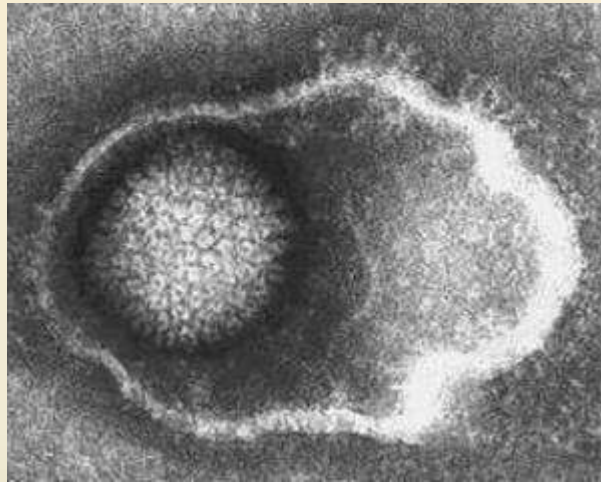


HERPESVIRUS



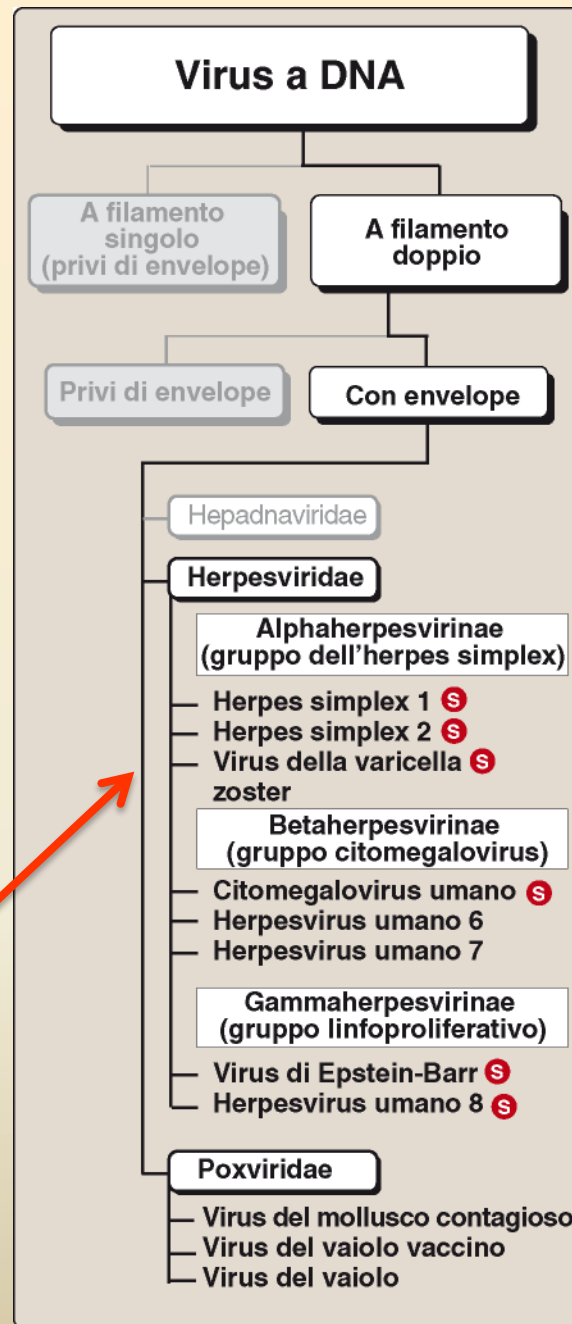
HERPESVIRUS:

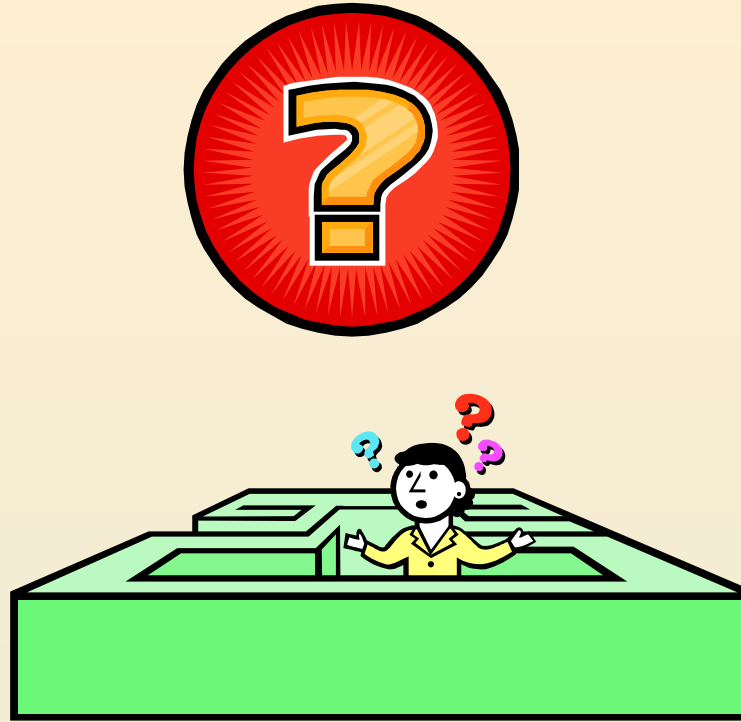
VIRUS A **dsDNA** CON **ENVELOPE**

Il nome deriva dal greco *herpein* (essere furtivo) = infezione cronica, latente, ricorrente.

Più di **100** Herpesvirus:
infettano tutti gli
organismi (da molluschi a
mammiferi).

8 Herpesvirus umani





L'**epidemiologia** degli herpesvirus ha fatto impazzire i clinici per molti anni.

Nel **1950**, Burnet and Buddingh mostrano che gli herpesvirus possono diventare **latenti** dopo l'infezione primaria, per poi riattivarsi a seguito di uno stimolo successivo.

Weller (**1954**) isola il VZV dalla varicella e dallo zoster, dimostrando che sono causate dallo stesso agente (concetto di ricorrenza).

Gli Herpesviruses sono tipicamente suddivisi in **3 sottofamiglie**, sulla base del **tropismo** tissutale, della **patogenicità** e del **comportamento** in coltura sperimentale.

Uno stesso ospite può essere infettato da molti sottotipi distinti.

HERPESVIRIDAE	α -Herpesvirinae	<i>Simplexvirus</i>	Human herpesvirus 1 (HSV-1, -2)
		<i>Varicellovirus</i>	Human herpesvirus 3 (VZV)
		<i>Mardivirus</i>	<i>Gallid herpesvirus 2</i>
		<i>Ictalurivirus</i>	<i>Ictalurid herpesvirus 1</i>
		<i>Iltovirus</i>	<i>Gallid herpesvirus 1</i>
	β -Herpesvirinae	<i>Cytomegalovirus</i>	Human herpesvirus 5 (HCMV)
		<i>Roseolovirus</i>	Human herpesvirus 6 (HHV-6, -7)
		<i>Muromegalovirus</i>	<i>Murine herpesvirus 1</i>
	γ -Herpesvirinae	<i>Lymphocryptovirus</i>	Human herpesvirus 4 (EBV)
		<i>Rhadinovirus</i>	Human herpesvirus 8 (HHV-8)

ALFA-HERPESVIRUS

- Spettro d'ospite **più ampio** fra tutti i membri della famiglia.
- Ciclo riproduttivo piuttosto **breve**.
- In vitro si propagano facilmente in **molti tipi** cellulari.
- Nell'ospite naturale infezione **LITICA** soprattutto in cellule **epiteliali** (epidermide e mucosa), infezione **LATENTE** in cellule **neuronali** (neurotropismo alfa).
- Portano alla completa distruzione delle cellule infettate (citolisi).

Nell'uomo includono:

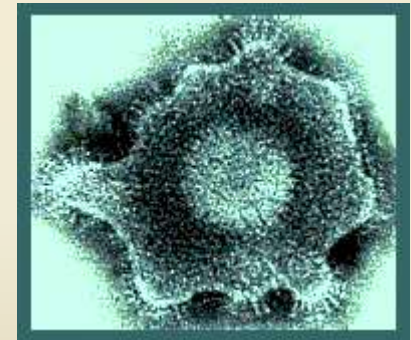
Herpes simplex virus (HSV-1 e HSV-2)

Virus Varicella Zoster (VZV)

Negli animali:

Herpesvirus bovini (BoHV-1 e BOHV-2)

Herpesvirus equini (EHV-1 e EHV-4)



BETA-HERPESVIRUS

- Spettro d'ospite più **ristretto**.
- Ciclo riproduttivo più **lento**.
- In vitro l'infezione progredisce lentamente e le cellule assumono un aspetto rigonfio (**citomegalia**).
- Nell'ospite naturale infettano le **cellule linfoidi**, e sono latenti nelle ghiandole secretorie, nelle cellule linforeticolari, nel fegato e altri tessuti.
- NO neurotropismo.

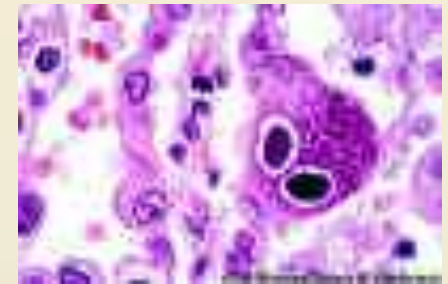
Nell'uomo includono:

Citomegalovirus umano (HCMV)

Roseolovirus {
Herpesvirus umano tipo 6 (HHV-6)
Herpesvirus umano tipo 7 (HHV-7)

In altri animali:

Citomegalovirus murino (MCMV)



GAMMA-HERPESVIRUS

- Spettro d'ospite **molto ristretto**: infettano solo famiglia o ordine a cui appartiene l'ospite naturale.
- Ciclo riproduttivo **lento**.
- In vitro possono provocare infezione litica in alcuni tipi di cellule epiteliali e fibroblastiche.
- In vivo sono specifici per **linfociti** B e T, in cui stabiliscono un'infezione per lo più latente.
- NO neurotropismo.

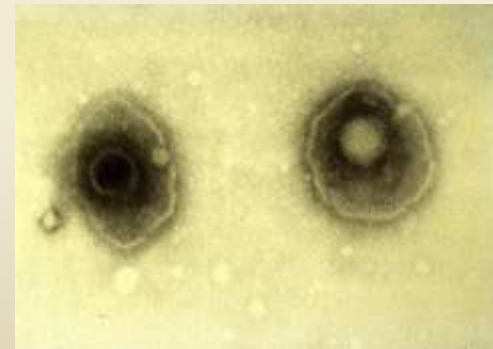
Nell'uomo includono:

Virus Epstein Barr (EBV)

Herpesvirus umano tipo 8 (HHV-8)

In altri animali:

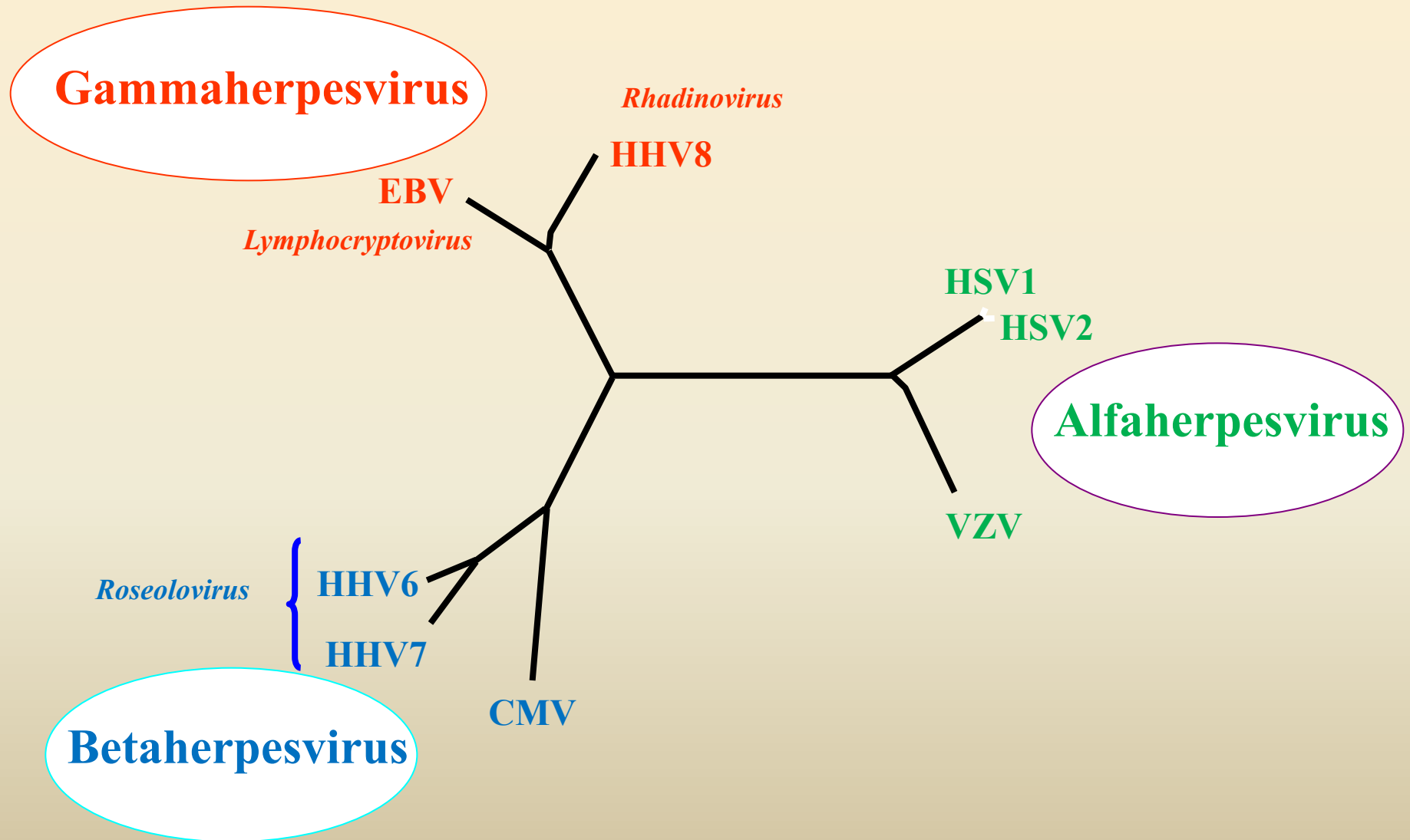
Virus linfotropici suini (PLHV)



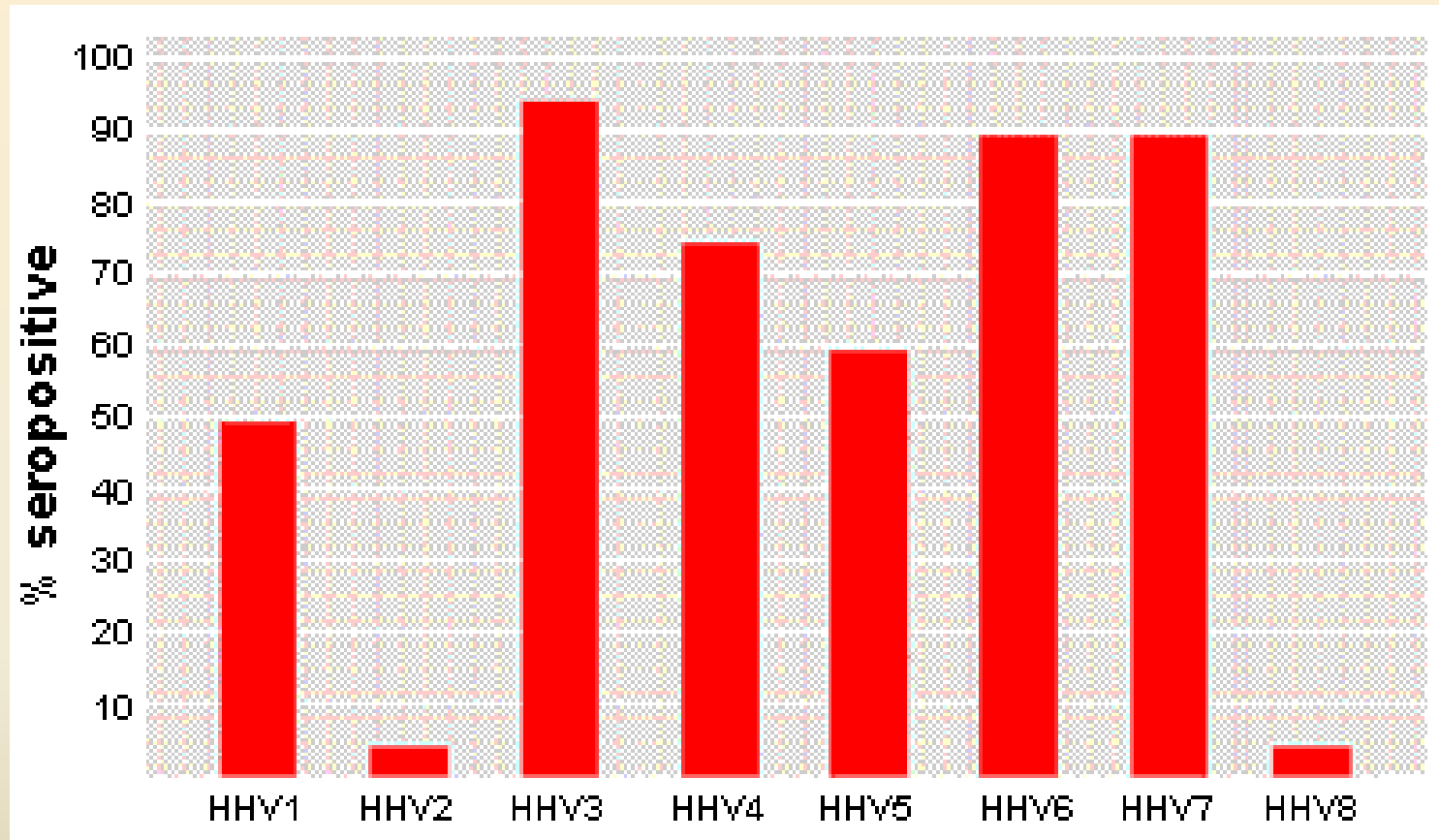
HERPESVIRUS UMANI

Virus	Sito di latenza	Malattia	Sotto fam
HHV-1, Herpes simplex 1(HSV-1)	Gangli sensori (testa, collo)	Gengivostomatite, herpes labiale, cheratocongiuntivite, encefalite	α
HHV-2, Herpes simplex 2 (HSV-2)	Gangli sensori (lombosacrali)	Herpes genitale, infezione neonatale	α
HHV-3, Varicella Zoster (VZV)	Gangli sensori (tronco)	Varicella (primaria) Zoster (riattivazione)	α
HHV-4, Virus Epstein-Barr (EBV)	Linfociti B	Mononucleosi infettiva. Oncogeno (linfoma di Burkitt, malattia di Hodgkin, carcinoma nasofaringeo)	γ
HHV-5, Citomegalovirus (CMV)	Gh. salivari, rene, ed altri siti	Mononucleosi post-trasfusionale, malattia citomegalica congenita, retinite, polmonite, rigetto d'organo	β
HHV-6	Monociti, macrofagi, linfociti T	Sesta malattia, cofattore in AIDS?, rigetto d'organo?	β
HHV-7	Linfociti T	Sindromi febbrili infantili	β
HHV-8, (KSHV)	Linfociti. Endotelio	Sarcoma di Kaposi, e rare forme di linfoma (PEL, malattia di Castleman)	γ

Albero Filogenetico degli herpesvirus umani



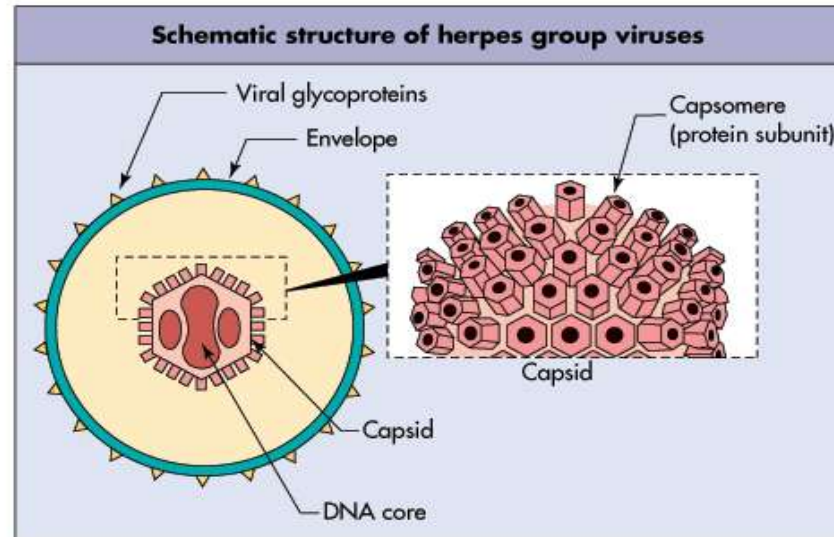
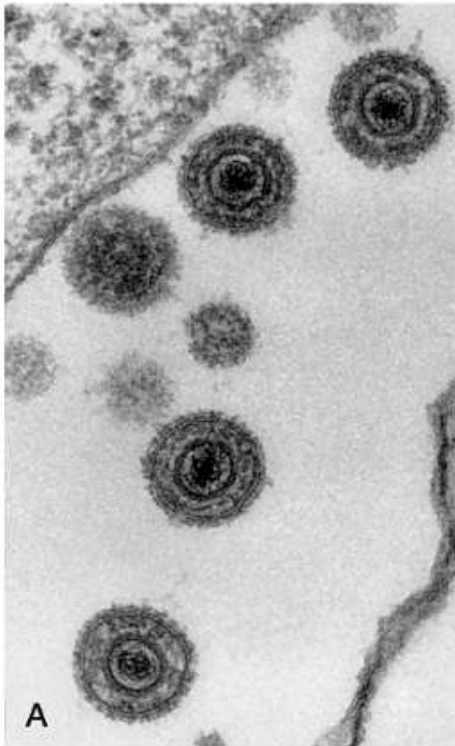
Sieroprevalenza Herpesvirus umani



Sono tutti ubiquitari, eccetto HSV-2 e HHV-8.

