

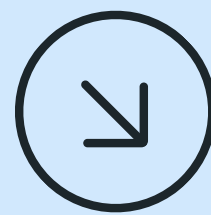
بیماری‌های نوپدید و بازپدید

EBOLA



meet our

Team!



1

دکتر زهرا صادقی
دکتری باکتری شناسی
صاحب امتیاز



2

دکتر آرش لطافتی
دکتری ویروس شناسی بالینی
سر دبیر



3

یحیی احتشامی نیا
کارشناسی ارشد ایمنی شناسی پزشکی
مدیر مسئول



هیئت تحریریه



الهه قلیاف
گروه مطالعاتی واکسن (EVASG)



فاطمه ابول مشدی
دکتری تخصصی شیمی دارویی



الهه سادات موسوی
کارشناسی ارشد ژنتیک



مریم روستا
کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی



ساحل نعمتی
کارشناسی ارشد نانوبیوتکنولوژی



امیرحسین کیانی دارابی
کارشناسی ارشد ژنتیک انسانی



روژانه بابایی
کارشناسی ارشد بیوشیمی



مهدیه سروری مجد
کارشناسی ارشد انگل شناسی پزشکی



آیدا مظلوم بشیری
کارشناسی ارشد ژنتیک مولکولی



سپیده غائبی سدهی
کارشناسی مامایی



رویا اسدی ورنوسفادرانی
کارشناسی زیست شناسی سلولی و مولکولی



آناهیتا مروجی
کارشناسی علوم آزمایشگاهی



علیرضا عترتی کوشالی
کارشناسی زیست شناسی سلولی و مولکولی



جواد عباس زاده
کارشناس تکنولوژی جراحی



فاطمه دانشوری
کارشناسی زیست شناسی سلولی و مولکولی



نازنین فولادی طرقي
کارشناس بیوتکنولوژی



فاطمه صدیقی
کارشناسی زیست شناسی سلولی و مولکولی



مرجان قاسمی
کارشناسی زیست شناسی سلولی و مولکولی



آیناز حیدری
کارشناسی زیست شناسی سلولی و مولکولی



فهرست

5 ساختار ویروس ابولا

7 انتقال ویروس ابولا

10 تشخیص علائم بالینی و ملوکولی ابولا

12 پاتوژنز بیماری ابولا و مکانیسم‌های مولکولی آن

17 نقش miRNA در پاتوژنز بیماری ابولا

21 پاسخ ایمنی به ویروس ابولا: مکانیزم‌ها و چالش‌ها

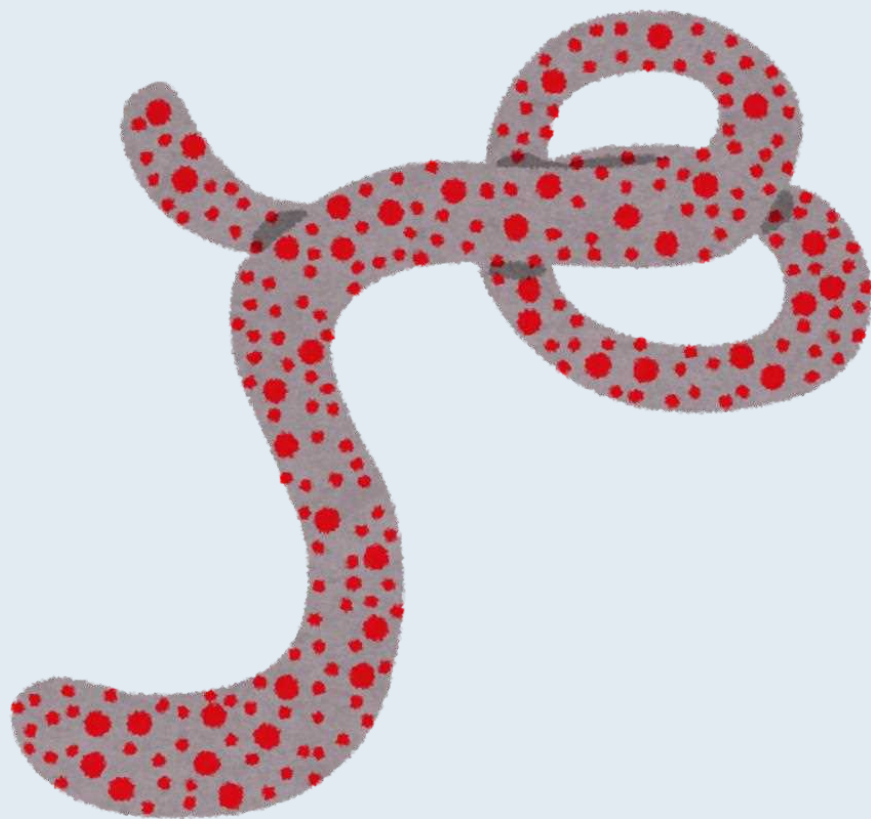
25 روش‌های درمانی ابولا (EVD)

ساختار ویروس ابولا

ویروس ابولا (Ebola virus) یکی از کشنده ترین ویروس‌های شناخته شده است که به خانواده فیلوویریده (Filoviridae) تعلق دارد. این ویروس، یک RNA تک رشته‌ای منفی (ssRNA-) دارد و از یک پوشش لیپیدی، پروتئین‌های ساختاری و گلیکوپروتئین‌های سطحی تشکیل شده است که نقش کلیدی در عفونت‌زایی آن ایفا می‌کنند.

۱. ساختار فیزیکی و مورفولوژی ویروس

ویروس ابولا دارای ساختاری مارپیچی و نخ‌شکل است که معمولاً به طول ۸۰۰ تا ۱۰۰۰ نانومتر و قطر ۸۰ نانومتر مشاهده می‌شود. این شکل مارپیچی، انعطاف‌پذیری خاصی به ویروس می‌دهد و آن را قادر می‌سازد تا در محیط‌های مختلف زنده بماند.



۲. اجزای ساختاری ویروس ابولا

ویروس ابولا از بخش‌های مختلفی تشکیل شده است که هر یک عملکرد خاصی در چرخه‌ی عفونت دارند.

۲,۱. پوشش ویروس (Envelope)

ویروس ابولا توسط یک غشای لیپیدی دو لایه‌ای پوشیده شده است که از غشای سلول میزبان گرفته شده است. این لایه، نقش مهمی در فرار ویروس از سیستم ایمنی میزبان دارد و به ویروس کمک می‌کند که به‌طور مؤثری تکثیر شود.

۲,۲. ژنوم و نوکلئوکپسید

ویروس ابولا دارای یک ژنوم RNA تک رشته‌ای منفی با طول تقریباً ۱۹ کیلوباز است. این ژنوم درون یکنوکلئوکپسید مارپیچی بسته‌بندی شده که از پروتئین‌های زیر تشکیل شده است:

VP35 و VP30 نقش کلیدی در رونویسی ژنوم و تنظیم عملکرد پلیمراز دارند. (RNA-dependent RNA polymerase) L: ژنوم ویروس ابولا دارای تنوع ژنتیکی بالایی است و در ی مختلف، سویه‌های متفاوتی از آن شناسایی شده‌اند. این تنوع عمدتاً به دلیل عملکرد آنزیم پلیمراز لیمراز RNA وابسته به RNA (L) است که به دلیل خطاهای ذاتی خود، جهش‌هایی در ژنوم ویروسی ایجاد می‌کند. با این حال، ویژگی‌های اساسی ساختاری و چرخه تکثیری ویروس در میان سویه‌های مختلف حفظ شده‌اند.

۲,۳. پروتئین‌های سطحی و گلیکوپروتئین (GP)

گلیکوپروتئین GP یکی از مهم‌ترین پروتئین‌های سطحی ویروس است که در فرایند اتصال به گیرنده‌های سلولی و ورود به سلول میزبان نقش دارد. این گلیکوپروتئین از دو زیرواحد تشکیل شده است: GP1، مسئول اتصال ویروس به گیرنده‌های سطح سلول و GP2 در همجوشی غشای ویروس با غشای سلول میزبان نقش دارد.

۲,۴. پروتئین‌های ماتریکس VP40 و VP24

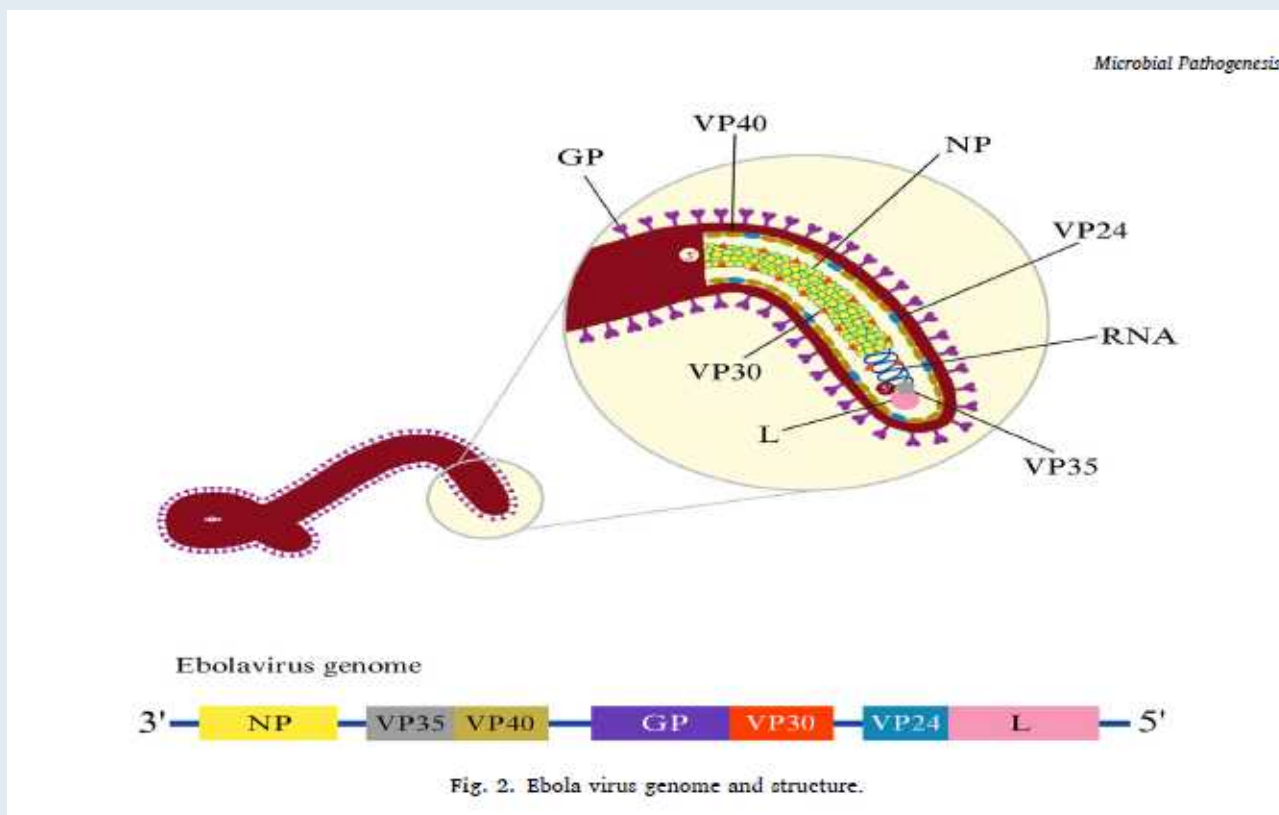
VP40: در تشکیل ساختار ویروس، جوانه‌زنی از سلول میزبان و انتقال ویروس نقش دارد.
VP24: در تنظیم عملکرد سیستم ایمنی میزبان و مهار مسیر سیگنالینگ اینترفرون‌ها نقش دارد.

