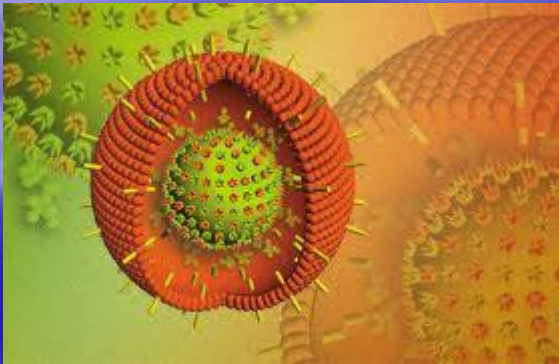


EPSTEIN BARR VIRUS



Ερπητοϊοί

- Τρεις υποοικογένειες:
 - Ερπητοϊοί άλφα :
 - HSV-1, HSV-2, VZV
 - Ερπητοϊοί βήτα :
 - CMV, HHV-6, HHV-7
 - Ερπητοϊοί γάμμα :
 - EBV, HHV-8

Ιστορικά στοιχεία

- Το **1964**, ο **Epstein και Barr**
 - Αναγνωρίζουν τον με ΗΜ σε κύτταρα λεμφώματος Burkitt.
Μεταγενέστερες επιδημιολογικές μελέτες συνδέουν τον ιό με λοιμώδες νόσημα αφού πρώτα ανιχνεύτηκαν αντισώματα σε μέλος του εργαστηρίου.
- Το **1970** ανιχνεύεται το DNA του ιού σε καρκίνωμα ρινοφάρυγγα
- Το **1980** ο EBV σχετίζεται με **non-Hodgkin's λέμφωμα** και **oral hairy leukoplakia** σε ασθενείς με AIDS
- Συσχέτιση και με και **T-cell lymphoma** και **Hodgkin's disease**

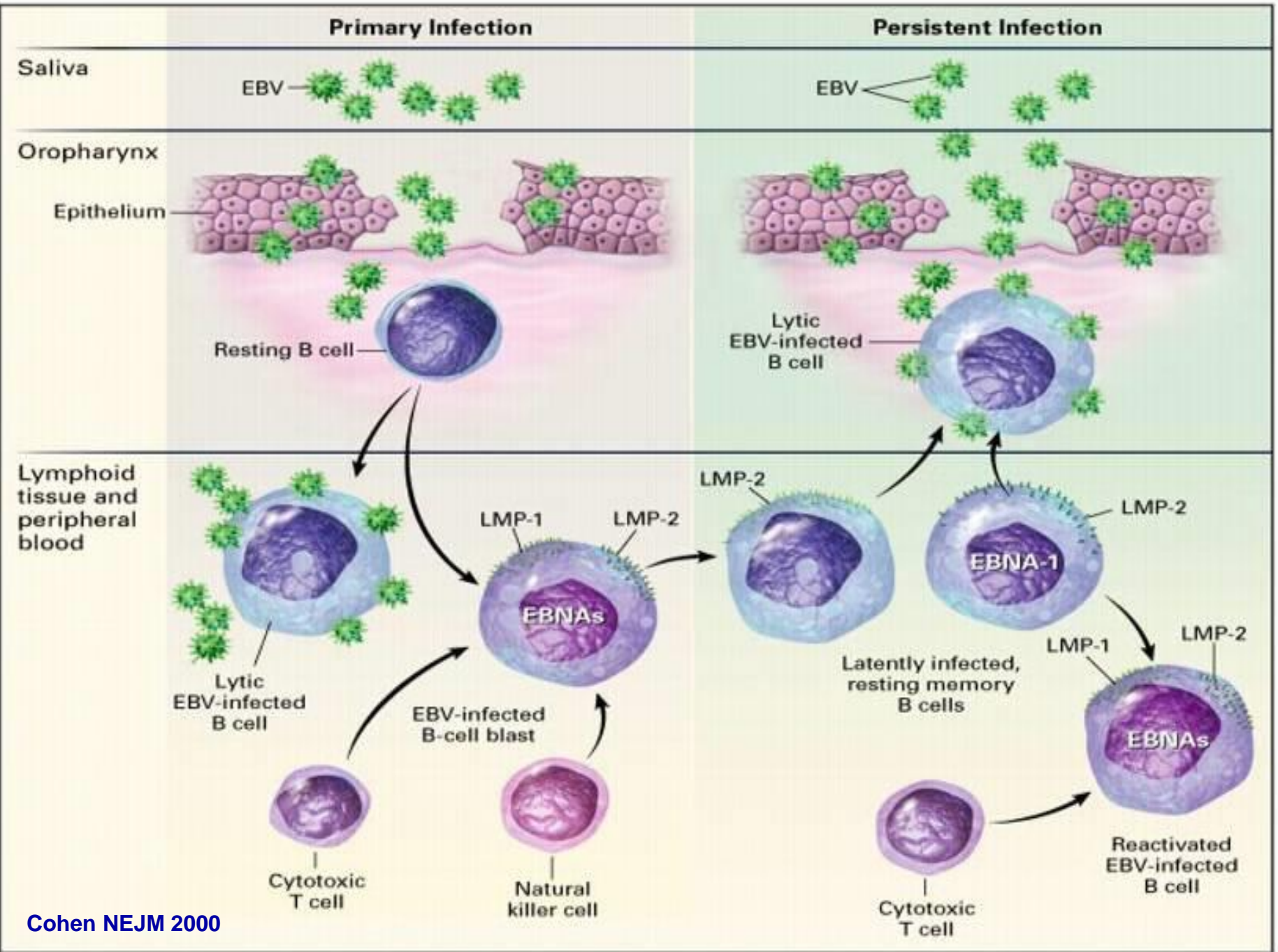
Δομή του ιού EBV

- Γραμμικό, dsDNA περίπου 175 kbp-κωδικοποιεί 100 πρωτεΐνες.
- **Εικοσάεδρο καψίδιο**, 100-110 nm διάμετρο
- **162 καψομερίδια**
- Ένα άμορφο, πολλές φορές ασύμμετρο υλικό γύρω από το καψίδιο (**tegument**)
- **Έλυτρο** που περιέχει τις γλυκοπρωτεΐνες του ιού-**gp350** δεσμεύεται στον υποδοχέα
- Περιγραφή του πλήρους γονιδιώματος το 1984



Υποδοχέας του EBV

- Περιορισμένος τροπισμός για ιστούς λόγω της περιορισμένης έκφρασης του υποδοχέα
- Ο υποδοχέας είναι ο **CR2 (CD21)**: υποδοχέας για το C3d κλάσμα του συμπληρώματος-συμπαράγοντας μόριο ΜHCII
- Εκφράζεται στα **B λεμφοκύτταρα** και σε **επιθηλιακά κύτταρα** του στοματοφάρυγγα και ρινοφάρυγγα