HERPESVIRUS: MORFOLOGIA

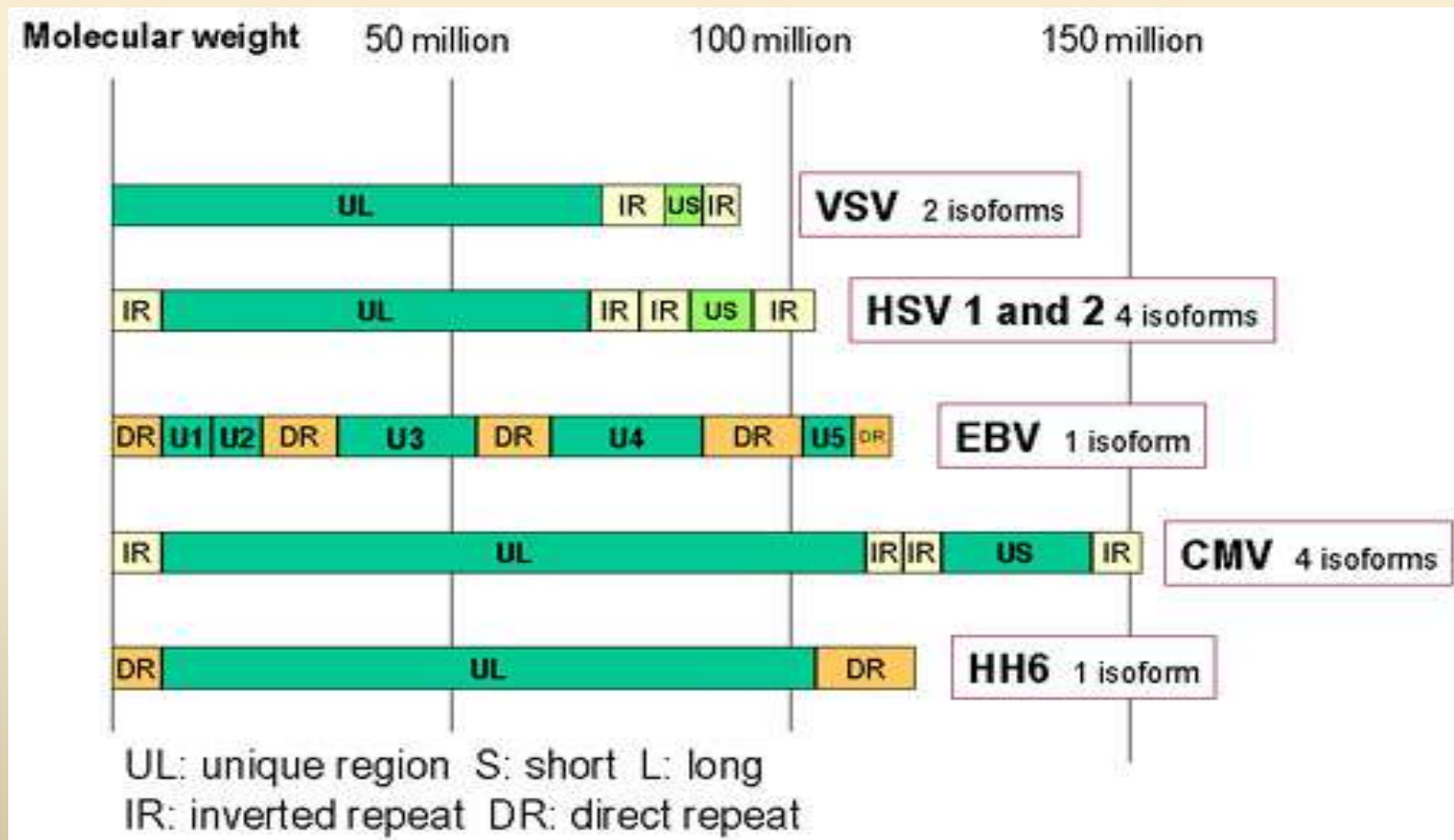
- virione di circa 200 nm di diametro
- capside ICOSAEDRICO
- CORE (materiale elettrondenso racchiuso nel capside: proteine complessate al DNA)
- PERICAPSIDE di derivazione cellulare con almeno 11 glicoproteine codificate dal genoma virale
- genoma: dsDNA lineare



B

STRUTTURA GENOMA HERPESVIRUS

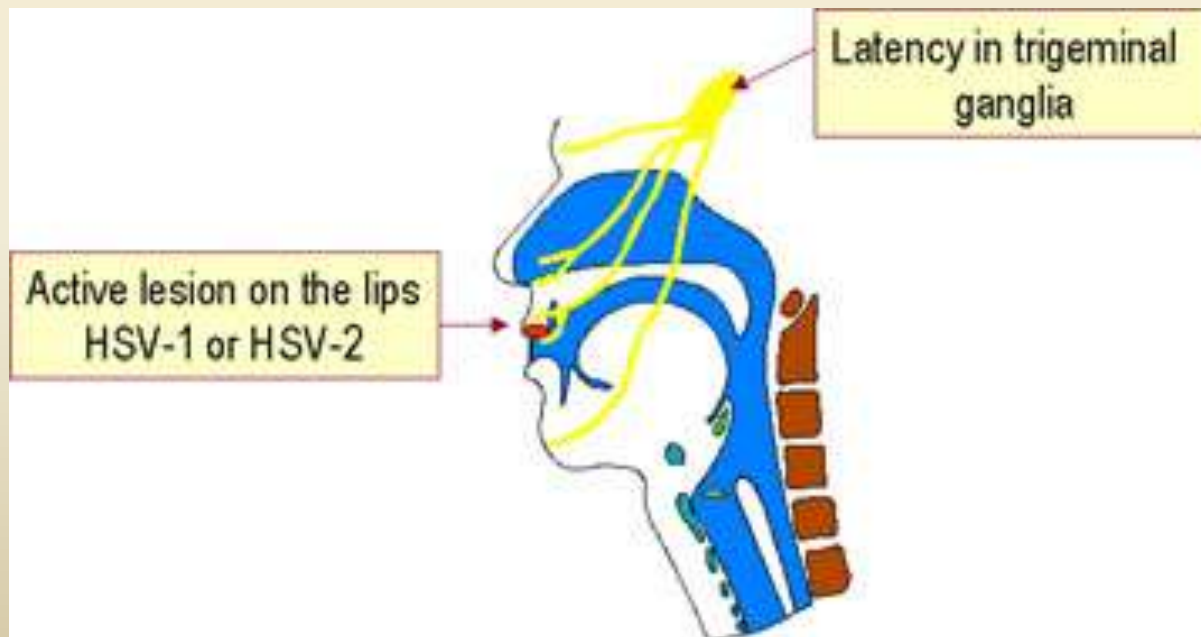
- DNA lineare, doppia elica, circa 150-200 kbp
- Regioni uniche (UL, US) fiancheggiate da regioni ripetute (IR, DR)
- Codifica fino a 100 geni, tra cui enzimi coinvolti nel metabolismo degli acidi nucleici (TK), nella sintesi del DNA (DNA pol) e nella modificazione di proteine (PK, ecc): bersagli per farmaci.

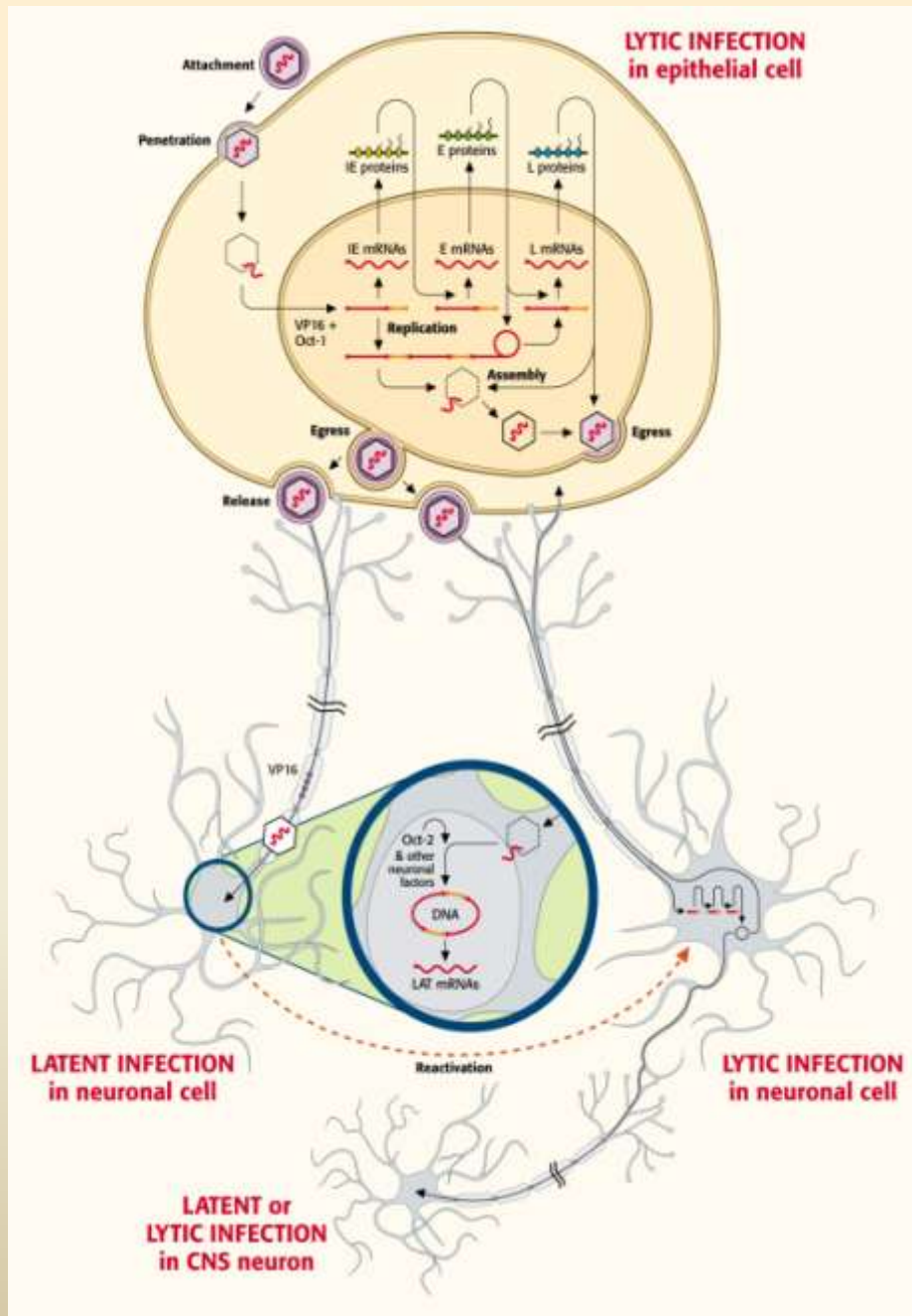


BIOLOGIA HERPESVIRUS

Caratteristica Biologica: LATENZA

Dopo la risoluzione dell'infezione primaria, il virus permane nell'organismo in cellule specifiche senza replicarsi ed esprimendo solo pochissimi geni virali (LAT). In risposta a stimoli di varia natura (stress, immunodepressione, ecc.) il virus si può riattivare, ricominciare a replicarsi e causare una nuova infezione acuta (infezione ricorrente) per poi tornare in latenza.





**Ciclo HSV
litico**



latente

Ciclo virale LITICO

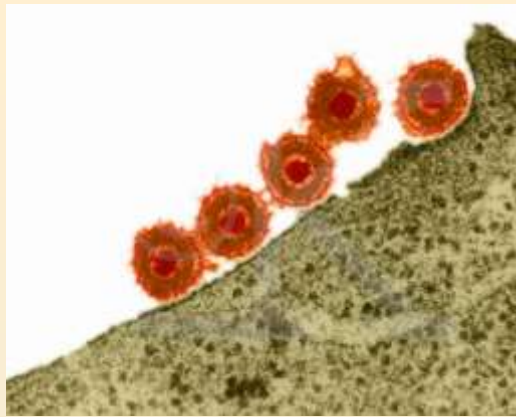
- 1. ADSORBIMENTO: processo di attacco recettore-mediato**
- 2. PENETRAZIONE: entrata mediante endocitosi recettore-mediata**
- 3. SPOLIAZIONE**
- 4. SINTESI MACROMOLECOLARE: mRNA, proteine, replicazione DNA virale.**
- 5. ASSEMBLAGGIO**
- 6. RILASCIO virioni**

Ciclo replicativo litico (Es: Herpes Simplex)

- Ingresso per **endocitosi** o **fusione** dell'envelope, rilascio del capsido nel citoplasma
- **Uncoating** del DNA virale al nucleo
- **Trascrizione** dell'mRNA virale ad opera della RNA pol cellulare

	Nome	Classe	Funzione	Sintesi massima
Tre classi di geni e proteine	Alfa	precocissime	Transattivanti → trascrizione altri geni	2-4 ore p.i.
	Beta	precoci	Replicazione DNA Virale	5-8 ore p.i.
	Gamma	tardive	proteine strutturali	9 ore p.i. → Lisi

- Dopo la trascrizione dei geni BETA viene replicato il DNA virale, dalla DNA pol virale.
- Sintesi proteine tardive (GAMMA, strutturali) dopo la replicazione DNA
- Assemblaggio dei capsidi nel nucleo
- I virioni acquisiscono l'involuppo per gemmazione attraverso le membrane cellulari

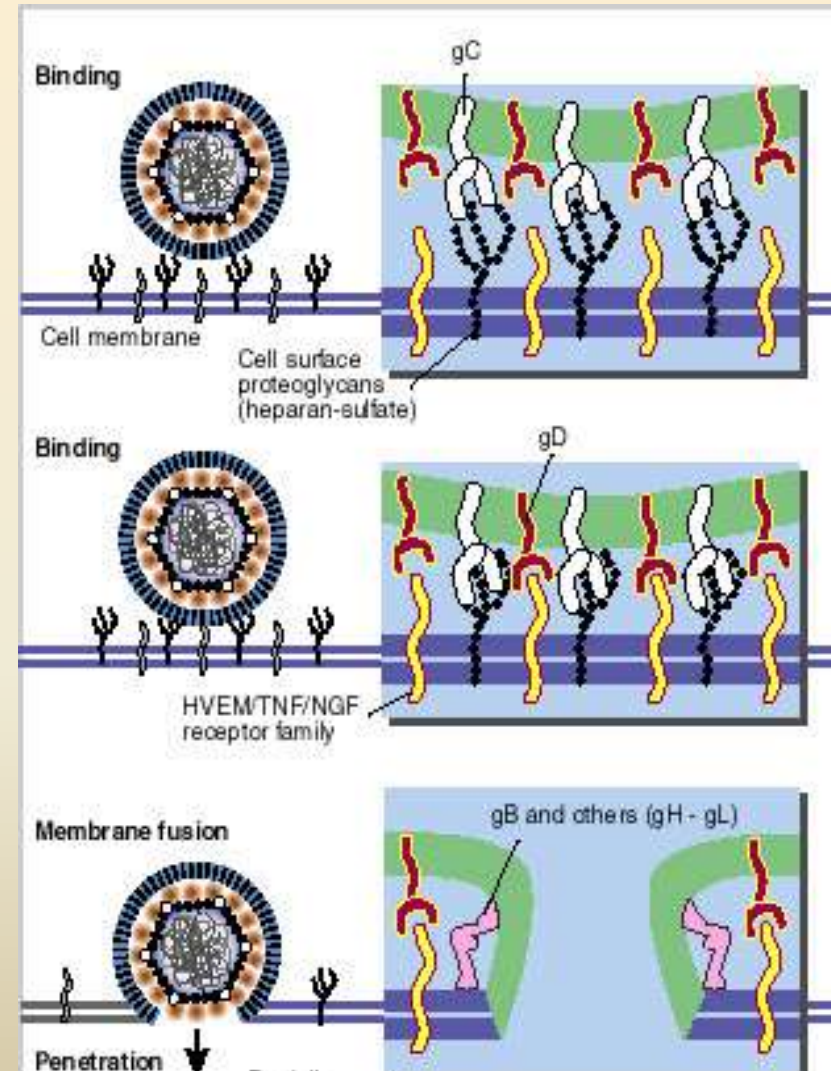


Adsorbimento e Penetrazione

Fase mediata dalle glicoproteine envelope **gB**, **gC**, **gD**, **gH**, **gL**.

- 1) interazione **gB** o **gC** con eparan-solfati
- 2) **gD** è il vero antirecettore che si lega ai R cellulari (HVEM=Herpesvirus Entry Mediator; TNF-R; nectina-1 e nectina-2=molecole adesione, superfamiglia Ig). Tutte molecole ubiquitarie: ampio tropismo cellulare.
- 3) cooperazione **gB**, **gH**, **gL**: inizio **FUSIONE**.

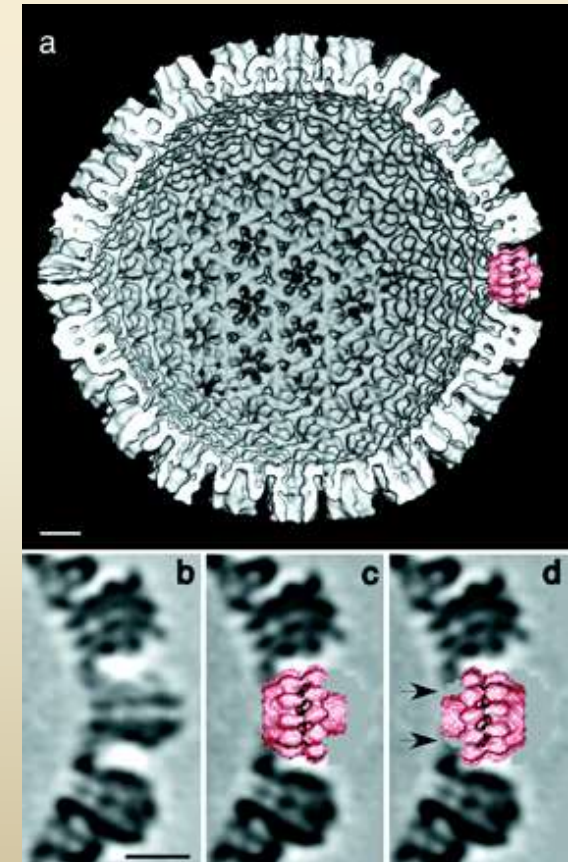
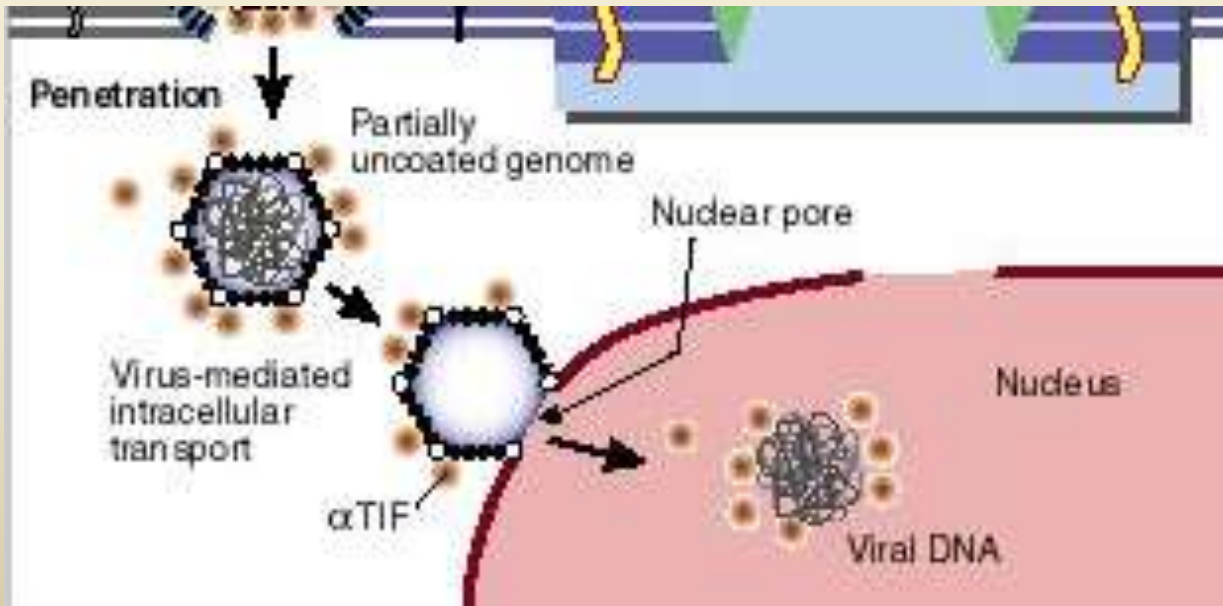
Altre gp di superficie hanno altre fz: gC, gE e gI proteggono il virione extracellulare: gC lega C3 e ostacola azione complemento; gE e gI legano Fc delle Ig, nascondendo il virione al S.I.