3. اهمیت ساختار ویروس در بیماری‌زایی

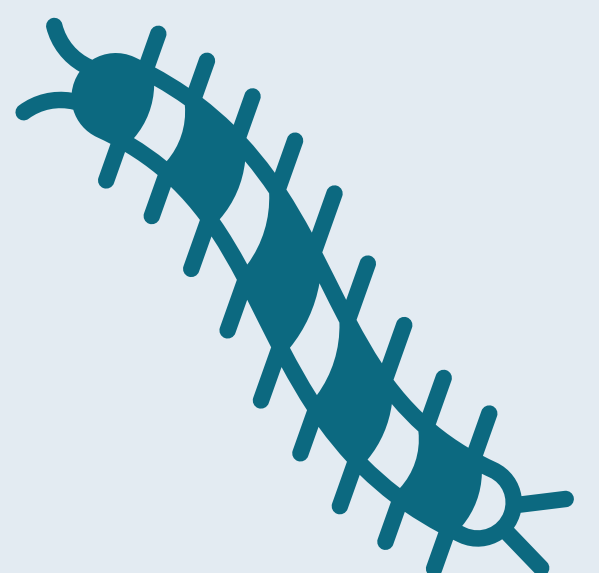
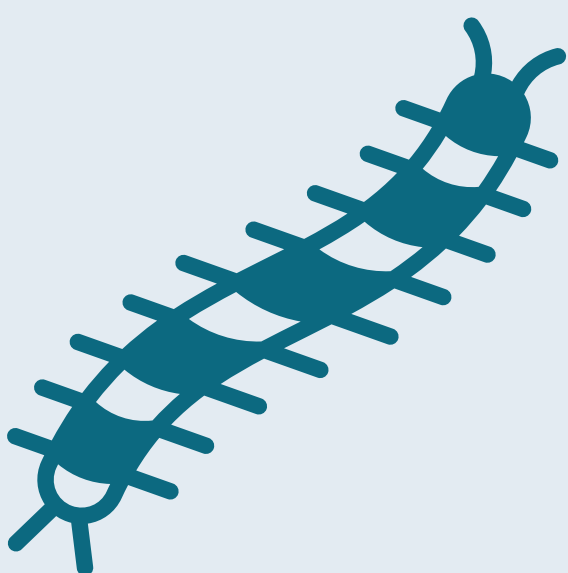
ساختار ویروس ابولا نقشی اساسی در شدت بیماری‌زایی آن دارد. ویژگی‌هایی مانند پوشش لیپیدی، پروتئین‌های ماتریکسی و گلیکوپروتئین‌های سطحی به ویروس کمک می‌کنند تا به سلول‌های میزبان متصل شود، از سیستم ایمنی فرار کند و به سرعت در بدن تکثیر شود. پوشش لیپیدی باعث حساسیت ویروس به شوینده‌های دوست می‌شود اما در عین حال به آن اجازه می‌دهد که با سلول‌های میزبان ترکیب شود. گلیکوپروتئین GP هدف اصلی برای واکسن‌ها و داروهای ضدویروسی است، زیرا مهار آن می‌تواند از ورود ویروس به سلول جلوگیری کند.

4. نتیجه‌گیری

ویروس ابولا به دلیل ساختار پیچیده و توانایی بالای آن در فرار از سیستم ایمنی، یکی از خطرناک‌ترین پاتوژن‌های شناخته‌شده محسوب می‌شود. شناخت دقیق‌تر ساختار این ویروس، به توسعه روش‌های درمانی مؤثر و واکسن‌های ایمن کمک خواهد کرد. مطالعات جدید همچنان بر روی پروتئین‌های کلیدی این ویروس متمرکز هستند تا راهکارهای بهتری برای کنترل و درمان بیماری ابولا ارائه شود.



1. Letafati A, Ardekani OS, Karami H, Soleimani M. Ebola virus disease: A narrative review. Microbial Pathogenesis. 2023 Aug 1;181:106213.
2. Ghosh S, Saha A, Samanta S, Saha RP. Genome structure and genetic diversity in the Ebola virus. Current Opinion in Pharmacology. 2021 Oct 1;60:83–90.
3. Brandt J, Wendt L, Hoenen T. Structure and functions of the Ebola virus matrix protein VP40. Future virology. 2019 Jan 1;14(1):21–30.



انتقال ویروس ابولا

بزرگ‌ترین شیوع ثبت‌شده بیماری ویروسی ابولا (EVD) در حال حاضر در غرب آفریقا، به‌ویژه در گینه، سیرالئون و لیبریا، در جریان است. تا تاریخ ۱ اکتبر ۲۰۱۴، مجموعاً ۷,۱۷۸ مورد ابتلا گزارش شده که از این تعداد، ۳,۳۳۸ نفر جان خود را از دست داده‌اند. در نیجریه، ۲۰ مورد ابتلا (۱۹ مورد تأییدشده در آزمایشگاه و ۱ مورد احتمالی) شناسایی شده است که همگی به یک فرد مسافر از لیبریا در ماه ژوئیه ۲۰۱۴ مربوط می‌شوند. از اوایل سپتامبر ۲۰۱۴، مورد جدیدی در نیجریه گزارش نشده است. ویروس ابولا باعث ایجاد تب هموراژیک شدید با میزان مرگ‌ومیر بالا می‌شود. این ویروس دارای پنج گونه شناخته‌شده در جنس Ebolavirus است که چهار گونه از آن‌ها در انسان بیماری‌زا هستند و یک گونه فقط در پرمات‌های غیرانسانی بیماری ایجاد می‌کند. شیوع بیماری در سال ۲۰۱۴ در غرب آفریقا، که ناشی از گونه Zaire ebolavirus بود، بزرگ‌ترین شیوع این بیماری در تاریخ محسوب می‌شود. انتقال ویروس ابولا از طریق تماس مستقیم با خون، مایعات بدن یا پوست افراد مبتلا، چه زنده و چه متوفی، صورت می‌گیرد. تا تاریخ ۲۳ اکتبر ۲۰۱۴، حداقل ۴۵۰ نفر از کادر درمانی به این بیماری مبتلا شده و ۲۴۴ نفر از آن‌ها جان خود را از دست داده‌اند. همچنین، چندین نفر از کارکنان بهداشتی آمریکایی که در غرب آفریقا فعالیت می‌کردند، به ابولا مبتلا شده و برای درمان به ایالات متحده منتقل شدند. علاوه بر این، در برخی از ایالت‌های آمریکا، افرادی که اخیراً به غرب آفریقا سفر کرده بودند و علائمی مانند تب داشتند، در بیمارستان‌ها تحت بررسی قرار گرفتند. تا اواخر اکتبر ۲۰۱۴، در ایالات متحده دو مورد وارداتی، از جمله یک مورد مرگ، و دو مورد انتقال محلی در میان کارکنان بهداشتی ثبت شد.

تب هموراژیک ابولا (EHF) یک بیماری ویروسی حاد است که با تب و اختلالات شدید انعقادی همراه بوده و میزان مرگ‌ومیر بالایی در انسان‌ها و پرمات‌های غیرانسانی دارد. عامل این بیماری ویروس ابولا است که یک ویروس RNA تک‌ رشته‌ای با پوشش لیپیدی و از خانواده Filoviridae محسوب می‌شود.

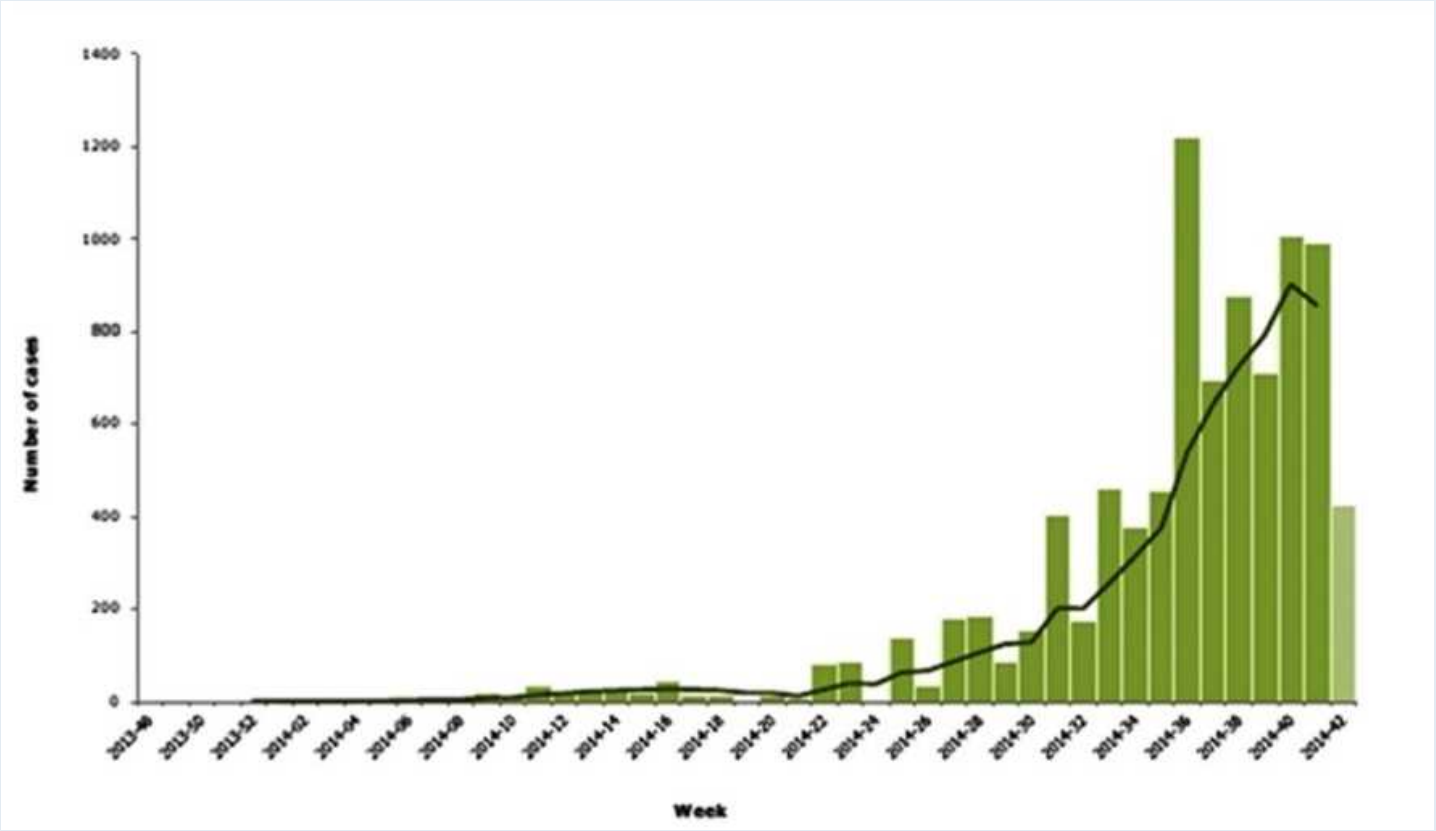
به دلیل خطر بالای این ویروس‌ها، آن‌ها در دسته عوامل بیماری‌زای سطح ایمنی زیستی ۴ (BSL-4) قرار می‌گیرند و اقدامات کنترلی ویژه و تجهیزات حفاظتی مخصوصاً برای کارکنان درمانی ضروری است. این ویروس می‌تواند در مایعات یا مواد خشک‌شده برای چندین روز زنده بماند اما با پرتوی گاما، حرارت دادن به مدت یک ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد، جوشاندن به مدت پنج دقیقه یا استفاده از مواد ضد عفونی‌کننده‌ای مانند هیپوکلریت سدیم (وایتکس) غیرفعال می‌شود. با این حال، انجماد یا نگهداری در دمای یخچال تأثیری در از بین بردن ویروس ندارد.



دوره نهفتگی بیماری (زمان بین آلودگی و شروع علائم) معمولاً بین ۴ تا ۱۰ روز است اما ممکن است از ۲ تا ۲۱ روز متغیر باشد. میزان کشندگی عفونت‌های ناشی از Zaire ebolavirus بین ۴۴٪ تا ۹۰٪ برآورد شده است. انتقال ویروس در شیوع‌های انسانی عمدتاً از طریق تماس مستقیم با مایعات بدن افراد مبتلا یا فوت‌شده صورت می‌گیرد. همچنین، امکان انتقال از طریق اشیای آلوده به ترشحات بدن وجود دارد، اما تاکنون هیچ مدرکی مبنی بر انتقال از طریق هوا مشاهده نشده است.

انتقال انسان‌به‌انسان ویروس ابولا (EBOV) معمولاً از طریق تماس مستقیم با خون آلوده یا مایعات بدن (مانند منیا شیر مادر) صورت می‌گیرد. ماندگاری ویروس ابولا در بدن با زماندگان بیماری ابولا (EVD) به‌خوبی مستند شده است. اگرچه انتقال ثانویه از طریق تماس با مایعات بدن آلوده نسبتاً نادر است، اما با وقوع موارد جدید مرتبط بوده است.

در دو بازمانده بیماری ابولا، سندرم‌های منگوانسفالیت و یووئیت به حضور ویروس ابولا در مایع مغزی نخاعی و زلالیه چشم ارتباط داده شده‌اند؛ بااین‌حال، هیچ‌یک از این موارد منجر به انتقال بیشتر بیماری نشدند.



