

## **Pod'akovanie**

Chcela by som sa poďakovať všetkým, ktorí mi akýmkoľvek spôsobom pomohli pri písaní tejto práce –mojím priateľom a kolegom. Ďakujem za povzbudenie, rady, trpezlivosť a ochotu, ktorú som vždy našla u tých, ktorých som potrebovala.

## Zoznam použitých skratiek:

**ADCC**- cytotoxicita závislá na protilátkach  
(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity )

**AIDS**- syndróm získanej imunodeficiencie  
(acquired immunodeficiency syndrome)

**ALT**- alanínaminotransferáza

**AST**- aspartátaminotransferáza

**BL**- Burkittov lymfóm

**CAEBV**- chronická aktívna EBV (chronic active EBV infection)

**CVID**- kombinované variabilné imunodeficiencie ( common variable immunodeficiency)

**DNA**- deoxyribonukleová kyselina

**EA**- včasný antigen ( early antigen)

**EBER**- EBV kódovaná RNA

**EBNA**-Epstein-Barrovej nukleárny antigén

**EBV**- Epstein-Barrovej vírus

**GMT**-gama-glutamyltransferáza

**gp**- glykoproteín

**HD**- Hodgkinova choroba

**HHV**- ľudský herpetický vírus (human herpes virus)

**HIV**- vírus ľudskej imunodeficiencie (human immunodeficiency virus)

**HLH**- hemofagocytujúcou lymfohistiocytózou (hemophagocytic lymphohistocytosis)

**Ig**- imunoglobulín

**IL**- interleukín

**IM**- infekčná mononukleóza

**INF**- interferón

**LD**- chudobný na lymfocyty

**LDH**- laktátdehydrogenáza

**Leu**- leukocyty

**LMP**- lipomembránový proteín

**LP**- lymfocytárne predominantný

**LPD**- lymfoproliferatívna choroba  
(lymphoproliferative disease)

**LT**- lymfotoxin

**Ly**- lymfocyty

**MHC**- hlavný histokompatibilný systém

**MS**- zmiešaný bunkový

**NK bunky**- prirodzené zabíjače (natural killer cell)

**NPC**- nazofaryngeálny karcinóm

**NS**- nodulárna skleróza

**OCH** – ox cell haemolysis

**PCR**- polymerázová reakcia (polymerase chain reaction)

**PEL**- primárny “effusion” lymfóm

**PID**- primárny imunodeficientný stav  
(primary immunodeficiency disease)

**PTLD**-posttransplantačné lymfoproliferatívne stavy

**RNA**- ribonukleová kyselina

**SCID**- ťažká kombinovaná imunodeficiencia

**SLE**- systémový lupus erythematosus

**Tc lymfocyt**- cytotoxický T -lymfocyt

**TGF**- transformačný rastový factor  
(transforming growth factor)

**TKD**- transplantácia kostnej drene

**TN**- tampon nosa

**TT**- tampon tonzíl

**VCA**- antigen vírusovej kapsidy

**vIL**- vírusový interleukín

**XLP**- X-asociovaný lymfoproliferatívny syndróm (X-linked lymphoproliferative disease/syndrome)

# Úvod

Infekcie vyvolané vírusom Epsteina-Barrovej (EBV) sú rozšírené po celom svete. EBV už v detskom veku vyvoláva subklinické infekcie a je etiologickým agensom infekčnej mononukleózy mladistvých dospievajúcich (60). Je to ochorenie, s ktorým sa stretáva často infektológ, pediater, hematológ, lekár prvého kontaktu, ale aj internista, či lekár ORL alebo dermato-venerológ.

Chorobný stav zahrňajúci lymfadenopatiu, horúčku, hepatosplenomegáliu a abdominálny diskomfort u adolescentov a mladších dospelých popísaný *N.Filatovom* (r.1885) a *E.Pfeifferom* (r.1889) ako akútna žľazová horúčka. V r. 1907 *M.Türk* pozoroval v rámci ochorenia hematologické zmeny a domnieval sa, že ide o akútnu lymfoblastickú leukémiu. Až potom, keď ochorenia s týmito zmenami nemali infaustnú prognózu, nazval toto ochorenie benígna leukémia alebo subleukemická lymfocytóza. V r.1920 *Sprunt a Morley* tento chorobný stav (popri rozoberaní príčin akútnej leukémie súvisiacej s blastickými bunkami v krvi) nazvali ako infekčná mononukleóza. V r.1921 *Tidy a Morley* ukázali, že Filatovova-Pfeiferova žľazová horúčka a Türkova subleukemická lymfocytóza sú totožné. V r.1932 morfológiu popísal *Downey*. V USA *Paul a Bunnell* v r.1932 objavili v sére symptomatických pacientov protilátky, ktoré aglutinovali s červenými krvinkami, ktoré nazvali ako heterofilné protilátky. To umožnilo spresnenie diagnózy infekčnej mononukleózy. Špecifickosť tejto reakcie zvýšil *Davidson* a používa sa dodnes (12).

Hľadanie etiologického agens pre infekčnú mononukleózu bolo neúspešným veľa rokov, čiastočné príčiny neboli ocenené u primárnej infekcie, ktorá bola asymptomatická. EBV ako ľudský herpesvírus bol popísaný v roku 1964 *Epsteinom, Barrovou a Anchongom* v bunkových kultúrach tkaniva lymfómu a bol identifikovaný *Dennisom Burkittom* v Ugande u detí s lymfómom. Až v roku 1968 *Werner Henle a Gertrude* identifikovali EBV ako pôvodcu infekčnej mononukleózy (46). Neskôr bolo objavené, že vírus je prítomný v neoplazmatických bunkách Burkittovho lymfómu, v nediferencovanom karcinóme nazofaryngu. Pretože EBV bol objavený ako príčina IM, problémom nastalo rozlíšenie prechodu medzi benígnym a maligným procesom (9).

## 1. Charakteristika

Vírus Epsteina –Barrovej patrí do čeľade Herpesviridae, ktorá je na základe biologických a molekulárne biologických kritérií rozdelená do 3 podčeľádí (tab.č.1) Morfologicky ani citlivosťou k chemickým a fyzikálnym vplyvom sa EBV nelíši od ostatných príslušníkov čeľade Herpesviridae. Patrí medzi ubikvitárne  $\gamma$  herpesvírusy (47). Vírus je zložený z jadra, jeho puzdra (kapsidy) a obalu. Jadro je tvorené 2-vláknovou lineárnou DNA. Základnou štruktúrou kapsidy je ikosahedral, tvorený proteínovými kapsomérmi. Na vonkajšej membráne (obale) sú povrchové vírusové glykoproteíny. Vírus pomocou glykoproteínu endocytózou vniká do bunky. Jeho replikácia prebieha v jadre. Obsahuje vírusové proteíny, ktoré sa spájajú s hostiteľskou membránou. Vírus antigénne nie je blízky žiadnemu z ľudských herpesvírusov, ale dĺžkou a usporiadaním genómu i inými biologickými vlastnosťami sa podobá niektorým herpesvírusom opíc. Štúdiom antigénnej štruktúry sa zistil celý rad antigénov, z ktorých sa viaceré využívajú na špecifickú diagnostiku IM. Genóm EBV má okolo 186 párov kilobáz. Vírusová DNA determinuje syntézu asi 80 bielkovín a niektorých glykoproteínov vrátane glykoproteínu gp 350/ 220, ktorý sprostredkuje adsorpciu na CD21 a gp 85, ktorý sa zúčastňuje fúzií membrán. Rozlišujeme 2 podtypy EBV podľa rozdielnosti

sekvencií báz DNA v nukleárných proteínových génoch (EBNA)2,3,4 a 6. Typ A a B vírus môže byť detegovateľný bez závislosti na typu latencie. Typ A vírus je ubiquitárny, je schopný častých zmien a zúčastňuje sa imortalizácie B-lymfocytov in vitro. Vyskytuje sa predovšetkým v Európe, Amerike a Ázii. Typ B nie je schopný sa veľmi meniť, vyskytuje sa v Afrike ale aj v USA a u imunokompromitovaných jedincov. Tvorba EBV kódovaných proteínov je rozdielna v závislosti od štádia infikovaných buniek (tab.č.2).

V závislosti od typu latencie sa v latentnej fáze infekcie tvorí 6 nukleárných antigénov (EBNA-1, EBNA -2, EBNA-3 (a), EBNA- 4 (3b), EBNA- 6 (3c) a EBNA -LP) 3 latentné membránové proteíny ( LMP-1, LMP-2a, LMP-2b) a 2 krátke reťazce RNA (EBER-1 a2). V jadrách latentne infikovaných buniek pretrváva genóm EBV vo forme epizómov a to v počte 10-400 kópií. Podľa povahy hostiteľskej bunky a stavu jej biologickej aktivity a určuje 4 základné typy latencie (tab.č.3.)

Lytická, produktívna EBV infekcia je spojená s tvorbou ďalších *proteínov lytickej fázy*: regulačné proteíny (immediate early proteins), proteíny viažúce sa na jadro (early proteins), štruktúrne proteíny (late proteins). Pri lytickej infekcii vzniká aj vírusový interleukín 10 (vIL-10), ktorý je v 80 % identický s IL-10 produkovaným výkonnými lymfocytmi a potláča aktivitu interferónu a proliferáciu T- buniek a prispieva tak k imunosupresívnemu účinku infekcie EBV na organizmus hostiteľa. EA spúšťajú transkripciu a transláciu kapsidových vírusových proteínov (VCA) a povrchových vírusových glykoproteínov.

Úplná replikácia - produktívna alebo lytická EBV prebieha na diferencovaných epitelových bunkách, je doprevádzaná syntézou vírusových antigénov a zostavovaním viriónov. EBV má tymidínkinázu. Bunky, ktoré replikuje EBV, fosforylujú aciklovir. Vírusová polymeráza je citlivá k trifosfátu acikloviru, ale liečba aciklovirom nemá však vplyv na latenciu alebo vírusom indukovanú proliferáciu (8).

## 2. Epidemiológia

Výskyt vírusov je v populácií na celom svete bežný. V populácií je infekcia EBV veľmi rozšírená, väčšina osôb sa infikuje už v útlom detstve (10).

Vírusom Epstein-Barrvej je infikovaných 95% ľudí (16). Obyvatelia rozvojových krajín bývajú nákaze vystavení už v rannom detstve, kedy infekcie prebiehajú najčastejšie inaparentne. V krajinách s vyšším hygienickým štandardom dochádza k primárnej infekcii viac v adolescencii alebo skorej dospelosti a vedie častejšie k typickému ochoreniu, infekčnej mononukleóze. Vírus sa môže nachádzať v orofaryngu 10-20 % zdravých jedincov (12).

*Človek je jediným prirodzeným hostiteľom EBV*, však možno ho preniesť na primáty. U niektorých druhov opíc vedie experimentálna nákaza k rozvoju lymfómu (10).

**Zdrojom nákazy** sú zdraví i chorí nosiči vírusu, ktorý po nákuze doživotne pretrváva v organizme. Občas dochádza k jeho reaktivácii a k vylučovaniu slinami. U malých detí prebieha nákaza často inaparentne a ochorenie je najčastejšie v dorastovom veku. Do 5 rokov väčšinou ide len o nemú sérokonverziu. Sporadicky sa objavuje medzi 2.- 14.rokom a incidencia dramaticky stúpa okolo 15.roku u osôb s vyššími sociálno- ekonomickými podmienkami. Vo vekových kategóriách po 30.roku života je ochorenie zriedkavé (59)

**Inkubačná doba** trvá 4-7 týždňov. Najčastejšie je to okolo 14 dní (58).

**K prenosu dochádza** intímny kontaktom-hlavne slinami. Ale bol zaznamenaný tiež pri transfúzií krvi séronegatívnym pacientom. Transplacentárny prenos je teoreticky možný, je však veľmi málo pravdepodobný. Bol tiež popísaný prenos na novorodenca EB-vírusovou infekciou ektocervixu. EBV prenos sa uskutočňuje aj počas sexuálneho styku alebo je tesne spätý so sexuálnym správaním. Prenos touto cestou sa objavuje vo väčšine prípadov IM, ale len zriedkavo pri asymptomatických EBV infekciách, ktoré sa väčšinou vyskytnú v nižšom veku.(14) Pravdepodobnosť, že sa EBV nakazíme vzdušnou cestou je 10%.

Ochorenie sa vyskytuje na celom svete sporadicky, ale EBV spôsobuje aj malé epidémie v kolektívach internátov, škôl, detských domovov (16) .

V populácií pozorujeme *rovnakú incidenciu ochorenia u oboch pohlaví*, prípadne je mierne prevaha žien. Incidencia detí mladších ako 10 rokov a starších ako 30 ročných je menšia – a to 1 prípad na 1000 osôb za rok. U pacientov 10 až 19 ročných je incidencia (6-11 prípadov na 1000 obyvateľov za rok ), u mladých adolescentov (u vojakov pri povinnej vojenskej službe a vysokoškolákov každoročne na infekčnú mononukleózu ochorenie 11 až 48 prípadov na 1000 osôb). Rýchlosť premorenia populácie závisí od rôznych faktorov ako sú: sociálno-ekonomické podmienky, životné zvyklosti, tesnosť kontaktu medzi osobami (60). Nie je rasová predilekcia. Index infekciozity sa pre IM udáva okolo 10%.

**Sezonalita ochorenia-** častejšie vyskytuje v jarnom a jesennom období. Tento jav môže súvisieť s rozpustením detských kolektívov a vysokoškolských internátov v letnom období, vyššia možnosť stretávania sa mladých ľudí po návrate z prázdnin, alebo dovoleníek.

**Mortalita/ morbidita-** včasná primárna EBV infekcia môže byť asymptomatická. Smrť je vzácna u imunokompromitovaných pacientov s akútnou infekčnou mononukleózou. Môže byť spôsobená cez neurologické komplikácie, ťažkou obštrukciou dýchacích ciest alebo ruptúrou sleziny.

EBV infekcia sa spája s mnohými tumormi. Endemický Burkittov tumor sa často vyskytuje u detí v Afrike. Nazofaryngeálny karcinóm je najviac rozšírený u pacientov v Južnej Číne, tiež je často nachádzaný v Severnej Amerike u Eskimákov a v Severnej Afrike u belochov. Non- Hodgkinovské a Hodgkinovské lymfómy sú tiež spájané s EBV (12) .

### 3. Patogenéza

Prameňom nákazy je chorý človek, alebo nosič vírusu. Vírus sa prenáša intímny kontaktom s osobou vylučujúcou vírus.

Rozdelenie patogenézy: (41)

1. *Možné patogenetické mechanizmy EBV asociovaných maligných stavov s bunkovou alteráciou:*

- Burkittov lymfóm
- NPC
- HD
- T-bunkový lymfóm
- NK bunkový lymfóm/ leukémia
- Karcinóm žalúdka
- Lymfoepiteliálne podobný karcinóm

2. *Patogenetické mechanizmy pre EBV asociované stavy najmä cez abnormálnu imunitnú odpoveď a / alebo imunodeficienciu*

- IM

- lymfoproliferatívne stavy u pacientov s imunodeficitom
- X- závislé lymfoproliferatívne stavy

### 3. Možné patogenetické mechanizmy pre EBV-asociované stavy najmä s abnormálnou imunitnou odpoveďou a / alebo imunodeficienciou a celulárnou alteráciou

- CAEBV

Behom inkubačnej doby dochádza k primárnemu pomnoženiu vírusu v epiteliálnych bunkách nosohltana a v B-lymfocytoch uložených v submukóze, tonzilách. Na začiatku sa infikuje epitel nosohltana, potom B-lymfocyty, ktoré diseminujú vírus do krčných lymfatických uzlín. Prolifériou transformovaných B-lymfocytov sa dostáva vírus do krvného obehu a môže prejsť do produktívnej fázy a uvoľniť sa kdekoľvek v tele. Dochádza postupne k infiltrácii ďalšieho lymfatického tkaniva, najmä sleziny a pečene a rozvoju IM. Vírus sa najviac vylučuje v ústnej dutine, takže je bežne prítomný v slinách asymptomatického hostiteľa a vo veľkom množstve u osôb so zníženou imunitou (60). Dôsledkom je vznik rôznych autoprotilátok, ktorých produkcia je za normálnych okolností potlačená. Objavuje sa reumatoidný faktor, antinukleárny, antimitochondriálny a i. Aktivované B-lymfocyty secerujú IgG. Neoantigény v bunkovej membráne transformovaných buniek indukujú vznik tzv. *heterofilných protilátok*. Zmenené povrchy transformovaných lymfocytov sú terčom cytolytického účinku NK-buniek, výkonných T<sub>c</sub> lymfocytov a produktov aktivácie komplementu. To vedie v imunokompetentnom organizme k ich zániku. V prvých týždňoch infekcie dochádza k mononukleárnej lymfocytóze, pričom stúpa počet lymfocytov T so supresorovou a cytotoxickou aktivitou. V akútnej fáze infekcie lymfocytov T<sub>c</sub> tlmí syntézu imunoglobulínov a v rekonvalescencii pôsobí tlmivo na EBV infikované B-lymfocyty (schéma č.1).

