwyższego

ryzyka (kategorii A), jego diagnostyka musi być prowadzona w wyspecjalizowanych ośrodkach, z zachowaniem środków największej ostrożności. Stosowane metody diagnostyczne muszą być szybkie, swoiste i czułe, a preparatyka powinna minimalizować ryzyko przypadkowego zakażenia osoby wykonującej badanie. Dlatego wskazane jest, o ile to tylko możliwe, posługiwanie się materiałem klinicznym uprzednio poddanym procedurom chemicznej lub fizycznej inaktywacji wirusa. Wybór procedur i metod diagnostycznych uzależniony jest także od miejsca i warunków przeprowadzania badań, ponieważ istnieje konieczność ich wykonywania w ognisku epidemii, również w warunkach polowych.

Obecnie za najczulszą metodę diagnostyczną uznano odmianę reakcji PCR w czasie rzeczywistym, z etapem odwrotnej transkrypcji (real-time RT-PCR), w której możliwa jest również ocena ilości kopii wirusa w materiale klinicznym. Należy jednak zaznaczyć, że w związku z częstymi mutacjami w genomie EBOV oraz możliwymi zakażeniami różnymi gatunkami czy typami wirusa wyniki ujemne uzyskane metodą RT-PCR należy weryfikować innym testem. Zastosowanie dodatkowo sekwencjonowania genomu EBOV pozwala na dokładną identyfikację gatunku czy szczepu wirusa. Obecność antygenów EBOV w próbkach klinicznych można bezpośrednio potwierdzać testem immunoenzymatycznym (np. ELISA). Wykrywanie i oznaczanie miana swoistych przeciwciał ma znaczenie głównie jako marker prognostyczny, ze względu na pozytywną korelację ich poziomu z przeżywalnością pacjentów zakażonych EBOV. Warto jednak zaznaczyć, że w związku z kinetyką dojrzewania swoistej odporności humoralnej zbyt wczesne pobranie krwi do badań serologicznych uniemożliwia prawidłową diagnostykę i wykrycie obecności przeciwciał.

Izolację wirusa z surowicy pacjenta albo z pobranych *post mortem* tkanek można przeprowadzić w różnych hodowlach komórkowych (np. Vero). Oceny replikacji wirusa dokonuje się wówczas poprzez obserwację efektu cytopatycznego lub wykazanie w komórkach zakażonych swoistych antygenów EBOV przy użyciu przeciwciał monoklonalnych sprzężonych np. z fluorochromami. Ponadto mikroskopia elektronowa umożliwia doświadczonemu diagnoście wykrycie cząstek EBOV, o charakterystycznym kształcie skręconej nici. Badania immunohistochemiczne wykonywane w utrwalonych formaliną skrawkach tkankowych są często wykorzystywane do potwierdzenia diagnozy, zwłaszcza że są one stosunkowo bezpieczne dla wykonawcy.

IMMUNOPROFILAKTYKA ZAKAŻEŃ EBOV [5]

W związku z szybkim rozprzestrzenianiem się epidemii, niezwykle wysoką śmiertelnością zakażonych pacjentów, trudnościami w opracowaniu skutecznych strategii terapeutycznych oraz z koniecznością zabezpieczenia personelu medycznego opiekującego się chorymi, istnieje konieczność opracowania metod profilaktyki

zakażeń EBOV. Najskuteczniejszą strategią wydaje się być aktywacja mechanizmów czynnej odporności organizmu poprzez podanie szczepionki. Skuteczność tej metody profilaktycznej potwierdzają wyniki badań na zwierzętach oraz u ozdrowieńców, wskazujące na znaczący udział aktywacji limfocytów T cytotoksycznych i komórek NK w zwalczaniu wirusa. Jednakże istotnym problemem jest zdolność EBOV do unikania odpowiedzi immunologicznej poprzez syntezę białek inhibitorych dla endogennego oraz egzogenego (podanego jako terapeutyk) interferonu. Ponadto początkowo bierna postawa WHO wobec problemu epidemii EBOV nie pozwoliła na przyspieszenie prac związanych z opracowaniem i testowaniem metod terapeutycznych, pomimo że największa poprzednia epidemia spowodowała śmierć 600 osób, a obecna ponad 8000 osób, w tym co najmniej 382 pracowników służby zdrowia.

