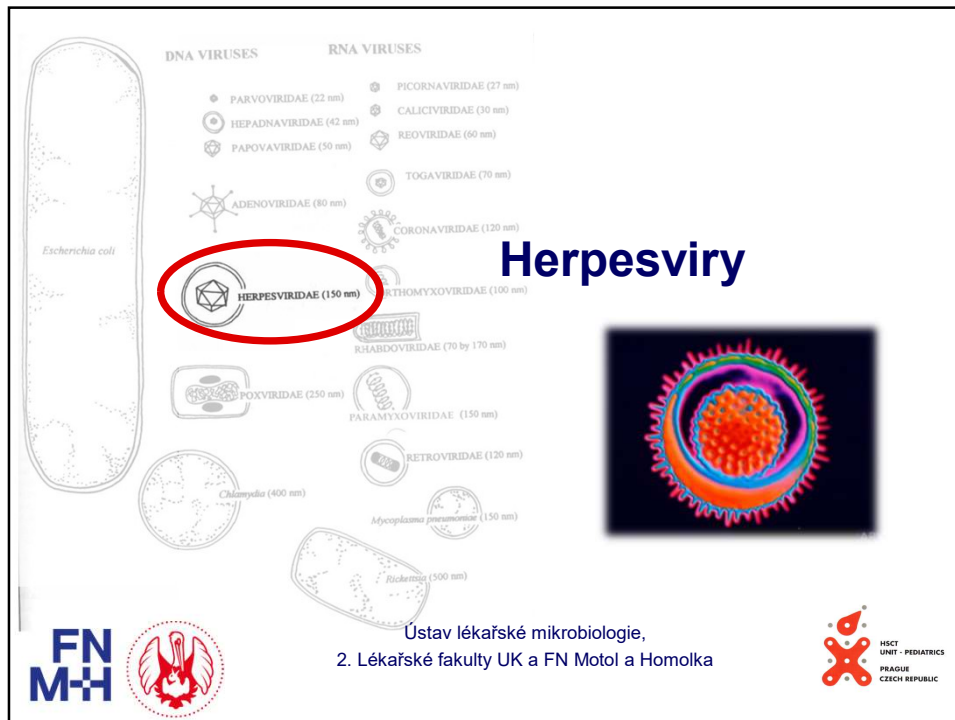
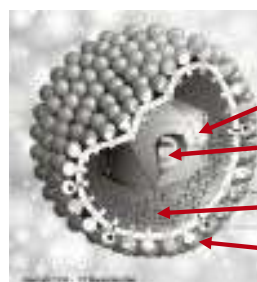




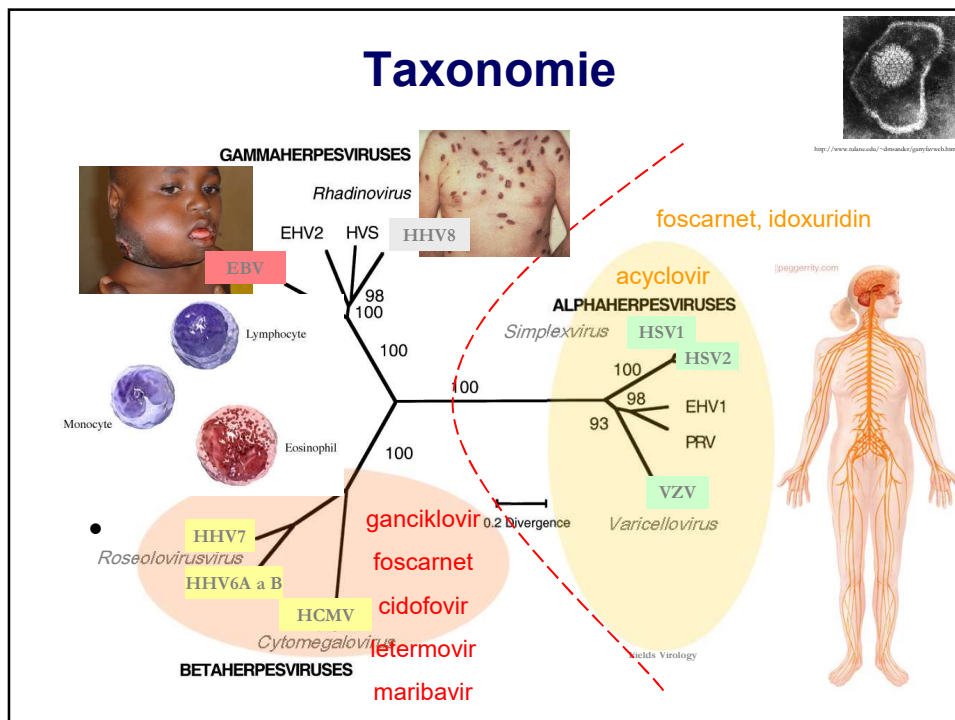
## Herpesviry

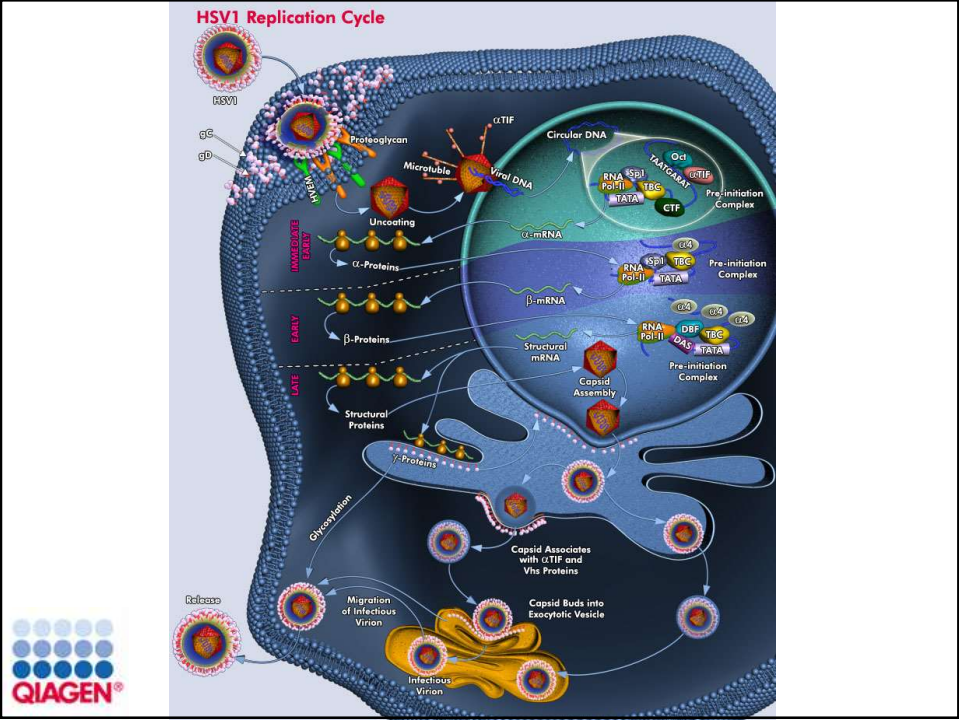
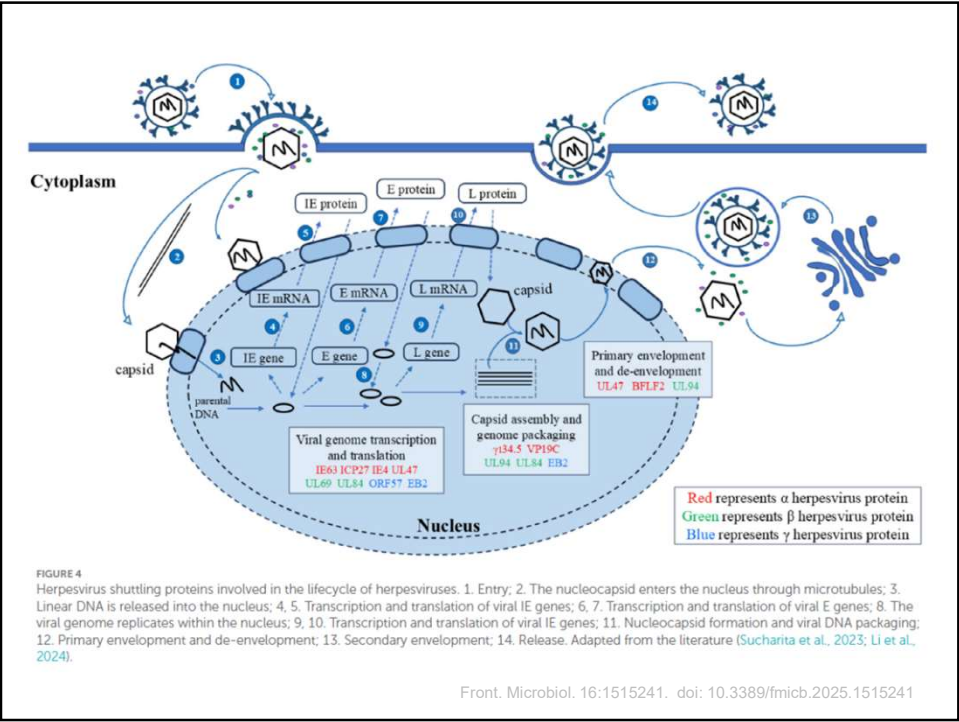
- Z řeckého Herpes – „plíživý“
- jsou ds DNA obalené viry
- genom má 125-240 kb
- kapsida má ikosaedrální strukturu
- průměr kapsidy je přibližně 100 nm



- kapsida
- DNA
- tegument
- glykoproteiny







## Dopad herpesvirů?

Indikativní onemocnění pro klasifikaci HIV infekce jako rozvinutého onemocnění AIDS (kritéria SZO):

1. pneumocystová pneumonie
2. toxoplazmová encefalitida
3. ezofageální, tracheální, bronchiální nebo plicní kandidóza
4. **chronický anální herpes simplex nebo herpetická bronchitida, pneumonie nebo ezofagitida**
5. **CMV retinitida**
6. **generalizovaná CMV infekce (kromě jater a sleziny)**
7. **progresivní multifokální leukoencefalopatie**
8. recidivující salmonelová bakteriémie
9. recidivující pneumonie v průběhu 1 roku
10. chronická intestinální kryptosporidie
11. chronická intestinální isosporóza
12. extrapulmonální kryptokoková infekce
13. diseminovaná nebo extrapulmonální histoplazmóza
14. diseminovaná kokcidiodomykóza
15. tuberkulóza
16. diseminovaná nebo extrapulmonální atypická mykobakteriíza
17. **Kaposiho sarkom**
18. **maligní lymfomy (Burkittův, imunoblastický a primárnícerebrální lymfom)**
19. **invazivní karcinom děložního hrdla**
20. HIV encefalopatie
21. wasting syndrom



## α herpesviry

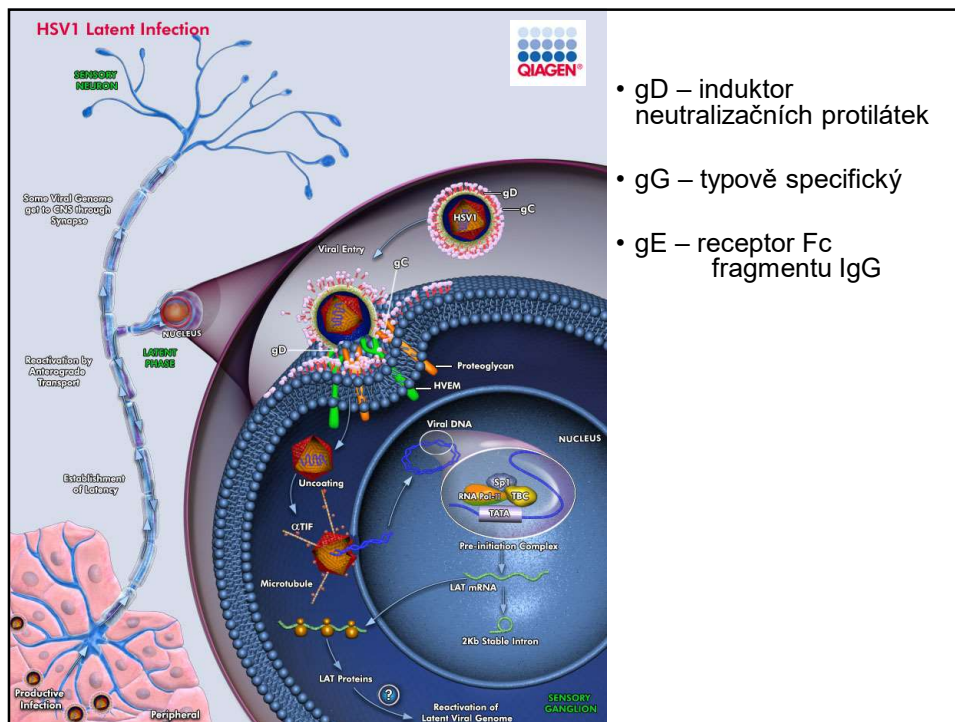
- úzce vázané na nervovou tkáň – senzitivní ganglia
- rychlý cytolytický cyklus
- infekce kůže a sliznic

| Virus | Taxonomie               | Primární infekce                                      | Recurrentní infekce / Reaktivace                                                               | Místo latence                                   |
|-------|-------------------------|-------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| HSV-1 | Human herpesvirus HHV-1 | Gingivostomatitis, keratoconjunctivitis, encephalitis | Herpes labialis, esophagitis, benigní crbl. ataxia, faryngotonsillitis, pneumonitis, hepatitis | Sensorická ganglia n. V                         |
| HSV-2 | HHV-2                   | Herpes genitalis, Neonatal herpes, encephalitis       | Herpes genitalis, esophagitis, pneumonitis, hepatitis                                          | Sakrální sensorická ganglia                     |
| VZV   | HHV-3                   | Varicella – Plané neštovice                           | Herpes Zoster, encephalitis/cerebelitis, pneumonitis, hepatitis                                | Sensorická g. n. V Ganglia zadních rohů míšních |

Po HSCT bez ACV profylaxe v 80% reaktivace HSV, v případě preventivního podávání acykloviru méně často.

