

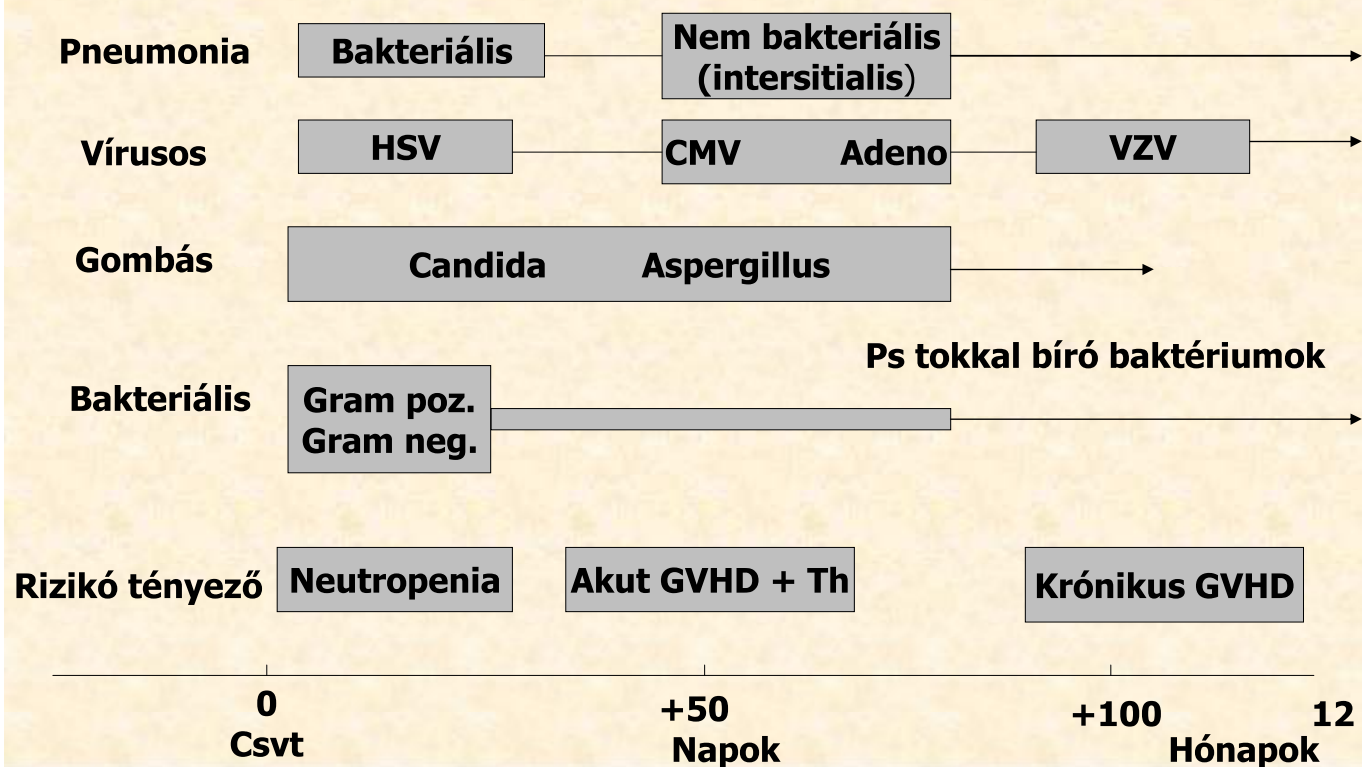
Vírusfertőzések immunszupprimált gyermekekben

**Dr Kriván Gergely
Szent László Kórház**

Az immunológiai rekonstitúciót befolyásoló tényezők

- Transzplantáció előtti tényezők
 - HLA különbség a donor-recipiens között (MUD, haplo)
 - Recipiens thymus működése (életkor!)
 - A donor és a recipiens korábbi infekciói
- Transzplantációs jellemzők
 - Graft T sejt mentesítése
 - Kondicionálás módja („mini”, TBI vagy kemoth.)
 - Anti-lymphocyta antitestek a kondicionálásban
 - Óssejt forrás (periféria vs. csontvelő)
- Transzplantációt követő tényezők
 - Akut és/vagy krónikus GvH
 - Fertőzések (elsősorban CMV) késleltetik az immunrekonstitúciót

Infekciók csontvelő-transzplantált betegekben



Esetismertetés (1)

S. D., fiú (szül: 1998. 01. 23.)

Kórtörténet: S. R., lány, 15 hónaposan fertőzésben meghalt
kórbonctan: **SCID**

S.D.: **Immunfenotípus vizsgálat:**

CD3⁺:19%, CD19⁺: 8%, CD3⁺,CD4⁺: 16%, CD3⁺,CD8⁺: 2%,
CD 16⁺/CD56⁺: 66%, CD3⁺,HLA-DR⁺: 9%

In vitro lymphocyta funkció: normális NK sejt működés
mitogénekre (PHA) nagymértékben csökkent T sejt válasz

HLA tipizálás: HLA identikus családi donor nincs

Esetismertetés (2)

T-sejt mentesített haploidentikus anyai csontvelő-transzplantáció
(pozitív CD34 szelekció, AKH. Bécs): 1998. 06. 22.

Kondicionálás: Busulphan (16 mg/kg)-
Cyclophosphamid (200mg/kg)

Graft méret: 1.15×10^6 /kg CD34⁺ sejt
 2.6×10^5 /kg CD3⁺ sejt

GVHD profilaxis: Sandimmun, MTX
5mg/kg Thymoglobuline 3 napig

Kórlefolyás:

kondicionálás alatt: láz (hemokultúra: H. influenzae)

Th.: amoxicillin/klavulánsav

+2. nap: láz (hemokultúra: sterile) Th: ceftazidim-vancomycin

4 hetes eseménytelen időszak

Esetismertetés (3)

Kórlefolyás

+29. nap: láz, nehézlégzés, magas CRP (hemokultúra: steril)

Th : meropenem-teicoplanin

amphotericin B: a profilaktikus adag terápiasra emelve

+32. nap: nincs megtapadás

booster T-sejt mentesített haploidentikus anyai PBSC (pozitív-negatív CD34 szelekció, AKH. Bécs)

graft méret: 8×10^6 /kg CD34⁺ sejt

8×10^5 /kg CD3⁺ sejt

magas T-sejt szám: 10 mg/kg Lymphoglobulin

4 napig

Esetismertetés (4)

Kórlefolrás:

+5. (+37.) *nap*: láz, maculopapulosus rash, bőrbíopszia (GVHD)
szteroid: 5 mg/kg