Spoliazione

La fusione dell'envelope con la membrana plasmatica della cellula ospite provoca l'internalizzazione del nucleocapside, che è trasportato al nucleo lungo il citoscheletro. Qui, una volta attaccato al **poro nucleare**, il capsid introduce il DNA mediante un "**portale**" capsidico, formato da 12 copie della proteina del portale **UL6**, organizzate come un anello, grazie alla presenza di un domain **LEUCINE ZIPPER** che consente di aderire una all'altra. Ogni capsid contiene un singolo portale, localizzato ad un vertice.

(Trus BL, *J. Virol* 2004; Nellissery JK, *J. Virol.* 2007)

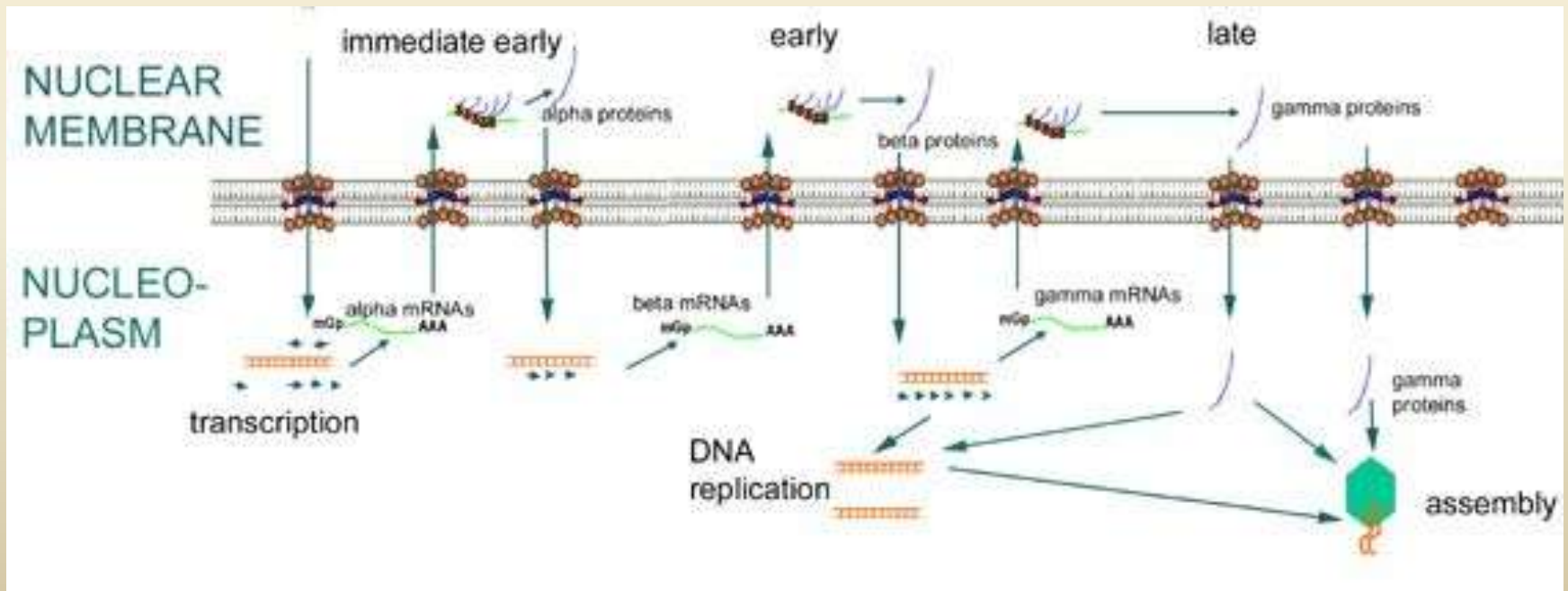


Sintesi macromolecolare

Gli herpesvirus producono le proteine usando **enzimi dell'ospite**, mentre replicano il DNA usando **enzimi virali**.

La sintesi proteica avviene nel CITOPLASMA, ed è temporalmente regolata con un meccanismo a “**cascata**”: trascrizione *immediate early* (α , precocissimi), *early* (β , precoci) e *late* (γ , tardivi), a cui corrispondono le relative proteine, classificate a seconda del periodo in cui vengono sintetizzate.

Le proteine si spostano al nucleo dove formeranno le nuove particelle virali (virioni) complessandosi con il DNA virale



Regolazione sintesi e funzione proteine

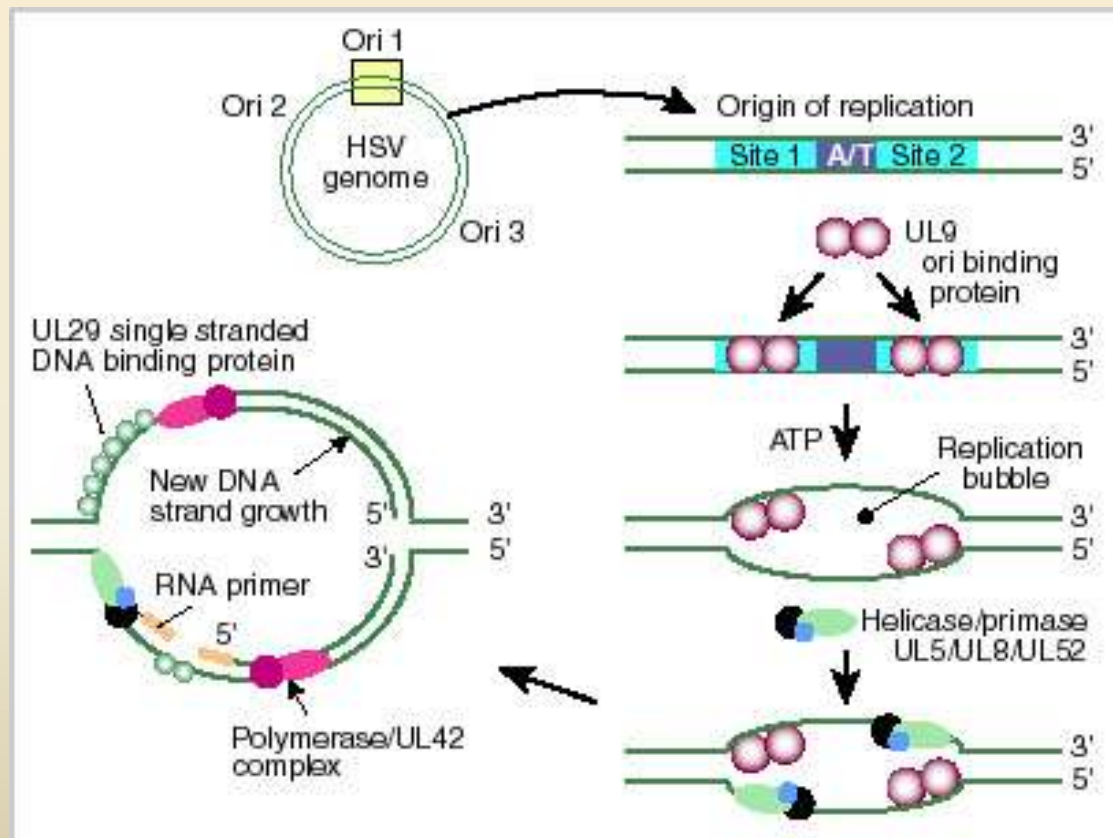
All'entrata del virus, il genoma virale è accompagnato dalla proteina **α -TIF** (**TEGUMENTO**) che promuove la trascrizione immediate-early attraverso fattori trascrizionali cellulari.

Altrettanto importante è la proteina **UL41** (**VHS**, **tegumento**), di **shut-off**, che invece resta nel citoplasma, dove inibisce la sintesi proteica dell'ospite, degradando gli mRNA dell'ospite, e favorendo la replicazione virale e l'espressione genica delle proteine virali.

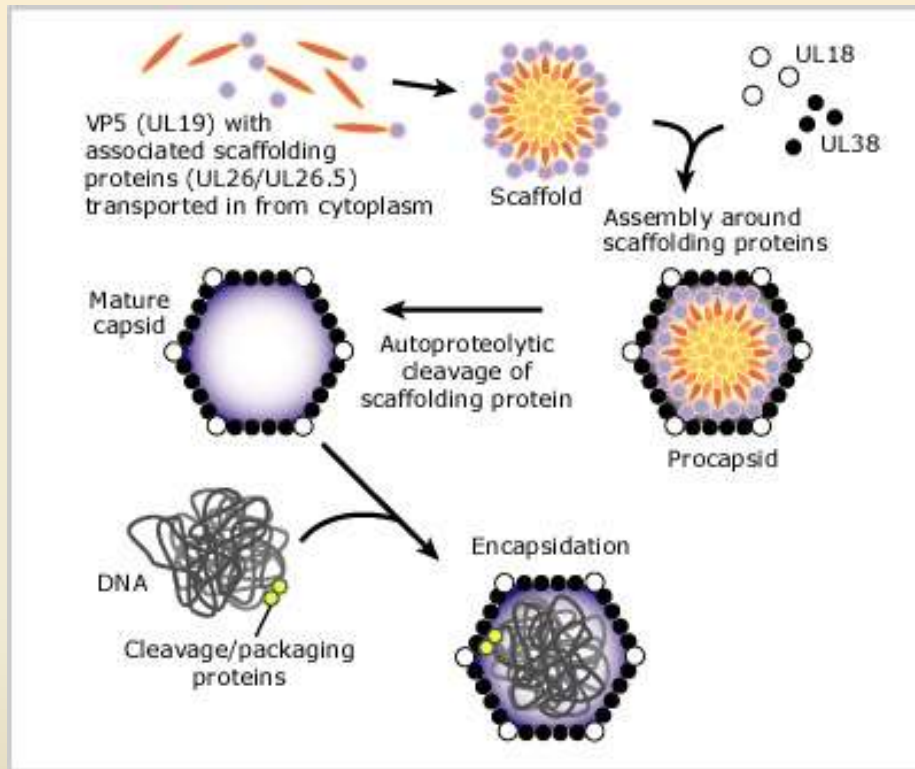
Le proteine precocissime sono fattori di regolazione che innescano la sintesi delle proteine precoci, le quali servono per la replicazione genica del virus. Le proteine late vanno a costituire il capsido e le glicoproteine dell'envelope.

REPLICAZIONE DNA: a "rolling circle"

La replicazione del DNA virale avviene dopo la sintesi delle proteine necessarie (**EARLY, Beta**), nel nucleo, con un meccanismo detto a "**rolling circle**", partendo dall'origine di replicazione.



Assemblaggio



Le particelle virali vengono assemblate nel **NUCLEO**.

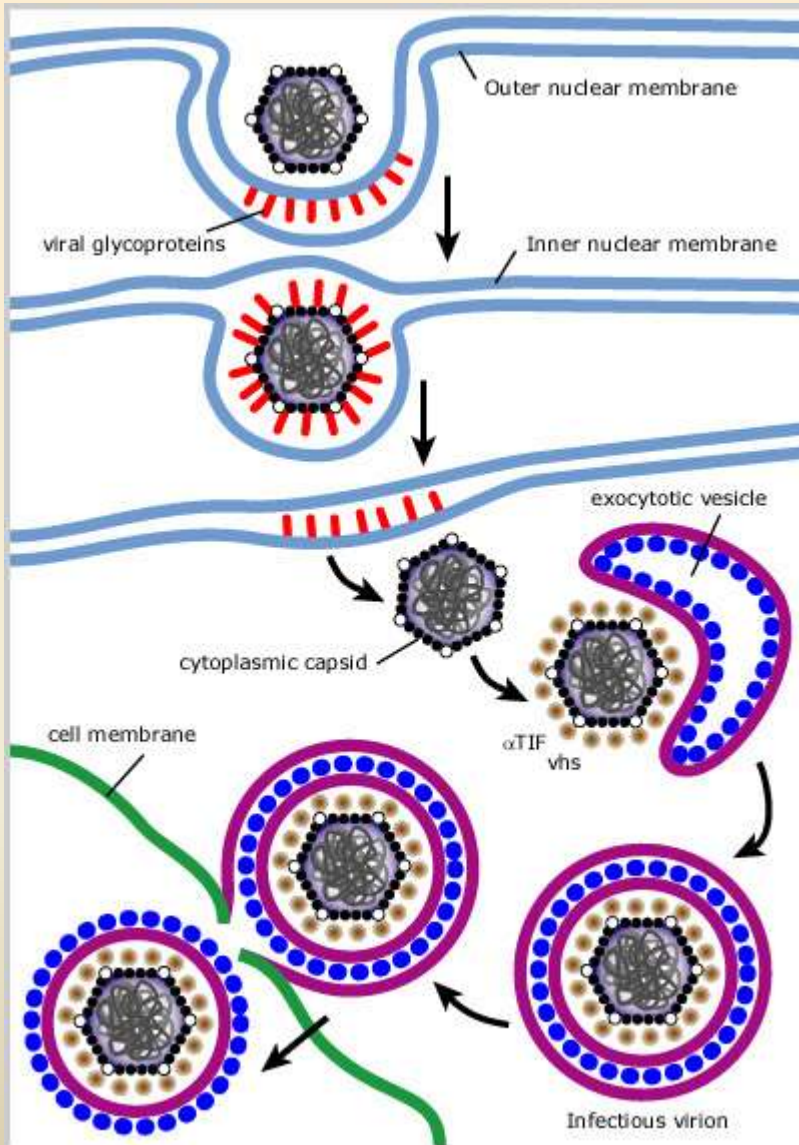
Le proteine neosintetizzate si organizzano in **CAPSIDI**.

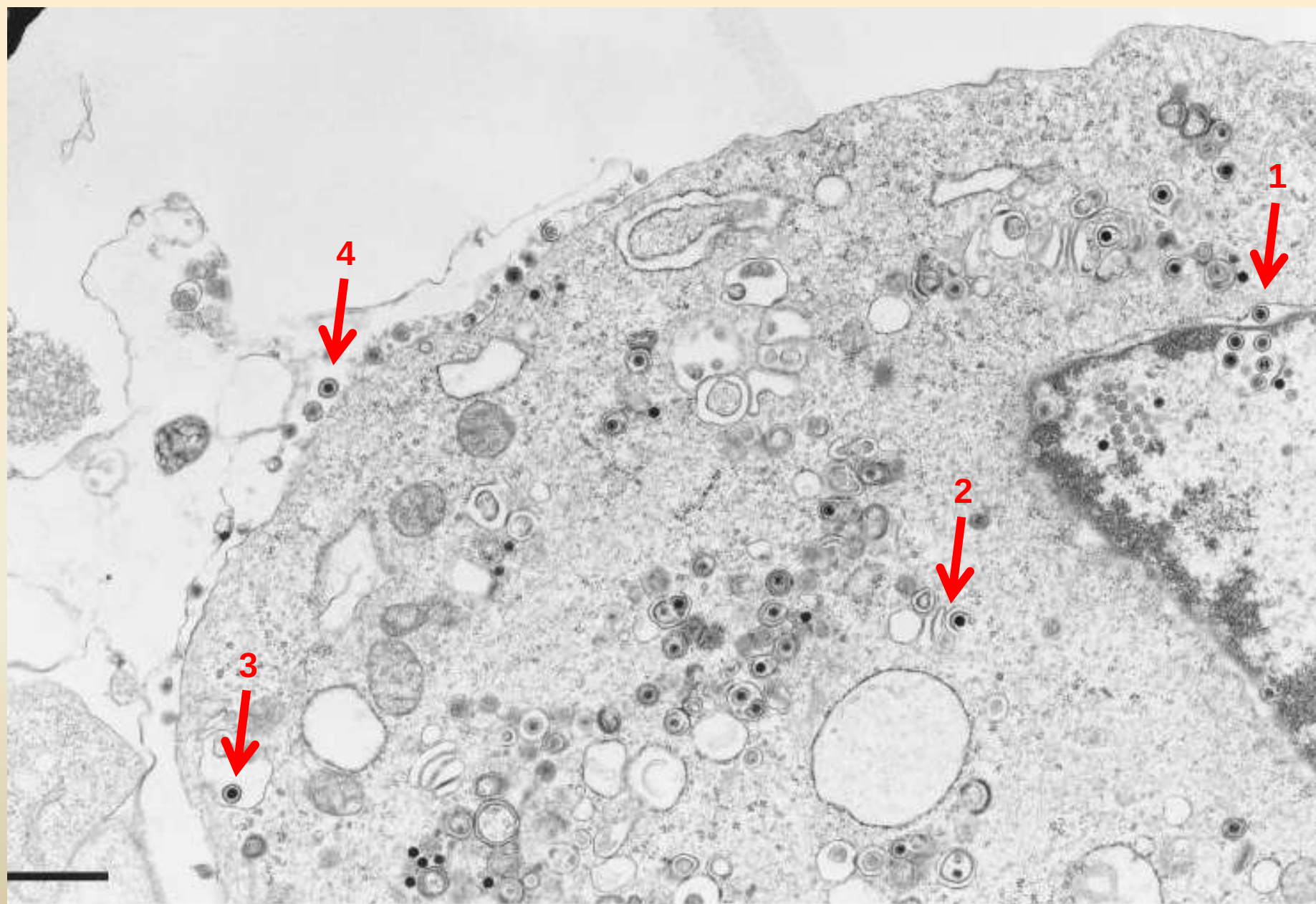
I concatameri di DNA neoformato sono tagliati nei singoli genomi e posti nei capsidi preformati.

Maturazione e Rilascio

I nuovi virioni **assumono l'envelope** attraverso 2 successivi processi:

- 1) l'**envelope primario** è acquisito mediante gemmazione nella membrana nucleare interna (non ci sono glicoproteine). Questo poi fonde con la membrana nucleare esterna rilasciando un nucleocapside nudo nel citoplasma.
- 2) Il virus infine acquisisce il suo **envelope finale** gemmando nelle vescicole citoplasmatiche (con glicoproteine), e infine uscendo attraverso la membrana plasmatica.





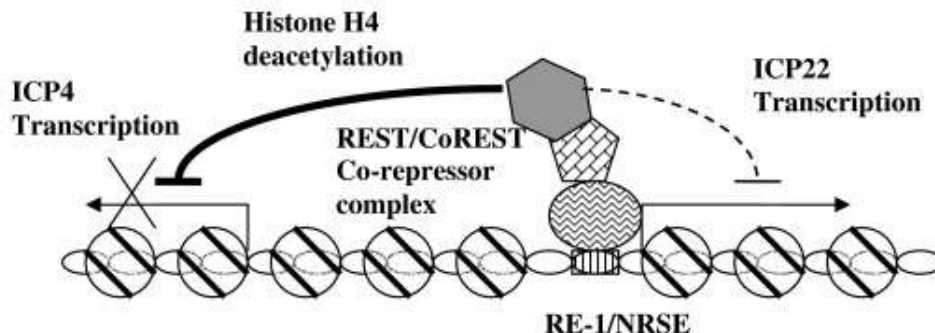
Infezione LATENTE

Nelle cellule neuronali, HSV dà infezioni latenti, in cui il genoma esprime solo i geni LAT).

Il gene **ICP4** codifica un importante transattivatore dei geni associati alla infezione litica-produttiva. Nei neuroni, ad **ICP4 si legano proteine** (**NRSF**, Neuronal Restrictive Silencing Factor e **REST**, Repressor Element Silencing Transcription Factor), che provocano la ipoacetilazione del promotore di ICP4 (mediante azione delle HDAC), il che reprime la trascrizione di questo gene e pertanto anche la trascrizione degli altri geni litici.

La proteina **ICP0** può causare la **dissociazione di NRSF dal gene ICP4**, sbloccando il silenziamento del DNA virale.