نمودار ۱. توزیع موارد ابتلا به بیماری ویروس ابولا (EVD) بر اساس هفته‌ی گزارش‌دهی در کشورهای گینه، سیرالئون، لیبریا، نیجریه و سنگال، از هفته‌ی ۴۸ سال ۲۰۱۳ تا هفته‌ی ۴۲ سال ۲۰۱۴ (N = 8994). EBV: بیماری ویروس ابولا. میله‌ی مربوط به هفته‌ی ۴۲ سال ۲۰۱۴ نشان‌دهنده‌ی یک هفته‌ی کامل نیست. خط سبز پیوسته روندها را بر اساس میانگین متحرک ۵ هفته‌ای نشان می‌دهد که در هفته‌ی پنجم از بازه‌ی میانگین متحرک ترسیم شده است. این شکل شامل یک مورد وارداتی از سنگال نیز می‌شود.



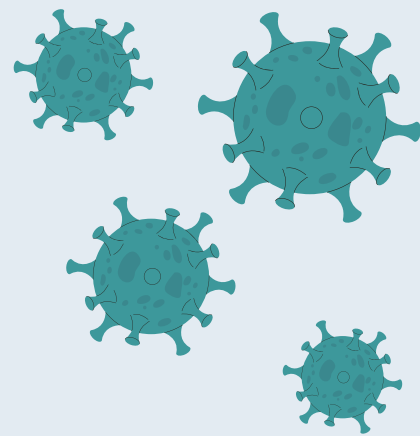
در اینجا، ما گزارشی از عود مجدد حاد بیماری ابولا در بیماری ارائه می‌دهیم که در طول شیوع ابولا در استان کیوشمالی جمهوری دموکراتیک کنگو (DRC) در سال‌های ۲۰۱۸ تا ۲۰۲۰، به گونه‌ای از ویروس ابولا به نام Ituri آلوده شده بود. این عود مجدد، که ۱۴۹ روز پس از ترخیص بیمار از مرکز درمان ابولا رخ داد، باعث ایجاد زنجیره‌ای از انتقال بیماری شامل ۹۱ مورد شد.

یک بررسی اپیدمیولوژیک آغاز شد. ردیاب‌های تماس، بیمار را به ۲۹ فرد مبتلا به بیماری ابولا (EVD) مرتبط کردند که در دوران علامت دار بودن بیمار، یا در جامعه با او در تماس بودند یا در هنگام مراجعه وی به درمانگاه‌های محلی برای دریافت درمان، در معرض ویروس قرار گرفتند. علاوه بر این، ۶۲ مورد دیگر نیز به دلیل انتقال ثانویه از این تماس‌های اولیه ایجاد شد. در مجموع، موارد ابتلا در شش منطقه بهداشتی و طی یک دوره چهارماهه گسترش یافت.

1. WHO. Ebola response roadmap situation report: 1 October 2014. Available at: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/135600/1/roadmapsitrep_1Oct2014_eng.pdf. Accessed October 25, 2014.
2. Shuaib F, Gunnala R, Musa EO, et al. Ebola virus disease outbreak— Nigeria, July–September 2014. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2014;63:867e72.
3. U.S. Centers for Disease Control and Prevention. Ebola hemorrhagic fever information packet. Available at: http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/spb/mnpages/dispages/fact_sheets/ebola_fact_booklet.pdf; 2009. Accessed September 27, 2014.
4. MBALA-KINGEBENI, Placide, et al. Ebola virus transmission initiated by relapse of systemic Ebola virus disease. New England Journal of Medicine, 2021, 384.13: 1240–1247.



تشخیص علائم بالینی و ملوکولی ابولا

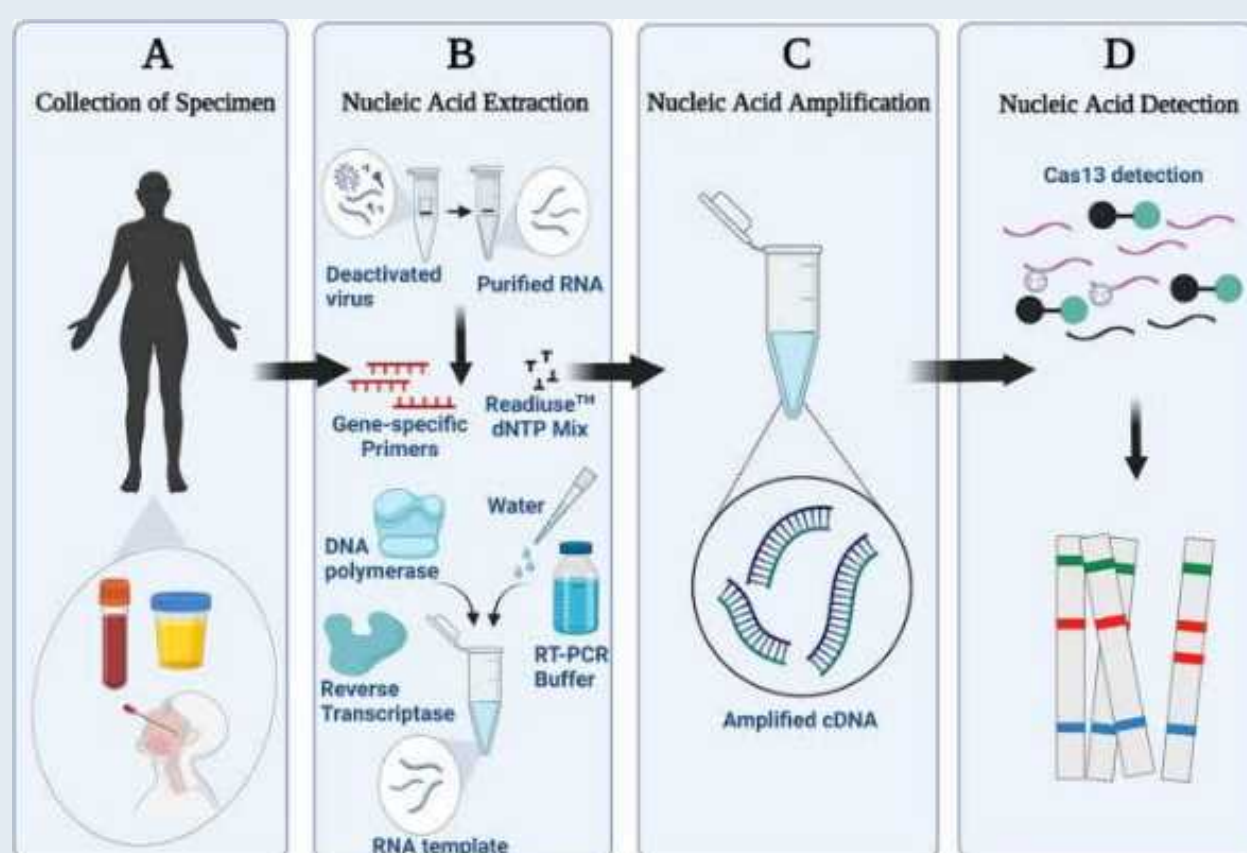


بیماری ویروسی ابولا (Ebola Virus Disease, EVD) یکی از شدیدترین و کشنده‌ترین بیماری‌های عفونی شناخته شده در انسان است که با نرخ مرگ‌ومیر بالا و قابلیت انتقال سریع، به‌ویژه در مناطق با امکانات پزشکی محدود، چالش‌های جدی ایجاد می‌کند. تشخیص سریع و دقیق این بیماری نه تنها برای کنترل شیوع و اجرای اقدامات بهداشتی ضروری است، بلکه تأثیر مستقیمی بر مدیریت درمان و افزایش نرخ بقا در بیماران دارد. روش‌های تشخیصی ابولا شامل دو رویکرد اصلی تشخیص آزمایشگاهی و تشخیص بالینی و افتراقی هستند که هرکدام نقش مهمی در شناسایی بیماران و پیشگیری از انتشار ویروس ایفا می‌کنند. روش‌های تشخیصی مدرن امکان شناسایی دقیق این ویروس را فراهم کرده‌اند.

1. تشخیص مولکولی: روش RT-PCR (واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با رونویسی معکوس) به عنوان استاندارد طلایی در تشخیص ابولا شناخته می‌شود. این روش با شناسایی ژنوم RNA ویروس از نمونه‌های خونی، حساسیت و اختصاصیت بالایی دارد.

2. تست‌های آنتی ژنی و سرولوژیکی: آزمایش‌هایی مانند الایزا (ELISA) برای شناسایی آنتی ژن‌های ویروسی یا آنتی بادی‌های تولید شده توسط سیستم ایمنی به کار می‌روند. تست‌های سریع آنتی ژنی (RDTs) نیز برای مناطق با امکانات محدود مفید هستند، اما دقت کمتری نسبت به RT-PCR دارند.

3. کشت ویروس و میکروسکوپ الکترونی: کشت ویروس در آزمایشگاه‌های ایمنی سطح ۴ انجام می‌شود که به دلیل خطر بالای انتشار ویروس، فقط در شرایط خاص استفاده می‌شود. بررسی ویروس با میکروسکوپ الکترونی نیز گاهی برای تأیید ساختار ویروسی انجام می‌گیرد.

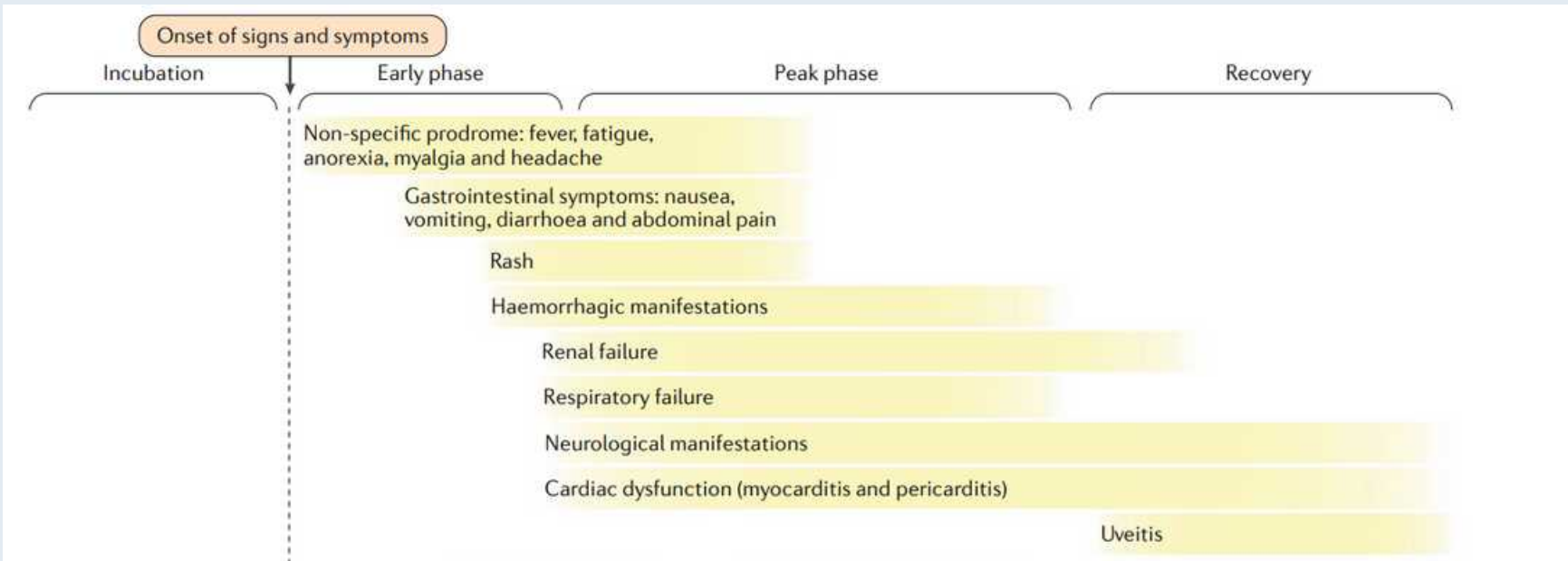


شکل 1: تشخیص آزمایشگاهی ابولا

با پیشرفت فناوری، روش‌های جدید مانند توالی‌یابی نسل جدید (NGS) و حسگرهای زیستی نیز در حال توسعه‌اند که می‌توانند در آینده نقش مهمی در تشخیص سریع و کم‌هزینه ابولا ایفا کنند. از آنجایی که علائم بالینی ابولا مشابه علائم بیماری‌زای دیگر مانند ویروس تب زرد (YFV)، ویروس تب دره ریفت (RVFV)، ویروس لاسا (LASV)، ویروس O'Nyong-Nyong (ONNV)، ریکتزاس، Coxiella، Borrelia spp، و مالاریا است، استفاده از روش‌های تشخیصی در کنار معاینات بالینی برای تشخیص افتراقی به منظور انجام درمان صحیح و مدیریت صحیح بیمار مهم است.