+8. (+40.) *nap*: megtapadás (ANC > 1 G/l), láztalan

+13. (+45.) *nap*: láz, csökkenő fvs, gyors klinikai romlás,
dyspnoe, ARDS

+18. (+50.) *nap*: exitus

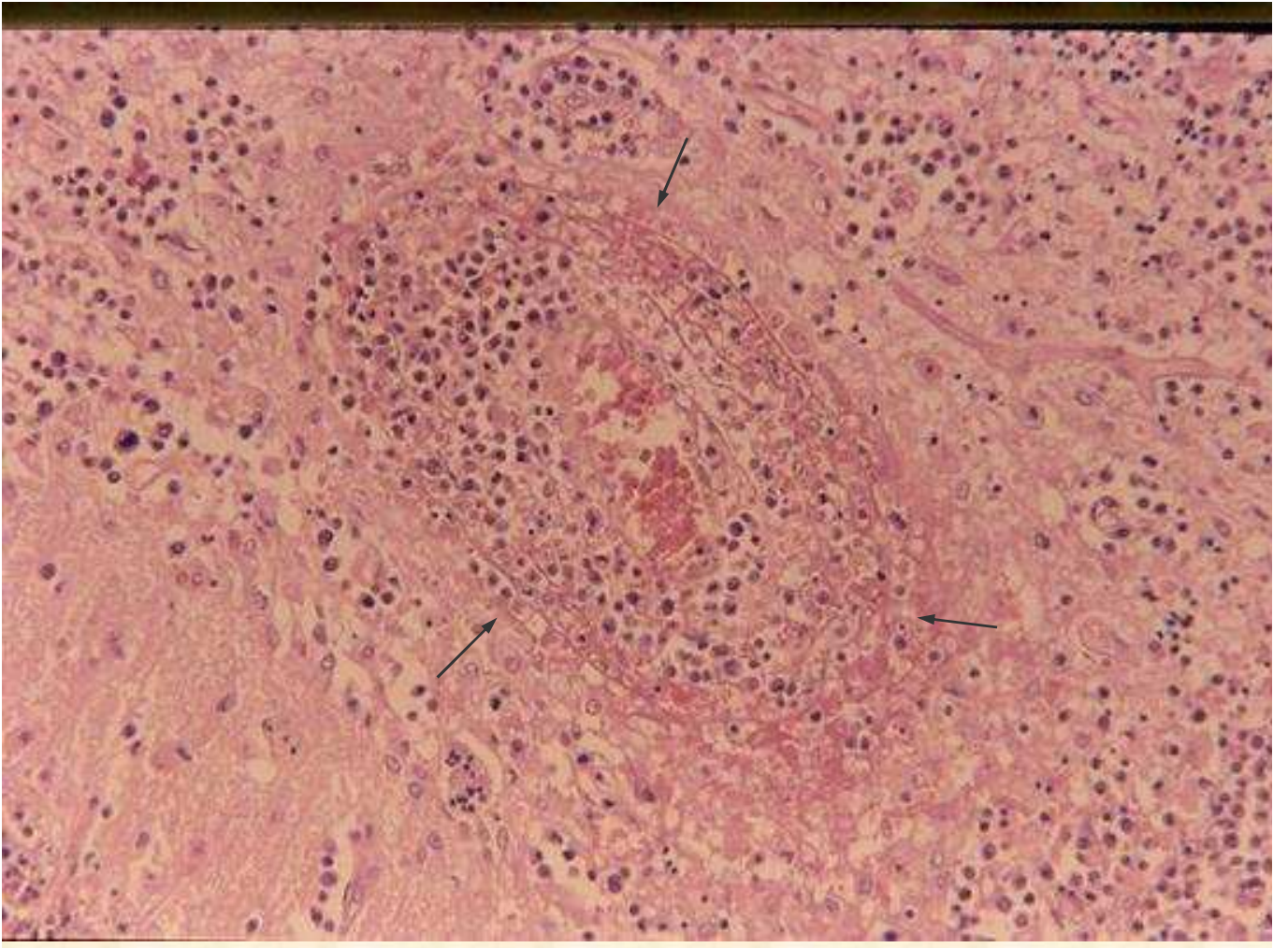
Klinikai dg.: GVHD. CMV fertőzés? Gomba és/vagy bakteriális szepszis?

Kórbonctan: Poszt-transzplantációs B-sejtes lymphoproliferatív betegség
(PT-BLPD)

Szövettan 1.

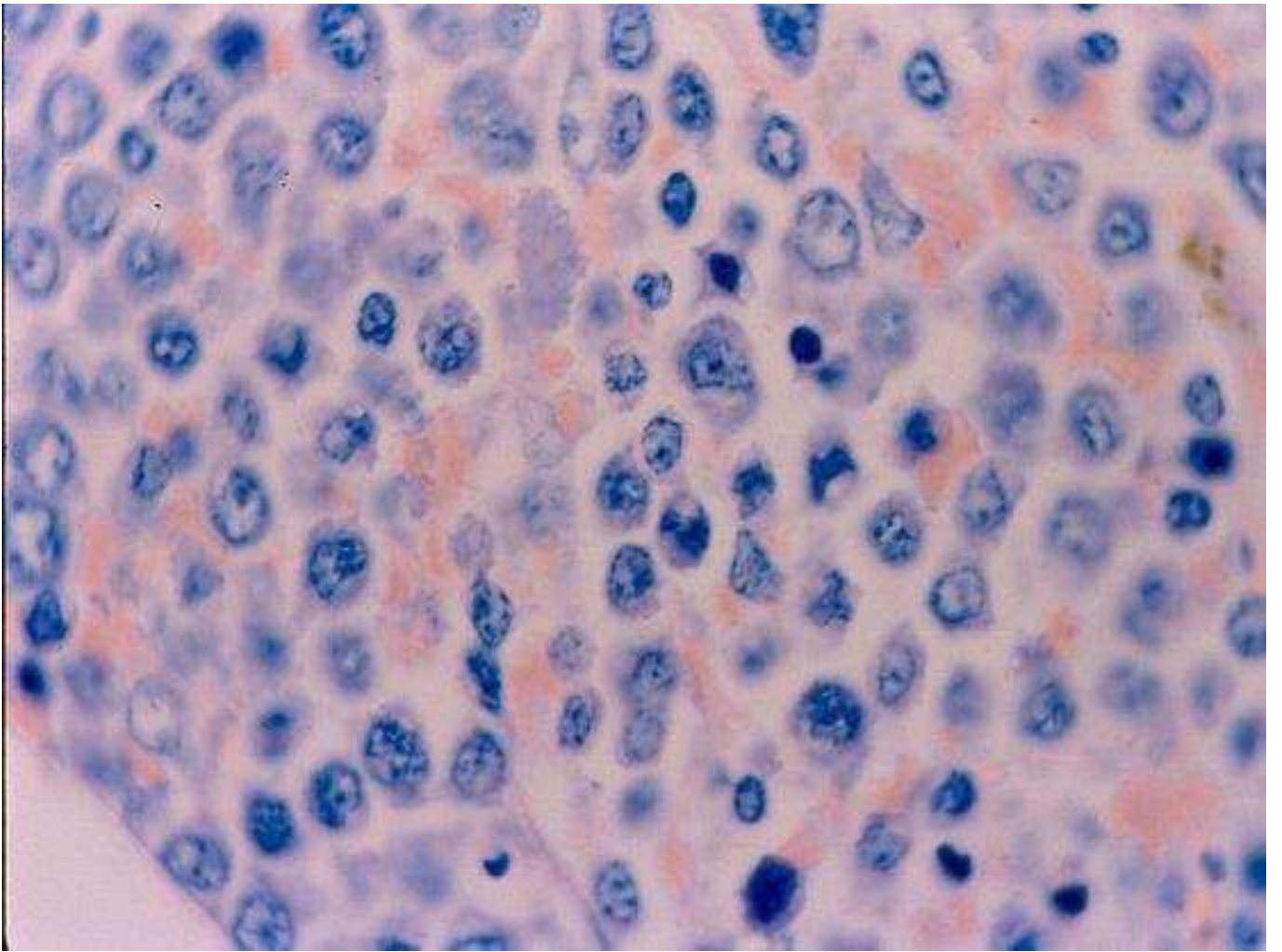
- **subarachnoideális, perivascularis lymphoid infiltráció necrosisával és az agyi erek thrombosisával.**
- **hasonló focalis lymphoid infiltráció a nyirokcsomókban, tüdőben, lépben, májban és a gyomor-bél nyálkahártyában.**