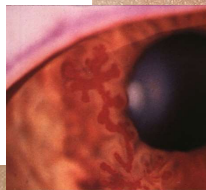
**Detekce: serologie a PCR**

**Terapie: acyclovir, foscarnet, idoxuridin ...**



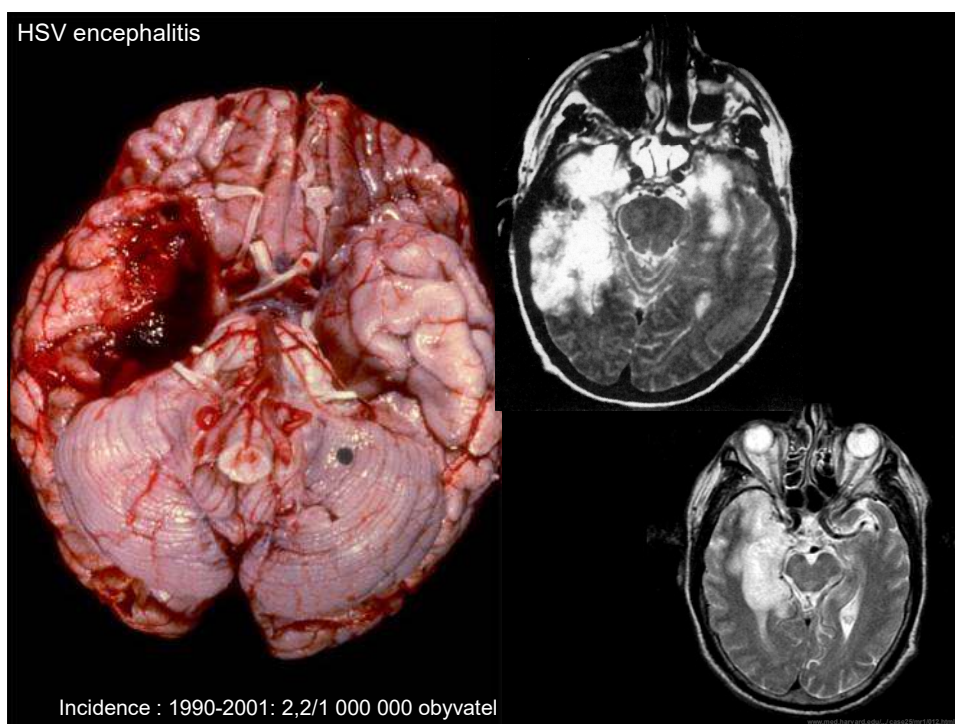
## Patologické působení HSV a VZV

- Intraepidermální vesikuly
- není destrukce bazální membrány

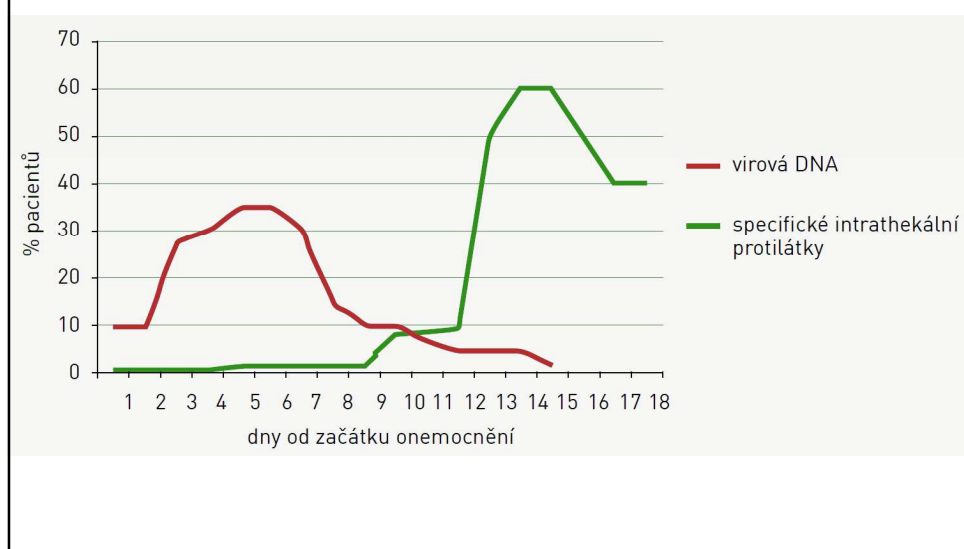


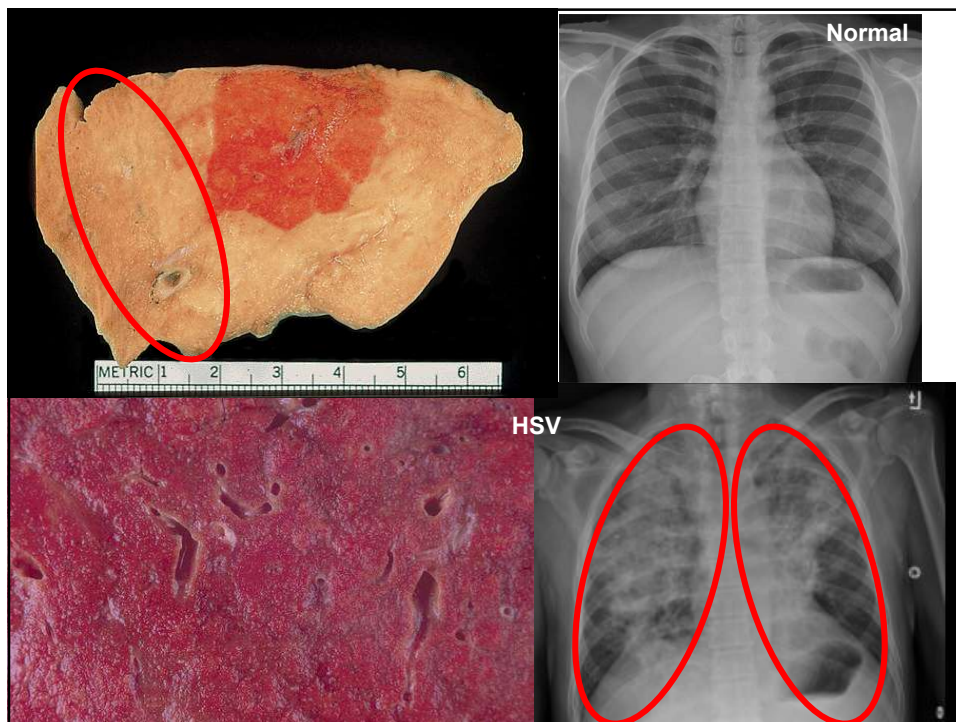
Varicella – plané neštovice





### Protilátková odpověď na virovou infekci a detekce viru v CSF





## HSV u kriticky nemocných RTG

COVID-19



HSV



**CAVE Herpes sine herpes.**

# HSV u kriticky nemocných RTG

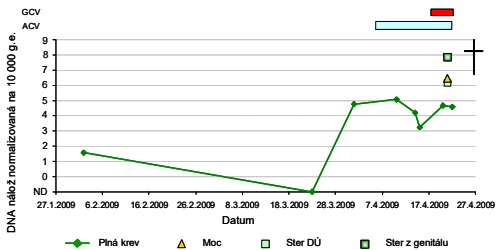
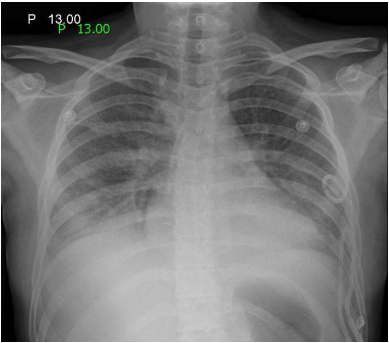
## Bronchoskopický obraz



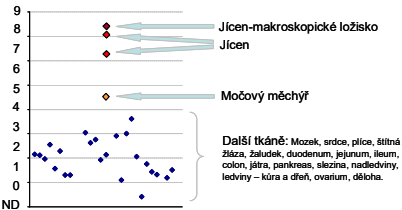
# Nad čím myslet u stanovení diagnózy?

## Rozsah a přítomnost postižení různých orgánů.

HSV (dívka léčená pro ALL)

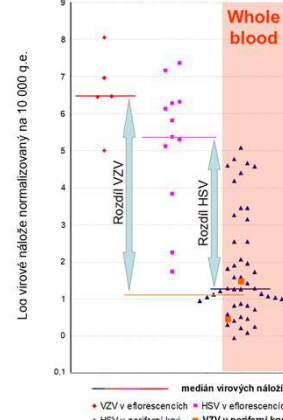


### Kvantita HSV detekovaná v tkáních získaných při anatomicko-patologickém vyšetření



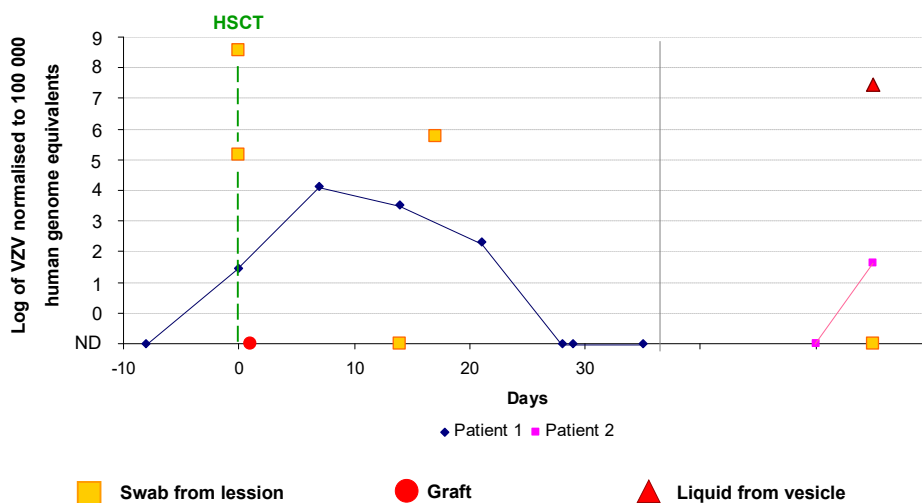
## Varicella – Zoster Virus

- Inkubační doba 10-21 dní
- Infekční zejména v katarálním stádiu
- Proliferace v resp. epitelu a následně diseminace do NL a primární virémie.
- Proliferace v játrech a slezině – sekundární virémie (po 10-15 dnech horeček) – diseminace do dermis
- V 90% benigní.
- Sekundární infekce vesikul (běžně *S. aureus*, *S. pyogenes*)
- infekce sliznic



| Primární infekce            | Rekurentní infekce / Reaktivace                                                         | Místo latence                                           |
|-----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| Varicella – Plané neštovice | Herpes Zoster, encephalitis/cerebelitis, pneumonitis, hepatitis, Postherpetic neuralgia | Sensorická g. n. V Ganglia zadních rohů míšních (C3-L2) |

## Rozdíl v materiálech VZV – Plané neštovice D+0



## Neonatální HSV infekce



- **Primární infekce během těhotenství (STORCH/TORCH)**
- **Neonatální infekce**
  - Během porodu, nebo ke konci těhotenství
  - Vzácné, často letální



| Typ infekce              | Specifikace                                                                                     |
|--------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Kůže, oko a dutina ústní | Lokalizovaná infekce, slzniční a kožní léze bez infekce vnitřní bez postižení vnitřních orgánů. |
| Diseminovaná infekce     | Zejména herpetická hepatitis                                                                    |
| Herpetická encefalitida  | CNS infekce se záchvaty a třesem                                                                |

## β herpesviry

- Vázané zejména na granulocyty, monocyty, endoteliální bb., fibroblasty...

| Virus  | Taxonomie | Primární infekce                                                                                 | Recurrentní infekce / Reaktivace                                                                                                   | Místo latence                        |
|--------|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| CMV    | HHV-5     | 99% asymptomatická, mírná hepatitis<br>Mononucleosa-like syndrom<br><br><b>Vrozená CMV nemoc</b> | Zejména pacienti s IS a AIDS; Pneumonie, GIT (nekrotizující pseudomembranózní colitis, vředy jícnu...), retinitis, encefalitis,... | Granulocyty, mononukleární buňky,... |
| HHV-6B | HHV-6     | Šestá nemoc, exanthema subitum, Roseola infantum                                                 | Encefalitis (Limbická), pneumonitis, hepatitis                                                                                     | Mononukleární bb., Lymfocyty CD4+    |
| HHV-7  | HHV-7     | Asymptomatická, Roseola infantum                                                                 | Encefalopatie/encefalitida, post-infekční myeloradiculoneuritis, epilepsie, hepatitis, hypersenzitivní syndrom                     | Lymfocyty CD4+                       |
| HHV-6A | HHV-9     | Orphan virus                                                                                     |                                                                                                                                    |                                      |

