



Petr Hubáček

Herpesviry

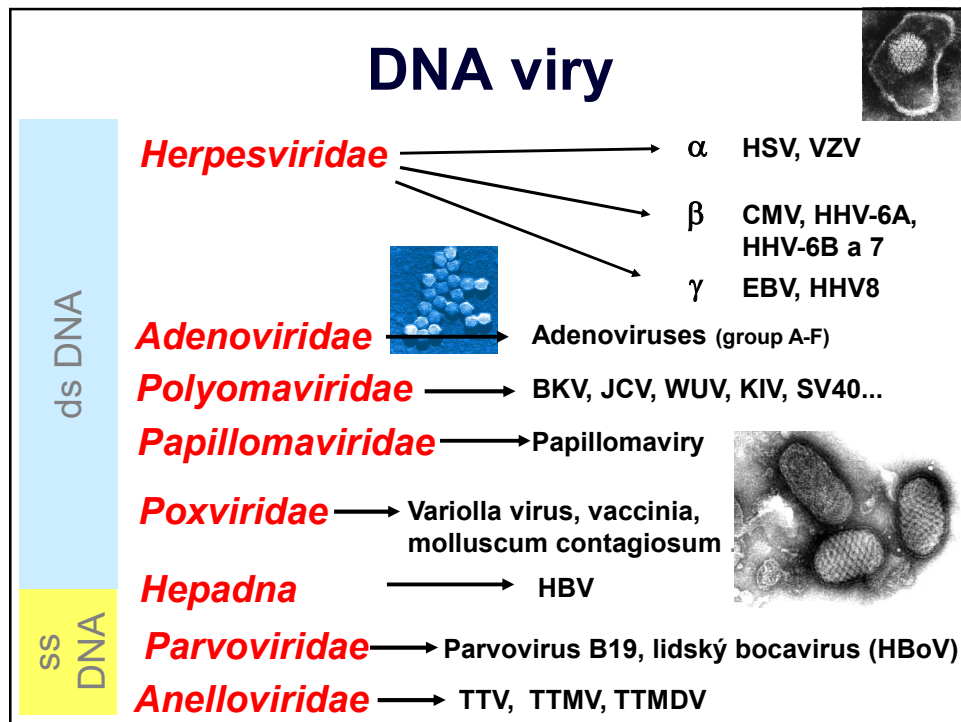


Proč herpesviry (DNA) viry?

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

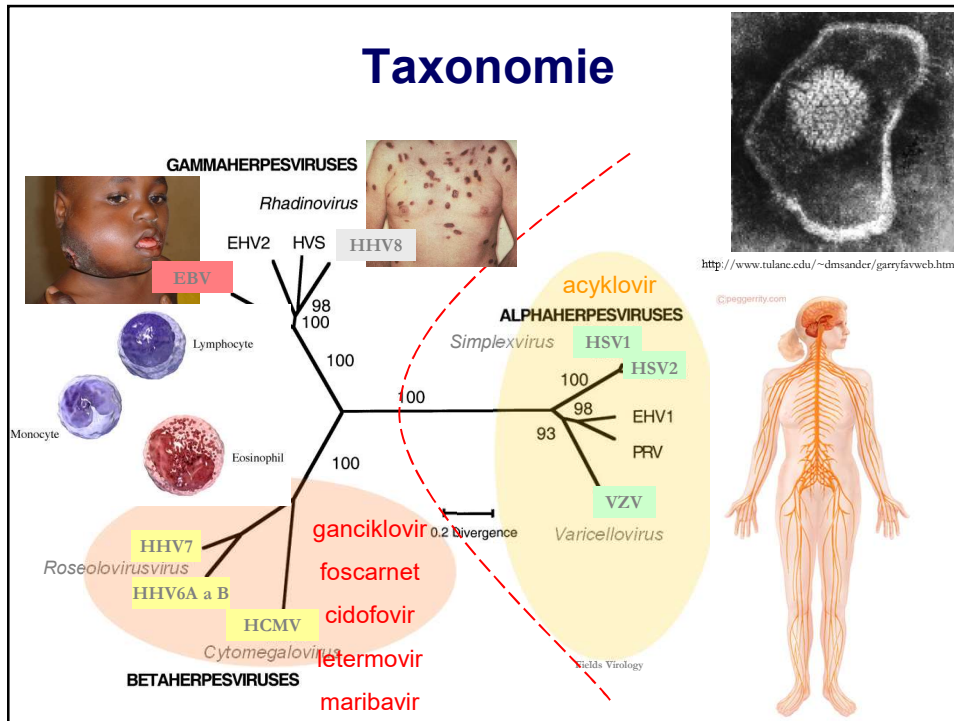
1. pneumocystová pneumonie
2. toxoplazmová encefalitida
3. ezofageální, tracheální, bronchiální nebo plicní kandidóza
4. **chronický anální herpes simplex nebo herpetická bronchitida, pneumonie nebo ezofagitida**
5. **CMV retinitida**
6. **generalizovaná CMV infekce (kromě jater a sleziny)**
7. progresivní multifokální leukoencefalopatie
8. recidivující salmonelová bakteriémie
9. recidivující pneumonie v průběhu 1 roku
10. chronická intestinální kryptosporidióza
11. chronická intestinální isosporóza
12. extrapulmonální kryptokoková infekce
13. diseminovaná nebo extrapulmonální histoplazmóza
14. diseminovaná kokcioidomykóza
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

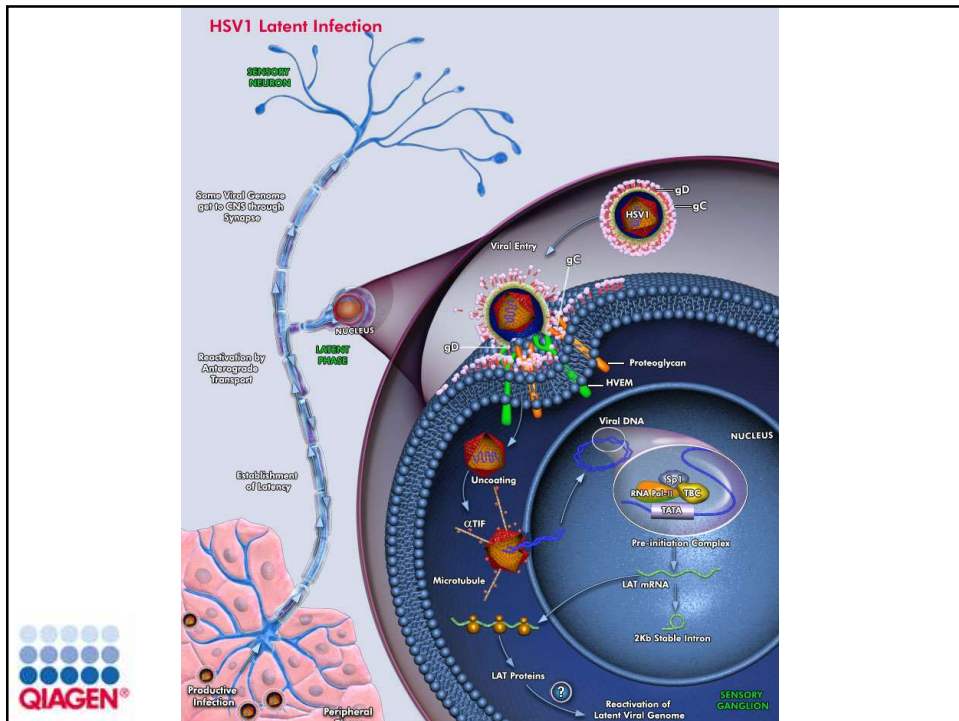
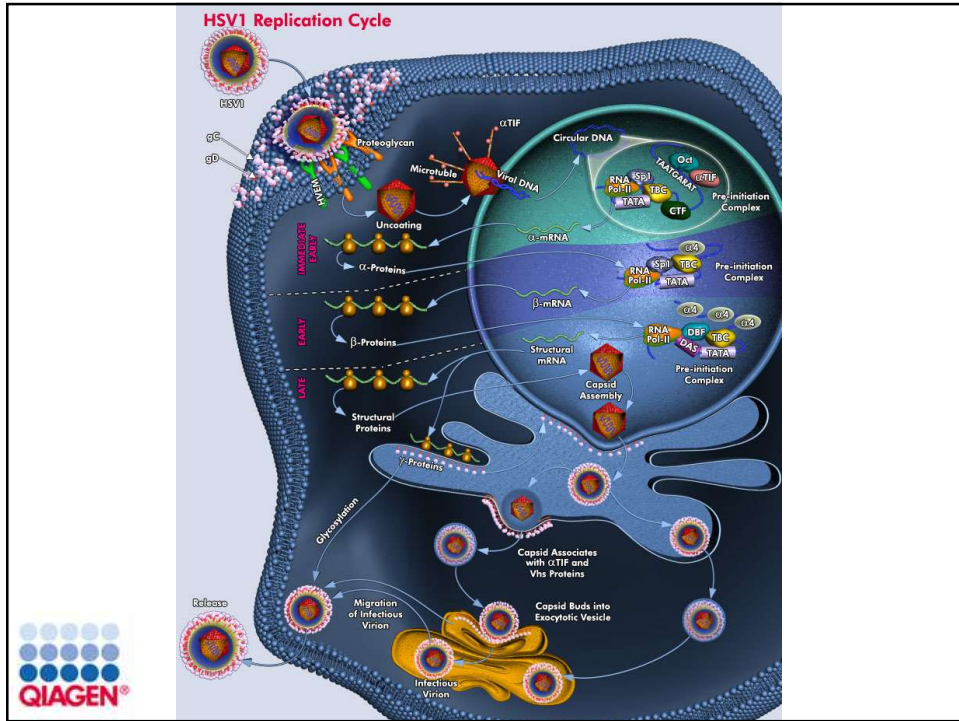




Herpesviry

- jsou ds DNA obalené viry
- genom má 125-240 kb
- kapsida má ikosahedrální strukturu
- průměr kapsidy je přibližně 100 nm





Patologické působení HSV a VZV

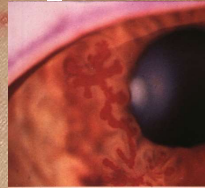
HSV – herpes simplex, benigní crbl. ataxie, gingivostomatitis, faryngotonsititis, **encefalitis, pneumonie, hepatitis**

VZV – plané neštovice, herpes zoster, pneumonie, encefalitis, hepatitis

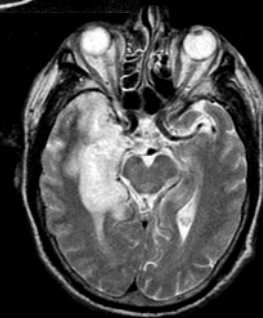
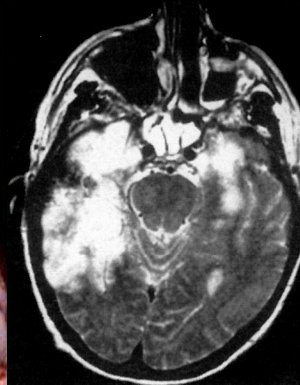
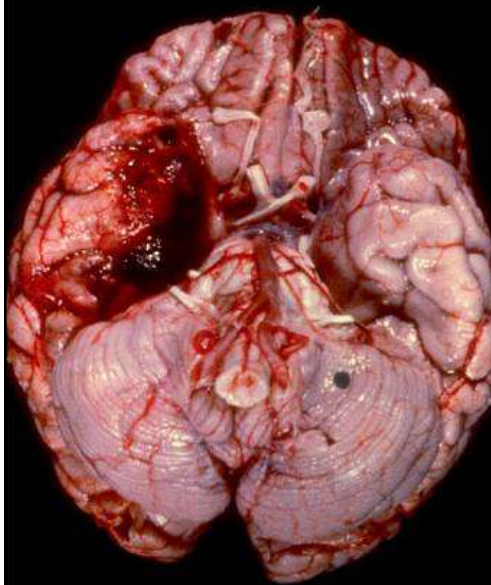
– po BMT v případě preventivního podávání acykloviru méně často; bez něj v 80% reaktivace HSV



Plané neštovice

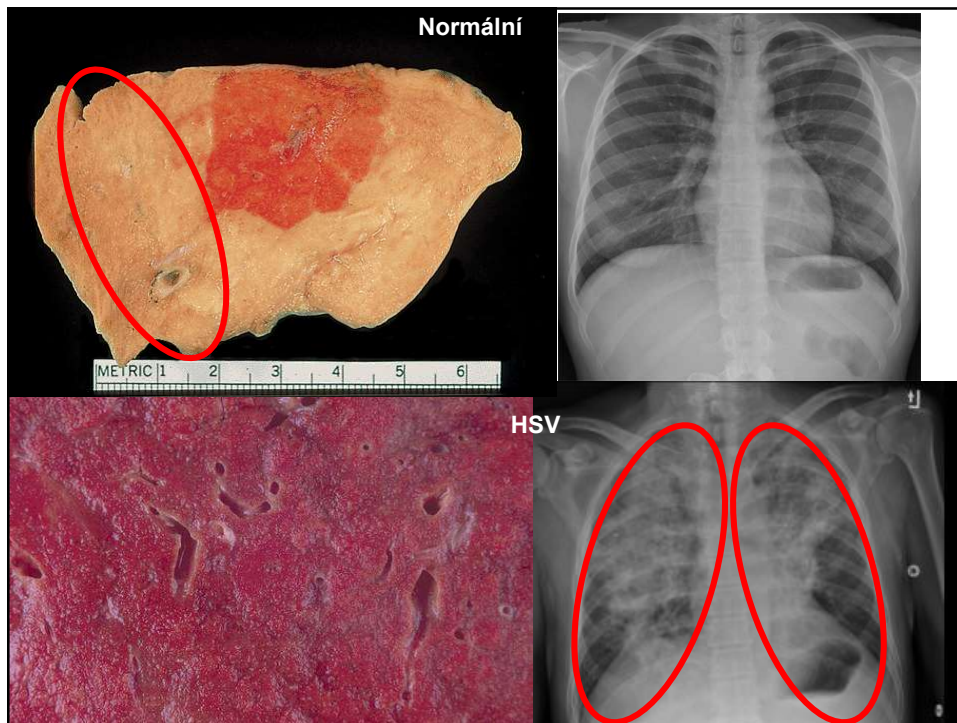
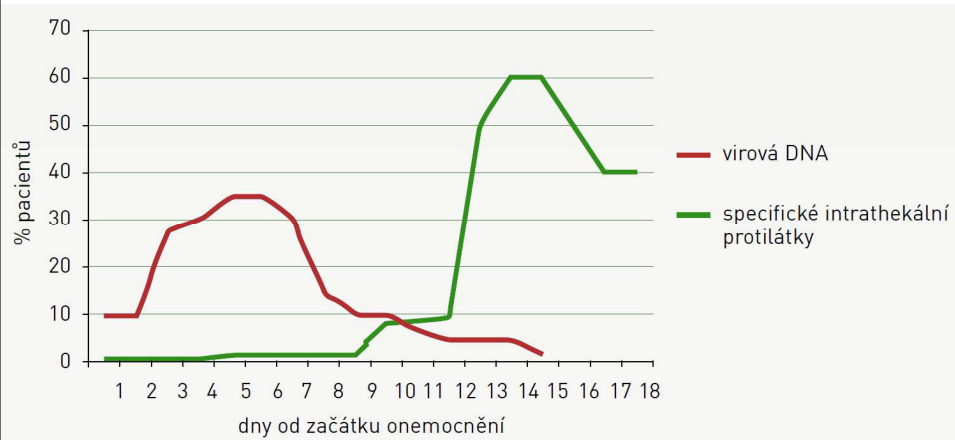


HSV encefalitis

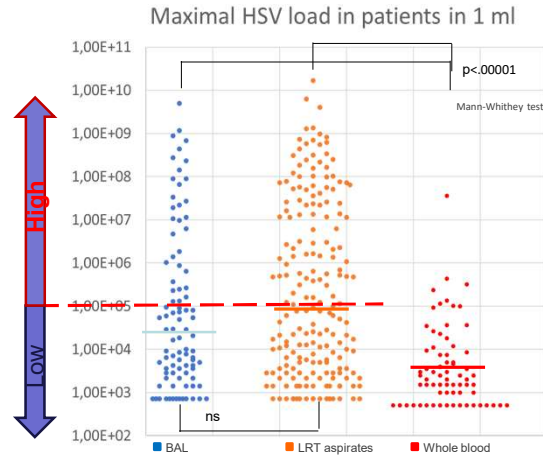


Incidence : 1990-2001: 2,2/1 000 000 obyvatel

Protilátková odpověď na virovou infekci a detekce viru v CSF



HSV v různých vzorcích



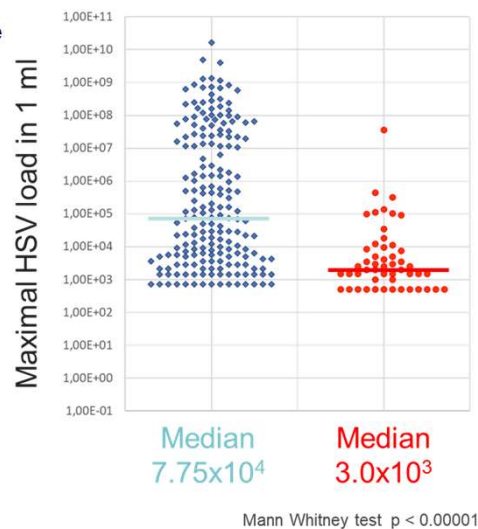
254 pozitivních pacientů v DCD Plná krev 69 pacientů

HSV ve vzorcích a pacientech

- 928 pacientů mělo vzorky plné krve i DCD vyšetřené

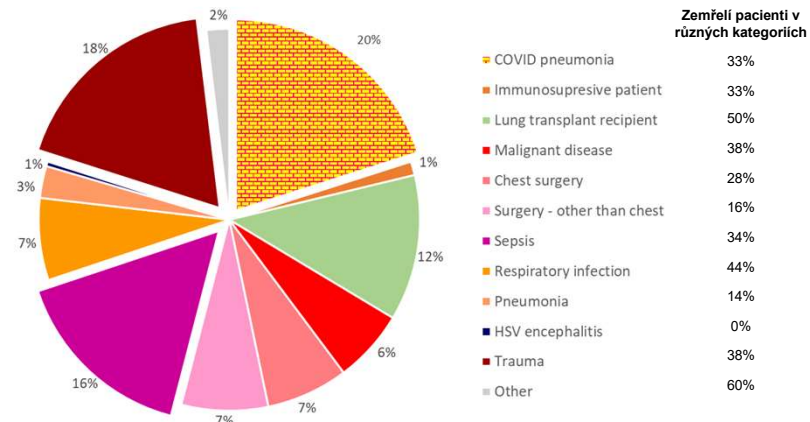
	Plná krev +	Plná krev -	
DCD +	42	150	192
DCD -	9	727	739
	51	877	928

χ^2 test $p < 0.00001$



HSV u kriticky nemocných pacientů

Primární diagnóza u HSV pozitivních pacientů z KARIM (n=265)

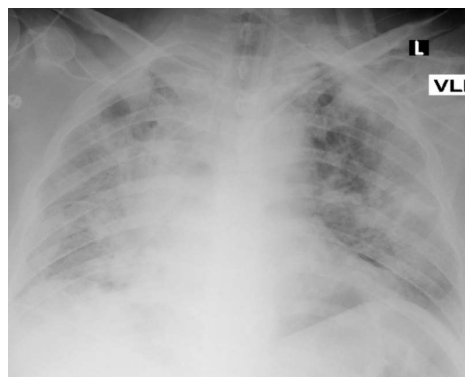


HSV u kriticky nemocných pacientů - RTG

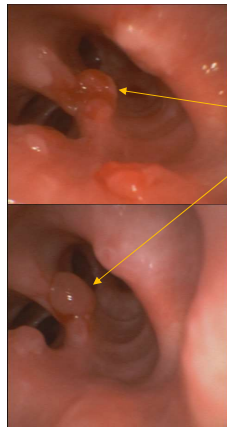
HSV



COVID-19

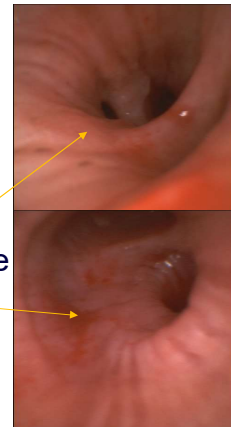


HSV u kriticky nemocných pacientů – bronchoskopický obraz



Někdy herpetiformní vezikuly

Často křehká, zduřelá sliznice s tendencí ke krvácení



March 1979

Cytomegalovirus The Troll of Transplantation

Henry H. Balfour Jr, MD

Arch Intern Med. 1979;139(3):279-280. doi:10.1001/archinte.1979.03630400011006



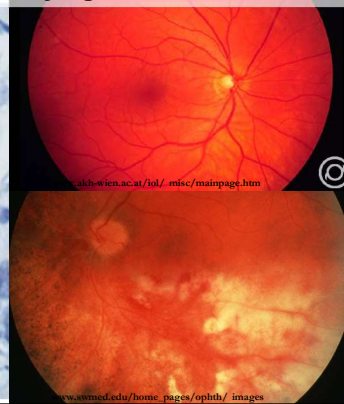
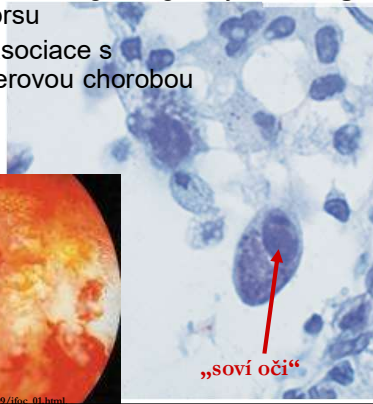
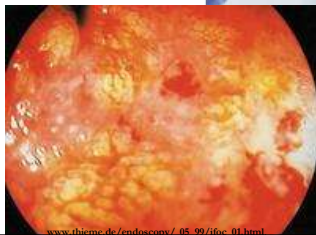
Patologické působení CMV

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



Obecné možnosti virové diagnostiky

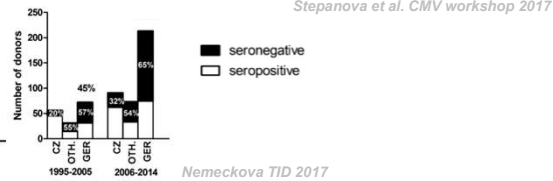
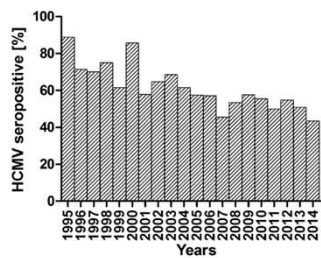
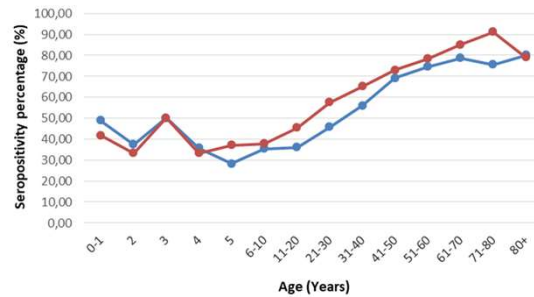
NEPŘÍMÁ (detekce protilátek)

- ELISA
- CLIA...