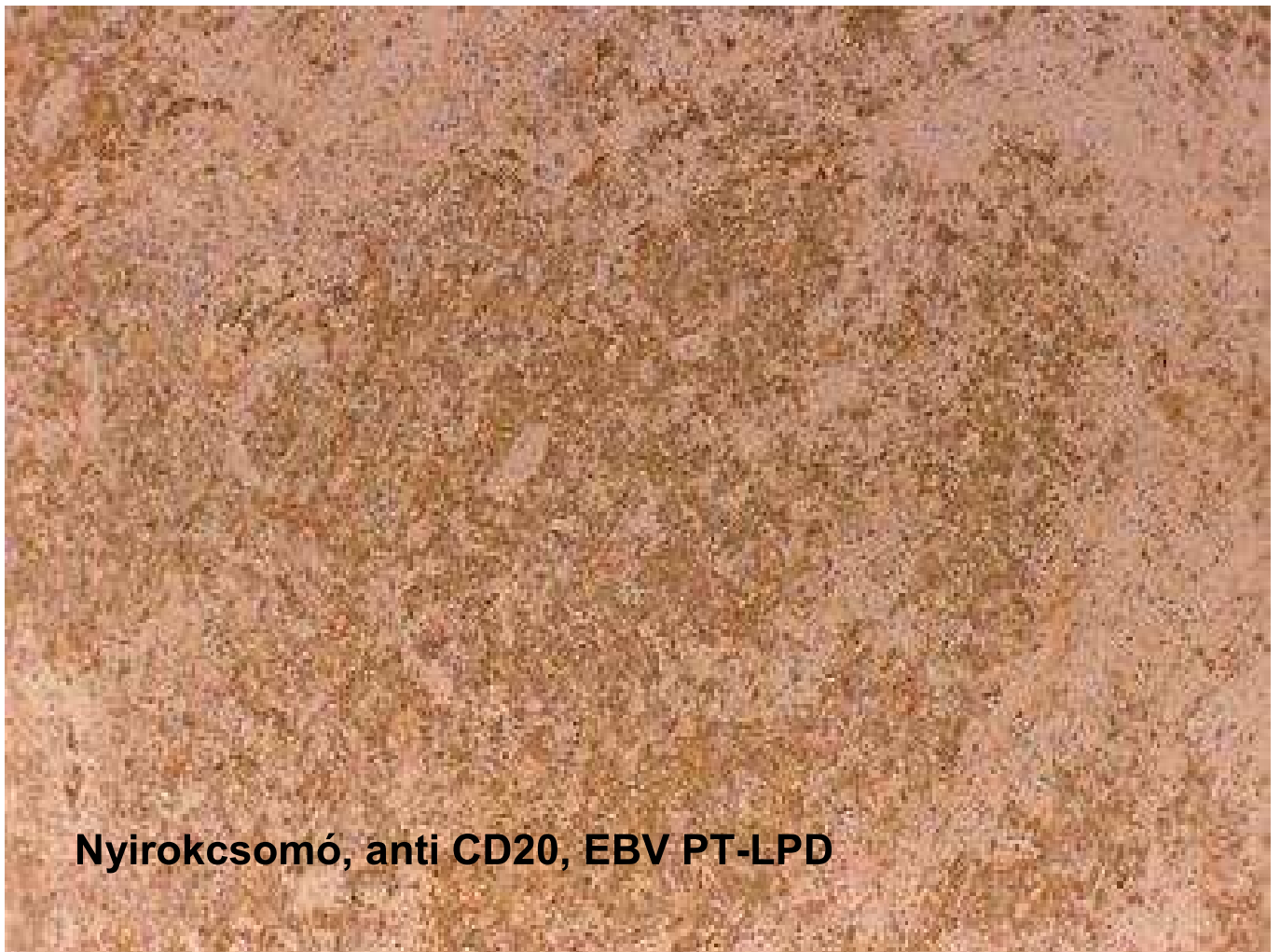




Szövettan 2.

- **A lymphoid infiltrációk polymorph sejtekből állnak (immunoblastoktól az érett plazmasejtekig)**
- **A sejtek többsége EBNA pozitív B sejt**
- **A parenchymás szervekben a focalis infiltrációk több érett plazmasejtet tartalmaztak, mint az agyban**



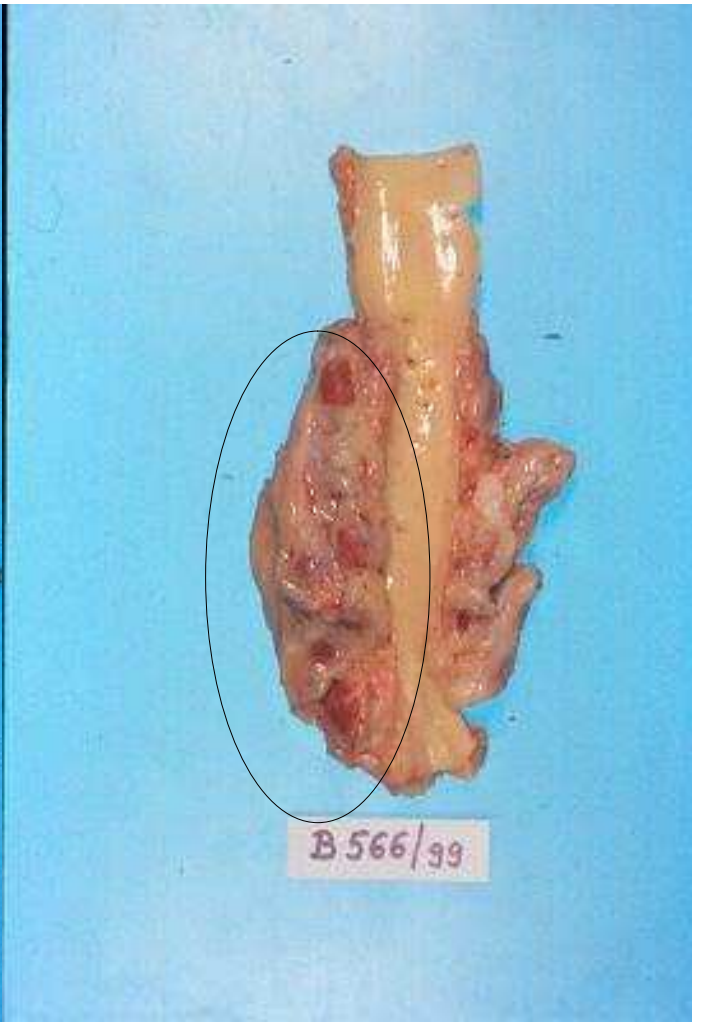


Nyirokcsomó, anti CD20, EBV PT-LPD

A PT-LPD rizikótényezői

- Primer immundefektusok
- HLA különbség
- Az allograft *ex vivo* T sejt mentesítése
- súlyos GVHD
- *in vivo* anti-T sejt terápia (ATG vagy monoclonalis antitestek)







Nyirokcsomó lenyomat EBV-PT-LPD

Terápiás lehetőségek PT-LPD-ben

- Az immunszuppresszív th. leállítása
- Antivirális szerek (?)
- Donor leukocytá infúzió
- EBV-specifikus cytotoxikus T lymphocyták
- **Monoclonalis antitestek (anti-CD20)**

Human herpesvírusok

- **Alfa-herpesvírusok**
 - HHV 1: Herpes simplex vírus 1
 - HHV 2: Herpes simplex vírus 2
 - HHV 3: Varicella-zoster vírus
- **Béta-herpesvírusok**
 - HHV 5: **Cytomegalovírus**
 - HHV 6
 - HHV 7
- **Gamma-herpesvírusok**
 - HHV 4: **Epstein - Barr vírus**

Cytomegalovírus fertőzések

- *A vírus jellegzetességei*
- *Epidemiológia*
- *Pathogenesis és klinikum*
- *Diagnosztika*
- *Terápia*
- *Megelőzés*

Cytomegalovírus fertőzések

- *A vírus jellegzetességei*

Alapfogalmak

- **Infekció:** szerokonverzió szeronegatív betegben
vagy
4x titeremelkedés szeropozitív betegben
vagy
vírusürítés valamely testvázadékkal
primer: - szeronegatív személyekben
szekunder: - látens fertőzés reaktivációja
- reinfekció újabb vírustörzsszel
szeropozitív betegben
- **Betegség:** klinikai tünetekkel járó fertőzés
(pl. pneumónia, retinitis, colitis)
primer v. szekunder fertőzésből
származhat

A cytomegalovírus génexpresszió sorrendje

- **Igen korai (immediate early - IE)**
vírustermelődést reguláló fehérjék
gazdasejt fehérjeszintézisét kontrolláló
fehérjék
- **Korai (early - E)**
vírus DNS polymeráz
vírus replikáció
- **Késői (late - L)**
strukturális vírusfehérjék

A HCMV jellegzetességei

- látens formában perzisztál
- reservoir: monocyta, T sejt, granulocyta, hemopoetikus progenitor sejt, endothel-, epithel sejtek, stroma-, idegsejtek
- immunsurveillance gyengülése: reaktiváció

Cytomegalovírus fertőzések

- *A vírus jellegzetességei*
- *Epidemiológia*

CMV szeroprevalencia egyes AIDS rizikócsoportokban

Betegcsoport	CMV szeropozitivitás (%)
Homoszexuális férfiak (USA)	94
HIV szeronegatívak	80
HIV szeropozitívak	100
AIDS betegek	
Afrika	100
Férfi (USA-elsősorban homoszexuális)	100
Hemofiliások	
20 éves kor alatt	25
20 éves kor felett	59

Mustafa, PIDJ 1994:13

CMV fertőzés előfordulása transzplantált betegekben

Átültetés típusa	Fertőzött betegek száma / Összes beteg
------------------	--

Vese	79 / 131 (60%)
------	----------------

Máj	55 / 93 (59%)
-----	---------------

Szív	44 / 48 (92%)
------	---------------

Szív/tüdő	22 / 31 (71%)
-----------	---------------

Csontvelő (autológ és allogén)	98 / 140 (70%)
--------------------------------	----------------

CMV betegség előfordulása transzplantált betegekben

Átültetés típusa	Tünetekkel rendelkező betegek		CMV pneumóniában szenvedő betegek	
	fertőzöttek %-a	összes %-a	fertőzöttek %-a	összes %-a
Vese	13	8	4	2
Máj	49	29	5	3
Szív	27	25	9	8
Szív/tüdő	55	39	45	32
Csontvelő	35	12		
autológ	5	3	5	2
allogén	40	14	30	10

Mustafa, PIDJ 1994:13

A HCMV transzmissziója

- **Vertikális:** anya - magzat
- **Horizontális:**
 - **testnedvekkel:** vizelet, nyál (gyermekközösségek), sperma, hüvelyváladék, anyatej - nyh. mikrosérüléseken át
 - **iatrogén:** vér, transzplantált szerv

Cytomegalovírus fertőzések

- *A vírus jellegzetességei*
- *Epidemiológia*
- *Pathogenesis és klinikum*

Pathogenesis 1.