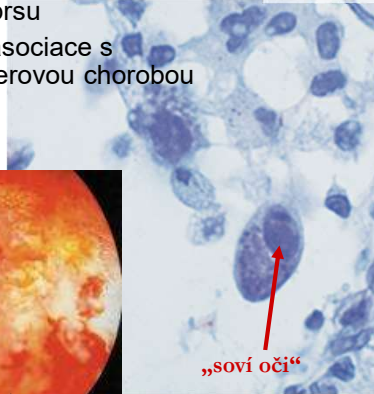
**Detekce: serologie a PCR**

**Terapie: ganciclovir, foscarnet, cidofovir, maribavir, letermovir...**

## Patologické působení CMV

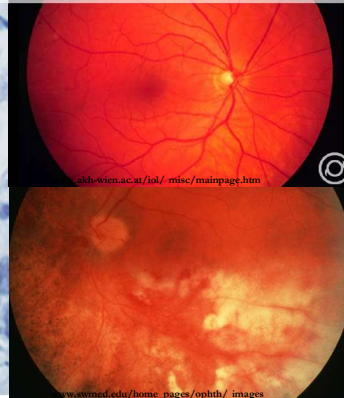
### U imunokompetentních

asymptomatické u 95% dětí  
mononukleosis like sy.  
v případě gravidity  
teratogenní účinky  
asociace s maligními gliomy,  
nádory prsu  
možná asociace s  
Alzheimerovou chorobou

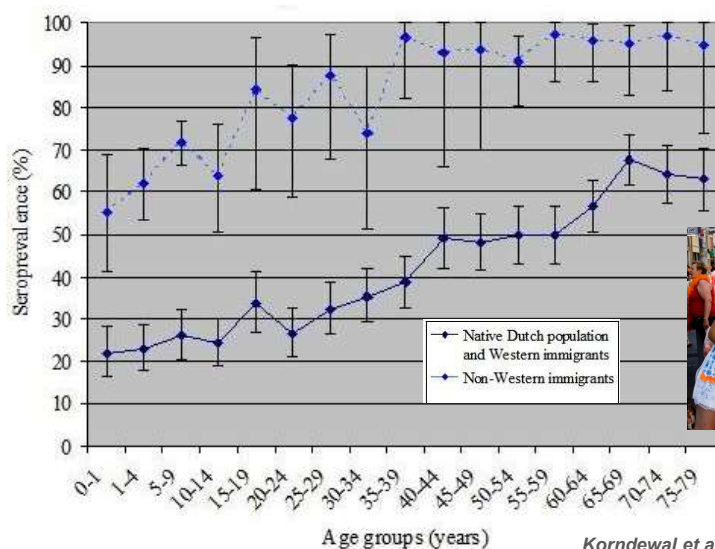


### U imunokompromitovaných především

trombocytopenie, pneumonitis,  
hepatitis, encefalitis, retinitis,  
colitis, esofagitis, pankreatitis,  
vaskulitis, nevolnost, zvracení,  
artralgie, myalgie



## Jaká je séroprevalence CMV ?

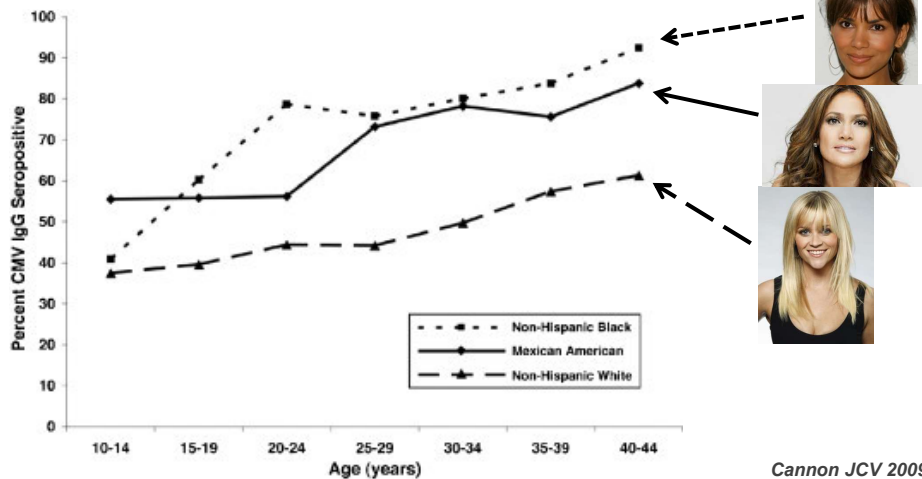


Korndewal et al. European Society for  
Paediatric Infectious Disease 2012

[https://www.abstractserver.com/ESPID2012/pictureselp\\_435\\_00079.jpg](https://www.abstractserver.com/ESPID2012/pictureselp_435_00079.jpg)

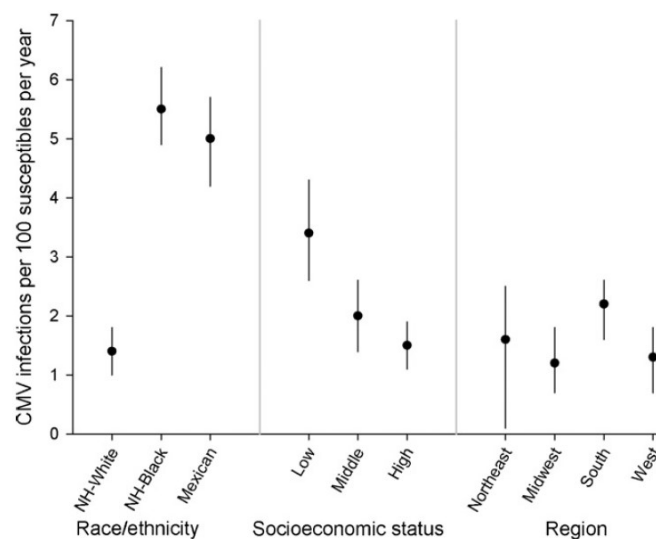
## Jaká je séroprevalence CMV ?

- 60-90% zdravé populace dospělých <http://www.tulane.edu/~dmsander/garryfavweb.html>
- narůstá s věkem, klesá v ekonomicky vyspělých zemích

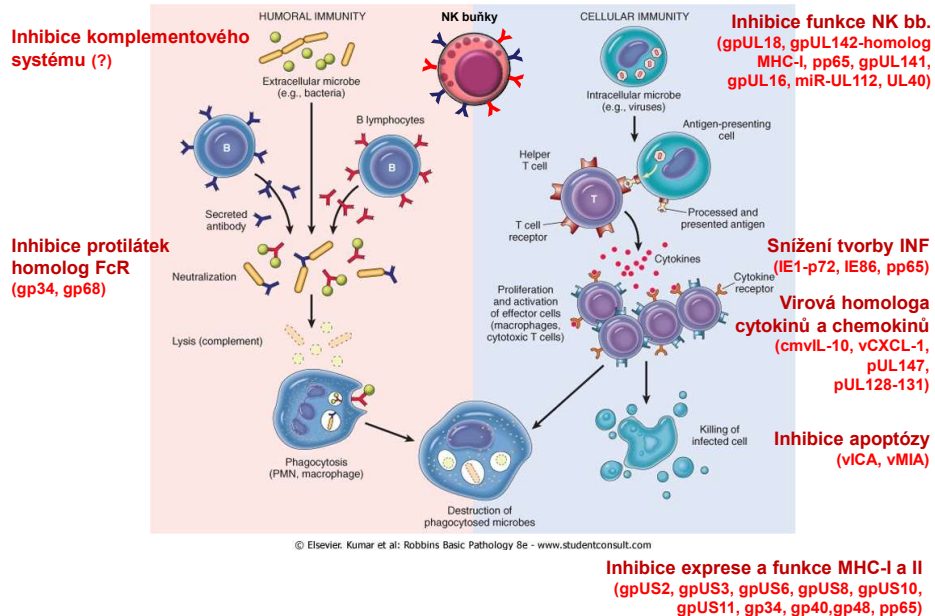


## Jaká je incidence CMV primoinfekce ?

CMV Force of Infection by Race/Ethnicity, SES, and Region

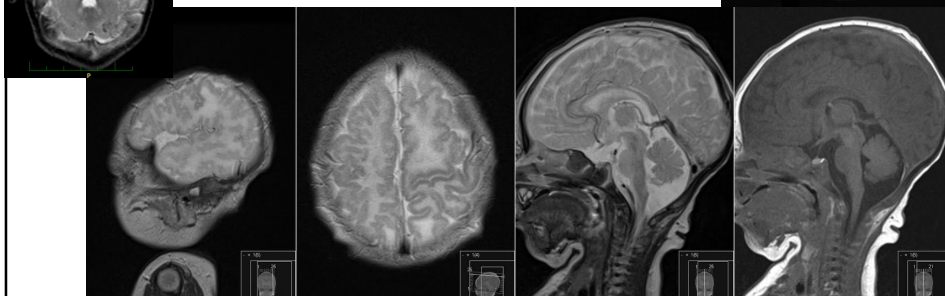
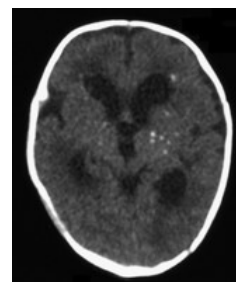
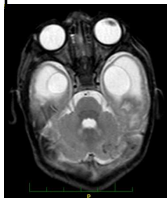


## Jak CMV manipuluje s imunitou?



## Teratogenní účinky CMV

- U primoinfekce v těhotenství
  - Součást TORCH (Toxoplasmosis, O – Other infections, Rubella, CMV, HSV-2)
  - Poškození mozku, hepatopatie, poruchy krevního obrazu
  - Příčina sensorineurální ztráty sluchu u přibližně 30-50% klinicky symptomatických dětí a 8-12% asymptomatických dětí.



## Příznaky a následky cCMV



### Infekce placenty

- prosáknutí stěny – horší difúzní vlastnosti
- menší tvorba kotyledonů – menší plocha placenty

**IUGR**

### Infekce plodu

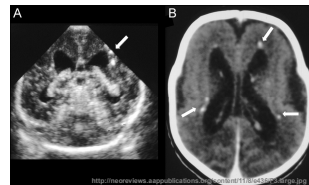
- suprese kostní dřeně **petechie**, „blueberry m.“
- infekce „cílových orgánů CMV“
- vaskulitida – zejména oči a CNS

**Neurologické postižení/záchvaty**

**Mozkové kalcifikace/ kavity**

**Vylučování CMV do moči**

**Předčasný porod**



## Příznaky a následky cCMV

**Asymptomatické**  
90% dětí s cCMV



**Symptomatické**



<http://medicotrivia.files.wordpress.com/2010/07/blueberry-baby1.jpg>

## Kongenitální CMV infekce (cCMV)

Die CDC

Příznaky kongenitální CMV infekce  
při narození

Předčasný porod  
Hepatopatie (Hepatomegalie, žloutenka)  
Plicní příznaky (Pneumonie)  
Splenomegalie  
IUGR  
Neurologické záchvaty

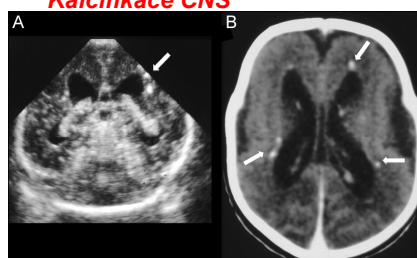


Blueberry muffin baby (tedy „dítě borůvkového muffinu“) je charakterizován purpurou jako příznakem extramedullární hematopoézy.