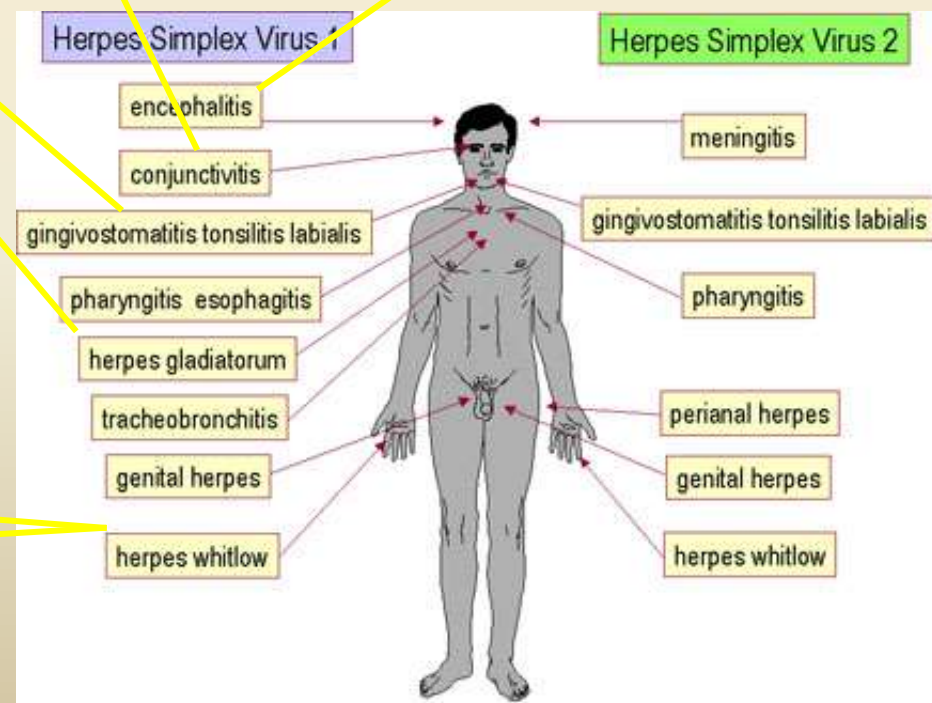
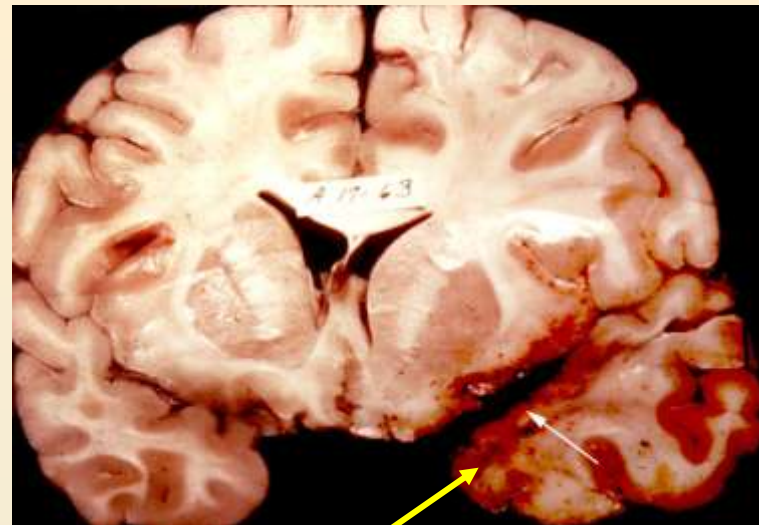
Il virus può quindi essere riattivato dalla latenza mediante stress che sbloccano il silenziamento del DNA virale: malattie come raffreddore, influenza, eczema, o stress emozionali e fisici, esposizione ai raggi UV, affaticamento, traumi, ecc



(Pinnoji et al. Virology Journal 2007)

α HERPESVIRUS

- **HHV-1: Herpes simplex tipo 1**
- **HHV-2: Herpes simplex tipo 2**
- **HHV-3: Varicella-Zoster**



RIQUADRO 51-2. Meccanismi della malattia di HSV

La malattia avviene per contatto diretto e dipende dal tessuto infettato (ad esempio, orale, genitale, cervello).

Il virus produce citopatologia diretta.

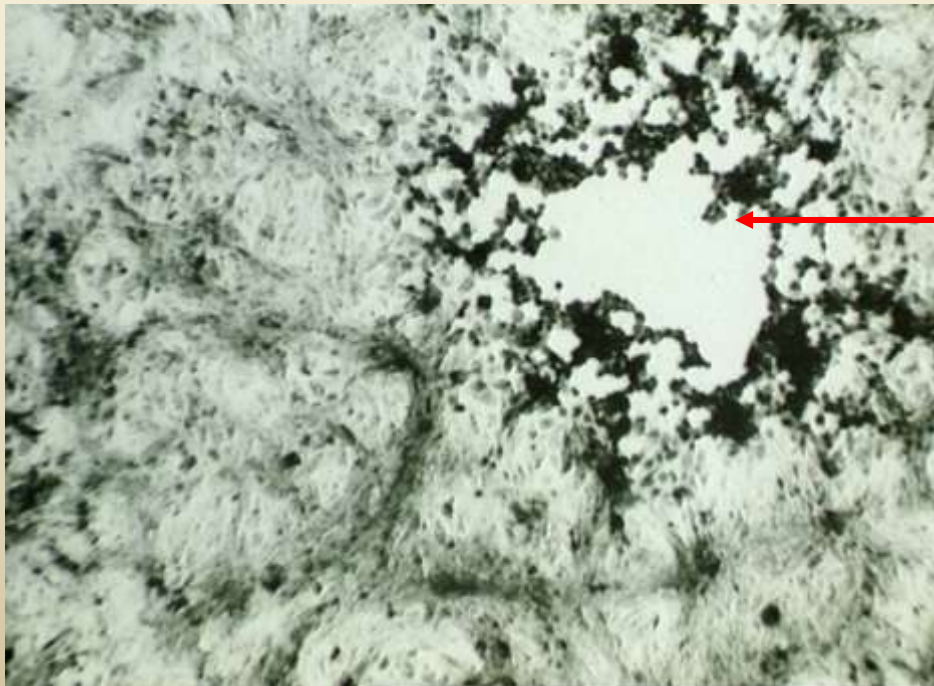
Il virus evita gli anticorpi per trasmissione da cellula a cellula mediante sincizi.

Il virus stabilisce la latenza nei neuroni (protetto dalla risposta immunitaria).

Il virus si riattiva dalla latenza secondariamente a stress o soppressione immunitaria.

L'immunità cellulo-mediata è *necessaria* per la risoluzione con un ruolo limitato degli anticorpi.

L'immunopatologia cellulo-mediata contribuisce ai sintomi.



Placca citolisi

HSV-1

In genere causa infezioni **orali**, ma può infettare anche il tratto genitale.

Trasmissione: contatto (fluido delle vescicole, saliva).

Oltre il 90% della popolazione è sieropositiva.
Fino al 25% delle persone infettate hanno ricorrenze.

Infezione LITICA: cellule **epiteliali** (epidermide, mucosa)

Infezione LATENTE: cellule **nervose** (gangli sensitivi)

HSV-1

Infezione PRIMARIA durante l'infanzia. L'infezione primaria può essere asintomatica, come anche le ricorrenze. Se è sintomatica, può causare:

Gengivostomatite. nel 15% dei casi. Durata circa 2-3 settimane.

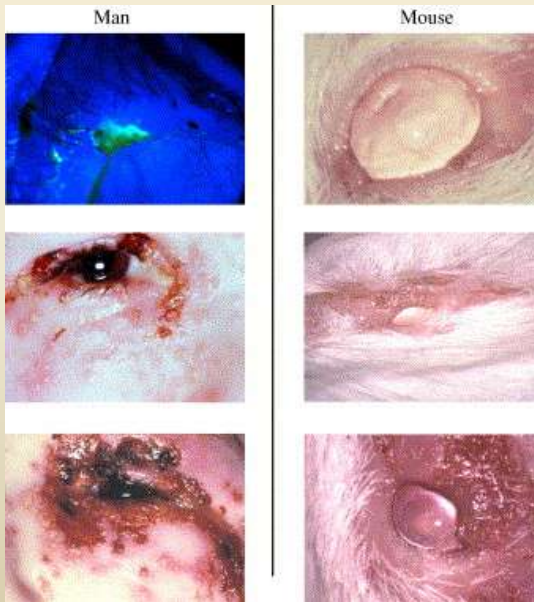
Cheratocongiuntivite. infezione di cornea e congiuntiva. Le ricorrenze (se numerose e gravi) possono compromettere la vista (cicatrici).

Encefalite. infezione più rara, a volte a partire da infezione oculare. Alta percentuale di mortalità; nei sopravvissuti danni neurologici permanenti. Encefalite erpetica causa 250 morti/anno negli USA.

PRIMARIA



HSV-1: Gengivostomatite



HSV-1: Cheratocongiuntivite erpetica

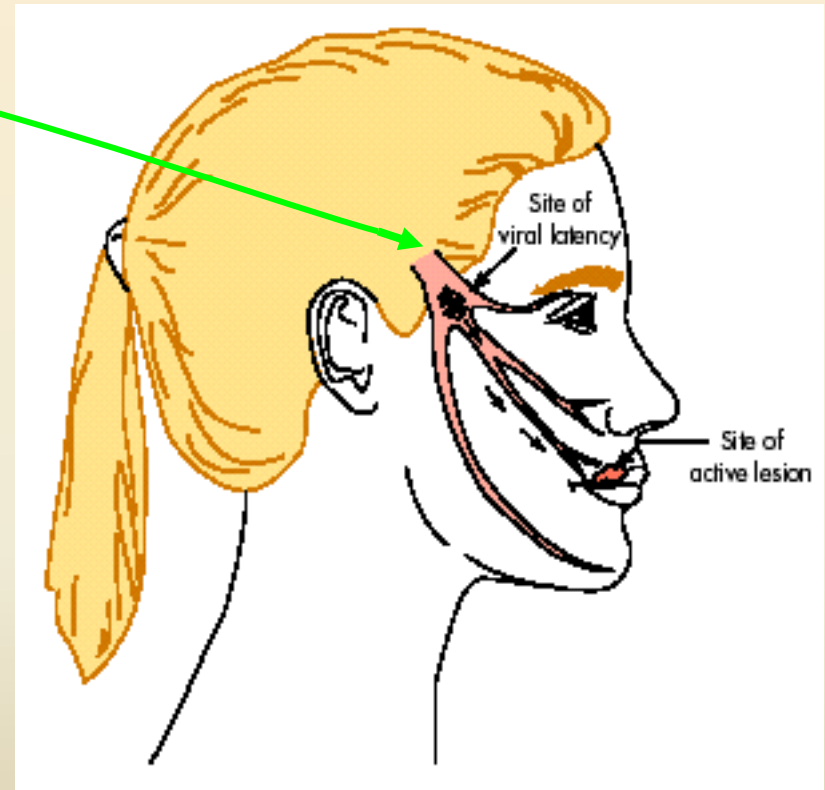
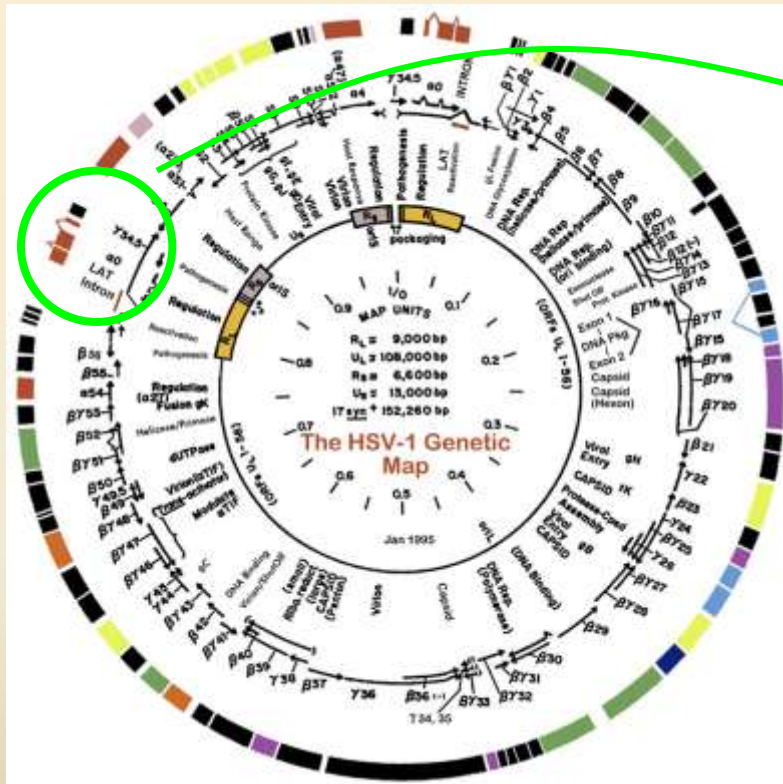
RICORRENTE



HSV-1: Herpes labiale (ricorrenza)

HSV-1

LATENZA: ganglio trigemino (neurotropismo alfa)



HSV-1

RIATTIVAZIONE causata da stress fisici o psichici, mestruazioni, UV, ecc.

Importanza dell' **immunità cellulo-mediata** nel controllo dell'infezione. Pazienti con alterazioni nell'immunità cellulo-mediata sono soggetti a malattia cronica disseminata.

TERAPIA: Aciclovir e derivati.

HSV-2

Generalmente causa infezioni del tratto **genitale**, ma anche del cavo orale, sessualmente trasmesse. Le lesioni orali sono indistinguibili da quelle causate dal tipo 1.

TRASMISSIONE: contatto (sessuale, perinatale, fluido delle vescicole). Infezioni e riattivazioni asintomatiche sono una importante fonte di contagio.

SIEROPREVALENZA: presenza di anticorpi specifici in ~ il 20% della popolazione adulta.

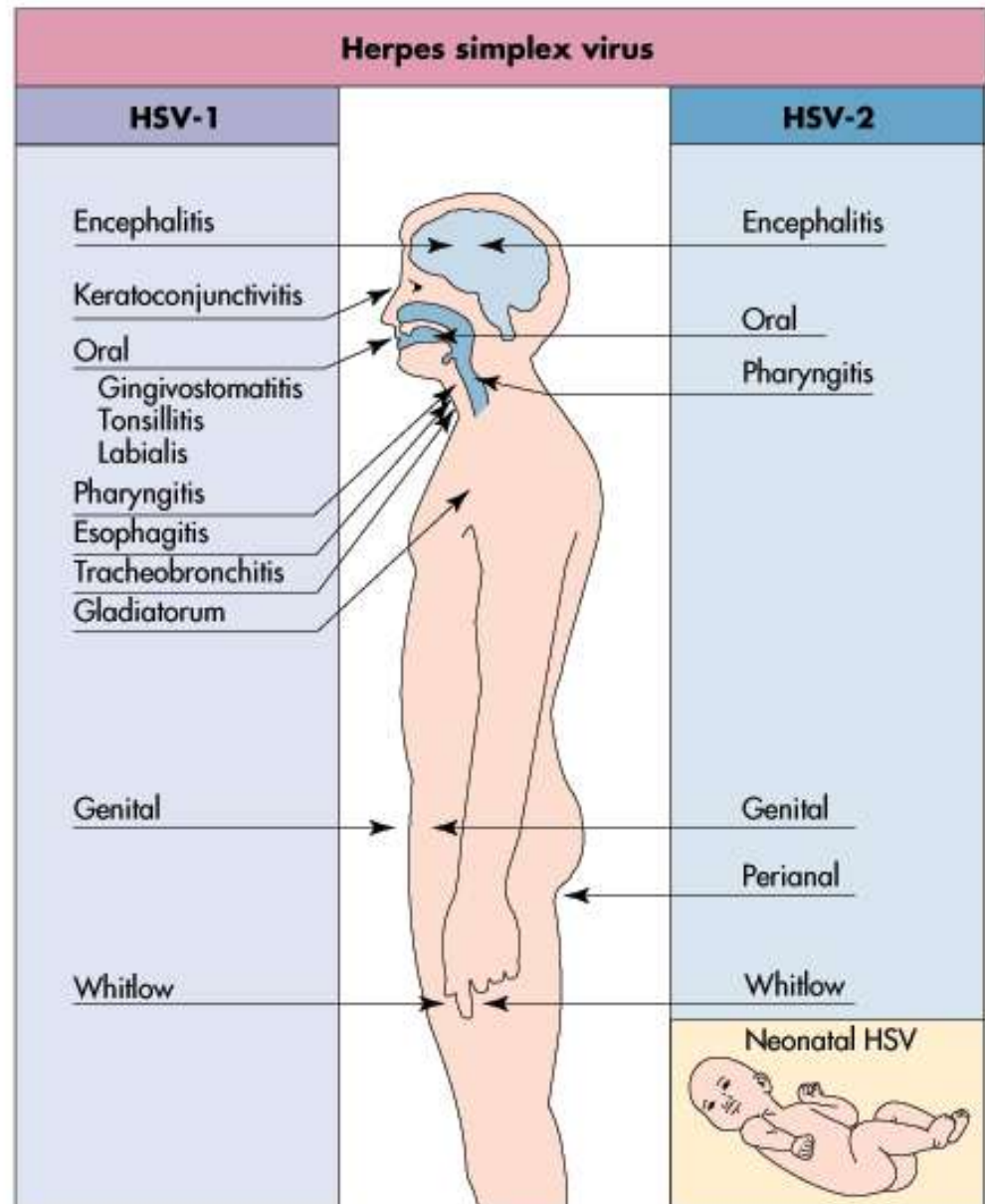
Infezione LITICA: cellule **epiteliali** (epidermide, mucosa)

Infezione LATENTE: cellule **nervose** (gangli sensitivi)

Malattie da HSV-2:

Herpes genitale
Herpes neonatale

NB - Sia HSV-1 che HSV-2 possono infettare gli stessi siti e causare malattie simili, anche se hanno preferenza per i siti indicati in figura



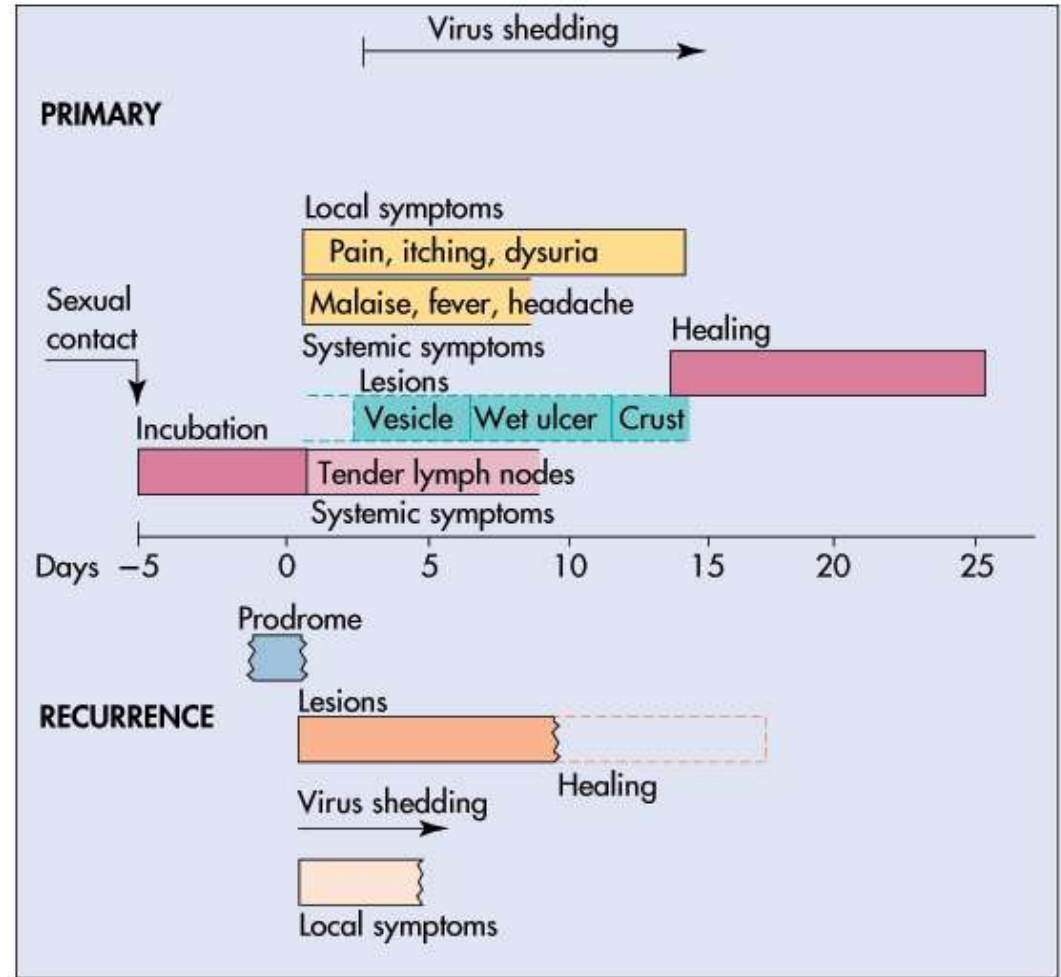
Herpes genitale: decorso clinico

Trasmissione **sessuale**.

Infezione PRIMARIA: incubazione di 5 giorni, si formano a livello genitale delle papule che evolvono a vescicole e poi ad ulcere dolorose. Lesioni multiple, possono durare 1 mese. Sintomi sistemici (febbre, mal di testa) e ingrossamento linfonodi inguinali.

Infezione LATENTE: nei neuroni dei gangli sensitivi della zona lombo-sacrale.

Infezione RICORRENTE: meno grave e dura meno. Di solito non ci sono sintomi sistemici. Può essere asintomatica.