- **direkt** sejtkárosító hatás
(retinitis, colitis)
- **indirekt** mechanizmus
csontvelő elégtelenség - stromasejt
autoimmun mechanizmus
 - haemolyticus anaemia,
 - thrombocytopeniás purpura
 - epidermolysis
 - Guillain-Barré syndroma

Pathogenesis 2.

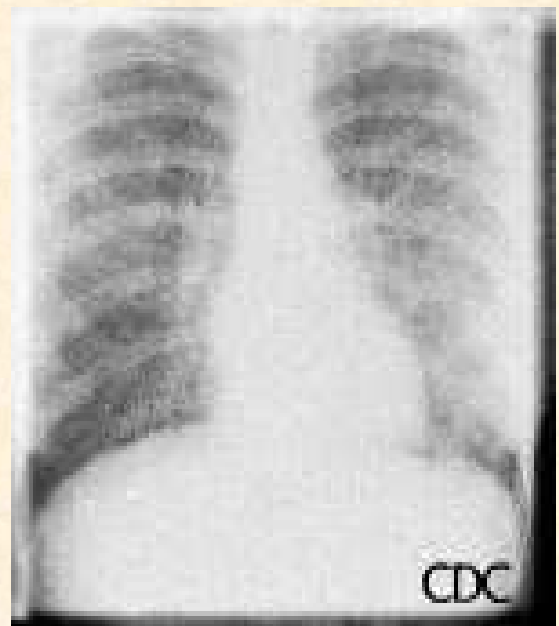
- **A szervezet védekező mechanizmusai:**
 - *humorális* immunválasz
(fertőzéstől nem véd meg, de csökkenti a betegség súlyosságát)
 - *celluláris* immunválasz
 - IE specifikus CD4⁺ T lymphocyták
(látens fertőzés kontrollja, reaktiváció megelőzése)
 - pp65 ellenes CD8⁺ T lymphocyták
(CMV betegség leküzdése)

Klinikai tünetek

- **AIDS betegek:**
 - 40%-ban CMV eredetű szervi betegségek
 - 85%-ban retinitis, ritkábban gastrointestinális tünetek
- **Szervtranszplantáltak:** átültetés után 2-6 hónappal
 - - nem specifikus prodromális tünetek (láz, myalgia, gyengeség, étvágytalanság)
 - - pneumonia
 - - hepatitis
 - - hematológiai eltérések
 - - gastrointestinális tünetegyüttes
 - - myocarditis
 - - késői manifesztáció: retinitis

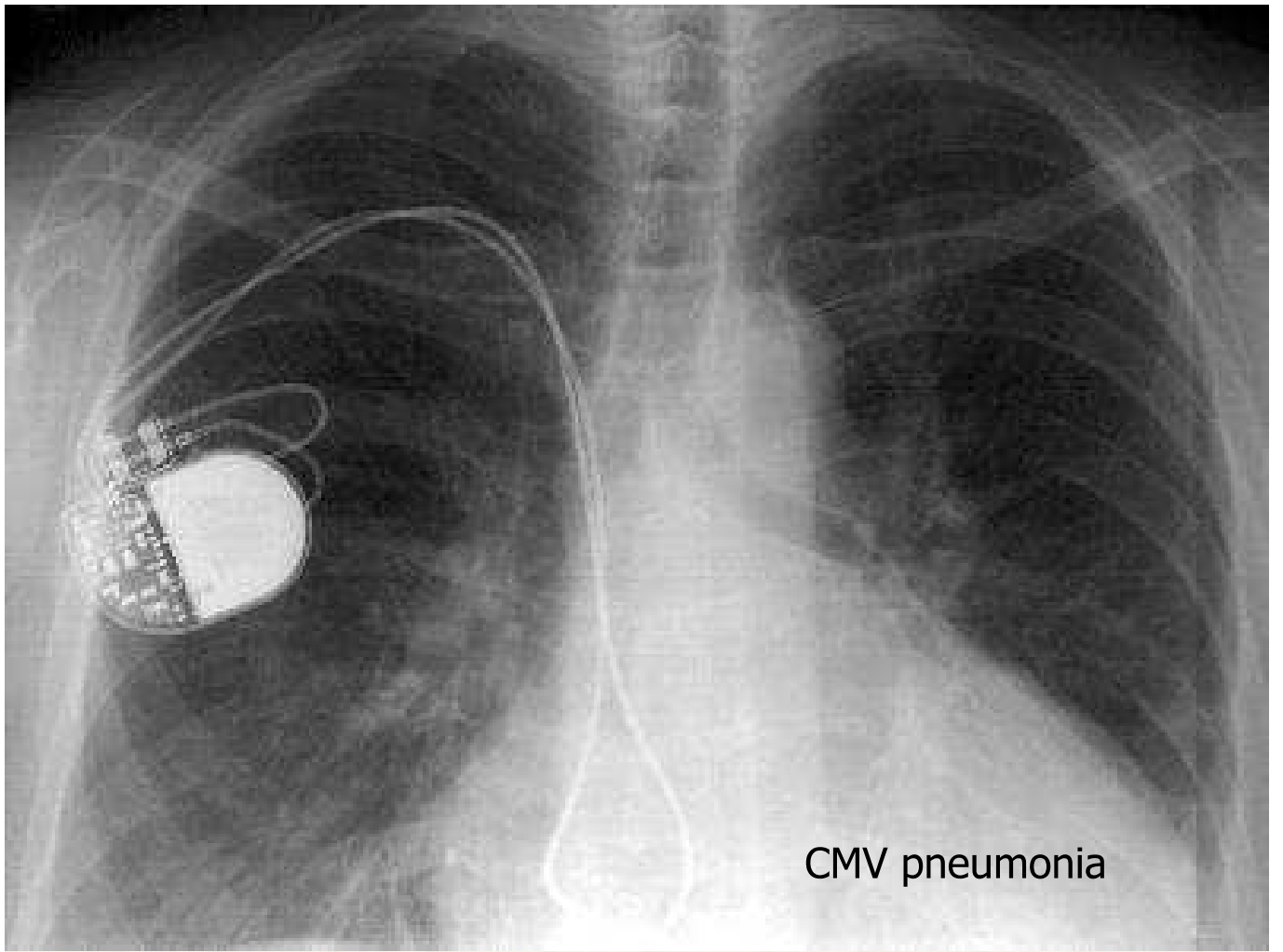
CMV intersticiális pneumonia

- Medián kezdet: 50 nap
- Az intersticiális pneumóniák fele
- Halálozás ~ 85%
- A csvt utáni halálozás vezető oka