Trvalé zdravotní problémy spojené  
s kongenitální CMV infekcí

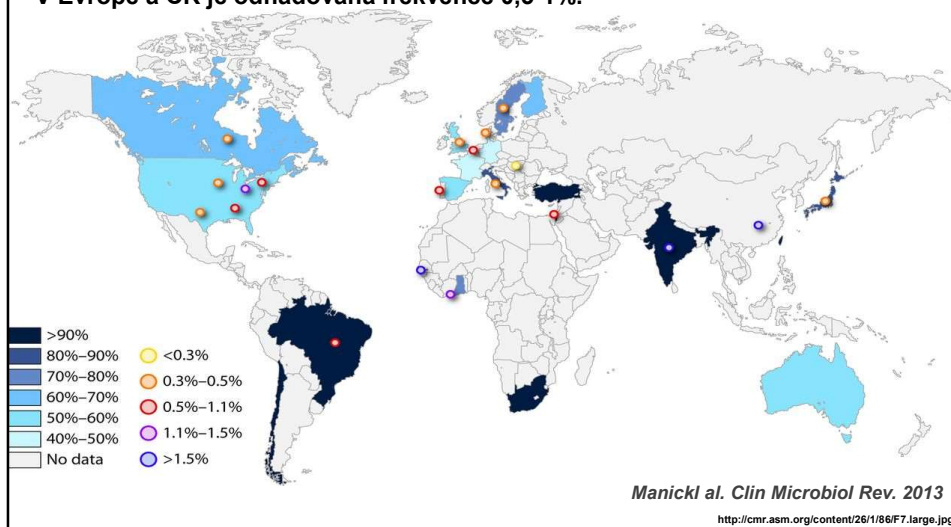
Senzoneurální ztráta sluchu  
Ztráta zraku  
Mentální postižení  
Mikrocefalie  
Motorické problémy (koordinace)  
Neurologické záchvaty (epilepsie)  
Vzácně smrt

### Kalcifikace CNS

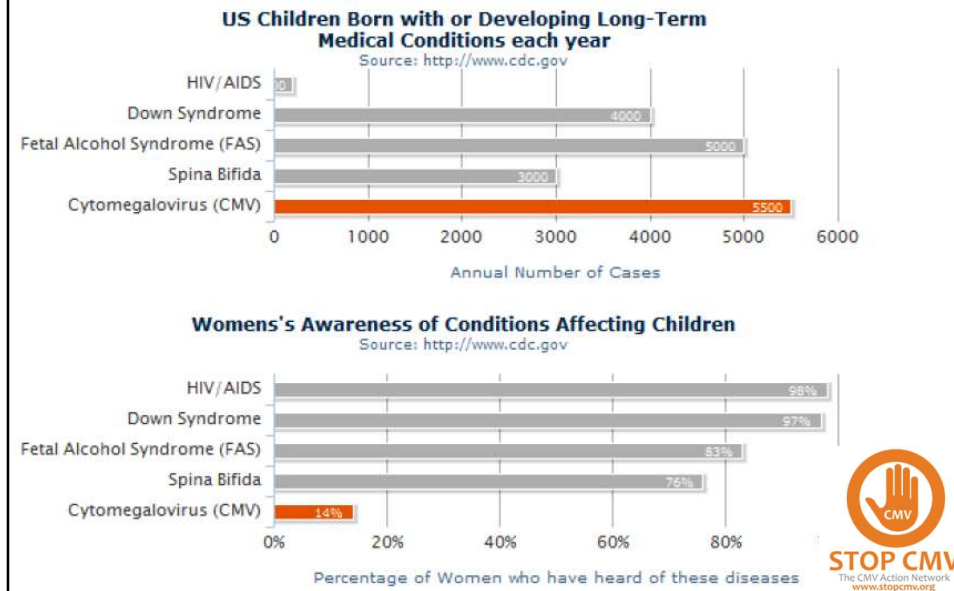


## Jaký je výskyt cCMV?

Každý den se rodí 370 000 dětí na světě tj. 134 milionů/rok.  
Průměrná frekvence výskytu je přibližně 1,5% tj. 2,01 milionů dětí s cCMV/rok.  
V Evropě a ČR je odhadovaná frekvence 0,5-1%.



## Jaké je povědomí o cCMV a výskyt následků?



## Co s cCMV?

Review

### Consensus recommendation for prenatal, neonatal and postnatal management of congenital cytomegalovirus infection from the European congenital infection initiative (ECCI)



Marianne Lereux-Ville,<sup>a,b,c,d,e,f,g,h,i,j,k,l,m,n,o,p,q,r,s,t,u,v,w,x,y,z</sup> Christos Chatzakis,<sup>a,d,g</sup> Daniele Lilleri,<sup>c,g</sup> Daniel Blazquez-Garnero,<sup>c,g</sup> Ana Alarcón,<sup>h</sup> Nicolas Bourgon,<sup>i</sup> Ina Foulon,<sup>h</sup> Jacques Fourgeaud,<sup>a,b</sup> Anna Gonca,<sup>j</sup> Christine E. Jones,<sup>k</sup> Paul Klapper,<sup>l</sup> André Krom,<sup>m</sup> Tiziana Lazzarotto,<sup>n,o</sup> Hermione Lyall,<sup>p</sup> Paula Paixão,<sup>q</sup> Vassiliki Papaevangelou,<sup>r</sup> Elisabeth Puchhammer,<sup>s</sup> George Sourvinos,<sup>t</sup> Pamela Valley,<sup>u</sup> Yves Ville,<sup>v,w,x</sup> and Ann Vossen<sup>y,z</sup>



<sup>a</sup>Université Paris Cité, URP 7328 FETUS, F-75015, Paris, France

<sup>b</sup>Virology Laboratory, Reference Laboratory for Cytomegalovirus Infections, Hôpital Necker Enfants Malades, GHU Paris Centre, AP-HP, Paris, France

<sup>c</sup>Obstetrics, Fetal Medicine Surgery and Imaging Unit, Hôpital Necker Enfants Malades, GHU Paris Centre, AP-HP, Paris, France

<sup>d</sup>Second Department of Obstetrics and Gynecology of Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece

<sup>e</sup>Microbiology and Virology Unit, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italy

<sup>f</sup>Pediatric Infectious Diseases Unit, Hospital Universitario 12 de Octubre, Instituto de Investigación Hospital 12 de Octubre (imas12), Universidad Complutense, Madrid, Spain

<sup>g</sup>Department of Neonatology, Hospital Hospital Sant Joan de Déu, BCNatal (Barcelona Center for Maternal, Fetal and Neonatal Medicine), Institut de Recerca Sant Joan de Déu, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain

<sup>h</sup>Department of Otorhinolaryngology and Head & Neck Surgery, Vrije Universiteit Brussels, University Hospital UZ Brussel, Brussels Health Campus, De Plooster, Rehabilitation Centre, Brussels, Belgium

<sup>i</sup>BCNatal: Fetal Medicine Research Center (Hospital Clinic and Hospital Sant Joan de Déu), Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain

<sup>j</sup>Faculty of Medicine and Institute for Life Sciences, University of Southampton and NIHR Southampton Clinical Research Facility and NIHR Southampton Biomedical Research Centre, University Hospital Southampton NHS Foundation Trust, United Kingdom

<sup>k</sup>Microbiology and Virology Unit (EiGen), School of Biological Sciences, University of Manchester, Manchester, M139PT, UK

<sup>l</sup>Department of Medical Ethics and Health Law, Leiden University Medical Center, Leiden, the Netherlands

<sup>m</sup>Microbiology Unit, IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna, Bologna, Italy

<sup>n</sup>Department of Medical and Surgical Sciences (DIMES), University of Bologna, Bologna, Italy

<sup>o</sup>Imperial College Healthcare NHS Trust, London, England

<sup>p</sup>CHIR, NOVA Medical School/Faculdade de Ciências Médicas, Universidade NOVA de Lisboa, 1169-056, Lisbon, Portugal

<sup>q</sup>Third Department of Pediatrics, School of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, Greece

<sup>r</sup>Center for Virology, Medical University Vienna, Austria

<sup>s</sup>Laboratory of Clinical Virology, Medical School, University of Crete, Iraklion, Crete, 71003, Greece

<sup>t</sup>Department of Medical Microbiology, Leiden University Medical Center, Leiden, the Netherlands

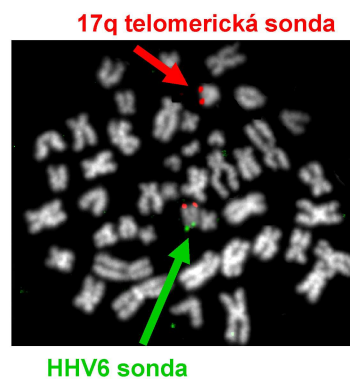
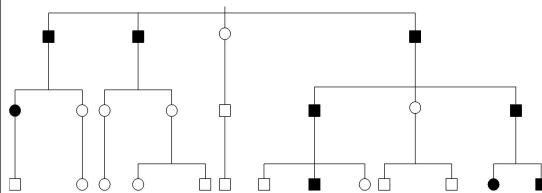
## Patologické působení HHV-6 A a B

- patologicky působí jen HHV-6B
- Imunokompetentní
  - šestá exantémová nemoc
  - febrilní křeče
- Imunokompromitování
  - zhoršené přilnavání krevních elementů, myelosuprese, encefalitidy, hepatitidy, perikarditidy
- HHV-6A „orphan virus“
- CD4+ lymfotropní



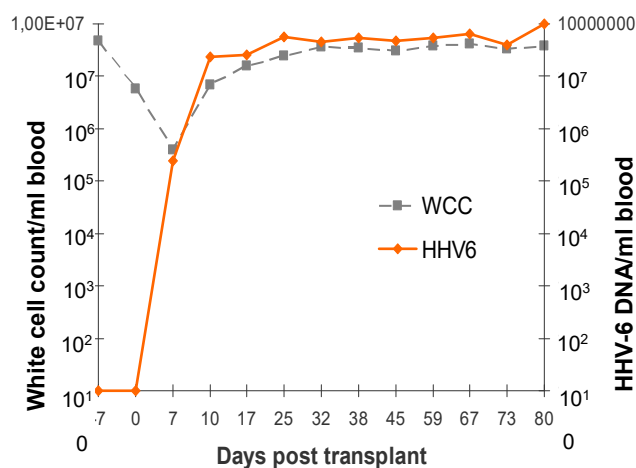
## Chromozomální integrace HHV-6

- Virová DNA se integruje do lidských chromozómů
- Virová DNA : lidská DNA = přibližně 1:1
- Popsaná frekvence se pohybuje mezi 0,2-2,9% populace
- Zatím nebyla popsána ani in vivo, ani in vitro reaktivace chromozomálně integrovaného viru do stádia aktivní infekce.
- Tato situace byla detekována ve spermiích a byl také prokázán vertikální přenos z rodičů na děti.
- Virová DNA je ve všech tkáních.
- Poměr varianty A : B = 2 : 1



## HHV-6 DNA v krvi po HSCT

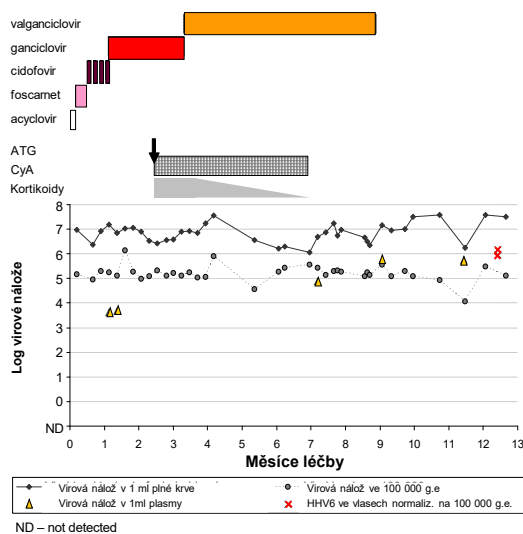
Dárce s chromozomální integrací HHV-6



Clark et al., JID 2006

Se svolením D. Clarka

## Chromozomální integrace HHV-6



Pacientka s SAA

50 let

Po nasazení IS terapie –  
parciální odpověď

Dlouhodobě závislá na  
podávání trombocytů

Terapie G-CSF

Zemřela na perakutně  
probíhající sepsi *S. aureus*.

**Detekce vysoké  
kvantity HHV-6 NEMUSÍ  
znamenat aktivní  
infekci.**

**Detekce ve vlasech, či  
nehtech Ci-HHV-6  
bezpečně odliší.**

## y herpesviruses

- Vázané na lymfocyty, epiteliální buňky, endoteliální bb., ...

| Virus                                | Taxonomie | Primární infekce                                                       | Rekurentní infekce / Reaktivace                                                                                                                                                   | Místo latence                    |
|--------------------------------------|-----------|------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|
| EBV                                  | HHV-4     | Asymptomatická, Infekční mononukleóza<br>Chronická aktivní EBV infekce | Zejména pacienti s IS a AIDS; vlasatá leukoplakie, encefalitis, pneumonia, hemolytická anémie<br><br>EBV asociované malignity (Nasopha. ca., Burkittův ly., HD, post-tx. EBV-LPD) | B lymfocyty, epiteliální bb.,... |
| KSHV<br>(Kaposi sarcoma herpesvirus) | HHV-8     | Běžně asymptomatická                                                   | Kaposiho sarkom, Primární efuzní lymfom<br>Castelmanova nemoc                                                                                                                     | Endoteliální bb.                 |

**Detekce:** serologie a PCR

**Terapie (EBV):** symptomatická, anti-CD20, IFN- $\alpha$ , specifické EBV lymfocytes

## Objev EBV



**chirurg**

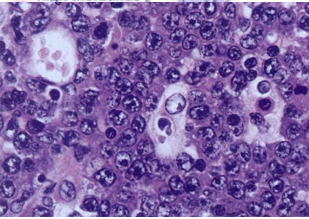
**Denis Parsons Burkitt**

**1958**

„A sarcoma involving the jaws of African children.” *British Journal of Surgery*



**1. popsaný lidský onkogenní virus**



**Burkitt's lymphoma high incidence**

**1961**

„The Commonest Children's Cancer in Tropical Africa — A Hitherto Unrecognised Syndrome.”