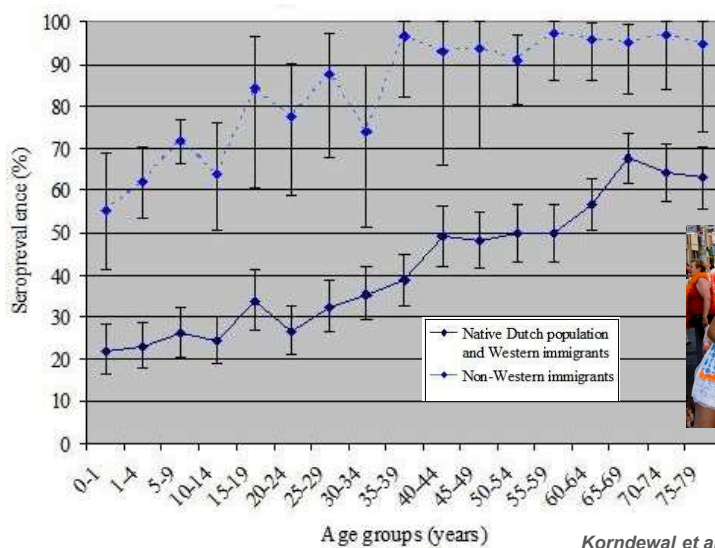
Detekce IgM a IgG protilátek.

Avidita IgG protilátek se stává vysokou až po přibližně 3 měsících.

Seroprevalence CMV 2011 - 2014 (n=4687)



Jaká je séroprevalence CMV ?

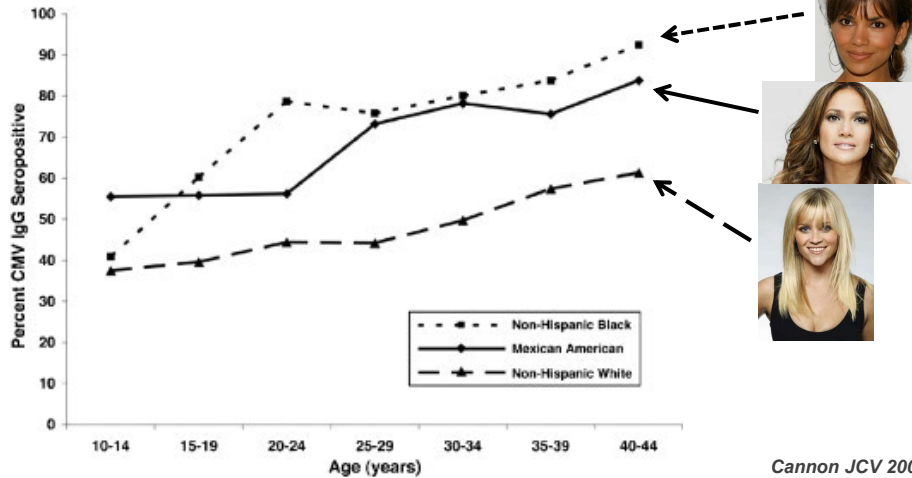


Korndewal et al. European Society for Paediatric Infectious Disease 2012

https://www.abstractserver.com/ESPID2012/pictures/p_435_00079.jpg

Jaká je séroprevalence CMV ?

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

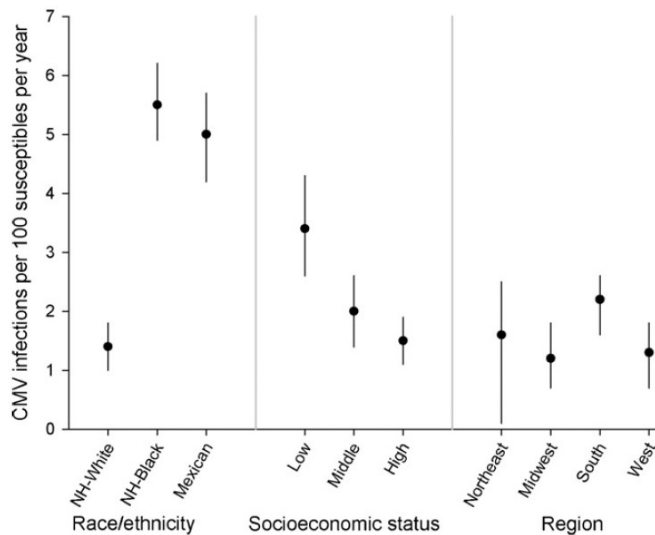


Cannon JCV 2009

https://encrypted-tbn3.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcRpA_IJXaIn6UARnBRXk6Mh32MDm7OAdNLwYoiZX8kgQF7gLIHtgg

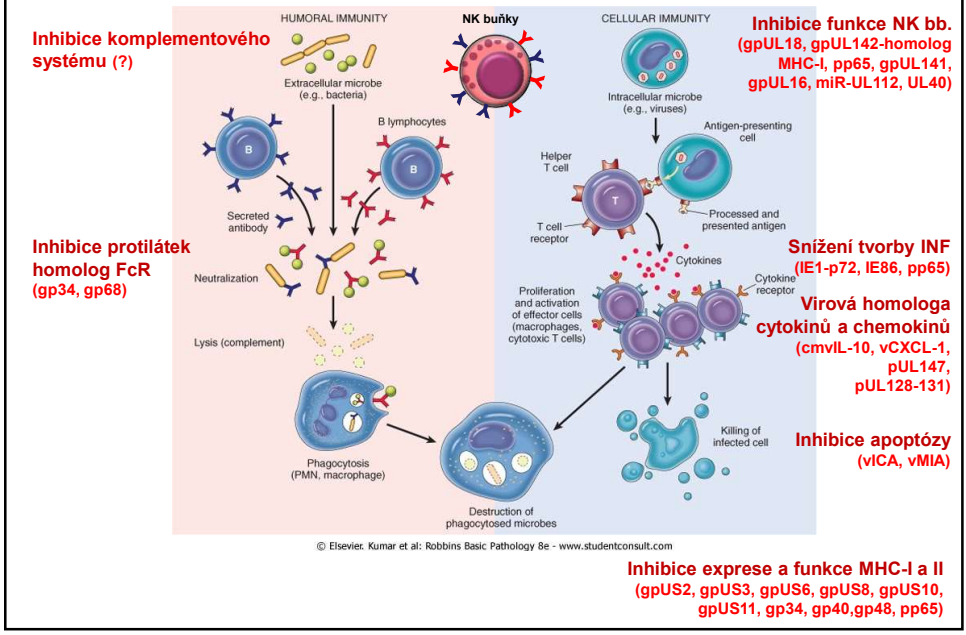
Jaká je incidence CMV primoinfekce ?

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

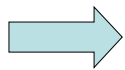
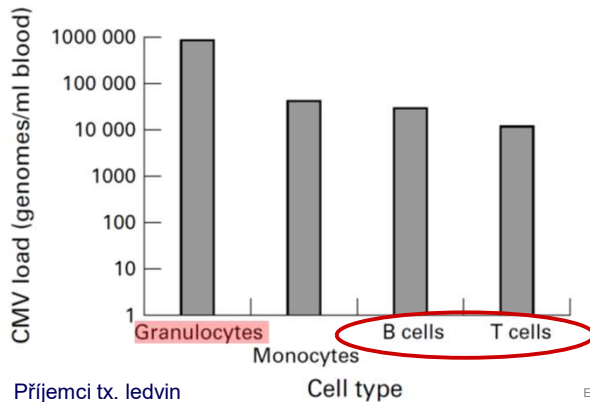


C.Cannon/JCV:2009

Jak CMV manipuluje s imunitou?



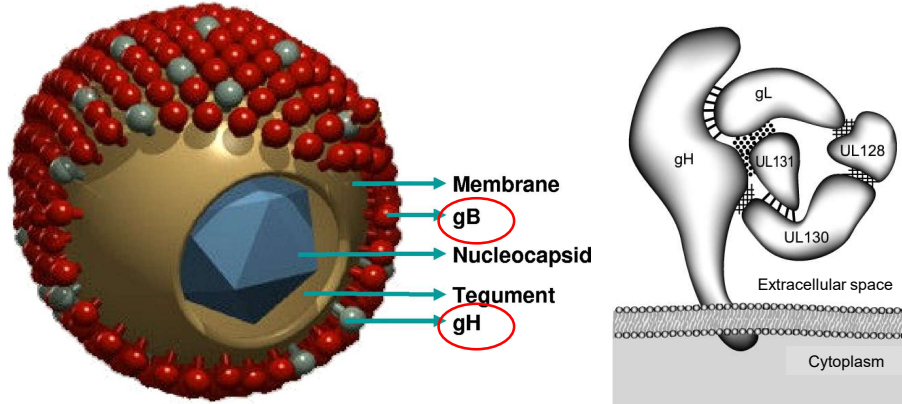
CMV manipuluje s imunitou



Přímé a nepřímé efekty infekce

např. snížení destiček u aktivní CMV infekce

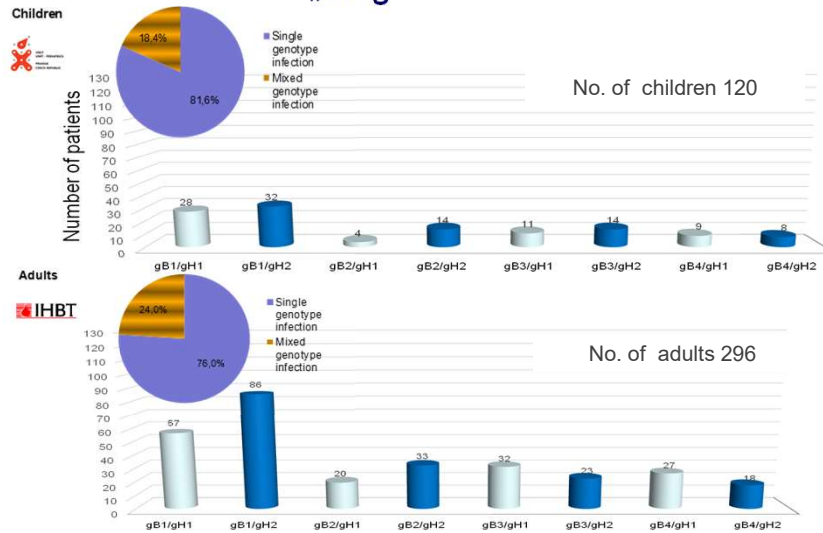
Není jen jedno CMV - genotypy



Tania Crough, and Rajiv Khanna Clin. Microbiol. Rev. 2009;22:76-98

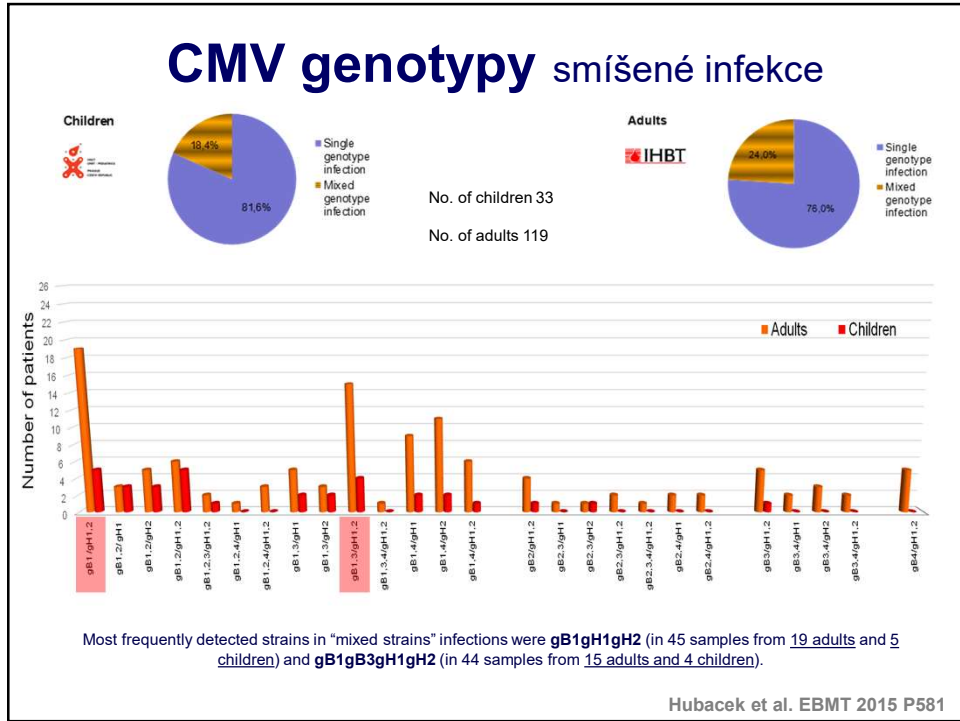
Nejčastěji podle povrchových proteinů – gB, gH, gO, gN...

CMV genotypy (gB1-4/gH1,2) „single“ infekce



Most frequently detected genotypes in "single strain" infection were gB1gH2 (detected in 390 samples from 32 children (26.7%) and 86 adults (28.4%) and gB1gH1 (detected in 296 samples from 28 children and 57 adults).

Hubacek et al. EBMT 2015 P581



Příznaky a následky cCMV

Asymptomatické
90% dětí s cCMV

Symptomatické

Infekce placenty
- prosáknutí s...
- menší tvorba...

placenta
IUU

podu
suprese ko...
infekce „cí...
vaskulitida

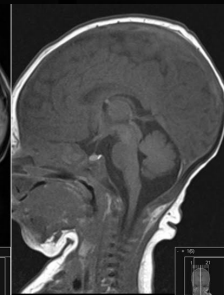
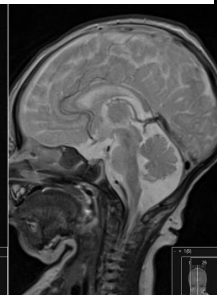
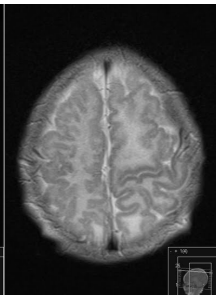
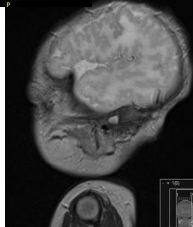
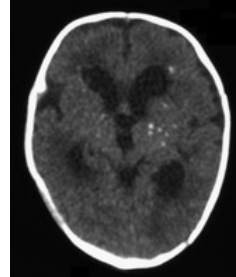
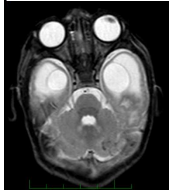
Ne
Mo

„y m.“

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

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.



Patofyziologie příznaků cCMV



Infekce placenty

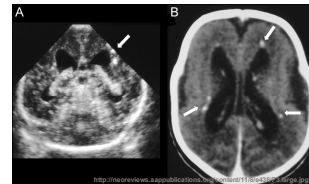
- prosáknutí stěny – horší difúzní vlastnosti
 - menší tvorba kotyledonů – menší plocha placenty
- IUGR**

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

Dle CDC

Příznaky kongenitální CMV infekce při narození

Předčasný porod
Hepatopatie
Plicní příznaky
Splénomegalie
IUGR
Neurologické záchvaty

Trvalé zdravotní problémy spojené s kongenitální CMV infekcí

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



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

Příznaky a následky cCMV

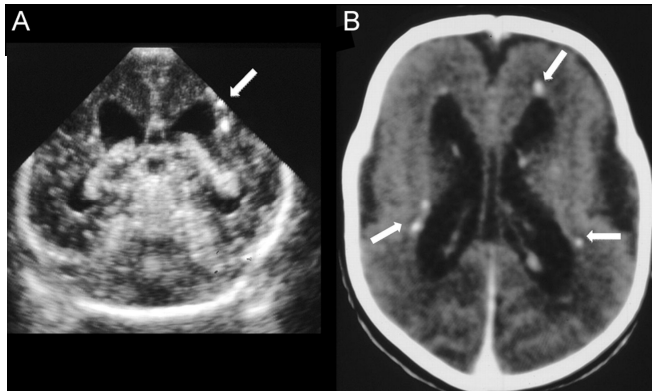
Transient Outcomes

- Hepatomegaly
- Splenomegaly
- Jaundice
- Petechia and purpura
- Pneumonitis
- Fetal growth retardation
- Seizures

Permanent Outcomes

- Microcephaly
- Vision loss
- Hearing loss
- Mental retardation
- Motor disabilities
- Seizures
- Death

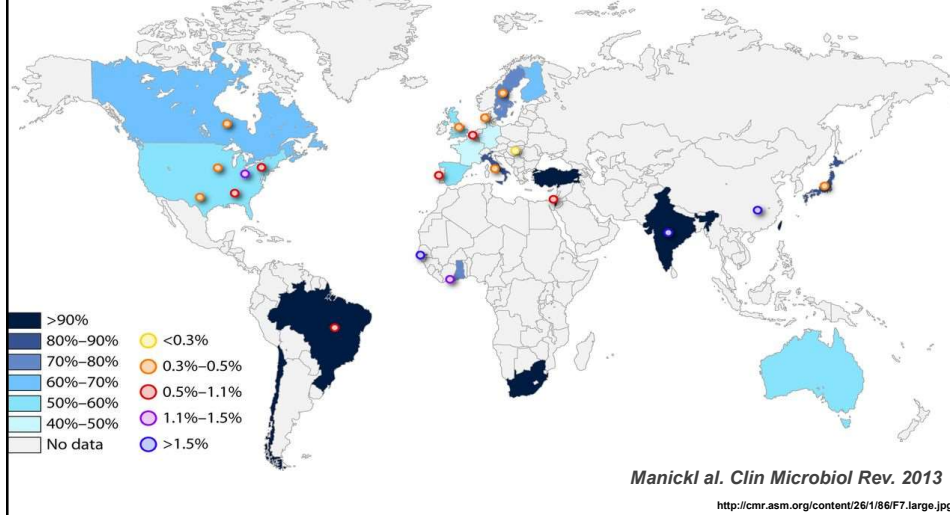
Mozkové kalcifikace



<http://neoreviews.aappublications.org/content/11/8/e436/F3.large.jpg>

Jaký je výskyt cCMV?