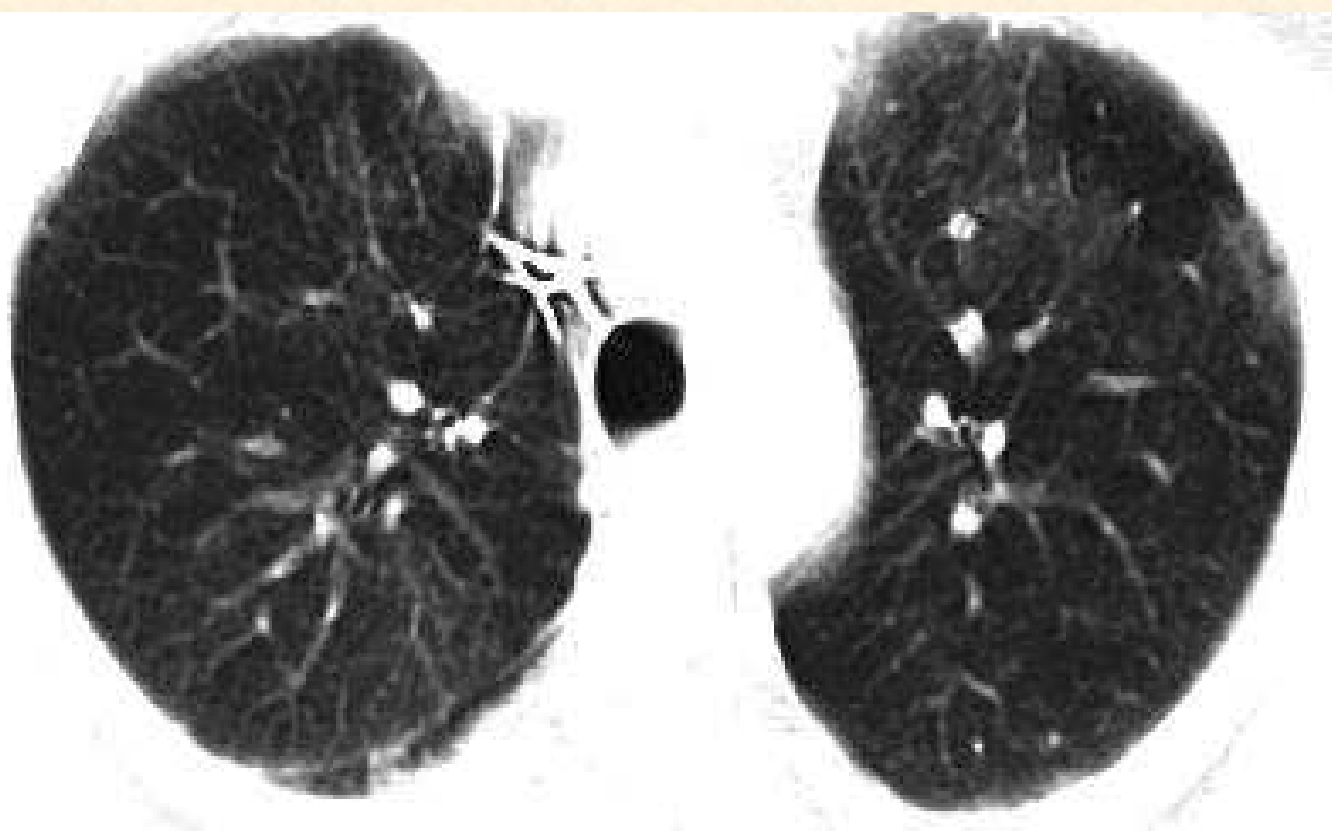
A CMV pneumonitis kezelése csontvelő-átültetés után

Terápia	Túlélés (%)
Vidarabin	2/9 (22%)
Interferon	0/8 (0%)
Acyclovir	1/8 (13%)
Ganciclovir	1/10 (10%)
CMV immunglobulin	3/14 (21%)
Vidarabin+interferon	1/7 (14%)
Acyclovir+interferon	4/21 (19%)
Acyclovir+vidarabin	0/6 (0%)
Ganciclovir+szteroid	1/16 (17%)



CMV pneumonia

CMV pneumonia (CT)



Cytomegalovírus fertőzések

- *A vírus jellegzetességei*
- *Epidemiológia*
- *Pathogenesis és klinikum*
- *Diagnosztika*

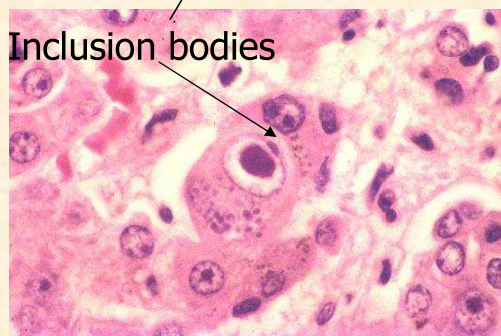
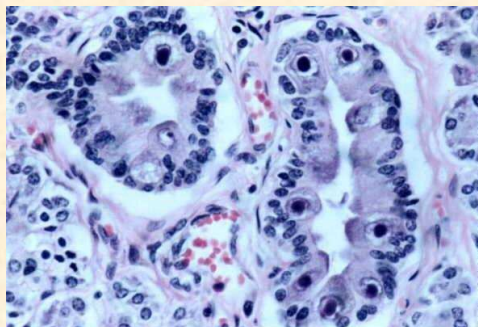
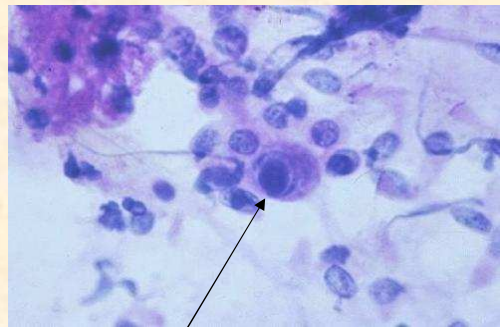
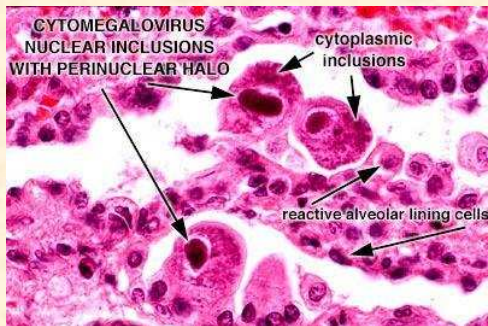
Diagnosztika

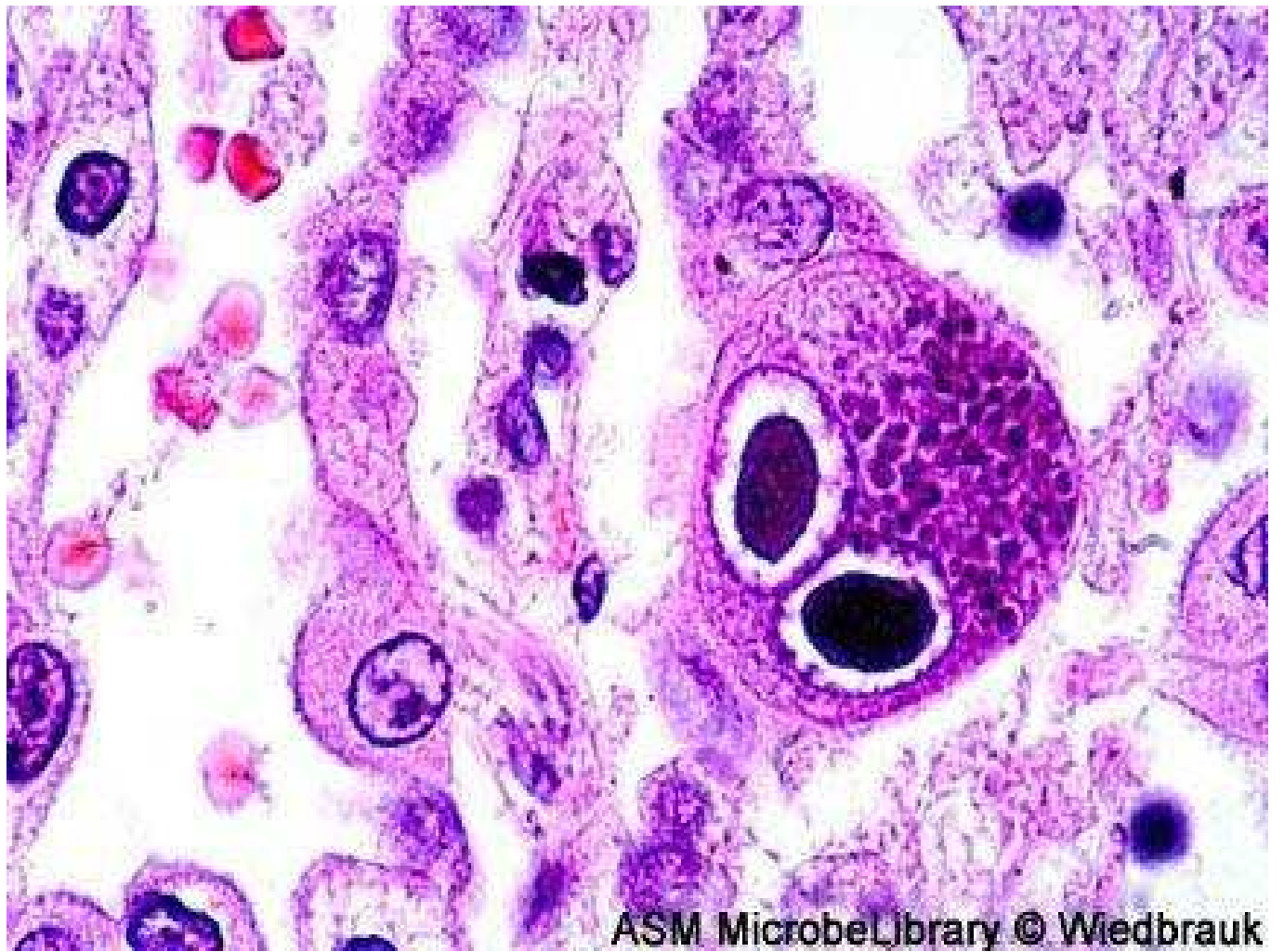
- Indirekt módszerek: antitest kimutatáson alapulnak
 - Jelentőség: szerostatus rögzítése, vér-szervdonorok szűrése
 - Módszerek: komplemenet fixáció, ELISA, immunfluoreszcencia, Latex aggl., neutralizáló antitestek stb.)