**Michael Anthony Epstein**  
(\*1921)  
Patolog, specialista na elektronovou mikroskopii

**1963** - 1. kultivace viru

**1964** — Publikováno v Lancet:  
„Cultivation in vitro of human lymphoblasts from Burkitt's malignant Lymphoma”

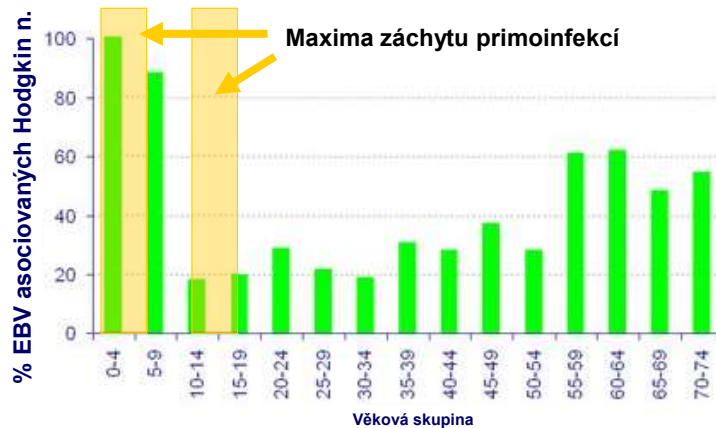
**Yvonne M. Barr**  
(\*1932)

**Bert Geoffrey Achong**  
(1928-1996)

## Přenos a epidemiologie

- Přenos pomocí tělesných slin orální cestou
- 80 - 90% dospělé populace je seropozitivní

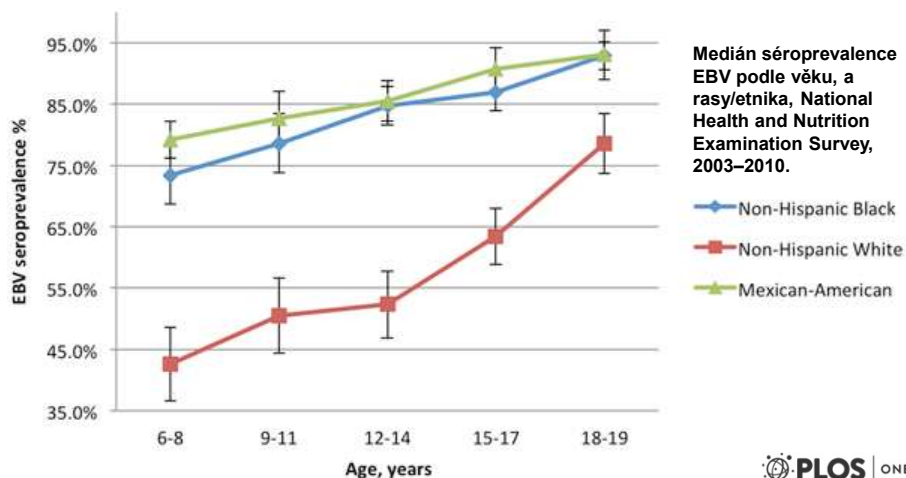
(v rozvojových zemích pak 90% dětí starších 2 let)



## Přenos a epidemiologie

- Přenos pomocí tělesných slin orální cestou
- (permissivní buňky: B lymfocyty a epiteliální buňky)
- 80 - 90% dospělé populace je seropozitivní

(v rozvojových zemích pak 90% dětí starších 2 let)



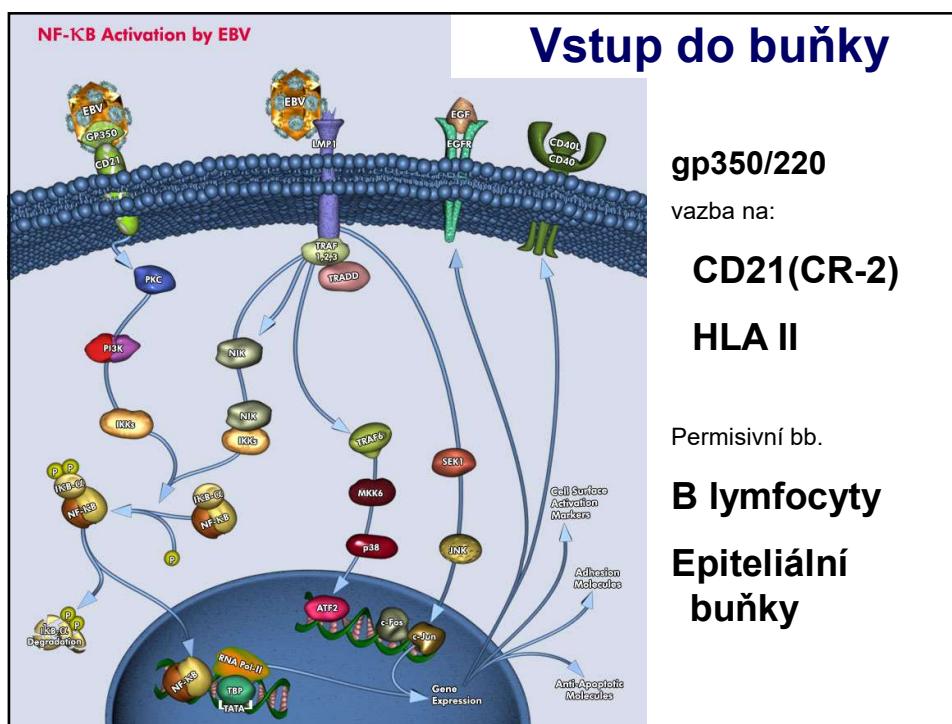
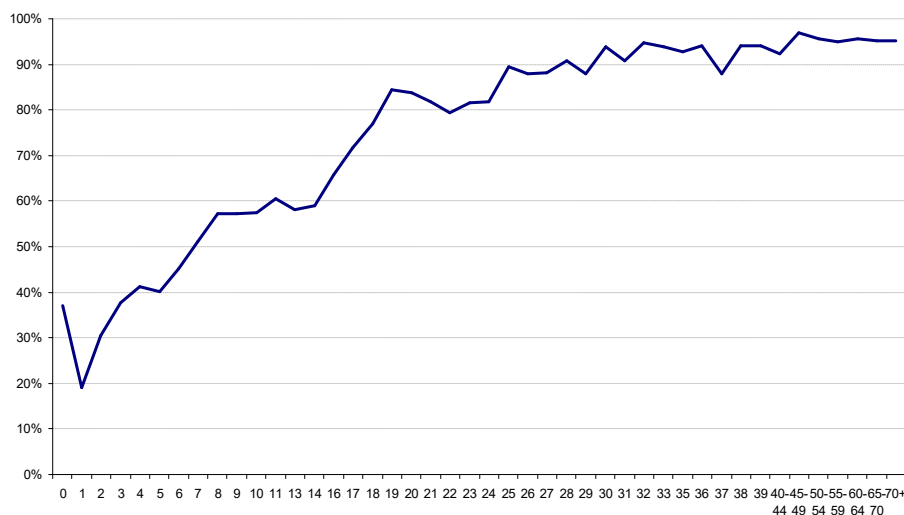
Medián séroprevalence EBV podle věku, a rasy/etnika, National Health and Nutrition Examination Survey, 2003–2010.

PLOS ONE

Dowd JB, Palermo T, Brite J, McDade TW, et al. (2013) Seroprevalence of Epstein-Barr Virus Infection in U.S. Children Ages 6-19, 2003-2010. PLoS ONE 8(5): e64921. doi:10.1371/journal.pone.0064921 <http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0064921>

## Přenos a epidemiologie ve FNM

pozitivita pacientů dle věku při náběru

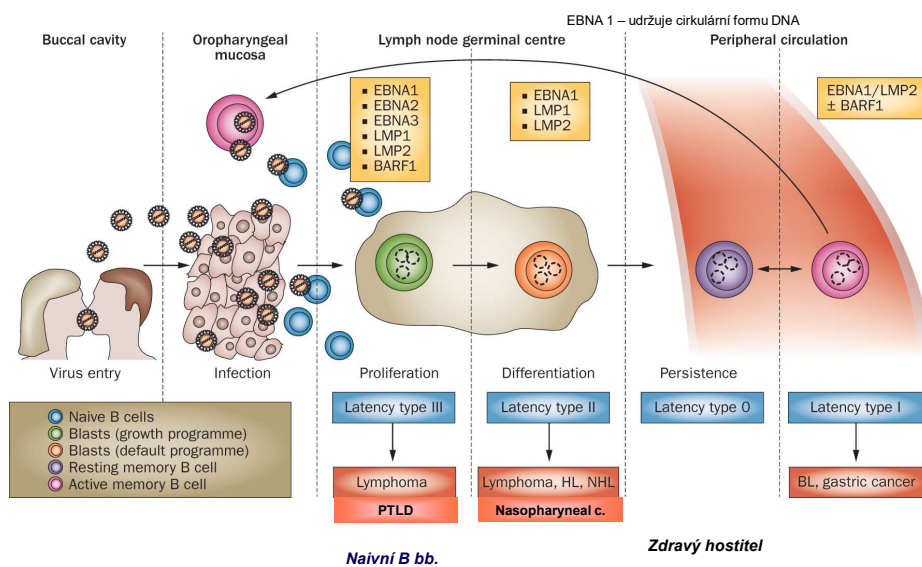


## Jak manipuluje EBV s imunitou/proliferací?

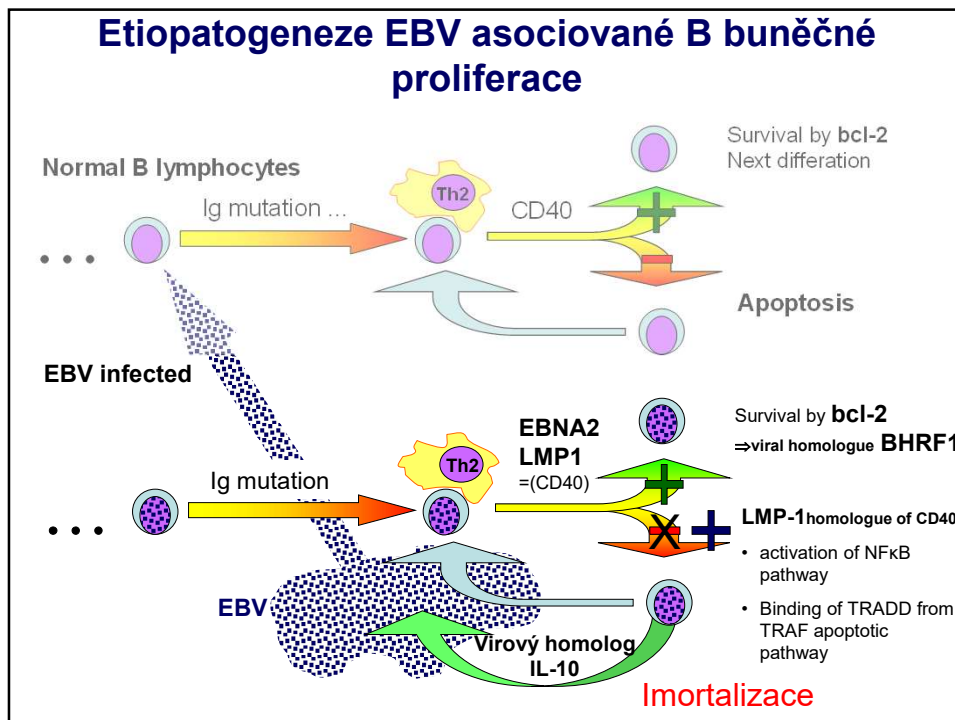
|                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>EBNA-1</b>  | Sequence-specific DNA-binding protein to EBV element; sequence-nonspecific chromosome association protein; transactivator of viral latent genes and host genes; responsible for episome replication, segregation and persistence of viral genome; involved in p53 degradation and oncogenesis                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <b>EBNA-LP</b> | Transcriptional coactivator of EBNA-2-dependent viral and cellular gene transcription; primarily indirectly associates with host DNA sites located at or near the transcriptional start; associates with cellular transcriptional (co)factors and EBNA-2; dismisses repressor complex from promoter or enhancer sites; is essential for EBV-mediated B-cell transformation                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>EBNA-2</b>  | Together with EBNA-LP cooperatively activates viral and cellular gene transcription for transformation; primarily indirectly associates with host DNA sites located at the enhancer or intergenic region; associates with cellular transcriptional (co)factors and EBNA-LP; is critical for EBV-mediated B-cell transformation                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| <b>EBNA-3A</b> | A coactivator of EBNA-2, EBNA-3A and EBNA-3C associations with RBPJ inhibit RBPJ recruitments to DNA; downregulate cMyc transcription and block EBNA-2 activation effects; and induce CDKN2 and chemokines. Induces G1 arrests, which is essential for EBV-mediated B-cell transformation                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| <b>EBNA-3B</b> | A coactivator of EBNA-2; dispensable for B-cell transformation; viral tumor suppressor; and upregulates CXCL10. EBNA-3B-knockout induces DLBCL-like tumors                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>EBNA-3C</b> | Coactivates with EBNA-2 host CXCR4 and CXCL12 genes; induces CDKN2, chemokines and aurora kinase B; mediates RB degradation; attenuates H2AX expression and overcomes EBV-infection-mediated DNA damage response; promotes cell proliferation; induces G1 arrests; essential for EBV-mediated B-cell transformation                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>LMP-1</b>   | Mimics the constitutively active form of CD40, a major EBV-encoded oncogene; activates NF- $\kappa$ B, JNK and p38 pathways; is critical for EBV-mediated B-cell transformation, a major EBV-encoded oncogene; activates NF- $\kappa$ B, JNK and p38 pathways; and induces EMT of NPC and acquisition of CSC-like properties                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>LMP-2A</b>  | Mimics constitutively active, antigen-independent BCR signaling through constitutive activation of the ERK/MAPK pathway <sup>224</sup> ; blocks antigen-dependent BCR signaling; induces B-cell lymphoma in transgenic condition; is important but not essential for <i>in vitro</i> primary B-lymphocyte growth transformation; rescues the LMP-1-generated impairment in germinal center in the response to antigen in animals; confers resting B cells sensitive to NF- $\kappa$ B inhibition and apoptosis; suppresses differentiation and promotes epithelial cell spreading and motility in epithelial cells; and enriches cancer stem cell-like population |
| <b>EBER</b>    | Most abundant EBV-encoded noncoding RNAs; augments colony formation and induces growth; confers cells resistance to PKR-dependent apoptosis; induces cytokines and modulates innate immune response; binds to La, PKR, L22, PRR and RIG-I; and EBER-mediated RIG-I activation likely contributes to EBV oncogenesis. EBER blockades of PKR-mediated phosphorylation of eIF2 $\alpha$ results in blockage of eIF2 $\alpha$ -mediated inhibition of protein synthesis and resistance to IFN $\alpha$ -induced apoptosis                                                                                                                                             |
| <b>miRNAs</b>  | Transcribed from BART and BHFRF1; validated targets include Bim, BRUCE, CXCL11, DICER1, PUMA; has a role in sustaining latently infected cells. BHFRF1 miRNA and BART miRNAs interfere with apoptosis. The miR-BART15-3p promoted apoptosis 331                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |