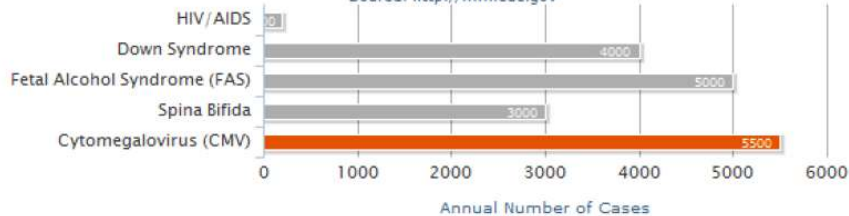
Každý den se rodí 370 000 dětí na světě tj. 134 milionů/rok.
Průměrná frekvence výskytu je přibližně 1,5% tj. 2,01 milionů dětí s cCMV/rok.
V Evropě a ČR je odhadovaná frekvence 0,5-1%.



Jaké je povědomí o cCMV a výskyt následků?

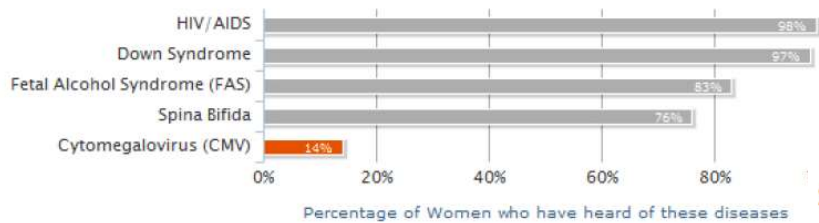
US Children Born with or Developing Long-Term Medical Conditions each year

Source: <http://www.cdc.gov>



Women's Awareness of Conditions Affecting Children

Source: <http://www.cdc.gov>



Pacient po alogenní HSCT

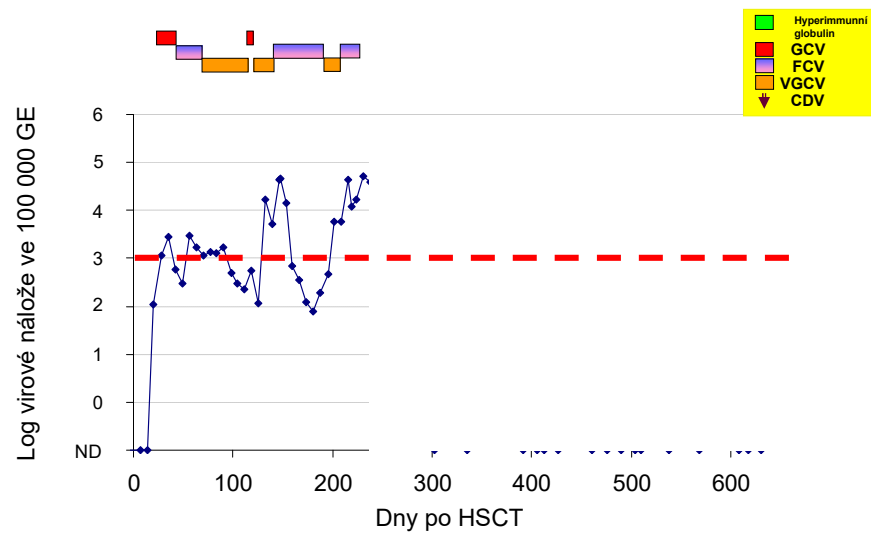
Dívka, při HSCT 16,5 roku
 transplantovaná pro AML M2 (AML1/ETO+) v 2.CR
 MMUD – 7/10
 Příprava: Busulphan, Cyclofosamid, Melphalan, ATG
 Štěp: Periferní kmenové buňky
 CD34+: 11,12 x 10⁶ /kg; CD3+: 302,1 x 10⁶ /kg; NC: 12,09x10⁸ /kg
 GvHD profylaxe: MTX a CsA
 CMV status donor/recipient: D-/R+

Non-CMV komplikace:

D+16 hemoragická cystitis –hyperhydratace
 D+61 –GvHD grade II (kůže a GIT)
 terapie : kortikoidy 1 mg/kg
 D+377 – Herpes zoster - léčba acyclovir
 D+440 – Laserová koagulace retinálního krvácení. (neprokázaná, ale suspektní
 aktivní CMV retinitis)

Pacient po alogenní HSCT

D+ 29 – první léčba CMV reaktivace



Pacient po alogenní HSCT

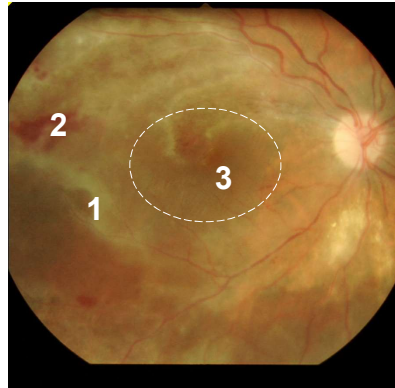
D+230 – Během léčby foscarnetem, se objevuje diplopie, bolest hlavy, zvracení a spavost.

V **CSF detekujeme CMV** (přibližně 2 600 000 kopií / ml) a také pozorujeme vzestup virové nálože v periferní krvi.



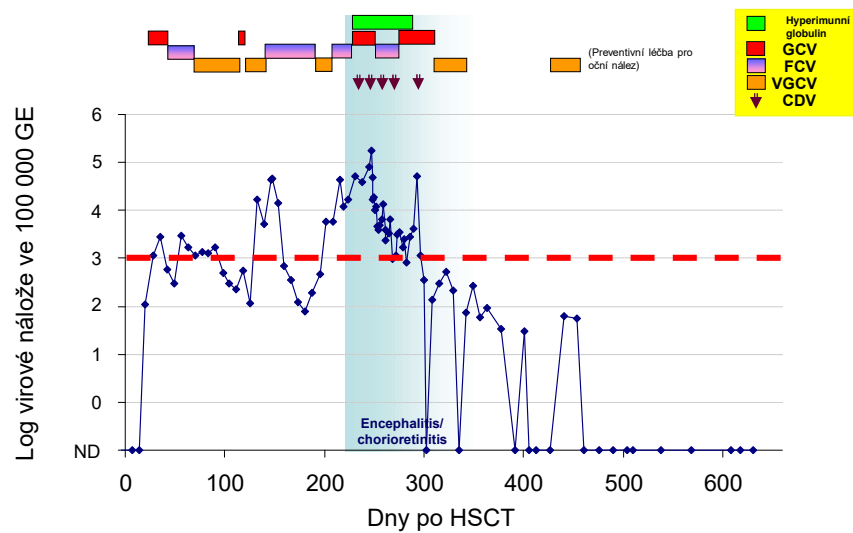
Výsledky potvrzují **encephalitis.**

Vyšetření očí pak bilaterální **chorioretinitidu.**

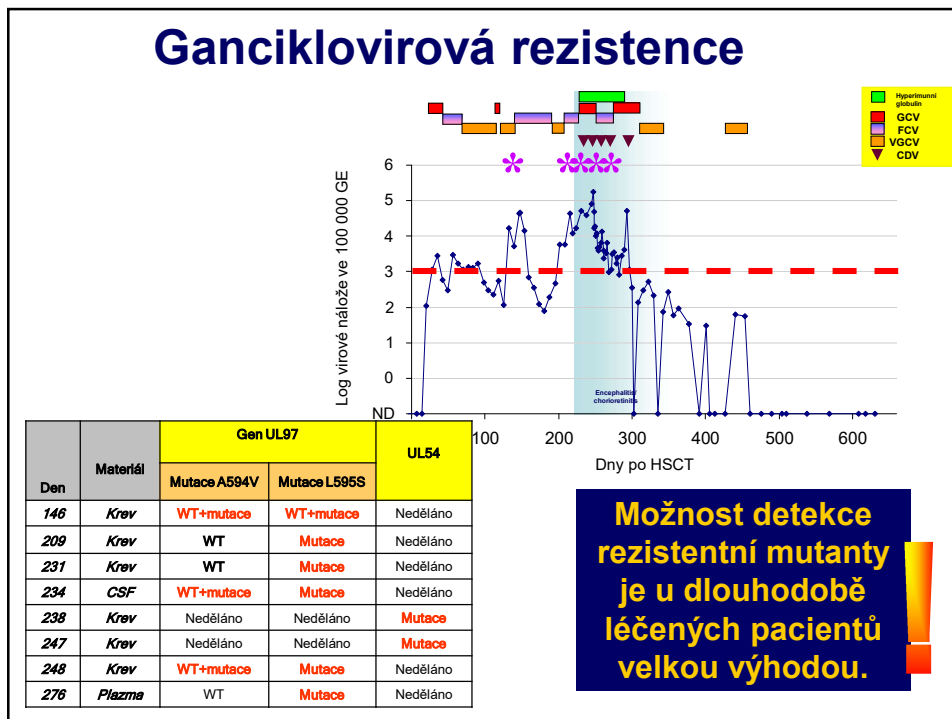


- 1 – retinální fibrotizace
- 2 – intraretinální krvácení
- 3- epiretinální pseudomembrána

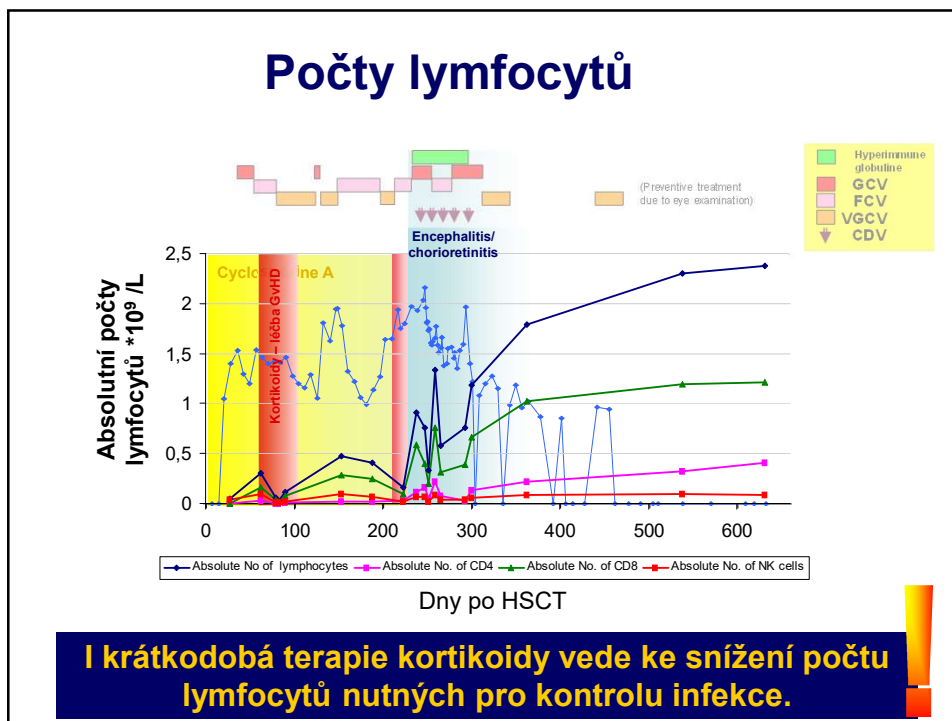
Pacient po alogenní HSCT



Ganciklovirová rezistence



Poty lymfocytu



Pacient po alogenní HSCT

Výsledek

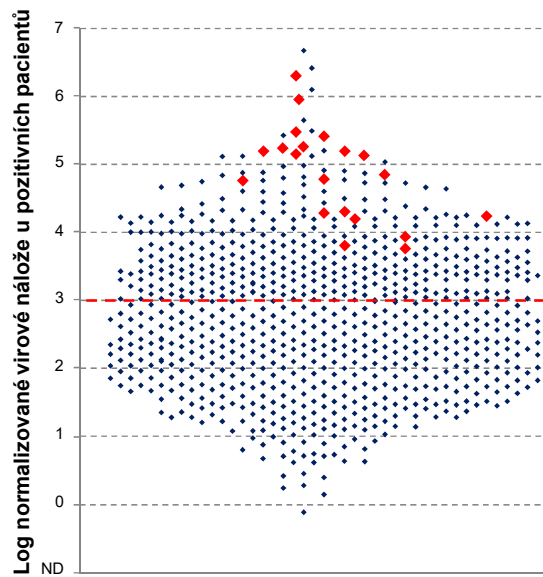
- V současné době je pacientka pravidelně kontrolována oftalmology. Bohužel na jednom oku zůstaly díky CMV jen zbytky zraku, zatímco na druhé vidí téměř normálně. Na obou očích je omezeno periferní vidění.
- Pacientka nemá známky relapsu primárního onemocnění, GvHD, či dalších infekcí včetně CMV.



1 – retinální fibrotizace

CMV rezistence

max. kvantita v plné krvi



Vysoká virová nálož koreluje s vývojem rezistence

(Mann-Whitney $p < 0.0001$)

gB1gH1 – 5 pac.
 gB3gH1 – 4 pac.
 gB1gH2 – 4 pac.
 gB4gH2 – 2 pac.
 gB2gH1 – 1 pac.
 gB2gH2 – 1 pac.
 a smíšené infekce (gB1,gH1,2, gB2, gH1,2 and gB1,3gH1,2)

75% pacientů s rezistencí zemřeli.

Pouze jeden zemřel na prokázanou CMV pneumonii.

Definitions of Cytomegalovirus Infection and Disease in Transplant Patients for Use in Clinical Trials

Per Ljungman,^{1,2} Michael Boeckh,^{4,5} Hans H. Hirsch,⁶ Filip Josephson,³ Jens Lundgren,⁷ Garrett Nichols,⁸ Andreas Pkris,⁹ Raymund R. Razonable,¹⁰ Veronica Miller,¹¹ and Paul D. Griffiths¹²; for the Disease Definitions Working Group of the Cytomegalovirus Drug Development Forum^a

Table 1. Cytomegalovirus Disease Categories and Required Quality of Evidence

Disease	Proven	Probable	Possible
Pneumonia	Yes	Yes	Yes
Gastrointestinal disease	Yes	Yes	Yes
Hepatitis	Yes	No	No
Retinitis	Yes	No	No
Encephalitis/ventriculitis	Yes	Yes	No
Nephritis	Yes	No	No
Cystitis	Yes	No	No
Myocarditis	Yes	No	No
Pancreatitis	Yes	No	No
Other end-organ diseases	Yes	No	No
Syndrome	No	Yes	No

All 3 categories require appropriate clinical symptoms and/or signs.

Definice

Definitions of Resistant and Refractory Cytomegalovirus Infection and Disease in Transplant Recipients for Use in Clinical Trials

Roy F. Chemaly,¹ Saewon Choi,² Hermans Essels,³ Paul Griffiths,⁴ Robin Avery,⁵ Raymund R. Razonable,⁶ Kathleen M. Mallon,⁷ Camille Kotton,⁸ Jens Lundgren,⁹ Takashi E. Komatsu,¹⁰ Peter Lischke,¹¹ Filip Josephson,¹² Cameron M. Douglas,¹³ Olu Osoke,¹⁴ Veronica Miller,¹⁵ and Per Ljungman¹⁶; for the Resistant Definitions Working Group of the Cytomegalovirus Drug Development Forum

1420 • CID 2019:68 (15 April) • IMMUNOCOMPROMISED H

DEFINITIONS OF CMV INFECTION

CMV Infection

CMV infection is defined as virus isolation or detection of viral proteins (antigens) or nucleic acid in any body fluid or tissue specimen. It is recommended that both the source of the specimens tested (eg, plasma, serum, whole blood, peripheral blood leukocytes [PBLs], cerebrospinal fluid [CSF], bronchoalveolar lavage [BAL] fluid, urine, or tissue) and the diagnostic method used be described clearly.

CMV Reinfection

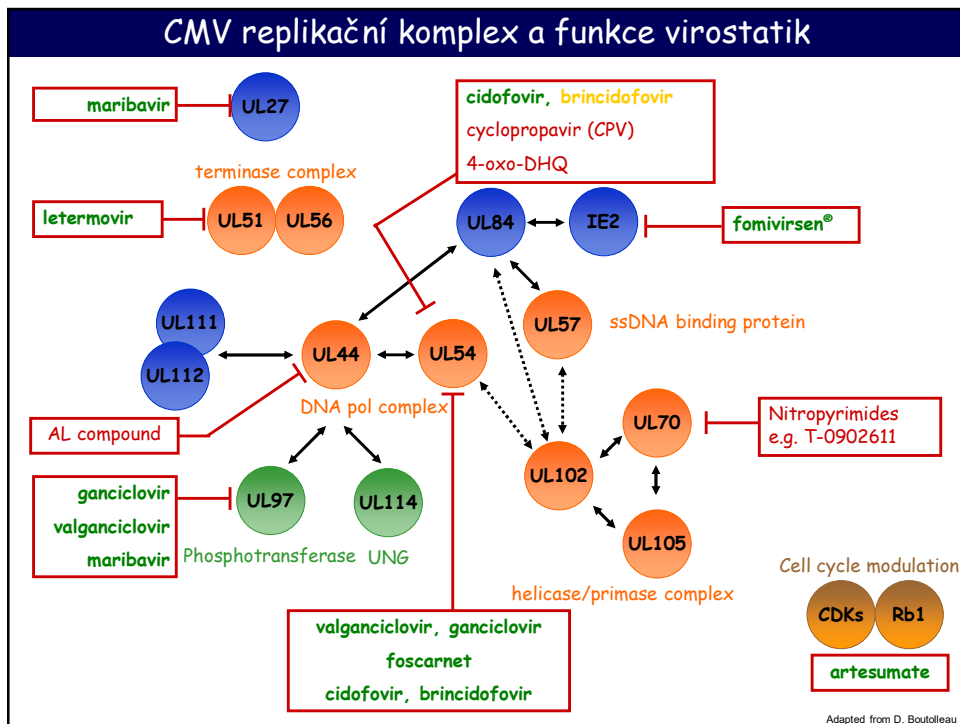
Reinfection is defined as detection of a CMV strain that is distinct from the strain that caused the initial infection.

CMV Reactivation

CMV reactivation is likely if the 2 viral strains (prior and current strain) are found to be indistinguishable either by sequencing specific regions of the viral genome or by using a variety of molecular techniques that examine genes known to be polymorphic.

Table 1. Risk Factors for Cytomegalovirus Resistance in Hematopoietic Cell Transplant Recipients^{a,b}

Risk Factor	
Host factors	
Prolonged antiviral CMV drug exposure (>3 mo)	
Previous antiviral CMV drug exposure	
Recurrent CMV infection	
Inadequate antiviral CMV drug absorption and bioavailability	
Inadequate antiviral CMV oral prodrug conversion	
Variation in antiviral CMV drug clearance	
Subtherapeutic antiviral CMV drug level	
Poor patient compliance with antiviral drug regimen	
T-cell depletion	
Haploidentical, allogeneic, or cord blood HCT	
Delayed immune reconstitution	
CMV-seropositive recipient and CMV-seronegative donor	
Treatment with antithymocyte antibodies	
Active GVHD	
Young age	
Congenital immunodeficiency syndromes	
Viral factors	
CMV viral load rise while receiving treatment (after >2 wk of adequate dosing)	
Failure of CMV viral load to fall despite appropriate treatment	
Rise in CMV viral load after initial decline while receiving appropriate treatment	
Intermittent low-level CMV viremia	
High CMV viral loads	



Jak je to tedy s virostatiky?

ganciclovir

NC1=NC(=NC2=C1N=CN2)C(=O)N

NÚ

valganciclovir

CC(C)C(=O)OCC1=NC(=NC2=C1N=CN2)C(=O)N

NÚ

foscarnet

OC(=O)P(=O)(O)O

NÚ

maribavir (Livtency)

CC(C)C1=NC2=C(C=C1)C(=O)N2

NÚ - dysguezie

letemovir (Prevymis)

COc1ccc(cc1)N2CCN(C2)C3=NC(=C4C(=C3)C(=O)N4)C(F)C(F)C5=CC=C(C=C5)OC

NÚ - GIT, rash

Indikace:

- První linie
- Systémová léčba CMV infekce
- i.v.

Indikace:

- První linie
- Systémová léčba CMV infekce
- p.o.

