

Az emberi 6B és 7-es herpesvírus valamint az emberi parvovírus B19 szerepe pityriasis rosea és “kesztyű-zokni” betegség kóroktanában

Vág Tibor

Doktori tézisek

Klinikai Orvostudományi Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Ongrádi József, Ph.D.

Hivatalos bírálók: Dr. Berencsi György, Ph.D, c. egyetemi tanár
Dr. Szalai Zsuzsa, Ph.D, osztályvezető főorvos

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Temesvári Erzsébet, Ph.D. ,
egyetemi magántanár.

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Mester Ádám, Ph.D. egyetemi docens
Dr. Barcs István, Ph.D., egyetemi adjunktus

Bevezetés és célkitűzések

A pityriasis rosea (PR, rózsahámlás) régóta ismert gyulladásoos bőrbetegség, amely főleg serdülőket és fiatal felnőtteket érint. A betegség kezdetén egy erythémás bőrelváltozás az ún. “anyagóc” jelenik meg, majd 1-2 hét múlva számos kisebb másodlagos lézió alakul ki a bőrön, főleg a törzsön és a végtagokon.

A “kesztyű-zokni” betegség (papular-purpuric “gloves and socks” syndrome”, PPGSS) egy újabban leírt, rendkívül ritka, viszketéssel járó bőrbetegség, amely a kezeket és lábfejeket érinti, éles határral a csuklók és bokák tájékán. A bőr fájdalmas, erythémás, ödémás, kis apró papulák jelennek meg kesztyű illetve zokni területén mutatkozó eloszlásban, majd petechiák, purpurák alakulnak ki.

Mindkét bőrbetegség etiológiája ismeretlen. A utóbbi időben felmerült, hogy a PR kiváltásában elsősorban a human herpesvírus (HHV) 7 és a PPGSS kiváltásában elsősorban az emberi parvovírus B19 (PV-B19) játszhat szerepet, de számos további kórokozó etiológiai szerepe is szóba került. A kérdés nyitott. Ezért jelen munkánkban a következő kérdések megválaszolására tettünk kísérletet: (I) Milyen gyakori és milyen jellegű a szeroprevalencia egészséges gyermekekben és az egészséges magyar felnőtt populációban? (II) Játsszik-e szerepet a HHV-6B és HHV-7 a PR etiológiájában, és ha igen, akkor elsődleges vírusfertőzés vagy a lappangó vírus reaktiválódása esetleg újrafertőződés következtében alakul ki ez a kórkép? (III) A HHV-6B, HHV-7 vagy a PV-B19 játszhat-e szerepet a PPGSS etiológiájában?

Anyag és módszer

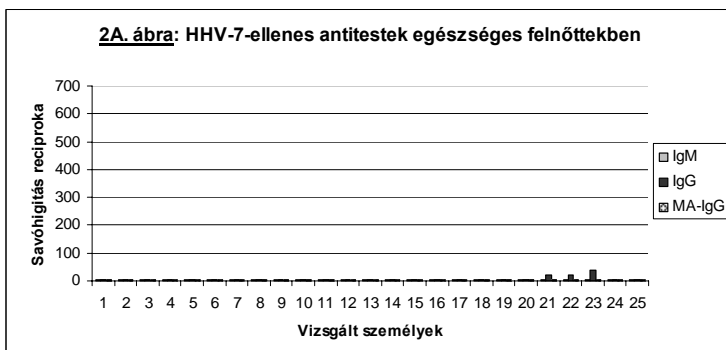
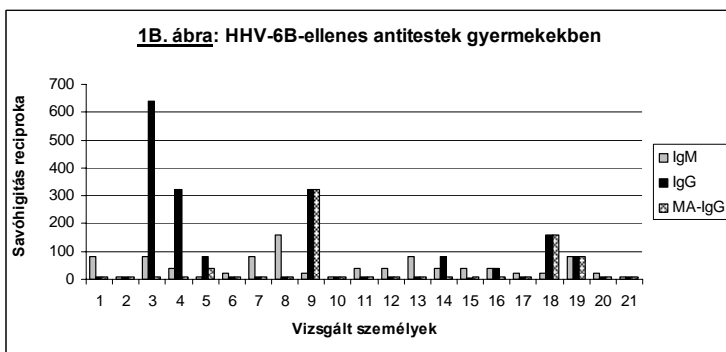
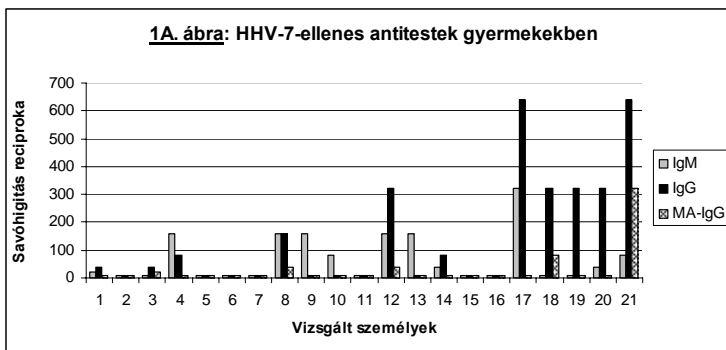
Az IgM, IgG és magas aviditású (MA, high avidity, HA) IgG jelenlétét és mennyiségét indirekt immunofluoreszcenciás (IF) módszerrel állapítottuk meg 21 egészséges gyermekben, 25 egészséges felnőttben és 33 PR-ban szenvedő betegben. A vizsgált egyének savó-, illetve plazmamintáiból