Obecnie wprowadzono do badań klinicznych kilka procedur testowanych wcześniej w modelach zakażeń EBOV u naczelnych, w tym strategii oparte o rekombinowane szczepionki wirusowe (aktywna immunizacja), mieszaniny przeciwciał monoklonalnych (bierna odpowiedź swoista), a także mechanizmy interferencji RNA. Finansowanie tych ostatnich wstrzymano z uwagi na relatywnie duże ryzyko niepowodzenia ich stosowania w obecnej sytuacji.

Składnikami swoistymi szczepionek indukujących w sposób czynny odporność przeciw EBOV są zazwyczaj rekombinowane wektory wirusowe (np. adenowirusowe) z wprowadzonym genem kodującym glikoproteinę osłonki EBOV, przeciwko której aktywowana jest wówczas swoista odpowiedź immunologiczna. Skuteczność szczepionek z rekombinowanym atenuowanym wektorem wirusowym jest związana z ich zdolnością do imitacji zakażenia komórki żywym wirusem szczepu dziękigo, a parametrem stosowanym do jej oceny jest poziom aktywacji limfocytów T badany w cytofluorymetrii oraz testami ELISPOT. Glikoproteina EBOV odpowiada za internalizację cząstki wirusa do błony komórkowej i znacznie ułatwia zakażenia kolejnych komórek prezentujących antygen oraz komórek narządów mięszo-owych. Obecność genomu EBOV w tych ostatnich sprawdzana jest w badaniach pośmiertnych osób z EVD w celu ostatecznego potwierdzenia przyczyny zgonu. Niemniej jednak dramatycznie szybkie namnażanie EBOV w komórkach gospodarza wskazuje, iż równie ważna w profilaktyce jest blokada jego wnikania do komórki, którą może zagwarantować neutralizacja przez przeciwciała aktywowane w sposób czynny (poprzez szczepienie) i/lub bierny (seroterapia).

Obecnie koncerny farmaceutyczne prowadzą intensywne badania nad szczepionkami złożonymi z rekombinowanych atenuowanych wirusów. W zintensyfikowanych badaniach klinicznych szczepionka koncernu GlaxoSmith-Kline zawierająca wektor adenowirusowy została zastosowana u pracowników służby zdrowia w ogniskach epidemii, a efekty profilaktyki mają być znane do końca roku. Niezależnie, firma New Link Genetics we współpracy z Merck rozpoczęła badania kliniczne nad innym typem szczepionki złożonej z atenuowanego wirusa pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej jako wektora dla genów EBOV. Wyniki tych badań

klinicznych poznamy w kwietniu 2015 roku. Ponadto opracowana mieszanina przeciwciał monoklonalnych przeciwko EBOV (ZMapp) znalazła już zastosowanie lecznicze. Wyniki badań u zakażonych EBOV makaków, które wskazały, że podanie ZMapp do 5 dni po ekspozycji prowadziło do zahamowania objawów i w efekcie wyzdrowienia, uzasadniły doraźne użycie tego preparatu u 3 zakażonych na początku epidemii pracowników służby zdrowia. U dwóch osób uzyskano pozytywny efekt terapii. Jednakże proces wytwarzania przeciwciał monoklonalnych w komórkach roślinnych lub zwierzęcych, pomimo że prowadzony jest obecnie w 25 laboratoriach, jest znacznie wolniejszy od produkcji szczepionek, co obecnie uniemożliwia ich rutynowe zastosowanie profilaktyczno-terapeutyczne.

Obserwacja podjętych wysiłków społeczności międzynarodowej i organizacji prozdrowotnych oraz zaawansowanie badań nad metodami profilaktyki zakażeń EBOV pozwala wyrazić nadzieję, że wprowadzenie właściwej strategii ochrony zdrowia publicznego finansowanej i zorganizowanej zewnętrznie ma szansę skutecznie zabezpieczyć zagrożoną ludność Afryki na terenach naturalnego występowania EBOV przed dalszym rozprzestrzenianiem epidemii i ograniczyć zakaźność EBOV w przyszłości. Warunkiem niezbędnym jest wygaszenie ognisk obecnej epidemii i stała konsekwentna pomoc krajów wysokorozwiniętych na rzecz wyszczepienia zagrożonej ubogiej społeczności afrykańskiej, co w przyszłości mogłoby doprowadzić do eradykacji wirusa Ebola. Ponadto należy zaznaczyć, że immunoprofilaktyka powinna być stosowana wraz z zachowaniem najwyższych standardów aseptyki i antyseptyki.