Indikace:

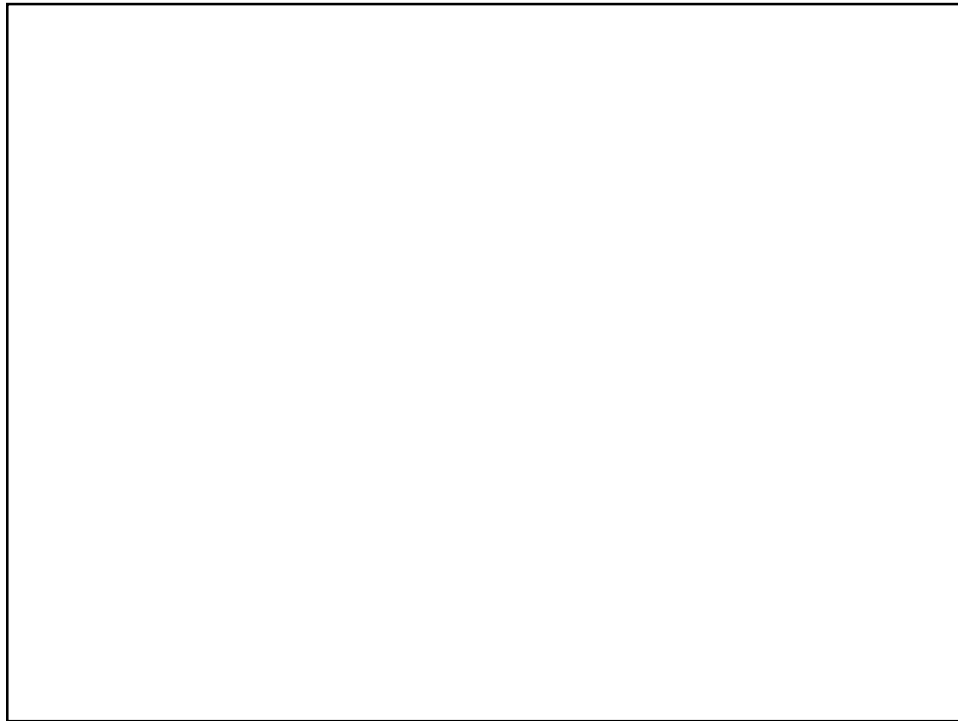
- Druhá linie
- Systémová léčba CMV infekce
- i.v.

Indikace:

- Systémová **profylaxe** CMV infekce p.o.

Indikace:

- Systémová **refrakterní/rezistentní** CMV infekce
- p.o.




Šestý lidský herpesvirus Human herpesvirus 6 (HHV-6)

V současnosti 2 různé virové druhy

HHV-6 A

Neznámý patologický účinek
„Orphan virus“



Rash during sixth disease
Fitzpatrick's Dermatology

HHV-6 B

Imunokompetentní hostitel

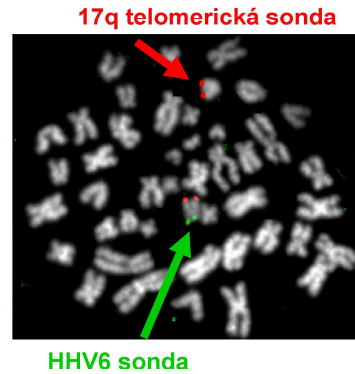
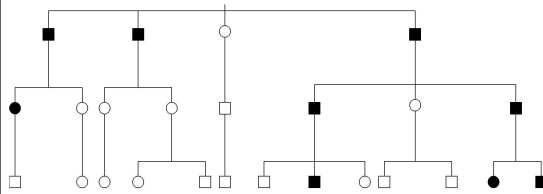
- Šestá exanthémová nemoc
- Febrilní křeče
- Encefalitida

Imunokompromitovaný h.

- Encefalitida
- Myelosuprese
- Hepatitida
- Pneumonitie
- Perikarditida
- Zhoršené přilhojování kr. elementů

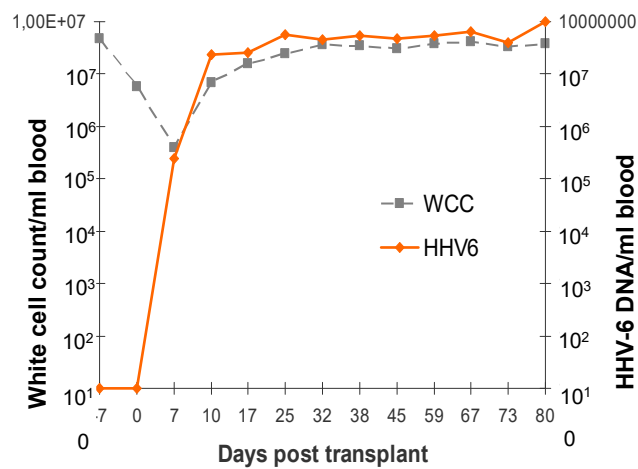
Chromozomální integrace HHV-6

- 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

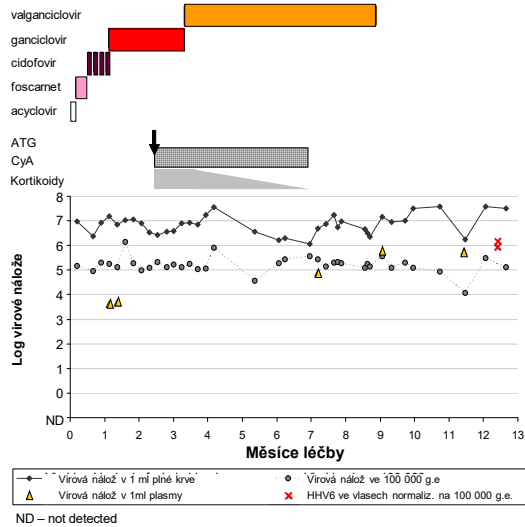
Dárce s chromozomální integrací HHV-6



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

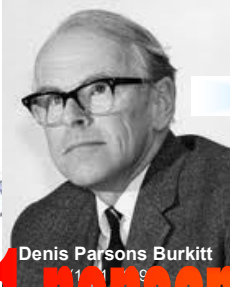
Terapie G-CSF

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.**

Objev EBV

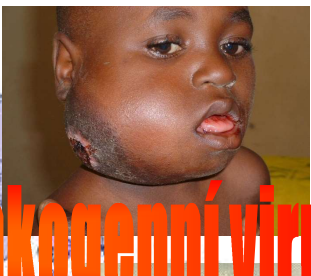



Denis Parsons Burkitt

chirurg

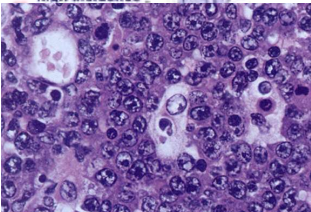
1958

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





■ Burkitt's lymphoma high incidence

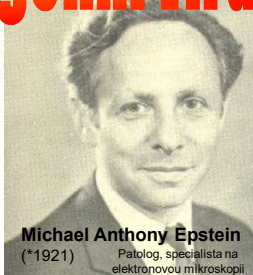


1961

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

1963 - 1. kultivace viru

1964 – Publikováno v Lancet:
„Cultivation in vitro of human lymphoblasts from Burkitt's malignant Lymphoma“

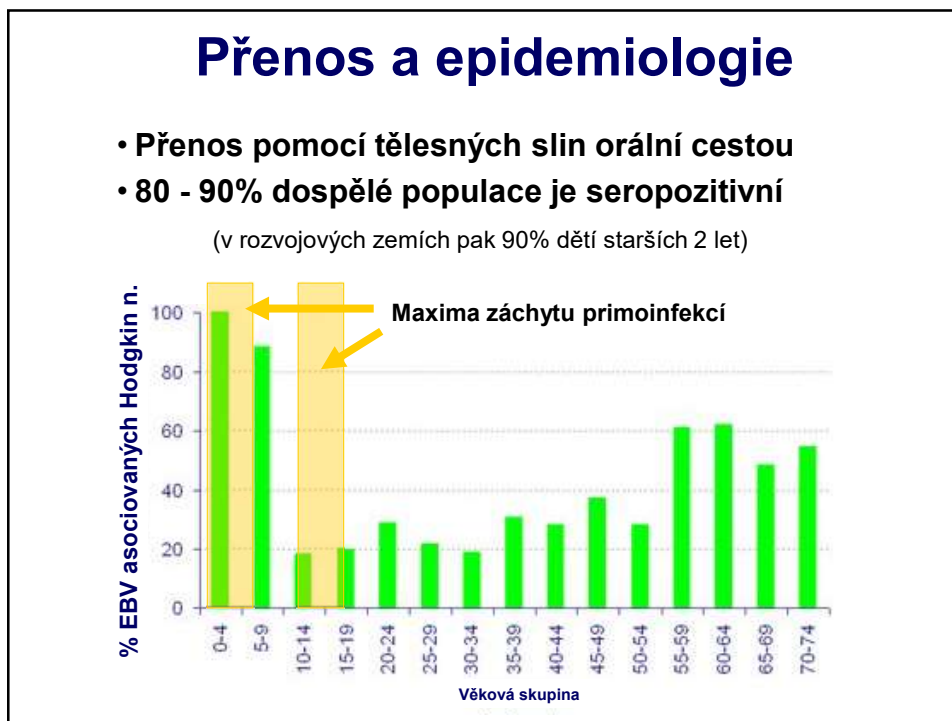


Michael Anthony Epstein
(*1921)
Patolog, specialista na elektronovou mikroskopii

Yvonne M. Barr
(*1932)

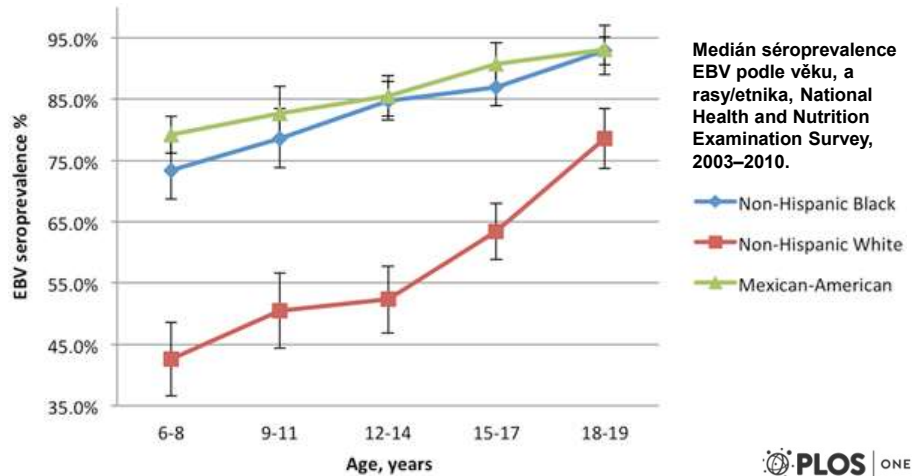
Bert Geoffrey Achong
(1928-1996)

1. popsaný lidský onkogenní virus



Přenos a epidemiologie

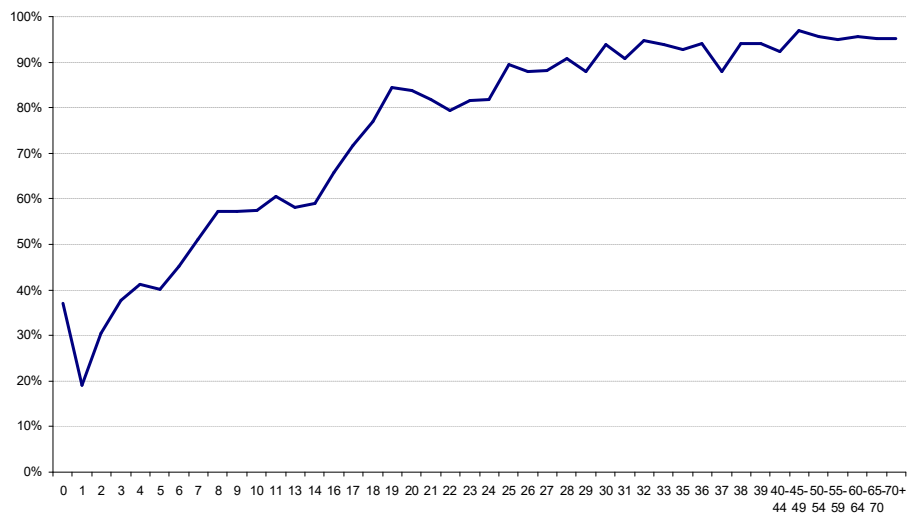
- Přenos pomocí tělesných slin orální cestou
- (permissivní buňky: B lymfocyty a epitelální buňky)
- 80 - 90% dospělé populace je seropozitivní (v rozvojových zemích pak 90% dětí starších 2 let)

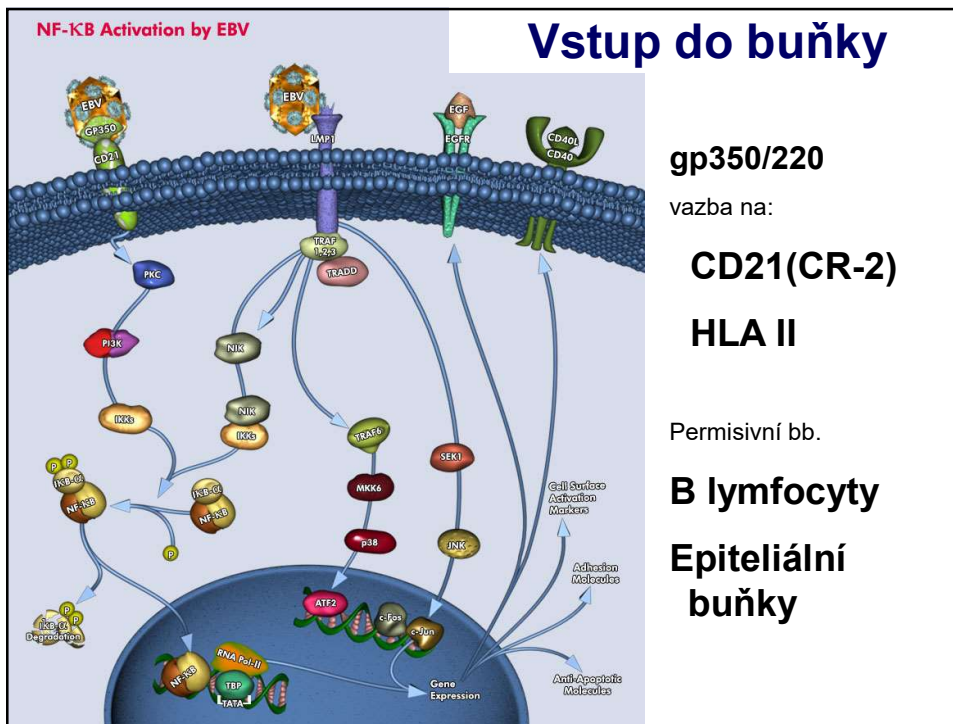


Dowd JB, Palermo T, Brite J, McDade TW, et al. (2013) Seroprevalence of Epstein-Barr Virus Infection in U.S. Children Ages 6-19, 2003-2010. *PLoS ONE* 8(5): e64921. doi:10.1371/journal.pone.0064921 <http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0064921>

Přenos a epidemiologie ve FNM

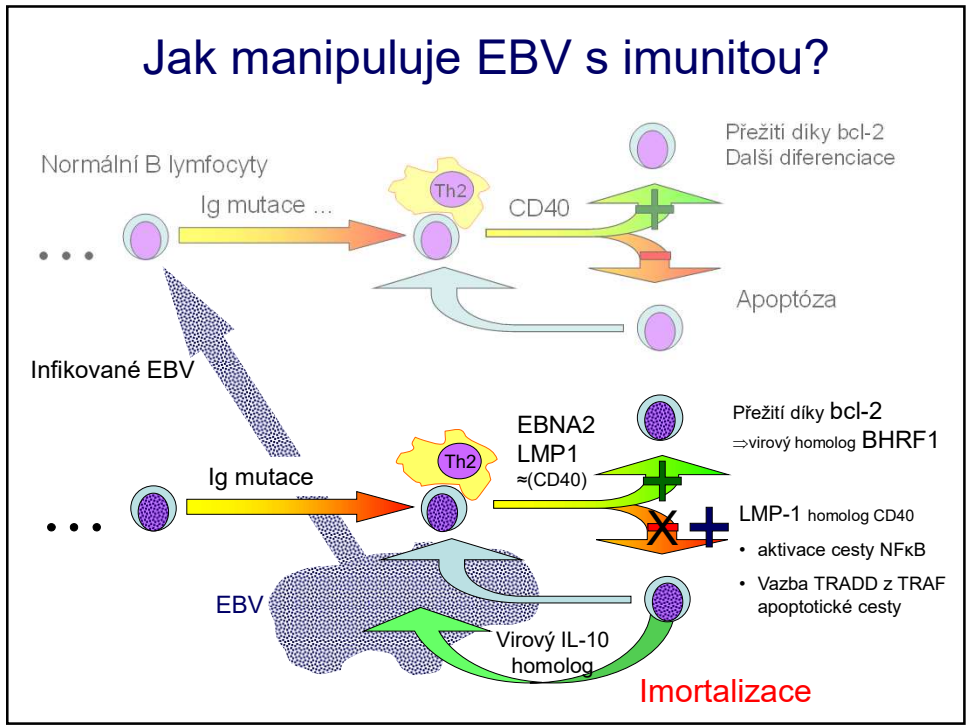
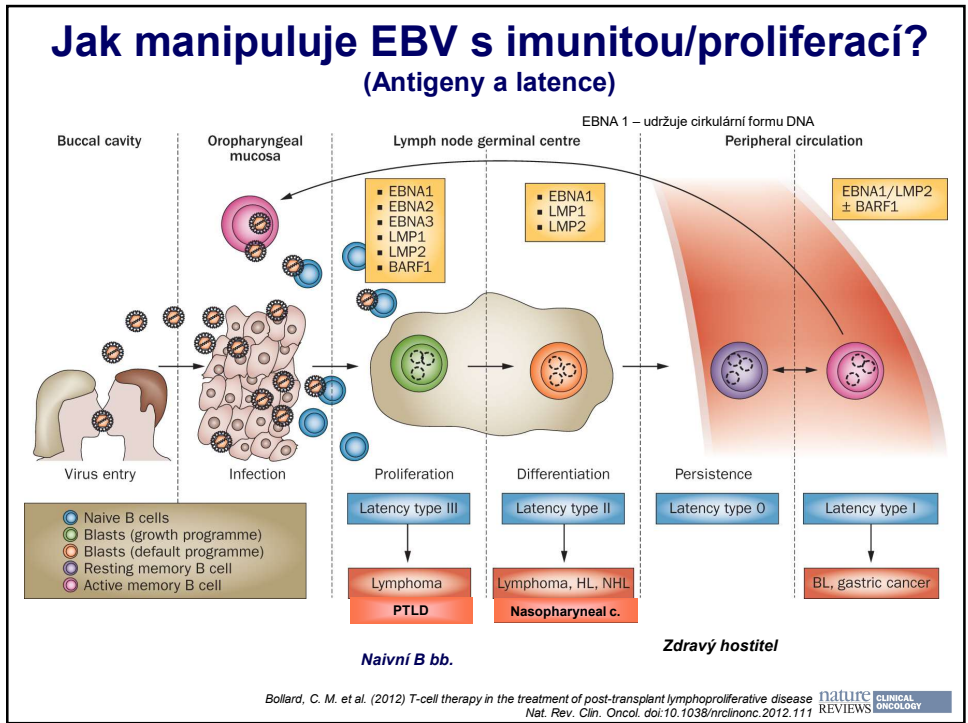
pozitivita pacientů dle věku při náběru





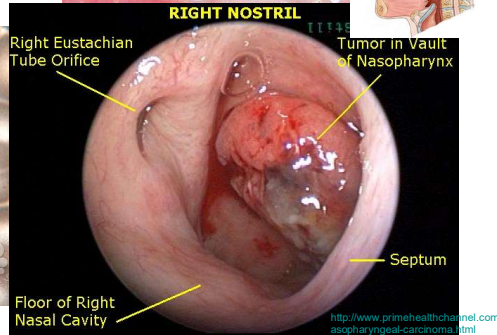
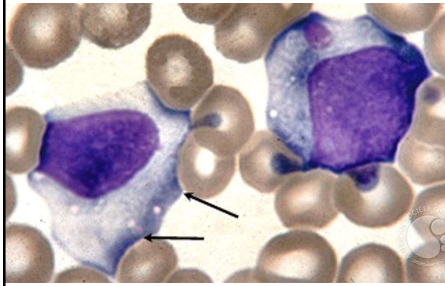
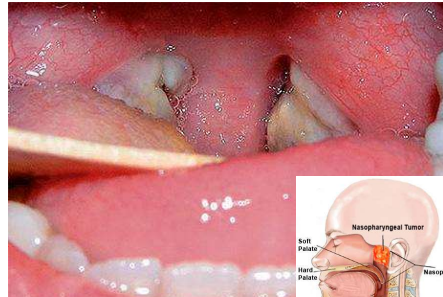
Jak manipuluje EBV s imunitou/proliferací?