Ako jediný z ľudských herpesvírusov spôsobuje transformáciu buniek svojho prirodzeného hostiteľa (10).

V primárnej, perzistentnej a latentnej EBV infekcii sú dôležité 2 typy buniek: (schéma č.2)

1. *B- bunky*, ktoré sú v čase infekcie predominantne latentné a môžu byť potenciálnym spúšťačom vývojovej transformácie B- buniek. Vysoká počiatočná infekčná dávka má za následok vysoký počet B-lymfocytov s následnou zreteľnou odpoveďou T-buniek.

2. *Epiteliálne bunky*, ktoré sú predominantné pre replikáciu vírusu.

Presný spôsob primárnej a perzistujúcej infekcie je nejasný. Po primárnej infekcii perzistuje latentne vírusová DNA v kľudových B- lymfocytoch a na bunkách bazálnej vrstvy dláždicového epitelu napr. nosohltana, slinných žliaz a ektocervixu. Vírus produkujú len diferencované bunky granulárnej vrstvy a vírus sa uvoľňuje z povrchových buniek. Pokračovanie primárnej infekcie a pretrvávanie chronickej EBV infekcie je založené na tom, že dochádza ku kontrole imunitnej odpovede cez transformujúci rastový faktor a cez reaktiváciu EBV špecifických T<sub>c</sub> a vírus špecifických pamäťových T buniek. Latentne infikované B-bunky majú svoje miesto aj v lytickej fáze EBV infekcie (42). Pri oslabení imunologickej obrany dochádza k opätovnému vzplanutiu infekcie, aktivácií replikácie vírusu v B-bunkách i epiteliálnych bunkách a jeho vyplavovaniu z buniek a vylučovaniu slinami. Vírus je možné intermitentne izolovať zo sekréty ductus Stenoni zdravých nosičov.

Uzdravenie z primárnej infekcie EBV je spojené s humorálnou i bunkovou odpoveďou. Akékoľvek oneskorenie sa bunkovej reakcie pri infekcii alebo príliš silnej odpovedi prispieva k vzniku ochorenia..

*Patogenéza atypických EBV infekcií* nie je doposiaľ objasnená. Ďalšie imunologické a molekulárno-genetické štúdie povedú k objasneniu vzťahov EBV infekcie k imunitným reakciám a prispejú k hľadaniu špecifickej a účinnej liečebnej stratégie (51).

## **Imunologické aspekty EBV infekcií:**

EBV patrí medzi ubikvitárne  $\gamma$  herpesvíruses, ktoré primárne vyvolávajú akútnu infekčnú mononukleózu (IM) alebo subklinickú infekciu u citlivých jedincov. Vírus tiež prispieva k vývoju epiteliálnej alebo lymfoidnej malignity. Prekonávanie EBV infekcie B-bunkami je najprv kontrolované interferónom INF- $\gamma$  a prirodzenými zabíjačmi (NK) bunkami a najskôr špecifickými cytotoxickými T-lymfocytmi (Tc).

EBV spôsobuje výnimku v imunitných procesoch. EBV génom bez ovplyvnenia hostiteľa zmení signály apoptózy a rovnováhy cytokínov u perzistujúcej B-bunkovej infekcie. V spojení s množstvom nezvládnuteľnej lymfoproliferačie dochádza u EBV<sup>+</sup> B buniek k lymfoproliferatívnym chorobám (LPD), lymfómu pri AIDS, posttransplatačným alebo primárnym imunodeficientným stavom (PID). Ale vždy „ruka v ruke“ EBV<sup>+</sup> T/ NK bunky súvisia s EBV<sup>-</sup> hemofagocytujúcou lymfohistiocytózou (EBV-HLH) alebo chronickou aktívnou EBV infekciou (CAEBV) u detí, ktoré nemajú podstatné imunodeficity a po čase vedie cez klonálnu zmenu cez T/NK -bunky k LPD/ lymfómu.

Dominantne autokrinný cyklus T helperov Th2 a Th1 sa môže uplatniť v EBV<sup>+</sup> B/LPD a T/ LPD. (schéma č.3). EBV súvisí aj s ďalšími ekologickými a genetickými vplyvmi, s malignitami ako Burkittov lymfóm (BL), nazofaryngeálny karcinóm (NPC), Sjögrenov syndróm, systémový lupus erythematosus (SLE), reumatoidnou artritídou a črevnými zápalovými chorobami.

EBV infekcia u primárne imunodeficientných stavov (PID) je príkladom pre pochopenie patofyziológie EBV-spojených stavov. Imunologické odchýlky pri EBV infekcii boli rozhodujúce v rovnováhe cytokínov, súviseli s imunitnou odpoveďou a vírusovým systémom (47).

### **1. EBV infekcia u normálne imunokompetentného hostiteľa**

*Primárna infekcia:* Ako vírusový receptor na povrchu B-lymfocytov sa uplatňuje molekula CD21, zhodná s receptorom pre C<sub>3d</sub> zložku komplementu. Tento receptor je i na ďalších bunkách, najmä na nezrelých thymocytoch, folikulárnych dendritických bunkách, ktoré môžu byť tiež pravdepodobne infikované. B-lymfocyty nie sú prevažne k EBV permissívne, ale sú infekciou transformované, čo sa prejavuje ich immortalizáciou. Receptory pre EBV prítomné na povrchu všetkých lymfocytov spôsobujú, že vírus funguje v počiatočnej fáze infekcie ako silný polyklonálny aktivátor tvorby protilátok B-bunkami, nezávisle na iných bunkách.

Prenos slinami EBV infekcie B-bunkami je hlavná cesta infekcie. EBV sa replikuje v neporušených slizničných epiteliálnych bunkách. Infekcia v orofaryngeálnych epiteliálnych bunkách poukazuje na spätosť s IgA. CD21<sup>+</sup> B bunky sú esenciálne pre primárnu EBV infekciu. Podľa príľnavosti vírusového gp 350/220 a bunkového CD21 receptora a následnej väzbovej interakcie medzi vírusovým gp 25/gp85/gp42 komplexom a MHC II molekulami (HLA DR, DP, DQ) by mohlo dôjsť k inkorporácii vírusu. Na druhej strane pri lymfocytovom syndróme došlo k infikovaniu EBV napriek kompletnému nedostatku MHC II.

*Akútna infekčná mononukleóza* - Po inkubačnej dobe sa počas akútnej fázy IM zvýši počet infikovaných EBV-B buniek z 1 na 20 % cirkulujúcich B-buniek. Proliféria EBV infikovaných B-buniek je typická v prvých 2 týždňoch pre IM, následnou bunkovou odpoveďou skladajúcou sa z prirodzených zabíjačov (NK), interferónu (INF)- $\gamma$ , aktivovaných CD8 T buniek a antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC). Aktivácia CD8 T buniek sa morfológicky definuje ako *atypické lymfocyty*. Vzrastá počet HLA-DR<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T buniek a redukuje sa pomer CD4/ CD8. EBV špecifické CD4<sup>+</sup> T bunky hrajú dôležitú úlohu v primárnej infekcii a udržiavaní funkčnej pamäte kompetentných CD8<sup>+</sup> T -lymfocytov. Cytokíny hrajú hlavnú úlohu v patofyziológii akútnej IM. Počas akútnej IM sú zvýšené hladiny IL-1 $\alpha$ , IL-2, IL-6 a INF- $\gamma$ . Profil cytokínov väčšinou závisí od expanzie a aktivity

CD8<sup>+</sup> T buniek aj keď ďalšie imunologické efekторы (CD4<sup>+</sup> T bunky, NK bunky, monocyty, neutrofilý a epiteliálne bunky) rovnako ako „terčové“ EBV infikované B-bunky uvoľňujú cytokíny. V tonzilách v EBV infikovaných bunkách sa prednostne zrýchľuje tvorba lymfotoksinov (LT), tumor nekrotického faktora TNF- $\alpha$  a IL-6. V EBV negatívnych bunkách v interfolikulárnej aree sa vytvárajú IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  a IL-8. INF- $\alpha$  bol vylúčený cez NK bunky a B-bunky počas 24 hod od infekcie, INF- $\gamma$  bol výhradne secerňovaný T bunkami pri premene IL-1 a IL-2 a to maximálne 8 dní po infekcii. Prameňom IL-1 sú NK bunky a monocyty. EBNA 1- špecifické CD4<sup>+</sup>T bunky preferujú produkciu Th2 typu cytokínov ako odpoveď na antigénovú stimuláciu. V kontraste je poukázané na polarizáciu Th1 fenotypu (INF- $\gamma$ /EBNA1) –špecifickými CD4<sup>+</sup> T bunkami, naznačujúci ich rezistenciu funkcie EBV infekcie a EBV asociovanej malignity (schéma č.3).EBV môže tiež vplývať na neutrofilý a monocyty.

*Imunologické aspekty u perzistujúcej infekcie:* Cirkulácia IgD<sup>+</sup> B- buniek, čo sú pamäťové B-bunky súvisí s dlho pretrvávajúcou EBV infekciou.B-bunky ukrývajúce EBV gény v latentnej forme sú kontinuálne alebo intermitentne vylučované ako vírusy v slinách. EBV –Tc pretrvávajú v krvi ako malé lymfocyty s fenotypom (HLA-DR<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup>, CD62L<sup>+</sup>). V perzistujúcej infekcii najviac pretrvávajú vedľa Tc aj EBNA 3 (3A), EBNA 4 (3B) a EBNA 6 (3C). LMP1 sú onkogény, ktoré indukujú a signalizujú odpoveď napodobňovaním vytvorenia aktivovaných foriem s CD40. LMP2 blokuje tyrozínkinázovú fosforyláciu a zabraňuje reaktivácii počas latencie. INF- $\alpha$  a INF- $\gamma$  inhibujú výsledok EBV infikovaných buniek. Majú pomôcť zmať hostiteľský imúnny systém cez akútnu IM alebo reaktiváciu vírusu cez latentne infikované bunky.

## **2.EBV infekcia u pacientov s EBV-spojených stavov:**

Po aktivácii buniek CD4<sup>+</sup> príslušnou bunkou prezentujúcou antigén dôjde k vzostupu metabolickej aktivity, k proliferácii príslušného klonu a k ďalšej mobilizácii obranných mechanizmov, najmä prostredníctvom sekrécie cytokínov. Podľa typu cytokínovej odpovede sa CD4<sup>+</sup> tzv. bunky Th, delia na bunky Th1 a Th2. Bunky Th1 po aktivácii tvoria najmä IL-2, INF-  $\alpha$ , TNF-  $\alpha$  a  $\beta$ , t.j. cytokíny, ktoré podporujú viac cytotoxickú odpoveď. Bunky Th2 vylučujú viac IL-3,4,5,6 a 10, čo určuje imunitnú odpoveď viac protilátkovým smerom.

*EBV<sup>+</sup> B bunkový LPD/lymfóm:* EBV-asociovaná lymfoproliferácia môže prameniť cez T/NK bunky.IL-6 je využitý ako rastový faktor v pamäťových EBV-B-bunkách.IL-6 podporuje vývoj EBV<sup>+</sup> B-LPD a anti IL-6 protilátky znižujú incidenciu tumoru. Profil cytokínov u PTLD má prednanciu v Th2 bunkách.

*EBV<sup>+</sup> T/ NK bunkový LPD (CAEBV alebo EBV-HLH):*EBV<sup>+</sup> T bunkový lymfóm sa vyznačuje Th1 typom buniek , IL-2 a a INF- $\gamma$  cytokínmi, spolu cez zápalové faktory (TNF- $\alpha$  a IL-6) a potlačením transformačného faktora TGF- $\beta$ . V patofyziológii EBV HLH zohráva úlohu cez Th1 bunky typ cytokínov (IL-18, IL-12, INF- $\gamma$ ) (47).

## **4. Patologická anatómia**

**Makroskopicky** pri IM nachádzame zmeny hlavne na lymfatických uzlinách. Vzniká hyperplázia lymfatického tkaniva a proliferácia retikuloendotelových buniek v lymfatických uzlinách. Bývajú často zdurené, mäkké, hnedočervenej farby, s nálezom atypických lymfomonocytov. Najčastejšie sú postihnuté krčné a retroaurikulárne lymfatické uzliny. Pakety sa tvoria vzácné. Tonzily bývajú zväčšené, často s nálezom pseudomebrán, pod ktorými je nekróza. Okolie tonzíl je presiaknuté, nachádzame prekrvenie a edém tracheálnej sliznice aj bronchov. Pľúca bývajú ložiskovo nevzdušné. Ložiská sú roztrúsené, niekedy vzniká exudatívna pleuritída. Myokard je makroskopicky bez zvláštneho nálezu. Slezina býva v jednej tretine fatálnych prípadov zväčšená s napnutým puzdrom, pulpa je mäkká, folikuly neostro ohraničené. Pečeň má hladký povrch a okraj. Na reze je hnedočervenej farby, tuhej konzi-



stencie. Na mozgu vidíme často sploštenie gyrov, tkanivo je mäkké, edematózne, často so stlačením komôr (7).

**Histologické nálezy** sú nápadné hlavne na lymfatických uzlinách. Uzliny majú zotretú štruktúru, ale sínusy bývajú dilatované. Puzdro je infiltrované lymfocytmi, v sínusoch sa objavujú veľké mononukleáre so stočenými jadrami, v kortexe je difúzna alebo uzlovitá hyperplázia imunoblastov, často atypických, pripomínajúcich Sternbergerove bunky. Pleomorfne blastické bunky sú v hyperplastickej červenej dreni. Vaskulárna kongescia je spájaná s fokálnym a subkapsulárnym zakrvácaním. V slezine bývajú neostro ohraničené folikuly, lymfocytárna infiltrácia kapsuly a trabekúl. V dreni je výrazná retikulohistiocytárna proliferácia s výskytom epiteloidných buniek, okolo ktorých sú infiltráty eozinofilov, lymfocytov a plazmocytov. V pečeni býva periportálna infiltrácia, rozšírené kapiláry a infiltrácia sublobulárných vén. Ďalej nachádzame dilatáciu sínusoidov, ložiskovú hyperpláziu Kupfferových buniek, infiltráciu portobiliárných priestorov mononukleárnymi, často aj multifokálne nekrózy pečenných buniek (12). Mononukleárne infiltráty sú aj v pečeni, obličkách, myokarde, v nadobličkách a v mozgu (4). V mozgu sú perivaskulárne infiltráty s drobnými hemorágiami, dochádza k degenerácii nervových buniek s tvorbou glie. Bola nájdená neuronálna perivaskulárna degenerácia a hyperplázia astrocytov(12) .

## 5. Klinický obraz

Práca z Univezitnej kliniky pre deti a dorast v Lipsku podáva podrobný prehľad o klinických obrazoch spôsobených vírusom EBV (51).

*Rozdeľujeme ich do 2 kategórií:*

1. známe klinické obrazy
2. atypické infekcie spojené s EBV

### 5.1. Známe klinické obrazy EBV infekcie

#### 5.1.1. Infekčná mononukleóza (IM)

Infekčná mononukleóza môže prebiehať aj pod obrazom veľmi ťažkej choroby s množstvom komplikácií a v niektorých prípadoch môže viesť ku letálnemu koncu.

Pre *symptomatológiu* IM je typická horúčka, bolesti v krku, únava, lymfadenopatia a z laboratórnych nálezov: lymfocytóza s atypickými lymfocytmi a prítomnosťou špecifických protilátok proti EBV v sére.

**Prodrómy** ako subfebrílie, únavnosť až spavosť môžu prechádzať začiatku ochorenia hlavne u malých detí (16). Prodromálne obdobie môže byť rôzne dlhé. U detí je spravidla kratšie, 2-3 dni, u dospelých 1-2 týždne (1). U dospelých v popredí subjektívnych ťažkostí sú: bolesti hlavy, myalgie celého tela, anorexia, únavnosť a nevýrazná lymfadenitída krčných uzlín.