Χρονιότητα λοίμωξης από EBV

- Στα **επιθήλια** πολλαπλασιάζεται αλλά **δεν παραμένει**-
acyclovir αναστέλλει την έκκριση του αλλά δεν τον
εκριζώνει από τα Β-λεμφοκύτταρα
- Κύτταρο παραμονής του ιού μνημονικό Β-λεμφοκύτταρο
παρουσία λειτουργικών Τ- λεμφοκυττάρων
- 1-50/1.000.000 λεμφοκυττάρων μολύνονται και φέρουν
τον ιό για χρόνια
- Περιοδική ασυμπτωματική αποβολή του ιού στο σάλιο

Λοίμωξη με τον ιό EBV

- Τα μολυσμένα κύτταρα (permissive-B λεμφοκύτταρα και επιθηλιακά κύτταρα) εκφράζουν μία ποικιλία "νέων" αντιγόνων που κωδικοποιούνται από τον ιό.

- Μεταγραφή και μετάφραση της **ZEBRA** πρωτεΐνης (transcriptional activator), η οποία ενεργοποιεί τα **early γονίδια και το λυτικό κύκλο**
 - Σύνθεση της DNA πολυμεράσης
 - Πολλαπλασιασμός του DNA
 - Σύνθεση του ιϊκού καψιδίου και των γλυκοπρωτεϊνών (gp350/220 και gp85)

Γικές πρωτεΐνες που εκφράζονται στη λυτική φάση

- Viral Capsid Antigen (VCA) - διάγνωση
- Early Antigen (EA)
- Membrane Antigen (MA)
- - Η έκφραση κάθε αντιγόνου αντιστοιχεί με αντισωματική απόκριση

Γικές πρωτεΐνες που εκφράζονται στη λανθάνουσα φάση

Cohen NEJM 2000

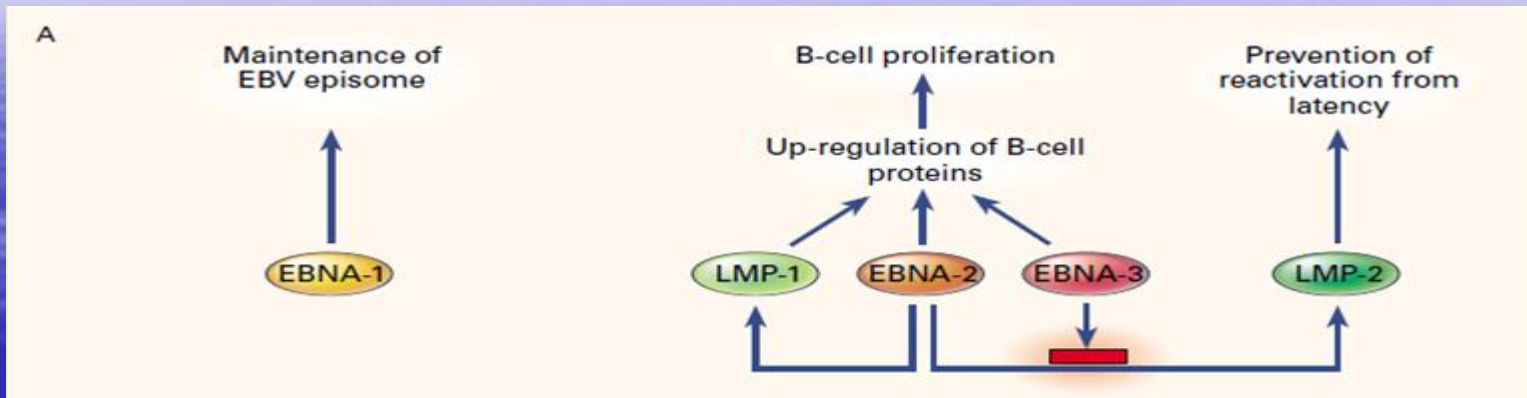
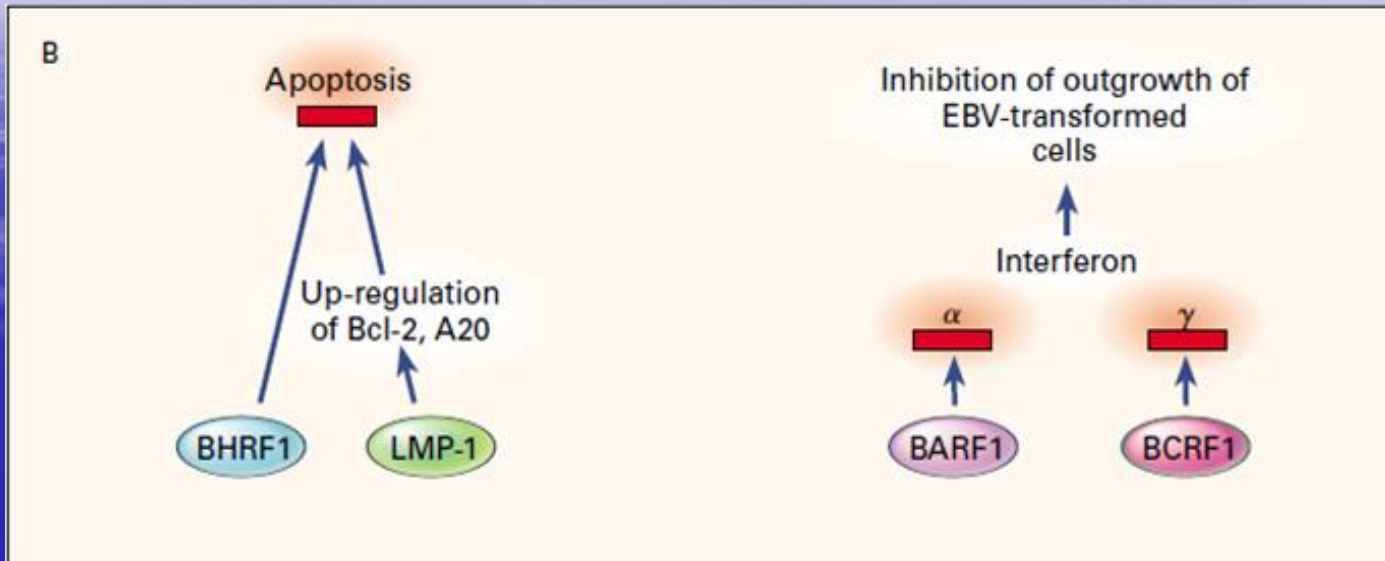