تظاهرات بالینی بیماری ویروس ابولا (EVD) شبیه سایر بیماری‌های عفونی مانند مالاریا، تیفوس و تب زرد، از جمله علائمی مانند ضعف، درد عضلانی، بثورات پوستی و عفونت است. در عرض 1 تا 3 روز پس از شروع، بیماران معمولاً یک بیماری تب دار غیر اختصاصی همراه با بی اشتهایی و درد مفاصل را تجربه میکنند که در نهایت به مشکلات گوارشی مانند اسهال، تهوع و استفراغ تبدیل می شود. شدت علائم به طور کلی با بار ویروسی مرتبط است. سطوح بیش از 10 میلیون نسخه ژنوم در میلی لیتر در خون که نشان دهنده پیش آگهی ضعیف است. عفونت های همزمان با پلاسمودیوم فالسیپاروم یا سایر گونه های پلاسمودیایی با میزان مرگ و میر بالاتری همراه بوده است.

در مراحل بعدی بیماری، بیماران ممکن است دچار هیپوپرفیوژن بافتی و نشت عروقی شوند که منجر به سندرم اختلال عملکرد چندگانه می شود. این مرحله اغلب شامل خونریزی گوارشی و اختلال عملکرد کلیه است که با سطوح غیر طبیعی سدیم و پتاسیم و کاهش برون ده ادرار (الیگوری) مشخص می شود. هیدراتاسیون کافی به عنوان یک عامل مهم در افزایش مرگ و میر در طول شیوع در غرب آفریقا شناسایی شد. اصطلاح "بیماری ویروس ابولا" (EVD) جایگزین "تب خونریزی دهنده ابولا" شده است تا طیف وسیع تری از علائم فراتر از خونریزی را منعکس کند. علاوه بر این، حضور ویروس ابولا در مایع مغزی نخاعی شناسایی شده است که نقش بالقوه آن را به عنوان یک عامل مستقیم مننژوانسفالیت نشان میدهد. در میان بازماندگان، عوارض طولانی مدت مانند سایکوز، هپاتیت و یووئیت مشاهده شده است.



شکل 2: تظاهرات بالینی ابولا

1. Grolla A, Jones SM, et al. Advances in molecular and serological diagnostics for Ebola virus. J Clin Microbiol. 2022;60(2):e02145–21.
2. Towner JS, Sealy TK, et al. Comparative analysis of rapid antigen tests for Ebola virus detection. Emerg Infect Dis. 2020;26(8):1875–1882.
3. Bettini A, Lapa D, Garbuglia AR. Diagnostics of Ebola virus. Front Public Health. 2023;11:1123024.
4. Jacob ST, Crozier I, Fischer WA, Hewlett A, Kraft CS, Vega M-AdL, et al. Ebola virus disease. Nature Reviews Disease Primers. 2020;6(1):13



پاتوژن بیماری ابولا و مکانیسم‌های مولکولی آن

مطالعات انجام‌شده در زمینه پاتوژن ویروس ابولا عمدتاً بر EBOV و بیماری ناشی از آن تمرکز داشته‌اند. به دلیل تحقیقات گسترده‌ای که در طول شیوع بیماری ابولا در غرب آفریقا طی سال‌های ۲۰۱۳ تا ۲۰۱۶ انجام شد، اطلاعات کلینیکی دقیق‌تری درباره این بیماری به دست آمده است.

در این بخش، دانش کنونی درباره پاتوژن بیماری ابولا را در دو سطح برون‌تن (in vivo) و مولکولی بررسی خواهیم کرد. توجه داشته باشید که تمرکز اصلی ما بر جنبه‌هایی خواهد بود که علاوه بر EBOV، در مطالعات مربوط به سایر گونه‌های ویروس ابولا نیز مورد بررسی قرار گرفته‌اند.

بررسی پاتوژن ویروس ابولا (EBOV) در مدل‌های حیوانی :

مدل‌های حیوانی برای مطالعه عفونت EBOV تاکنون در نخستی‌سانان غیرانسان (NHPs) و مدل‌های حیوانی کوچک مانند موش‌ها، خوکچه‌های هندی، همسترهای طلایی سوری و راسوها توسعه یافته‌اند.

از میان این مدل‌ها، نخستی‌سانان غیرانسان (NHPs) به‌عنوان استاندارد طلایی در مدل‌های حیوانی در نظر گرفته می‌شوند، زیرا آن‌ها به‌شدت نسبت به عفونت با سویه وحشی EBOV (WT-EBOV) که از های انسانی جدا شده، حساس هستند. تقریباً تمام ویژگی‌های بالینی و پاتولوژیک بیماری شدید/کشنده EVD در انسان، در این حیوانات قابل بازسازی است، از جمله ویروس‌خونی (viremia) بالا، پاسخ شدید سیتوکاینی/کموکاینی، اختلالات انعقادی، راش‌های پوستی و نشانه‌های خونریزی. در بین NHPها، ماکاک‌های سینومولگوس و ماکاک‌های رزوس بیشترین استفاده را در مطالعات عفونت EBOV داشته‌اند. پیشرفت بیماری در ماکاک‌های سینومولگوس پس از عفونت با EBOV کمی سریع‌تر از ماکاک‌های رزوس است.

مطالعات پاتولوژیک بر روی NHPهای آلوده به EBOV نشان داده‌اند که سلول‌های سیستم فاگوسیتیک تک‌هسته‌ای (MPS) شامل مونوسیت‌ها و ماکروفاژها و همچنین سلول‌های دندریتیک (DCs)، اولین سلول‌های هدف عفونت هستند. این سلول‌ها پس از عفونت، به ارگان‌های هدف مانند کبد، گره‌های لنفاوی و طحال مهاجرت کرده و منجر به انتقال مؤثر و تکثیر گسترده ویروس می‌شوند.

علاوه بر NHPها، راسوها نیز پس از عفونت با WT-EBOV دچار یک بیماری کشنده می‌شوند که ویژگی‌های پاتولوژیک کلیدی EVD مانند تب، راش‌های پتشیال، خونریزی و اختلالات انعقادی را نشان می‌دهد.



مدل‌های جوندگان و سازگاری ویروس با آن‌ها:

بر خلاف NHPها و راسوها، جوندگان دارای سیستم ایمنی سالم (ایمونوتوانمند) پس از عفونت با-WT EBOV علائم بیماری را نشان نمی‌دهند یا فقط علائم خفیفی را تجربه می‌کنند. بنابراین، مدل‌های جوندگان سالم برای مطالعه EBOV متکی بر استفاده از سویه‌های تطبیق‌یافته با جوندگان هستند. این سویه‌های تطبیقی، از طریق پاساژهای سریالی ویروس در میزبان‌های جوندگان مانند موش‌ها و خوکچه‌های هندی ایجاد شده‌اند که در نهایت منجر به کسب توانایی ویروس در ایجاد عفونت کشنده در این حیوانات می‌شود.

دو سویه تطبیق‌یافته با موش (MA-EBOV) از دو گونه متفاوت مایینگا (Mayinga) و ماکونا (Makona) توسعه یافته‌اند. همچنین چهار سویه تطبیق‌یافته با خوکچه هندی (GPA-EBOV) در دسترس هستند. ویروس EBOV تطبیق‌یافته با جوندگان، همان سلول‌ها و بافت‌های هدف سویه وحشی-WT EBOV (EBOV) را در حیوانات حساس کشنده (مانند NHPها و انسان‌ها) آلوده می‌کند و منجر به ویروس‌خونی بالا در میزبانان آلوده جوندگان می‌شود.

MA-EBOV همچنین می‌تواند عفونت کشنده‌ای در همسترهای طلایی سوری ایجاد کند که با برخی از ویژگی‌های کلیدی EVD، از جمله پاسخ‌های سایتوکاینی/کموکاینی و اختلالات انعقادی همراه است. علاوه بر این، یک مدل موش ترکیبی نو ترکیب درون‌زاد (RI) بین‌نژادی (CC-RIX) که با MA-EBOV آلوده شده است نیز توسعه یافته و نشان داده که در مقایسه با سایر نژادهای معمول آزمایشگاهی موش، اختلالات انعقادی شدیدتری را نشان می‌دهد.

مدل‌های جوندگان دارای نقص ایمنی برای مطالعه پاتوژن EBOV:

چندین مدل جونده ایمونوناقص کشنده که به WT-EBOV آلوده شده‌اند، توسعه یافته و به‌طور گسترده در مطالعات پاتوژن EBOV مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

علاوه بر موش‌های ایمونوناقص کلاسیک مانند:

- موش‌های فاقد گیرنده اینترفرون نوع I (IFN) I (یعنی موش‌های IFNAR^{-/-})

- موش‌های فاقد STAT1 (STAT1^{-/-})

- موش‌های فاقد ایمنی تطبیقی (SCID mice)

چندین مدل موش دارای سیستم ایمنی انسانی (HIS mice) نیز ایجاد شده‌اند. در این مدل‌ها، سلول‌ها یا بافت‌های ایمنی انسانی و/یا پیش‌سازهای آن‌ها در موش‌های ایمونوناقص پیوند زده می‌شوند.

استفاده از مدل HIS امکان بررسی پاسخ ایمنی اختصاصی انسانی در سطح سلولی و بافتی در برابر ویروس در شرایط برون‌تن (in vivo) را فراهم می‌کند، و به همین دلیل، به‌عنوان ابزار ارزشمندی برای مطالعه پاتوژن بیماری ابولا (EVD) محسوب می‌شود.

مکانیسم‌های مولکولی پاتوژن عفونت EBOV

در میان تمامی پروتئین‌های ویروس ابولا (EBOV)، سه پروتئین VP24، VP35 و GP به‌عنوان عوامل اصلی بیماری‌زایی (ویرولانسی) در نظر گرفته شده‌اند.

نقش VP35 در مهار ایمنی ذاتی

پروتئین VP35 به‌عنوان آنتاگونیست اینترفرون (IFN) نوع I عمل می‌کند و از القای اینترفرون-آلفا و بتا (IFN- α/β) در میزبان جلوگیری می‌کند. همچنین، این پروتئین فسفریلاسیون پروتئین کیناز R (PKR) فعال‌شده توسط RNA دورشته‌ای را مهار می‌کند، که در حالت طبیعی یک پاسخ ضدویروسی سلولی را میانجی‌گری می‌کند.

ایجاد جهش‌هایی که عملکرد آنتاگونیستی IFN را در VP35 غیرفعال کنند، منجر به کاهش بیماری‌زایی (تضعیف ویروس) در مدل‌های حیوانی از جمله نخستی‌سانان غیرانسان (NHPs) می‌شود.

نقش VP24 در مهار مسیر سیگنالینگ اینترفرون نوع I

در حالی که VP35 مسیر القای اینترفرون نوع I را مهار می‌کند، VP24، دیگر آنتاگونیست اینترفرون EBOV، مسیر سیگنالینگ اینترفرون نوع I را مسدود می‌کند. این کار از طریق جلوگیری از جابجایی هسته‌ای (nuclear translocation) دایمرهای همسان فسفریله‌شده STAT1 یا دایمرهای غیرهمسان STAT1-STAT2، که تحت واسطه کاریوفرین آلفا (KPNA) رخ می‌دهد، انجام می‌شود.

مهار انتقال هسته‌ای STAT توسط VP24، باعث کاهش فعال‌سازی رونویسی ژن‌های تحریک‌شده توسط اینترفرون (ISGs) می‌شود و از برقراری وضعیت ضدویروسی در سلول‌های میزبان جلوگیری می‌کند. همچنین، نقش VP24 در افزایش بیماری‌زایی ویروس در جوندگان گزارش شده است. علاوه بر این، VP35 و VP24 با سرکوب فعال‌سازی و بلوغ سلول‌های دندریتیک (DCs)، منجر به ایجاد نقص در پاسخ‌های ایمنی سلولی می‌شوند، که این پدیده در سلول‌های دندریتیک آلوده به EBOV نیز مشاهده شده است.

نقش GP در فعال‌سازی مسیرهای التهابی و تخریب سدهای سلولی پروتئین GP ویروس ابولا با گیرنده تول-لایک 4 (TLR4) در میزبان تعامل دارد و از طریق مسیر NF- κ B، پاسخ‌های التهابی پیش‌رونده (pro-inflammatory responses) را فعال می‌کند. علاوه بر این، GP آزادشده (shed GP) که نسخه تریم‌شده (truncated) پروتئین سطحی GP است و توسط متالوپروتئاز سلولی TACE برش داده می‌شود، نشان داده شده که علاوه بر فعالیت خنثی‌سازی آنتی‌بادی و افزایش نفوذپذیری سلول‌های اندوتلیال، به‌طور مستقل باعث فعال‌سازی ایمنی وابسته به TLR4 نیز می‌شود.

