

## **Virus Epstein-Barrové : aktualizace poznatků** ( Epstein-Barr virus – recent advances)

Macswen, Karen F., Crawford Dorothy H.  
The Lancet Infectious Diseases, Vol. 3, March 2003, s.131-138  
Volně přeložil a zkrátil MUDr. Vladimír Plesník

**Virus Epstein-Barrové (EBV) je onkogenní herpetický virus, přítomný v celé dospělé populaci. Zpravidla se šíří slinami na a mezi malými dětmi. Onemocnění vyvolává jen při primoinfekci až v adolescenci či ještě později, kdy intenzivní imunopatologická reakce se asi u 50 % infikovaných projeví jako infekční mononukleóza. Více než 90 % lidí na světě má doživotní latentní infekci B lymfocytů. Současné poznatky ukazují, že napodobením antigenní aktivace B-buněk virus vniká do dlouho žijících paměťových B-lymfocytů, v nichž se chrání před eliminací tím, že silně omezí expresi vlastních genů. Působením na mechanismus dlouhověkosti B-buněk může EBV navodit nádory v podobě B-lymfoproliferativní nemoci a Hodgkinovy choroby. Využívají se vakcíny k prevenci či potlačení infekce EBV, ale než bude možné stanovit racionální vakcinační strategii je ke studiu patogeneze potřebný zvířecí model.**

EBV se vyvíjí spolu s lidmi po miliony let. Tato dlouhá koexistence vedla k dokonalé adaptaci viru na svého lidského hostitele, který se tím stal jedním z nejúspěšnějších parazitů. Od objevu EBV v kultivovaných buňkách Burkittova lymfomu roku 1964 byl virus považován za původce řady nemocí jak benigních, tak maligních, vycházejících z lymfatické či epiteliální tkáň (Tab. 1). Podobně jako všechny herpetické viry má životní cyklus EBV latentní a lytickou fázi. Prvá umožňuje dlouhé přežívání viru v těle hostitele, druhá fáze umožňuje replikaci a přenos viru. Zvláštní sada latentních genů je podstatou onkogenního potenciálu EBV a jeho schopnosti vyvolat in vitro „nesmrtelnost“ B lymfocytů. Nicméně téměř u všech lidí navozuje EBV neškodnou, doživotní nákazu a po narušení rovnováhy mezi hostitelem a virem způsobuje onemocnění.

### **Epidemiologie**

Víc než 90 % dospělých na světě je infikováno EBV a jsou následkem persistující latentní infekce B lymfocytů a uvolňování viru do slin jeho doživotními nosiči. Většinou dochází k subklinické primoinfekci v dětství, často přenosem slin mezi členy rodiny. Studie ze sedmdesátých let zjistily, že v rozvojových zemích a v ekonomicky slabších populačních skupinách vzniká primoinfekce v nižším věku než v bohatších státech, kde k nákaze dochází až v dorostovém věku. U 50-74 % infikovaných mladistvých osob se pak primoinfekce manifestuje v podobě infekční mononukleózy (IM). Změny věkové struktury populace a životního stylu v posledních 30 letech však mohly pozměnit tyto dřívější poznatky a proto bude třeba před vypracováním strategie očkování proti EBV tyto studie zopakovat.

Běžně se předpokládá, že osoby které nebyly infikovány v dětství se zpravidla nakazí líbáním v mladistvém věku. Proto se často hovoří o IM jako o nemoci z líbání. Publikováno bylo však i několik prací o nález EBV v genitálních sekretech mužů a žen. To ukazuje na možnost sexuálního přenosu. Nové serologické přehledy u universitních posluchačů takovou možnost podporují tím, že prokázaly těsnou souvislost séropozitivity EBV a prožití IM se zahájením sexuálního života a s vyšším počtem sexuálních partnerů. Není to však

jednoznačný důkaz, neboť neodliší přenos přímý přenos genitálními sekrety od jiných praktik provázejících pohlavní styk, jako je líbání.