TABLE 1. EXPRESSION OF EBV LATENT GENES IN DISEASE.*

PATTERN OF LATENCY	EBNA-1	EBNA-2	EBNA-3	LMP-1	LMP-2	EBER	DISEASE
Type 1	+	-	-	-	-	+	Burkitt's lymphoma
Type 2	+	-	-	+	+	+	Nasopharyngeal carcinoma, Hodgkin's disease, peripheral T-cell lymphoma
Type 3	+	+	+	+	+	+	Lymphoproliferative disease, X-linked lymphoproliferative disease, infectious mononucleosis
Other	±	-	-	-	+	+	Healthy carrier

- Latency program: έκφραση μόνο LMP1, LMP2-απρόσιτες στο σύστημα ανοσίας- Β λεμφοκύτταρο σε ηρεμία
- Επανενεργοποίηση: έκφραση EBNA-1 ΜΟΝΟ -στόχος κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων

Παθογένεια



Διαφυγή του συστήματος ανοσίας μέσω

- παραγωγής IL-10 (BCRF1)-αναστολή σύνθεσης Interferon- γ
- BARF1- υποδοχέας για Colony Stimulating Factor-1

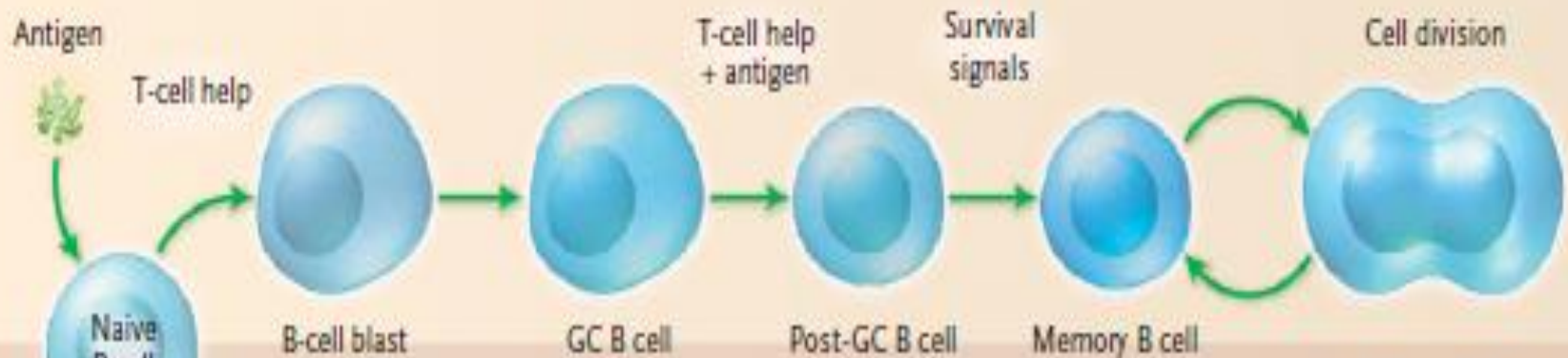
Colony Stimulating Factor-1 -ενίσχυση παραγωγής IFN- α -αποτέλεσμα: αναστολή παραγωγής IFN- α

- EBNA-1 αναστέλλει την αποδόμησή της από το πρωτεάσωμα.
- Αναστολή της απόπτωσης

Cohen NEJM 2000

Κύκλος ζωής Thorley-Lawson 2004, NEJM

Normal B-cell differentiation



EBV infection

Παθογένεια

- Αν και ο ιός προσβάλλει τα Β-λεμφοκύτταρα τα ΝΚ και τα Τ είναι αυτά που συντελούν στην περάτωση της λυτικής φάσης.
- CD8 λεμφοκύτταρα αναγνωρίζουν την EBNA-3 πρωτεΐνη μετά την οξεία νόσο
- Στην οξεία φάση 40% των CD8 λεμφοκυττάρων αναγνωρίζουν πρωτεΐνες της λυτικής φάσης.
- Τα αντισώματα εμποδίζουν την μετάδοση σε άλλα κύτταρα
- Παρόλα αυτά παραμένει ένα ποσοστό 1/10000-100000 μνημονικών κυττάρων που φέρουν τον ιό.