**Priebeh** môže byť akútny s trvaním 2 až 3 týždne, subakútny až chronický s hepatálnou léziou a dynamicko-depresívnym syndrómom, so sklonom k infekciám a perzistencii lymfocytózy (60).

**Vlastné ochorenie** začína horúčkou (38-39°C), niekedy zimnicou, nechutenstvom, bolesťami v krku a sklonom k poteniu. *Horúčka* môže byť kontinuálna, niekedy septického charakteru a u neliečených prípadov ochorenia len veľmi pomaly klesá a má tendenciu perzistovať aj viac týždňov vo forme subfebrilit (5). Typické je, že febrilný stav nemožno ovplyvniť podávaním antibiotík (56). Pri ľahších formách ochorenia teploty pretrvávajú 4-6 dní, v ťažších prípadoch 2-3 týždne, niekedy aj dlhšie. Horúčka je prítomná až u 90 % pacientov (12).

V prvom týždni zisťujeme *povlakovú angínu a faryngitídu* (Obr.č.1). Je zaujímavé, že typická povlaková angína, ktorá pripomína záškrt sa nezjavuje u každého pacienta. Je asi len u 28,4 % chorých. Častejšie býva prítomná u detí, menej u adolescentov a u dospelých (16). Často sa veľké a zdurené mandle navzájom dotýkajú natoľko, že sa postihnutému ťažko dýcha, v noci sa dusí a chrápe. Na tonzilách sú prítomné pseudomembranózne povlaky. Na 3.-4.deň sa zjavuje na mäkkom podnebí *Holzerov príznak* (bodkovité drobné zakrvácanie- enantém), ktorý spravidla pretrváva 4 dni, vyskytuje sa u 5-30 % chorých (Glenna B Winnie a kol. popisujú až u 25-60 % pacientov) (60). Charakteristický je *intenzívny belavý povlak jazyka*, ktorý môže eróziám predchádzať alebo sa môže objaviť aj súčasne s nimi, kedy sa môže stupňovite zväčšovať. Môže byť prítomný foetor ex ore- najmä vtedy, ak sú prítomné lézie na slizniciach bolestivé a je nedostatočná hygiena dutiny ústnej. Veľmi častý je aj herpes labialis. Pre značné zdurené tonzíl a zdurené celého Waldayerovho lymfatického okruhu, nosovej sliznice a nosohltanu, je *reč pacientov* „huhňavá“. Často je prítomný aj ďalší príznak tzv. *Bassov príznak*. Pacienti majú obojstranne opuchy viečok a okolia očí a nadobúdajú „orientálny výraz tváre“.

*Reakcia lymfatických uzlín* je značná, najviac bývajú zdurené submandibulárne a krčné lymfatické uzliny, menej axilárne a inguinálne (Obr.č.2). Typickým príznakom je obojstranné zdurené krčných alebo podčelústných lymfatických uzlín. Niekedy sú len mierne zväčšené, inokedy sú veľké a vytvárajú zhľuky (3). Uzliny sú na rozdiel od iných bakteriálnych zápalov nehnisavé, nebolestivé a sú voľne pohyblivé (16). Lymfadenopatia je generalizovaná. Zväčšenie lymfatických mezenterálnych uzlín môže viesť k obrazu akútnej apendicitídy. S ústupom teplôt môže miznúť aj lymfadenopatia, ale obyčajne vidíme, že pretrváva týždne, ba aj mesiace.

Splenomegália patrí k jedným zo základných príznakov typického ochorenia a býva prítomná od samého začiatku choroby asi u 50 % pacientov. Pri palpácii nie je bolestivá, okraj má hladký. Poškodenie pečene býva pravidelným príznakom ochorenia asi u 10% pacientov. V 5 až 10 % prípadoch i s ikterom (46). Symptomatológia pečeneového ochorenia sa nelíši od iných pečeneových ochorení. Býva nechutenstvo, pocit nafukovania, bolesti pod pravým rebrovým oblúkom. Na pohmat je pečeň zväčšená a citlivá (22). V prvých dňoch ochorenia poškodenie pečene nebýva výrazné, ale postupne sa zvyšujú hodnoty pečeneových enzýmov a maximum dosahujú v 2. až 3.týždni ochorenia. Do konca 5.týždňa obyčajne odoznie väčšina príznakov a normalizujú sa pečeneové testy. Len u 5% chorých je pozorovaný ikterus.

U niektorých pacientov sa môžu zjaviť *exantémy* rôzneho vzhľadu. Vzácné sa objavuje exantém morbiliformného a skarlantiformného alebo urtikariálneho charakteru. Exantém sa objavuje medzi 4. až 6. dňom ochorenia. Jeho výskyt sa uvádza rôzne od 3 % až do 12-15 % chorých (12). Na trupe, ale aj na tvári a končatinách sa objavujú nesvrbivé makuly a papuly červenej alebo červenohnedej farby, niekedy aj s drobnými hemorágiami. Veľmi zriedka sa objavuje exantém typu erythema multiforme a erythema nodosum (46).

Niekedy prechodne sú pozorované známky imunopatologického pôsobenia protilátok (cirkulujúci imunoglobulín IgG a imunoglobulín IgM), napr. liekový exantém po ampicilíne (obr.č.3) alebo hemolytická anémia (10). Výskyt tohto exantému sa udáva až u 60-100% pacientov, ktorí užívali aminopenicilíny. Objavuje sa najčastejšie na 9.-10.deň od začatia liečby, aj po jej prerušení. Vyrážka je po celom tele, často má tendenciu splývať a mierne svrbí. Pacienti dovtedy nemali žiadne alergické reakcie na antibiotiká a aj po prekonaní infekčnej mononukleózy ich môžu pri iných ochoreniach užívať. Exantém len pomaly ustupuje po zmene antibiotika a po podaní glukokortikoidov a antihistaminík (16).

Ochorenie môžu sprevádzať aj necharakteristické symptómy, ako výrazná únavnosť, potenie, nádcha, nechutenstvo, nauzea, bolesti hlavy, očných svalov, kĺbov, brucha (ako prejav mezenterálnej lymfadenitídy), bradykardia a pod.

Okrem tejto typickej uzlinovej formy, môže IM prebiehať pod obrazom chrípkového ochorenia, faryngitídy s reakciou lymfatických uzlín alebo mezenterálnej lymfadenitídy. U detí mladších ako 4 roky môže byť spojená splenomegalia alebo hepatomegalia, rash so symptómami infekcie horných dýchacích ciest.

Ochorenie je spojené s výrazným oslabením obranyschopnosti organizmu, najmä v oblasti bunkovej imunity. Príznačné je prechodné vymiznutie pozitivity kožných testov, sprevádzané zvýšenou vnímavosťou k ďalším, pridruženým nákazám. Na tonzilitíde u IM sa často etiologicky podieľa *Streptococcus pyogenes* (51).

**Komplikácie infekčnej mononukleózy** možno rozdeliť na :

1. *špecifické*, ktoré priamo súvisia so základným ochorením
2. *nešpecifické* - ako bakteriálne a iné vírusové superinfekcie alebo súbežné infekcie (najčastejšie streptokokové a stafylokokové) (schéma č.5).

Ruptúra sleziny a dýchacie ťažkosti (obštrukcia dýchania) sa vyskytuje menej ako 0,5% a menej ako 5 % u dospelých pacientov (47). Primárna infekcia EBV môže vzácne viesť k rozvoju hemolytickej anémie, myokarditídy, pankreatitídy či intersticiálnej pneumónie a to bez klinického obrazu IM. Súčasne neutropénia a trombocytopénia sú relatívne komplikácie, pancytopenia je ťažká komplikácia (51).

Neurologické komplikácie sa prejavujú vo forme meningitickej, meningoencefalitickej, syndrómom polyradikuloneuritídy Guillain-Barré. Meningeálna forma sa prejavuje ako iná tzv. aseptická meningitída. Celkový stav sa väčšinou rýchlo upravuje. U meningoencefalickej formy dochádza k výrazným poruchám vedomia, soporu až kóme, celkovým kŕčom s pyramídovými a extrapyramídovými, vestibulárnymi a mozočkovými príznakmi. Môžu sa objaviť parézy mozgových nervov, najčastejšie n. facialis, hemiplégie až kvadruparézy. Väčšinou i tieto formy ochorenia po niekoľkých týždňoch majú dobrú prognózu. Ascendentná forma polyradikuloneuritídy môže mať ťažký priebeh, bulbárne postihnutie môže byť i smrteľné. U niektorých jedincov sa po akútnom ochorení rozvíja syndróm chronickej IM, spojený s rekurentnou aktiváciou latentnej infekcie EBV. Prejavuje sa únavou, subfebrilitami, faryngitídami, lymfadenopatiami, bolesťami v kĺboch a rôznymi alergiami, ktoré sa v priebehu rokov stupňujú. Zriedka sa v dôsledku infekcie EBV rozvíja fatálny lymfo-proliferatívny syndróm. Vzniká niekedy u jedincov bez zjavného imunologického defektu, častejšie u osôb s geneticky podmienenou imunologickou nedostatočnosťou, viazanou na X- chromozóm. U zomrelých pacientov boli popísané nápadné zmeny v histologickej štruktúre thymu, najmä úbytok až vymiznutie Hassalových teliesok, nekrózy a zápalové infiltrácie (10). Ďalšou komplikáciou môže byť renálne zlyhanie s intersticiálnou nefritídou, zväčšením obličiek a biopsicky charakteristickou akútnou tubulárnou nekrozou (57).

U osôb liečených imunosupresívami, napr. v postrtransplantačnom terapeutickom režime, môže byť aktivácia EBV spojená so vznikom polyklonálnych lymfómov. Ochorenia spojené s EBV infekciou sú u príjemcov TKD pomerne vzácne. Je to preto, že hlavný zdroj latentného EBV, B-lymfocyty príjemcu, sú účinne eliminované dôsledkom cytoreduktívnej terapie, ktorá predchádza vlastnú transplantáciu. Postupne môže dôjsť k eliminácii latentného vírusu z epitelu nosohltanu, takže séropozitívny pacient, pokiaľ nedostane štep od séropozitívneho darcu, môže po TKD prejsť do séronegativity na EBV. Exogénna infekcia EBV potom u neho môže prebiehať ako typická IM. Vo vzácných prípadoch môže dôjsť u príjemcu TKD k masívnej proliferácii EBV-transformovaných buniek, ktorá vedie ku vzniku postrtransplantačného lymfoproliferatívneho ochorenia (36).

Podobné znaky charakterizujú i väčšinu lymfómov vznikajúcich v priebehu AIDS. V neskorom štádiu infekcie HIV sa prejavuje aktivácia latentnej infekcie EBV v orálnych epiteliálnych bunkách charakteristicky vlasatou leukoplakiou s exofytickou proliferáciou epiteliálnych buniek jazyka a bukálnej sliznice. EBV sa etiologicky podieľa tiež na vzniku

retinopatie sprevádzajúcou AIDS. U normálne reagujúcich jedincov je imunosupresívny vplyv infekcie dočasný. U osôb s funkčnou poruchou bunkovej imunity môže infekcia EBV navodiť rôzne ochorenia z autoimunity (reumatoidnú artritídu, proliferatívnu lymfohistiocytózu, hemofagocytárny syndróm a i.) (33).

### **Laboratórna diagnostika**

Diagnóza nerobí ťažkosti u klasického syndrómu a u populácie preočkovanej proti diftérii. Opiera sa o klinický obraz - kde hlavnými príznakmi sú: horúčka, povlaková tonzilitída, zväčšenie lymfatických uzlín a hepatosplenomegália a laboratórny dôkaz (59). Ako 3 klasické kritéria pre laboratórne potvrdenie infekčnej mononukleózy sú: lymfocytóza, nález viac ako 10 % atypických lymfocytov v diferenciálnom krvnom nátere a pozitivita sérologických testov pre EBV.

*Sedimentácia erytrocytov* u nekomplikovaných prípadov má len stredne zvýšené hodnoty, vyššie hodnoty bývajú pri komplikáciách. Návrat k normálnym hodnotám pozorujeme v druhom až treťom týždni ochorenia.

Charakteristické zmeny zisťujeme v *krvnom obraze* v bielej krvnej zložke. Počet bielych krviniek môže byť na začiatku znížený, ale už v 1. týždni stúpa na  $10\text{--}20 \cdot 10^9/\text{l}$ , niekedy až na  $50 \cdot 10^9/\text{l}$ . Leukocytóza je asi u 40-70 % pacientov. Počet leukocytov sa normalizuje asi v 3. týždni ochorenia, ale často je to až počas niekoľkých mesiacov. Lymfocytóza je významným testom počas 2.-3. týždňa ochorenia a pretrváva 2-6 týždňov. Lymfocyty a monocyty tvoria 50-70% aj viac z celkového počtu a asi v 30% ide o atypické lymfocyty, aj keď nie všetci pacienti musia mať viac ako 10 % atypických lymfocytov (12). Syndróm je charakterizovaný absolútnym alebo relatívnym počtom lymfocytov pribúdaním množstva atypických lymfocytov (39). Sú väčšie ako zrelé lymfocyty, majú laločnaté väčšinou excentricky uložené jadro, bohaté na chromatin. Cytoplazma je bazofilná s početnými vakuolami. Jednotlivé lymfocyty môžu byť bizarné (3). (Obr.č.5 a 6)

*Trombocytopenia* stredného stupňa je prítomná u 5-25 % pacientov, niekedy aj s prejavmi krvácania. Može byť prítomná aj pseudotrombocytopenia vyvolaná reakciou EBV protilátok s EDTA roztokom (21).

Do základného vyšetrenia zaraďujeme aj vyšetrenie *hepatálnych testov*, najmä vyšetrenie ALT a *hladiny bilirubínu*. Elevácie hladín hepatálnych transamináz sú bežné u pacientov s IM, vyskytujú sa približne u polovice pacientov, popisuje sa aj u 80-100% pacientov. AST, ALT a bilirubín má vrchol 5-14 dní od začiatku ochorenia, GGT (gama-glutamyltransferáza) má vrchol v 1-3 týždni. LDH stúpa približne u 95 % pacientov. Príležitostne GGT ostáva mierne zvýšená 12 mesiacov, ale celková funkcia pečene sa obnovuje do 3 mesiacov (12).

Laboratórny dôkaz sa opiera hlavne o *sérologické vyšetrenie*. Najčastejšie sa stanoví v séru prítomnosť heterofilných protilátok Paul-Bunnell-Davidsonovým testom alebo reakciou s komplementom podľa Ericsona (OCH test). Pretože heterofilné protilátky niekedy, (najmä u detí) veľmi rýchlo miznú, negatívny výsledok nevylučuje infekciu (10).

**Heterofilné protilátky** sú všeobecne protilátky, ktoré reagujú s antigénom, ktorý nebol imunogénom ich tvorby. Tvorba heterofilných protilátok typických pre IM sa začína od 3. do 21. dňa od začiatku ochorenia. Vrchol tvorby protilátok zaznamenávame v 2. až 3. mesiaci, potom dochádza k ich pozvoľnému poklesu a k negativizácii dochádza medzi 6.-9. mesiacom (5). Testy na heterofilné protilátky sú málo senzitívne najmä v prvých týždňoch ochorenia. V prvom týždni sú merateľné približne u 50 % pacientov, 60 - 70 % má pozitívne heterofilné protilátky v 2. a 3. týždni (12). Falošne negatívny stupeň je vysoký až 25 % v prvom týždni, približne 5-10 % v druhom týždni a 5 % v treťom týždni ochorenia. Testy sú menej senzitívne u pacientov mladších ako 12 rokov, objavujú sa 25-50% z infekcií v tejto skupine, v porovnaní s 71 až 91 % u starších pacientov (39). Nešpecifické protilátky sa zjavujú vzácnejšie u detí do 4 rokov a rýchle miznú. Krátka doba pretrvávaní je daná tým, že

ide o IgM – aglutiníny, resp. hemolyzíny (1). Iba u 10- 30 % detí mladších ako 2 roky a u 50-75% detí vo veku 2 -4 roky sa vytvoria heterofilné protilátky popri primárnej EBV infekcii. Asi viac ako 20 % má pozitivitu titra viac ako 1 -2 roky po nákuze EBV.