نقش فسفاتیدیل‌سرین ویریونی در تنظیم پاسخ‌های ایمنی:

مطالعات اخیر نشان داده‌اند که فسفاتیدیل‌سرین (PS) متصل به ویریون EBOV با گیرنده Tim-1 تعامل دارد و نقش مهمی در فعال‌سازی سلول‌های T، تولید واسطه‌های التهابی پیش‌رونده و پیشرفت پاتوژنز ویروس در مدل‌های حیوانی ایفا می‌کند.

مقایسه پاتوژنز در میان ویروس‌های متعلق به جنس Ebolavirus نرخ مرگ‌ومیر (CFR) در بیماری‌های ابولا در انسان متغیر است و می‌تواند از صفر درصد (بدون مرگ‌ومیر) در عفونت‌های RESTV و TAFV تا ۹۰٪ در عفونت‌های EBOV برسد.

اگرچه اطلاعات بالینی درباره عفونت‌های ناشی از TAFV، BDBV، SUDV و RESTV در انسان محدود است، اما مطالعات آزمایشگاهی در شرایط *in vivo* و *in vitro*، تفاوت‌های پاتوژنتیکی این ویروس‌ها را بررسی کرده‌اند.

چندین مدل حیوانی کوچک، از جمله فرت‌ها و موش‌های انسانی‌شده، که قادر به تکثیر عفونت‌های کشنده TAFV، SUDV، BDBV و RESTV هستند، توسعه یافته‌اند. این پیشرفت‌ها مطالعات در زمینه پاتوژنز ویروس‌های ابولا را به‌طور قابل توجهی تسهیل کرده است.



سیر بیماری و میزان مرگ و میر در مدل‌های حیوانی:

شدت بیماری و مرگ و میر مرتبط با هر یک از عفونت‌های ابولا ویروس در مطالعات مختلف حیوانی مورد بررسی قرار گرفته است.

میزان کشندگی ویروس‌های ابولا در مدل‌های نخستی‌سانان غیرانسان (NHPs)

● EBOV باعث ۱۰۰٪ مرگ و میر در ماکاک سینومولگوس طی ۵ تا ۷ روز و در ماکاک رزوس طی ۶ تا ۹ روز پس از تزریق داخل عضلانی دوز 10^3 PFU می‌شود.

● در مقابل، TAFV، BDBV، SUDV و RESTV کشندگی یکنواختی در ماکاک‌های سینومولگوس ایجاد نمی‌کنند و میانگین زمان مرگ در این عفونت‌ها طولانی‌تر از عفونت با EBOV است:

○ SUDV: ۵۰ تا ۱۰۰٪ مرگ و میر طی ۹ تا ۱۰ روز پس از دریافت دوز 10^3 PFU

○ BDBV: ۵۰ تا ۷۵٪ مرگ و میر طی ۱۰ تا ۱۳ روز پس از دریافت دوز 10^3 – 10^4 TCID₅₀ یا 10^3 PFU

○ TAFV: ۶۰٪ مرگ و میر طی ۱۰ تا ۱۴ روز پس از دریافت دوز بیش از 10^3 PFU

○ RESTV: ۸۰ تا ۱۰۰٪ مرگ و میر طی ۸ تا ۲۱ روز پس از دریافت دوز 10^3 PFU

با توجه به این که عفونت کشنده EBOV در ماکاک‌ها حتی با دوزهای بسیار کمتر از 10^3 PFU (تا 10^1 PFU یا حتی یک واحد عفونی) و از مسیرهای مختلف تلقیح قابل تحقق است، می‌توان نتیجه گرفت که TAFV، BDBV، SUDV و RESTV ذاتاً نسبت به EBOV در ماکاک‌ها کمتر بیماری‌زا هستند.

ویژگی خاص RESTV در مقایسه با سایر ابولا ویروس‌ها

ویروس RESTV در میان ابولا ویروس‌ها ویروسی منحصر به فرد به نظر می‌رسد و احتمالاً یک پاتوژن حیوانی است، زیرا ویژگی‌های بیماری‌زایی آن در ماکاک‌ها و انسان‌ها متفاوت است.

مدل‌های حیوانی کوچک‌تر: فرت‌ها و موش‌های انسانی‌شده

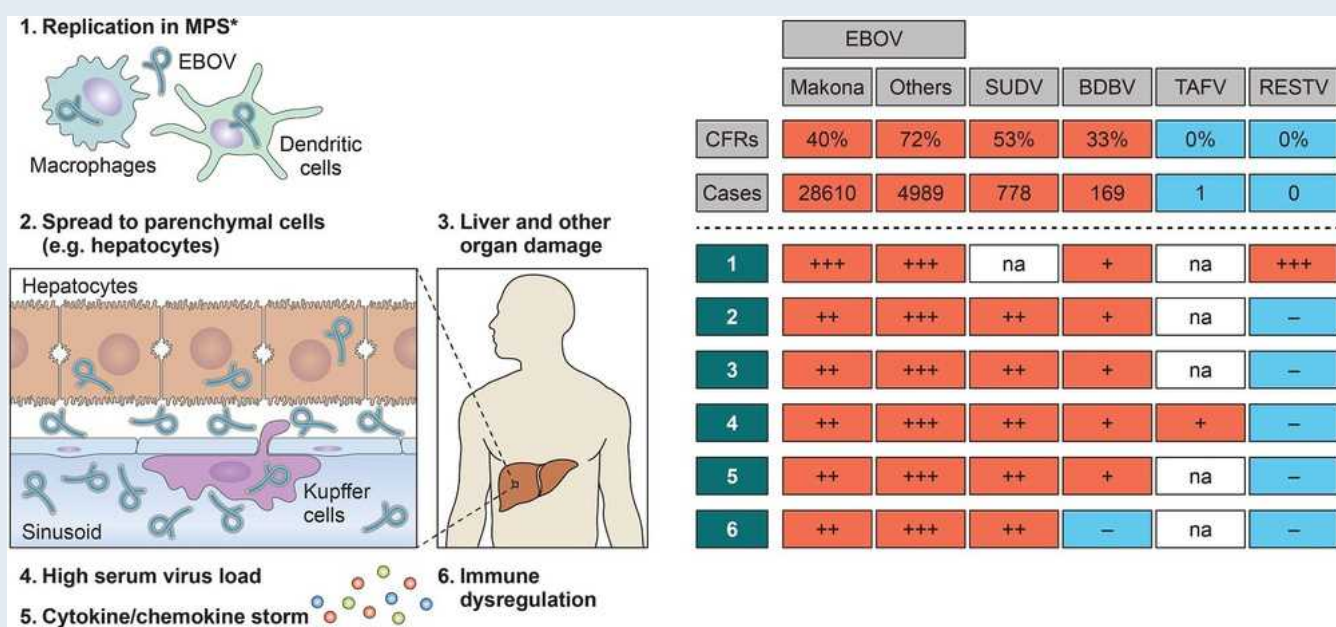
● در مطالعات روی فرت‌ها، مشخص شده که دوره بیماری در عفونت‌های SUDV و BDBV نسبت به EBOV طولانی‌تر است.

● در مدل موش‌های انسانی‌شده (humanized mice)، نوع HLA-A2-transgenic NOD-scid-IL2γ receptor knockout mice که با هماتوپوئز انسانی بازسازی شده (huNSG-A2)، نتایج جالبی به دست آمده است. این مدل:

○ حساسیت متفاوتی نسبت به گونه‌های مختلف ابولا ویروس نشان داده است.

○ عفونت‌های TAFV، BDBV، SUDV، EBOV و RESTV به ترتیب باعث ۳,۹۲٪، ۴,۷۱٪، ۶,۲۸٪، ۲,۱۸٪ و ۲۰٪ مرگ و میر در این موش‌ها شده است.

این یافته‌ها نشان می‌دهند که سیستم ایمنی انسانی (HIS) تأثیر قابل توجهی در پاتوژن‌گونه‌ و یژه ابولا ویروس‌ها دارد.



شکل: بیماری‌زایی اختصاصی گونه و اختصاصی واریانت در ویروس‌های ابولا

توانایی ویروس در گسترش از ماکروفاژها به سلول‌های پارانشیمی، که منجر به آسیب شدید اندام‌ها می‌شود، یکی از ویژگی‌های فنوتیپی کلیدی در تعیین بیماری‌زایی ویروس‌های ابولا است.

اعداد ۱ تا ۶ که در جدول سمت راست نمایش داده شده‌اند، با موارد نشان‌داده‌شده در شکل سمت چپ مرتبط هستند.

* شامل سلول‌های کوپفر نیز می‌شود.

na: اطلاعات در دسترس نیست.

ویروس ابولا (EBOV) دارای ژنوم RNA تک‌رشته‌ای با قطب منفی و حجمی حدود ۱۹ کیلوباز است که شامل هفت ژن می‌باشد:

1. نوکلئوپروتئین (NP)

2. پروتئین ویروسی (VP35)

3. VP40

4. گلیکوپروتئین (GP)

5. VP30

6. VP24

7. پلیمراز (L)

ژن GP سه نوع پروتئین تولید می‌کند:

● گلیکوپروتئین غشایی (Transmembrane GP)

● گلیکوپروتئین محلول (sGP)

● گلیکوپروتئین محلول کوچک (ssGP)

مکانیسم ورود و انتشار ویروس

گلیکوپروتئین غشایی از طریق اتصال به گیرنده‌ها و اندوسیتوز، ورود ویروس به سلول‌های میزبان را تسهیل می‌کند.

EBOV به‌طور اختصاصی سلول‌های ایمنی ذاتی از رده مایلوپیدی را هدف قرار می‌دهد و سلول‌های آلوده به ویروس از محل تلقیح به گره‌های لنفاوی مهاجرت می‌کنند، جایی که تکثیر و انتشار ویروس رخ می‌دهد.

بار ویروسی طی چند روز نخست پس از عفونت به‌صورت نمایی افزایش می‌یابد و گمان می‌رود گسترش سریع ویروس ناشی از مکانیسم‌های متعددی برای فرار از ایمنی میزبان باشد، از جمله:

● مهار پاسخ‌های اینترفرون نوع I

● جلوگیری از بلوغ سلول‌های دندریتیک

sGP که طی مرحله حاد بیماری در سطوح بالایی در گردش خون وجود دارد، احتمالاً با اتصال به آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده (که در غیر این صورت به گلیکوپروتئین غشایی متصل می‌شدند)، به‌عنوان یک فریب‌دهنده ایمنی عمل می‌کند.

مکانیسم‌های آسیب بافتی در بیماری ابولا

آسیب بافتی ناشی از بیماری ابولا شامل:

● اثرات سیتوپاتیک مستقیم

● آسیب غیرمستقیم اندام‌ها به دلیل التهاب، اختلال عملکرد اندوتلیال و انعقاد خون (کواگولوپاتی)

ضایعات مشاهده‌شده در کالبدشکافی بیماران مبتلا به ابولا

● اکیموز در غشاهای مخاطی

● خونریزی گوارشی

● هیپاتومگالی همراه با نکروز سلول‌های کبدی و التهاب حاد

● اسپلنومگالی همراه با آپوپتوز لنفوسیتی

● نکروز سلول‌های اپیتلیال توبول‌های کلیوی همراه با التهاب خفیف

● ادم میوکاردی بدون التهاب قابل‌توجه

1. Mensah-Bonsu M, Doss C, Gloster C, Muganda P. Identification and Potential Roles of Human MicroRNAs in Ebola Virus Infection and Disease Pathogenesis. Genes. 2024 Mar 25;15(4):403.
2. Yamaoka S, Ebihara H. Pathogenicity and Virulence of Ebolaviruses with Species- and Variant-specificity. Virulence. 2021 Dec 31;12(1):885-901.
3. Dobbs KR, Lobb A, Dent AE. Ebola virus disease in children: epidemiology, pathogenesis, management, and prevention. Pediatric Research. 2024 Jan;95(2):488-95.

نقش miRNA در پاتوژنز بیماری ابولا

روش استاندارد طلایی برای تشخیص ابولا، شناسایی توالی‌های ویروسی با استفاده از روش RT-PCR است. تاکنون چندین آزمون مختلف برای تشخیص ژن‌های ویروس ابولا (EBOV) توسعه یافته‌اند، اما تشخیص ویروس در نمونه‌های خونی معمولاً پس از ظهور علائم بالینی صورت می‌گیرد. بنابراین، تشخیص قطعی در مراحل اولیه تنها در صورتی ممکن است که از روش‌های حساس‌تری استفاده شود یا نشانگرهای دیگری که در مراحل اولیه بیماری فراوان‌تر هستند، هدف قرار گیرند.