Experimental & Molecular Medicine (2015) 47,

## Jak manipuluje EBV s imunitou/proliferací? (Antigeny a latence)



Bollard, C. M. et al. (2012) T-cell therapy in the treatment of post-transplant lymphoproliferative disease *Nature Reviews Clinical Oncology* doi:10.1038/nrclinonc.2012.111



## Infekční mononukleóza

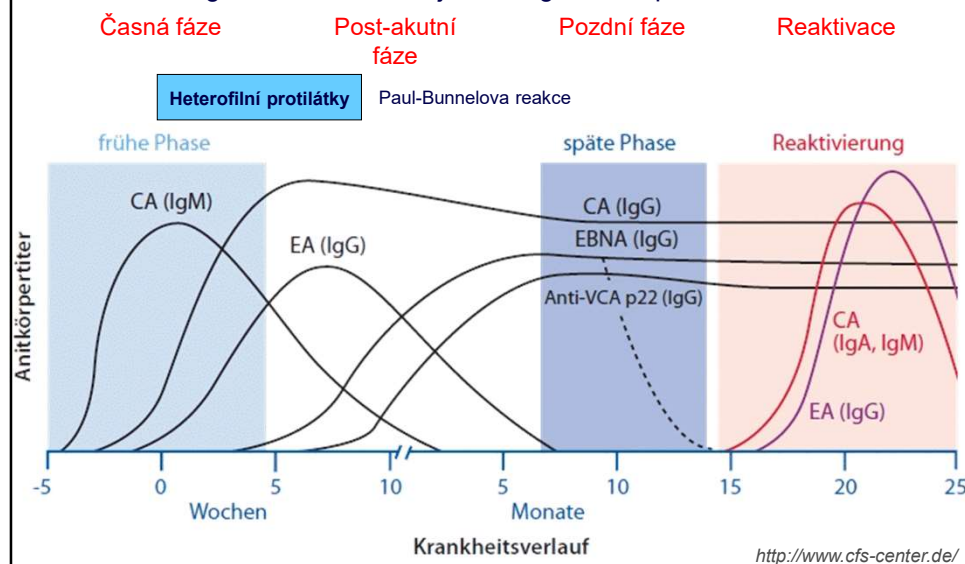
- „Kissing disease“
- proliferace postihuje slezinu a játra a uzliny
- celková únava, trvající až několik týdnů, zvýšená teplota až horečky (běžně kolem 39 °C), zánět nosohltanu a zvětšení uzlin (podčelistních a krčních); hepatosplenomegalie, hepatopatie, otoky víček a bličeje, nechutenství
- inkubační doba je 4-6 týdnů
- zpočátku vypadá „angína“
- přenos slinami
- léčba trvá přibližně 6 měsíců:  
klid a dieta (2-3 měsíce);  
následně je nutno se fyzicky šetřit



<http://home.teleport.com/~bohh/InfectiousMononucleosis.htm>

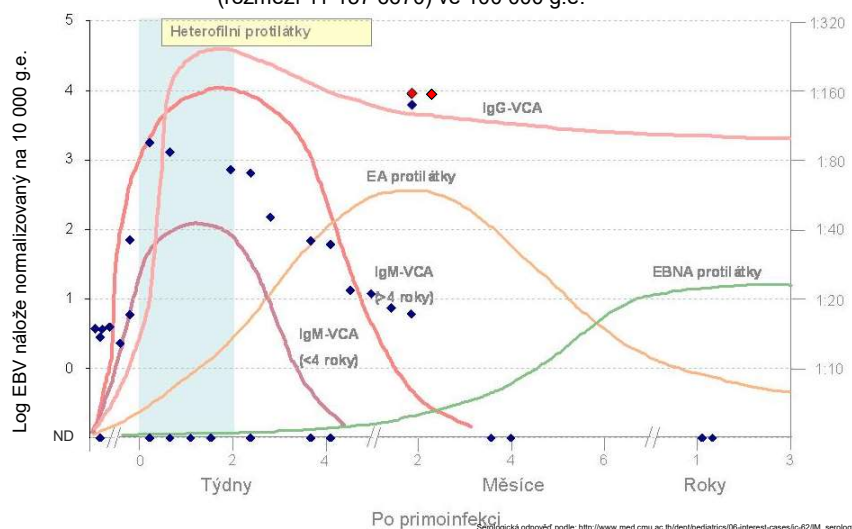
## Diagnostika

Základní diagnóza EBV infekce je sérologická - nepřímá.



## Pacienti s diagnózou B27 - IM

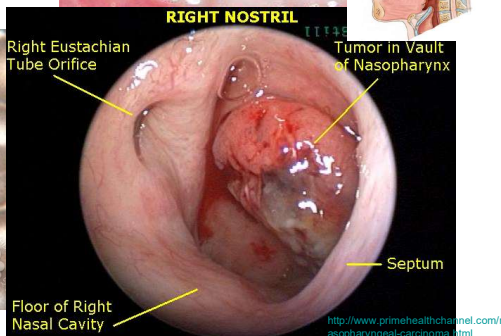
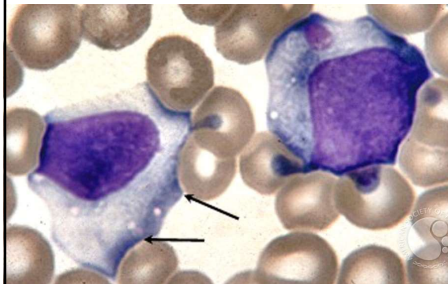
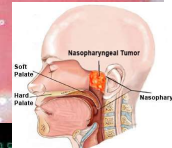
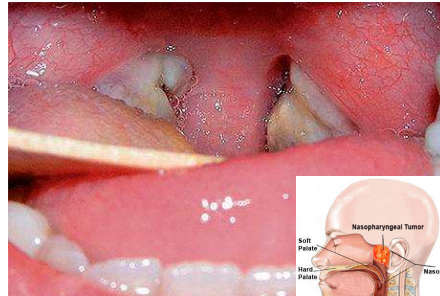
- Pozitivních – 26 pacientů (62%)
- 50 vzorků pozitivních (65%); medián positivity 110 (rozmezí 11-157 6670) ve 100 000 g.e.



## Patologické působení EBV

### • Imunokompetentní hostitel

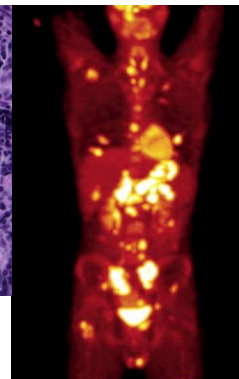
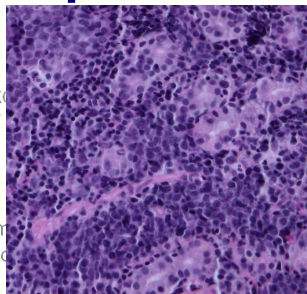
- Infekční mononukleóza
- Chronická aktivní EBV infekce
- X-vázaná lymfoproliferativní nemoc
- Maligní onemocnění
  - Hodgkinova nemoc
  - Burkittův lymfom
  - non-Hodgkinský T/NK lymfom
  - Nasopharyngeální karcinom
  - Karcinom žaludku
  - Angioblastický T lymfom



## Patologické působení EBV

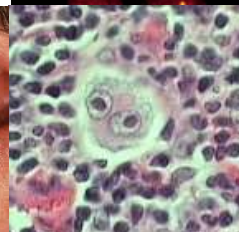
### • Imunokompetentní hostitel

- Infekční mononukleóza
- Chronická aktivní EBV infekce
- X-vázaná lymfoproliferativní nemoc
- Maligní onemocnění
  - Hodgkinova nemoc
  - Burkittův lymfom
  - non-Hodgkinský T/NK lymfom
  - Nasopharyngeální karcinom
  - Karcinom žaludku
  - Angioblastický T lymfom



### • Imunokompromitovaný hostitel

- Vlasatá leukoplakie
- Případně výše uvedené malignity
- Post-transplantační lymfoproliferativní nemoc (EBV-LPD)
- Encefalitida/myelitis, pneumonie, hepatitis

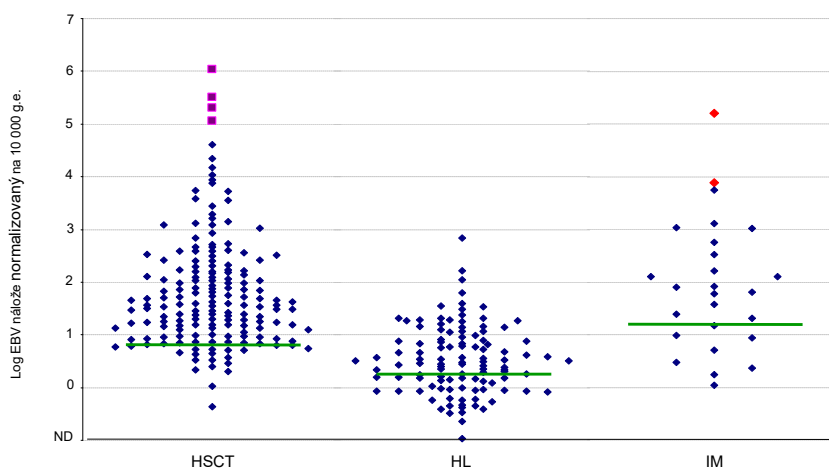


<http://www.kcon.edu/faculty/chamberlain/Website/lectures/lecture/sids.htm>

[www.med.virginia.edu/courses/path/imms/wcd/hodgkin](http://www.med.virginia.edu/courses/path/imms/wcd/hodgkin)

## Přímá detekce - PCR

- Detekce v periferní krvi (plasma, plná krev), případně v tkáni
- U HL i IM se EBV vyskytuje v periferní krvi především v nízkých kvantitách.
- Mediány detekovaných kvantit v plné krvi stoupaly od HL → HSCT → IM



## Chronická aktivní EBV infekce

Atypicky infikované i T lymfocyty a NK buňky

Příznaky často spojené s prolongovanou přítomností interferonů v organismu.

Diagnostic criteria of a case definition for SCAEBV [15]

| Category    | Criteria                                                                                                                                                                                                                                                              |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Clinical    | Intermittent fever, lymphadenopathy, and hepatosplenomegaly.                                                                                                                                                                                                          |
| Hematologic | Anemia, thrombocytopenia, lymphocytopenia or lymphocytosis, neutropenia, and polyclonal gammopathy.                                                                                                                                                                   |
| Virological | Elevated antibody titers and positivity for antibodies to EBV-related antigens (VCA IgG, $\geq 5120$ ; VCA IgA, positive; EA [D] IgG, $\geq 640$ ; EA [D] IgA, positive; and EA [D] and EA [R] IgG, $\geq 640$ ) and/or detection of EBV genomes in affected tissues. |
| Other       | Chronic illness that cannot be explained by other known disease processes.                                                                                                                                                                                            |

*F. Sánchez et al. / Annals of Diagnostic Pathology 12 (2008) 368–371*

# Chronická aktivní EBV infekce

|                                    | T-cell type<br>(n = 16) | NK-cell type<br>(n = 12) | P     |
|------------------------------------|-------------------------|--------------------------|-------|
| Symptoms                           |                         |                          |       |
| Fever, > 1 d/wk (%)                | 67                      | 25                       | .04   |
| HMB (%)                            | 13                      | 75                       | .002  |
| Splenomegaly (%)                   | 73                      | 100                      | .08   |
| Large granular lymphocytosis (%)   | 13                      | 83                       | .0004 |
| Calcification in basal ganglia (%) | 7                       | 33                       | .10   |
| Laboratory data                    |                         |                          |       |
| IgG (mg/dL, mean ± SD)             | 2213 ± 1104             | 1682 ± 464               | .11   |
| IgE (IU/mL, mean ± SD)             | 282 ± 298               | <b>2774 ± 3774</b>       | .04   |
| VCA IgG (geometric mean titer)     | <b>2405</b>             | 446                      | .01   |
| EA IgG (geometric mean titer)      | 831                     | 119                      | .02   |
| EBNA (geometric mean titer)        | 30                      | 45                       | .24   |
| Viral load                         |                         |                          |       |
| PBMC (copies/μg DNA, mean ± SD)    | 10 <sup>4.1±0.5</sup>   | 10 <sup>4.4±0.4</sup>    | .09   |
| Plasma (copies/mL, mean ± SD)      | 10 <sup>2.9±1.1</sup>   | 10 <sup>2.4±2.1</sup>    | .49   |

HMB indicates hypersensitivity to mosquito bites; VCA, viral capsid antigens; EA, early antigens; EBNA, EB nuclear antigens; PBMC, peripheral blood mononuclear cells. Fisher exact test was used to compare symptoms between groups. Student *t* test was used to compare the mean copy numbers of EBV-DNA or laboratory data. Bold letters indicate statistically significant results.