- EBNA-1** 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
- EBNA-LP** 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
- EBNA-2** 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
- EBNA-3A** 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
- EBNA-3B** A coactivator of EBNA-2; dispensable for B-cell transformation; viral tumor suppressor; and upregulates CXCL10. EBNA-3B-knockout induces DLBCL-like tumors
- EBNA-3C** 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
- LMP-1** Mimics the constitutively active form of CD40, a major EBV-encoded oncogene; activates NF-κB, JNK and p38 pathways; is critical for EBV-mediated B-cell transformation, a major EBV-encoded oncogene; activates NF-κB, JNK and p38 pathways; and induces EMT of NPC and acquisition of CSC-like properties
- LMP-2A** Mimics constitutively active, antigen-independent BCR signaling through constitutive activation of the ERK/MAPK pathway²²⁴; blocks antigen-dependent BCR signaling; induces B-cell lymphoma in transgenic condition; is important but not essential for *in vitro* 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-κB inhibition and apoptosis; suppresses differentiation and promotes epithelial cell spreading and motility in epithelial cells; and enriches cancer stem cell-like population
- EBER** 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 eIF2α results in blockage of eIF2α-mediated inhibition of protein synthesis and resistance to IFNα-induced apoptosis
- miRNAs** Transcribed from BART and BHRF1; validated targets include Bim, BRUCE, CXCL11, DICER1, PUMA; has a role in sustaining latently infected cells. BHRF1 miRNA and BART miRNAs interfere with apoptosis. The miR-BART15-3p promoted apoptosis 331



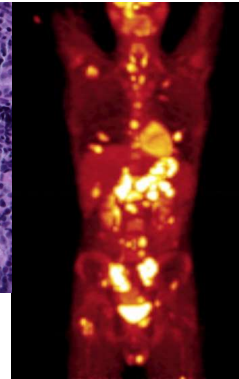
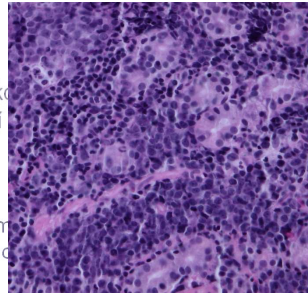
Patologické působení EBV

- **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



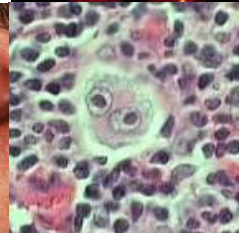
Patologické působení EBV

- **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.keom.edu/faculty/chamberlain/Website/lectures/lecture/aids.htm>

www.med-ed.virginia.edu/courses/path/innes/wcd/hodgkin

Infekční mononukleóza

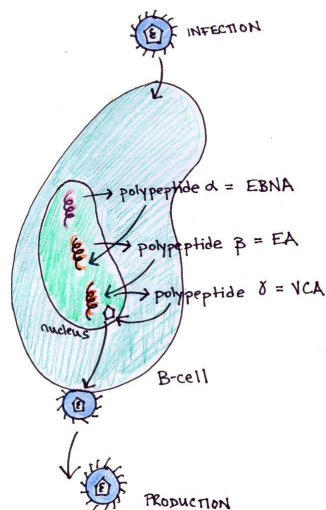
- „Kissing disease“
- proliferace postihuje slezinu a játra a uzliny
- celková únava, trvající až několik týdnů, zvýšená teplota až horečky (běžně kolem 39 °C), zánět nosohltanu a zvětšení uzlin (podčelistních a krčních); hepatosplenomegalie, hepatopatie, otoky víček a bličeje, nechutenství
- inkubační 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/~bobh/InfectiousMononucleosis.htm>

EBV antigeny (důležité pro detekci)

SYNTHESIS OF VIRAL ANTIGENS



http://www.brown.edu/Courses/Bio_160/Projects2000/Herpes/EBV/EBV-Virology.html

EBNA – EBV-encoded nuclear antigens (LP, 1, 2, 3A, 3B, 3C)

EBNA 1 – udržuje cirkulární formu EBV v buňce v době latence

EBNA 2 – hlavní spouštěč kaskády vedoucí k bb. transformaci

LMP1 – Latentní membránový protein 1

EBER – EBV-encoded RNA

formaci rezistenci k PKR dependentní apoptózu, indukuje IL-10, IL-9, nespecifickou imunitní odpověď

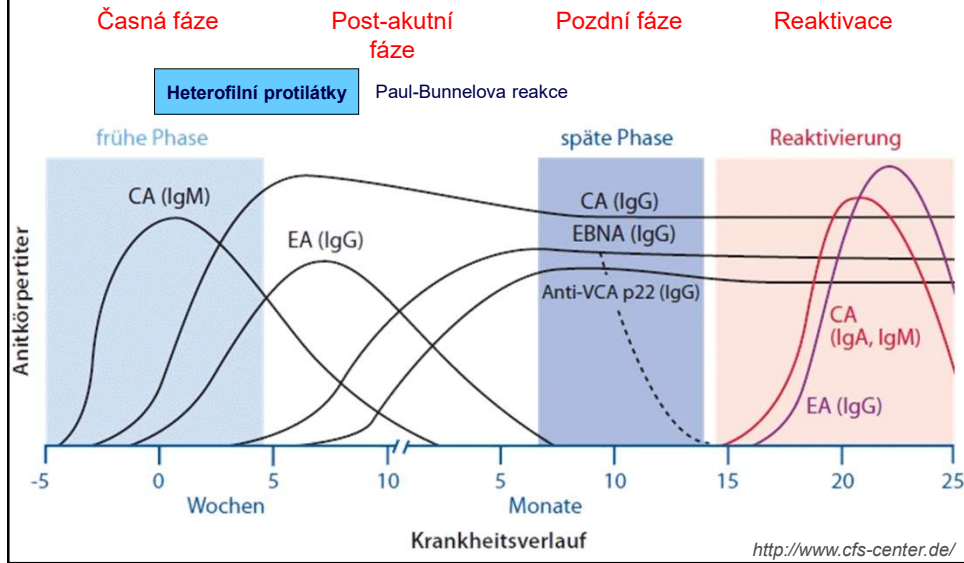
Transkribované buněčnou RNA pol III. – usnadňuje kolonií a indukují tumorigenezi, apoptózu, stejně jako k INF- α IGF1 a IL-6 a moduluje i

Early Antigen (EA) – objevuje se před virovou replikací

Viral Capsid antigen (VCA) – objevuje se po virové replikaci

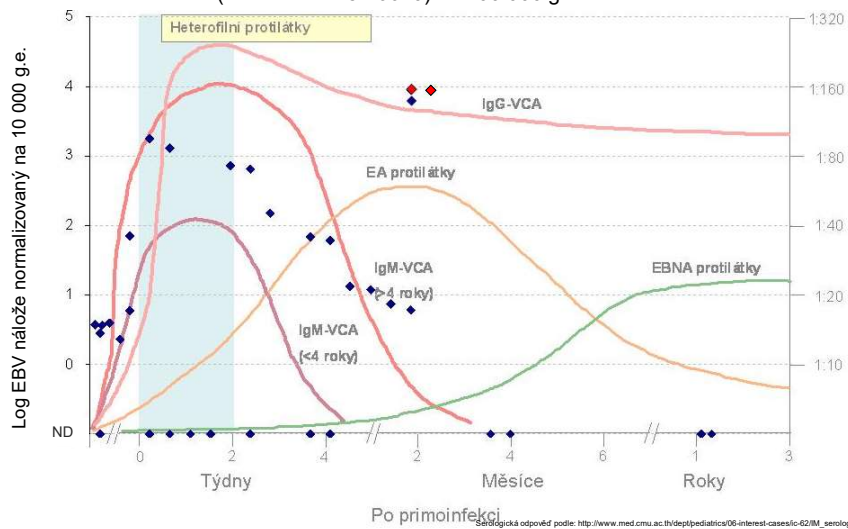
Diagnostika

Základní diagnóza EBV infekce je sérologická - nepřímá.



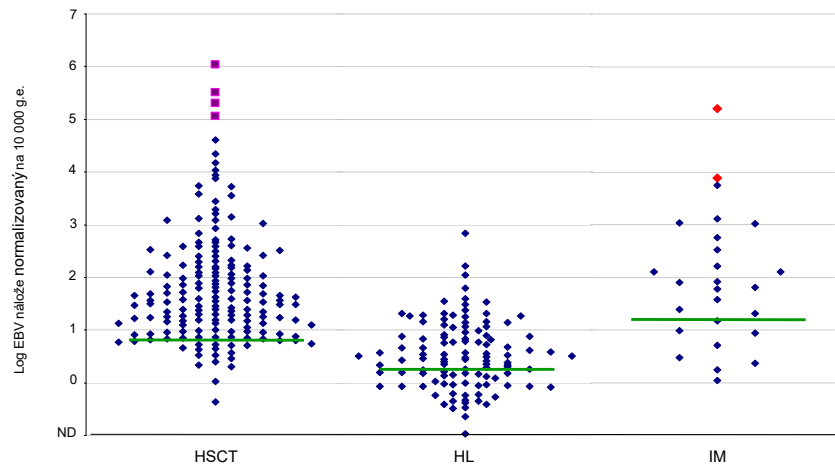
Pacienti s diagnózou B27 - IM

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



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, ≥ 5120 ; VCA IgA, positive; EA [D] IgG, ≥ 640 ; EA [D] IgA, positive; and EA [D] and EA [R] IgG, ≥ 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

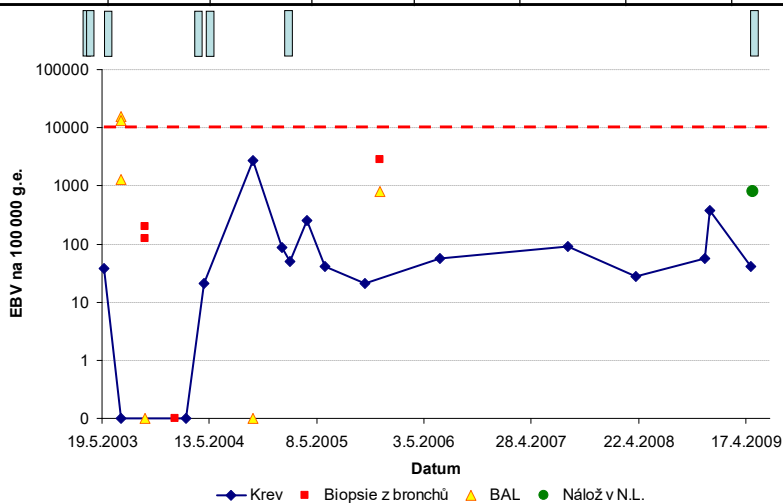
Chronická aktivní EBV infekce

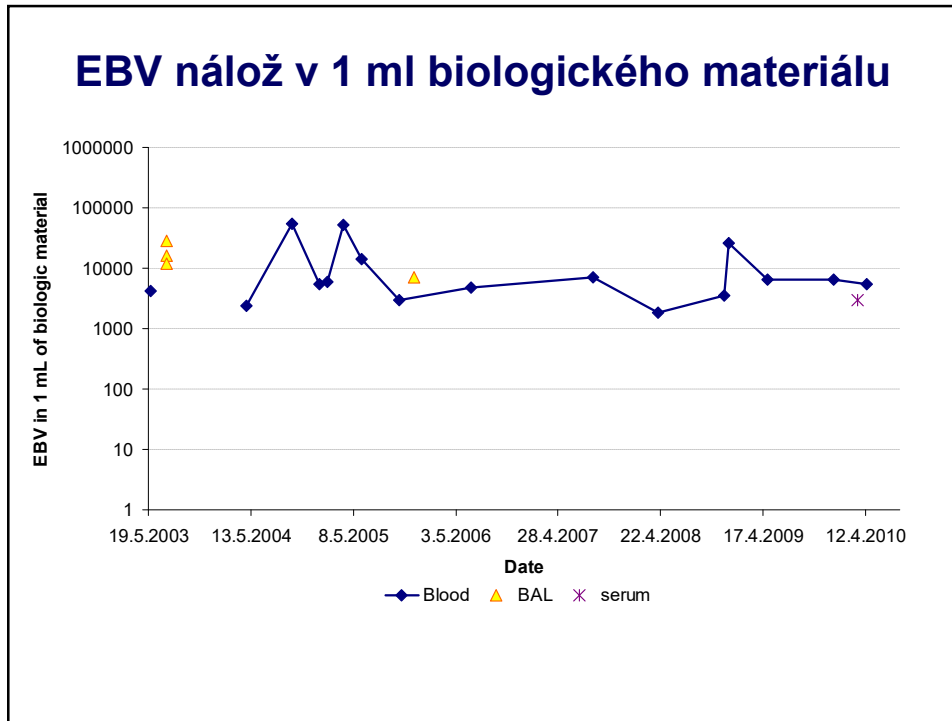
	T-cell type (n = 16)	NK-cell type (n = 12)	P	Table 2. Clinical features of 30 patients with chronic active Epstein-Barr virus infection			
				Symptoms and signs (%)		Life-threatening complications (%)	
Symptoms				Fever	100	Hemophagocytic syndrome	21
Fever, > 1 d/wk (%)	67	25	.04	Liver dysfunction	90	Coronary artery aneurysm	21
HMB (%)	13	75	.002	Splenomegaly	90	Hepatic failure	18
Splenomegaly (%)	73	100	.08	Lymphadenopathy	50	Malignant lymphoma	16
Large granular lymphocytosis (%)	13	83	.0004	Thrombocytopenia	50	Interstitial pneumonia	12
Calcification in basal ganglia (%)	7	33	.10	Anemia	48	Central nervous system involvement	7
Laboratory data				HMB	43	Sepsis	7
IgG (mg/dL, mean ± SD)	2213 ± 1104	1682 ± 464	.11	Skin rash	28	Pulmonary hypertension	4
IgE (IU/mL, mean ± SD)	282 ± 298	2774 ± 3774	.04	Calcification in basal ganglia	18	Intestinal perforation	4
VCA IgG (geometric mean titer)	2405	446	.01	Oral ulcer	18	Myocarditis	4
EA IgG (geometric mean titer)	831	119	.02	Hydroa vacciniforme	14		
EBNA (geometric mean titer)	30	45	.24				
Viral load				HMB indicates hypersensitivity to mosquito bites.			
PBMC (copies/μg DNA, mean ± SD)	10 ^{4.1±0.5}	10 ^{4.4±0.4}	.09				
Plasma (copies/mL, mean ± SD)	10 ^{2.9±1.1}	10 ^{2.4±2.1}	.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.

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





Maligní působení EBV

NHL - Burkittův lymfom

Velmi agresivní
 Obrázek „**Hvězdné oblohy**“ – „hvězdy“ jsou apoptotické nádorové buňky fagocytující makrofágy
 „obloha“ – nádorové lymfocyty
Typická změna t(8:14) chromosome 8 s c-myc onkogenem
 V rovníkové Africe incidence 5-15/100000 dětí
 V Evropě a USA 0,2-0,3/100000 obyvatel

http://mynotes4usmle.tumblr.com/post/33262736354/burkitts-lymphoma#_VPgrFSx5vU4

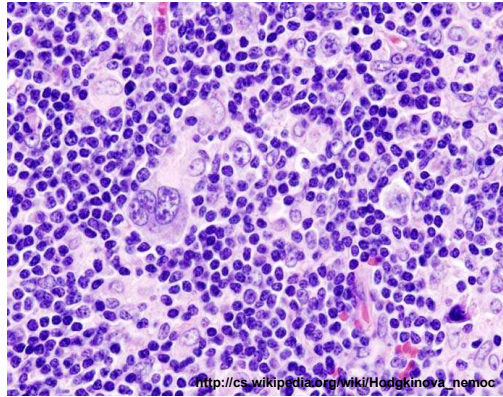
Maligní působení EBV

Hodgkinův lymfom

Vysoký počet pacientů v dlouhodobé remisi
Vyšší výskyt u mladších pacientů (kolem 20 let věku) a pak u starších 50-60 (medián věku při dg. 35 let)

Poměr maligních k nemaligním buňkám ~ 1:100

Incidence 2,4/100 000 u žen a 3,1/100 000 u mužů.



Histologicky se dělí dle počtu buněk **Reedové-Sternberga** (buňky vzniklé mutací z B-buněk) a dle stupně celulární reakce:

typ I s převahou lymfocytů (málo R-S buněk, hodně lymfocytů; nejlepší prognóza) (5 %);

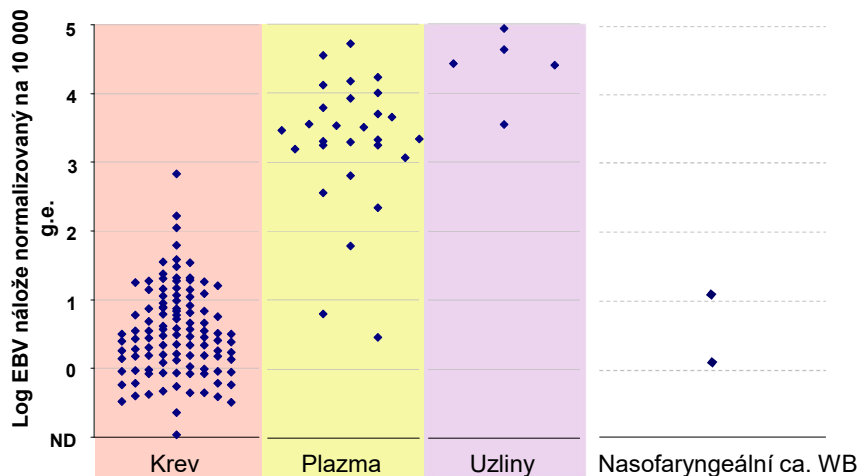
typ II nodulárně-sklerotický (nodulární ložiska, buňky (retikulární, lymfocyty, histiocyty) v kolagenních vláknech) (70 %);

typ III smíšený (20–25 %);

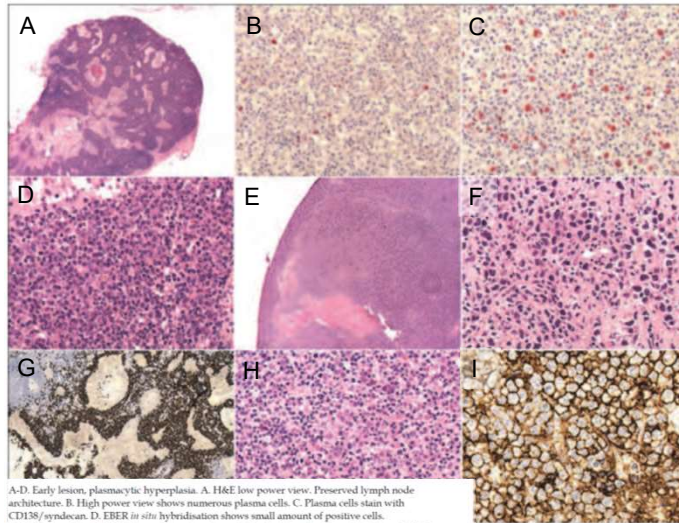
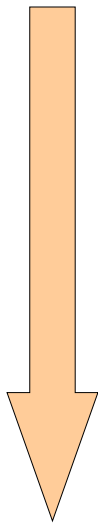
typ IV klasický, chudý na lymfocyty (Sternbergovy buňky zmnoženy; nejhorší prognóza) (1 %).

Pacienti s Hodgkinovou n. a NF ca.

- Pozitivní HL – 69 pacientů (38%)
 - pozitivních 110 vzorků plné krve (17%) a 30 vzorků plazmy (4,8%)
 - medián positivity v plné krvi 3,45 kopie (rozmezí 0,11 - 721)
 - medián positivity v plazmě 5 400 kopií/ml (rozmezí 600 - 126 600); po normalizaci na 10 000 g.e medián 2 500 (rozmezí 3 - 52 162)

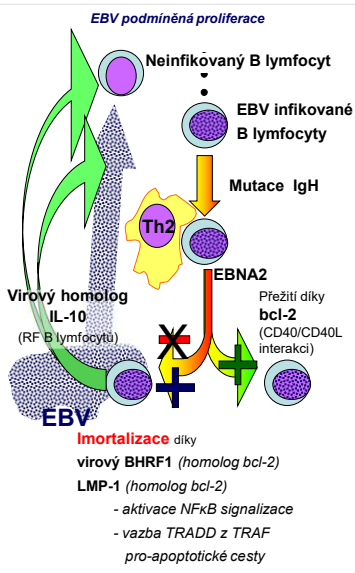


EBV asociovaná potransplantační proliferace (EBV-LPD)



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 ISH 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 Toussievr).