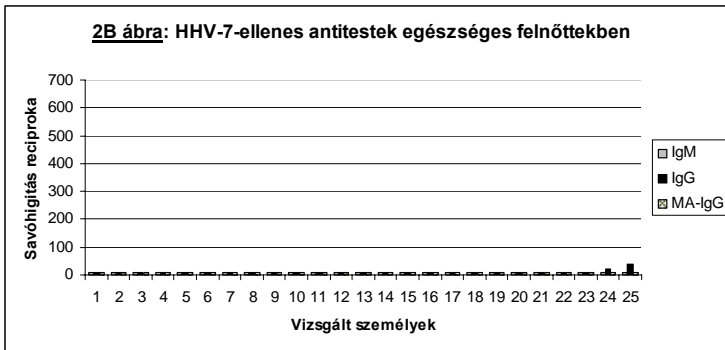
hígítási sorokat készítettünk, amelyeket HHV-7 fertőzött Sup-T1 és HHV-6B fertőzött MOLT-3 sejteken vizsgáltunk. Az alacsony aviditású antitesteket 8M urea oldattal távolítottuk el. A MA-IgG antitestek a primer fertőzéstől számítva kb. 2 hónap múlva alakulnak ki, ami azt jelenti, hogy a MA-IgG jelenléte vagy reinfekciót vagy a lappangó állapotból történt vírus reaktivációt mutat. Négy PPGSS-betegből a fentiekén túl a PV-B19 elleni antitesteket is meghatároztuk ELISA-módszerrel (enzyme linked immunosorbent assay, Biotron 3rd generation, Mumbai, India). A továbbiakban fészkes PCR-el mutattuk ki a HHV-7 DNS jelenlétét 23 PR-ban szenvedő beteg, 10 egészséges felnőtt és a PV-B19 DNS-ét 4 PPGSS-ben szenvedő beteg perifériás mononukleáris fehérvérsejtjeiből (PBMC), utóbbit a savóból. A HHV-6B DNS kimutatása szükségtelennek látszott, mivel mindkét betegcsoportban a HHV-6B ellenes antitestek nagyon alacsony titerben fordultak elő.

Három PR-ban szenvedő beteg szeparált perifériás mononukleáris fehérvérsejtjeit HHV-7 iránt érzékeny Sup-T1, HHV-6B érzékeny MOLT-3, HHV-6A érzékeny HSB-2 és JHAN, valamint HSV1/2, varicella-zoster-vírus, adenovírusok és számos más vírus iránt érzékeny VERO, GMK sejtekkel együtt tenyésztettük, vírusizolálás céljából. A cytopathiás hatást mutató sejteket HHV-7 és HHV-6 elleni és más vírusok elleni antitestekkel festettük a közölt módon (Vág et al. 2003). Az izolált vírusokat ezenkívül elektronmikroszkópiával és PCR-rel is azonosítottuk.