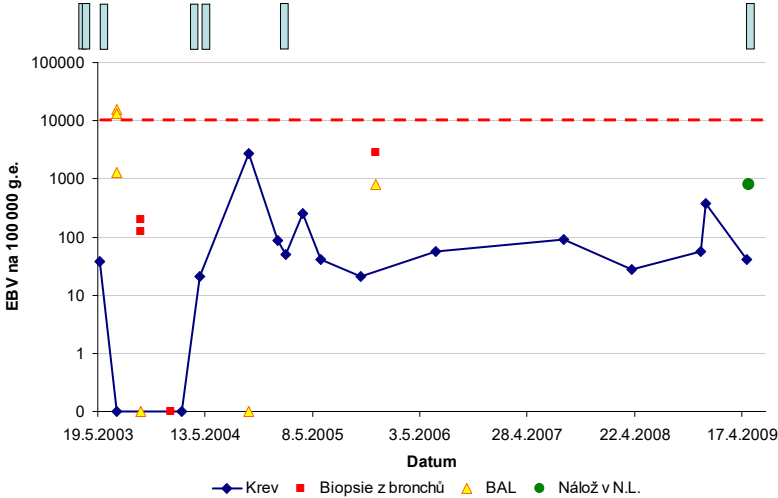
Table 2. Clinical features of 30 patients with chronic active Epstein-Barr virus infection

| Symptoms and signs             | (%) | Life-threatening complications     | (%) |
|--------------------------------|-----|------------------------------------|-----|
| Fever                          | 100 | Hemophagocytic syndrome            | 21  |
| Liver dysfunction              | 90  | Coronary artery aneurysm           | 21  |
| Splenomegaly                   | 90  | Hepatic failure                    | 18  |
| Lymphadenopathy                | 50  | Malignant lymphoma                 | 16  |
| Thrombocytopenia               | 50  | Interstitial pneumonia             | 12  |
| Anemia                         | 48  | Central nervous system involvement | 7   |
| HMB                            | 43  | Sepsis                             | 7   |
| Skin rash                      | 28  | Pulmonary hypertension             | 4   |
| Calcification in basal ganglia | 18  | Intestinal perforation             | 4   |
| Oral ulcer                     | 18  | Myocarditis                        | 4   |
| Hydroa vacciniforme            | 14  |                                    |     |

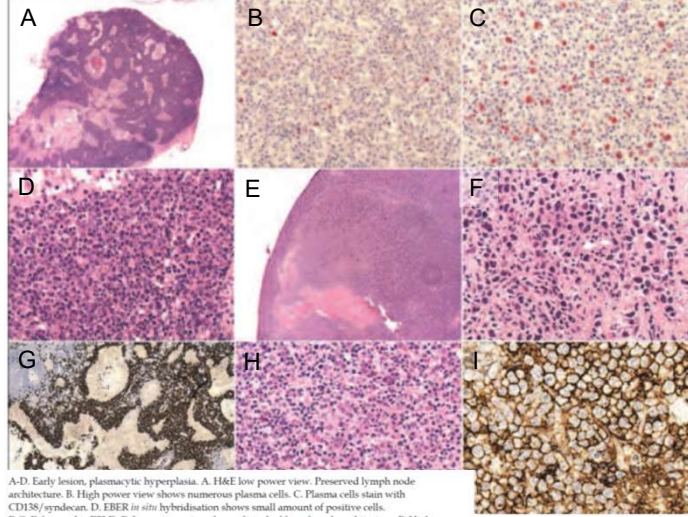
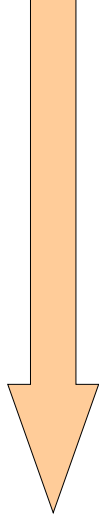
HMB indicates hypersensitivity to mosquito bites.

Kimura et al. Blood 15 July 2001, Vol. 98, No. 2

| Datum      | 6.2.2003 | 17.2.2003 | 27.5.2003            | 23.2.2004 | 26.3.2004 | 4.4.2005  | 4.5.2009  |
|------------|----------|-----------|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| VCA IgG    | +        | +++       |                      | +         | ++        | 147 U/ml  | 119 U/ml  |
| VCA IgM    | +        | +         | -                    | +         | +         | 72,5 U/ml | 45,5 U/ml |
| EA-D       | ++       | ++        | +++ (vysoká exprese) | ++        | ++        | 90 U/ml   | <150 U/ml |
| EBNA 1 IgG | -        | -         | -                    | +         | +         | 52,5 U/ml | 14,3 U/ml |

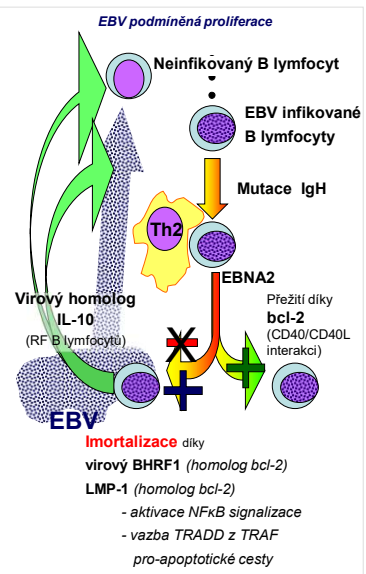


# EBV asociovaná potransplantační proliferace (EBV-LPD)



A-D. Early lesion, plasmacytic hyperplasia. A. H&E low power view. Preserved lymph node architecture. B. High power view shows numerous plasma cells. C. Plasma cells stain with CD138/syndecan. D. EBER *in situ* hybridisation shows small amount of positive cells. E-G. Polymorphic PTLD. E. Low power view shows disturbed lymph node architecture. F. Higher power shows a polymorphic infiltrate composed of plasma cells, lymphocytes (small, medium-sized, large and Reed-Sternberg-like). G. EBER IISH shows numerous positive cells. H-I. Monomorphic PTLD. H. Diffuse proliferation of large atypical cells. I. CD20 staining shows their B-cell origin (Courtesy to Prof Thomas Tousseyn).

## Etiopatogeneze a klasifikace EBV-LPD



### World Health Organization Classification of Post-transplant Lymphoproliferative Disorder (PTLD)

| Category                                                                            | Subtype                                                                                                                                                                                                                                                            |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Early lesions                                                                       | Plasmacytic hyperplasia<br>Infectious mononucleosis-like lesion                                                                                                                                                                                                    |
| Polymorphic PTLD<br>Monomorphic PTLD (classify according to lymphoma they resemble) | B-cell neoplasms<br>- Diffuse large B-cell lymphoma<br>- Burkitt lymphoma<br>- Plasma cell myeloma<br>- Plasmacytoma-like lesion<br>- Other <sup>a</sup><br><br>T-cell neoplasms<br>- Peripheral T-cell lymphoma NOS<br>- Hepatosplenic T-cell lymphoma<br>- Other |
| Classical Hodgkin lymphoma-tvne PTLD                                                | cT1-2 gr 3<br>cT3-4                                                                                                                                                                                                                                                |

<http://www.cancernetwork.com/oncology-journal/lymphoma-risk-and-response-after-solid-organ-transplant>

**Příznaky různě závažné poly-, oligo- až monoklonální proliferace.**

#### Mononukleosa-like syndrom

Horečka, bolest v krku, myalgie, tonzilární hypertrofie a krční lymfadenopatie, hepatopatie

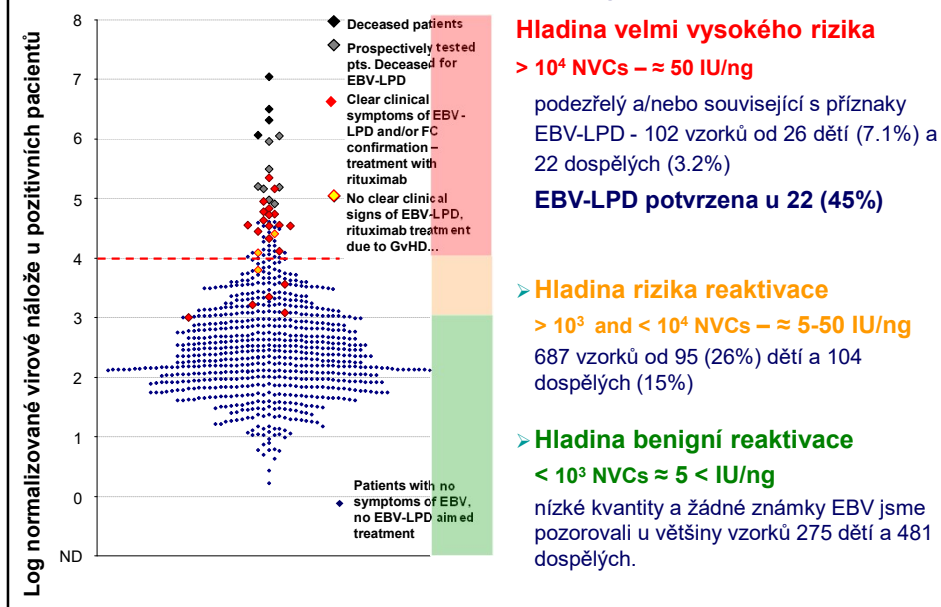
#### Tumórní forma

Sekundární symptomy přítomnosti zvětšení lymfatické tkáně : bolest, obstrukce, perforace, GI krvácení, respiratory distress, etc.

#### Diseminovaná choroba

Proliferace B buněk v krvi a kostní dřeni, vysoké horečky a/nebo multiorgánové selhávání

## Prospektivně testování – maximální kvantity EBV



## Diagnóza EBV-LPD

Diagnóza neoplastických forem EBV-LPD by měla splňovat alespoň 2 z následujících kritérií:

- Změna či zničení buněčné struktury tkáně lymfoproliferativním procesem
- Přítomnost monoklonální, či oligoklonální proliferace prokázané buněčnými a/nebo virovými markery
- Průkaz EBV infekce v mnoha buňkách (např. DNA, RNA, protein...

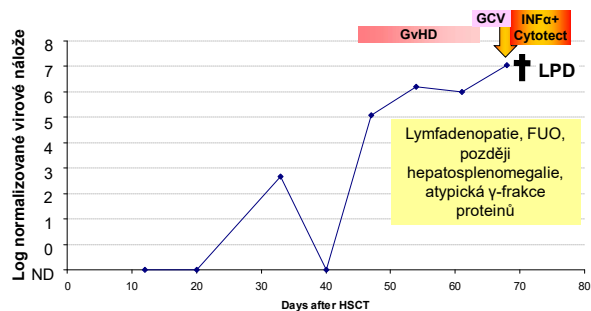
**Pouhá detekce EBV DNA v krvi není dostačující.**

Dle definice EBMT IDWP, 2007

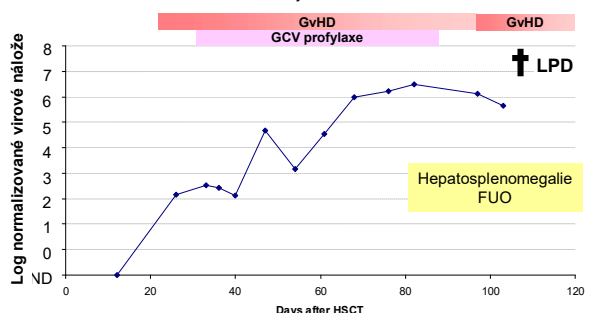
- Klinické příznaky
- Zobrazovací metody
- Imunologie (Flow cytometry, hladiny Ig, klonalita)
- Histologie N.L. (s detekcí přítomnosti EBV)
- Přímá detekce viru
  - EBV nálož (založená především na detekci NK)
    - Typ vzorku: plasma, plná krev, MNC
    - Různá metodika PCR – nejvíce kvantitativní real-time PCR



## Retrospektivně testovaní pacienti

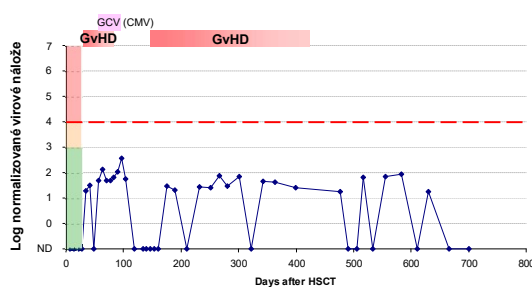


**Dívka, 5.5 roku., HSCT pro ALL CR2.**  
**Dárce:** MMUD (8/10)  
**Štěp:** BM  
**Příprava:** TBI (12 Gy)  
 cyklofosfamid (120 mg/kg)  
 ATG (16 mg/kg)  
**GvHD profylaxe:** CyA+MTX  
**GvHD:** grade III (D+49; GIT)  
**Zemřela D+74 na MOF.**

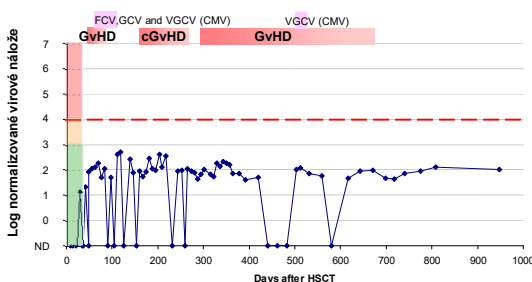


**Dívka, 4 r., HSCT pro AML PR2**  
**Dárce:** MMUD (9/10)  
**Štěp:** BM  
**Příprava:** busulfan (16 mg/kg)  
 cyklofosfamid (120 mg/kg)  
 melfalan (140 mg/m<sup>2</sup>)  
 ATG (40 mg/kg)  
**GvHD:** grade III (D+25; GIT)  
**Zemřela D+117 na krvácení a respirační selhání.**