Etiopatogeneze a klasifikace EBV-LPD



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

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

Priznaky ruzné závažné poly-, oligo- až monoklonální proliferace.

Mononukleosa-like syndrom
Horečka, bolest v krku, myalgie, tonzilární hypertrofie a krční lymfadenopatie, hepatopatie

Tumorózní 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

EBV-LPD Incidence a rizikové faktory

Risk Factor	Degree of Risk	Study Reference(s)
EBV seronegativity pretransplant	24 × average risk	11–13
Younger age at transplantation	4–8 × adult risk	1,11
Type of immune suppression		
– Tacrolimus	2–5 × risk with cyclosporine	1,16,17
– OKT3 and/or ATG	3–4 × risk without these drugs	1
Type of organ transplant		
Kidney	1%–3% of all transplant patients	9
Liver	1%–3% of all transplant patients	
Heart	1%–6% of all transplant patients	
Heart-lung	2%–6% of all transplant patients	
Lung	4%–10% of all transplant patients	
Small bowel	20% of all transplant patients	
Time from transplant < 1 year	5–10 × risk at > 1 year	1
De novo CMV infection:		
CMV-positive recipient of a CMV-positive organ	4–6 × risk of CMV-negative recipient	21

ATG = anti-thymocyte globulin; CMV = cytomegalovirus; EBV = Epstein-Barr virus; OKT3 = muromonab-CD3 (Orthoclone OKT3); PTLN = post-transplant lymphoproliferative disorder.

U alogenní HSCT udávaná incidence 2-25%.

- Kumulativní intenzita imunosupresivní terapie
- Použití anti-T lymfocytárních protilátek v přípravě a/nebo potransplantační péči
- T-cell depletovaný štěp
- Intenzivní terapie GvHD
- Aktivace zpravidla kolem D+60

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...

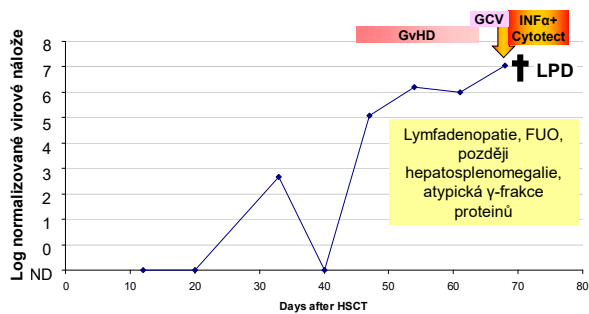
Pouhá detekce EBV DNA v krvi není dostačující.

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 testování pacienti



Dívka, 5.5 roku., HSCT pro ALL CR2.

Dárce: MMUD (8/10)

Štěp: BM

Příprava: TBI (12 Gy)

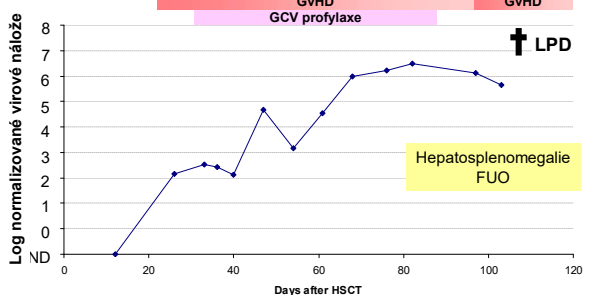
cyklofosfamid (120 mg/kg)

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)

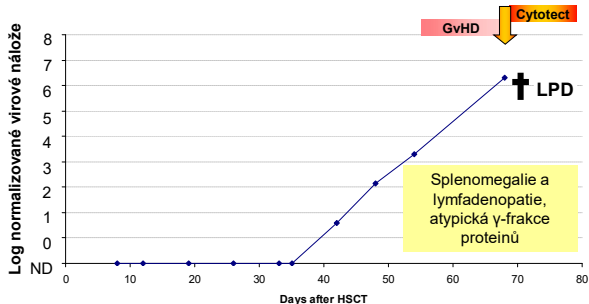
melfalan (140 mg/m²)

ATG (40 mg/kg)

GvHD: grade III (D+ 25; GIT)

Zemřela D+117 na krvácení a respirační selhání.

Retrospektivně testování pacienti



Chlapec, 5 r., HSCT pro JMML

Dárce: MUD

Štěp: BM

Příprava: busulfan (18 mg/kg)

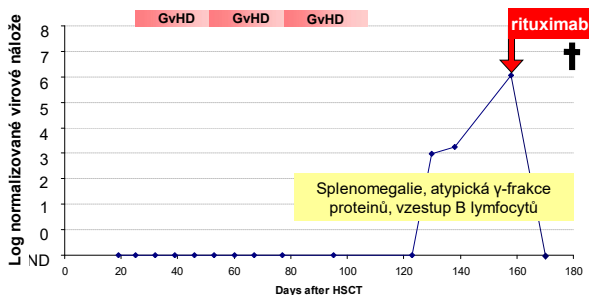
cyklofosfamid (120 mg/kg)

ATG (16 mg/kg)

GvHD profylaxe: CyA+MTX

GvHD: grade II (D+ 56; GIT)

Zemřel D+72 na MOF.



Chlapec, 11 r., HSCT pro AML CR2.

Dárce: MUD

Štěp: BM

Příprava: busulfan (16 mg/kg)

cyklofosfamid (120 mg/kg)

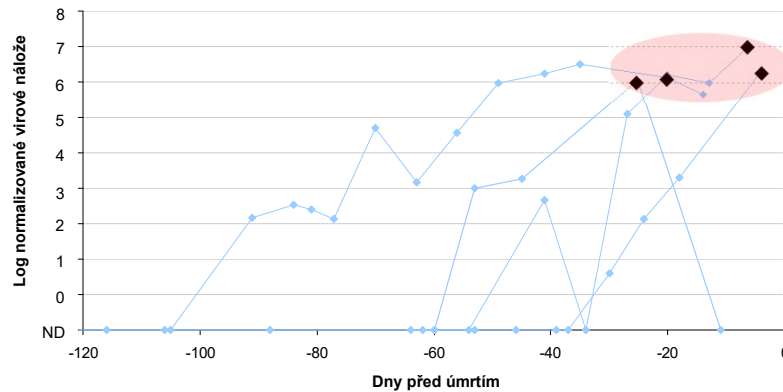
melfalan (140 mg/m²)

ATG (40 mg/kg)

GvHD: grade III-IV (D+ 23; GIT)

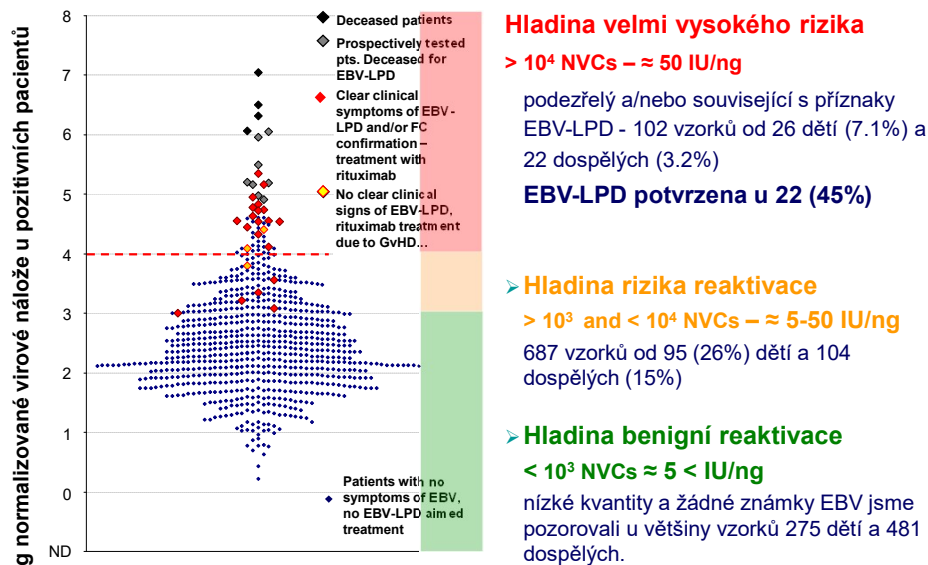
Zemřela D+182 na MOF.

Retrospektivně testování pacienti

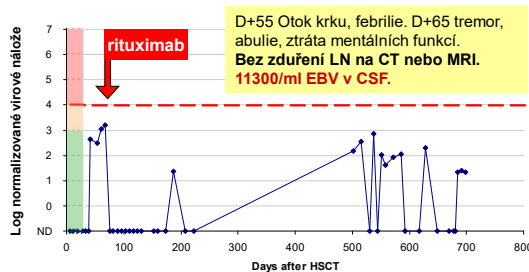


Maximum detekované kvantity byl mezi 1.16×10^6 and 1.17×10^7 NVCs.

Prospektivně testování – maximální kvantita EBV



Lokalizovaná EBV-LPD



Žena, 58 let, HSCT pro MDS/AML

Dárce: SD (8/10)

Štěp: PBSC

Příprava: idarubicine (21 mg/m²)

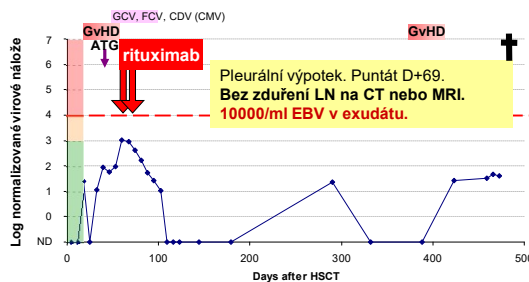
fludarabine (25 mg/m²)

TBI (12 Gy) ATG (40 mg/kg)

GvHD profylaxe: CyA, MMF

GvHD: grade II (D+22)

Výsledek: rychlé zlepšení, žije



Žena, 39 let, HSCT pro AML

Dárce: MMUD (9/10)

Štěp: PBSC

Příprava: idarubicine (21 mg/m²)

fludarabine (25 mg/m²)

TBI (12 Gy) ATG (40 mg/kg)

GvHD profylaxe: CyA+MMF

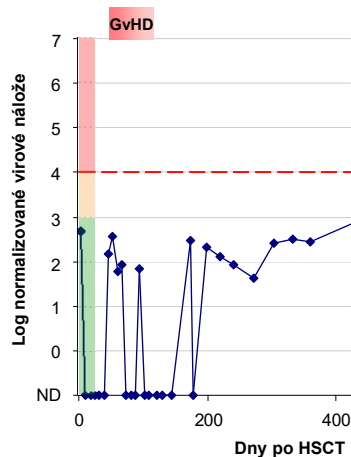
GvHD: grade III-IV (D+15)

Další: plicní proces neznámého původu

Výsledek: zemřela D+478

na MOF

Pacient 2 Lokalizovaná EBV-LPD (NHL)



Chlavec, 15 let, HSCT pro ALL v 1. CR
CMV, EBV, HSV seronegativní

Dárce: MSD (bratr)

Štěp: PBSC

Příprava: TBI (12 Gy)

etoposid (60 mg/kg)

GvHD profylaxe: CyA

Přihojení: D+14

Chimérismus: CC D+28

D+95 – 20% autologní (negativní MRD)

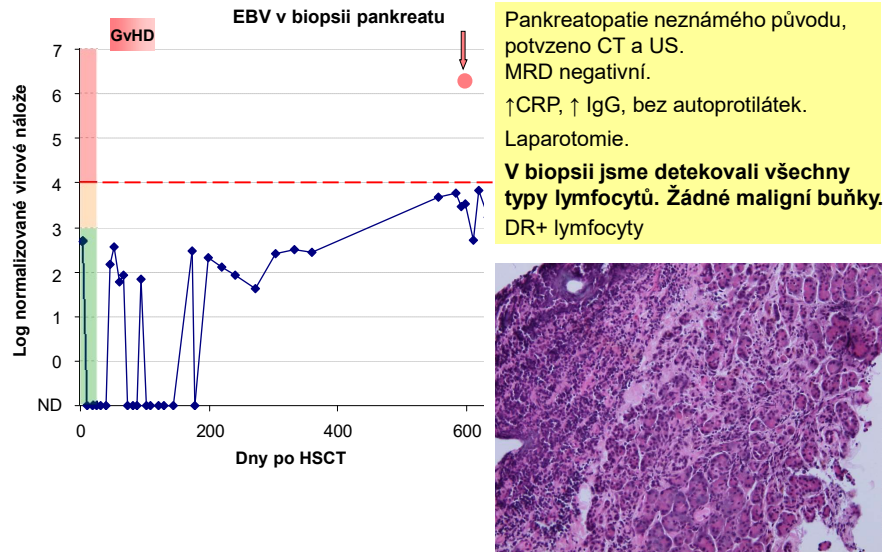
D+130 – 1% autologní (negativní MRD)

GvHD: grade II (D+28; GIT, kůže)

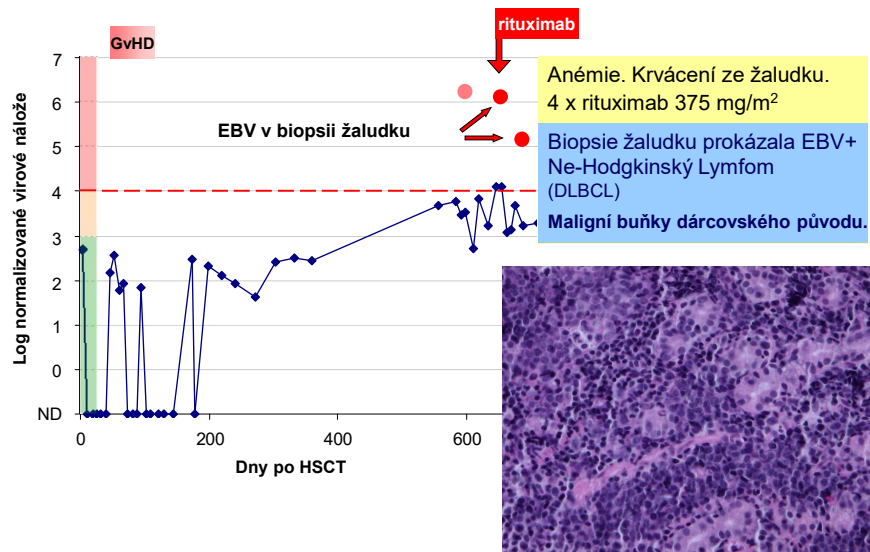
Th: MP (1 mg/kg; do D+74) + CsA (do D+102)

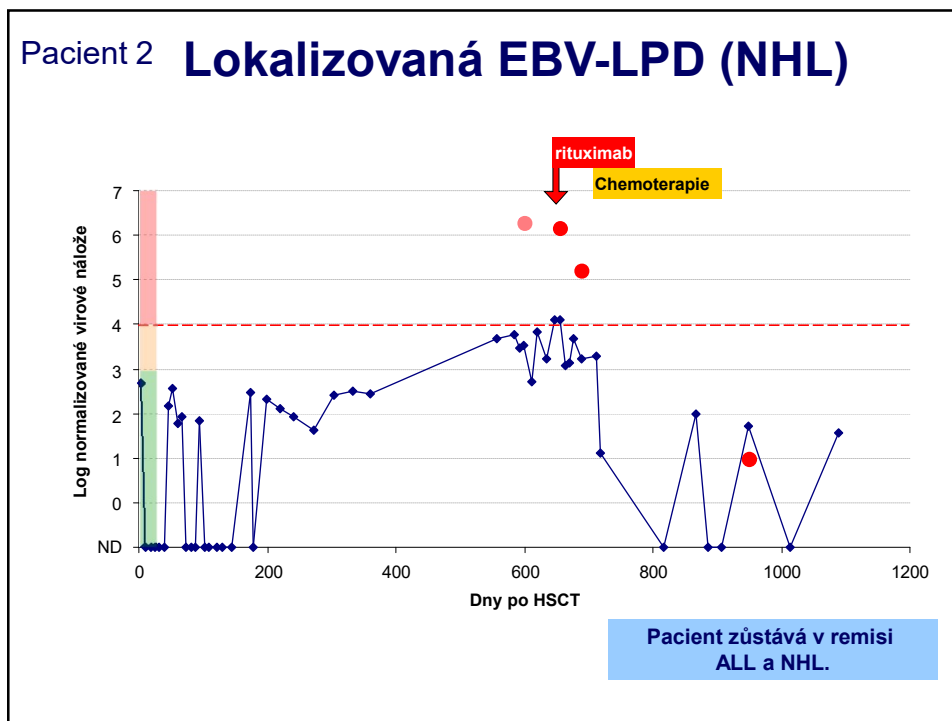
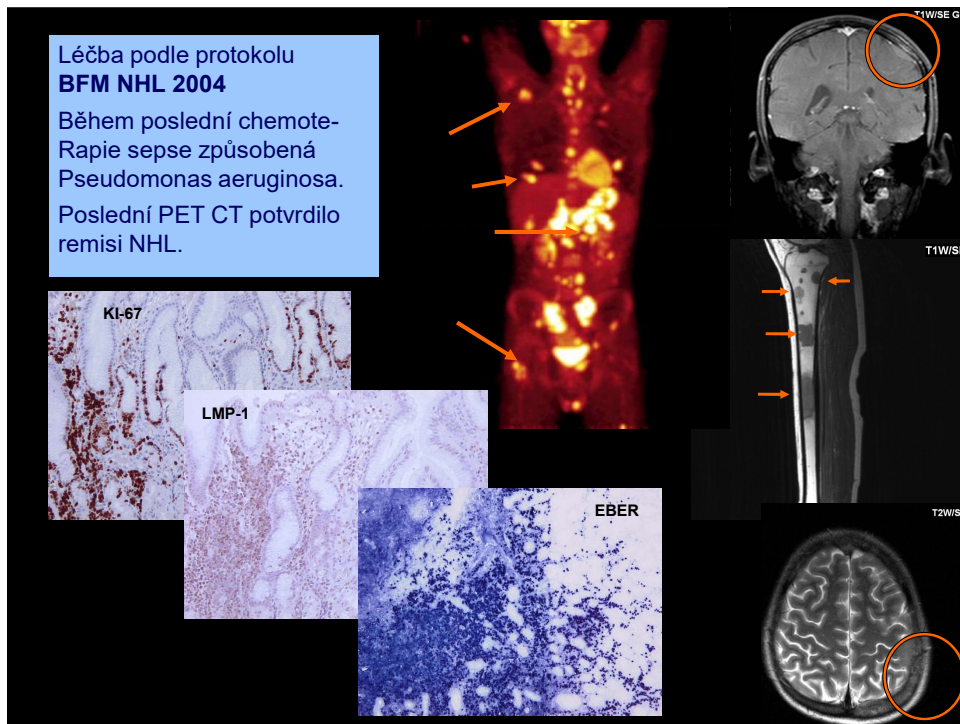
D+280 – Herpes zoster (ACV)