در همین راستا، اخیراً پژوهشی انجام شده که نشان می‌دهد گروهی از مولکول‌های RNA کوچک موسوم به میکرو RNA (miRNA) می‌توانند به عنوان نشانگرهای زیستی برای تشخیص زودهنگام ابولا مورد استفاده قرار گیرند. این پژوهش، بر پایه‌ی شناسایی هشت miRNA مشتق‌شده از بدن میزبان، یک سیستم تشخیصی بالقوه را معرفی کرده است که ممکن است پیش از بروز علائم بیماری، امکان شناسایی آن را فراهم کند.

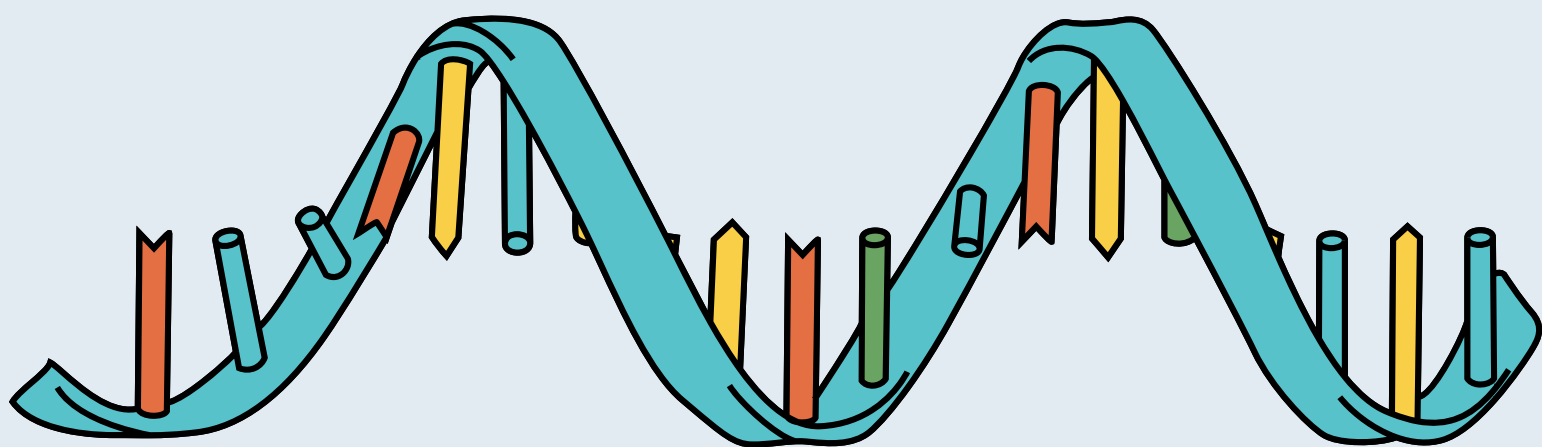
میکرو RNA و ارتباط آن با ویروس ابولا

میکرو RNAها مولکول‌های کوچک RNA هستند که معمولاً بین ۲۲ نوکلئوتید طول دارند و به عنوان تنظیم‌کننده‌های پس از transcription (پس از رونویسی) در بیان ژن‌ها عمل می‌کنند. فرایند تولید miRNAها از مرحله‌ای در هسته سلول آغاز می‌شود، جایی که مولکول‌های بلندتر RNA که دارای ساختار ساقه-حلقه هستند (pri-miRNA)، تحت پردازش آنزیمی قرار می‌گیرند. در این فرایند، کمپلکس آنزیم Drosha و پروتئین DGCR8 این مولکول‌ها را به ساختارهای کوتاه‌تر موسوم به pre-miRNA تبدیل کرده و سپس توسط پروتئین Exportin-5 به سیتوپلاسم منتقل می‌کنند. در سیتوپلاسم، این مولکول‌ها توسط آنزیم Dicer به شکل نهایی خود یعنی miRNA بالغ پردازش می‌شوند.

تا مدت‌ها تصور می‌شد که تنها ویروس‌هایی که فاز تکثیر DNA هسته‌ای دارند قادر به تولید miRNA هستند. اما اخیراً مشخص شده است که حتی RNA ویروس‌هایی مانند ابولا، که مرحله‌ای در هسته سلول ندارند، نیز می‌توانند miRNA تولید کنند، بدون آنکه فرآیند تکثیر ویروس مختل شود.

نقش microRNAها در بیماری‌زایی ویروس ابولا

miRNAها (microRNAs)، RNAهای کوتاه غیرکدگذاری هستند که با هیبرید شدن به چندین mRNA، بیان ژن را تنظیم می‌کنند. miRNAها به عنوان تنظیم‌کننده‌های پس از رونویسی در بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی، از جمله پاسخ‌های ایمنی و بیماری‌زایی ویروس‌ها، نقش حیاتی ایفا می‌کنند. ویروس ابولا (EBOV) به عنوان یک پاتوژن کشنده، با اثرگذاری بر مسیرهای تنظیمی میزبان، از جمله تغییر در بیان miRNAها، موجب اختلال در مکانیسم‌های ایمنی و پاسخ‌های سلولی می‌شود. در سال‌های اخیر، تحقیقات متعددی به بررسی پروفایل miRNAها در عفونت EBOV پرداخته‌اند که یافته‌های آن‌ها می‌تواند درک بهتری از نقش این مولکول‌های کوچک در پاتوژنز ویروس ارائه دهد و به توسعه راهکارهای تشخیصی و درمانی کمک کند.



تغییرات پروفایل miRNA در عفونت EBOV

مطالعات پروفایل سازی miRNA ها نشان داده اند که عفونت EBOV منجر به تغییر در بیان مجموعه ای از miRNA های کلیدی در سلول های آلوده و مایعات زیستی بیماران می شود. این تغییرات می توانند بر مسیرهای التهابی، آپوپتوز و پاسخ های ایمنی ذاتی تأثیر بگذارند. به عنوان مثال، برخی miRNA ها با سرکوب بیان ژن های مرتبط با پاسخ ایمنی، از جمله اینترفرون ها (IFNs) و سایتوکاین های ضد ویروسی، موجب فرار ایمنی ویروس می شوند. از سوی دیگر، برخی miRNA های میزبان ممکن است با تنظیم بیان ژن های ویروسی، در محدود کردن تکثیر EBOV نقش داشته باشند. همچنین، برخی miRNA های تنظیم شده توسط EBOV می توانند بر مسیرهای آپوپتوز تأثیر بگذارند و بقای سلولی را افزایش دهند. این مکانیسم به ویروس اجازه می دهد که چرخه زندگی خود را طولانی تر کرده و تکثیر بیشتری داشته باشد. این تغییرات در بیان miRNA ها می توانند اثرات مهمی بر شدت بیماری، پاسخ ایمنی و آسیب های اندام های مختلف داشته باشند. سرکوب سخ ایمنی موجب افزایش تکثیر ویروس و گسترش عفونت می شود. علاوه بر این، اختلال در بیان miRNA ها ممکن است باعث التهاب بیش از حد و در نهایت، تخریب بافتی شود که از نشانه های اصلی تب هموراژیک ابولا است.

بررسی miRNA های تولید شده توسط ویروس ابولا

برخی گروه های تحقیقاتی، miRNA هایی را که احتمالاً توسط ویروس ابولا تولید می شوند، شناسایی کرده اند. از اولین مطالعات در این زمینه، توسط لیانگ و همکارانش انجام شد. آن ها توانستند دو پیش ساز از miRNA و سه miRNA بالغ را در دو گونه ویروسی ابولا (EBOV) و سودان ویروس (SUDV) شناسایی کنند. بررسی های انجام شده نشان داد که این توالی ها میان سویه های مختلف ویروس ابولا و سودان کاملاً محافظت شده اند. این گروه همچنین نشان داد که تولید این miRNA ها به آنزیم Dicer وابسته است و در شرایطی که این آنزیم غیرفعال شود، فرآیند تولید آن ها به طور چشمگیری کاهش می یابد.

در پژوهشی دیگر، محققان از داده های ژنومی ۱۰۲ توالی ویروس ابولا (EBOV/Makona) در شیوع سال ۲۰۱۴ برای شناسایی چهار pre-miRNA و هفت miRNA بالغ استفاده کردند. این گروه همچنین ۱۳۸ هدف ژنی بالقوه برای این miRNA ها را پیش بینی کرد و نشان داد که miRNA های ابولا می توانند بیان برخی از این ژن ها را در سلول های انسانی (HeLa) تنظیم کنند.

مطالعه سوم بر اساس گونه EBOV/Boende-Lokolia از شیوع سال ۲۰۱۴ انجام شد. این پژوهشگران یک pre-miRNA را شناسایی کردند که دو miRNA بالغ را تولید می کرد. آن ها نشان دادند که این miRNA ها در سلول های پستانداران نیز تولید می شوند. یکی از این miRNA ها (miR-1-5p) توانایی سرکوب بیان پروتئین importin- α 5 را داشت که یک عامل کلیدی در فرایند انتقال هسته ای است و ممکن است در میزان بیماری زایی ویروس ابولا نقش داشته باشد.



شواهد جدید درباره‌ی حضور miRNA ویروسی در سرم بیماران

تحقیق جدیدی توسط چن و همکارانش نشان داد که miRNAهای ویروسی نه تنها در محیط سلولی، بلکه در سرم بیماران آلوده به ابولا نیز قابل شناسایی هستند. در این مطالعه، سه pre-miRNA جدید از گونه‌ی EBOV/Yambuku-Mayinga پیش‌بینی شد و یکی از آنها (miR-VP-3p) پس از تطابق با ۱۲۵ ژنوم ویروس ابولا در شیوع ۲۰۱۴ تأیید شد.

این miRNA در مرحله حاد عفونت در سرم بیماران آلوده به ابولا یافت شد، اما در مرحله نقاهت (زمانی که ویروس در آزمایش PCR منفی شده بود) قابل شناسایی نبود. جالب اینجاست که این miRNA در سرم شش بیماری که ابتدا تست PCR آنها منفی بود، اما ۱ تا ۲ روز بعد تست آنها مثبت شد، نیز یافت شد. از آنجا که این miRNA عمدتاً در بخش اگزوزومی سرم بیماران یافت شد، پژوهشگران احتمال دادند که این miRNA پیش از ورود ویروس به جریان خون و پیش از تشخیص با روش‌های معمولی آزاد می‌شود.

microRNAهای کلیدی در پاتوژنز EBOV

برخی miRNAهای میزبان، مانند hsa-miR-320a و hsa-miR-1246، در حضور گلیکوپروتئین EBOV افزایش یافته و منجر به تخریب سلول‌های اندوتلیال می‌شوند. همچنین، برخی miRNAهای ضد-EBOV، مانند hsa-miR-150-3p، اثرات مهار قوی علیه عفونت EBOV نشان داده‌اند.