## Benigní hladina reaktivace

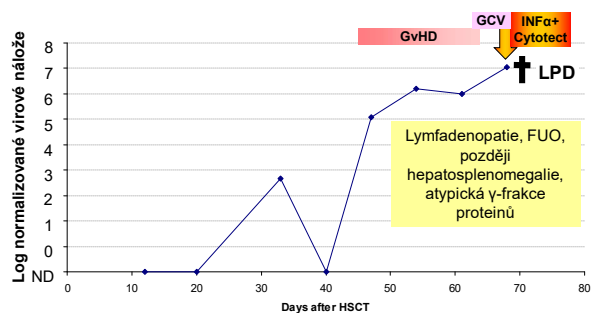


**Chlapec, 13 let, HSCT pro MDS-RAEB**  
**Dárce:** MMUD (8/10)  
**Štěp:** PBSC  
**Příprava:** busulfan (16 mg/kg)  
 cyclofosfamid (120 mg/kg)  
 melfalan (140 mg/m<sup>2</sup>)  
 ATG (40 mg/kg)  
**GvHD profylaxe:** CyA+MTX  
**GvHD:** grade II (D+28; GIT)  
**Další:** BKV-HC(D+40), CMV(D+55)  
**Výsledek:** žije, žádné klin. problémy

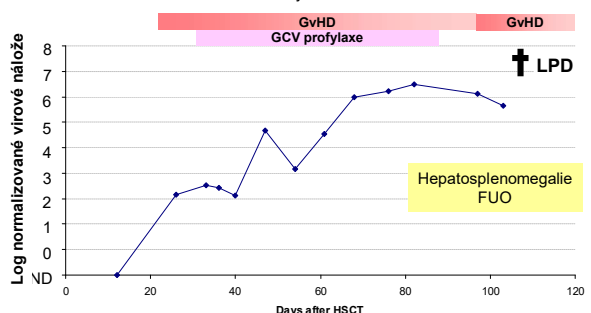


**Dívka, 13 let, HSCT pro SAA**  
**Dárce:** MMUD (9/10)  
**Štěp:** BM  
**Příprava:** TBI (5,4 Gy)  
 cyclofosfamid (200 mg/kg)  
 ATG (40 mg/kg)  
**GvHD profylaxe:** CyA+MTX  
**GvHD:** grade II (D+40; GIT)  
**Další:** CMV(D+46), plicní afekce neznámé etiologie, steroidní DM  
**Výsledek:** žije, žádné klin. problémy

## Retrospektivně testovaní pacienti

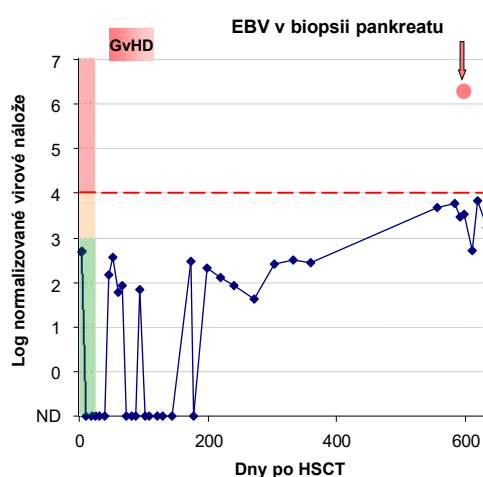


**Dívka, 5.5 roku., HSCT pro ALL CR2.**  
**Dárce:** MMUD (8/10)  
**Štěp:** BM  
**Příprava:** TBI (12 Gy)  
 cyklofosfamid (120 mg/kg)  
 ATG (16 mg/kg)  
**GvHD profylaxe:** CyA+MTX  
**GvHD:** grade III (D+ 49; GIT)  
**Zemřela D+74 na MOF.**

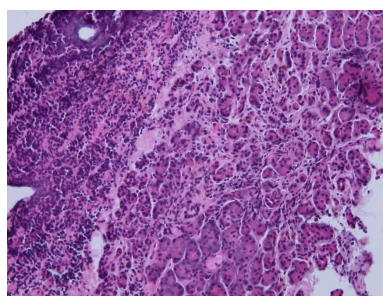


**Dívka, 4 r., HSCT pro AML PR2**  
**Dárce:** MMUD (9/10)  
**Štěp:** BM  
**Příprava:** busulfan (16 mg/kg)  
 cyklofosfamid (120 mg/kg)  
 melfalan (140 mg/m<sup>2</sup>)  
 ATG (40 mg/kg)  
**GvHD:** grade III (D+ 25; GIT)  
**Zemřela D+117 na krvácení a respirační selhání.**

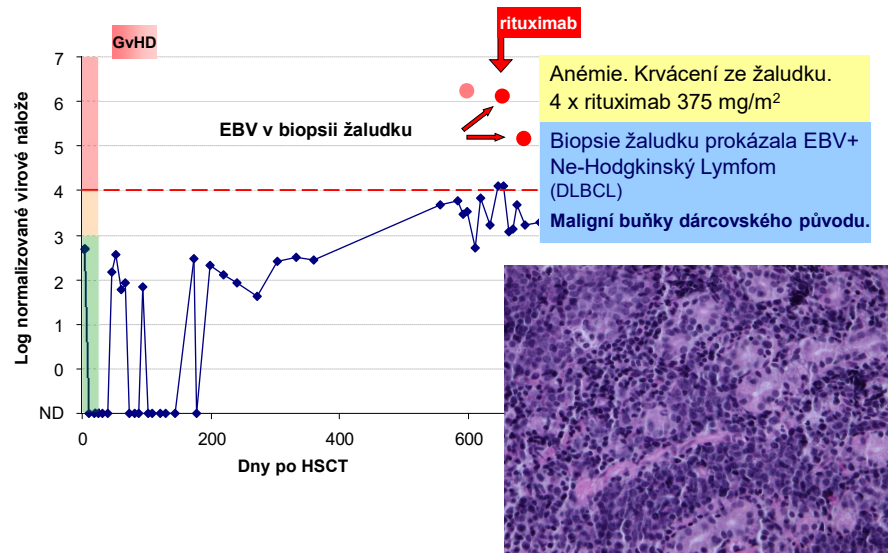
## Lokalizovaná EBV-LPD (NHL)



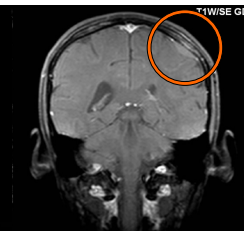
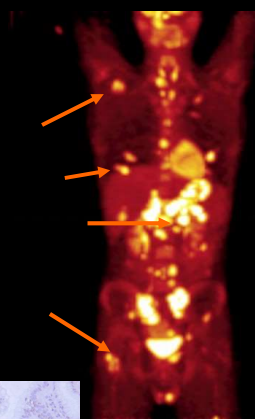
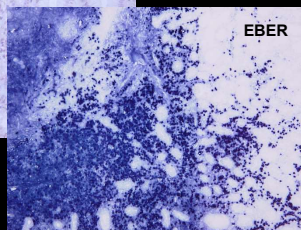
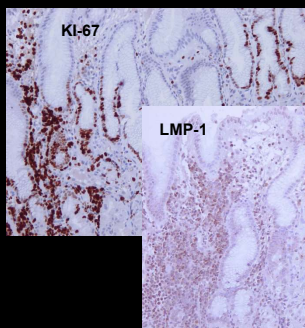
Pankreatopatie neznámého původu, potvrzeno CT a US.  
 MRD negativní.  
 ↑CRP, ↑IgG, bez autoprotilátek.  
 Laparotomie.  
**V biopsii jsme detekovali všechny typy lymfocytů. Žádné maligní buňky.**  
 DR+ lymfocyty



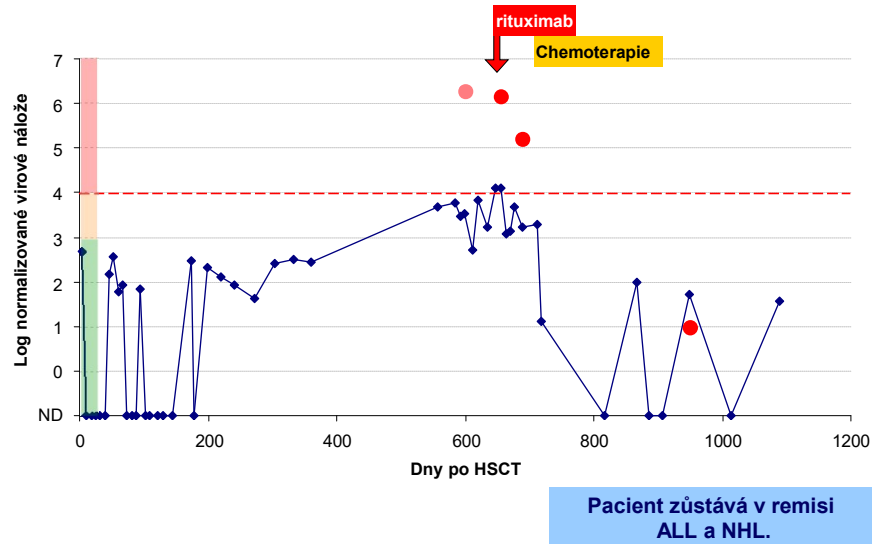
## Lokalizovaná EBV-LPD (NHL)



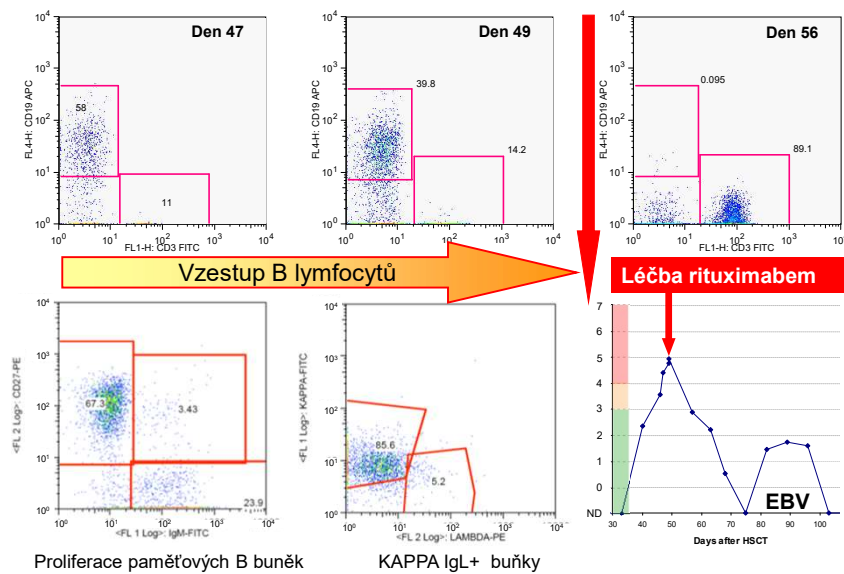
Léčba podle protokolu  
**BFM NHL 2004**  
Během poslední chemoterapie se sepsou způsobená  
*Pseudomonas aeruginosa*.  
Poslední PET CT potvrdilo remisi NHL.



## Lokalizovaná EBV-LPD (NHL)



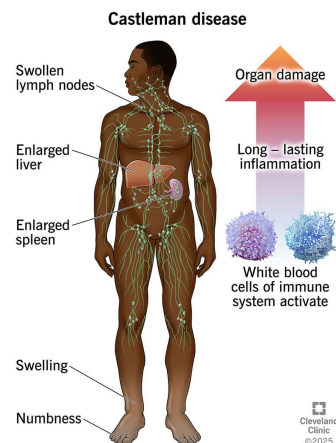
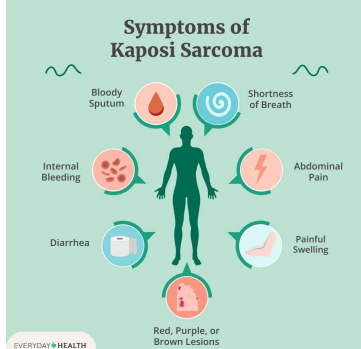
## Potvrzení EBV-LPD průtokovou cytometrií



## HHV-8



- Kaposi sarcoma
- Primary exudative lymphoma
- Castelman's disease



## HHV-8 = KSHV (Kaposi sarcoma associated herpesvirus)



<https://cdn.britannica.com/81/131881-004-7B1624F6/Kaposi-sarcoma-lesion.jpg?w=400&h=300&c=crop>



[https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/1/1c/Kaposi\\_sarcoma\\_01.jpg/220px-Kaposi\\_sarcoma\\_01.jpg](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/1/1c/Kaposi_sarcoma_01.jpg/220px-Kaposi_sarcoma_01.jpg)

Nádor z endotelií krevních a lymfatických cév a lymfatických uzlin



<https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcR6dYPR2ikion2MMu5ZfRaLmaNlksIoYo1Mt3Di62CLxmbzPEs5i2o885TVMdgU2Lk6&usqp=CAU>



[https://media.springernature.com/lw685/springer-static/image/chp%3A10.1007%2F978-3-662-45139-7\\_46/MediaObjects/978-3-662-45139-7\\_46\\_Fig3\\_HTML.png](https://media.springernature.com/lw685/springer-static/image/chp%3A10.1007%2F978-3-662-45139-7_46/MediaObjects/978-3-662-45139-7_46_Fig3_HTML.png)