Latentní infekce B lymfocytů přítomných v krvi zdravých nosičů představuje další možnou cestu přenosu EBV. Byl prokázán přenos po převodu velkého objemu plné krve. Může také dojít k přenosu transplantovanými orgány s následnou nákazou dříve séronegativních příjemců a je zde riziko vzniku potransplantační lymfoproliferativní nemoci (PTLD).

Dnes víme, že EBV má dva typy, označované jako typ 1 a typ 2, nebo jako A a B. Oba kolují v populaci, mají variabilní sekvence DNA v latentních genech. Typ není vázán na specifickou nemoc, ale typ 1 je častější na Západě, kdežto typy 1 a 2 mají stejnou prevalenci v Africe a v Papua Nová Guinea. Jednotlivé izoláty EBV lze od sebe diferencovat podle nestejně délkou opakujících se sekvencí genomu. Toho se využívá při sledování souvislosti izolovaných kmenů EBV mezi rodinnými příslušníky, nebo mezi dárcem a příjemcem transplantátu.

**Tabulka 1.: Nemoci související s infekcí EBV**

<b>Onemocnění</b>	<b>Ohrožená populační skupina</b>	<b>Vztah s EBV</b>
<b>Lymfocytového původu</b> Infekční mononukleóza (IM)	Mladiství a mladí dospělci na Západě Osoby s vyšší životní úrovní	Převážně, ale IM-podobný syndrom může vyvolat také CMV a HIV
X-spojený lymfoproliferativní syndrom (XLPS)	Synové matek-nosiček XLPS mutace	Převážně, jen pár lymfomů bez vazby na EBV vzniká u dětí s touto mutací
B lymfoproliferativní nemoc (BLPD)	Po transplantaci. Při infekci HIV: - primární lymfom CNS, nebo - periferní lymfom	u 90 % méně než 100 % u 50 %
Burkittův lymfom (BL)	Děti v Africe = endemický BL Při infekci HIV = sporadický BL	97-100 % asi 25 %
Hodgkinova nemoc	Děti v rozvojových státech Mladí dospělí - z bohatších vrstev - s IM v anamnéze	přes 65 % různobuněčný typ 80 % v dětství 80 %
Lymfom T/NK buněk	Aktivní chronická infekce EBV Infekce HIV	10-100 % v závislosti na typu buněk
Primární „effusion lymphoma“ <b>Z buněk epitelu</b>	Infekce HIV	70-80 %. 100 % má DNA HHV8
Vlasatá leukoplakie úst Karcinom nosohltanu	Infekce HIV a jiné imunodeficity Obyvatelé j.Číny a Eskymáci- vysoká incidence mezi Máji, Dajaky a Indonézany -střední incidence u Filipinců a Vietnamců	100 % 100 % bez keratinizace
Karcinom žaludku	neurčena	30-100 % s keratizací 100 % nediferencovaný Ca podobný Ca nosohltanu 5-15 % adenokarcinom
<b>Jiné</b> Leiomyosarkom	Infekce HIV a imunodeficit Hlavně u dětí	neznámá