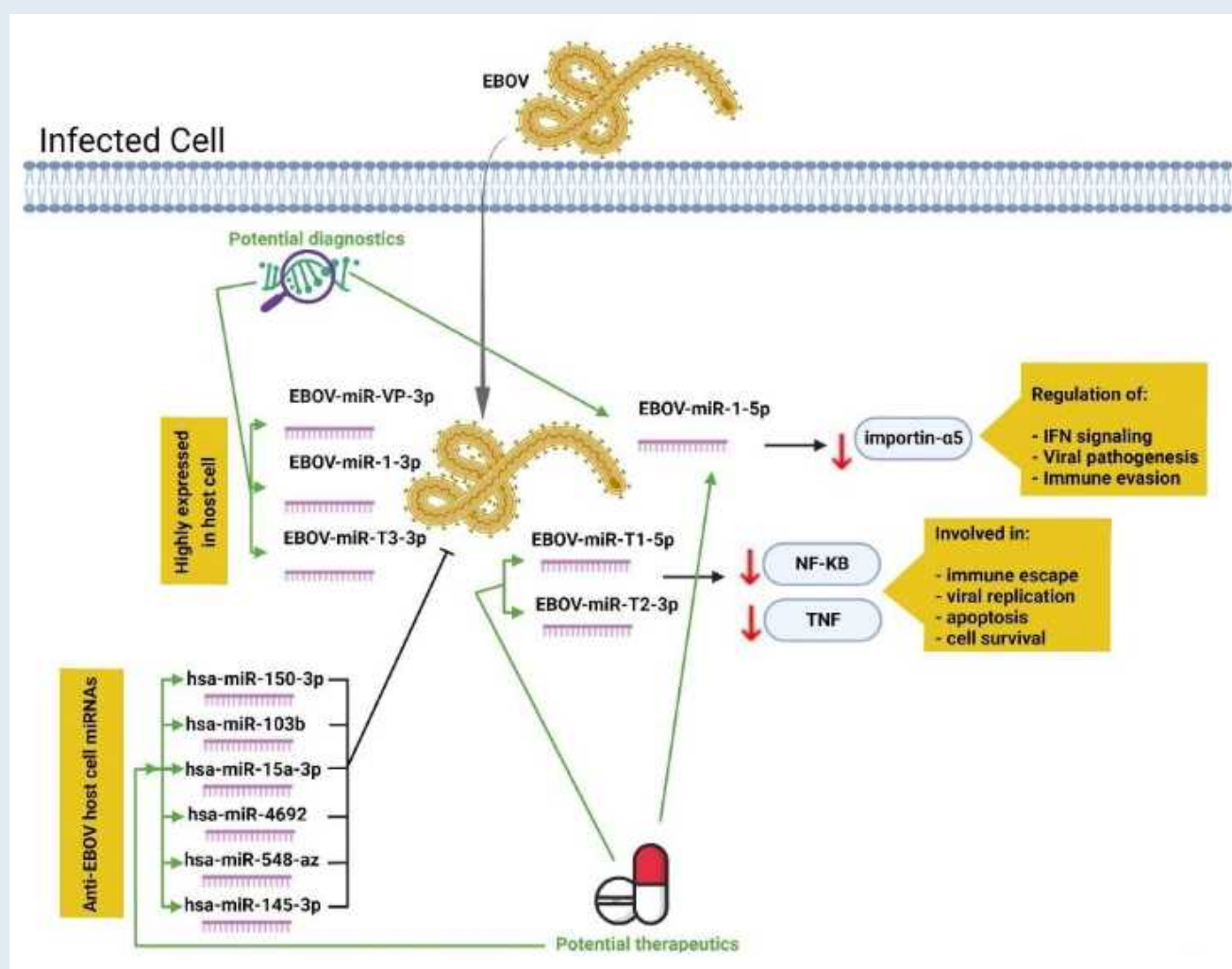
miR-VP-3p در سرم بیماران EBOV مثبت شناسایی شده و می‌تواند پیش از مثبت شدن آزمایش RT-PCR تشخیص داده شود. تحلیل سلول‌های آلوده به EBOV در مدل‌های مختلف از جمله موش، میمون‌ریسوس، میمون ساینومولگوس و انسان با استفاده از روش RT-PCR نشان داد که miR-1-5p، miR-1-3p و miR-T3-3p بالاترین سطح بیان را دارند که ممکن است نقش مهمی در پاتوژنز EBOV ایفا کرده و به عنوان یک نشانگر تشخیصی مفید قابل استفاده باشد.

در مدل‌های میمونی، برخی miRNAها مانند hsa-miR-122-5p و hsa-miR-125b-5p به عنوان نشانگرهای زیستی جدید پیشنهاد شده‌اند. miRNAهای خاصی مانند miR-VP-3p و miR-1-5p به عنوان نشانگرهای زیستی مهم برای بهبود تشخیص و پیش‌آگهی بیماری پیشنهاد شده‌اند.



کاربردهای بالقوه miRNAها در تشخیص و درمان ابولا

با توجه به تغییرات بارز در بیان miRNAها در طی عفونت EBOV، این مولکول‌ها می‌توانند به‌عنوان بیومارکرهای بالقوه برای تشخیص سریع و نظارت بر پیشرفت بیماری مورد استفاده قرار گیرند. تکنیک‌هایی مانند RT-qPCR و توالی‌یابی نسل جدید (NGS) می‌توانند برای شناسایی الگوی بیان miRNAها در مایعات زیستی مانند سرم و پلاسما به‌کار روند. علاوه بر این، هدف قرار دادن miRNAهای خاص با استفاده از مهارکننده‌های miRNA (antagomiRs) یا آگونیست‌های آن‌ها می‌تواند به‌عنوان یک استراتژی درمانی نوین برای کنترل عفونت EBOV مطرح شود.



شکل ۴. microRNAهای کدشده توسط ویروس ابولا، نقش آن‌ها و کاربردهای بالقوه در تشخیص و درمان بیماری ویروس ابولا (EVD).

نتیجه‌گیری

در مجموع، miRNAها نقش مهمی در بیماری‌زایی ویروس ابولا ایفا می‌کنند و بررسی دقیق‌تر آن‌ها می‌تواند کشف اهداف جدید درمانی و تشخیصی شود. مطالعات آینده در این حوزه باید بر شناسایی ناسایی miRNAهای کلیدی، مکانیسم‌های تنظیمی آن‌ها، و توسعه روش‌های مبتنی بر miRNA برای مدیریت بهتر عفونت EBOV تمرکز کنند.

1. Duy J, Honko AN, Altamura LA, Bixler SL, Wollen-Roberts S, Wauquier N, O'Hearn A, Mucker EM, Johnson JC, Shamblin JD, Zelko J. Virus-encoded miRNAs in Ebola virus disease. Scientific reports. 2018 Apr 24;8(1):6480.
2. Mensah-Bonsu M, Doss C, Gloster C, Muganda P. Identification and Potential Functions of Ebola Virus-Encoded MicroRNAs in EBOV-Infected Human ARPE Cells. Acta Microbiologica Hellenica. 2024 Dec 12;69(4):295–310.
3. Kakavandi E, Yavarian J, Farzanehpour M, Shayestehpour M. A Review of the Interaction between miRNAs and Ebola Virus. International Journal of Molecular and Cellular Medicine. 2024;13(2):210

پاسخ ایمنی به ویروس ابولا: مکانیزم ها و چالش ها

ویروس ابولا یکی از کشنده ترین عوامل بیماری‌زا در جهان است که نرخ مرگ و میر آن بین ۲۵ تا ۹۰ درصد متغیر است. این ویروس از خانواده Filoviridae بوده و سیستم ایمنی را به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد. پاسخ ایمنی بدن به این ویروس پیچیده است و شامل فعالسازی همزمان سیستم ایمنی ذاتی و تطبیقی میشود. در این مقاله، نحوه تعامل ویروس با سیستم ایمنی، راهکارهای فرار از پاسخ ایمنی، نقش آنتی‌بادیها در بهبودی، و راهبردهای درمانی مبتنی بر ایمنی بررسی میشود.

اثر ویروس ابولا بر سیستم ایمنی ذاتی:

۱. سیستم ایمنی ذاتی خط اول دفاعی بدن در برابر عوامل بیماری‌زا است. بااینحال، ویروس ابولا با چندین مکانیسم، اینسیستم را سرکوب میکند:

۱,۱. آلوده سازی و اختلال در سلولهای دندریتیک:

سلولهای دندریتیک (DCs), نقش کلیدی در شناسایی پاتوژن ها، پردازش آنتیژن ها و فعالسازی لنفوسیت های T دارند. با این حال، ویروس ابولا این سلول ها را آلوده کرده و مانع از بلوغ و ارائه صحیح آنتی ژن به سلول های ایمنی میشود. این امر باعث مهار پاسخ ایمنی تطبیقی و گسترش بیشتر ویروس در بدن میشود. ویروس ابولا، هم مسیرهای سیگنالینگ پاسخ ایمنی ذاتی و هم تطبیقی را تغییر می دهد، به ویژه بر سلول های دندریتیک تأثیر می گذارد و به پاسخ های التهابی شدید کمک می کند. ویروس ابولا عملکرد سلولهای دندریتیک را مختل میکنند که منجر به واکنشهای ایمنی تطبیقی ضعیف در طول عفونت میشود.

۱,۲. القای آپوپتوز در لنفوسیتها:

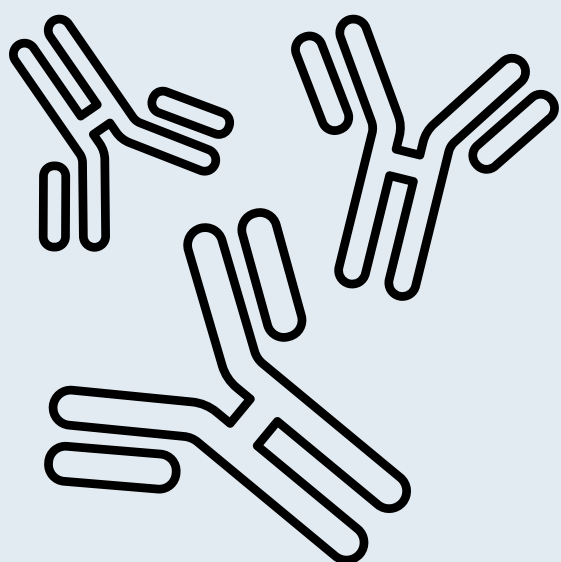
ویروس ابولا به طور مستقیم لنفوسیتهای T و B را آلوده نمیکند، اما موجب مرگ برنامه ریزی شده یا آپوپتوز گسترده این سلول ها میشود. این اتفاق از طریق تولید بیش از حد سیتوکین های التهابی و اختلال در تعادل ایمنی رخ میدهد، که منجر به سرکوب پاسخ ایمنی میزبان میشود.

۱,۳. تأثیر بر ماکروفاژها و مونوسیتها:

ویروس ابولا با آلوده کردن ماکروفاژها و مونوسیتها، باعث تولید مقادیر زیادی از سیتوکین های التهابی مانند IL-6، TNF- α و IL-1 β میشود. این پاسخ بیش فعال ایمنی منجر به طوفان سیتوکینی شده که عامل اصلی نشت عروق، شوک همودینامیک و نارسایی چند عضوی است.

۱,۴. تأثیر بر فاگوسیت ها:

EBOV فاگوسیت های تک هست های را آلوده میکند و منجر به طوفان سیتوکین از ماکروفاژها و اختلال در بلوغ سلولهای دندریتیک میشود که بر پاسخ های ایمنی تأثیر میگذارد.



۲. مکانیسم های فرار ایمنی ویروس ابولا :

ویروس ابولا با چندین روش از سیستم ایمنی فرار میکند تا بتواند در بدن تکثیر یابد:

۲،۱. سرکوب تولید اینترفرون نوع ۱ ($\text{IFN-}\alpha/\beta$):

اینترفرون های نوع ۱ ($\text{IFN-}\alpha/\beta$) نقش کلیدی در مقابله با ویروس ها دارند. اما پروتئین VP35 ویروس ابولا، مسیرهای سیگنالینگ RIG-I و MDA5 را که منجر به تولید اینترفرون میشوند، مهار میکند. در نتیجه، ویروس بدون مقاومت کافی در بدن گسترش میابد.

۲،۲. مهار انتقال سیگنال های ضد ویروسی:

پروتئین VP24 ویروس ابولا از طریق مهار انتقال فاکتورهای ایمنی به هسته سلولی، مانع از فعالیت ژن های مرتبط با ایمنی میشود. این مکانیسم، دفاع سلولهای آلوده را کاهش داده و به تکثیر بیشتر ویروس کمک میکند.

۳. نقش ایمنی تطبیقی در کنترل عفونت ابولا:

گلیکوپروتئین ویروس ابولا سلولهای دندریتیک و ماکروفاژها را هدف قرار میدهد و پاسخهای ایمنی را تسهیل میکند و رویکرد جدیدی برای تولید واکسن ارائه میدهد.

۳،۱. نقش لنفوسیت های T:

در بیماران بهبود یافته، لنفوسیت های T کشته T (CD8+ Cells) نقش کلیدی در حذف سلول های آلوده به دارند. مطالعات نشان داده اند که بیماران نجات یافته، پاسخ های قویتر و پایداری از لنفوسیت های T خاطره ای دارند که به محافظت طولانی مدت کمک میکند.

۳،۲. تولید آنتی بادی های خنثی کننده:

افرادی که از عفونت ابولا بهبود میابند، آنتی بادی های خاصی تولید میکنند که میتوانند تا ۱۰ سال پس از عفونت در خون باقی بمانند. این آنتی بادی ها ویروس را خنثی کرده و مانع از آلوده سازی سلولهای جدید میشوند.