Παθογένεια λεμφώματος Thorley-Lawson 2004, NEJM

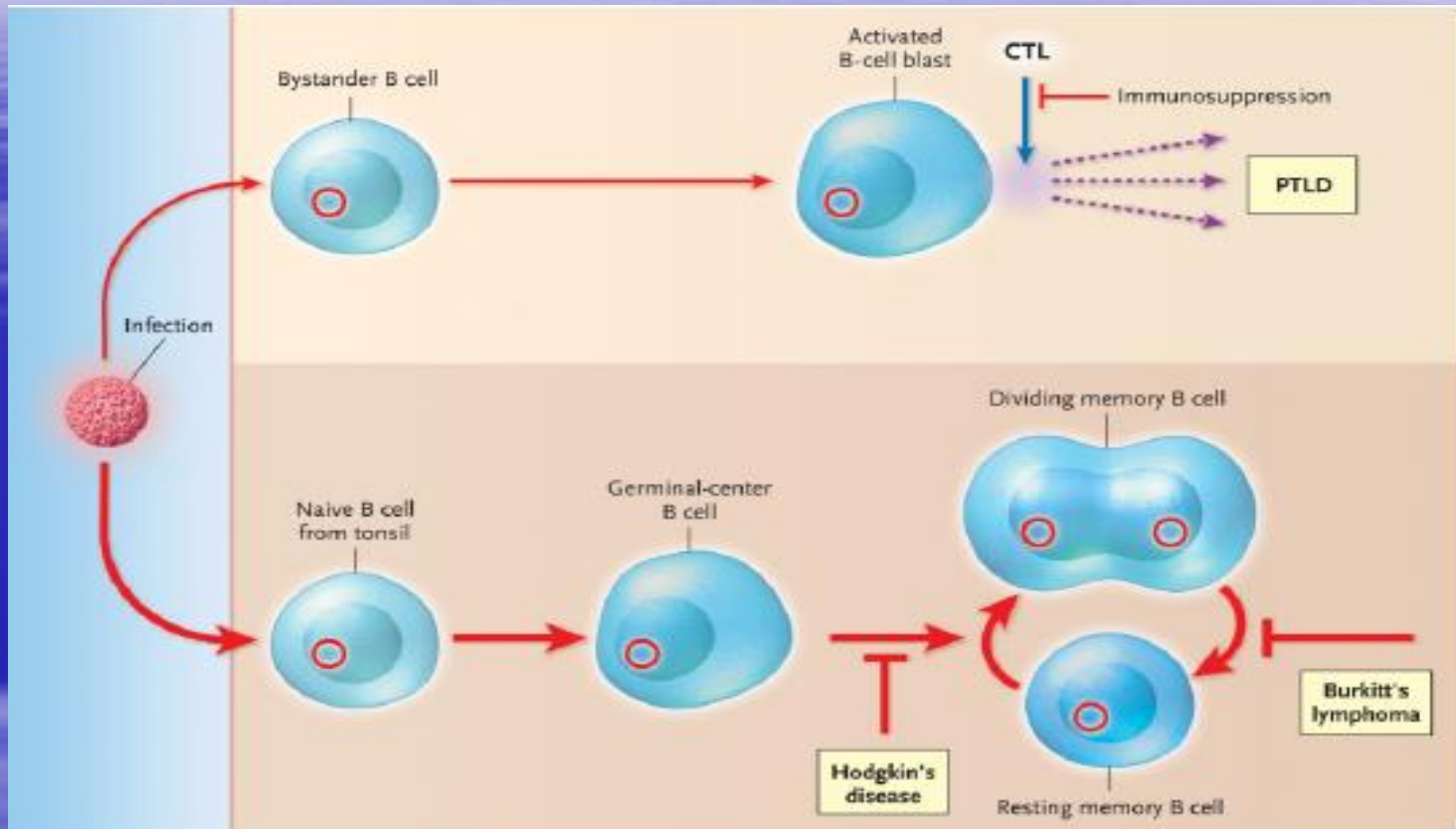


Figure 3. Putative Checkpoints in the EBV Life Cycle That Might Give Rise to Lymphoma.

EBV normally infects naive B cells in Waldeyer's ring, which differentiate into memory B cells, exit the cell cycle (thick red arrows), and are therefore not pathogenic. Hodgkin's disease arises from a virus-infected cell that is blocked at the germinal-center stage, which results in constitutive expression of the default program. Burkitt's lymphoma arises from a germinal-center cell that is entering the memory compartment but is stuck at the point of proliferation owing to the activated *c-myc* oncogene. Consequently, the cell expresses EBNA-1 only. In both Hodgkin's disease and Burkitt's lymphoma, the critical event may be a cellular mutation during the immunologic disturbance associated with acute EBV infection. Because the number of infected cells is so high at this point, there is a reasonable possibility that the cell undergoing mutation will have the virus in it by chance. Any cell other than the naive B cell in Waldeyer's ring that becomes infected (thin red arrows) and expresses the growth program will continue to proliferate, because it cannot differentiate out of the cell cycle (thin dashed purple arrows). The rarity of such an event highlights the extent to which EBV infection is carefully controlled. Normally, bystander B-cell blasts would be destroyed by cytotoxic T cells (CTL, blue arrow), but if the CTL response is suppressed, the blasts can lead to post-transplantation lymphoproliferative disease (PTLD).

Λοιμώσεις

ΛΥΤΙΚΗ ΛΟΙΜΩΞΗ

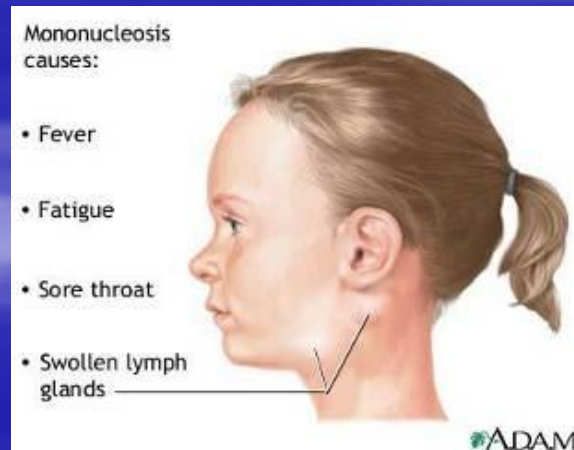
- Λοιμώδης μονοπυρήνωση - Infectious Mononucleosis (IM) - παρόμοια κλινική εικόνα προκαλούμενη από CMV, Toxoplasma
- ΣΤΠΑΝΙΟΤΕΡΑ: πάσχουν νεφροί και πνεύμονες
- Κ.Ν.Σ: Μηνιγγίτιδα, εγκεφαλίτιδα-πιθανά θανατηφόρος

ΧΡΟΝΙΑ ΛΟΙΜΩΞΗ

- Ιός των ανθρώπινων όγκων- Human tumor virus

Λοιμώδης μονοπυρήνωση-Σημεία και Συμπτώματα

- Η Λοιμώδης Μονοπυρήνωση (Οξύς αδενικός πυρετός - Pfeiffer 1889) χαρακτηρίζεται από
 - Πυρετός-Λεμφαδενοπάθεια -φαρυγγίτιδα στο 50% των ασθενών
 - **Αδυναμία**
 - Σπληνομεγαλία
 - Κοιλιακή δυσφορία σε έφηβους και νεαρούς ενήλικες
 - Εμφάνιση εξανθήματος μετά από λήψη Ampicillin
- **ΛΙΓΟΤΕΡΟ ΣΥΧΝΑ: Θρομβοκυτταροπενία, αιμόλυση, νευρολογικές επιπλοκές**
ΠΟΙΚΙΛΗΣ ΒΑΡΥΤΗΤΑΣ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΑΝΑΛΟΓΑ ΜΕ ΤΗΝ ΗΛΙΚΙΑ ΚΑΙ ΤΗΝ «ΕΜΠΕΙΡΙΑ» ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΑΝΟΣΙΑΣ ΤΟΥ ΞΕΝΙΣΤΗ