#### **Další nádory s možnou souvislostí s EBV**

Nádory slinných žláz, Karcinom prsu, Hepatocelulární karcinom, Thymom

### Replikační cyklus EBV

Naše znalosti o infekčním cyklu viru vychází hlavně z pozorování akutní IM, protože sledování asymptomatické primoinfekce není zpravidla možné. EBV infikuje povrch sliznic ale dosud není jasné, zda infekce epiteliálních buněk představuje část replikačního cyklu viru. Přes známý tropismus EBV k epiteliálním buňkám, jasně vyplývající z několika nádorů a onemocnění (viz T 1), v epiteliálních buňkách tonsil, odebraných během IM, nikdy nebyla přítomnost EBV prokázána, ač jak latentní, tak lytickou infekci B buněk je možné pravidelně najít. Protože koncentrace EBV ve slinách je obvykle malá lze předpokládat, že virus se při přenosu od zdroje musí nejprve namnožit v B buňkách hostitele než u něj vznikne persistující nákaza. Zatím však převládá názor, že dochází k přímé infekci B buněk v lymfatické tkáni Waldayerova okruhu. Hluboké krypty v této tkáni mohou usnadňovat EBV pronikat do B buněk. Expresí latentních genů viru, které navozují proliferaci B buněk, pak slouží ke zvyšování počtu infikovaných buněk v těle a ke vzniku latentní infekce dříve, než se vyvine obranná reakce.

### Infekční mononukleóza

IM, někdy zvaná „žlázová horečka“, je jednou z častých příčin vleklého onemocnění mladistvých a mladých dospělých ze zámožných kruhů. Po 4-7 týdnech inkubace se mohou objevit příznaky IM v podobě horečky, faryngitidy, lymfadenopatie, splenomegalie a jaterní dysfunkce, někdy provázené zřetelným ikterem. Zvětšení sleziny je při IM obvykle pohmatem sotva zjistitelné, ale při vyšetření 29 pacientů ultrazvukem, bylo nalezeno u všech. Skvrnitý erytém, petechie a kopřivka se vyskytují jen asi u 3 % případů, ale po podání ampicilinu dojde k vyrážce asi u 90 % léčených.

Obvyklé je serologické ověření diagnózy. Heterofilní protilátky mívá 85 % mladistvých a dospělých s IM, často však chybí u mladších dětí. Monospot je rychlý test na skličku k průkazu heterofilních protilátek. Byť je poměrně specifický, bývá pozitivní i za jiných okolností, např. infekci HIV, lymfomu, systémovém lupus erythematosus, zarděnkách, při parvovirových a jiných virových infekcích. Citlivější a specifitější je nálezy IgM protilátek proti antigenu kapsidy EBV (VCA), které téměř vždy najdeme v době nemoci. Anti-VCA IgM zpravidla persistují 1-2 měsíce. Přítomnost rheumatoidního faktoru vyvolává falešnou pozitivitu testu. Anti-VCA typu IgG přetrvávají po celý život. U některých pacientů může být prospěšné rozšířit vyšetření o průkaz IgG protilátek proti časným antigenům (v akutní fázi IM), nebo EBNA (v rekonvalescenci).

Úmrtí na IM je velmi vzácné. Závažné následky vyvolávají neurologické komplikace, obstrukce dýchacích cest, ruptura sleziny, myokarditida, arytmie, selhání jater, sekundární bakteriální infekce a trombocytopenie. V rekonvalescenci po IM bývá běžná únavnost, spavost a krátkodobé depresivní stavy.

Vysoké dávky Acicloviru snižují produkci viru v hrdle, ale významně nezkrátí trvání potíží. Studie s podáváním kortikosteroidů při IM ukázaly zmírnění akutních potíží, ale riziko podávání prednisolonu je opodstatněné jen při těžkém průběhu IM, např. při začínající obstrukci dýchacích cest, kdy steroidy mohou omezit potřebu chirurgického zásahu k udržení průchodnosti dýchadel.

Nízká účinnost Acicloviru se vysvětluje tím, že projevy IM přímo nesouvisí s virovou infekcí B-buněk, ale představují imunopatologickou reakci na sekreci cytokinů z velkého množství aktivovaných cytotoxických (CD8) T-lymfocytů, přítomných v periferní krvi a prostupujících do tkání.