*K dôkazu heterofilných protilátok sa používa :*

Paul-Bunnellová reakcia – v laboratórnej praxi ide o jednu z najčastejšie využívaných reakcií pri stanovení diagnózy IM. Podstatou tejto reakcie je hemaglutinácia s aglutinovanými časticami, čo sú *baranie erytrocyty*. Pri klasickom syndróme IM sú vždy prítomné. Asi len v 10 - 15 % sa nevytvoria tieto protilátky (z imunologických dôvodov u starých ľudí, alebo ide o CMV infekciu). Hraničný je titer 1:24 alebo 1:32 v závislosti od na použitie riedeného séra, pozitívny titer je 1:64. Reakcia môže byť pozitívna pri celom rade iných ochorení, napr. u toxoplazmózy, vírusových hepatitíd, M. Hodgkin (12).

Ericsonov OCH test (ox cell haemolysis) - OCH test je v rámci dôkazu heterofilných protilátok najšpecifickejším testom. Ako aglutinované častice sa používajú *hovädzie erytrocyty* (hraničný titer 1:24, pozitívny titer 1:30).

IM test - podstatou IM testu je hemaglutinácia natívnych *koňských erytrocytov*, tento test je najskôr pozitívny po vzniku ochorenia, môžeme ho považovať za najcitlivejší. (sklíčkový - pozitivita sa hodnotí +.. +++ alebo skúmavkový test). Asi u 75% pacientov má pozitivitu IM testu 1 rok (5).

Spoločnejší je sérologický *dôkaz špecifických protilátok proti všetkým EBV- kódovaným antigénom*- antigén vírusovej kapsidy VCA, včasný antigén EA a Epstein-Barrovej nukleárny antigén EBNA. Tieto antigény poukazujú na rozdielne štádium infekcie a rozlišujú lytickú a latentnú fázu ochorenia.(graf.č.1 a tab.č.4.)

Protilátky sú merateľné enzýmovou analýzou, nepriamou imunofluorescenciou a imunoblotovou metódou (12). Protialátky proti EA stúpajú počas 3-4 týždňov, obvyčajne rýchlo klesajú a nedajú sa detekovať počas 3-4 mesiacov, hoci by hladiny mali byť detekovateľné intermitentne počas roka. VCA –IgG a VCA IgM testy sú vhodné v diagnostike pacientov, ktorí majú typické klinické prejavy a negatívne heterofilné protialátky.

**Anti VCA IgM** protialátky sú markerom akútnej infekcie. Spolu s anti-VCA IgG pretrvávajú asi 10 týždňov. Občas sa oneskorujú, môžu prezistovať viac ako 1 rok, zriedkavo sa objavujú pri reaktivácií. Absendujú až v 10-20 % prípadov akútnej infekcie , najmä u detí a imunosuprimovaných.

Anti VCA IgG –môžu pretrvávať celoživotne, ich hladina je už pozitívna počas inkubačnej doby.

Anti VCA IgA- protialátky tejto skupiny sú pozitívne pri akútnej a chronickej infekcii, ako aj pri reaktivácií.

Iba 70 % infikovaných pacientov tvorí protialátky proti EA a ich hladina pretrváva 2-3 mesiace po odznení klinických príznakov

**Anti EA IgM**- zvýšené hladiny sa objavujú vo včasnej fáze infekcie a pretrvávajú 2-3 mesiace

Anti EA IgG – ich hladina počas rekonvalescencie klesá, pri reaktivácií stúpa, kolíše počas chronickej infekcie

Anti EA IgA- sú pozitívne pri NPC, ale zvýšené hladiny sa môžu objaviť aj pri chronickej infekcii alebo pri reaktivácií infekcie

**anti EBNA 1 IgG**- protialátky tejto skupiny sa tvoria po dvoch, niekedy po 5. mesiacoch. Prítomnosť protilátok tohto typu je kritériom vylučujúcim aktuálnu primoinfekciu EBV. Asi 5 % rekonvalescentov ich nevytvorí a sú celoživotne anti EBNA 1 primárne séro-negatívni, rovnako ako aj pri niektorých formách chronickej EBV infekcie. Sekundárna strata anti EBNA1 je bežná v prípade iatrogénnej imunosupresie, HIV pozitivite a aktívnej hepatitíde typu B.

**anti EBNA 2 IgG** asi u 1/2 pacientov je ich pozitivita už po 4 týždni infekcie. Protilátky Epstein- Barrovej nukleárneho antigénu (EBNA) možno detegovať do 6 a 11 týždňov od začiatku symptómov, môžu pomôcť rozlíšiť medzi akútnou a prekonanou infekciou. EBNA je pozitívna u pacientov s akútnymi symptómami a suspektnou infekčnou mononukleózou, naznačuje prekonanú infekciu (30).

Pri hodnotení protilátkovej odpovede je potrebné si uvedomiť, že k reaktivácii latentnej EB vírusovej infekcie dochádza v najrôznejších životných situáciách a za rôznych chorobných stavov (psychický stres, chirurgický zákrok, pečeňová cirhóza, nádorové ochorenie, tehotenstvo, starecký vek...). Reaktivácia prebieha bez klinických príznakov a prejaví sa znovu objavením sérových protilátok proti niektorým antigénom EB vírusu a zvýšeným vylučovaním vírusu slinami. Preto sérologický nález interpretovaný ako reaktivovaná či aktívna vírusová infekcia neznamena, že EB vírus spôsobil prítomné klinické príznaky (58). **V akútnej fáze ochorenia** sú zisťované protilátky proti VCA a EA. V priebehu rekonvalescencie narastá titer protilátok anti –EBNA, ktoré sú známkou prekonanej infekcie (10). Uvádza sa, že po akútnom ochorení sa vírus vylučuje po dobu 2 až 5 mesiacov, niekedy aj dlhšie.

**Aktivácia latentnej infekcie EBV** býva sprevádzaná vzostupom špecifických IgM a VCA IgG a EA IgG .

**U chronickej IM** sú zisťované trvale zvýšené hladiny IgG k VCA. Pri dlhodobom sledovaní je intermitentne preukazovaná prítomnosť špecifických IgM. Hladina sérových IgA k VCA je vyššia než je bežné. Známkou aktivity infekcie sú tiež pretrvávajúce protilátky proti EA. Pre odlišenie akútnej a chronickej IM má význam nález znakov aktívnej infekcie EBV (prítomnosť špecifických protilátok IgM, vysoká hladina IgG k VCA a dôkaz anti -EA protilátok ) s paralelnou detekciou IgG proti EBNA. U osôb s výrazným defektom bunkovej imunity avšak môžu byť hladiny anti –EBNA nízke alebo nedetekovateľné (10).

### **Ďalšie laboratórne metódy:**

*Izolácia EBV* zo slín je možná navodením imortalizácie lymfocytov z pupočníkovej krvi novorodencov, ale prakticky sa neprevádza.

Vírus možno *kultivovať* z výplachu nosohltana, zo slín alebo z lymfocytov u 80-90% pacientov ale iba vo výskumných laboratóriách. Tkanivo sa farbí na prítomnosť EBNA, používajú sa *DNA-sondy* ale žiadne z týchto vyšetrení nie je rutinné (46).

Súčasným prielomom v detekcii EBV vírusu v tkanivách je metóda založená na DNA a RNA analýze a molekulárnej genetike. Ideálnou metódou by mala byť metóda jednoduchá a senzitívna, ktorá umožní zachyt vírusového signálu a určí jeho hladinu v bunkách. *PCR metóda* – v metodike využíva sekvencie nukleárných kyselín. Jej výhodou je nadmerná senzitivita. Žiaľ, cez túto metódu môžeme zachytiť pozitivitu aj v tých bunkách, ktoré nie sú patologické a napodobňujú vírusový genóm. Táto nadmerná senzitivita metódy môže viesť aj k falošne pozitívnym výsledkom. Pretože využíva v metodike extrakciu nukleových kyselín z tkaniva, nezachováva štruktúru tkaniva. Pomocou *hybridizačnej metódy* môžeme detegovať tiež segmenty genómu vírusu v cytologickom preparáte tkaniva. Výhodou tejto metódy je, že zachováva morfológiu tkaniva. Nevýhodou je, že je menej senzitívnejšia a môžu byť aj falošne negatívne výsledky. Využíva sa hlavne u prípadov Hodgkinovej choroby k detekcii EBV (9).

**Diferenciálna diagnostika**-Klinický obraz podobný mononukleóze môžu spôsobiť i iné infekčné agensy a preto často hovoríme o *syndróme infekčnej mononukleózy*. Asi 80 % je spôsobené EB vírusom a asi 10 % ide o cytomegalovírusovú mononukleózu. U zostávajúcich chorých môže byť syndróm mononukleózy vyvolaný adenovírusmi, vírusom rubeoly, HSV6

alebo toxoplazmózou, ale tiež môže ísť o alergickú reakciu na niektoré lieky (napr. hydantoináty ) (58).

Je potrebné odlíšiť baktériové a iné vírusové tonzilofaryngitídy a pseudomembranózne angíny, iné príčiny uzlinového syndrómu, hepatopatií, niektorých maligných a exantémových ochorení (1), stavy vyvolané adenovírusmi, vírusom hepatitísy A, B, C, HSV1, HSV2, HSV6, rubeolu, toxoplazmózu, streptokokovú infekciu (sk.A) a AIDS. Ďalším súvisiacim problémom môže byť lymfóm, akútna myelocytová leukémia, akútna lymfoblastická leukémia, reakcia na lieky.

Prevládal názor, že EB vírus je príčinou chronického únavového syndrómu. Jedná sa o novo a náhle vzniknutú únavu a rýchlu vyčerpanosť telesných i duševných síl, kde únava podstatným spôsobom obmedzuje aktivitu postihnutého, trvá dlhšie než 6 mesiacov a pri komplexnom lekárskom vyšetrení sa nepodari jej príčinu objasniť. Postihnuté osoby trpia subfebrilitami, recidivujúcou neexudatívnou faryngitídou, mávajú hmatné a ľahko citlivé krčné lymfatické uzliny a udávajú bolesti svalov, kĺbov a hlavy. Bývajú poruchy spánku, podráždenosť, nedostatočná koncentrácia, zabudlivosť a sklon k depresiám. Pretože u niektorých pacientov boli zistené sérologické známky aktívnej EB vírusovej infekcie, považovalo sa ochorenie za chronickú EB virózu. Sérologický nález aktivity EB virózy je len známkou určitej dysfunkcie imunitného systému a EB vírus nie je pôvodcom únavového syndrómu. U chorých boli zistené známky aktivácie i iných herpetických vírusov alebo enterovírusov a tiež veľa abnormalít pri imunologickom vyšetrení. Preto bol syndróm novšie označený ako *chronický únavový a imunitne dysfunkčný syndróm*. Diagnóza syndrómu sa opiera o podrobnú anamnézu a dôsledné fyzikálne a laboratórne vyšetrenia, aby sme vylúčili iné somatické alebo psychické poruchy vedúce k chronickej únave.

Z hľadiska infekčných ochorení je treba odlíšiť *syndróm postinfekčnej únavy*, ktorý sa objavuje niekedy v rekonvalescencii vírusovej hepatitídy, mononukleózy, kliešťovej encefalitídy, chrípky, enteroviróz, tropickej malárie a horúčky dengue. Z chronických infekcií únava sprevádza tuberkulózu, lymskú boreliózu, brucelózu, toxoplazmózu a môže byť príznakom dosiaľ nezistenej chronickej vírusovej hepatitídy (58).

**V terapii** sa odporúča: kľudový diétny režim a symptomatickú terapiu (antipyretiká, priessnitzské obklady na krk, kloktadlo). K potlačeniu sekundárnej infekcii tonzíl podávame antibiotiká. Môžeme použiť penicilin, doxycyklin, perorálny cefalosporin, makrolidy alebo linkozamidy. Osvedčil sa tiež metronidazol. U chorých s výrazným edémom hltanu či hrtanu, ktorý bráni hltaniu a zhoršuje dýchanie, je na mieste krátkodobá kortikoterapia. Kortikosteroidy sa podávajú len výnimočne a krátkodobo pri hroziacej obštrukcii dýchacích ciest, znížení krvných doštičiek s prejavmi krvácania, pri hemolytickej anémii, meningitíde, zápale perikardu a hroziacej ruptúre sleziny. Nedoporučujú sa však v priebehu nekomplikovanej IM, pretože môže viesť k zhoršeniu klinického stavu (16). Do poklesu teploty a ústupu známok proliferácie lymfatického tkaniva odporúčame relatívny pokoj na lôžku, dostatočný prísun vitamínov C a B a pri výraznejšom poškodení pečene podávame hepatoprotektíva. Názory na držanie diéty sa menia. Všetko závisí od miery poškodenia pečene. Cieľom je odľahčiť pečeň odbúravaním tukov z potravy (17).

Dôležitá je *rekonvalescencia*, ktorá by mala trvať aspoň mesiac po prekonaní ochorenia. Dĺžka rekonvalescencie sa riadi priebehom ochorenia a stavom poškodenia pečene. Rekonvalescent je dispenzarizovaný buď praktickým lekárom alebo ambulanciou infekčného oddelenia. Prvá kontrola je vhodná za 14 dní po poklese horúčky, či po prepustení z nemocnice. Skontrolujeme nález v hrdle a na uzlinách, veľkosť pečene a sleziny a nález na srdci. Vyšetříme sedimentáciu erytrocytov, krvný obraz a a pečeňové testy. Ak je všetko v poriadku, povolíme deťom návštevu školy. I pri nekomplikovanom priebehu odporúčime zákaz telesnej námahy a voľnú pečeňovú diétu najmenej 3 mesiace. Ochorenie vedie k prechodnému útlmu imunity a preto plánované očkovacie výkony odložíme aspoň do uplynutia 6 týždňov od poklesu teploty.

Nákaza podlieha hláseniu. Podávanie acikloviru, ktorý in vitro inhibuje replikáciu EBV, nemá markantný vplyv na priebeh IM ani na iné klinické prejavy primárnej alebo aktivovanej latentnej infekcie. Výnimkou je orálna vlasatá leukoplakia, ktorá pod vplyvom acikloviru vymizne, ale po vysadení terapie dochádza spravidla k relapsu. U niektorých lymfoproliferatívnych ochorení sa dosiahlo určitého zlepšenia kombináciou interferónu a gamaglobulínu (58).

**Prognóza** je všeobecne dobrá, závisí od pridružených komplikácií ochorenia imunity pacienta. Zriedkavo môže vzniknúť malígny zvrät (33).

**Prevenia-** izolácia pacienta nie je potrebná. Treba sa vyhýbať kontaktu so slinami. Vírus sa môže nachádzať v orofaryngu 10-20 % zdravých jedincov (12). Predpokladaný podiel EBV na etiológii rôznych malignít je stimulom vývoja očkovacích látok. Subjednotkové a kombinované vakcíny indukujúce neutralizačné protilátky proti povrchovým vírusovým glykoproteínom boli experimentálne použité v oblastiach s vysokou incidenciou NPC v Číne.

Hodnotenie preventívneho účinku očkovania vyžaduje dlhodobé pozorovania, ktoré zatiaľ neboli uzavreté (10).

### **5.1.2. Klinické obrazy lymfoproliferácie z B-buniek spojených s EBV infekciou**

Môžu sa objaviť aj v rámci primárnej infekcie ako aj v rámci reaktivácie. Vtedy dochádza k nekontrolovateľnému rastu B-buniek až k malígnym monoklonálnym lymfómom. Vyskytujú sa u detí s vrodeným deficitom napr. pri ťažko kombinovanom imunodefekte (SCID), pri bežnej variabilnej imunodeficiencii (CVID com-mon variable imunodeficiency), pri ataxia teleangiectasia, syndróme Wiskot - Aldrich, syndróme Chediak - Higashi. Rovnako aj pri získanom imunodefците napr.: po transplantáciách kmeňových buniek, pri imunosupresívnej terapii alebo HIV infekcii.

**V terapii** vo včasnom štádiu prichádza do úvahy zníženie alebo vysadenie imunosupresívnej liečby, pokiaľ je to vôbec možné. Ďalšia liečba je vysoko špecializovaná (INF-alfa, imunoglobulíny, virostatiká, monoklonálne protilátky). U pacientov po orgánových transplantáciách je vhodné pravidelné určovanie EBV záťaže v krvi (51).

## **5.2. Atypické infekcie spôsobené vírusom EBV**

Sú to vzácne formy s takmer vždy dramatickým priebehom. K nim sa zaraďuje:

**5.2.1 Fulminantná akútna infekčná mononukleóza u chlapcov s lymfoproliferatívnym ochorením viazaná na X chromozóm ( XLP)- Duncanov syndróm.** Ide o najťažšiu formu IM. U pacientov chýba imunitná odpoveď na EBV vírus. V klinickom obraze dominuje horúčka, lymfadenopatia, postihnutie pečene, pečeňová dysfunkcia je v 89 %, nie je vzácnosťou meningoencefalitída, v 80-90% hemofagocytový syndróm, anémia v 81%, trombocytopénia v 93 %. Letalita je viac ako 96 % prípadov. Medián veku je 2,5 roka, medián prežitia je 33 dní. Prežitie od iniciálnej infekcie rozvojom B- bunkového lymfómu alebo hypogammaglobulinémie je môže byť 10 rokov. Terapiou je alogénna transplantácia kmeňových buniek. Doporučuje sa aj kombinovaná terapia etoposidom a cyklosporínom A.