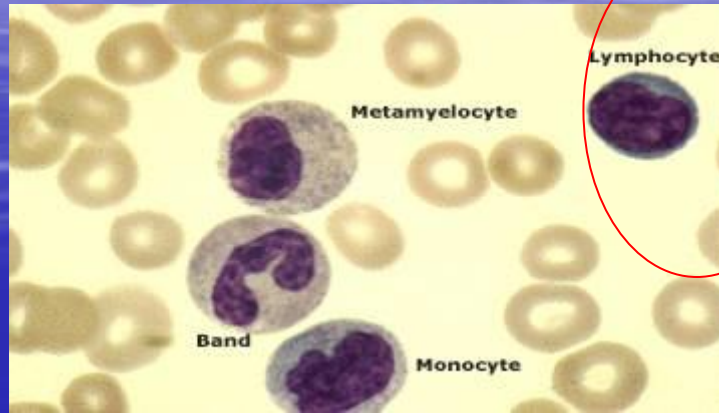


Επιδημιολογία

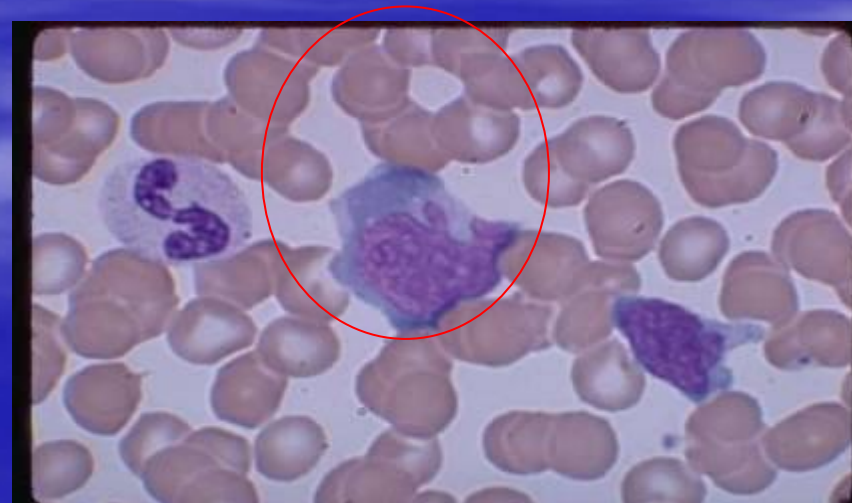
- Ο ιός μεταδίδεται από άτομο σε άτομο με το **σάλιο**. Σπάνια μπορεί να μεταδοθεί **με μετάγγιση αίματος ή διαπλακουντιακά**.
- Στις αναπτυσσόμενες χώρες η έκθεση γίνεται στην παιδική ηλικία
- Στις αναπτυγμένες χώρες η έκθεση γίνεται σε μεγαλύτερα παιδιά ή νεαρούς ενήλικες.

Εργαστηριακή διάγνωση-Επίχρισμα περιφερικού αίματος

Φυσιολογικά λεμφοκύτταρα



Άτυπα λεμφοκύτταρα-Τ λεμφοκύτταρα
ΌΧΙ ΠΑΝΤΑ



Εργαστηριακή διάγνωση- Έλεγχος ηπατικής λειτουργίας

- Αυξημένα **ηπατικά** ένζυμα σε ποσοστό 80-100 % των ασθενών με οξεία Λ.Μ.
 - Μέγιστη τιμή την 5η-14^η μέρα μετά την έναρξη της νόσου
 - Επανέρχονται σε φυσιολογικά επίπεδα σε 3 μήνες
- Η **LDH** αυξάνει σε ποσοστό 95% των ασθενών

Εργαστηριακή διάγνωση- Ετερόφιλα αντισώματα (Paul-Bunnell)

Εκκρίνονται από **μολυσμένα Β λεμφοκύτταρα**

- Συγκολλούν γλυκοπρωτεϊνες επιφανείας κυττάρων **άλλων** ειδών (RBCs αλόγου).
 - **Δεν** είναι ειδικά του EBV
 - **Τίτλος 1 : 40 είναι θετικός για οξεία Λ.Μ.**
 - **Θετικά:**
 - 50% την 1^η εβδομάδα της νόσου
 - 60-90% τη 2^η ή 3^η εβδομάδα
- Ψευδώς αρνητικά: 50% παιδιά μικρότερα των 3 ετών, 5-10% σε ενήλικες
- Ψευδώς θετικά: σε αυτοάνοσα νοσήματα

Διαγνωστικός αλγόριθμος

- **Οξεία φάση:** συνήθως **IgM, IgG (+) VCA**, αλλά δεν ανευρίσκονται σε όλους **IgM VCA**.
- **Παρελθούσα λοίμωξη:** **IgG (+) VCA, EBNA-1**, αλλά υπάρχουν και **EBNA-1 non responders**.
- Συνεκτίμηση με παρουσία άτυπων λεμφοκυττάρων (όχι πάντα) και ηπατικής βιοχημείας (συνήθως παθολογική μετά την εφηβεία).

Άτυπα εργαστηριακά ευρήματα

- Πολυκλωνική διέγερση έχει ως αποτέλεσμα
 1. Ψευδώς(+) IgM έναντι άλλων ερπητοϊών
 2. Αυξημένους τίτλους κρυσφαιρινών και ψυχροσυγκολλητινών
 3. Αυξημένους τίτλους ANA

Ειδικά αντισώματα έναντι αντιγονικών στοιχείων του ιού

- Viral capsid antigen (**VCA**) -ΤΟ ΠΙΟ ΣΥΧΝΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΜΕΝΟ ΣΤΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ
- Early antigens (**EAs**) -ουσιαστικά δεν χρησιμοποιείται στη διάγνωση
- Epstein-Barr nuclear antigen (**EBNA-1**)- θετικοποιείται αργότερα, διαχωρίζει πρόσφατη από παλιά λοίμωξη.

Θεραπεία

- Αυτοπεριοριζόμενη νόσος
- Όχι ειδική θεραπεία
- Το Acyclovir δεν συνιστάται (Τα συμπτώματα οφείλονται σε ανοσολογική απόκριση στον ιό)
- Χορήγηση κορτικοστεροειδών
 - απόφραξη της ανώτερης αναπνευστικής οδού
 - οξεία αιμολυτική αναιμία
 - σοβαρές επιπλοκές από καρδιά
 - νευρολογική νόσος