## **Chronicko-aktivní infekce EBV**

Chronicko-aktivní EBV infekce (CAEBV) je vzácné onemocnění, odlišné od chronické únavy. Vyznačuje závažnými, chronickými, nebo opakujícími se symptomy, které připomínají IM, objevivší se u dříve zdravé osoby po prokázané primoinfekci EBV. Obvykle je zachováno spektrum protilátek odpovídající akutnímu IM (vysoké titry IgG anti-VCA a EA, chybění protilátek anti-EBNA1, někdy též persistence IgM anti-VCA). Navíc je však přítomnost vysoké nálože EBV v periferní krvi, často provázená infekcí T a/nebo NK buněk, i známky orgánového postižení (intersticiální pneumonie, hypoplasie kostní dřeně, uveitis, hepatitis a splenomegalie). CAEBV má velkou morbiditu a mortalitu na jaterní selhání, lymfom, nebo sepsi. Léčba je obtížná, pomoc může přinést transplantace kostní dřeně, nebo adoptivní imunoterapie.

## **Lymfoproliferativní syndrom při defektním genu X (XLP)**

Je to vzácná, rodinná a smrtelná forma IM, která byla rozpoznána před téměř 30 roky. Typicky jsou postiženi mladí muži, kteří byli před infekcí EBV naprosto zdraví, ale po nákaze velice rychle umírají na fulminantní IM. K úmrtí vede nekróza jater způsobená jejich masivní infiltrací cytotoxickými lymfocyty a uvolněním cytokinů, aplastická anemie, nebo pancytopenie, na kterou někdy navazuje bakteriální nebo kvasinková superinfekce. Hlavním příznakem je často hemofagocytóza. Léčba akutního syndromu je velice obtížná, jakýsi efekt však může mít podání etoposidu. Nedávno několik pacientů podstoupilo transplantaci jater s uváděnou 50 % úspěšností, není však známa doba přežití.

Genetická abnormalita vedoucí ke XLP byla objasněna roku 1998. Podařilo se pak rychle vypracovat diagnostické testy a bylo zjištěno, že syndrom XLP zahrnuje spektrum klinických projevů, do něhož patří dysgammaglobulinaemie (včetně některých běžných forem imunodeficitu), lymfatická vaskulitida s tvorbou aneurysma, ojediněle také lymfom bez souvislosti s EBV. Defektní gen je malý protein (SAP) v cytoplasmě, který exprimují T a NK buňky. Porucha jeho funkce vede k nekontrolované aktivaci T buněk a k dysregulaci tvorby cytokinů. Protože lymfom může vzniknout po mutaci v genu SAP i bez infekce EBV uvažuje se, že XLP je generalizovanější imunodeficit, než jaký mohou vyvolat některé jiné virové infekce a není jen abnormalitou imunitní regulace nákazy EBV. Podstata však ještě není úplně jasná.

## **Lymfoproliferativní nemoc B-buněk při infekci EBV (BLPD)**

BLPD se objevuje při imunodeficitu s poruchou kontrolní činnosti T-buněk. Chybění EBV-specifických cytotoxických T-lymfocytů vede k proliferaci latentně infikovaných B-buněk. Toto onemocnění je častou život ohrožující komplikací u transplantací podávající-li se imunosupresiva k prevenci odvržení transplantátu. Rizikovými okolnostmi jsou vysoké dávky imunosupresiv a vznik primoinfekce EBV během jejich podávání. Klinický obraz je různý, může napodobovat reakci hostitele na transplantát, odvržení transplantátu, ale i některé běžné infekce. Nemoc může připomínat IM, nebo mimouzlinový nádor, obvykle postihující střevo, mozek, nebo transplantovaný orgán. Příznaky podobné IM jsou typické u dětí v průběhu prvního roku po transplantaci. Často jsou následkem primoinfekce EBV po jeho přenosu transplantovaným orgánem. Naopak mimouzlinové nádory jsou běžné u EBV-séropozitivních příjemců za několik let po transplantaci.