۴: ایمنی ناشی از واکسیناسیون:

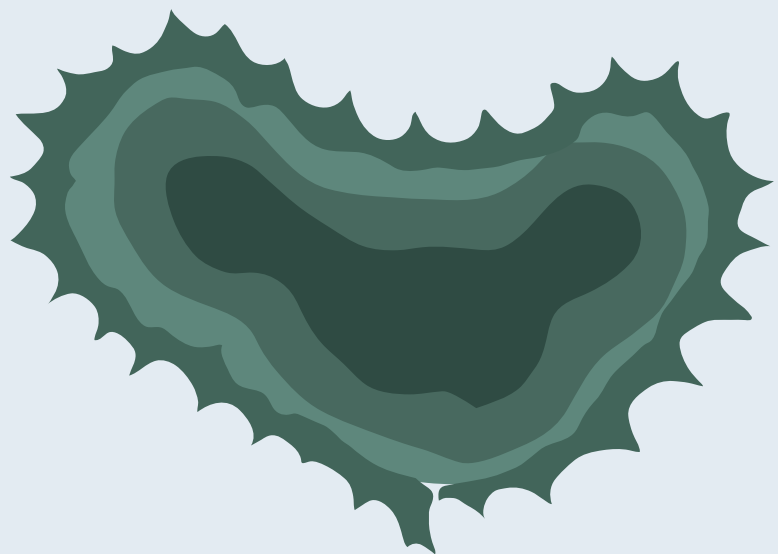
۴،۱. واکسن های مورد تأیید:

rVSV-ZEBOV: این واکسن، که بر پایه ویروس وزیکولار استوماتیت (VSV) ساخته شده، در مطالعات بالینی ۱۰۰٪ ایمنی در برابر ویروس ابولا نشان داده است و در سال ۲۰۱۹ مورد تأیید FDA قرار گرفت.

Ad26.ZEBOV/MVA-BN-Filo: این واکسن بر پایه آدنوویروس ساخته شده و میتواند پاسخ ایمنی قوی و پایدار ایجاد کند.

۴،۲. نقش ایمنی همگانی در کنترل شیوع بیماری:

ایجاد ایمنی جمعی از طریق واکسیناسیون میتواند شیوع ابولا را در جوامع انسانی کاهش دهد. مطالعات نشان داده اند که واکسیناسیون حداقل ۷۰٪ از جمعیت در معرض خطر میتواند انتقال ویروس را به طور چشمگیری کاهش دهد.



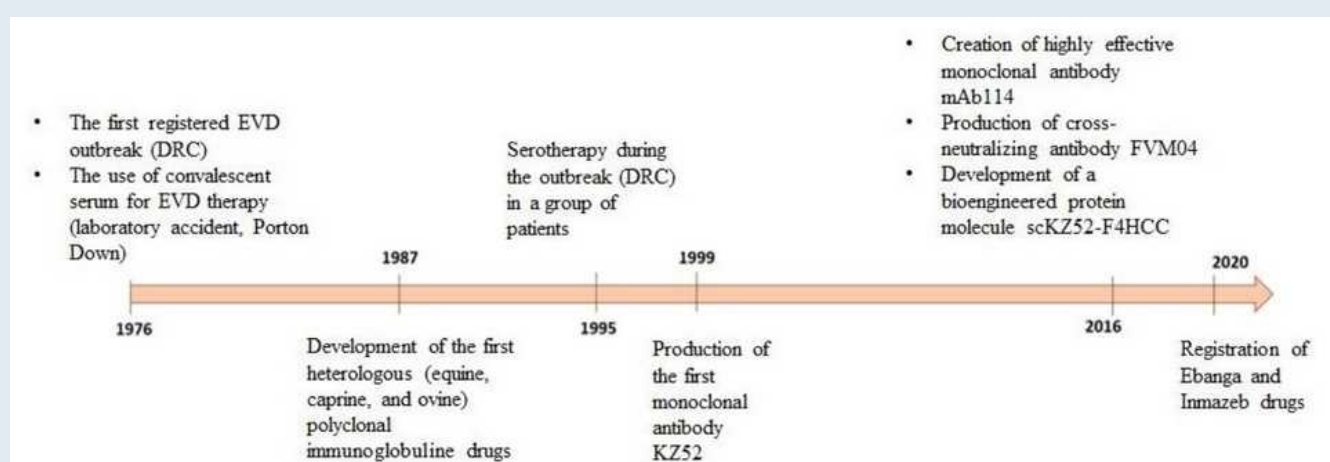
ویروس ابولا (EBOV) عمدتاً فاگوسیت های تک هسته‌ای، از جمله مونوسیت ها، ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک (DCs) را هدف قرار میدهد که منجر به اختلال قابل توجهی در تنظیم ایمنی میشود. عفونت ماکروفاژها منجر به طوفان سیتوکین می شود، درحالی که DCها بلوغ و ارائه آنتی ژن را مختل می کنند که مانع از پاسخ های ایمنی تطبیقی می شود. 200 گلیکوپروتئین EBOV تمایل زیادی به DCها و ماکروفاژها نشان می دهد، جذب آنها را تسهیل میکند و به طور بالقوه پاسخ های ایمنی را تقویت می کند، که می تواند برای توسعه واکسن مورد استفاده قرار گیرد. علاوه بر این، EBOV مسیرهای سیگنالینگ ایمنی ذاتی و تطبیقی را تغییر می دهد و به کشندگی آن و پاسخ ایمنی ضعیف مشاهده شده در افراد آلوده کمک می کند. درک این فعل و انفعالات برای توسعه استراتژی‌های درمانی مؤثر و واکسنها در برابر EBOV بسیار مهم است، زیرا توانایی ویروس در مختل کردن عملکرد ایمنی همچنان یک چالش مهم است.

1. Baize, S., et al. (2002). "Inflammatory responses in Ebola virus-infected patients." J Virol
2. Feldmann, H., & Geisbert, T. W. (2011). "Ebola haemorrhagic fever." The Lancet
3. Henao-Restrepo, A. M., et al. (2016). "Efficacy of rVSV-ZEBOV vaccine against Ebola virus." NEJM.
4. Leung, D. W., et al. (2009). "Ebola virus VP35 is a suppressor of interferon production." J Virol
5. Marzi, A., et al. (2013). "Antibody responses in survivors of Ebola virus infection." Sci Transl Med
6. Sullivan, N. J., et al. (2011). "T-cell immunity to Ebola virus." Nature Med
7. WHO. (2020). "Ebola virus disease: vaccines." World Health Organization



روش‌های درمانی ابولا (EVD)

ویروس ابولا، که یکی از اعضای گروه فیلوویروس‌ها به شمار می‌آید و نرخ مرگ و میر آن به 90 درصد می‌رسد، احتمالاً یکی از کشنده‌ترین ویروس‌ها در تاریخ بشر است. از زمان کشف این ویروس، تلاش‌های قابل توجهی برای توسعه روش‌های پیشگیری و درمان عفونت‌های ناشی از آن صورت گرفته است. تحقیقات در زمینه‌های پیشگیری و درمان به طور همزمان پیشرفت کرده‌اند و در حالی که واکسن‌های مؤثری اکنون توسعه یافته و در دسترس هستند، وضعیت برای داروهای درمانی به همین شکل نیست.



شکل 1. نمایش زمانی توسعه داروها بر اساس آنتی‌بادی‌های ضد ویروس ابولا.

در تاریخچه درمان بیماری ویروسی ابولا (EVD)، نخستین رویکرد استفاده از آنتی‌بادی‌های سرمی بود. از آنجا که هیچ یک از بیماران نجات‌یافته وجود نداشتند که بتوانند به عنوان منبع سرم ایمنی عمل کنند، گام منطقی بعدی تلاش برای استفاده از آماده‌سازی‌های ایمونوگلوبولین پلی‌کلونال هتروگنوس (از اسب، بز و گوسفند) بود. این تلاش‌ها تنها به طور جزئی موفقیت‌آمیز تلقی می‌شوند، اما نکته‌ای حیاتی را نشان دادند: ایمونوگلوبولین‌ها به‌طور اصولی می‌توانند پایه‌ای برای داروهای درمانی باشند. با وجود ویژگی‌های ویروس، به‌ویژه پیشرفت سریع عفونت، نتایج امیدوارکننده‌ای برای درمان‌های مبتنی بر سرم به دست آمد. گام بعدی در توسعه ایمن درمانی برای بیماری ویروسی ابولا (EVD) ایجاد آنتی‌بادی‌های مونوکلونال بود. این مسیر به پیشرفت‌های علم مولکولی ویروس و مطالعات دقیق ساختار هدف اصلی آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده، یعنی گلیکوپروتئین سطحی، وابسته بود. یک رویکرد دیگر می‌تواند استفاده از مهارکننده‌های مولکول کوچک پروتئین‌های ویروسی باشد. به عنوان مثال، استفاده از رمدسیویر به عنوان یک استراتژی امیدوارکننده به نظر می‌رسد، زیرا این دارو و آنتی‌بادی‌های مونوکلونال به اجزای بنیادی متفاوتی از ویروس هدف قرار می‌دهند. انتظار می‌رود که هنگام استفاده همزمان از این دو، اثر هم‌افزایی حاصل شود.



واکسیناسیون

واکسیناسیون ابولا یکی از مهم‌ترین پیشرفت‌ها در مبارزه با این بیماری مرگبار است. واکسن‌های مختلفی برای ابولا توسعه یافته‌اند، که عبارتند از :

1. واکسن (Ervebo) rVSV-ZEBOV :

این واکسن که توسط شرکت Merck تولید شده است، یکی از مؤثرترین ابزارهای پیشگیری از ابولا به شمار می‌رود.

✓ نحوه عملکرد:

بر پایه یک ویروس زنده و ضعیف‌شده ساخته شده است که ژن پروتئین ویروس ابولا را در سطح خود بیان می‌کند.

سیستم ایمنی پس از تزریق، با شناسایی این پروتئین، آنتی‌بادی تولید کرده و در صورت قرار گرفتن در معرض ویروس واقعی، بدن مقاوم می‌شود.

✓ اثربخشی:

مطالعات میدانی در شیوع 2014–2016 غرب آفریقا نشان داد که این واکسن 95–100 درصد در جلوگیری از ابتلا مؤثر است.

برای جمعیت‌های در معرض خطر (پرسنل بهداشتی و تماس نزدیک با بیماران) استفاده می‌شود.

2. واکسن Ad26.ZEBOV/MVA-BN-Filo (واکسن دو دوزه):

این واکسن شامل دو جزء است که به‌طور متوالی تزریق می‌شود.

✓ نحوه عملکرد:

دوز اول Ad26.ZEBOV سیستم ایمنی را برای پاسخ اولیه تحریک می‌کند.

دوز دوم MVA-BN-Filo پاسخ ایمنی را تقویت می‌کند.

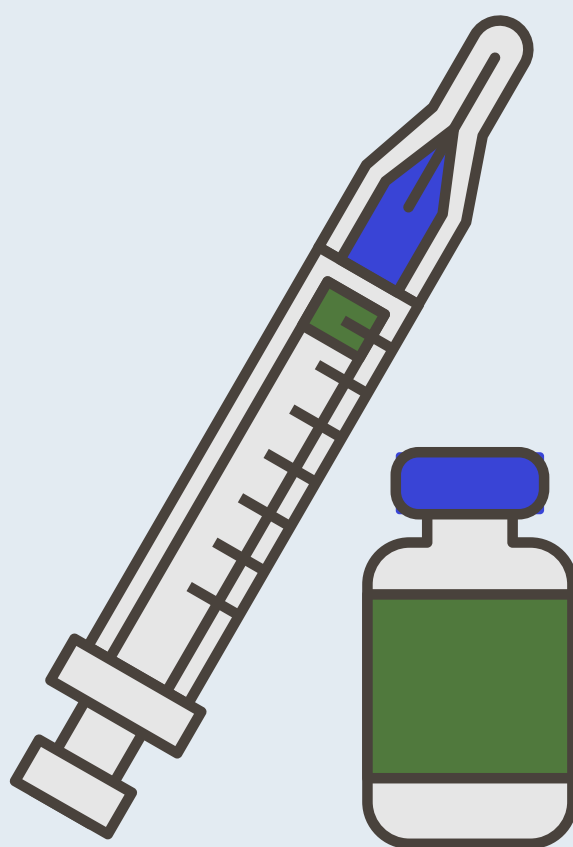
✓ ویژگی‌ها:

مناسب برای جمعیت‌های عمومی از جمله کودکان یک سال به بالا.

زمان بین دو دوز: 8 هفته

کارایی کمتر در شرایط شیوع سریع به دلیل نیاز به زمان بین دو دوز.

1. Fausther-Bovendo H, Kobinger G. The road to effective and accessible antibody therapies against Ebola virus. Current Opinion in Virology. 2022 Jun 1;54:101210.
2. Shcherbakov DN, Isaeva AA, Mustaev EA. Treatment of Ebola Virus Disease: From Serotherapy to the Use of Monoclonal Antibodies. Antibodies. 2025 Mar 5;14(1):22.
3. Wolf JB, Salvato MS. Ebolavirus vaccines: progress in the fight against Ebola virus disease. Cell Physiol Biochem. 2015; 36(6):2440–2452.
4. Marzi A, Feldmann H. Safety and immunogenicity of a recombinant vesicular stomatitis virus Ebola vaccine. N Engl J Med. 2014; 371(22):2075–2077



سپاس از توجه شما