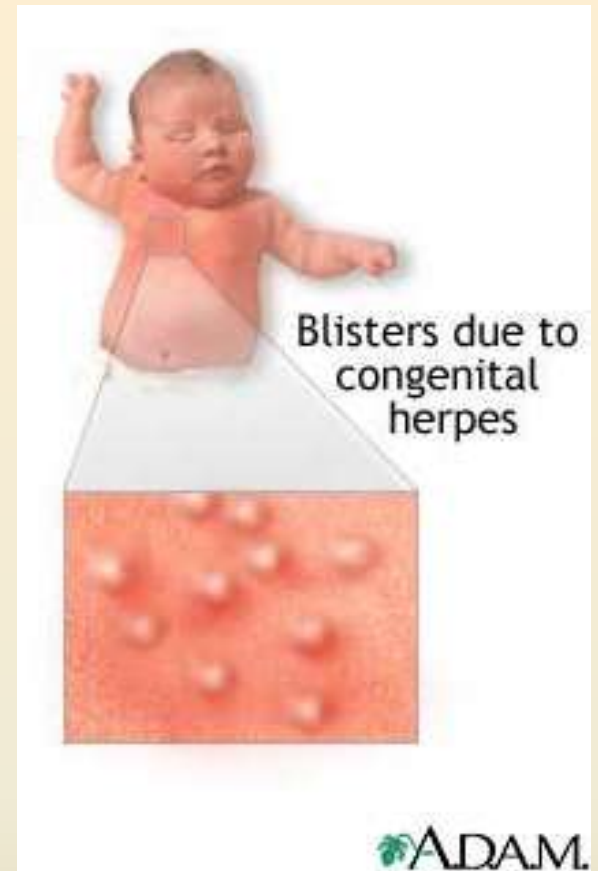
Mosby, Inc. items and derived items copyright © 2002 by Mosby, Inc.

Herpes neonatale da HSV-2

il neonato si infetta attraversando il canale del parto.

L'infezione neonatale causa **infezione disseminata** a organi viscerali e encefalite (mortalità >80%, se non trattata).

In caso di guarigione, gravi sequele neurologiche.



Diagnosis of Genital Herpes

- Test all genital ulcers for HSV, including clinically obvious genital herpes
 - Clinical diagnosis insensitive and nonspecific
 - Virus type determines clinical prognosis, transmission, and counseling
- Virologic tests
 - PCR is test of choice; increasingly available
 - Culture: The primary test in most settings
 - Direct FA: Some don't provide virus type
 - Cytology (Tzanck prep): Insensitive, no virus type; do not use
- Serologic testing: Use only glycoprotein G (gG)-based assays

Medscape
from WebMD

HSV-2: THERAPIA

Aciclovir (H. genitale)

Vidarabina (H. neonatale)

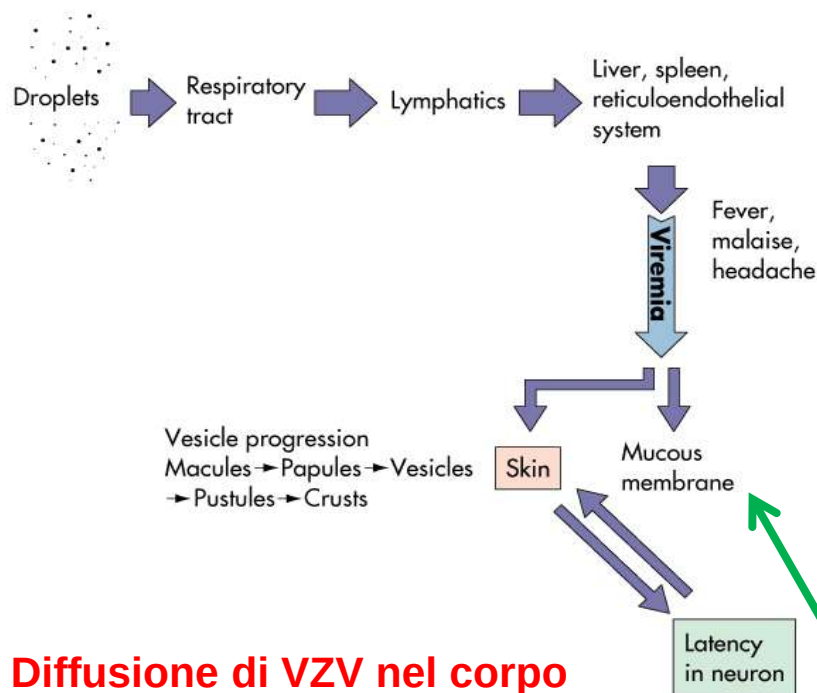
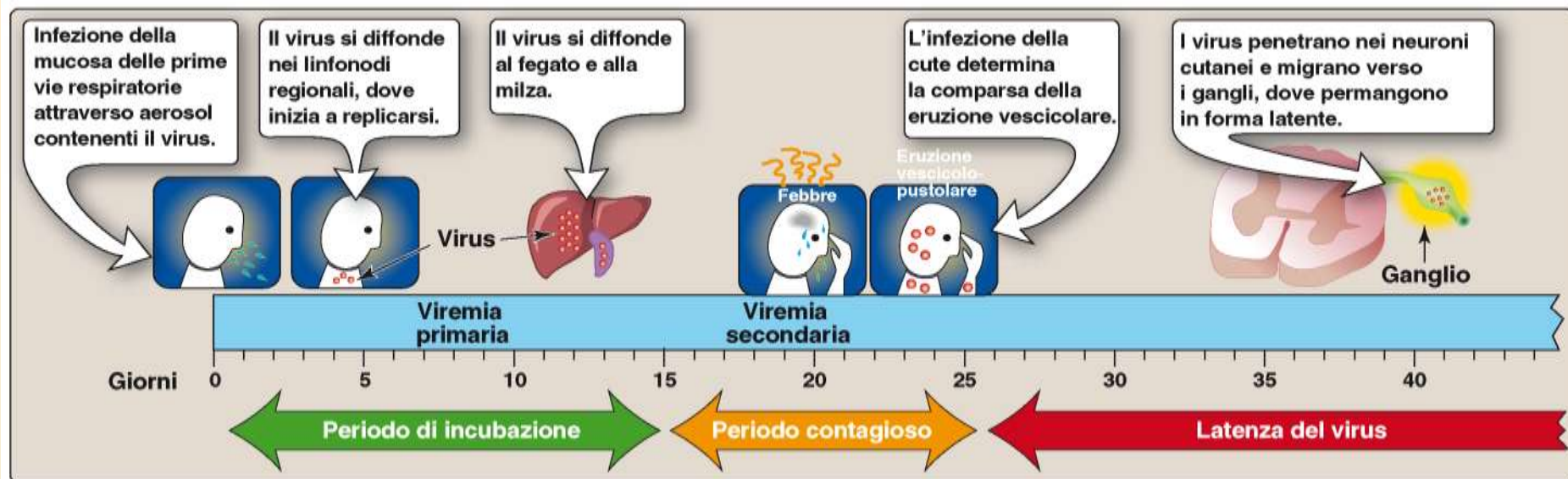


Infezione PRIMARIA: può essere asintomatica. Se sintomatica: Varicella, malattia tipica dell'infanzia.

TRASMISSIONE. Aerosol respiratorio, fluido delle vescicole.

Contrariamente a quanto avviene per HSV, la malattia primaria e recidivante sono completamente distinte.

Mentre nessuna delle 2 rappresenta un rischio mortale per l'individuo sano, negli immunocompromessi possono causare gravi complicanze.

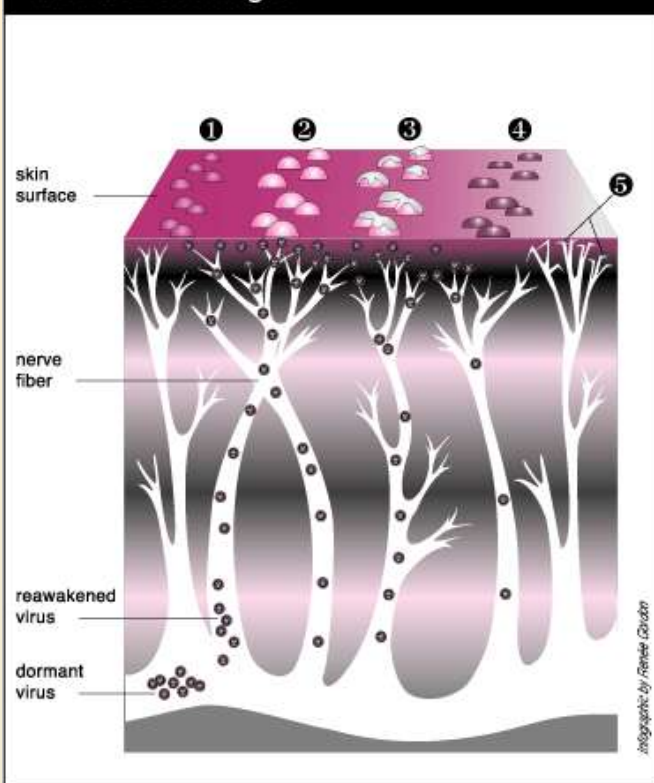


Decorso della Varicella

Incubazione di 2 settimane (vie respiratorie, linfonodi, diffusione I e II per via ematica) → rash cutaneo, pruriginoso, prima sul tronco, poi in tutto il corpo → papule → vescicole → croste. Eruzioni in ondate successive → presenza simultanea di lesioni a diverso stadio. Sintomi per circa 2 settimane. Guarigione spontanea, rare complicanze.

Negli immunocompromessi forma più grave, con possibili complicanze: polmonite interstiziale, insufficienza epatica, meningoencefalite. L'individuo è contagioso prima della comparsa dell'esantema, perché VZV infetta nuovamente le cellule della mucosa respiratoria.

A Course of Shingles

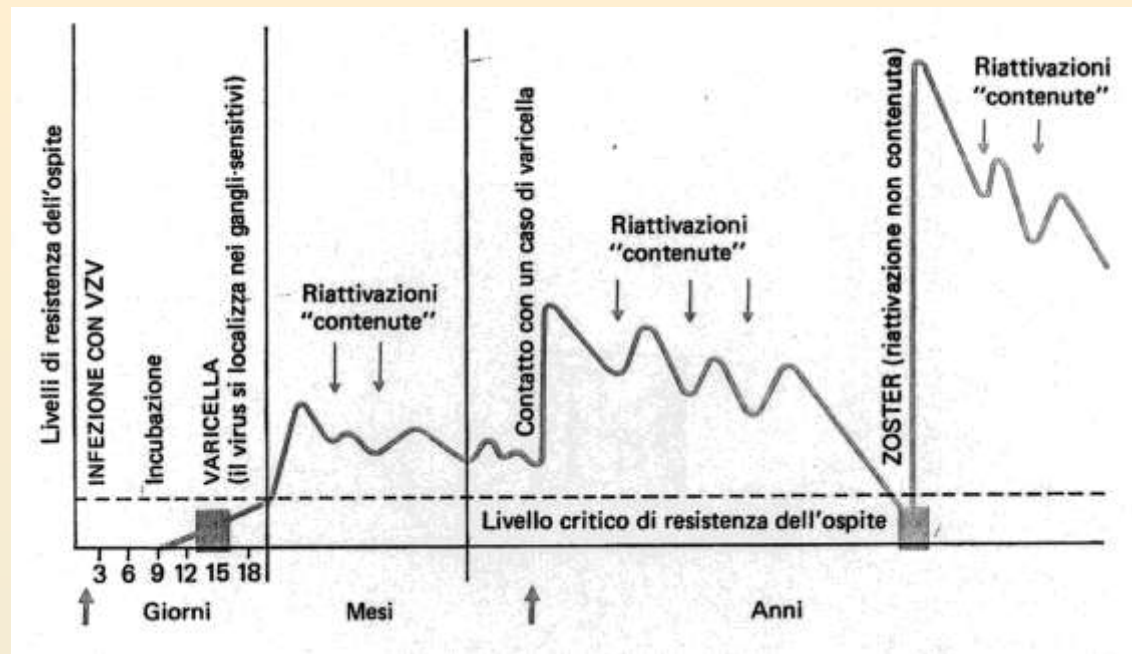


Infezione LATENTE: A causa della disseminazione dell'infezione, si verifica in molteplici **gangli sensoriali**, più comunemente nei gangli dorsali di nervi sensitivi, o nel trigemino (10-15% dei casi: lesioni orali, nevralgia del trigemino).

Infezione RICORRENTE: **Herpes Zoster**, più frequente nell'adulto. Di solito limitata all'innervazione cutanea di un singolo ganglio sensitivo (dermatomo) → dolore intenso → vescicole.

Complicazione più comune: neuralgia posterpetica (dolore alcuni mesi), più rare encefalite o zoster disseminato.

Più grave in immunodepressi.



Patogenesi dello Zoster.

Dopo l'infezione primaria (Varicella) si possono avere una serie di riattivazioni dell'infezione latente che vengono contenute dalla risposta immune (eventualmente richiamata da ulteriori contatti con il virus). Quando la **risposta immune dell'ospite è compromessa** ed il livello globale di "resistenza" scende sotto una soglia critica **la riattivazione dell'infezione latente si traduce in Zoster clinicamente evidente**

Il fluido delle vescicole contiene virus infettante. A volte la risposta immune riesce a controllare l'infezione a livello cutaneo, ma non **a livello gangliare** (infiammazione, necrosi). Può risultare in **"Zoster sine herpete"**, dolore senza lesioni cutanee.

Diagnosi per VZV:

Di solito non necessaria (clinica). Negli immunocompromessi analisi per distinguere infezione VZV da altre simili: colture di cellule inoculate con liquido vescicole mostrano CPE in pochi giorni, oppure usata IFA dopo 24 h. Diagnosi rapida effettuata su cellule epiteliali della vescicola testate con IFA o ibridazione in situ (sonde DNA per VZV).

Terapia per VZV:

Trattamento con Aciclovir soprattutto in immunocompromessi.

Prevenzione per VZV:

1. Somministrazione IgG specifiche (neonati, immunocompr.)
2. Disponibile vaccino vivo attenuato (Giappone, USA).

HERPESVIRUS

➤ **HHV-5: Human cytomegalovirus (CMV)**

➤ **HHV-6: Human herpesvirus type 6 (HHV-6)**

➤ **HHV-7: Human herpesvirus type 7 (HHV-7)**

**ROSEOLA
VIRUS**

CMV

PREVALENZA: circa il **70%** nella popolazione adulta.
Infezione spesso asintomatica in individui sani.

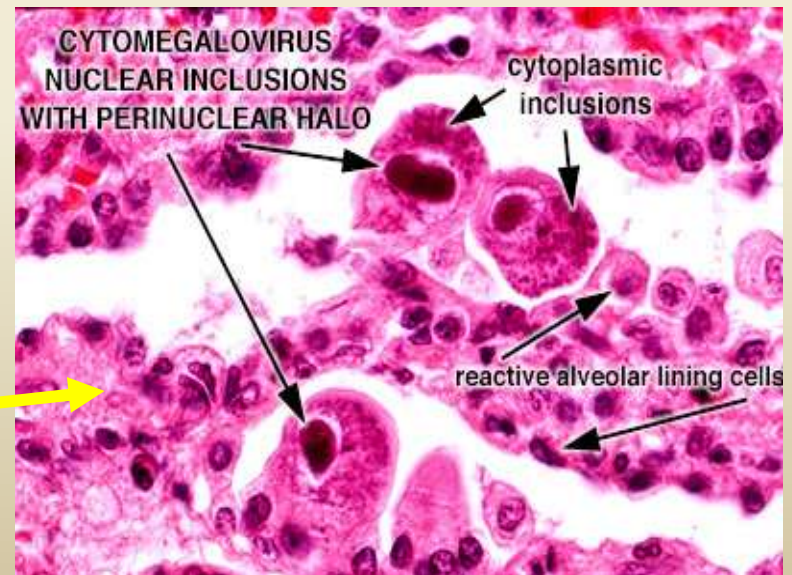
Circa 0.2-2% nasce con una infezione congenita, il 30-40% si infetta durante il 1° anno di vita.

Infezione **PRODUTTIVA:** cellule **epiteliali** e altre cellule.

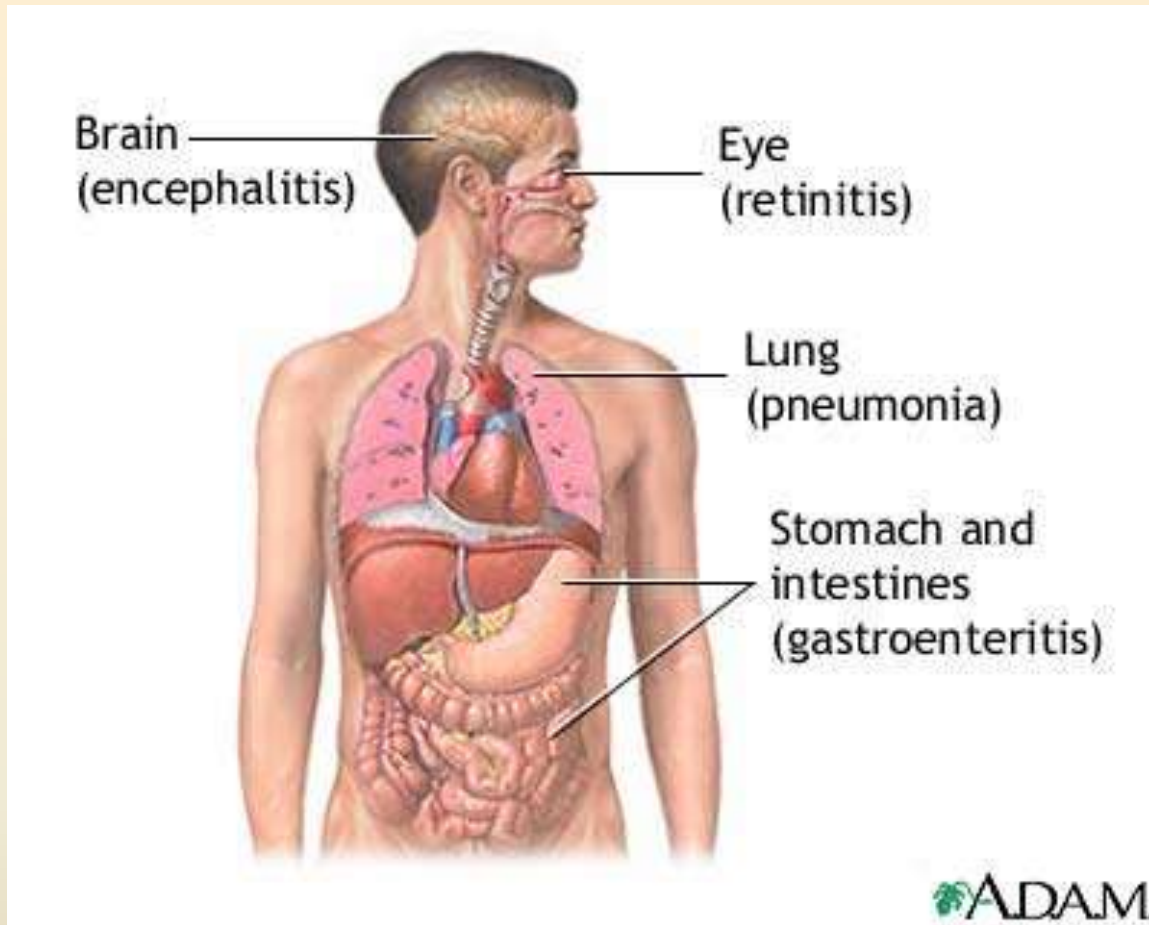
Infezione **LATENTE:** **linfociti T, macrofagi**

TRASMISSIONE: sangue, saliva, secrezioni corporee, latte materno, trapianto organo, trasmissione transplacentare.

Le cellule infettate appaiono ingrossate e multinucleate (citomegalia), con tipiche inclusioni a “occhio di gufo”.



SITI DI INFEZIONE DA CITOMEGALOVIRUS



TROPISMO-legame recettore: **gB** e **gC** mediano l'entrata del virus nelle cellule legando **l'eparan solfato** (molecola ubiquitaria).

La **gH** è indispensabile per la fusione dell'envelope con la membrana cellulare.

INFEZIONE PRIMARIA da HCMV

Di solito nell'infanzia. Quadro diverso a seconda dello stato immunologico.

Negli individui immunocompetenti:

Asintomatica nella > dei casi. L'infezione attiva si può mantenere per lungo tempo, con escrezione di CMV in saliva e urina. Se sintomatica, si ha **Mononucleosi eterofilo-negativa** (senza agglutinazione di globuli rossi di pecora). Rare complicazioni: epatite, polmonite, encefalite, polineurite (Guillan-Barrè), retinite.

Negli immunocompromessi:

gravi forme **SISTEMICHE**: polmonite, epatite, encefalite, retinite.

Nei trapiantati spesso anche associata a **rigetto**; importante determinare lo stato di donatore e ricevente ed il monitoraggio preventivo (carica virale).