ΕΜΒΟΛΙΟ πιθανός στόχος gp 350

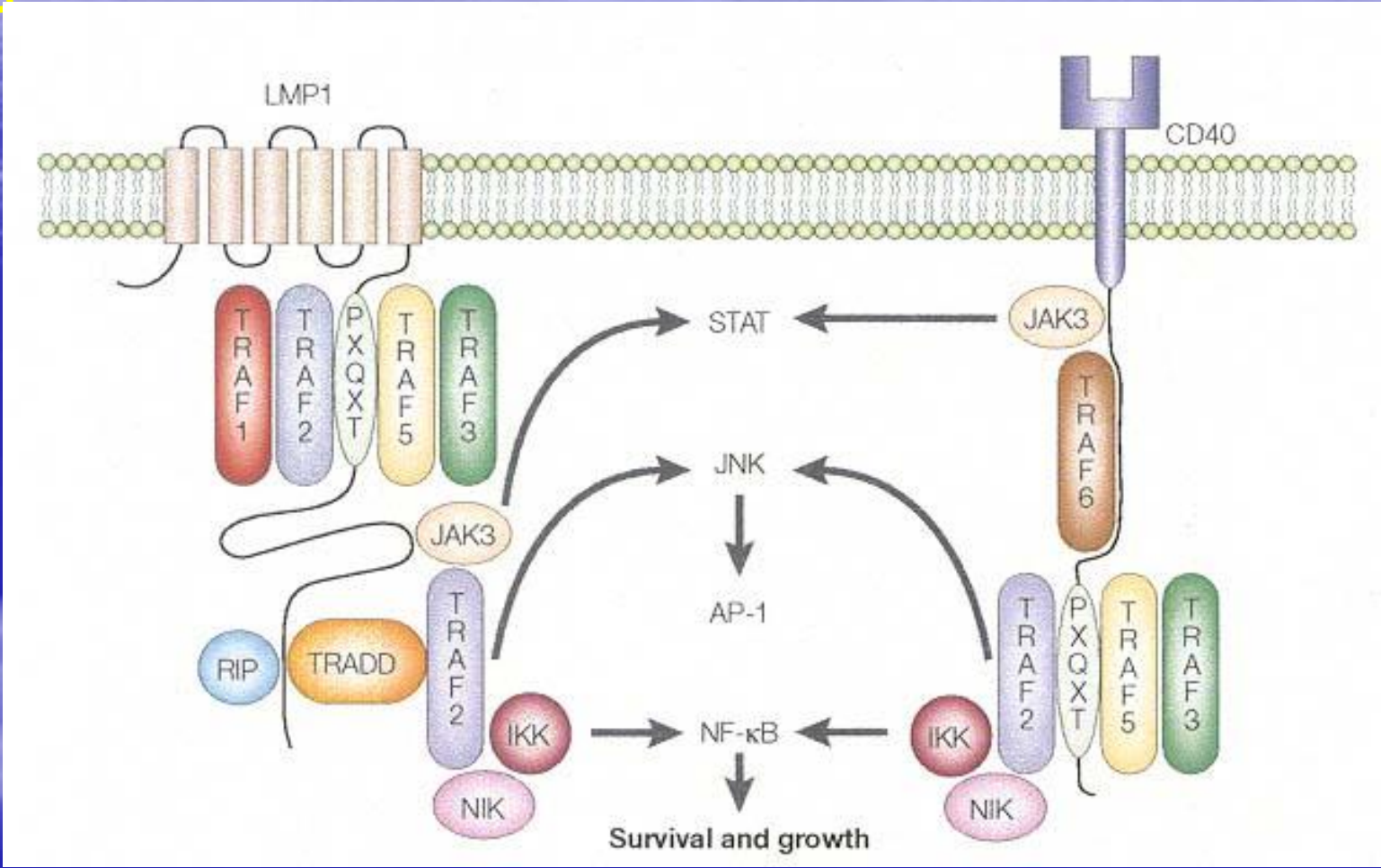
Χρόνια ενεργός EBV Λοίμωξη

- Πολύ σπάνια
- Τρία ευρήματα:
 1. Σοβαρή νόσος για > έξι μήνες από την έναρξη της οξείας λοίμωξης
 2. Αυξημένοι τίτλοι αντισωμάτων;
 3. Ιστολογικά ευρήματα οργανικής νόσου (π.χ. ηπατίτιδα), και ανίχνευση των EBV αντιγόνων ή του EBV DNA στους ιστούς

X-Linked Lymphoproliferative Disease

- **Κληρονομική** νόσος των ανδρών, πεθαίνουν ένα μήνα μετά την πρώτη EBV λοίμωξη, χωρίς κανένα στοιχείο ανοσοανεπάρκειας νωρίτερα.
- Αδυναμία ελέγχου της EBV λοίμωξης -ανεξέλεγκτη υπερπλασία λεμφικού ιστού.
- Μετάλλαξη γονιδίου (**S**ignalling **L**ymphocyte activation molecule **A**ssociated **P**rotein) η οποία οδηγεί σε διαταραχή της φυσιολογικής λειτουργίας μεταξύ των T και B λεμφοκυττάρων: μη ελεγχόμενος πολλαπλασιασμός των EBV-μολυσμένων B λεμφοκυττάρων.
- Αιτία ή αφορμή?

LMP-1 Mimics constitutively form of CD40 in B cells



Thorley-Lawson, Nature Rev Immunol, 2001

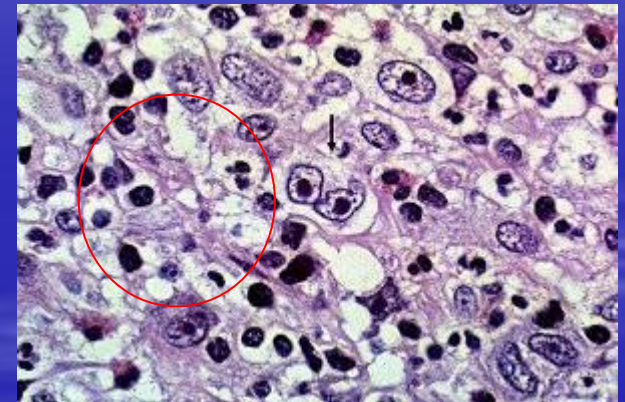
Καρκίνοι που σχετίζονται με EBV

- Ρινοφαρυγγικό καρκίνωμα (Κίνα, Β.Αφρική, Αλάσκα)-αυξημένοι τίτλοι IgA αντισωμάτων, γονιδίωμα του ιού στα επιθηλιακά κύτταρα **ΌΧΙ** στα κύτταρα του όγκου.
- Burkitt's Lymphoma (Αφρική)!!-όγκοι της σιαγόνας. Συλλοίμωση με το πλασμίδιο της ελονοσίας εξασθενεί την ικανότητα των T-Λεμφοκυττάρων να ελέγξουν τη νόσο- Διαμετάθεση του γονιδίου *myc* κοντά στο γονίδιο της σταθερής περιοχής των ανοσοσφαιρινών
- Κλωνική κατανομή του γονιδιώματος του ιού-**ΚΟΙΝΟ ΠΡΟΓΟΝΙΚΟ ΚΥΤΤΑΡΟ ΚΑΙ ΣΤΙΣ ΔΥΟ ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΙΣ**