Pacient 2 **Lokalizovaná EBV-LPD (NHL)**

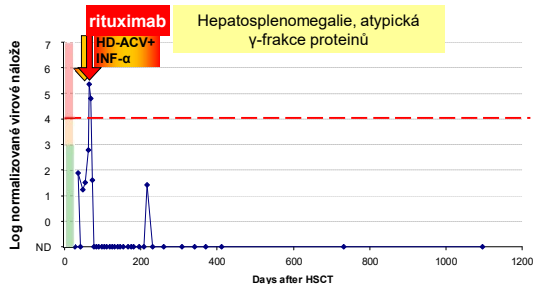


Pacient 2 **Lokalizovaná EBV-LPD (NHL)**

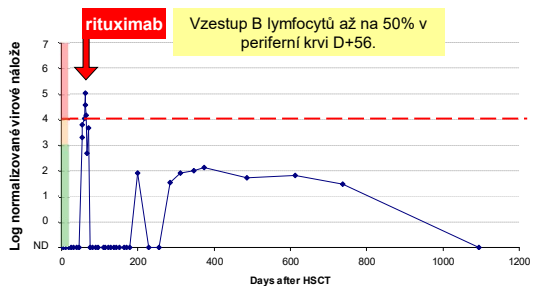




Generalizovaná EBV-LPD

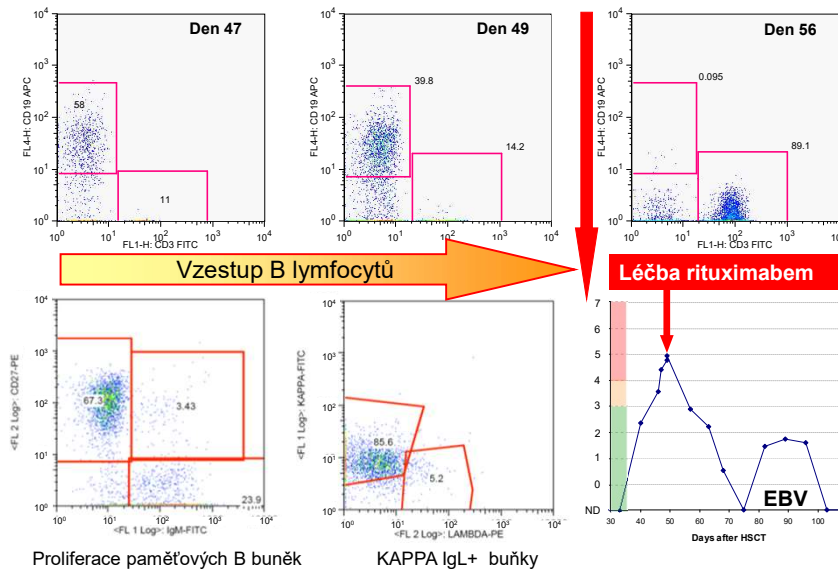


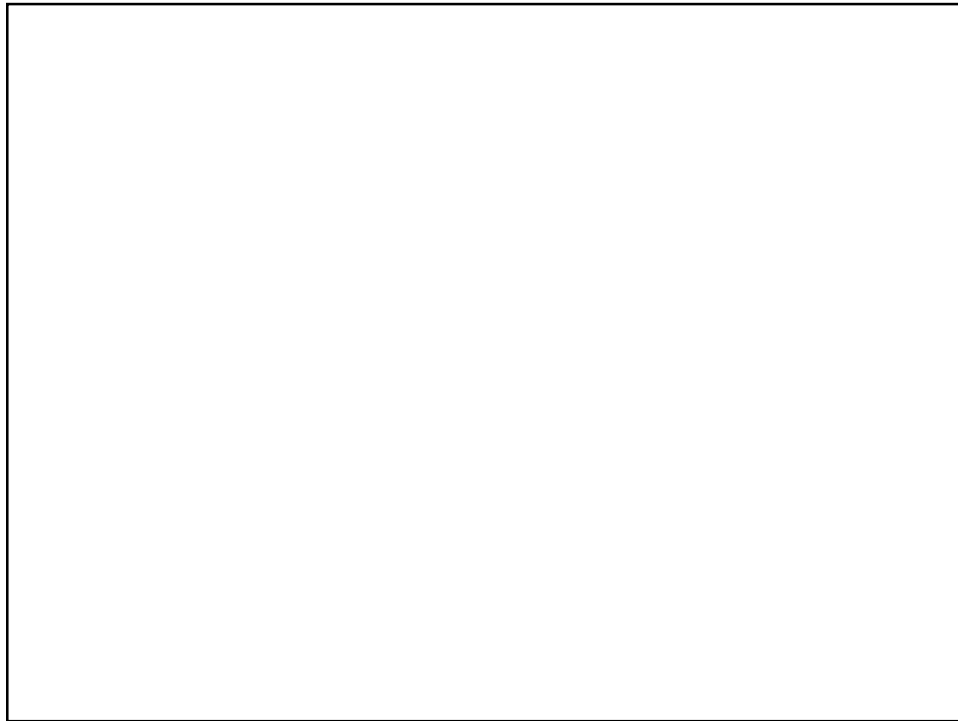
Chlapec, 3,3 r., HSCT pro MPS I
 Dárce: MMUD (5/6)
 Štěp: CB
 Příprava: busulfan (24.5 mg/kg)
 cyklofosfamid (200 mg/kg)
 ATG (40 mg/kg)
 GvHD profylaxe: CyA, MP
 GvHD: grade II (D+49; GIT)
rituximab den D+69
 Výsledek: žije, bez klin. problémů



Chlapec, 4,4 r., HSCT pro WAS
 Dárce: MUD
 Štěp: BM
 Příprava: busulfan (15.3 mg/kg)
 cyklofosfamid (200 mg/kg)
 ATG (40 mg/kg)
 GvHD profylaxe: CyA, MTX
 GvHD: grade II (D+54; GIT)
rituximab den D+56.
 Výsledek: žije, bez klin. problémů

Potvrzení EBV-LPD průtokovou cytometrií





Možnosti ovlivnění virových infekcí



Imunitní systém

(imunosupresivní léčba,
chemoterapie, ...)



Patogeny

Regulované lymfocyty – viry,
mykózy

1. Prevence – vakcinace
2. Snížení imunosupresivní léčby
4. Zlepšení funkce lymfocytů – NK, INF
6. Zlepšení fce/dodání specifických lymf.

3. Přibrždění virové proliferace virostatickou terapií
5. Zničení permissivních buněk

1. Prevence - Vakcinace

Doplňková očkování

Očkování proti klíšťové encefalitidě
Chřipce
Rotavirům
Lidským papilomavirům
Hepatitida A

Cestovatelská očkování
a speciální očkování
Vzteklina
Žlutá zimnice
Japonské encefalitidě

CHŘIPKOVÉ VAKCÍNY
Dnes jediná vysoce účinná prevence chřipky



celovirionové vakcíny
obsahují kompletní viry

vakcíny typu „split“
obsahují virové částice ve vysoce purifikované formě

subjednotkové vakcíny
obsahují pouze purifikované HA a NA antigeny

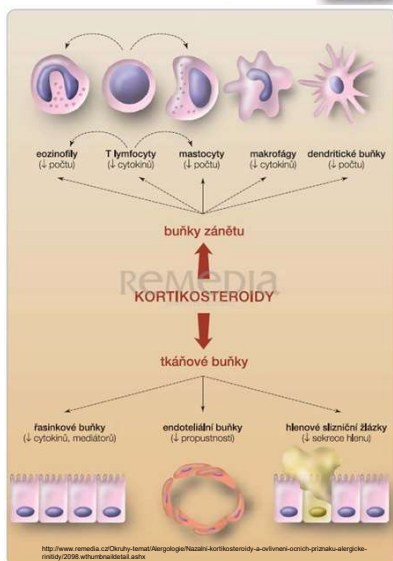
Vakcíny sezónní i pandemické s adjuvantním prostředkem nebo bez něj, injekční do svalu či kůže nebo ve spreji na sliznici nosní

2. Snížení imunosupresivní léčby

Autoimunitní onemocnění
Transplantovaní pacienti
Iatrogení imunosuprese

KORTIKOSTEROIDY
> 2 mg/kg vedou k jasné lymfopénii

„BIOLOGICKÁ LÉČBA“
infiximab (anti TNF- α)
basiliximab (anti CD25 – α řetězec IL-2R)
Campath (anti CD-52)
Antithymocytární globulin (ATG)



Acyclovir

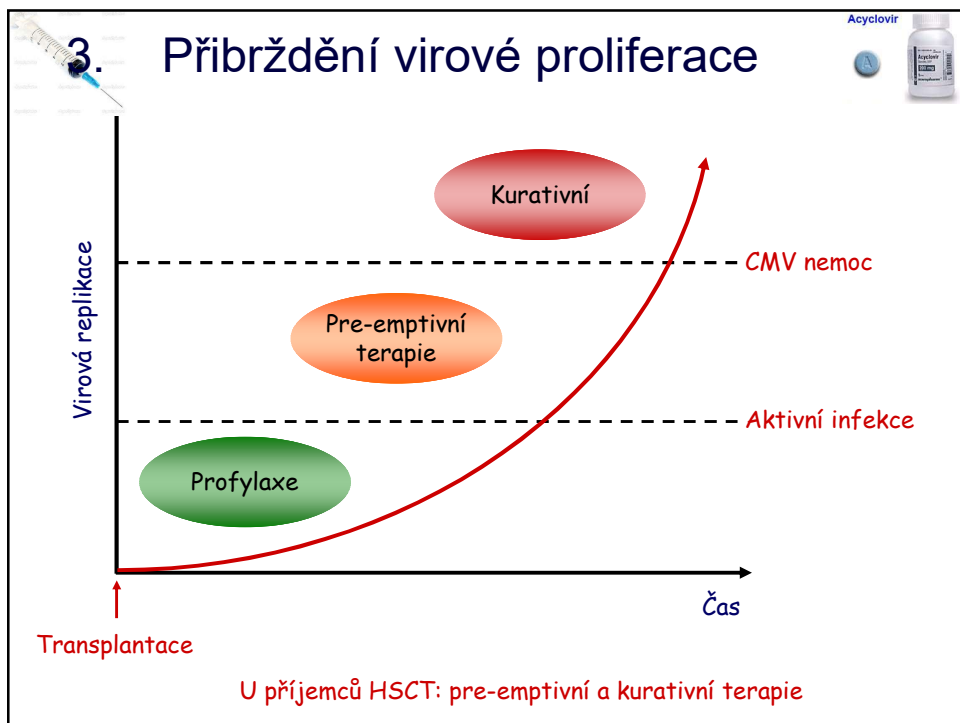
3. Přibrždění virové proliferace

Acyclovir

Zaměřené na virové proliferačně důležité proteiny	Protilátky proti permissivním buňkám anti CD20 - rituximab	Neutralizační protilátky Profylaktická prevence motavizumab
DNA/RNA polymeráza herpesviry, AdV		palivizumab (Synagis)
Revezní transkriptáza		Humanizovaná neutralizační protilátka proti F- proteinu RSV
Proteázy		
Neuraminidáza		

HCV, HBV, HIV
herpesviry

Huang K et al. J. Virol. 2010;84:8132-8140



3. Přibrždění virové proliferace

Virostatika

zpravidla analogy buněčných nukleotidů blokující (více méně specificky) virovou polymerázu (acyklovir, ganciklovir, cidofovir...), nebo látky přímo blokující virovou polymerázu bez podobnosti nukleotidům (např. foscarnet) nebo látky blokující virové proteiny (inhibitory neuraminidáz..)

Nejčastěji používaná virostatika používaná při léčbě α -herpesvirových infekcí (podle ECIL3).

Guanidine trifosfát (GTP)

acyklovir

famciclovir

valacyclovir

Léky první volby.

cidofovir

foscarnet

Léky používané při HSV rezistentní k léčbě.

3. Přibrždění virové proliferace

→ Inhibitors of CMV DNA polymerase UL54

(V)GCV

CDV

FOS

Nucleoside/nucleotide analogues

Pyrophosphate analogue

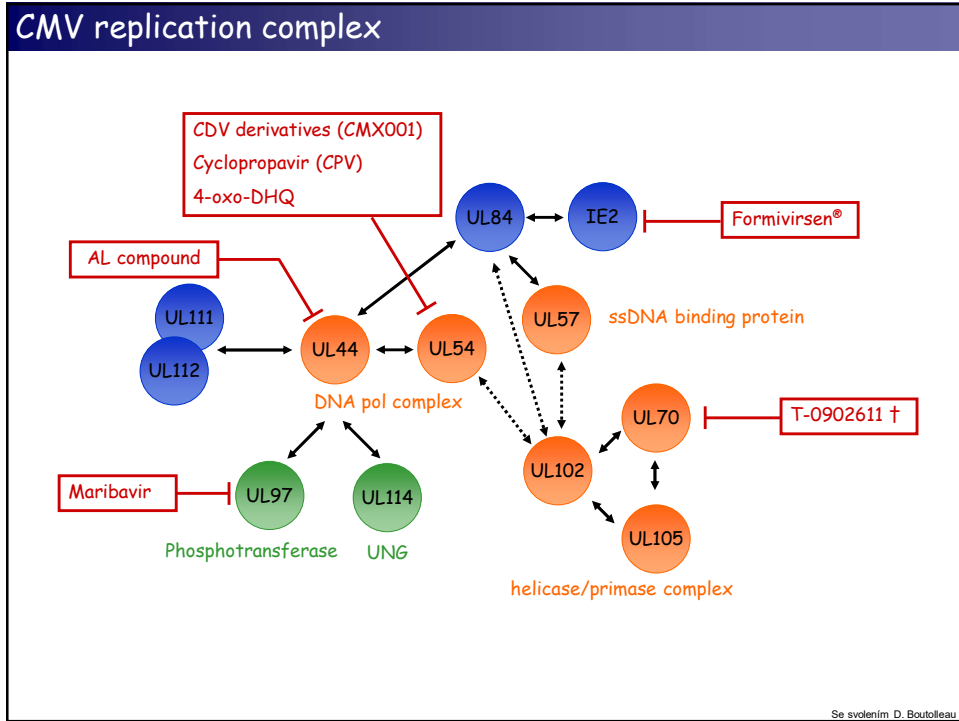
UL97 Phosphotransferase converts GCV to GCV-P.

Cellular kinases convert GCV-P to GCV-PP and GCV-PPP, and CDV to CDV-P and CDV-PP.

UL54 DNA polymerase is inhibited by GCV-PPP, CDV-PP, and FOS, leading to **Inhibition of viral DNA synthesis**.

Competition with dNTP occurs at the UL54 DNA polymerase step.

Se svolením D. Bouteleau



3. Přibrždění virové proliferace

Inhibice herpesvirů a místa vývoje rezistence

HSV, VZV Thymidine Kinase

ACV → ACV - mono P → ACV - PPP → Inhibition of viral DNA polymerase

PEN → PEN - mono P → PEN - PPP → Inhibition of viral DNA polymerase

GCV → GCV - mono P → GCV - PPP → Inhibition of viral DNA polymerase

CMV UL97

Drugs bypassing monophosphorylation pathway: Foscarnet, Cidofovir, Trifluorothymidine

HSV, VZV drug resistance due to viral enzyme alterations at positions 1 and 3
CMV drug resistance due to viral enzyme alterations at positions 2 and 3

ACV = aciclovir PEN = penciclovir GCV = ganciclovir P = phosphate

http://biology.karolyn.edu/lab/bio38/standakl_02acyclovir_fig2.JPG

Acyclovir (ACV)

extracellular

intracellular

viral thymidine kinase

activation by phosphorylation

Acyclovir-MP

cellular GMP kinase

Acyclovir-DP

cellular phosphatases

Acyclovir-TP

viral DNA polymerase

competitive inhibition

deoxy-guanosine triphosphate (dGTP)

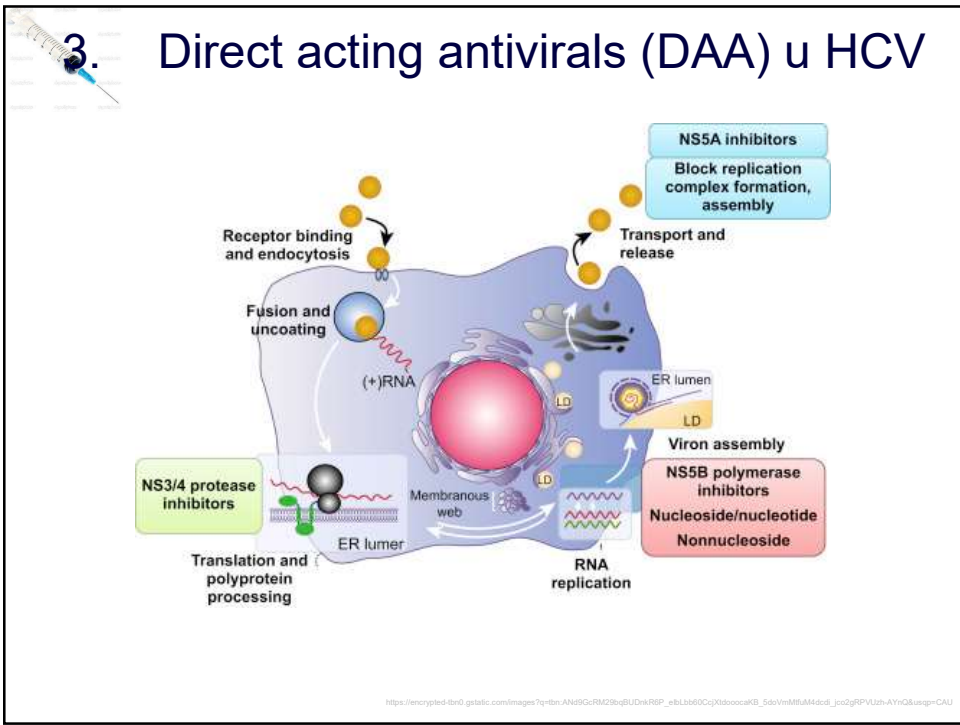
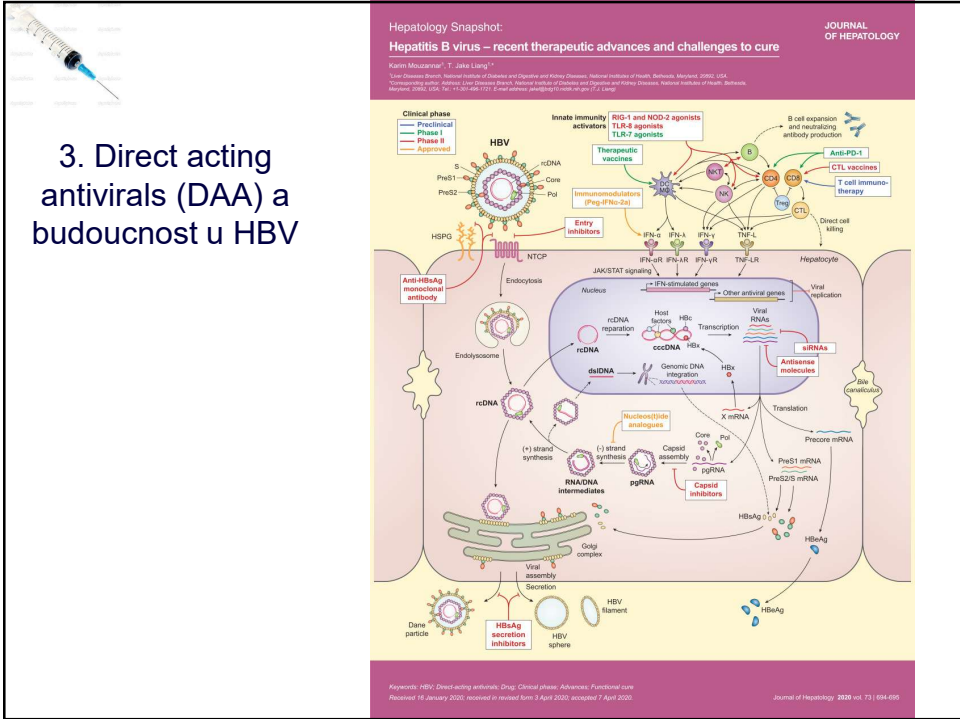
incorporation into primer strand