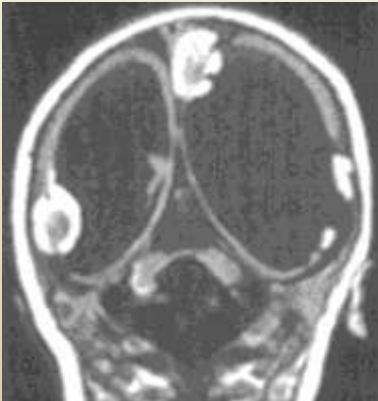
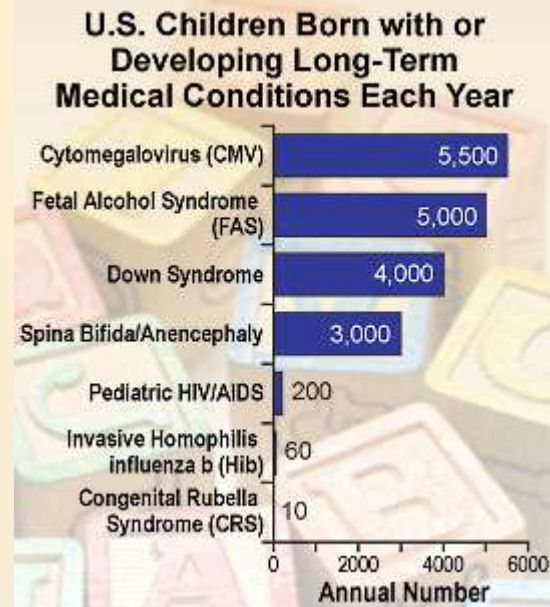
Malattia nel feto: infezione **congenita**.

L'infez. primaria della madre in gravidanza può causare la malattia citomegalica del neonato (10% dei casi).

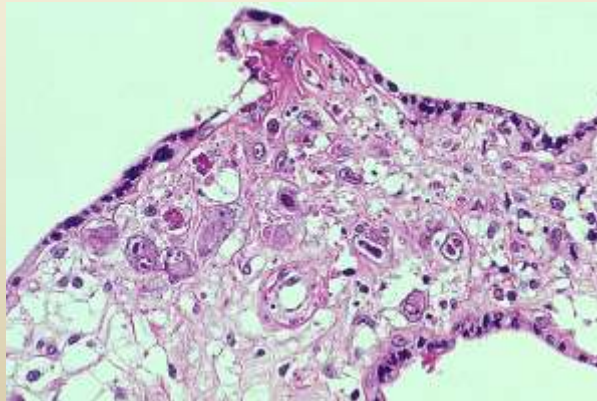
Trasmissione transplacentare.

Fatale in circa il 30% dei casi.

Nei sopravvissuti gravi compromissioni:
microcefalia e calcificazioni, sordità,
epatosplenomegalia, ritardo mentale.



Displasia
cerebellare

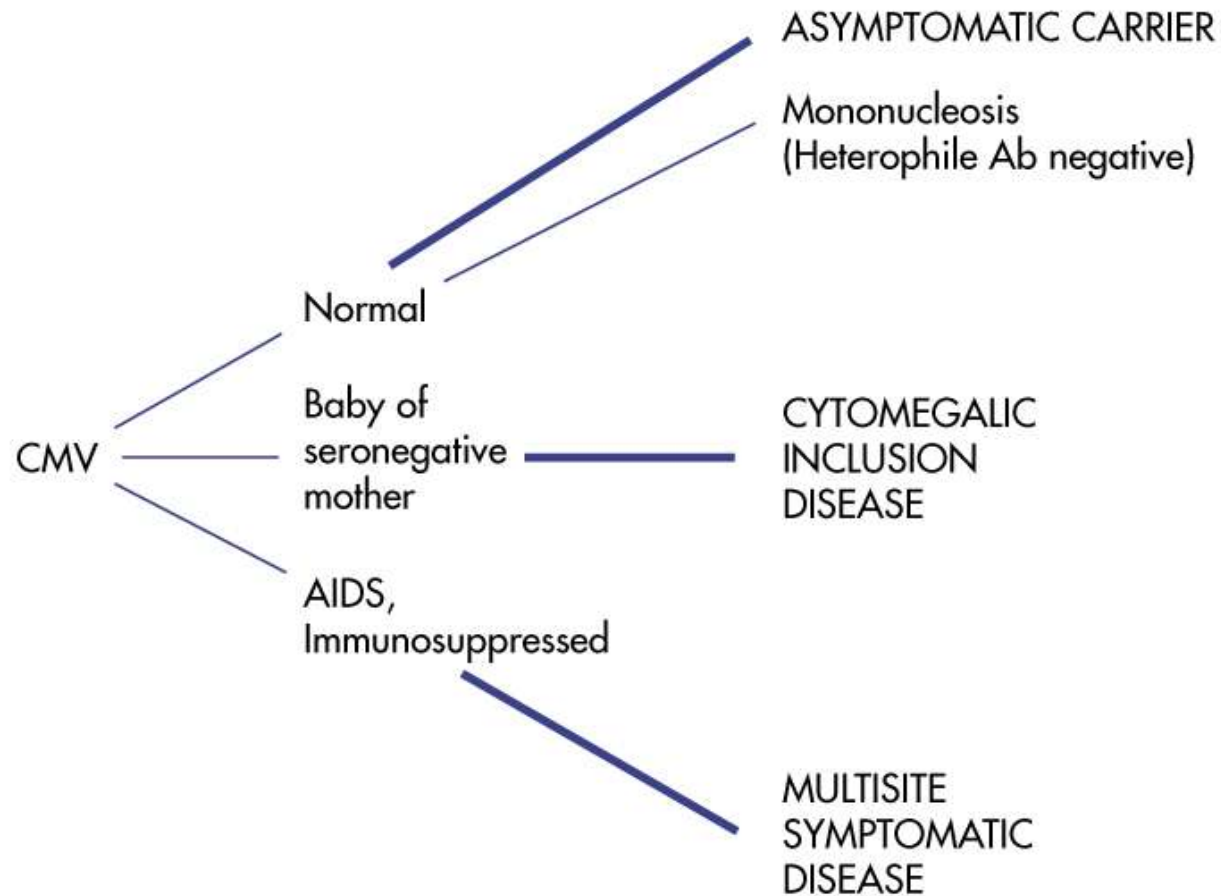


CMV nei villi



CMV nel CNS

Possibili esiti dell'infezione da CMV



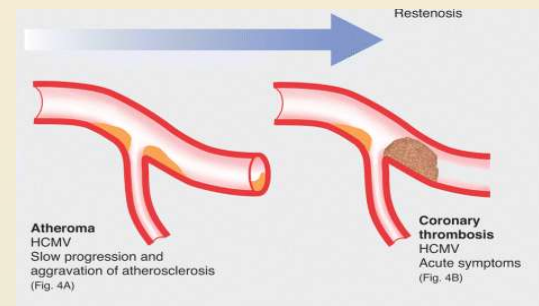
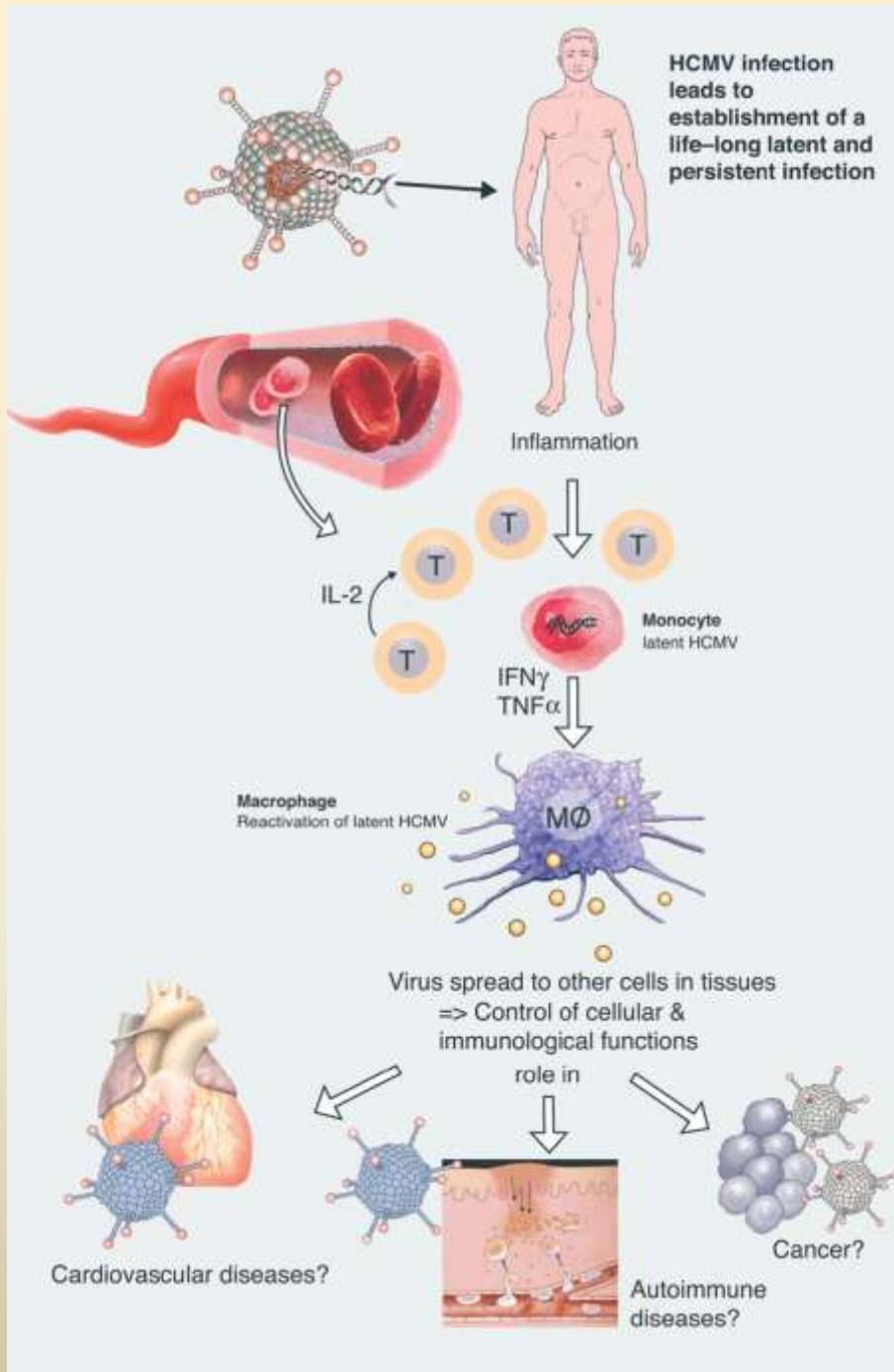
Mosby, Inc. items and derived items copyright © 2002 by Mosby, Inc.

La possibile malattia dipende pesantemente dallo stato immunologico del paziente

MECCANISMI PATOGENETICI

Infezione primaria → **infezione persistente latente** per tutta la vita dell'individuo infetto. L'**infiammazione** può portare a **riattivazione** di HCMV nei monociti che sotto l'azione delle CK proinfiammatorie si attivano a macrofagi. **Il virus può così diffondere ad altre cellule.**

Ruolo potenziale in: malattie cardiovascolari, autoimmuni e alcune neoplasie.



Patologie vascolari: Attivazione monociti → riattivazione di HCMV. I macrofagi aderiscono alle cellule endoteliali: HCMV influenza il metabolismo lipidico, portando allo sviluppo di cellule schiumose. La sua trasmissione alle CE contribuisce alla crescita della placca, aumenta l'infiammazione e contribuisce alla comparsa di sintomi ischemici (aumenta l'espressione di molecole di adesione portando quindi all'aumento di transmigrazione leucocitaria e dell'infiammazione, aumenta il rilascio del fattore di von Willebrand (vWF) portando all'attivazione delle piastrine e alla loro aggregazione: trombi e ischemie.

DIAGNOSI HCMV

TABELLA 51-7. Test di laboratorio per la diagnosi di infezione da CMV

TEST	REPERTO
Citologici ed istologici*	Corpo incluso ad "occhio di gufo" Rivelazione antigenica Ibridazione <i>in situ</i> con sonde di DNA Reazione a catena della polimerasi (PCR)
Coltura cellulare	Effetti citopatici su fibroblasti umani diploidi Rivelazione mediante immunofluorescenza degli antigeni precoci PCR
Test sierologici	Infezione primaria

* I campioni utilizzati per l'analisi comprendono urine, saliva, sangue, lavaggio broncoalveolare e campioni tissutali biotici.

Data l'**alta prevalenza delle infezioni**, anche asintomatiche, non sono considerate di grande utilità l'isolamento del virus o il ritrovamento di Ab anti-CMV.

La **diagnosi sierologica** consente di distinguere infezione primaria (IgM) da ricorrente (IgG).

Tecniche soprattutto usate su immunodepressi, donne gravide e nello screening dei donatori e dei riceventi trapianto.

TERAPIA e PREVENZIONE per HCMV

Trattamento con **Ganciclovir** (derivato da aciclovir), profilattico in trapiantati renali;

Anche **Foscarnet** (analogo pirofosfato), **Aciclovir**, **Valaciclovir** possono dare buoni risultati
Cidofovir (per gravi retiniti in AIDS).

NON disponibile alcun vaccino.

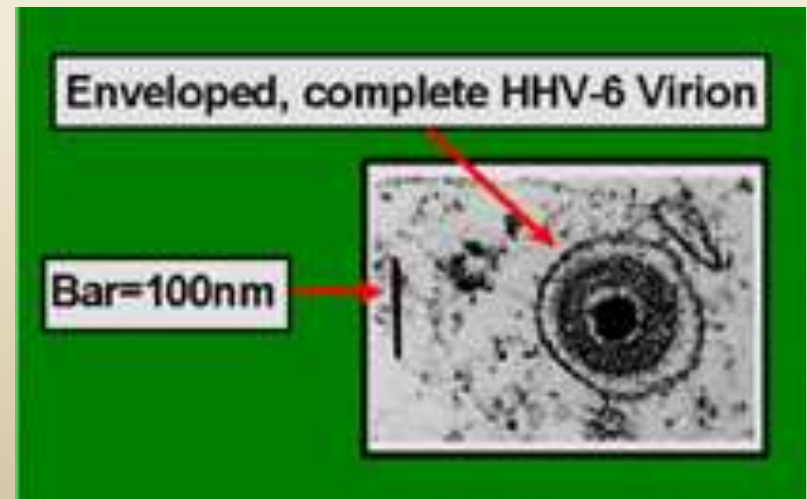
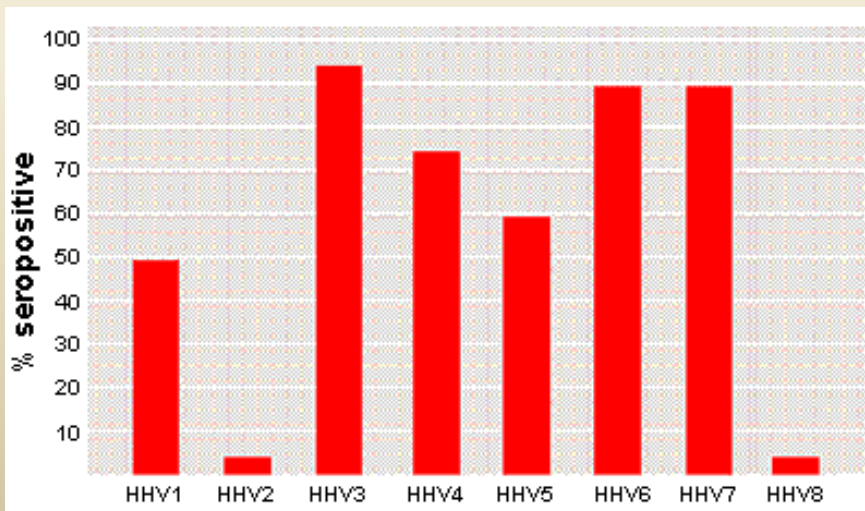
HHV-6

SIEROPREVALENZA molto alta (~90% popolazione adulta)

Due varianti: HHV-6A e HHV-6B

Infezione PRODUTTIVA: linfociti T CD4+ (ma recettore CD46, molecola ubiquitaria)

Infezione LATENTE: linfociti/monociti. Presente nelle ghiandole salivari: trasmissione con la saliva.



PATOLOGIE

Infezione PRIMARIA: contratta molto presto (entro 6-24 mesi). Agente eziologico della **VI malattia** o **Exanthem Subitum**, malattia esantematica pediatrica (variante B).

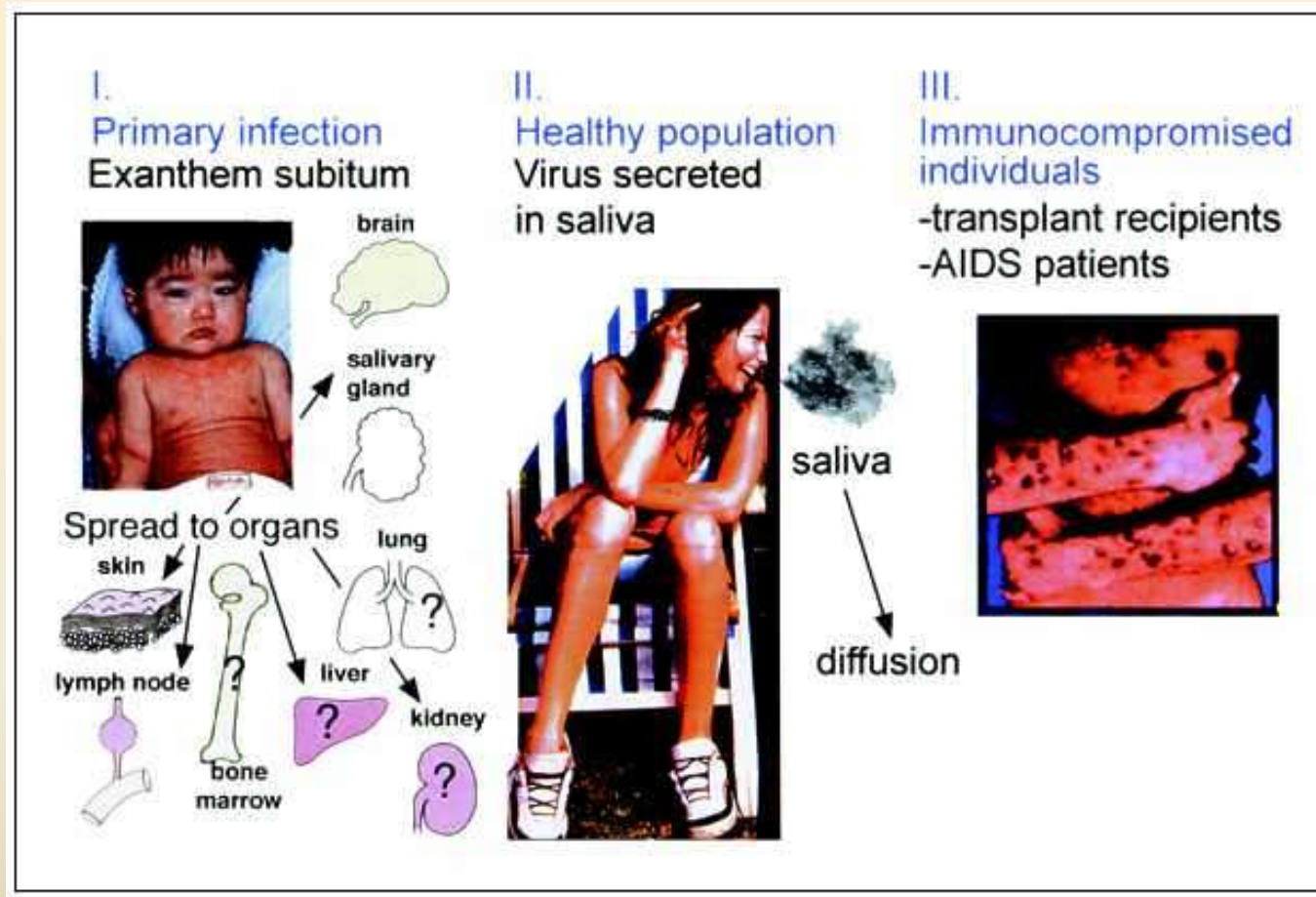


Mosby, Inc. items and derived items copyright © 2002 by Mosby, Inc.

Il quadro patologico indotto dall'infezione di HHV-6 si differenzia molto a seconda dello stato immunologico del soggetto.

Infezione LATENTE: in monociti e linfociti T.

RIATTIVAZIONE: asintomatica negli adulti sani, può invece essere associata a gravi patologie (polmonite, encefalite) in immunodepressi (AIDS, malattie autoimmuni, trapiantati).



- ❖Può riattivarsi in pazienti trapiantati causando rigetto (rene) o mancato attecchimento (midollo).
- ❖Può essere un cofattore nella patogenesi dell'AIDS (?).

Patologie HHV-6 durante immunosoppressione

Nei trapiantati HHV-6 (riattivazione) è stato associato a:

- **Rigetto di trapianto**
- **Bone marrow suppression**
- **Polmonite**
- **Febbre di origine sconosciuta**
- **Rash dopo HSCT(hematopoietic stem cell transplantation).**
- **Meningoencefalite**

HHV-6 DNA frequentemente trovato nel liquor di pazienti con alterazioni SNC correlate a immunodisregolazione (neuroinvasione da HHV-6)

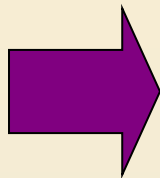
Inoltre: HHV-6 infezione e riattivazione giocano un ruolo cruciale nelle malattie indotte da CMV, probabilmente mediante effetti immunomodulatori.