**5.2.2. Fatálne prebiehajúca infekčná mononukleóza** so sporadickým výskytom - až v 1 z 3000 prípadov infekčnej mononukleózy, stredný vek pri začiatku ochorenia 5,5 - 10,7 roka. Klinická obraz a laboratórna diagnostika sa líšia len čiastočne od fulminantnej mono-nukleózy pri XLP. Stredná doba prežitia je medzi 8-13 týždňami od začiatku ochorenia. K najčastejším príčinám smrti patrí: zlyhanie pečene 43 %, ťažké krvácania a oportúnne infekcie. U veľkej časti týchto chorých sa prejaví hemofagocytový syndróm (51).



**5.2.3. Fulminantné lymfoproliferatívne ochorenie z T buniek po akútnej EBV primoinfekcii** (EBV T bunková lymfoproliferatívna choroba - ide o väčšinou CD8 lymfocyty). Zatiaľ bolo publikovaných 16 prípadov, prakticky výlučne Aziatov a Mexičanov. Podobné proliferácie sa môžu objaviť v kontexte s CAEBV.

**5.2.4. Chronicky aktívna EBV infekcia (CAEBV)** môže mať na začiatku klasické prejavy infekčnej mononukleózy, neskôr v priebehu ochorenia sa objavujú ďalšie príznaky ako u predchádzajúcich foriem (viď 7.1.1- 3). Rozlišujú sa 2 formy: cieľovými bunkami EBV sú T bunky alebo NK bunky. Väčšina prípadov pochádza z Ázie, predovšetkým z Japonska.

**5.2.5. Hemofagocytová EBV indukovaná lymfohistiocytóza (EBV-HLH ).** Najčastejšie sú postihnuté deti vo veku 4 - 5 rokov (v rozmedzí 6 mesiacov – 3 rokov). Klinicky sú prítomné príznaky viac alebo menej ťažkej infekčnej mononukleózy, najviac sú prejavy z postihnutia CNS, pleurálne výpotky, perzistujúca horúčka, cytopénie, hepatomegália, hypokoagulačné poruchy (hypofibrinogénemie), zvýšenie feritínu v sére, hypertriglycerinémie, lymfadenopatie, ikterus. Bez liečby prebieha často infaustne. K základnej liečbe patrí etoposid, kortikoidy, cyklosporín. Pri včasnej liečbe je pravdepodobnosť prežitia 4 roky 90 %, s neskorou alebo žiadnou liečbou etoposidom len 56 %. Na základe centrálného významu TNF- $\alpha$  v patogenéze EBV-HLH sa zdá cieľená a selektívna blokáda cytokínov zmysluplným doplnením v rámci budúcich terapeutických štúdií. Ďalšie štúdie hovoria o výsledkoch transplantácie kmeňových buniek a dosiahnutých remisiách (51).

## 6. EBV-asociované chorobné stavy

EBV infekcia súvisí s mnohými patologickými chorobnými stavmi (schéma č.4). Môžeme ich rozdeliť do 3 skupín: chorobné stavy hematologické a non-hematologické a samostatnou skupinou sú stavy súvisiace s chronickou aktívnou EBV infekciou (CAEBV)

### 6.1. Hematologické chorobné stavy súvisiace s EBV infekciou

#### 6.1.1. *B- bunkový lymfóm*

U pacientov s imunodeficitom po transplantácii alebo infekcií HIV sa môže objaviť lymfóm B-buniek spôsobený EBV. V začiatkovej fáze je polyklonálna proliferácia. Liečba aciklovirom môže prospieť, neskôr je však nutná terapia lymfómu (46).

#### A. Burkittov lymfóm (BL)

Je spojený s infekciou EBV v skorom veku s hyperendemickou maláriou. Pôsobí pri imunosupresii a pri translokácii chromozómového materiálu z chromozómu 8 na chromozómy 14,2 alebo 22. Pôvodcom malígneho lymfómu je aktivácia onkogénu c-myc za spolupôsobenia infekcie EBV a imunosupresie. BL sa vyskytuje endemicky v oblastiach rovníkovej Afriky a Novej Guiney ako najčastejší typ zhubných nádorov u detí (50). K tomu, aby infekcia EBV vyvolala vznik BL, sú nutné tieto podmienky: nevhodné hygienické prostredie, malária, často chromozómové aberácie.

Z patologicko - anatomického hľadiska ide o malígnu multifokálny nádor postihujúci predovšetkým čeľusť a sánku, brušné orgány, retroperitoneum, CNS a iné orgány (46). Histopatologicky tumorózne tkanivo a bunky majú charakteristické črty. Ide o lymfóm zahrňujúci prerastanie monomorfnych nediferencovaných lymfoidných buniek s malými variáciami, čo sa týka veľkosti a tvaru, ktoré v cytoplazme obsahujú jasné viditeľné vakuoly s nejasne ohraničenými jadrami obsahujúcimi 2-4 bazofilné nukleoly. Je pozorované aj

„hviezdnaté nebo”, ktoré súvisí s inváziou makrofágov, ktoré obklopujú početné maligné bunky (Obr.č. 8). EBV vyžaduje niekoľko malígnych transformácií. Nádor je mono-klonálny. Pre etiologickú súvislosť 95 % BL v uvedenej oblasti s infekciou EBV svedčia mnohonásobne zvýšené hladiny protilátok proti EA a VCA u postihnutých v porovnaní s ostatnou populáciou, i prítomnosť vírusovej DNA a EBNA v tumoróznych bunkách.

S BL súvisí typ I latencie. (41).

EBV asociovaný BL vzniká 7-31 mesiacov po akútnej fázi IM a jeho rozvoju predchádza vzostup hladiny protilátok proti EA, signalizujúci aktiváciu latentnej infekcie. Sezónna variácia výskytu BL v Afrike je v korelácii s výskytom malárie, ktorá pravdepodobne doposiaľ neobjasneným mechanizmom ovplyvňuje imunologickú kontrolu latentnej infekcie EBV. Je to priama súvislosť medzi parazitémiou a priamou exacerbáciou BL. Infekcia Maláriou falciparum zapríčiňuje mohutnú proliferáciu B-buniek, zahrňujúcu aj mitogenetický efekt z pribúdania rizikových chromozomálne alterovaných B - buniek, ktoré môžu mnohonásobne pribúdať nekontrolovateľným mechanizmom. Väčšina malarických jadier môže zapríčiniť množstvo B-bunkových variácií v rôznych štádiách diferenciácie cez oslabenie T-bunkovej imunity a cez chromozomálnu translokáciu (50).

**Klinický obraz:** asi v 2/3 je čeľusť postihnutá tuhým, na tlak málo bolestivým zdurením mäkkých častí, ktoré prechádza na susedné kosti, môže viesť k vytláčaniu zubov z alveolov a neskôr k ulceráciám zo sekundárnej infekcie. Ochorenie môže prejsť aj na druhú stranu čeľuste, do orbity a môže spôsobovať tlakové a mechanické obmedzenie (Obr.č.7).

**Liečba :** v počiatočných fázach rastu nádoru dobre reaguje na terapiu žiarením alebo na chemoterapiu. Zlepšenie je často až dramatické. Pri tomto lymfóme dochádza k recidívam. Chirurgická liečba vzhľadom k systémovému postihnutiu nie je indikovaná. Diskutovaná je liečba imunologická. V prípade komplikácií ako sú: obštrukcia dýchacích ciest, trombocytopénia, hemolytická anémia, perikarditída a meningoencefalitída sa zvažuje aplikácia glukokortikoidov.

**Prognóza:** rýchlo rastúci systémový nádor vedie behom niekoľkých mesiacov k letálnemu zakončeniu ochorenia. Včasnou liečbou možno prežitie predĺžiť (60).

### **B. Lymfoproliferatívne stavy (LPD) u imunokompromitovaných hostiteľov**

LPD boli spočiatku pozorované u imunodeficientných stavov. Po roku 1970 začala incidence LPD paralelne narastať s počtom pacientov s transplantáciou solitárnych orgánov. Ako imunosupresia bol používaný cyklosporín A a anti -tymocytový globulín. Polyklonálne LPD s polymorfnou histológiou pripúšťajú recidívu s úbytkom dávok imunosupresív. Mono-klonálne LPD s monomorfnou histológiou sú obvyčajne rezistentné po redukcii imunosupresív a liečby. Prospektívny monitoring EBV-DNA v periférnej krvi je užitočný pre úspešný management pacientov s vysokým rizikom pre LPD. Včasná detekcia cirkulujúcich EBV-DNA môže byť užitočným parametrom pre redukciiu dávok imunosupresív. Špecifické Tc a mono-klonálne protilátky poukazujúce na CD20 môžu byť tiež nápomocné v liečbe.(20).

### **C. Primárny „effusion” lymfóm (PEL)**

Je raritnou formou LPD, predovšetkým u pacientov s AIDS je PEL, nazývaný aj lymfómom telovej dutiny (2). Tento lymfóm uprednostňuje rast v telovej dutine , často nie sú prítomné solitárne masy. Pacienti s Kaposiho sarkómom mali dokázané EBV. Expresia EBV génov infikovaných PEL buniek môže byť limitovaná tvorbou EBNA 1.

### **D. Pyothorax - asociovaný lymfóm**

Non-Hodgkinov lymfóm zasahujúci do pleurálnej dutiny bol pozorovaný u pacientov s viac ako 20 rokov trvajúcim údajom pyothoraxu. Tiež bol opísaný u pacientov s chronickou tuberkulóznou pleuritídou (20).

### **6.1.2. *T - bunkový lymfóm***

T -bunkový lymfóm súvisiaci s EBV-DNA bol prvý-krát popísaný v USA v r.1988. Pacienti tejto skupiny mali abnormálne elevované titre protilátok EBV antigénov a na základe tohto kritéria mohli byť hodnotení ako pacienti s CAEBV, čo je bežne rozšírené v Japonsku. To nasledovne potvrdilo, že EBV je spojená s určitými T-bunkami lymfómu, ktoré sú charakteristické extranodulárnou lokalizáciou. Periférne T-bunky lymfómu sú všeobecne odolné voči konvenčnej chemoterapii a môžu často súvisieť s HLH. HLH je histologicky charakterizované akumuláciou a expanziou makrofágov, prejavujúcou sa fagocytózou erytrocytov, trombocytov a leukocytov všade v retikulo- endoteliálnom systéme, ale predovšetkým v dreni a lymfoidných orgánoch. Klinicky HLH je charakteristický vysokou morbiditou s perzistujúcou horúčkou, hepatosplenomegáliou, cytopéniou, koagulopatiou, komplikáciami CNS, vaskulopatiou. Vírusové a bakteriálne infekcie, lymfoidné chorobné stavy, kolagénové ochorenia a odolnosť organizmu môžu spustiť HLH, ktoré môže mať rôzne variácie klinického obrazu. EBV infekcia môže byť zvlášť spájaná s HLH v kontexte s T- bunkami a T/ NK bunkami lymfoproliferatívnych ochorení, v ktorých EBV infekcia infikuje T-bunky, hlavne CD8 T bunky. Tiež TNF- $\alpha$  a INF- $\gamma$  môže byť v patogenéze HLH. INF- $\gamma$  sa môže stať markerom aktivity tohto ochorenia (29).

### **6.1.3. *NK- bunkový lymfóm / leukémia***

NK- bunková leukémia je veľmi raritnou formou akútnej lymfoblastickej leukémie. Diagnóza NK-bunkovej leukémie sa zakladá na morfológickom stanovení blastov, ktoré v cytoplazme majú azúrofilné granuly. Expresia NK buniek cez povrch markerov CD16 alebo CD56. Základom diagnózy NK- bunkového lymfómu je charakteristická histológia, imunofenotypizácia a germinálna konfigurácia T- bunkových receptorov a génov imunoglobulínov. Nazálny typ - NK bunkového lymfómu takmer vždy súvisí s EBV. Tento NK - bunkový lymfóm sa nachádza najmä v Ázii ale aj v Číne. Charakteristický je deštrukciou nosa. Larynx, horné dýchacie cesty a gastrointestinálny trakt môže byť zasiahnutý. Histopatologicky je nápadné prominujúce nekrotické tkanivo a poškodenie ciev. Nachádzame tu EBNA 1, LMP- 1 a 2A, nie sú prítomné EBNA 2, LMP-2B.

### **6.1.4. *Hodgkinova choroba (HD)***

Hodgkinovu chorobu môžeme vidieť v západných častiach v Japonsku. Pacienti s HD majú elevovaný titer protilátok anti EBV-VCA a EA. EBV infekcia zohráva miesto v začiatkovej klonálnej proliferácii buniek. EBV génová expresia v RS bunkách obmedzuje vytváranie EBER, EBNA 1, LMP-1, LMP-2A alebo LMP-2B spočívajúcu v latencii 2 typu. LMP môže byť vyvoláateľom celulárnej imunitnej odpovede a môže naznačením faktorov mikroprostredia s Reedovej-Sternbergovými bunkami, ktoré môžu indukovať potlačanie lokálnej EBV špecifickej imunity (41). Histologicky sa HD rozlišuje na 4 podtypy: lymfocytárne predominantný (LP), nodulárna skleróza (NS), zmiešaný bunkový (MS) a typ chudobný na lymfocyty (LD). Subtyp LP zriedka súvisí s EBV, ale približne 60 – 70 % je to pri MS a 40 % u NS subtypoch môžeme nájsť v RS bunkách EBV. Tieto bunky vytvárajú LMP-1 ale nie EBNA 2 (29).

## **6.2. EBV asociované non - hematologické chorobné stavy**

Nazofaryngeálny karcinóm môže ako prvý ľudský karcinóm súvisieť s EBV infekciou. Ďalšie ako súvisiace s EBV infekciou sú: karcinóm žalúdka, lymfoepiteliálne podobný karcinóm, tumor hladkých svalov u imunokompromitovaných jedincov.

### **6.2.1. Nazofaryngeálny karcinóm (NPC)**

Je druhým najvýznamnejším maligným stavom, ktorý súvisí s EBV infekciou. Ide o nekeratinizujúci nediferencovaný nazofaryngeálny karcinóm. Najčastejšie sa vyskytuje v Južnej Ázii, v Južnej Číne ale aj v iných regiónoch sveta (10). Monoklonálna EBV môže byť základom v prekanceróznych léziách NPC. Rozvoj NPC tiež závisí od geografických, etnických, podmienok prostredia a genetických faktorov. Tiež konzumácia slaných rýb u pacientov v južnej Číne bola prínosom nad zamyslením sa vo vývoji NPC. Vo všetkých bunkách tohto typu nádoru sú prítomné bez výnimky genómy EBV, EBNA 1 a LMP. (41) S NPC súvisí s typ II latencie charakterizovaným expresiou 3 latentných membránových proteínov (LMP1, LMP2A, LMP 2B), tiež EBER a EBNA1. Sprievodným znakom rozvoja NPC sú vysoké hladiny IgG a IgA proti VCA a proti D-komponente EA. Úspešná terapia vedie k zníženiu titra týchto protilátok, nárast signalizuje rekurenciu alebo metastázy. Podobný charakter protilátkovej odpovede k antigénom EBV bol popísaný tiež u palatinárných nádorov a nádorov slinnej žľazy (10).

### **6.2.2. Karcinóm žalúdka.**

Približne 10 % zo všetkých karcinómov žalúdka súvisí s EBV infekciou a sú najrozšírenejšie v Japonsku. EBV pozitívny karcinóm žalúdka obsahuje monoklonálne EBV - DNA a bunky vylučujú len EBNA 1.

### **6.2.3. Lymfoepiteliálne podobný karcinóm**

Lymfoepiteliálne podobný karcinóm je veľmi zriedkavý tumor s histologickými črtami podobnými NPC. EBV asociované tumory – histologické podtypy sa môžu rozlišovať podľa základu - slinná žľaza, pľúca, brušná dutina, thymus, maternica, močový mechúr, laryng, tonzily a koža (29).