Diagnosztika

- Direkt módszerek: a vírust vagy valamely antigénjét mutatják ki
 - Szövettan, immuncitokémia, in situ hibridizáció
 - Vírusizolálás, "shell vial" kultúrák
 - DNS technikák (nukleinsav hibridizáció, PCR)
 - Antigén kimutatás (E, IE)

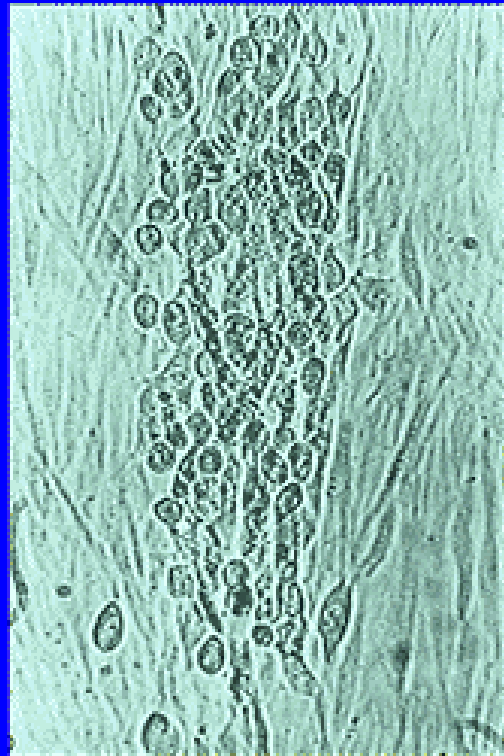
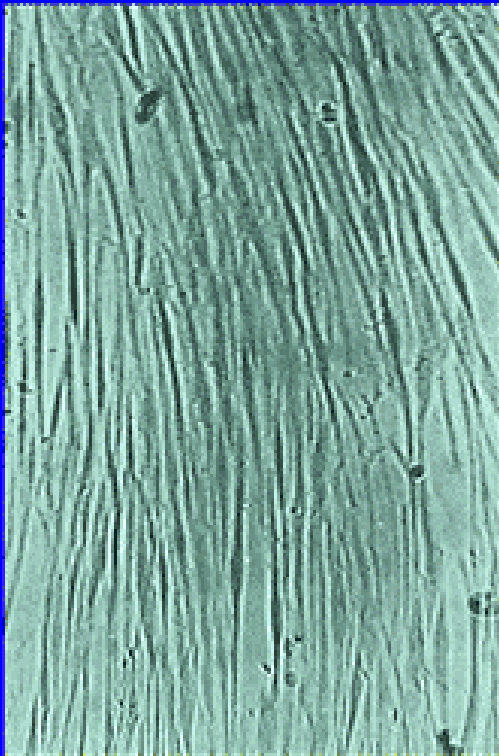
Szövettan



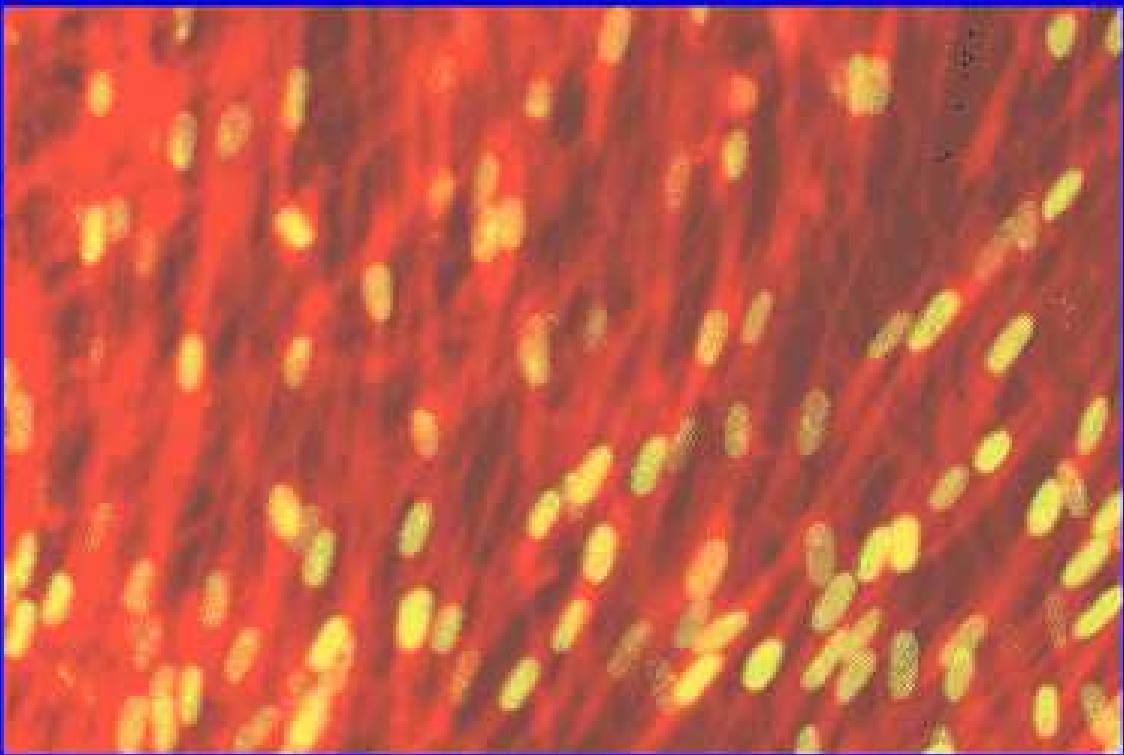


ASM MicrobeLibrary © Wiedbrauk

Hagyományos CMV sejt kultúra



CMV „shell vial” kultúra



CMV - Antigenemia (pp65)

- ◆ Isolate PMNs/count
- ◆ Prepare/fix slides
- ◆ Stain - lower matrix protein (pp65)
- ◆ Count number of positive (FITC) cells



CMV antigenaemia (pp65)

- Előny: jól korrelál a betegséggel
 - Tünetmentes állapotban, napokkal megelőzi a klinikai tüneteket
 - A terápia monitorizálható
- Hátrány: munkaigényes, vér nem tárolható

Cytomegalovírus fertőzések

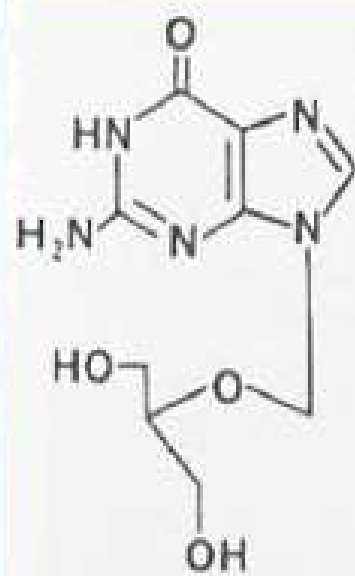
- *A vírus jellegzetességei*
- *Epidemiológia*
- *Pathogenesis és klinikum*
- *Diagnosztika*
- *Terápia*

CMV terápia

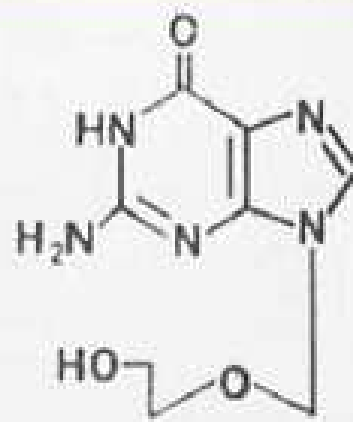
- ***Ganciclovir* (nucleosid analóg)**
 - mellékhatás: myelotoxicitás
 - rezisztens törzsek

Ganciclovir (Cymevene)