Terapie BLPD spočívá především ve snížení imunosupresivní terapie, což umožní obnovu činnosti cytotoxických T-lymfocytů a většinou vede k regresi nádoru, bohužel stoupá i riziko rejekce transplantátu. Nezřídka se však stupňuje rezistence nádoru na tuto konzervativní

terapii. Přes aplikaci konvenční chemoterapie lymfomu přesahuje jeho letalita 50 %. Zkouší se nové léčebné postupy, včetně využití stimulace humorální a celulární imunity. V prvním případě je podáván Rituximab, což jsou humanizované myší monoklonální protilátky proti CD20 molekule na povrchu všech zralých B-buněk. Zkušenosti jsou zatím velmi malé. Ve druhém případě se podává jak preventivně, tak léčebně, infuze kultivovaných EBV-specifických cytotoxických T-lymfocytů, získávaných od HLA-kompatibilních dárců. Je to však způsob velmi nákladný a pracný, než aby jej bylo možné běžně užívat. Pozměněná podoba této terapie je však velmi nadějná a možná bude využitelná i u jiných infekcí a nádorů při imunosupresi.

### **Hodgkinova nemoc (HN)**

Již delší dobu trvá podezření, že infekce EBV souvisí s HN. Důvodem jsou zvýšené hladiny protilátek vůči antigenům EBV po řadu měsíců až let před začátkem HN a také vyšší výskyt HN během pěti let po prožití IM. Přesvědčivým důkazem je nález EBV DNA v maligních buňkách HRS (Hodgkin et Reed Sternberg) i když jen u části případů HN. Přes 65 % nádorů při HN obsahuje EBV DNA.

Věk, v němž se HN nejčastěji projeví, typicky odpovídá bimodálnímu průběhu. Prvý vrchol bývá v dětství, druhý po dosažení 50 let. Onemocnění se v zámožnějších rodinách objevuje později (v 15-32 letech), než v chudší (5-10 let) společnosti. Odpovídá to pozdější primoinfekci EBV a vzniku EBV, což naznačuje, že HN by mohla být netypickou odpovědí na primoinfekci. Všeobecně se připouští, že EBV má hlavní úlohu v patogeneze HN, ale zatím není detailně objasněna. Onkogenní působení EBV je však velmi pravděpodobné. U pacientů, kteří nereagují na konvenční chemoterapii, probíhají pilotní studie, zaměřené na ověřování léčby HN cytotoxickými lymfocyty.

### **EBV u osob infikovaných HIV**

Většina HIV-infikovaných je trvale nakažena EBV a s rostoucím počtem deficitních EBV-infikovaných buněk v krevním oběhu může u nich dojít k oportunnímu rozvoji lymfomů. Ve srovnání s normální populací mají tito pacienti 60x větší riziko vzniku těchto nehodgkinovských lymfomů (NHL), které patří do rámce definice AIDS.

Rozeznávají se tři hlavní typy NHL Prvý zahrnuje nádory podobné Burkittovu lymfomu, vyvíjející se v poměrně časných stádiích infekce HIV, kdežto primární lymfom CNS a NHL na periférii se objevují až v pozdějších stádiích. Všechny tři typy mohou souviset s EBV, ale nejtěsnější souvislost s EBV má primární lymfom CNS, kdy téměř ve 100 % případů nádorové buňky obsahují EBV DNA a exprimují latentní geny viru. Skoro vždy lze v likvoru prokázat EBV DNA. Po zavedení vysoce aktivní antiretrovirové terapie (HAART) výskyt NHL při infekci HIV klesl.

EBV také souvisí s vlasatou leukoplakií v ústech (OHL), častou v pozdní fázi infekce HIV. Tato nebolestivá, bělavá a zvrásněná léze okrajů jazyka byla prvně zjištěna při AIDS, ale nyní je prokazována i u jiných imunosuprimovaných pacientů. Léze obsahují EBV, množící se v dlaždicových buňkách epitelu, ale bez známek jejich maligní přeměny, nebo vzniku latence. OHL lze podle potřeby léčit aciclovirem.