PERSPEKTYWY SWOISTEJ TERAPII EVD [7]

Dostępne terapeutyki standardowo stosowane w schorzeniach o etiologii wirusowej okazały się nieskuteczne w leczeniu EVD. Dotąd nie zatwierdzono żadnego swoistego postępowania leczniczego, a u chorych wdrażane jest przede wszystkim opisane powyżej leczenie objawowe. Natomiast prowadzone badania podstawowe oraz kliniczne zaowocowały przedstawieniem kilku możliwych swoistych strategii terapeutycznych EVD głównie hamujących wnikanie EBOV do komórek gospodarza oraz replikację wirusa.

Dzięki zdolności swoistych przeciwciał do neutralizacji i przyspieszenia eliminacji wirusa z organizmu podjęto próby ich zastosowania w terapii EVD. Podanie surowic pobranych od ozdrowieńców u większości chorych nie poprawiło ich stanu klinicznego. Natomiast znamienne skuteczną ochronną i terapeutyczną przeciwciał stwierdzono u zakażonych zwierząt, którym podano mieszaniny oczyszczonych poliklonalnych lub monoklonalnych przeciwciał skierowanych przeciwko EBOV, zwłaszcza przeciwko determinantom GP. Jak wspomniano powyżej, podczas obecnej epidemii EVD po eksperymentalnym zastosowaniu u ludzi mieszaniny przeciwciał monoklonalnych ZMapp u dwóch pacjentów stwierdzono poprawę

stanu klinicznego, natomiast trzeci biorca preparatu zmarł. Dlatego skuteczność przeciwciał w terapii EVD u ludzi wymaga rzetelnego potwierdzenia.

Obecnie rozważana jest także możliwość leczniczego zastosowania analogów nukleotydydowych, w tym oligomerów morfolino-fosfordiamidu, których związanie z mRNA wirusa EBOV blokuje translację mRNA i syntezę białek wirusa w zakażonej komórce. Dodatkowym atutem analogów nukleotydydów dopuszczonych do leczenia zakażeń koronawirusami i flawiwirusami jest wysoka trwałość i bezpieczeństwo oraz skuteczność ich stosowania. U naczelnych wykazano również, że zastosowanie analogów nukleozydów (Immucyllina-A) ogranicza replikację EBOV w zakażonym organizmie. Podjęto także próby blokowania transkrypcji i translacji genomu EBOV w mechanizmie interferencji RNA poprzez krótkie dwuniciowe cząsteczki RNA (siRNA) podawane w liposomach. Istotne jest, że u zwierząt nie stwierdzono poważnych efektów niepożądanych po ich zastosowaniu.

W doświadczalnym modelu zakażenia gryzoni możliwy potencjał terapeutyczny wobec EBOV wykazano dla rekombinowanej lektyny wiążącej mannozę (MBL) oraz favipirawiru. Lek ten został także podany francuskiej pielęgniarce zakażonej EBOV w Liberii, co znacząco przyczyniło się do jej wyleczenia. Podobnym do favipirawiru lekiem dysponowali również chińscy pracownicy służby zdrowia skierowani do ogniska epidemii w 2014 roku.

W eksperymentalnych badaniach *in vitro* stwierdzono, że ponad 50 leków zatwierdzonych w terapii innych schorzeń zaburza replikację EBOV. Wykazano też, że wnikanie EBOV do komórki może zostać zablokowane przez modulatory receptora estrogenowego (np. toremifen) oraz niektóre leki antyarytmiczne (amiodaron, dronedaron, werapamil), a także stosowaną w leczeniu malarii chlorochinę dodatkowo hamującą replikację EBOV.

Oprócz opisanych powyżej przykładów terapii EVD intensywnym badaniom poddano także wiele nowych cząsteczek oraz analogów i proleków o możliwej aktywności terapeutycznej. Dlatego można mieć nadzieję, że prowadzone prace znacząco przyspieszą opracowanie i zatwierdzenie swoistego postępowania leczniczego w EVD oraz umożliwią powszechny dostęp do leków.