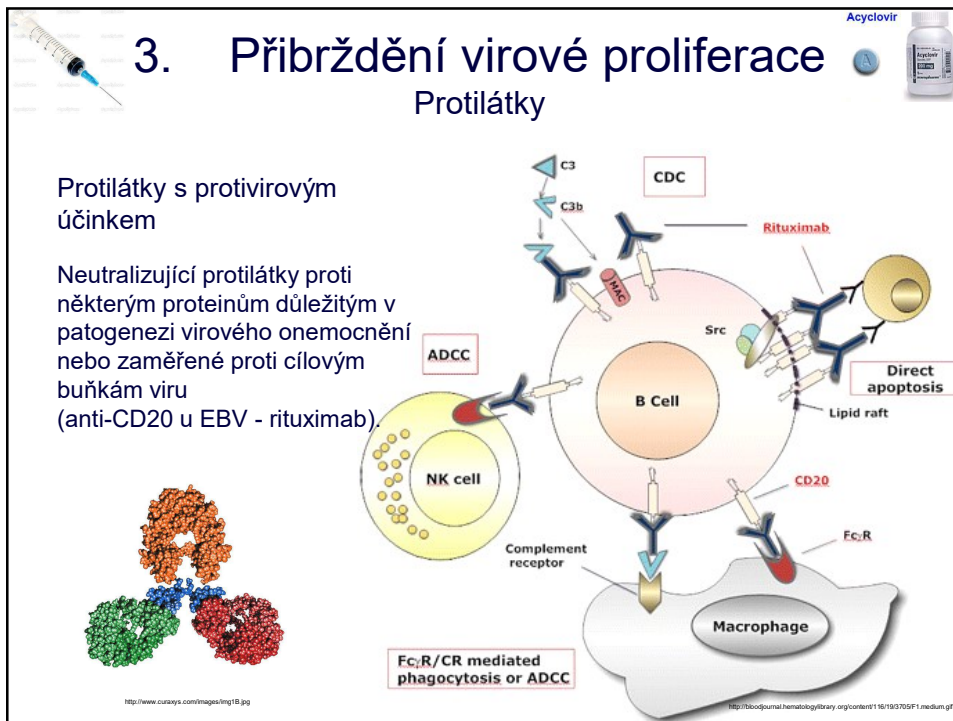
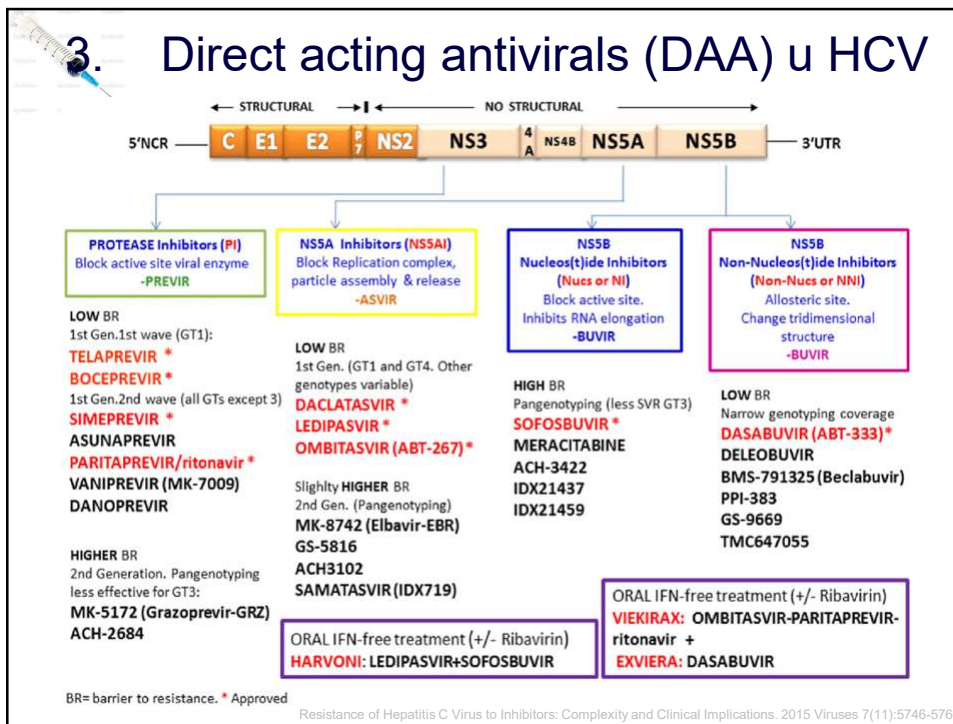
nonfunctional complex

DNA chain termination

template

primer





Dávkování nejčastějších protivirových léků

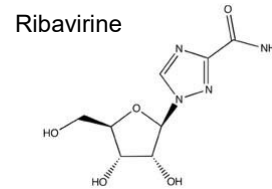
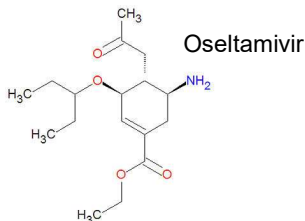
- **acyklovir** (HSV, VZV)
 - **Profylaktické podávání** – 500 mg/m²/dávku v KI na 60 minut 2xdenně s maximem 750 mg/dávku
 - **Terapeutické podávání** – po dobu 7–10 dní
250 mg/m²/dávku v KI na 60 minut a 8 hod. s maximem 500 mg/dávku (resp. 10-15 mg/kg/dávku)
- **ganciklovir** (CMV, HHV-6, HHV-7)
 - **Terapeutické podávání** – po dobu alespoň 3 týdny
2 týdny 5 mg/kg/dávku v KI na 60 min a 12 hod. 2 týdny, následně 5 mg/kg/dávku v KI na 60 min/ den
- **foscarnet** (CMV, HHV-6, HHV-7, HSV, VZV)
 - **Terapeutické podávání** – po dobu 3 týdnů
60 mg/kg/dávku v KI na 60 min (nebo i.v.) a 12 hod. 1- 2 týdny, následně 90 mg/kg/dávku v KI na 60 min (nebo i.v.) a 24 hodin
- **cidofovir** (CMV, HHV-6, HHV-7, HSV, VZV, adenoviry, BKV, ...)
 - v případě CMV nemoci 5 mg/kg/dávku v KI (1/1 fyziologický roztok) 1x týdně
- **oseltamivir** (Influenza)
 - **Profylaktické podávání** - 30-60 mg u dětí mladších 12 let dle váhy (pod 15 kg - 30 mg, 15 až 23 kg - 45 mg, 23 až 40 kg – 60 mg), u pacientů starších než 13 let a těžších než 40 kg pak 75 mg po dobu alespoň 10 dní.
 - **Terapeutické podávání** - alespoň 10 dní u dětí i dospělých; dvojnásobek profylaktické dávky - u dospělých 75 mg 2x denně, ve velmi závažných případech pak 150 mg 2x denně.

Nežádoucí účinky nejčastějších protivirových léků

- **Acyklovir/valaciklovir**
 - **NÚ zpravidla reverzibilní**, obvykle u pacientů s hepatopatií.
 - vzácně poruchy krvevorbny a lymfatického systému (anémie, leukopenie, trombocytopenie), hepatitída, případně nefrotoxicita.
- **Ganciklovir/valganciklovir**
 - **myelosupresivní účinky** (neutropenie (25–40 %), trombocytopenie (9-20 %)
 - nauzea, zvracení a průjem, vzestup JT; zmatenost a křeče; renální insuficience (vzácně u pacientů po transplantaci srdce); zcela vzácně exantém či eosinofilie
- **Foscarnet**
 - **Nefrotoxicita**-vzácně akutní renální (urémie a polyurie), případně metabolická acidóza a diabetes insipidus
 - Zvýšení JT, LDH, ALP a amylázy; často nauzea, zvracení a průjem, rash (exantém), třes, svalová slabost a vzestup tělesné teploty, trombocytopenie, hypokalémie, hypomagnezémie, hypo- nebo hyperfosfátémie, **hypokalcémie** (krátce po infuzi případně tonicko-klonické křeče) - zvýšené riziko při poškození CNS a podávání Ciprofloxacinu
 - bolesti hlavy, únava, parestézie, třes, ataxie, neuropatie, hypestézie, stavy zmateností, deprese, psychóza, agresivní reakce; změny na EKG, hyperhypotenze, vzácně i komorové arytmie
 - Při podání koncentrovaných roztoků (nad 12 mg/ml) do periferní žíly se často objevuje flebitida (tromboflebitida).

Nežádoucí účinky nejčastějších protivirových léků

- **Cidofovir**
 - **nefrotoxicita** – proteinurií, zvýšení kreatininu; akutní i s odstupem;
 - dobrá hydratace, případě probenecid
 - potenciálně až **chronickému renálnímu selhání** s dialýzou
 - další běžnější neutropenie, bolesti hlavy, nauzea, zvracení, alopecie, vyrážka, slabost a horečka. Je popsána také okulární toxicita.
- **Osetamivir**
 - nejčastěji nežádoucí účinky nauzea, zvracení a bolesti břicha
- **Ribavirin**
 - **poruchy krvetvorby, deprese, teratogenní účinky (inhalace)** Z toho původu nesmí být účinkům ribavirinu vystaveni ani muži ani ženy uvažující o početí dítěte. V případě větší kumulativní dávky pak přetrvává riziko teratogenicity ještě několik měsíců. nauzea, bolesti břicha....



http://en.citandium.org/images/thumb/6/68/Osetamivir_structure.png/350px-Osetamivir_structure.png

http://chem.libretexts.org/@id/id12528/1.11/Chemical_Structure_of_Ribavirin

4. Zlepšení funkce lymfocytů

Protilátky

ADCC
– antibody dependent cellular cytotoxicity

Dají se použít jak specifické, tak „nespecifické“ IVIG, tak hyperimunní globuliny - Cytotect®,...

Acyclovir

Rituximab

CD20

B lymfocyt

Src kináza

ADCC

NK lymfocyt

FcR





mechanismy apoptózy

komplementem zprostředkovaná lyza buňky

<http://img.nf.cz/401485a.jpg>

4. Zlepšení funkce lymfocytů

Interferon α

Používá se zejména při léčbě hepatitidy B a C.

Na trhu několik přípravků lišících se typem interferonu I – $\alpha 2a$

Např. (rekombinantní Roferon A), $\alpha 2b$ (rekombinantní - INTRON A), případně pegylované interferony tj. s polyetylglykolem (Pegasys™, PEG-INTRON)

Dávka: obvykle 2,5 - 5,0 milionů IU/m², resp. až 10 milionů IU/m² u dětí s.c., 3× týdně po dobu 4–6 měsíců.





Dávkování může být v případě nežádoucích účinků upraveno.

Není-li po 3–4 měsících léčby zlepšení, je třeba uvažovat o přerušení terapie.

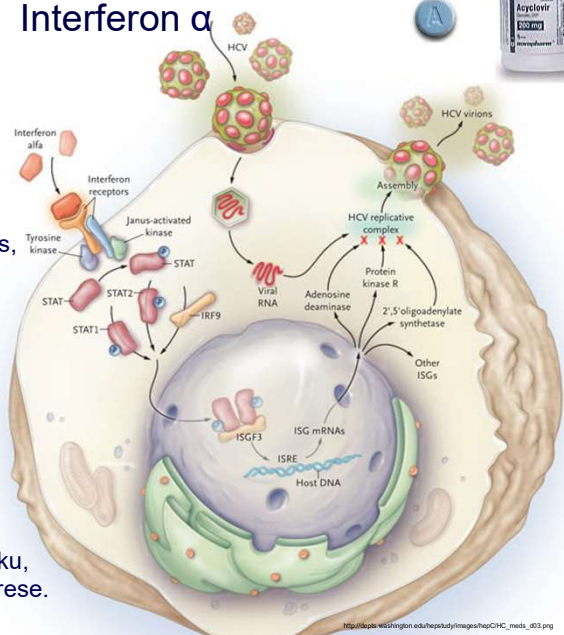
Pacientům nad 18 let je v současnosti doporučen pegylovaný interferon- $\alpha 2a$ v dávce 180 μg /týden v jedné dávce s.c.; délka léčby dle odpovědi na léčbu - při dobré odpovědi trvá 48 týdnů.

4. Zlepšení funkce lymfocytů

Interferon α

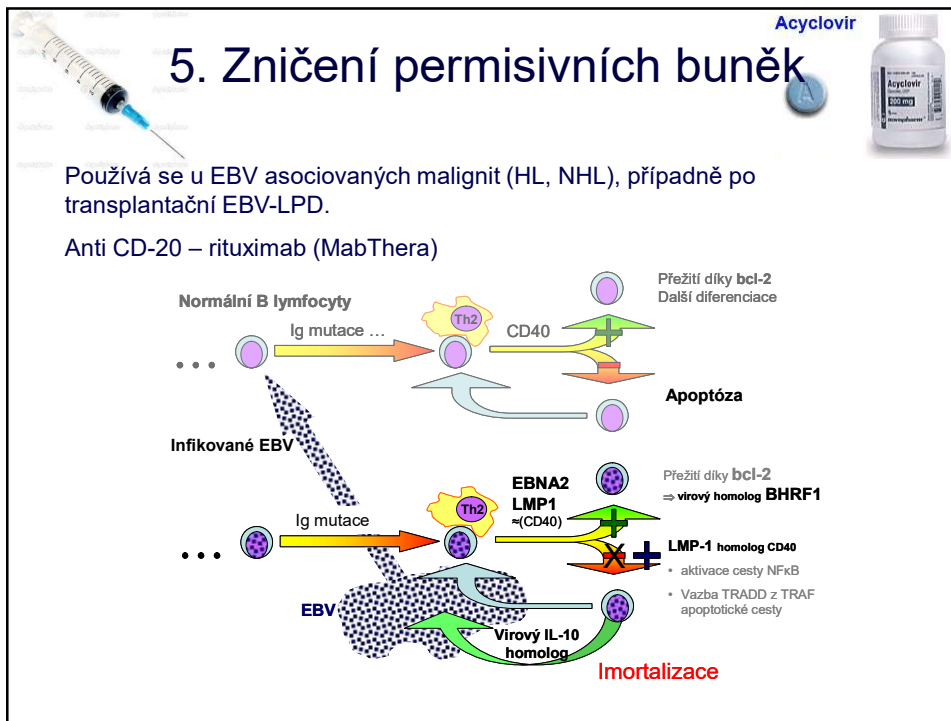
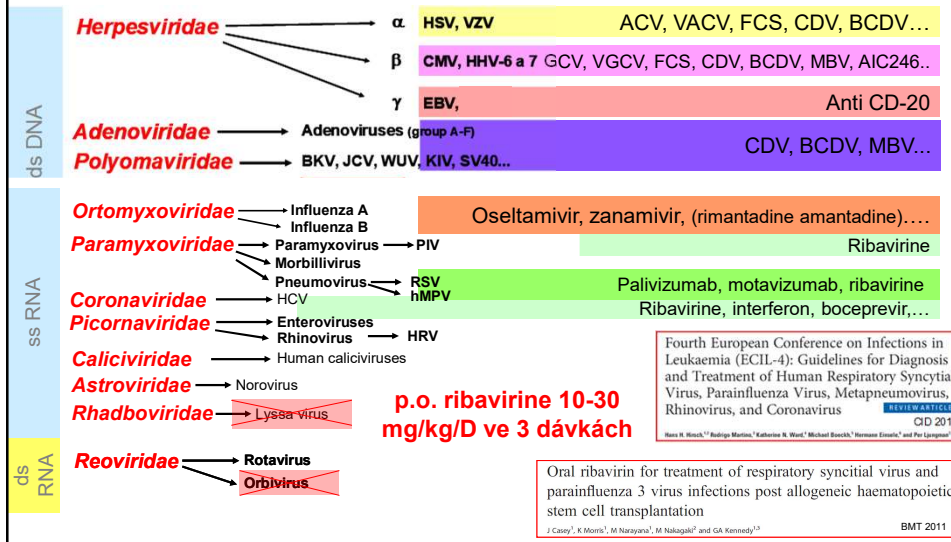
NÚ:
 „flu-like“: únava, zimnice, bolest svalů nebo kloubů, bolest hlavy, pocení nebo horečka.
 Vzácněji pneumonie a herpes, anémie, trombocytopenie, Leukopenie, autoimunitní stavy, sarkoidóza, poruchy štítné žlázy, zažívání, hypo- a hypertenze, proteinurie a poruchy renálních funkcí, glykémie a homeostázy. Případně účinky na CNS např. poruchy citlivosti, spánku, nervozita, stavy úzkosti, deprese.

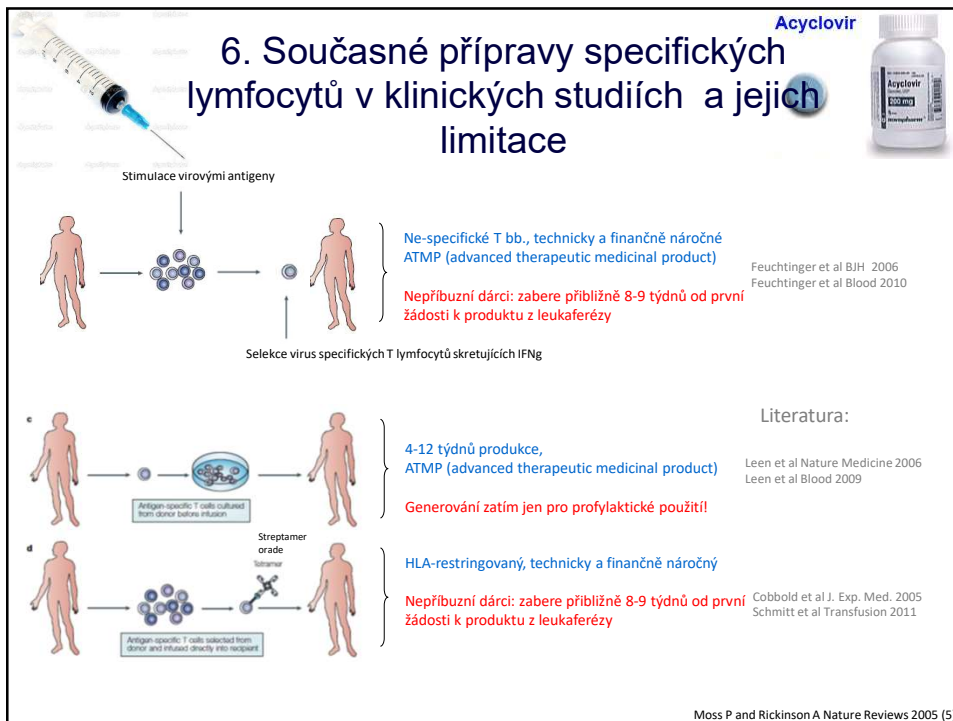
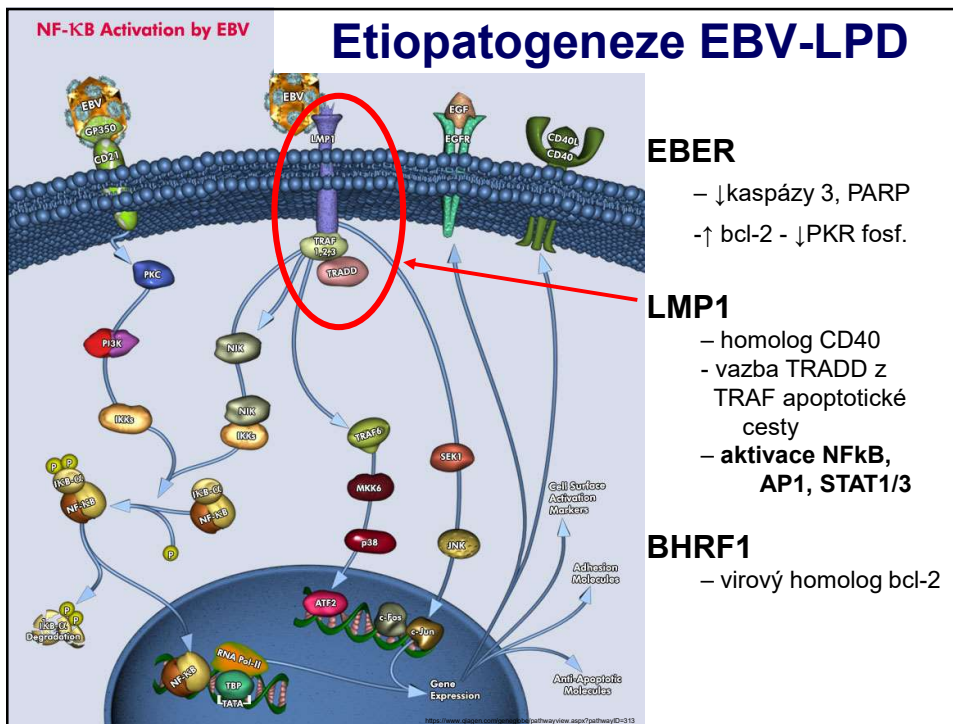


http://dx.doi.org/10.1002/hep.20303


Terapeutické možnosti virostatik a specifických protilátek

více či méně specifické pro určité virové skupiny :



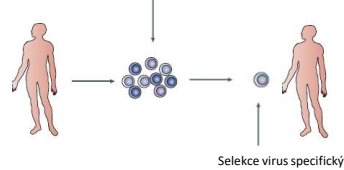


Acyclovir



6. Současné přípravy specifických lymfocytů v klinických studiích a jejich limity

Stimulace virovými antigeny



Selekce virus specifických T lymfocytů sekretujících IFN γ

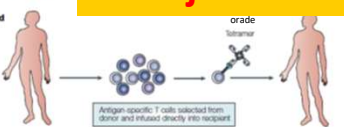
Ne-specifické T bb., technicky a finančně náročné
ATMP (advanced therapeutic medicinal product) Feuchtinger et al BJH 2006
Feuchtinger et al Blood 2010

Nepříbuzní dárci: zabere přibližně 8-9 týdnů od první žádosti k produktu z leukaferézy

Přes slibné výsledky zatím nejsou vhodné pro široké klinické použití.
Zejména díky ceně cca 8-14 000 Eur

icine 2006

HLA-restringovaný, technicky a finančně náročný



Antigen specific T cells selected from donor and infused directly into recipient

Nepříbuzní dárci: zabere přibližně 8-9 týdnů od první žádosti k produktu z leukaferézy Cobbold et al J. Exp. Med. 2005
Schmitt et al Transfusion 2011

Moss P and Rickinson A Nature Reviews 2005 (5)

Zásadní pro úspěch terapie je ale stále zásadní...



... rekonstituce imunity!