### **6.2.4. Tumor hladkých svalov**

Lymfoproliferatívne stavy (LPD) a karcinómy môžu byť časté u imunokompromitovaných jedincov. Leiomyosarkóm sa môže prejaviť po solitárnej transplantácii orgánu ale aj u pacientov s AIDS (23). Tvorí sa protilátky EBNA 1, EBNA 2, LMP 1 a LMP 2 (29).

## **6.3. EBV infikované lymfocyty pri chronickej aktívnej EBV infekcii**

Po primárnej infekcii EBV perzistuje v latentnej forme u normálnych jedincov a môže v zriedkavých prípadoch vyvolávať rekurentne symptómy podobné EBV reaktivácii u imunokompetentných jedincov. CAEBV infekcia bola popísaná ako perzistujúci infekčnej mononukleóze podobný syndróm sprevádzaný abnormálnou eleváciou protilátkových titrov anti EBV antigénov naznačujúci replikáciu vírusu. Kritéria pre diagnózu tohto syndrómu zahŕňajú chronické infekčnej mononukleóze podobné symptómy pretrvávajúce najmenej 1 rok, charakteristické titre protilátok anti EBV, s vylúčením imunologických abnormalít a iných súčasne prebiehajúcich ochorení. U normálnych jedincov možno pozorovať, že EBV infikované B - bunky latentne perzistujú v B bunkách a u pacientov s CAEBV môže byť pozorovaná klonálna expanzia EBV infikovaných T alebo NK buniek (30).

### **6.3.1. T - bunkový typ CAEBV**

V roku 1988 Jones a kol. popísali 3 pacientov s fatálnym T-bunkovým lymfómom. Títo pacienti mali extrémne vysoké IgG, protilátkový titer anti -EBV VCA a EA. Tento T - bunkový lymfóm s EBV pozitívnym genómom môžeme nájsť v čínskej populácii (41). EBV obyčajne infikuje B-bunky cestou komplementu cez CD21 molekulu receptora. Hypoteticky EBV môže infikovať T-bunky cestou prechodnej expresie CD21 za použitia molekulárnej

skladby receptora a co-receptora pre EBV. V T-bunkových lymfómoch dochádza k expresii EBNA 1, LMP-1 a LMP-2A, ale nie k vytvoreniu EBNA 2 alebo LMP-2B. Tieto malígne stavy bývajú rezistentné na terapeutické prístupy a výsledky terapie sú veľmi chudobné. U pacientov s T-bunkovým tumorom pozorujeme veľa klinických variácií. Môžu mať často rozdielnú produkciu cytokínov a cytotoxická funkcia môže u nich chýbať. U týchto druhov malignity je predovšetkým II. typ latencie (29).

### **6.3.2. NK- bunkový typ CAEBV**

Pacienti s EBV genómom s CD3 negatívnou NK bunkovou proliferáciou boli popísaní japonskými vedcami (41). Asi polovica NK-LPD prípadov súvisí s EBV infekciou. Pacienti s NK -typom CAEBV mali charakteristickú hypersenzitivitu po poštípaní komármi, ktorá bola cez erytém, bulu s ulceráciami a všeobecnými symptómami často začínajúcimi horúčkou. V krvi mali vysokú hladinu v krvi IgE. Poštípanie komármi často sprevádzala expanzia NK buniek a infiltrácia poškodeného miesta kože NK bunkami. Tieto bunky obsahovali oligo alebo monoklonálnu EBV-DNA. Táto hypersenzitívna reakcia na poštípanie komármi môže považovaná za formu EBV asociovanú LPD (25). EBV pozitívne NK-bunky vytvárajú EBNA 1, LMP-1 a 2A, ale nie EBNA 2 alebo LMP-2B (29).

## **7. Vlastné pozorovanie**

### **Cieľ práce:**

Cieľom mojej práce je poukázať na :

- možnosti včasnej diagnostiky odosielajúceho lekára
- management antiinfekčnej liečby pred príchodom do nemocnice
- spojitosť laboratórnych parametrov a počtu reaktívnych lymfo- monocytov v krvnom obraze
- komplikácie ochorenia u hospitalizovaných pacientov
- dobu hospitalizácie

### **7.1. Analýza priebehu infekčnej mononukleózy spôsobenej EBV vírusom u pacientov vo veku 1-15 rokov na Detskom oddelení Kliniky infektológie a geografickej medicíny v Bratislave v rokoch 2002-2003.**

#### **7.1.1. Súbor a metodika**

Analýza výskytu infekčnej mononukleózy spôsobenej EBV vírusom u pacientov hospitalizovaných na Klinike infektológie a geografickej medicíny ( KIGM) v Bratislave v rokoch 2002-2003.

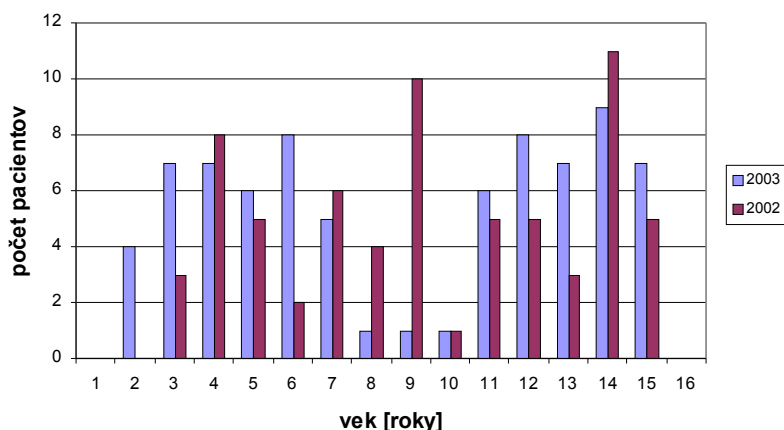
Údaje boli hodnotené retrospektívnou analýzou anamnézy a laboratórnych výsledkov z archívu chorobopisov týchto pacientov.

V období od 1.1. 2002 do 31.12.2003 bolo na KIGM v Bratislave hospitalizovaných spolu 144 pacientov vo veku 1-15 rokov. Súbor tvoria pacienti s akútnou infekčnou mononukleózou s EBV vírusovou etiológiou.

#### **7.1.2. Výsledky**

Diagnóza bola stanovená na základe typického klinického obrazu a laboratórnych vyšetrení (KO, ALT, anti EBV protilátok, heterofilných protilátok).

Za rok 2002 spolu 67 pacientov, z toho 42 chlapcov a 26 dievčat. Za rok 2003 spolu 77 pacientov, z toho bolo 37 chlapcov a 40 dievčat.



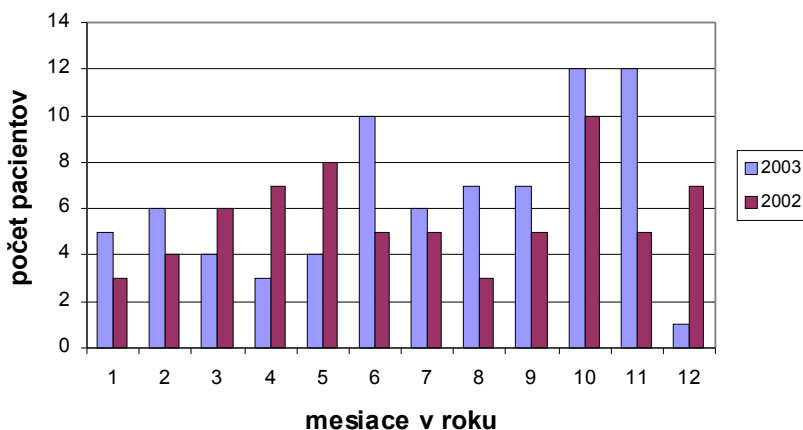
Graf.č. 7.1.- 1. Vekové zastúpenie pacientov v rokoch 2002 a 2003

V r. 2002 najviac pacientov bolo tiež 14 - ročných, menej 9 a 4 ročných a najmenej 10 ročných. V porovnaní s r.2003 bolo najviac hospitalizovaných 14 ročných, 12 a 6- ročných. Najmenej ich bolo za rok 2003 vo vekovej kategórii 8-10 ročných.

#### Sezonalita ochorenia:

V roku 2002 bolo taktiež v októbri najviac hospitalizovaných pacientov (10 pacientov), menej v máji (8 pacientov) a najmenej v januári a v auguste (3 pacienti).

V roku 2003 bolo najviac pacientov hospitalizovaných v októbri a novembri (v počte 12 pacientov) a druhý vrchol výskytu bol v júni (v počte 10 pacientov). Najmenej bolo hospitalizovaných v decembri (1 pacient).

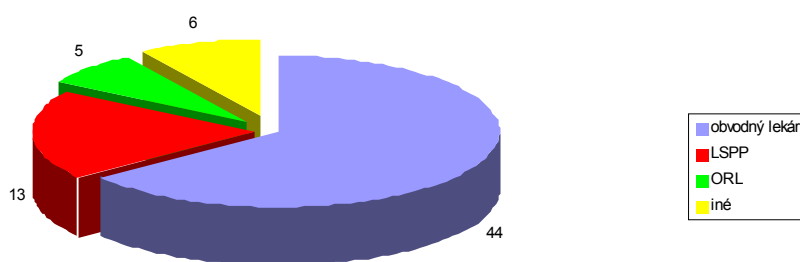


Graf.č.7.1.- 2. Sezonalita ochorenia počas rokov 2002-2003

Ďalším sledovaným parametrom bolo **odoslanie na hospitalizáciu:**

- kým bol odoslaný pacient
- možnosť odberov u odosielajúceho lekára
- doba od objavenia sa prvých klinických príznakov ochorenia

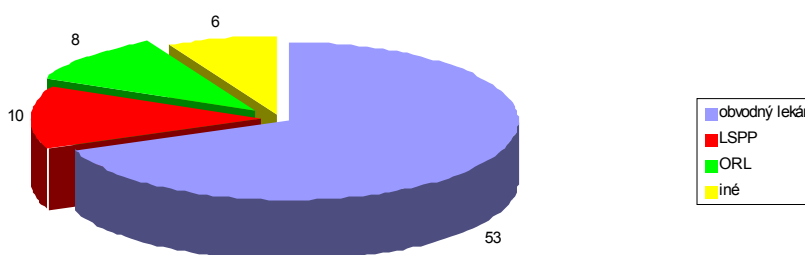
### Odoslaný na hospitalizáciu (rok 2002)



*Graf č.7.1.-3a. Odosielanie pacientov na hospitalizáciu – za rok 2002*

Pozn.\* Iné- kožná amb.(2), interná amb.(1), bez odporúčenia (3)

### Odoslaný na hospitalizáciu (rok 2003)



*Graf č.7.1.-3b. Odosielanie pacientov na hospitalizáciu- za rok 2003*

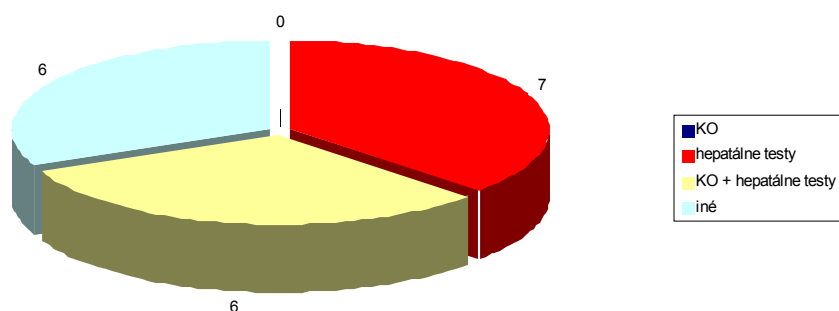
Pozn.\* Iné- alergologická amb.(1), kožná amb. (2), bez odporúčenia (3)

Z grafického vyjadrenia vyplýva, že najviac pacientov odoslali obvodní lekári.

Počas r. 2002 malo najviac pacientov vyšetrené len hepatálne testy- v počte 7 pacientov, 6 pacientov KO+ hepatálne testy + sérologické testy na EBV, rovnaký počet pacientov malo hepatálne testy a KO. Celkovo laboratórne odbery mali urobené 19- ti pacienti a u 48 pacientov odbery neboli urobené.

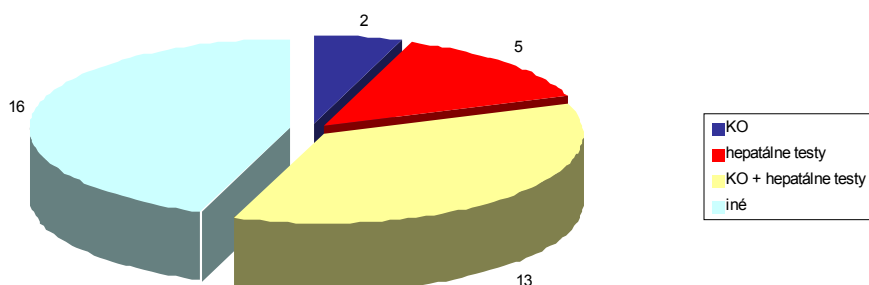
Počas r. 2003 malo 36 pacientov urobené laboratórne odbery, z toho 16 pacientov malo urobený KO + hepatálne testy+ sérologické testy na IM, 13 pacientov malo urobené KO+ hepatálne testy , 6 pacientov malo len hepatálne testy a 2 pacienti mali len KO. Laboratórne vyšetrenia počas roku 2003 u odoslaných pacientov na hospitalizáciu neboli urobené u 41 pacientov.

### Laboratórne odbery za rok 2002 pred prijatím do nemocnice



Graf.č. 7.1.- 4a. Laboratórne odbery za rok 2002

### Laboratórne odbery za rok 2003 pred prijatím do nemocnice



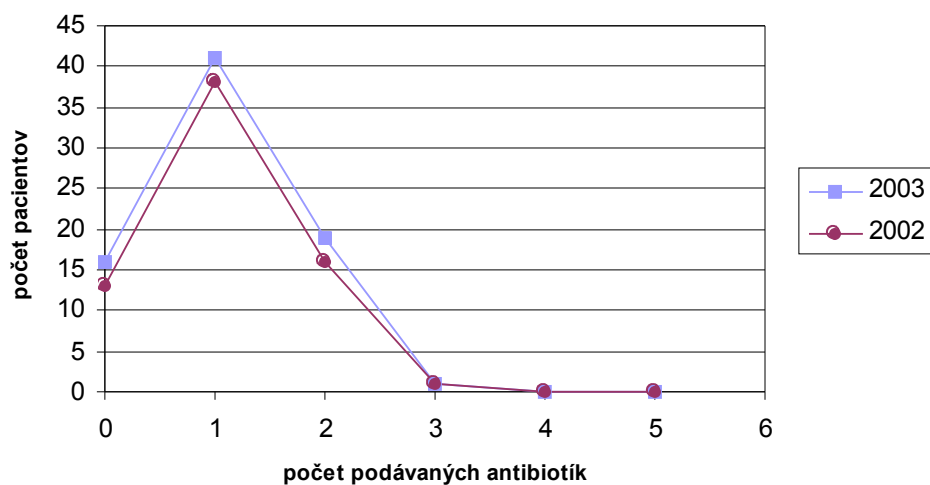
Graf č.7.1.- 4b. Laboratórne odbery za rok 2003

Ďalším ukazovateľom bola doba od prijatia do nemocnice pred prijatím do nemocnice od objavenia sa prvých ťažkostí u pacienta ( tab.č. 7.1.) a liečba počas obdobia pred hospitalizáciou ( graf.č. 7.1.-5.a graf č. 7.1.-6a,b )

	0-3 dni	4-7 dní	8-14 dní	15-21 dní	viac dní
<b>2003</b>	26	24	23	3	1
<b>2002</b>	27	19	21	0	1

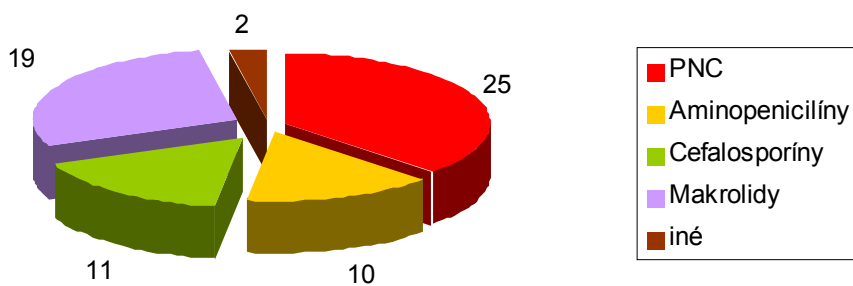
Tab.č. 7.1.-1. Doba pred prijatím do nemocnice





Graf č. 7.1.-6. Počet podávaných antibiotík pred hospitalizáciou

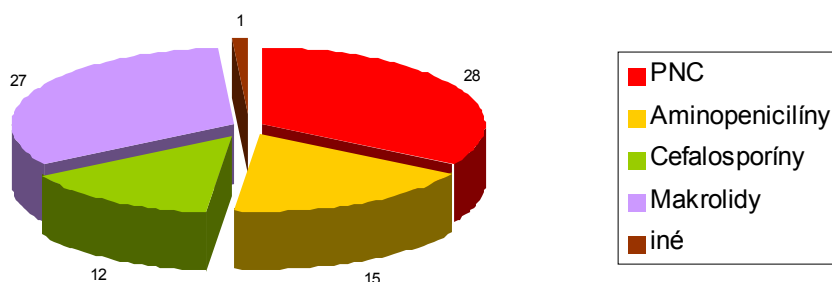
### Typy užívaných antibiotík pred prijatím do nemocnice (rok 2002)



Graf.č. 7.1.-6a – typy užívaných ATB pred prijatím do nemocnice za rok 2002

Pozn.\* Iné- Biseptol, Doxybene

### Typy užívaných antibiotík pred prijatím do nemocnice (rok 2003)



Graf č.7.1.6b- typy užívaných ATB pred prijatím do nemocnice za rok 2003  
Pozn.\* Iné-chinolóny

Z výsledkov vyplýva, že až 80,8 % pacientov v r. 2002 a 79,2 % v r.2003 malo pred prijatím do nemocnice nasadenú antibiotickú liečbu. Z nich 25,6% v r.2002 a 25,9 % v r.2003 -malo 2 až 3 druhy antibiotík pred prijatím. Najviac pacientov malo nasadené penicilíny a makrolidy, menej malo cefalosporíny a aminopenicilíny (v r. 2002 -10,1 %, 24,5 % v r.2003)

Za rok 2002 odosielaajúcou diagnózou bola v 57 prípadoch infekčná mononukleóza, 1 pacient bol odoslaný ako angína, 1 pacient ako hepatitída na dif.dg., 1 pacient ako lymfadenitída, 2 ako exantém, 2 pre vracanie, 3 pacienti prišli bez odporúčania pre problémy s dýchaním a pretrváváním teplot.