- nucleosid analóg
- hatás: vírus DNS polimeráz gátlása
- előzetes foszforilálás szükséges
- mellékhatás: myelotoxicitás
- virosztatikus (CMV, HSV-1, HSV-2, VZV, HHV-6, HHV-7, HHV-8, EBV, HBV)
 - rendszerint hosszú terápia szükséges (3-4 hét)
 - az immunszuppresszió fokozása növeli a kezelési időt
 - gyakori relapsus
 - rezisztens törzsek kialakulása (foszforilálásra képtelenek)
 - nagy vírus load
 - inadekvát adagú vagy idejű kezelés esetén
 - relapsusban
 - donor-recipiens HLA mismatch esetén



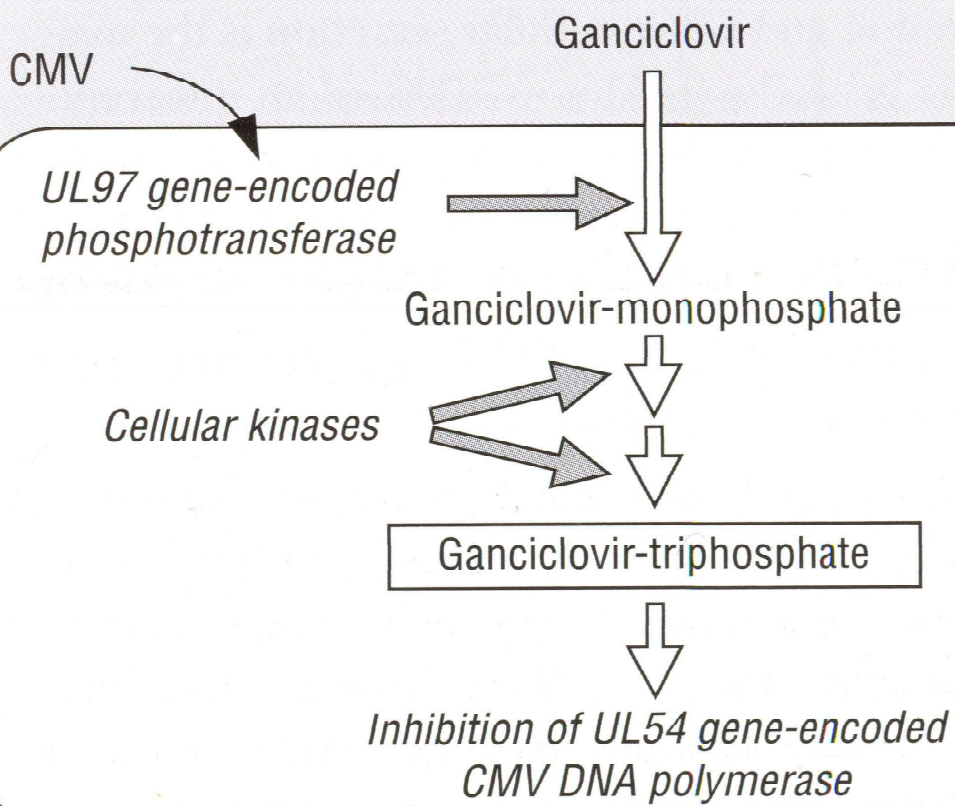
DHPG



Acyclovir

FIG. 1. Structures of DHPG and acyclovir

Mechanism of activation of ganciclovir in CMV-infected cells



Ganciclovir (Cymevene)

- nucleosid analóg
- hatás: vírus DNS polimeráz gátlása
- előzetes foszforilálás szükséges
- mellékhatás: myelotoxicitás
- virosztatikus (CMV, HSV-1, HSV-2, VZV, HHV-6, HHV-7, HHV-8, EBV, HBV)
 - rendszerint hosszú terápia szükséges (3-4 hét)
 - az immunszuppresszió fokozása növeli a kezelési időt
 - gyakori relapsus
 - rezisztens törzsek kialakulása (foszforilálásra képtelenek)
 - nagy vírus load
 - inadekvát adagú vagy idejű kezelés esetén
 - relapsusban
 - donor-recipiens HLA mismatch esetén

CMV terápia

- ***Ganciclovir* (nucleosid analóg)**
 - mellékhatás: myelotoxicitás
 - rezisztens törzsek
- ***Foscarnet* (vírus DNS polymerase inhibitor)**
 - előny: nem myelotoxikus, ganciclovir rezisztens törzsekre is hat
 - mellékhatás: vesetoxicitás

Foscarnet (foscavir)

- előny: nem myelotoxikus, ganciclovir rezisztens törzsekre is hat
- mellékhatás: vesetoxicitás, elektrolit zavarok, görcsök
- Hatás: DNS polimeráz gátlása (HIV: reverz transzkriptáz gátlása), nucleosid kötő helyek gátlása (HHV)
- Tartós kezelés → rezisztencia (6 hó:13%, 9 hó: 24%, 12 hó: 37%)
- Intravénás alkalmazás (180 mg/kg/die; fenntartó: 90 mg/kg/die)

Új terápiás lehetőségek

- Kombinált kezelés: ganciclovir + foscarnet
- Orális ganciclovir

Orális ganciclovir

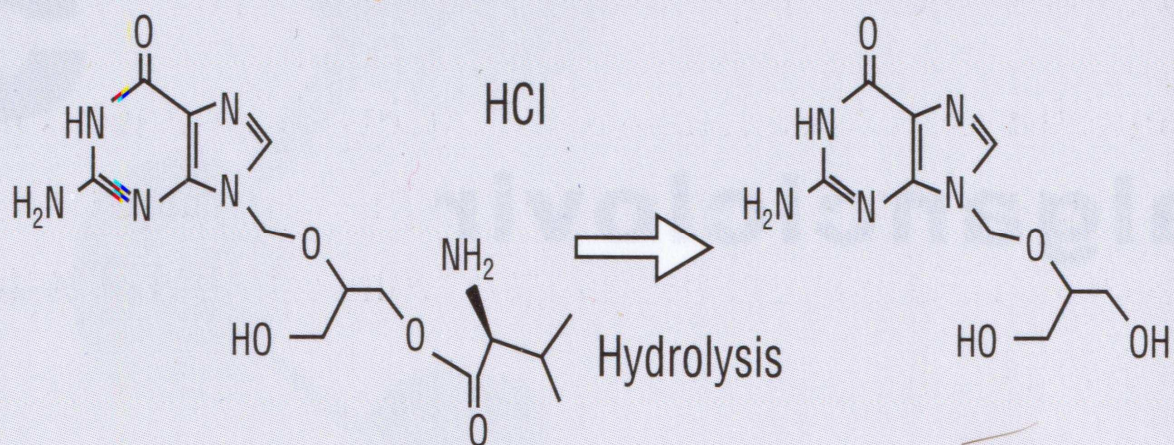
- Biohasznosulás: 6 – 9%
- Cmax: orális: 1.0 – 1.5 µg/ml
iv: 9 µg/ml
- CMV ID₅₀: 0.5 – 1.0 µg/ml
- A rezisztencia rizikója:
 - De novo 1.1%
 - Iv ganciclovir után 3.1%
 - Orális ganciclovir után 6.5%

Drew, JID, 1999; 179:1352

Új terápiás lehetőségek

- Kombinált kezelés: ganciclovir + foscarnet
- Orális ganciclovir
- Valganciclovir

Structural formulae of valganciclovir and ganciclovir



Valganciclovir

Ganciclovir

Valganciclovir (Valcyte)

- Ganciclovir l-valil észtere (prodrug)
- Jó orális biohasznosulás: 60% (10x orális ganciclovir)
- Bélben, májban ganciclovirré alakul → keringés
- Mellékhatás: fejfájás, gastrointestinális zavarok (hányinger, hasmenés), neutropenia
- Elimináció: vesén keresztül
- AUC
 - Iv ganciclovir 5 mg/kg 47,6 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$
 - Orális ganciclovir 3 g 20,2 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$
 - Valganciclovir 900 mg 42,7 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$

Valganciclovir (Valcyte)- gyógyszerkölcsonhatások

- Imipenem-cilastatin (Tienam): görcsök
- Probenecid: ganciclovir ürülés csökken
- Mycophenolat-mofetil (Cellcept): ganciclovir ürülés csökken
- Trimethoprim: fokozott myeloszuppresszió

Valganciclovir (Valcyte)- mellékhatások

- ~ ganciclovir
- Indukció: neutropenia (9%), hasmenés (6%), anaemia (6%), dermatitis (5%)
- Fenntartó: neutropenia (18%), anaemia (13%), hasmenés (11%), émelygés (8%)
- Súlyos mellékhatás: neutropenia (12.5%), anaemia (7.5%), thrombocytopenia (2%), pancytopenia (1.5%), leukopenia (1.5%), kóros májfunkció