Altre patologie: associazione a malattie autoimmuni?
Sclerosi Multipla ?
Sindrome di Sjogren?
Tiroiditi?

Is HHV-6 associated to MS?	
YES Sola et al. 1993 Wilborn et al. 1994 Challoner et al. 1995 Soldan et al. 1997 Ablashi et al. 1998 Friedman et al. 1999 Ongradi et al. 1999 Soldan et al. 2000 Blumberg et al. 2000 Ablashi et al. 2000 Kim et al. 2000 Knox et al. 2000 Akhyani et al. 2000 Berti et al. 2000	NO Liedtke et al. 1995 Martin et al. 1997 Fillet et al. 1998 Coates & Bell, 1998 Mayne et al. 1998 Mirandola et al. 1999 Goldberg et al. 1999 Rotola et al. 1999 Rotola et al. 2000 Hay & Tenser, 2000 Taus et al. 2000

Molti studi ma nessuna certezza per ora!

GENI di HHV6: importanza degli studi trascrizionali per distinguere virus “latente” e “attivo”



Gene	Gene product	Comments	Reference(s)
IE proteins			
U86	IE protein	U86–89 form IE-A gene block. Homologue of HCMV IE86	Schiewe <i>et al.</i> (1994)
U89	IE protein (IE1)	Transcriptional transactivator. Nuclear phosphoprotein	Martin <i>et al.</i> (1991); Gravel <i>et al.</i> (2002)
U95	IE protein	Homologue of MCMV IE2	Takemoto <i>et al.</i> (2001)
U16–19	IE protein(s)	U16–19 form IE-B gene block. U16 transactivates HIV-1 LTR	Flebbe-Rehwaltd <i>et al.</i> (2000)
U3	IE protein	Member of β -herpesvirus US22 gene family; homologue of HCMV UL24	Mori <i>et al.</i> (1998)
Genes required for DNA synthesis and viral replication			
U27	Polymerase processivity factor	41-kDa nuclear protein; binds DNA polymerase	Zhou <i>et al.</i> (1997)
U38	DNA polymerase	100-kDa protein	Lin & Ricciardi (1998)
U41	Single-stranded DNA-binding protein		Clark (2000)
U43/74/77	Helicase/primase complex		Clark (2000)
U73	Origin-binding protein		Clark (2000)
U94	RepH6	Homologue of AAV-2 <i>rep</i> gene, unique to HHV-6. Binds human TATA-binding protein (transcription factor). Involved in maintenance of latency by down-regulating gene transcription. Also inhibits cell transformation and inhibits transactivation of HIV-1 LTR	Thomson <i>et al.</i> (1991); Rotola <i>et al.</i> (1998); Mori <i>et al.</i> (2000)
Nucleic acid metabolism			
U28	R1 subunit of ribonucleotide reductase		Clark (2000)
U45	dUTPase		
U69	Phosphotransferase		
U81	Uracil-DNA glycosylase		
Glycoproteins and structural antigens			
U11	p100 major structural antigen	Phosphoprotein that varies between HHV-6A and -6B	Isegawa <i>et al.</i> (1999)
U39	gB	Conserved glycoprotein with role in virus–cell fusion	Chou & Marousek (1992)
U48	gH	Forms complexes with gL. Role in virus–cell fusion	Liu <i>et al.</i> (1993); Anderson <i>et al.</i> (1996)
U72	gM	Conserved glycoprotein	
U82	gL	Glycoprotein with role in transport and processing of gH. Complexes with gH	Liu <i>et al.</i> (1993); Anderson <i>et al.</i> (1996)
U100	gp82–105	Glycoprotein with marked variation between HHV-6A and -6B	Pfeiffer <i>et al.</i> (1993)
Miscellaneous			
U53	Protease	Required for mature virion production	Tigue & Kay (1998)
U83	Viral chemokine	Novel splicing results in different transcripts	Zou <i>et al.</i> (1999); French <i>et al.</i> (1999)
U12	Chemokine receptor	β -Chemokine receptor	Isegawa <i>et al.</i> (1998)
U51	Chemokine receptor	β -Chemokine receptor. Signalling can result in RANTES down-regulation	Menotti <i>et al.</i> (1999); Milne <i>et al.</i> (2000)
U69	Protein kinase	Confers ganciclovir sensitivity	Ansari & Emery (1999)
DR7	p53-binding protein	Transforming activity and transactivation of HIV-1 LTR	Kashanchi <i>et al.</i> (1997)

Diagnosi per HHV-6:

Attualmente non disponibile alcun test semplice per infezione primaria. Usati **metodi sierologici** per determinare sieroconversione nei bambini. **PCR** nel liquor in malattie neurologiche.

Terapia e prevenzione HHV-6:

Gli stessi trattamenti per HCMV sono efficaci per HHV-6, ma raramente sono usati.

Terapia HAART (pazienti HIV) efficace anche contro HHV-6 nei pazienti coinfectati.

Non disponibile alcun vaccino.

HHV-7

Roseolovirus: isolato nel 1990.

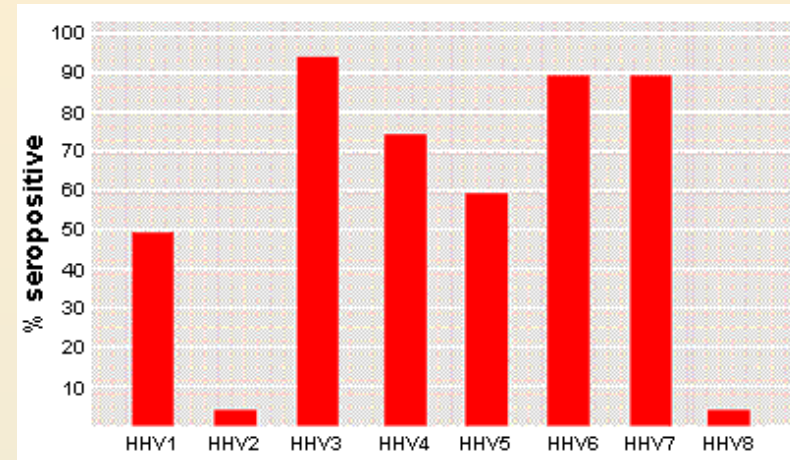
**Infetta i bambini nella prima infanzia
(comunque dopo HHV-6).**

Virus ubiquitario, la maggior parte
della popolazione sana è infettata.

Escreto con la saliva.

Infezione PRODUTTIVA: linfociti T

Infezione LATENTE: linfociti T



Patogenesi HHV-7

Causa **infezioni asintomatiche**, o **brevi sindromi febbrili** benigne in bambini piccoli.

Associato a:

- Rigetto di trapianto soprattutto in età pediatrica (cellule staminali). Forse effetti INDIRETTI, mediante incremento dell'infezione da HCMV. HHV-7 può anche indurre la riattivazione di HHV-6, e la cross-interazione tra HHV-6 e HHV-7 rende difficili gli studi su HHV-7.
- Sindrome da fatica cronica?
- Cofattore per CMV?

E' tuttora un virus “orfano” di patologia specificamente correlata.

HERPESVIRUS

- **HHV-4: Epstein-Barr virus (EBV)**
- **HHV-8: Human herpesvirus type 8 (HHV-8)**

Virus di Epstein Barr (EBV)

MALATTIA. Causa la **mononucleosi infettiva** (malattia del bacio).

TRASMISSIONE. Con la **saliva**.

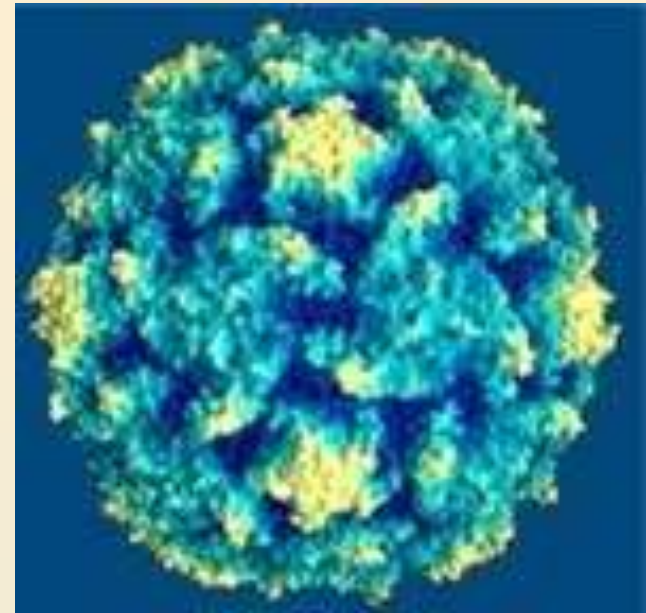
EPIDEMIOLOGIA. Elevata prevalenza: negli USA il **70%** della popolazione viene infettata entro i 30 anni.

Infezione PRODUTTIVA: cellule epiteliali dell'orofaringe (e linfociti B)

Infezione LATENTE: linfociti B.

Recettore: Complement Receptor 2 (**CR2-CD21**), recettore per componente C3b del complemento.

Contrariamente alle cellule mucosa orofaringe, le cellule B non sono totalmente permissive: infezione con espressione dei soli geni precoci e induzione fattori crescita per i B → proliferazione policlonale dei linf B.



Mononucleosi infettiva

L'infezione si contrae con la **SALIVA**. Asintomatica nel 50% dei casi.

Periodo di incubazione lungo (4-7 settimane).

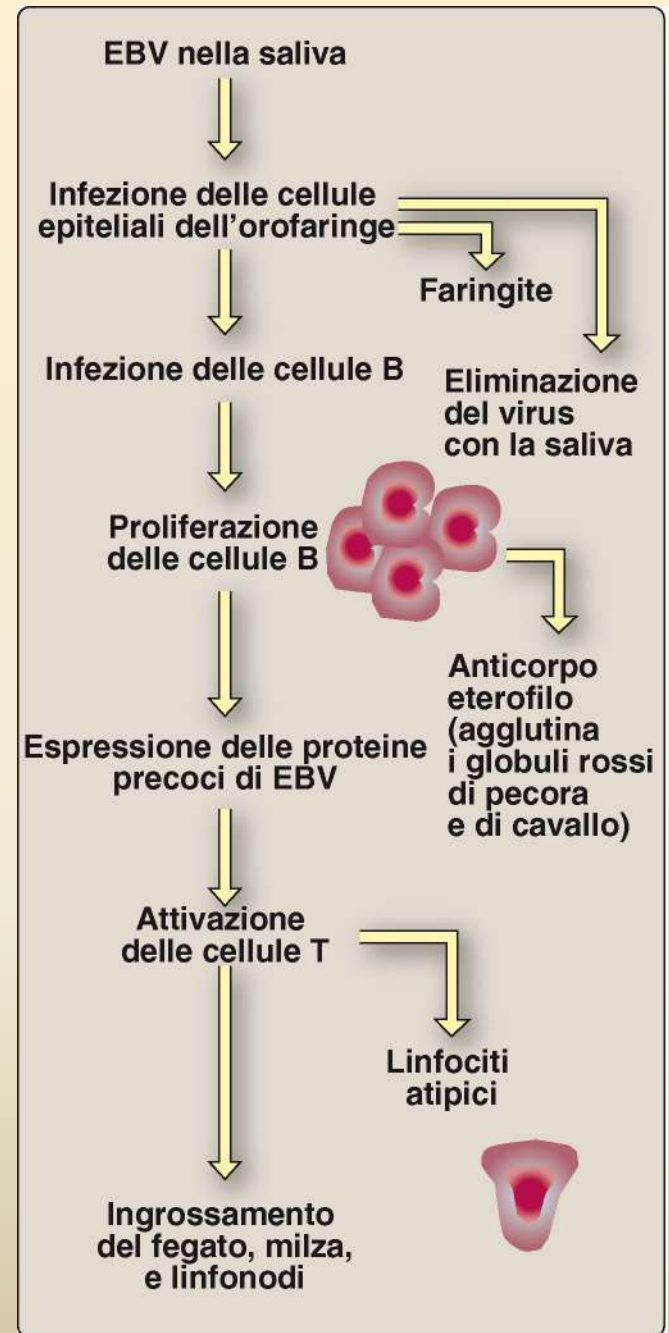
Febbre, faringite, linfadenite, splenomegalia, alterazioni funzione epatica, comparsa in circolo di **grossi linfociti T atipici** (a volte essudato grigiastro sulle tonsille → diagnosi differenziale con difterite).

Autolimitante.

Presenza di anticorpi eterofili*. Causa proliferazione (immortalizzazione) dei linfociti B infettati.

*Ab eterofili = Ab che legano antigeni diversi da quelli che li hanno indotti.

Durante mononucleosi vengono indotte IgM che agglutinano globuli rossi di pecora. Questi Ab non reagiscono con EBV, ma sono indotti da proteine della membrana cellulare alterate dal virus. Dovuti alla espansione policlonale dei linfociti B. La ricerca di Ab eterofili è diagnostica per mononucleosi infettiva da EBV.



Patogenesi dell'infezione da EBV:

Il virus promuove la proliferazione dei linf B (**immortalizzazione**).

Le cellule T limitano la crescita dei B e promuovono la latenza nei B.

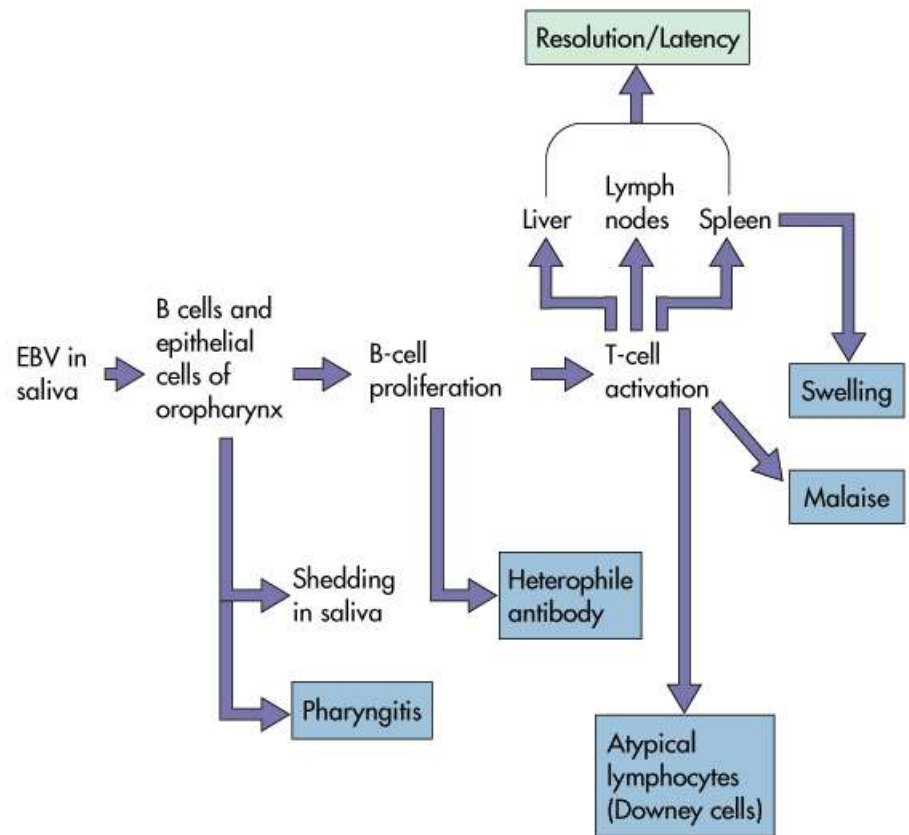
La risposta T cellulare (linfocitosi) contribuisce ai sintomi della malattia.

La risoluzione dell'infezione e molti dei sintomi della mononucleosi infettiva risultano quindi dall'attivazione delle cellule T.

Classica triade della mononucleosi infettiva:

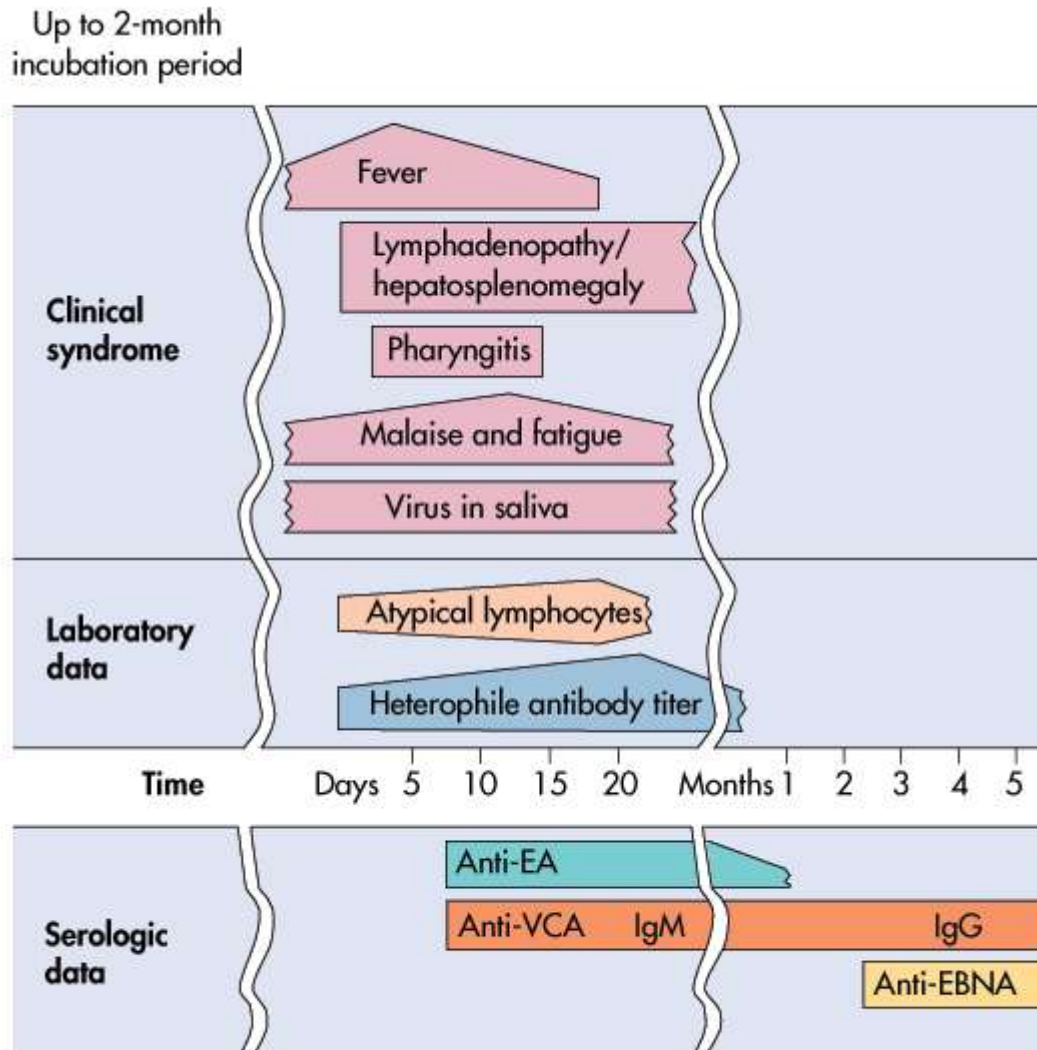
- Febbre
- Faringite
- Linfadenopatia (in genere ingrossamento dei linfonodi cervicali anteriori e posteriori)

Nota: nei bambini, l'infezione acuta decorre spesso in forma asintomatica mentre, negli adolescenti e nei giovani adulti, mostra i tipici sintomi della mononucleosi infettiva.



Mosby, Inc. items and derived items copyright © 2002 by Mosby, Inc.

Decorso clinico della mononucleosi infettiva e reperti di laboratorio



Mosby, Inc. items and derived items copyright © 2002 by Mosby, Inc.

Incubazione fino a 2 mesi.

Nel periodo sintomatico si osservano Ab eterofili e linf T atipici.

Poi comparsa di Ab (IgM) anti-EA (Early Antigen) e anti-VCA (Viral Capsid antigen).

Solo dopo comparsa di IgG e Ab anti-EBNA.

NB- Distinzione Ab utile nella diagnosi sierologica.

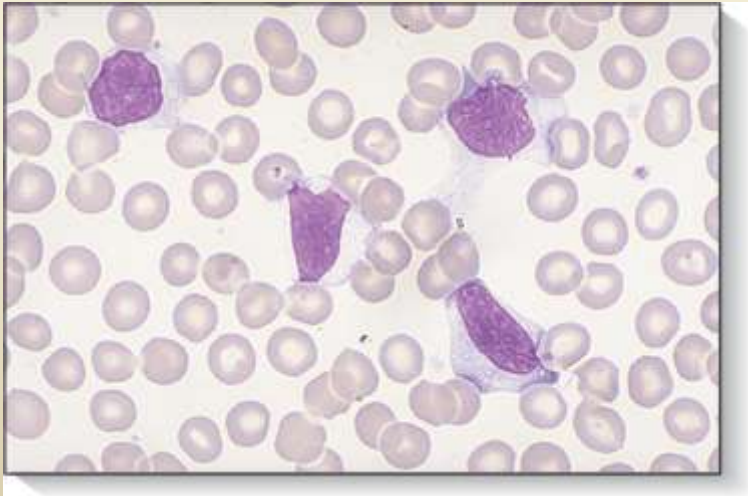
Diagnosi

Linfociti **T atipici** possono essere osservati in strisci di sangue da pazienti.