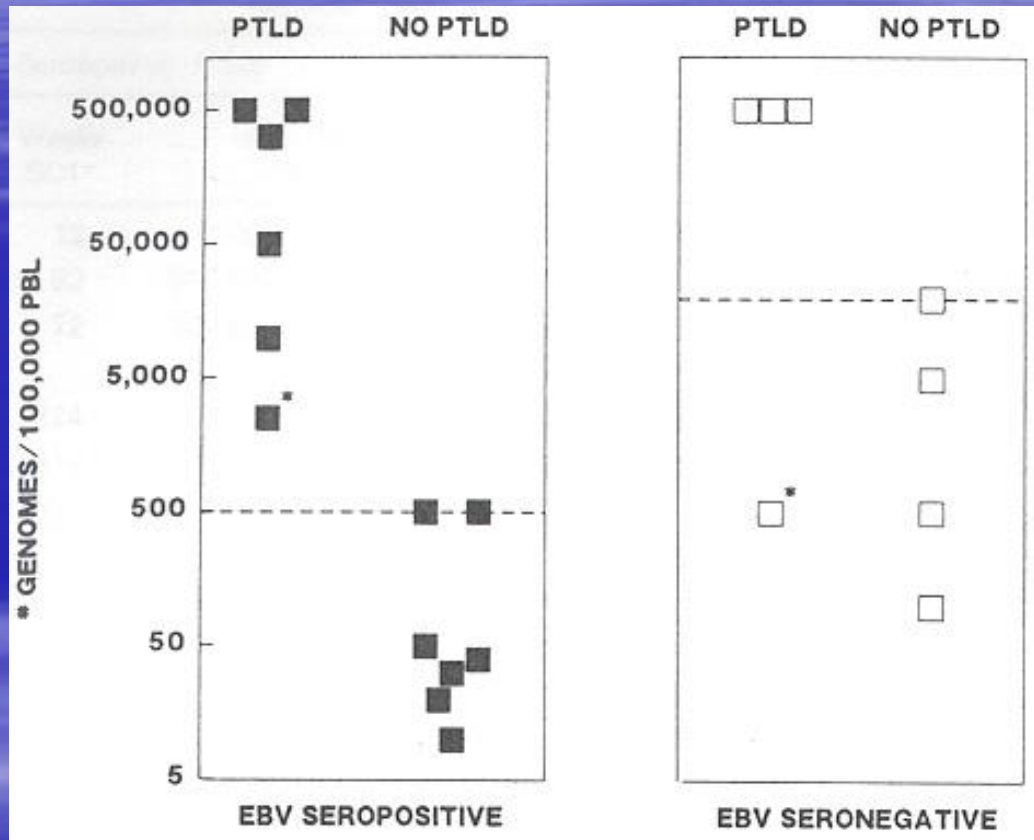
Καρκίνοι που σχετίζονται με EBV

- Hodgkin's Disease ανεύρεση του γονιδιώματος σε 40-60%



- Άλλοι καρκίνοι(?γαστρικό καρκίνωμα)
- Λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα σε άτομα με ανοσοανεπάρκειες,
μεταμοσχευμένους, AIDS

EBV Viral Load is Increased in Patients with Lymphoproliferative Disease



Riddler, Blood 1994

Viral Load Used to Monitor Transplant Patients:
Increased EBV load at onset of LPD
Used to initiate preemptive therapy

Συσχέτιση του EBV με άλλα νοσήματα

Table 2. Diseases in Which EBV May Have a Causative Role.

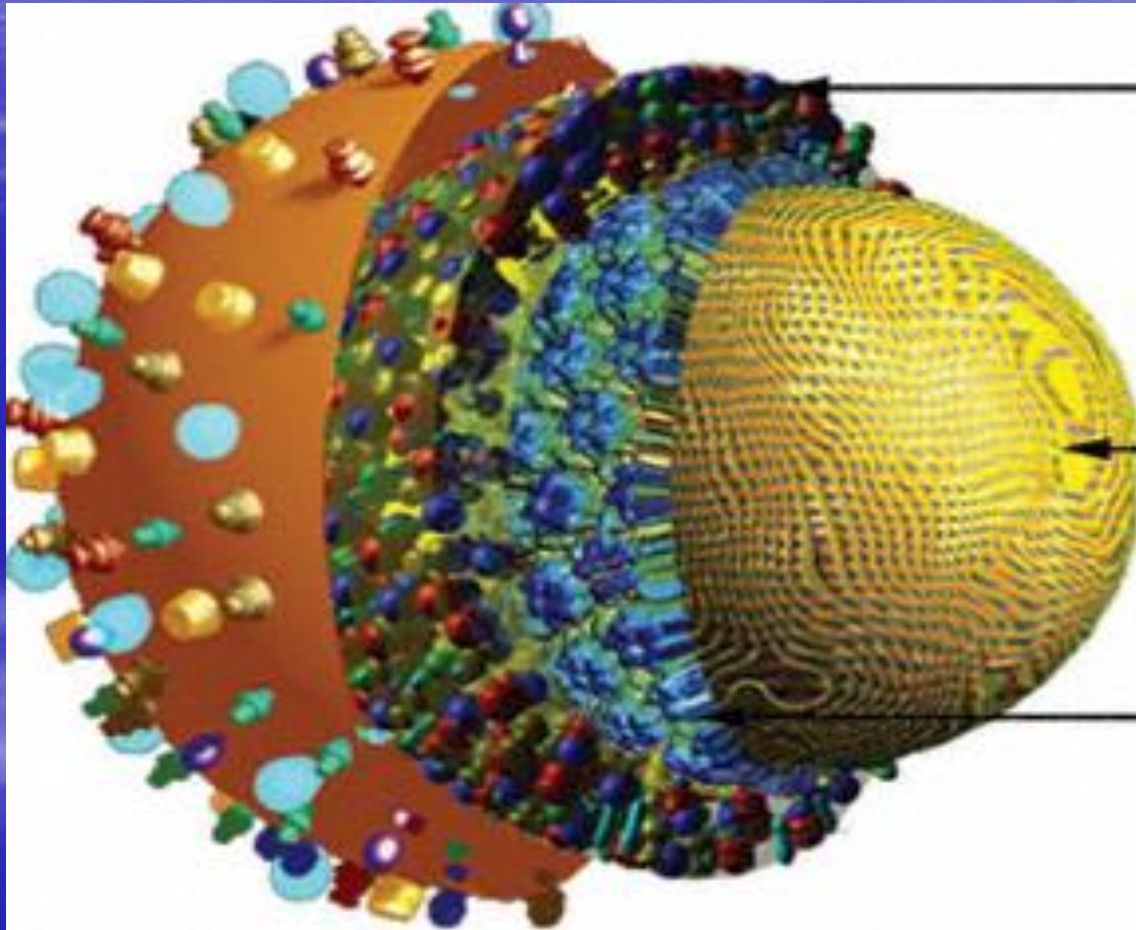
Definite Role	Strong Association	Controversial or Discredited Association
Infectious mononucleosis	Burkitt's lymphoma	Rheumatoid arthritis
X-linked lymphoproliferative disease	Hodgkin's lymphoma	Systemic lupus erythematosus
	B-cell lymphoma in patients with immunosuppressive disease	Multiple sclerosis
	Nasal NK-T-cell lymphoma*	Breast cancer
	Nasopharyngeal carcinoma	Chronic fatigue syndrome
	Leiomyosarcoma in immunosuppressed patients	

MINIREVIEW

Routine Epstein-Barr Virus Diagnostics from the Laboratory
Perspective: Still Challenging after 35 Years

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Aug. 2004, p. 3381-3387
Vol. 42, No. 8