Új terápiás lehetőségek

- Kombinált kezelés: ganciclovir + foscarnet
- Orális ganciclovir
- Valganciclovir
- Cidofovir

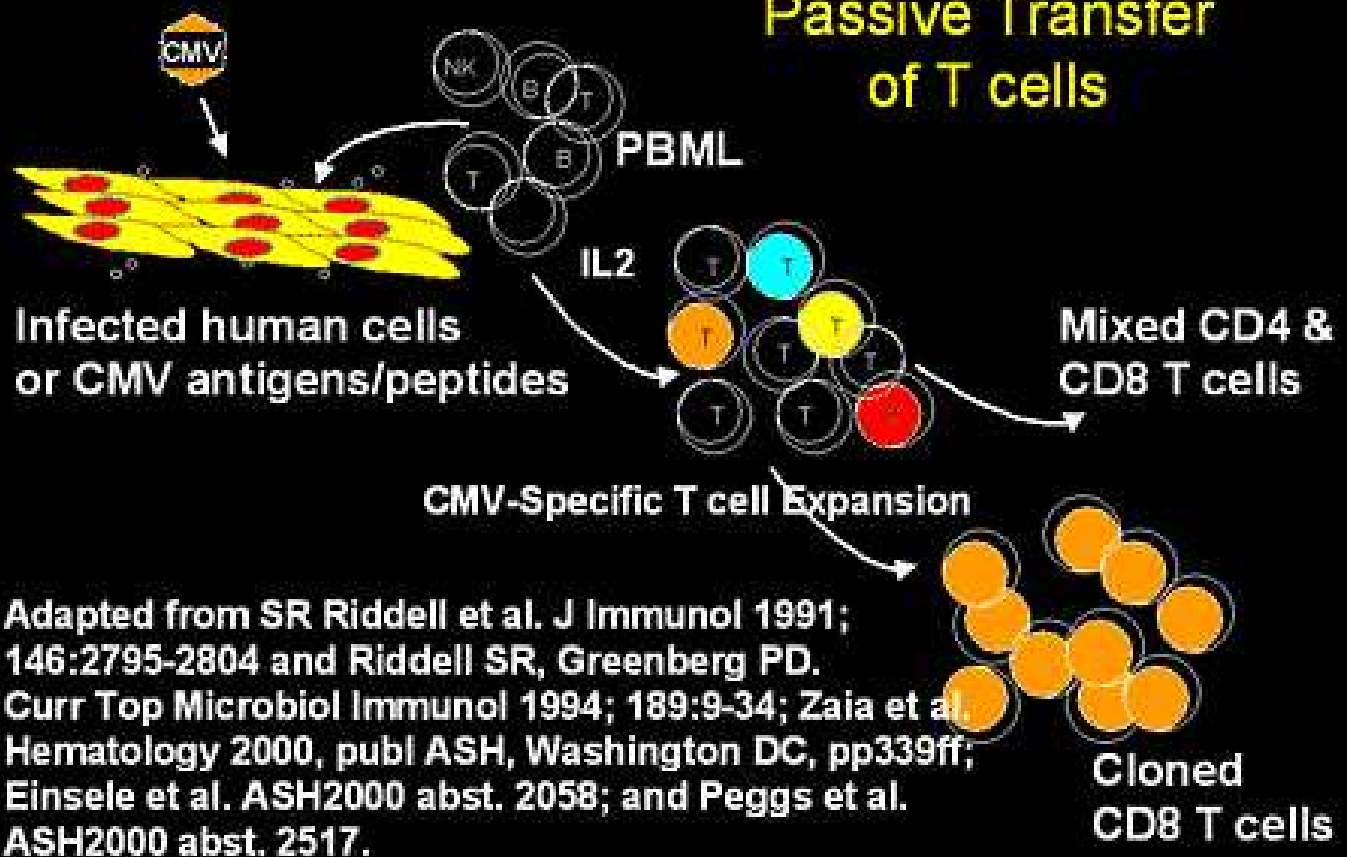
Cidofovir

- Nucleosid analóg
- Foszforilált
- Hatásmechanizmus: vírus DNS polimeráz gátlása
- Egyéb vírusok ellen is hatékony: molluscum contagiosum, adenovírus, HSV-1, HSV-2, papillomavírus
- AIDS: gyógyszer rezisztens retinitis
- Mellékhatás: nephrotoxicitás

CMV terápia

- Hyperimmunglobulin vagy magas CMV antitest titerű IVIG
 - Immunmoduláló hatás
- CMV specifikus cytotoxikus T lymphocyták

Passive Transfer of T cells



Adapted from SR Riddell et al. *J Immunol* 1991; 146:2795-2804 and Riddell SR, Greenberg PD. *Curr Top Microbiol Immunol* 1994; 189:9-34; Zaia et al. *Hematology* 2000, publ ASH, Washington DC, pp339ff; Einsele et al. ASH2000 abst. 2058; and Peggs et al. ASH2000 abst. 2517.

Cytomegalovírus fertőzések

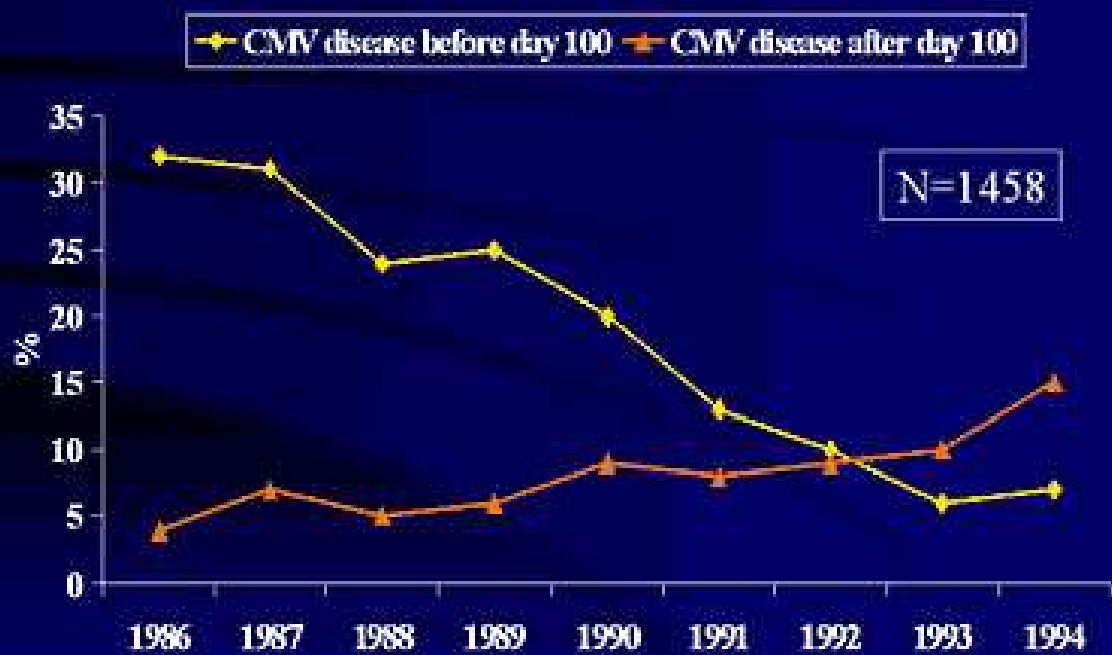
- *A vírus jellegzetességei*
- *Epidemiológia*
- *Pathogenesis és klinikum*
- *Diagnosztika*
- *Terápia*
- *Megelőzés*

Megelőzés

- 1. CMV negatív donor**
- 2. CMV negatív vérkészítmények**
- 3. Fehérvérsejt mentesített, szűrt vérkészítmények**
- 4. Profilaktikus antivirális kezelés**
- 5. Pre-emptív kezelés**
- 6. Immunprofilaxis**
 - passzív
 - aktív

CMV Disease in Seropositive Allogeneic Recipients

Changing epidemiology with pre-emptive therapy



Megelőzés

- 1. CMV negatív donor**
- 2. CMV negatív vérkészítmények**
- 3. Fehérvérsejt mentesített, szűrt vérkészítmények**
- 4. Profilaktikus antivirális kezelés**
- 5. Pre-emptív kezelés**
- 6. Immunprofilaxis**
 - passzív
 - aktív

Köszönöm a figyelmet!