Nelle cellule infette si possono evidenziare gli acidi nucleici (DNA o RNA) mediante ibridazione in situ, oppure gli antigeni virali mediante immunoistochimica.

Test di paul-Bunnel: ricerca anticorpi eterofili.

Diagnosi sierologica: IgG contro EBNA e VCA permangono per tutta la vita, quindi l'infezione acuta è indicata da IgM specifiche o variazioni di titolo anticorpale.



Terapia e prevenzione

Aciclovir inibisce EBV in vitro, ma non è efficace nella malattia e nel prevenire latenza. Usato nella leucoplachia villosa (durante mononucleosi: replicazione di EBV sulla lingua).

Non disponibile alcun vaccino.

EVOLUZIONE DELL'INFEZIONE

Dopo l'infezione primaria dei linfociti B, EBV entra in **LATENZA**; l'effetto dei geni virali espressi durante la latenza risulta nella immortalizzazione dei linfociti B che, se non vengono eliminati dalla reazione immunitaria T cellulo-mediata, proliferano indefinitamente.

Durante la latenza EBV esprime diverse funzioni, fra cui:

EBNA-2 (Epstein-Barr Nuclear Antigen-2), che trasattiva geni cellulari, fra cui l'oncogene c-fgr (stimola proliferazione cellulare e blastizzazione dei linfociti);

LMP1 (Latent Membrane Protein-1), che stimola la produzione di antigeni di attivazione dei linfociti e di molecole di adesione. Inoltre attiva l'oncogene bcl-2, che a sua volta contrasta l'apoptosi (= morte cellulare programmata).

EBV virus oncogeno

L'immortalizzazione indotta da EBV **FAVORISCE** la possibilità che avvengano altri eventi che causano la progressione neoplastica.

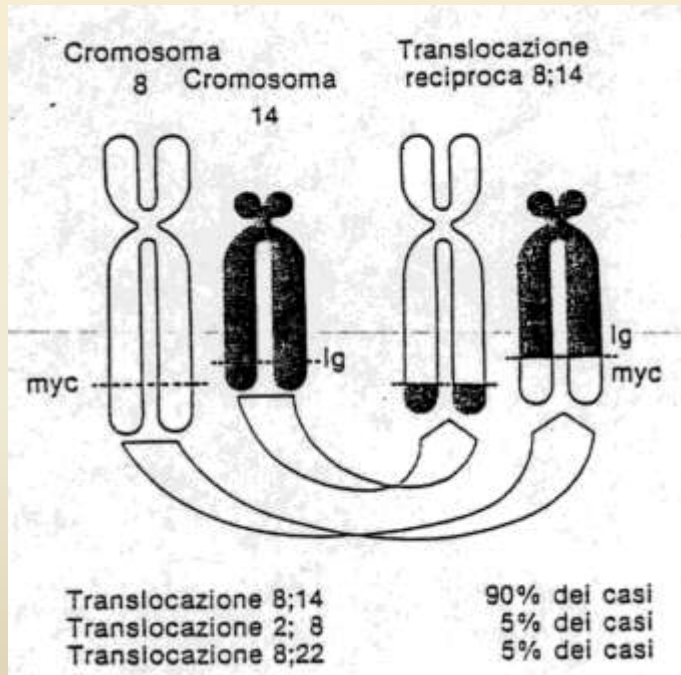
EBV è associato a:

- **linfoma di Burkitt**
- **casi della malattia di Hodgkin**
- **carcinoma nasofaringeo**
- **linfomi in immunodepressi**

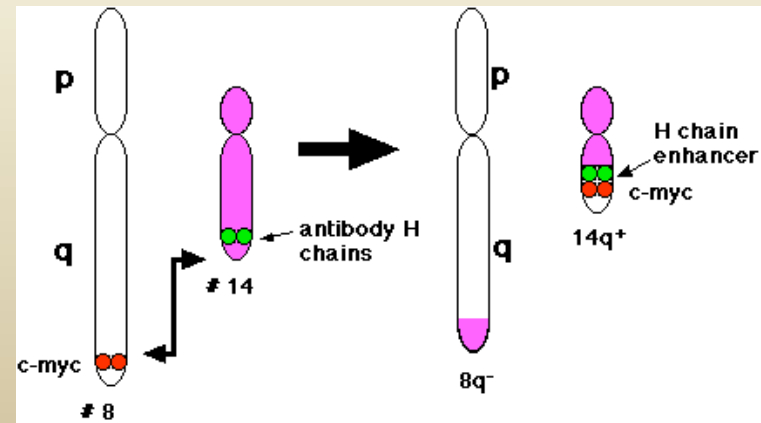
Nella maggior parte dei tumori associati a EBV c'è una traslocazione 8;14.

EBV e Traslocazione 8;14

Nel cromosoma 8 c'è l'oncogene **c-myc**, nel 14 ci sono i geni che codificano le **catene pesanti delle Ig**, che sono regolati da forti promotori della trascrizione. (cromosoma 2 = catene leggere κ , crom 8 = catene leggere λ).



Nella traslocazione c-myc trasloca al cromosoma 14, ponendosi sotto il controllo del promotore del gene delle Ig → altera regolazione e aumento di trascrizione ed espressione di c-myc → crescita delle cellule tumorali.



Linfoma di Burkitt

Linfoma maligno a cellule B, prevalente in Africa Tropicale ad altitudini inferiori a 1500 m., e in Nuova Guinea: zone in cui la MALARIA è endemica.

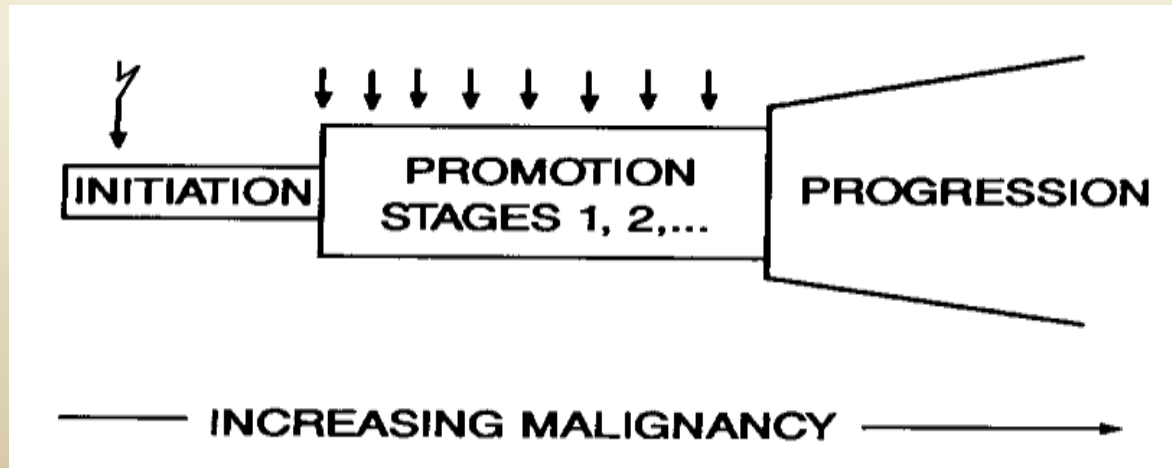
EBV è stato originariamente isolato da cellule tumorali coltivate in vitro. EBV è regolarmente associato al linfoma di Burkitt, suggerendo una associazione diretta causa-effetto (presenza di DNA virale, espressione di antigeni virali, traslocazione 8;14).

Ma EBV è presente in tutto il mondo. Perché una particolare localizzazione geografica?

Si pensa ad un ruolo della malaria. Attacchi ripetuti di malaria riducono l'immunità cellulo-mediata (specie nell'infanzia), responsabile del controllo della proliferazione delle cellule EBV-trasformate, e stimolano antigenicamente i linfociti B.

Carcinogenesi da EBV: esempio di carcinogenesi multifattoriale

- 1) EBV immortalizzando i linfociti B sarebbe l'iniziatore della trasformazione;
- 2) l'infezione malarica amplierebbe la popolazione di linfoblasti, potenzialmente favorendo la comparsa della traslocazione;
- 3) la traslocazione sarebbe responsabile della definitiva trasformazione neoplastica.
- 4) ma sono coinvolti anche altri fattori (forse genetici) in quanto i maschi sono più colpiti delle femmine.



Carcinoma nasofaringeo

Generalmente raro, è molto diffuso nel Sud della Cina e fra gli Eschimesi. Le cellule neoplastiche contengono copie multiple del DNA di EBV ed esprimono antigeni EBNA e LMP.

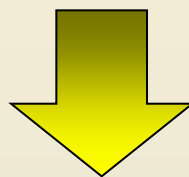
Probabilmente sono **coinvolti fattori genetici o alimentari** (Cinesi emigrati in altre parti del mondo mantengono un elevato rischio di sviluppare il carcinoma nasofaringeo)

Figure 4.2: Epstein-Barr virus-associated Burkitt lymphoma & nasopharyngeal carcinoma



Inoltre:
pazienti immunocompromessi (HIV, trapiantati) sviluppano
linfomi associati a EBV a rapida insorgenza (4 mesi), senza
necessità di cofattori.

In questi casi
TERAPIA EBV



No terapia antivirale →

Terapie anti-tumorali

HHV-8 (KSHV)

Isolato nel 1994 mediante PCR differenziale in cellule di Sarcoma di Kaposi e detto per questo motivo KSHV = Kaposi's sarcoma associated herpesvirus.



Infezione PRIMARIA: sconosciuta

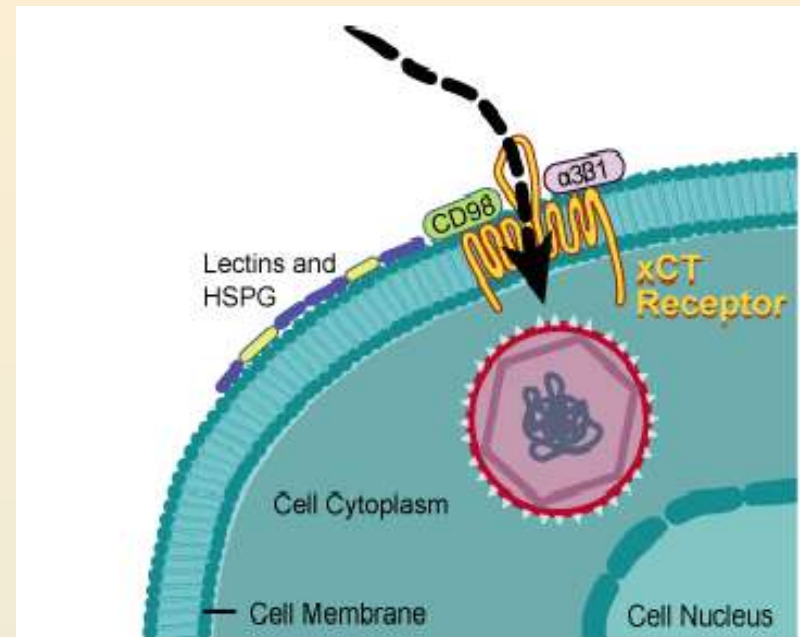
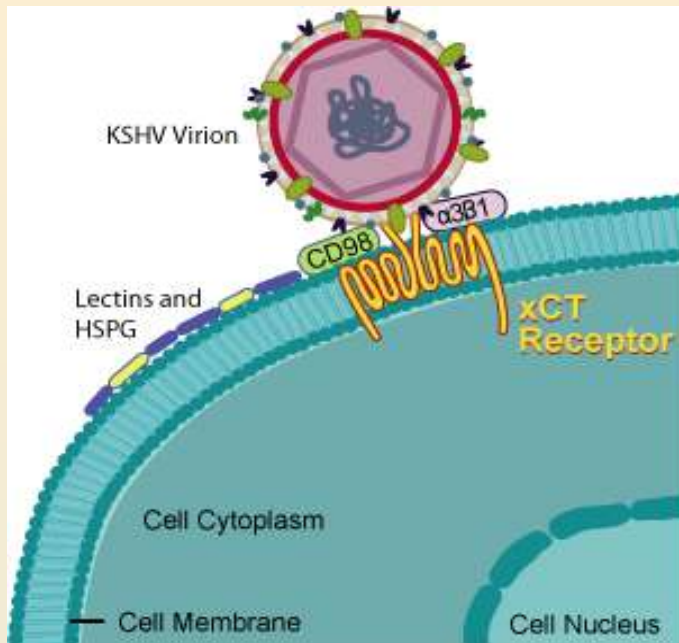
Infezione PRODUTTIVA: linfociti B, cellule endoteliali (epiteliali?)

Infezione LATENTE: linfociti B, cellule endoteliali (epiteliali?)

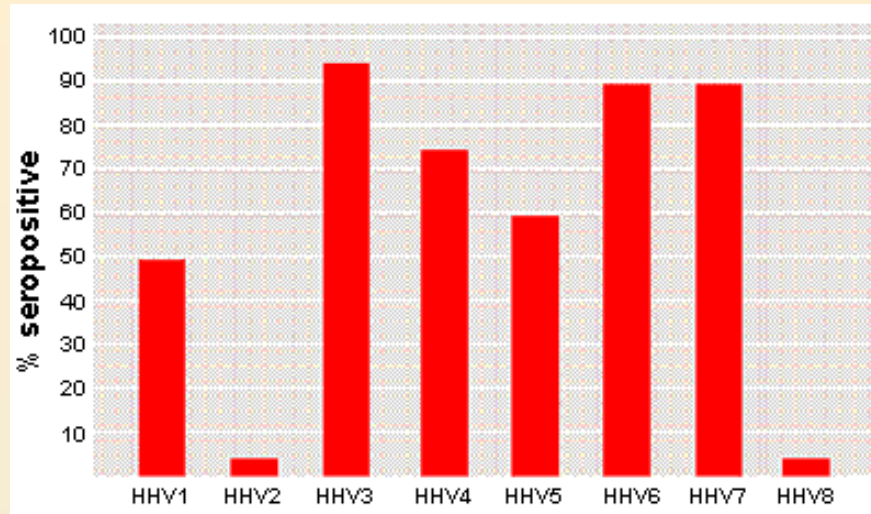
TRASMISSIONE: via sessuale, trapianti, trasm. verticale

Viene mantenuto sotto controllo immunologico e diventa un problema solo durante immunosoppressione (es: età avanzata, trapiantati, AIDS)

CICLO HHV8: ingresso



RECETTORI: la **gB** e la proteina **K8.1** (VAP) legano residui di **eparan solfato**, **CD98** (glicoproteina eterodimerica che forma il LAT1= Large neutral amino acid transporter)(entrambi ubiquitari) e **$\alpha 3\beta 1$ -integrin** (gB, tropismo ristretto).



HHV-8:

- 1) si trova raramente nella popolazione sana (sieroprevalenza **5-10%** in donatori sani Italia, 35% in omosessuali HIV+; >85% nei pazienti KS)
- 2) ha una distribuzione geografica particolare (<5% in USA, 10% in Italia, >20% in alcune zone dell'Africa).

PATOGENESI HHV-8

Kaposi's Sarcoma:
classico, endemico, HIV-associato,
trapianto-associato

Primary Effusion Lymphomas: rara
forma di B-cell linfoma AIDS associato

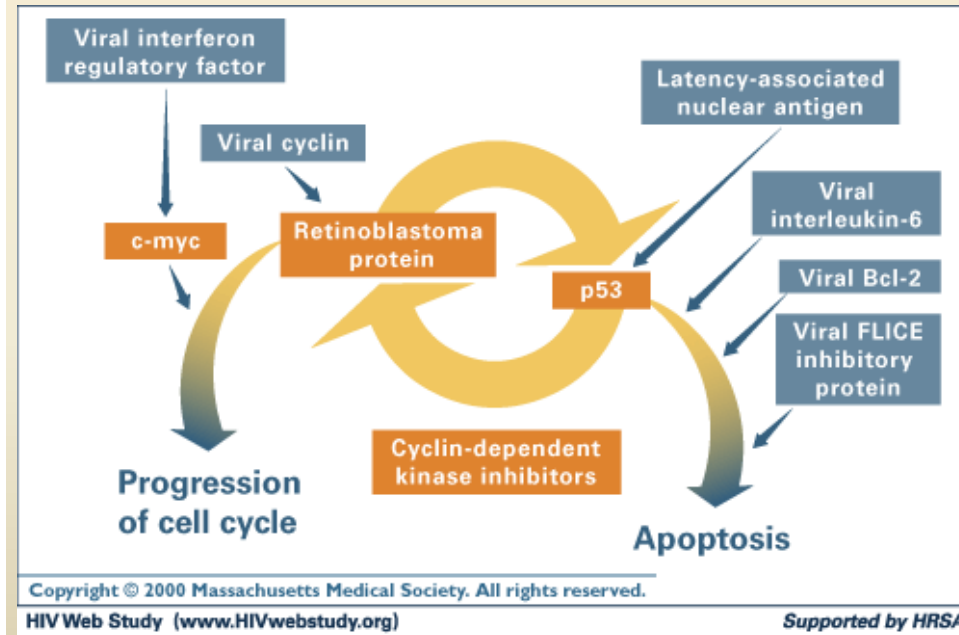
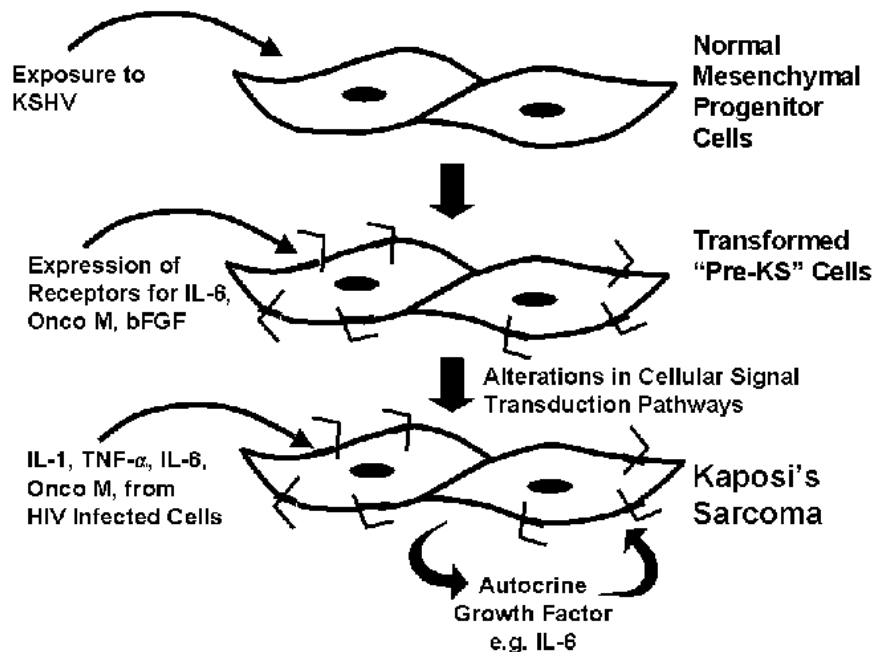
Multicentric Castelman's Disease: disordine
linfoproliferativo



**HHV-8 = virus ONCOGENO, soprattutto durante
immunosoppressione (AIDS)**

MECCANISMO ONCOGENO:

Due possibilità: meccanismo **autocrino/paracrino** o **trasformazione diretta**.
Ci sono evidenze di entrambi: il virus ha geni direttamente trasformanti (**K1**, **K12**, **vGPCR**) e omologhi di geni cellulari che codificano fattori che possono potenziare l'oncogenesi mediante il pattern citokine/chemiokine (**ciclina D**, **recettore per IL-8**, **recettore per IL-6**, ecc.).



Sarcoma di Kaposi:

**complesso tumore a
componente infiammatoria e
neoangiogenetica.**

4 forme:

- Classica**
- Endemica**
- Associata a AIDS**
- Associata a trapianto**

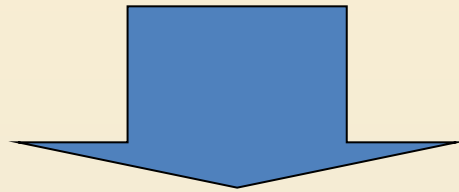


Sarcoma di Kaposi viscerale (AIDS) →



Tutti i tipi di neoplasia sono associate a HHV-8.

IMPORTANTE: nelle cellule tumorali il virus si trova in maggioranza allo stato **latente**, tuttavia per la progressione del tumore sembra cruciale la piccola percentuale (**2-5%**) di cellule in cui il virus si **riattiva**.



Importanti conseguenze anche per la **TERAPIA:**

Per le neoplasie indotte da HHV-8 (non per EBV) è efficace l'uso di **ANTIVIRALI (Ganciclovir in particolare). Bloccando la replicazione produttiva del virus si inibisce la progressione della massa tumorale.**

Efficace anche acido retinoico.