Human Herpes Virus 8



Ανακάλυψη του ιού

- Το σάρκωμα Καρσι ήταν το κλινικό σύνδρομο που οδήγησε στην ανακάλυψη του ιού του HIV
- Από πολλά χρόνια το θεωρούσαν λοιμώδους αιτιολογίας
- Ο ιός ανακαλύφθηκε το 1994 από τον Yuan Chang στο Columbia University
- Ανήκει στην οικογένεια των gamma herpesvirus, οι οποίοι ενέχονται στην εμφάνιση όγκων

Νοσήματα από HHV-8

- Kaposi's sarcoma
- Body Cavity Based Lymphoma
- Multicentric Castleman's Disease
- Multiple myeloma?
 - Μερικές μελέτες έδειξαν ότι ο ιός βρίσκεται σε κύτταρα μυελώματος.
 - Όμως οι περισσότεροι ερευνητές θεωρούν ότι ο HHV-8 ΔΕΝ προκαλεί Πολλαπλούν Μυέλωμα
 - **ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΟΓΚΟΓΕΝΕΣΗΣ**: Πρωτεΐνη του ιού αδρανοποιεί τη δράση της πρωτεΐνης του ρετινοβλαστώματος (ογκοκατασταλτική δράση)

Επιδημιολογία

- Μετάδοση κυρίως σεξουαλικά αλλά και με μεταμόσχευση οργάνου
- Εργαστηριακή διάγνωση
- Βιοψία βλαβών, ανίχνευση γονιδιώματος-όχι ρουτίνα
- Επιδημιολογικές μελέτες-ποικιλία ανάλογα με τη γεωγραφική περιοχή.

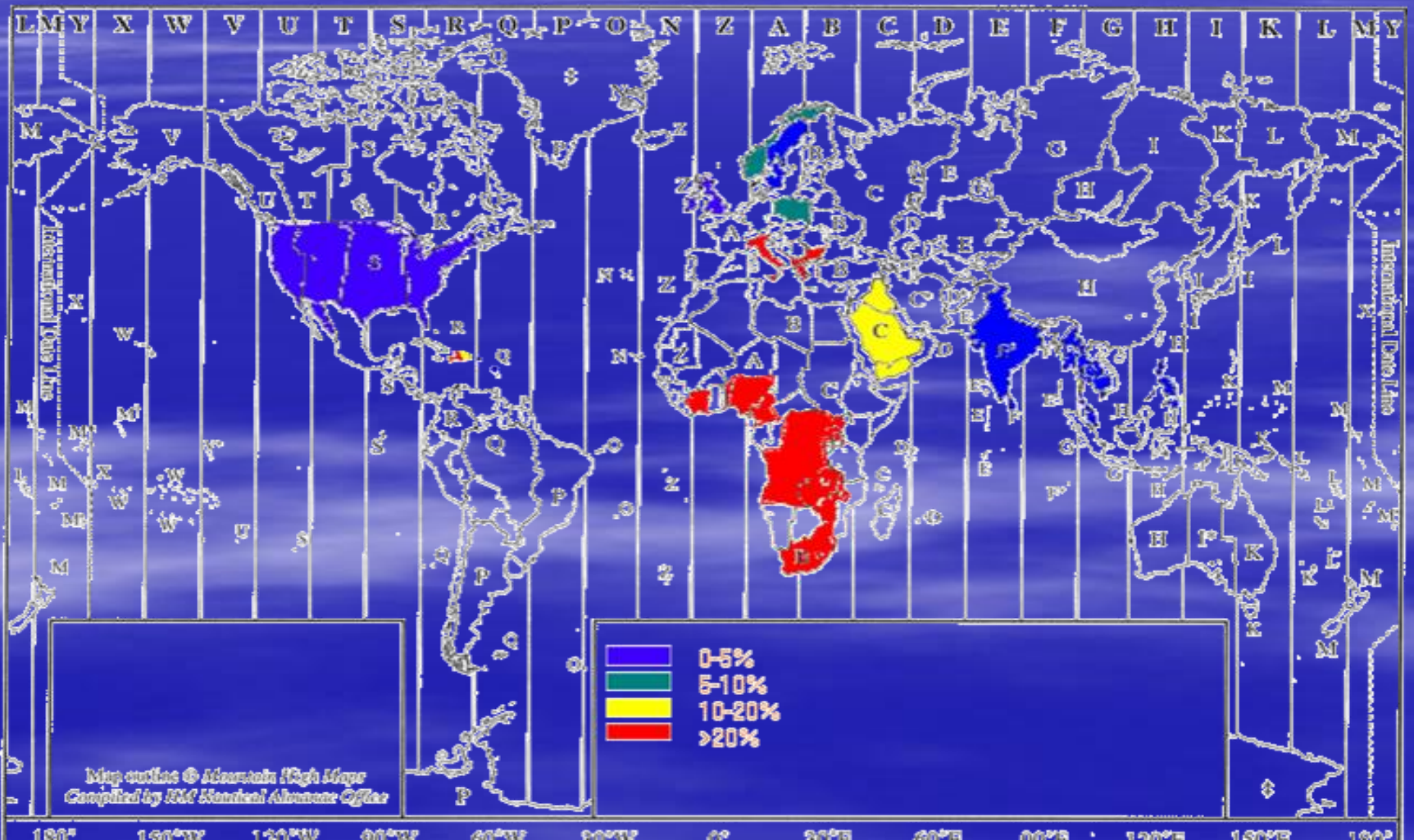
Σάθρωμα Kaposi



Άτομα που μολύνονται με HHV-8

- Γεωγραφικές περιοχές
 - Αφρική, Νότια ευρώπη (**ΕΛΛΑΔΑ**), Μέση Ανατολή
 - Σε περιοχές της Αφρικής, 32 - 100% των ατόμων είναι μολυσμένα με HHV-8
- Άτομα με μεταμόσχευση οργάνων
 - Στη Σαουδική Αραβία, το KS είναι ο πιο συχνός καρκίνος σε μεταμοσχευμένα άτομα
- Άτομα μολυσμένα με HIV

ΗΗV-8 Παγκόσμιες Λοιμώξεις



Μετάδοση του ΗΗV-8

- ✓ Σεξουαλική επαφή
 - ✓ Η λοίμωξη με ΗΗV-8 ανήκει στα σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα
 - ✓ Δεν σχετίζεται με ειδικές σεξουαλικές συμπεριφορές
- ✓ Από μητέρα σε παιδί
- Μετάδοση με το αίμα?
 - Η λοίμωξη είναι σπάνια σε χρήστες ενδοφλέβιων ουσιών, και μέχρι τώρα δεν έχει αναφερθεί περιστατικό μετάδοσης από μετάγγιση
- ✓ Μετάδοση με σάλιο?