Odsielaajúcou diagnózou bola za rok 2003 bola v 67 prípadoch ako infekčná mononukleóza, v 3 prípadoch ako febrilita s hnisavou angínou, v 2 prípadoch ako lymfadenitída, 2 pre vracanie, 2 pacienti pre zhoršujúci sa exantém a 3 pacienti boli prijatí bez odporúčania ako akútny stav.

V tab.č.7.1.-4. sú zaznamenané klinické príznaky pri prijatí do nemocnice. Najviac dominovala povlaková angína a zväčšené lymfatické uzliny.

Ako „iné“ príznaky boli – za rok 2002- 4 pacienti mali v anamnéze vracanie, 1 pacient bolesti hlavy, 1 pacient hnačky, 1 pacient petéchie.

- za rok 2003- vracanie s bolesťami brucha v 3 prípadoch, hnačky s vracaním v 2 prípadoch ( hnačky boli v rámci dysmikróbie popri antibiotickej liečbe)

	TT > 38°C	Povlak. angína	zväčšené LU	hepatomegalia	splenomegalia	Exantém	iné
<b>2003</b>	27	70	65	63	33	8	5
<b>2002</b>	28	62	62	44	37	8	7

Tab.č.7.1.-4. Klinické príznaky pri prijatí do nemocnice

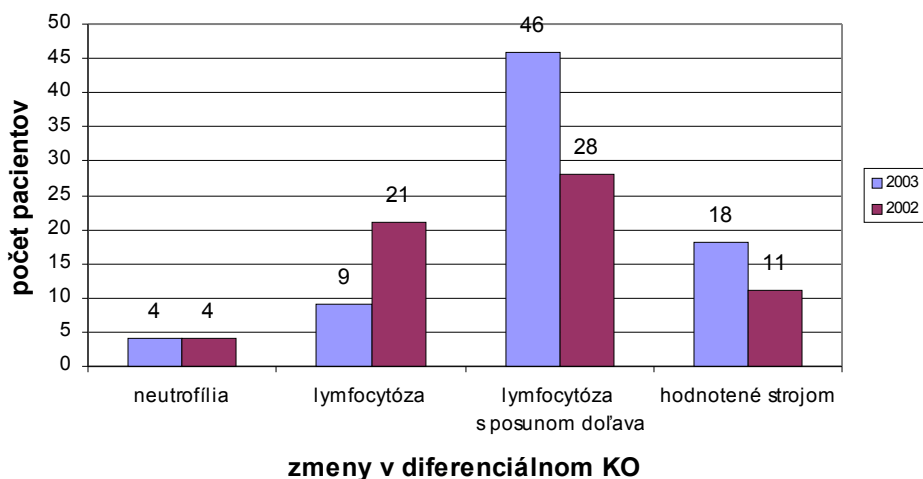
Pozn.\* iné- vracanie s bolesťami brucha, hnačky s vracaním, bolesti hlavy, petéchie

V laboratórnych parametroch som sledovala zmeny diferencovaného počtu leukocytov a známky hepatálnej lézie .

Vstupné hodnoty leukocytov v krvom obraze sú zaznamenané v tab.č.7.1.-5. V roku 2003 maximálny počet leukocytov bol  $75,4 \times 10^9 / l$ , leukopénia bola len ľahkého stupňa  $3,2 \times 10^9 / l$ . V roku 2002 leukopénia nebola zaznamenaná, leukocytóza bola v počte  $35,9 \times 10^9 / l$ .

	v norme	leukopénia	leukocytóza
2003	51	1	25
2002	50	0	17

Tab.č. 7.1.-5.- zmeny v počte leukocytov



Graf č.7.1.-7. Zmeny v diferenciálnom krvnom obraze

Najvýraznejšie laboratórne zmeny bielej krvnej zložky boli zaznamenané v 1. a 2.týždni ochorenia (porovnaj graf. č.7.1.-7 a tab.č.7.1.-5).

Trombocytopéniu sme zaznamenali v r. 2003 u 3 pacientov v počte  $110-132 \times 10^9 / l$  a v r. 2002 u 7 pacientov v počte  $102-143 \times 10^9 / l$ .

Laboratórne známky poškodenia pečene (tab.č.7.1.-6.) boli prítomné u 61% v r.2003 a 69,7% za r.2002 celkového počtu pacientov. Aktivita aminotransferáz (ALT) presahovala 4 - násobok normy 26% za rok 2003 a za rok 2002- 36% prípadov. Hyperbilirubinémia bola pozorovaná u 12 ročnej pacientky v r.2003 (celk.bilirubín 46,6  $\mu\text{mol/l}$  a konjugovaný bilirubín 22,4  $\mu\text{mol/l}$ ) a u jedného - 11 ročného pacienta v r. 2002 (celkový bilirubín 31,5  $\mu\text{mol/l}$ , bil.konjugovaný 15,9  $\mu\text{mol/l}$ ). Pretrvávajúce poškodenie pečene po prepustení bolo sledované v rámci hepatologickej poradne KIGM.

		norma	0,7 - 1,0	1 - 2	> 2	> 3	> 4	> 5	> 6	> 7	nevyšetrené
2003	AST	12	13	16	4	3	0	0	0	2	27
	ALT	30	14	13	9	6	2	1	0	2	0
2002	AST	8	15	14	4	5	5	0	1	0	16
	ALT	20	8	14	7	6	6	2	0	3	0

Tab.č. 7.1.-6. Hodnoty vstupných hepatálnych testov ( uvedené v  $\mu\text{kat/l}$  )

Etiologické agens v tampóne tonsíl :

- do skupiny pacientov , u ktorých sa etiologické agens v tampóne tonsíl nezachytilo patria pacienti, ktorí už prišli na hospitalizáciu s nasadenou antibiotickou liečbou a kultivačným vyšetrením sme zistili bežnú flóru dutiny ústnej alebo nebolo zachytené žiadne agens t.j. pôdy zostali sterilné.
- Pacienti s bežnou flórou nemali pridruženú bakteriálnu superinfekciu

	<b>Streptococcus agalactiae</b>	<b>Haemophilus haemolyticus</b>	<b>Haemophilus influenzae</b>	<b>Moraxella catarrhalis</b>	<b>Streptococcus pneumoniae</b>
<b>2003</b>	2	1	3	4	6
<b>2002</b>	0	0	5	2	1
	<b>Streptococcus pyogenes</b>	<b>Klebsiella pneumoniae</b>	<b>Staphylococcus aureus</b>	<b>bežná flóra</b>	<b>nezachytené agens</b>
<b>2003</b>	2	1	11	7	47
<b>2002</b>	0	0	6	10	42

Tab.č.7.1.-7. Etiologické agens v TT u pacientov hospitalizovaných na KIGM v rokoch 2002-2003

Z uvedených parametrov v tab.č.7.1.-7. vyplýva, že pacienti boli v 42 ( za r.2002) a v 47 (za r.2003) prípadoch už naliečení ATB pred príchodom do nemocnice, etiologické agens sa v kultivačnom vyšetrení tampónu tonzíl nezachytilo.

Liečba počas hospitalizácie je uvedená v tab.7.1.-8.

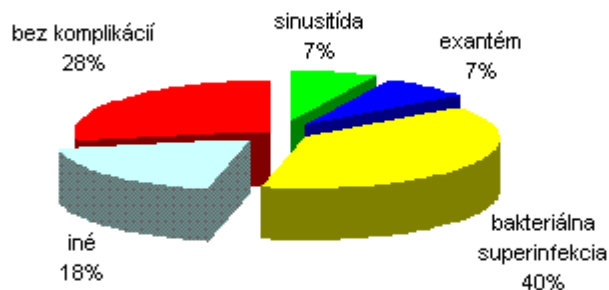
	<b>symptomatická</b>	<b>PNC</b>	<b>pokračovanie v začatej antibiotickej liečbe</b>	<b>iné antibiotikum</b>	<b>Entizol</b>
<b>2003</b>	2	14	11	8	48
<b>2002</b>	0	11	14	8	41

Tab.č.7.1.-8. Prehľad liečby hospitalizovaných pacientov

Pre pretrvávajúce teplôt, vyššie zápalové parametre a predpokladané etiologické agens bolo pokračované v začatej antibiotickej liečbe alebo bola zmenená liečba na PNC a/alebo Entizol- pre možnú spoluúčasť anaeróbov na ochorení pri klinickom obraze povlakovej angíny. Ako „iné“ antibiotikum bolo použité z triedy cefalosporínov, makrolidov, tetracyklínov alebo chemoterapeutikum (Biseptol).

Počas jednotlivých rokov zaznamenali sme tieto komplikácie ( graf 7.1.-8a a graf 7.1.-8b)

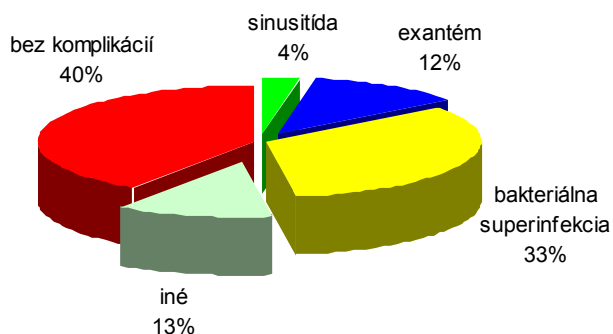
#### Komplikácie počas hospitalizácie (rok 2002)



Graf.č. 7.1.- 8a- Komplikácie počas hospitalizácie (r.2002)

\*Pozn. Iné- hnačky, otitída , obštrukcia dýchania

### Komplikácie počas hospitalizácie ( rok 2003)



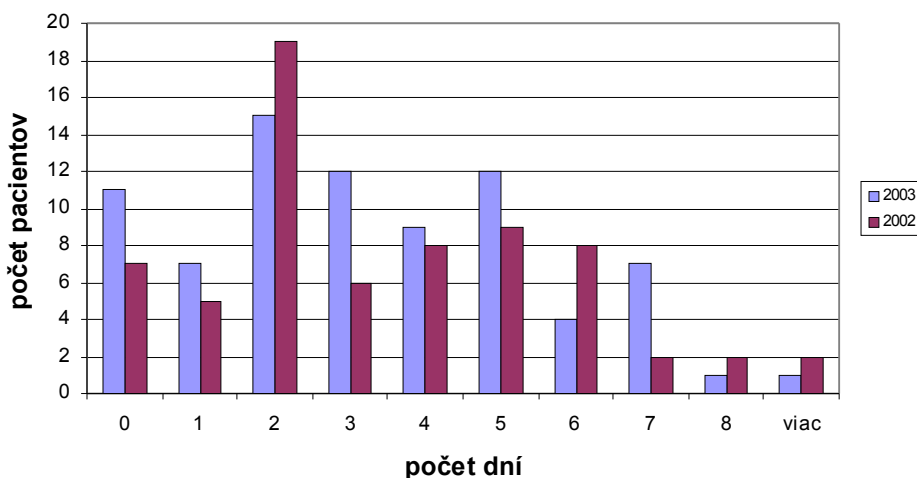
Graf č.7.1.-8b. Komplikácie počas hospitalizácie (r.2003)

\*Pozn. Iné- varicella, otitída , inf.moč.ciest, obštrukcia dýchania

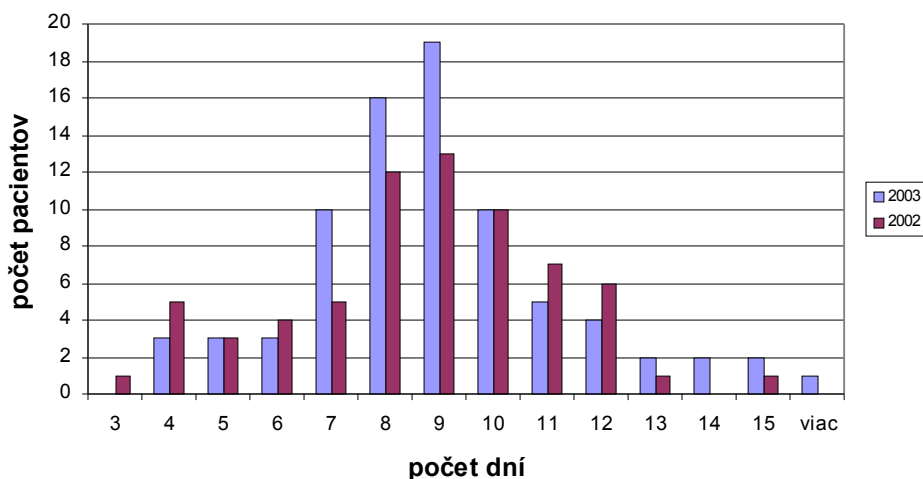
Môžeme konštatovať, že vážnejšie komplikácie počas r.2002 a r.2003 neboli zaznamenané.

Dôležitým parametrom sledovania bola aj doba hospitalizácie, ktorá súvisela s poklesom teplôt a hepatálnych testov. Môžeme to vidieť na grafe č. 7.1.-9 a grafe č.7.1.-10.

Najviac pacientov malo 2 dni teploty v rámci hospitalizácie, a to v r.2002- 19 pacientov a r.2003 -15 pacientov. Priemerná dĺžka hospitalizácie sa pohybovala od 7-11 dní.



Graf.č. 7.1.-9. Počet dní s pretrváváním teplôt



Graf č.7.1.-10. Dĺžka hospitalizácie

Všetci pacienti boli prepustení do domácej starostlivosti a do starostlivosti hepatologickej poradne KIGM, prípadne starostlivosti obvodného pediatra.

### 7.1.3. Kazuistiky

Do práce som vybrala 2 zaujímavé kazuistiky. V prvej by som chcela poukázať na leukemoidnú reakciu u 3,5 ročného dieťaťa a v druhej na možnosť diferenciálnej diagnostiky ikteru u 12 ročnej pacientky.

#### Kazuistika č.1:

M.K, 3,5 ročné dieťa hospitalizované v nov. 2003 na KIGM detskom oddelení.

RA: rodičia zdraví, súrodencov nemá

OA: Dieťa z I.fyziologickej gravidity, pôrod v termíne, per sectio Ceasarea, p.hm.:4300g pôrodná dĺžka 52cm, popôrodné obdobie fyziologické. Očkovaná podľa poradne. Prekonala občas rhinofaryngitídy, 2x užívala ATB. Operácie: 0, Hospitalizovaná nebola. Nie je sledovaná v žiadnej odbornej ambulancii.