### **Očekávaný vývoj vakcín**

Na Mezinárodní konferenci o EBV v Austrálii (červenec 2002) byla jedna diskusní sekce věnována vývoji vakcín proti EBV. Po mnoha letech úsilí máme dnes dvě kandidátní vakcíny, vhodné k zařazení do studií. Není však shody v tom, jak a kdy mají být provedeny, protože se

liší názory výrobců od stanoviska zdravotníků. Zatím co vědci a klinici tvrdí, že prioritou musí být nádory související s infekcí EBV v rozvojových zemích (Ca nosohltanu v Číně, nebo Burkittův lymfom v Africe), z finančních důvodů výrobci chtějí uplatnit vakcíny na Západě k prevenci IM.

Vakcíny obsahují glykoprotein gp340, představující hlavní složku obalu EBV, schopnou indukovat tvorbu neutralizačních protilátek. Je však nepravděpodobné, že by taková vakcína vedla ke sterilní imunitě, nezbytné pro prevenci vzniku s EBV souvisejících nádorů. Možná, že zabrání rozvoji IM tím, že ovlivní počáteční replikaci viru a jeho rozsev v těle při primoinfekci. Tím se omezí masivní odpověď cytotoxických lymfocytů na lytické antigeny a zmírní projevy nemoci.

Díky novým rozsáhlým poznatkům o specifických epitopech EBV pro cytotoxické lymfocyty je připravována vakcína s obsahem těchto peptidů, které mají navodit specifickou buněčnou imunitu. Potíže s množstvím variabilních alél lidských HLA genů a s proměnlivostí epitopů různých kmenů EBV byly překonány pomocí „polytopní“ vakcíny, která by měla být vhodná pro více než 94 % osob. Ale ani tato vakcína nepovede ke vzniku sterilní imunity, jen se očekává, že bude účinná proti vzniku onemocnění vyvolávaných EBV. Pro další výzkum je velmi zajímavá možnost připravit i léčebně použitelnou vakcínu, která by vyvolávala, nebo podporovala, specifické imunitní reakce proti produktům latentních genů EBV, které se uplatňují při některých nádorech spojených s EBV.

Při uvažované vakcinaci je však největším problémem neznalost vímavosti k nemocem, které souvisí s infekcí EBV. Vnímavou populační skupinou je EBV-séronegativní mládež, ale jen asi 50 % vnímavých osob po nákaze EBV onemocní IM. Bez aktuálních poznatků o populaci a lokalitách, kde by bylo vhodné zavést vakcinaci, není jasné o jak početnou skupinu osob se jedná.

Prevence vzniku IM pomocí neutralizace nebo omezení replikace do těla vniklého EBV je založena na předpokladu, že o závažnosti nemoci rozhoduje velikost počáteční infekční dávky viru. Tento předpoklad však nedávná studie nepodpořila, když po aplikaci stejně velké dávky EBV vznikl jeden případ IM a dvakrát došlo k subklinické sérokonverzi.

Očkování zdravých osob proti infekci, která není považována za závažnou, vyžaduje použití velmi bezpečné a účinné vakcíny. Proto je nutné rozšiřovat naše znalosti o epidemiologii i základní výzkum patogeneze IM, k čemuž je naprosto nezbytný zvířecí model. Nedávno objevený EBV-podobný lymfokryptovirus, přirozeně se endemicky vyskytující u makaků Rhesus, je v tomto ohledu nadějný, protože po orální nákaze vyvolává IM-podobný syndrom s následující latentní infekcí B-buněk a s vylučováním z orofaryngu. Zjišťuje se také jeho nádorový potenciál a je možné, že tento zvířecí model pomůže překonat problémy infekce virem EB u zdravých i nemocných.

159 citací, kopie v archivu odd. epidemiologie KHS Ostrava.

### **Poznámka překladatele:**

Článek obsahuje mnohem více detailních virologických, imunologických i klinických informací, které jsem vypustil. Zájemci doporučuji, aby si přečetl originál.