PODSUMOWANIE

Liczne podjęte przez naukowców z całego świata próby opracowania skutecznych metod profilaktyki i leczenia EVD powinny w najbliższym czasie pozwolić na zatwierdzenie standardowych procedur prewencyjno-terapeutycznych. W efekcie ich zastosowania można mieć nadzieję, że w potencjalnym wybuchu kolejnej epidemii EVD możliwości zwalczania EBOV będą znacznie większe. W kilkuletniej perspektywie, przy zapewnieniu środków na zwiększoną edukację prozdrowotną społeczeństwa Afryki, poprawę standardów opieki medycznej w tym regionie oraz na wprowadzenie metod czynnej profilaktyki (szczepień), odzwierzęca transmisja

EBOV na człowieka i jego dalsze rozprzestrzenianie się powinno wkrótce zostać opanowane i trwale kontrolowane.

OŚWIADCZENIE

Autorzy deklarują brak potencjalnego konfliktu interesów.

SPIS UŻYTYCH SKRÓTÓW

EBOV — wirus Ebola (Ebola virus)
 EVD — gorączka krwotoczna Ebola (Ebola virus disease)
 GP — glikoproteina (glycoprotein)
 IFN — interferon (interferon)
 WHO — Światowa Organizacja Zdrowia (World Health Organization)

PIŚMIENNICTWO

1. *Gataś A.*: The determinants of spread of Ebola virus disease — an evidence from the past outbreak experiences. *Folia Med Cracov.* 2014; 54 (3): 17–25. — **2.** *Gataś A.*: The evolution of Ebola virus disease outbreaks. *Folia Med Cracov.* 2014; 54 (3): 27–32. — **3.** *Mrożek-Budzyn D.*: Ebola virus disease control in Poland — are we ready for fight? *Folia Med Cracov.* 2014; 54 (3): 33–37. — **4.** *Zawilińska B., Kosz-Vnenchak M.*: General introduction into the Ebola virus biology and disease. *Folia Med Cracov.* 2014; 54 (3): 57–65. — **5.** *Marcinkiewicz J., Bryniarski K., Nazimek K.*: Ebola haemorrhagic fever virus: pathogenesis, immune responses, potential prevention. *Folia Med Cracov.* 2014; 54 (3): 39–48. — **6.** *Bociąga-Jasik M., Piątek A., Garlicki A.*: Ebola virus disease — pathogenesis, clinical presentation and management. *Folia Med Cracov.* 2014; 54 (3): 49–55. — **7.** *Olszanecki R., Gawlik G.*: Pharmacotherapy of Ebola hemorrhagic fever: a brief review of current status and future perspectives. *Folia Med Cracov.* 2014; 54 (3): 67–77.

¹ Katedra Immunologii

Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
 ul. Czysła 18, 31-121 Kraków

Kierownik: *Prof. dr hab. Janusz Marcinkiewicz*

² Klinika Chorób Zakaźnych Katedry Gastroenterologii,

Hepatologii i Chorób Zakaźnych

Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
 ul. Śniadeckich 5, 31-501 Kraków

Kierownik: *Prof. dr hab. Aleksander Garlicki*

³ Katedra Epidemiologii i Medycyny Zapobiegawczej

Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
 ul. Kopernika 7, 31-034 Kraków

Kierownik: *Prof. dr hab. Beata Tobiasz-Adamczyk*

Autor do korespondencji:

Prof. dr hab. med. Janusz Marcinkiewicz
 Katedra Immunologii

Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

ul. Czysła 18, 31-121 Kraków

Tel./Fax +48 12 633 94 31

E-mail: mmmarcin@cyf-kr.edu.pl

⁴ Katedra Farmakologii

Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
ul. Grzegórzecka 16, 31-531 Kraków
Kierownik: Prof. dr hab. Ryszard Korbut

⁵ Katedra Patofizjologii

Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
ul. Czysła 18, 31-121 Kraków
Kierownik: Prof. dr hab. Piotr Thor

⁶ Zakład Wirusologii Katedry Mikrobiologii

Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
31-121 Kraków, ul. Czysła 18
Kierownik: Prof. dr hab. Magdalena Kosz-Vnenchak