AA: na lieky a potraviny negatívna, EA: chodí do MŠ, nevedia udať súvislosť s ochorením

TO: Bola liečená pre otitídu Augmentínom 10 dní, stav sa potom upravil. Kontrolné odbery na amb. Leu  $16,8 \times 10^9/l$  ( Ly 26,7 %, Neu 69,9 % ), AST 0,68 ukat/l, ALT 0,26 ukat/l, TT bežná flóra, moč kult.: negat. O 2 týždne bola vyšetrená na LSPP, kde ordinovaný Sumamed pre angínu. O 2 dni bola pre pretrvávajúce teploty odoslaná na hospitalizáciu.

Pri prijatí: TT: 38,2 °C, edém mihalníc, obturovaný nos, rinolália, dýcha ústami, orofarynx červený, edematózný, tonzily s hnisavými povlakmi, jazyk povlečený, na špičke jazyka afta. LU na krku zdurené- veľké pakety bilaterálne viac vľavo, palpačne mierne bolestivé, hepar + 2 cm, lien +3 cm. Ostatný nález fyziologický.

**Pri prijatí:** FW: 20/40, CRP: 14,6 mg/l

KO: Leu  $75,4 \times 10^9/l$ , Ery  $4,35 \times 10^{12}/l$ , Hb 126g/l, Ht 0,37, Tr  $299 \times 10^9/l$

Dif. KO: lymfocytóza 92% (reaktívne lymfo-monocyty 47%)

Hepatálne testy: AST 1,73 ukat/l, ALT 2,13 ukat/l

Heterofilné protilátky:IM test 1:20, OCH test: negat., Paul-Bunell test: negat.

Špecifické protilátky: anti- EBV EA IgM pozit., anti- EBV EA IgG: pozit., anti- EBV NA IgG equivocálne

TT: stredne Staphylococcus aureus, TN: ojedinele Staphylococcus aureus

Kultivácia stolice: bežná flóra, stolica na adenovírusy: negatívna, stolica na rotavírusy: pozitívna, močový nálež negatívny

**Pri prepustení:** FW: 8/20, CRP: 6 mg/l

KO: Leu  $16,8 \times 10^9/l$ , Ery  $5,4 \times 10^{12}/l$ , Hb 133g/l, Ht 0,42, Tr  $388 \times 10^9/l$

Dif.KO: lymfocytóza 89 % (reaktívne lymfo- monocyty 10%)

Hepatálne testy: AST 0,76 ukat/l, ALT 0,60 ukat/l

Graf.č. 7.11. Teplotná krivka pacientky N.K. - Vysvetlivky: S- stolica, V- vracanie

*Terapia:* Entizol 4 dni, antihistaminika, hepatoprotektíva, pečeňová diéta, hygiena dutiny ústnej, kľudový režim.

*Priebeh:* 3,5 ročné dieťa odoslané na hospitalizáciu ako s podozrením na infekčnú mononukleózu, 2.deň na liečbe Sumamedom pre hnisavú angínu a krčnú lymfadenitídu. Pri prijatí bolo dieťa subfebrilné, s klinickým obrazom povlakovej angíny, hepatosplenomegáliou a výraznými paketmi lymfatických uzlín na krku. V laboratórnom skríningu bola opakovane prítomná v krvnom obraze leukemoidná reakcia s prevahou reaktívnych lymfo-monocytov v diferenciálnom krvnom obraze. V krvnom nátere hodnotenom hematológom sa nenašli atypické bunky (susp.blasty). Dieťa bolo 4 dni na liečbe Etizolom a na symptomatickej a hepatoprotektívnej liečbe. Od 5.dňa hospitalizácie bolo afebrilné. Kontrolné laboratórne parametre boli uspokojujúce. Stav bol hodnotený ako prebiehajúca akútna infekčná mononukleóza EBV infekcia. Počas hospitalizácie bol celkový priebeh ochorenia komplikovaný akvirovanou rotavírusovou infekciou, ktorá bola zvládnutá perorálnou rehydratáciou a diétou. Po 10 dňoch hospitalizácie bolo dieťa v stabilizovanom stave prepustené do domácej starostlivosti a starostlivosti KIGM ambulancie. Kontrolné vyšetrenie hepatálnych testov, KO+ náteru bolo o 2 týždne na KIGM amb.

*Dieťa bolo prepustené s diagnózou Mononucleosis infectiosa ( EBV infekcia ) , Rotavirosis*

Kazuistika č.2:

K. N. - 12 ročná pacientka, hospitalizovaná na KIGM od 3.11.- 19.11.2003

RA: rodičia zdraví, súrodencov nemá

OA: Dieťa z I.rizikovej gravidity, pôrod koncom páňovým, p.hm.: 2670g/ 49 cm, kriesená nebola, ikterus nov.nemala, dojčená 3 mesiace, očkovanie podľa poradne, psychomotorický vývoj v norme. Prekonala rubeolu. Je sledovaná v imunoalergologickej ambulancii pre astmu bronchiale, t.č. užíva Seretide spray 2x 1 vdych, Operácie: tonzilektómia

AA. na lieky a potraviny negat., je alergická na peľ a srseť.

TO. Chorá od 17.9. 03 – 2 týždne mala febrilitu 40 st.C, vracala cca 10-krát denne, málo jedla, pila skôr len tekutiny. Od 17.9. užívala Oспен tbl 3x 500 mg 4 dni, potom 3x 100 mg 4 dni. Pre vracanie bol ordinovaný Cerucal- ten užívala 2 dni (3x 1 tbl ). Začiatkom októbra sa jej zväčšili lymfatické uzliny na krku. Bola 1 týždeň doma, vracanie bolo už len ojedinelé.

1.10. boli u obv.pediatra vyšetrené IM test: 1:1280, OCH test 1:1920, P.-Bunell r.: 1:80, anti EBV IgG: pozit, anti EBV IgM pozit., anti EBNA 1 IgG: pozit., CRP: negat., v krvnom obraze lymfocytóza 0,60 %, bez leukocytózy, AST 0,60 ukat/l, ALT 1,07 ukat/l. Pacientka bola 2 týždne v škole, potom bola na kontrolnom vyšetrení u obvodného pediatra, kde: KO bol v norme, AST 18 ukat/l, ALT 33 ukat/l. Bola ordinovaná hepatoprotektívna liečba a pečeňová diéta. Posledný týždeň vracala cca 10-krát denne. Schudla 10 kg. Odoslaná k nám na hospitalizáciu pre hepatopatiu.

Stav pri prijatí: Obézna, skléry anikterické, spojovky nastrieknuté. Orofarynx katarálny, stav po tonzilektómii, petéchiálny enantém na podnebí. Brucho- hepar a lien v oblúku. Ostatný nález fyziologický. Hmotnosť pri prijatí: 63,5 kg

Graf č.7.1.-12. Teplotná krivka pacientky K.N.

### Výsledky vyšetrení:

Hemokoagulačné vyšetrenie: v norme, sérologické vyšetrenie: OCH test: negat., IM test: negat., Paul-Bunnell r.: 1:40, anti EBV EA IgM: pozit., anti EBV EA IgG–pozit., anti EBV NA IgG: pozit., anti HAV IgM, HbsAg, Anti HCV IgM: negat., autoimunitné protilátky: ANA, AMA, APCA, ATA, ARA: negat., ASMA: pozit.+++ , protilátky proti žlčovým kanálikom: pozit.++

Protilátky proti toxoplazme (IgG, IgM, KFR): negat., toxocara: negat., alfa1-anti-trypsín: v norme.

Moč chem: pH 6, urob.++, sed: ery 1-2, Leu 4-6, bakt.ojed., epit.prít., hlien.vl.prítomné  
Stolica na parazity 4x negat., perianálny zlepy: 3x negat.

USG brucha: Hraničná veľkosť pečene bez iných zmien. Mierna splenomegália.

	Pri prijatí:	Pri prepustení:
<b>FW</b>	16/34	16/34
<b>CRP ( mg/l)</b>	34	menej ako 5
<b>KO</b>	v norme	v norme
<b>Dif.KO (%)</b>	neutrofilia (49), reaktívne lymfo-monocyty (8)	neutrofilia (63), reaktívne lymfo-monocyty ( 3)
<b>Bilirubín celkový (umol/l)</b>	46,6	9,2
<b>Bilirubín konjug.(umol/l)</b>	22,4	8,6
<b>AST(ukat/l)</b>	16,48	0,44
<b>ALT (ukat/l)</b>	27,9	1,04
<b>GMT (ukat/l)</b>	1,89	0,77
<b>ALP (ukat/l)</b>	4,94	nerobené

Tab.č.7.1.-9. Prehľad laboratórnych výsledkov vyšetrení

*Terapia:* hepatoprotektíva, vitamíny, inhalačné kortikoidy, kľudový režim, pečeňová diéta  
*Priebeh:* 12-ročná pacientka prijatá na naše oddelenie pre hepatopatiu popri infekčnej mononukleóze. Pri prijatí bola subfebrilná, v klinickom obraze bola mierna hepatomegália so splenomegáliou. V laboratórnych výsledkoch vysoké hodnoty hepatálnych testov, konjugovaná hyperbilirubinémia, hemokoagulačné vyšetrenie v referenčnom rozmedzí. V krvnom obraze bez leukocytózy s posunom k nezrelším formám neutrofilov a eozinofilii. Sérologickým vyšetrením sme potvrdili prebiehajúcu akútnu EBV infekciu. Prvotné poškodenie pečene sme nepotvrdili, hepatitídy A,B,C, autoimunitné poškodenie pečene sme vylúčili. Pod hepatoprotektívnou liečbou a diétou došlo k poklesu hepatálnych testov. Pre eozinofiliu sme indikovali vyšetrenie protilátok proti toxoplazme a toxocare, čo bolo s negatívnym nálezom. Opakované parazitologické vyšetrenia stolice a perianálne zlepy boli negatívne. V stabilizovanom stave bola prepustená do domácej starostlivosti a ambulancie KIGM.

### 7.1.4. Diskusia

V priebehu infekčnej mononukleózy zisťujeme charakteristické zmeny v krvnom obraze v bielej krvnej zložke. Počet bielych krviniek môže byť na začiatku znížený, ale už v prvom týždni stúpa na  $10-20 \times 10^9/l$ , niekedy až na  $50 \times 10^9/l$ . Leukocytóza je asi u 40-70 % pacientov s IM. Počet leukocytov sa normalizuje asi v treťom týždni ochorenia, ale často je to až počas niekoľkých mesiacov.



V kazuistike č. 1 som prezentovala 3,5-ročnú pacientku, ktorá po 10-dňovej liečbe Augmentínom pre otitídu, potom bola bez ťažkostí a o 2 týždne po doužívaní Augmentínu sa znovu objavili teploty, zväčšili sa lymfatické uzliny a pre klinický obraz povlakovej angíny bola začatá liečba Sumamedom. Po 2 dňoch užívania Sumamedu bola odoslaná pre pretrvávajúce teploty na hospitalizáciu. V vstupnom krvnom obraze mala leukemoidnú reakciu v počte leukocytov  $75 \times 10^9 /l$ . Klinický obraz (rhinolália, Bassov príznak, krčná lymfadenitída, hepatosplenomegália) svedčal pre infekčnú mononukleózu. V diferenciálnom krvnom obraze bola lymfocytóza s nálezom reaktívnych lymfo- monocyto- v. Krvný náter bol opakovane pre leukemoidnú reakciu hodnotený hematológom. Znamky malignity sa v náteri krvného obrazu nedokázali. Počas hospitalizácie dieťa akvírovalo rotavírusovú infekciu. Inak bolo bez iných komplikácií. V stabilizovanom stave bolo prepustené do domácej starostlivosti.

Infekčná mononukleóza zapríčinená EBV, je ochorenie, kde v rámci typického priebehu dochádza k eleváciám hepatálnych testov, ktoré sa do konca 5. týždňa sa obyčajne normalizujú. Len u 5% chorých je pozorovaný ikterus.

V kazuistike č.2 u našej 12 ročnej pacientky K.N. v predchorobí boli 2 týždne pretrvávajúce febrility s maximom do 40 st. C, opakované viacpočetné denné vracanie. Bola v domácej starostlivosti, kde podľa anamnestických údajov nebol zachovaný pitný a jedálny režim. Už vtedy mohlo dôjsť k zvýšeniu hladín hepatálnych testov ( hladovanie), tiež faktorom podieľajúcim sa na hepatopatii bolo aj dlhodobé užívanie antipyretík. Neskôr sa objavili zväčšené lymfatické uzliny a febrility. Vracanie opäť pretrvávalo. Podľa údajov matky schudla 10 kg. Celkový klinický obraz pri prijatí nebol jednoznačný. Pacientka bola po tonzilektómii, v dutine ústnej bol prítomný na podnebí petechiálny enantém. LU na krku neboli zväčšené. Na USG brucha - hraničná veľkosť pečene bez iných zmien s miernou splenomegáliou. Pacientka bola na hepatoprotektívnej liečbe, pod ktorou došlo počas 15 dní k zníženiu hladín hepatálnych testov. V rámci diferenciálnej diagnostiky sme vylúčili vírusové hepatitídy A,B, C, taktiež autoimúne poškodenie pečene. Zarážajúcou bola výrazná eozinofília v diferenciálnom krvnom obraze až 21 %. Opakované parazitologické vyšetrenia boli s negatívnym nálezom, tiež sérologické vyšetrenie protilátok proti toxoplazme a toxocare boli negatívne. Cestovateľskú anamnézu mala pacientka negatívnu. Predpokladám, že k tejto eozinofilii došlo v koincidencii astma bronchiale so stresovou reakciou (dlhotrvajúce teploty do 40 st.C, opakované vracanie). Po rehydratačnej liečbe, hepatoprotektívnom režime a liečbe došlo k poklesu hepatálnych testov. Pacientka nemala počas hospitalizácie žiadne pridružené komplikácie. Bola prepustená do domácej starostlivosti a sledovania hepatologickej poradne KIGM amb.

## Záver

Záverom môžeme povedať, že EBV infekcia je ochorenie, ktoré sa často vyskytuje u detí v rôznych vekových kategóriách. Z vyššie uvedených pozorovaní vyplýva, že na diagnózu infekčnej mononukleózy sa v začiatočnom štádiu na periférii často nemyslí, opakované sú vystriedané antibiotiká bez kultivačného vyšetrenia tampónu tonzíl a laboratórnych odberov. Ak počas antibiotickej liečby nedôjde k poklesu teploty, potom sú pacienti odosielaní pre dušnosť a problémy s prehĺtaním do nemocničnej starostlivosti. Napriek edukácii sa ešte stále na liečbu angíny používajú aminopenicilíny, čo neskôr upozorní na možnú diagnózu infekčnej mononukleózy. Prvou voľbou v ATB liečbe hnisavej angíny pri zvýšenej zápalovej aktivite je penicilín. Čo je dnes popri tlaku farmaceutických firiem možnou prekážkou dobrého managementu antibiotickej liečby u obvodného pediatra.

EBV má lymfocytotropný účinok. Pre možnú súvislosť EBV s inými malígnymi stavmi, aj po prepustení musia byť pacienti sledovaní v ambulancii, kde je možnosť mikroskopického vyšetrenia diferenciálneho krvného obrazu. Počas rokov 2002-2003 neboli v nátere krvného

obrazu zaznamenané známky malignity. Počas 2 rokov sme zaznamenali u 10-tich pacientov ľahkú trombocytopéniu. V týchto prípadoch boli vzorky krvi odoberané do EDTA roztoku, čo mohlo vytvoriť obraz pseudotrombocytopénie zapríčinenej reakciou protilátok anti- EBV s EDTA roztokom. Kontrolné vzorky krvného obrazu do roztoku citrátu neboli nabraté, pacienti nemali prejavy krvácania a tiež kvôli ďalšej traumatizácii pacientov sa nepristúpilo tomuto odberu. V kontrolnom výstupnom krvnom obraze sme trombocytopéniu nezaznamenali. To je tiež podnetom pri diferenciálno-diagnostickom rozlíšení trombocytopénie. Asi u 80 -100 % pacientov v priebehu infekčnej mononukleózy dochádza k elevácií hepatálnych transamináz. Niektorí pacient pred prepustením nemali v referenčnom rozmedzí hepatálne testy, boli prepustení na hepatoprotektívnej liečbe a pečeno- šetriacom diétnom režime- tento jav je tiež dôležitým znakom pre ďalšie ambulantné sledovanie pacientov.