Eredmények

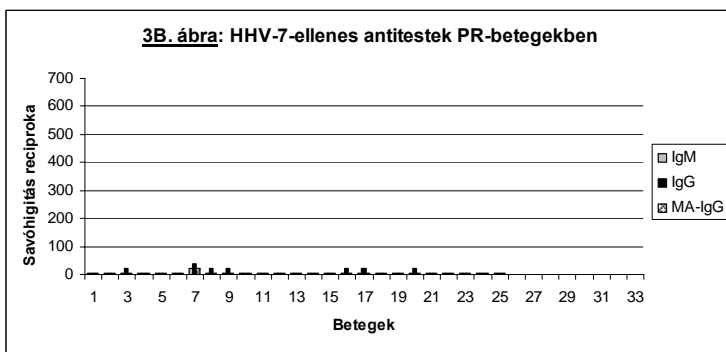
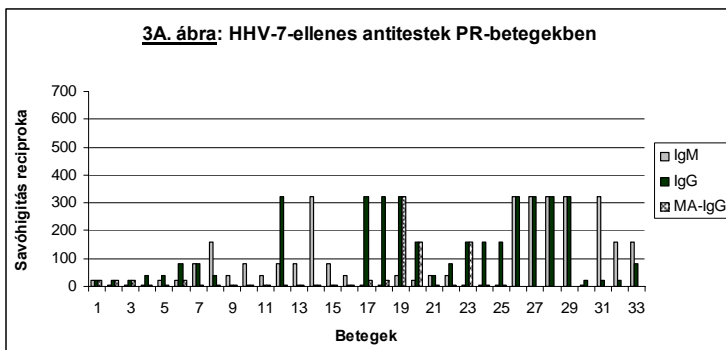
A szerológiai vizsgálatok egészséges gyermekekben szignifikánsan emelkedett antitest szinteket jeleztek HHV-7 esetében (1A. ábra) 66,7% és HHV-6B esetében 85,7% (1B. ábra) arányban. Egészséges felnőttek 80%-ában a HHV-6B és a HHV-7 elleni antitestek szintje a kimutathatóság határán volt, és csak 20%-ukban volt enyhén emelkedett (2A. és 2B. ábrák)





Mind a 33 PR-ban szenvedő beteg HHV-7 elleni antitestjeinek szintje szignifikánsan magasabb volt mint az egészséges kontrollokban (100%, $p < 0,05$). Tizenhét esetben nem lehetett kimutatni MA-IgG-t, ami elsődleges fertőzésre utal, viszont 8 PR-ban szenvedő betegben kimutatható volt MA-IgG, ami a hordozott vírus reaktiválódására vagy reinfekcióra utal, további 8 esetben nem történt meg a MA-IgG szint vizsgálata, ezért ezekben a betegekben nem lehetett meghatározni, hogy elsődleges fertőzés vagy reaktiválódás esetleg reinfekció történt-e (3A. ábra).

A HHV-6B elleni antitestek általában minden PR-ban szenvedő betegben alacsony titerűek voltak (3B. ábra), mindössze 6 betegben volt észlelhető az IgG kismértékű emelkedése, és csupán egy betegben volt észlelhető mindhárom antitest feleség csekély emelkedése.



Huszonhárom PR-ban szenvedő beteg esetében végeztük a HHV-7 DNS-ének kimutatását PCR segítségével, ezekből 12 esetben (51,5%) tudtuk kimutatni, ugyanakkor a kontroll csoportban 30% volt a kimutathatóság aránya.

A 3 kiválasztott PR-ban szenvedő beteg perifériás vér lymphocytáinak aktiválása és együttes tenyésztése sejtkulturákon sikeres volt: a cytopathiás hatás alapján rövid időn belül nagy mennyiségű vírust nyertünk, amit immunfluoreszcenciás módszerrel, elektronmikroszkópiával és PCR révén egyöntetűen HHV-7-ként azonosítottunk. Más vírust a co-cultiválás során nem nyertünk.

Mind a 4 kesztyű-zokni betegségben szenvedő betegben magas titerben mutattunk ki HHV-7 ellenes antitesteket (I. táblázat). Az antitestek jellege elsődleges fertőzésre utal az első betegben, míg a többi hároméban vírus reaktiválódásra, esetleg újrafertőződésre. Két beteg savómintájában PV-B19 elleni magas antitest szintet találtunk, az antitestek jellege az egyik esetben friss fertőzésre, a másik esetben vírus reaktiválódásra vagy újrafertőződésre utal. HHV-6B ellenes antitesteket egyik ide tartozó betegben sem lehetett kimutatni. HHV-7 DNS-t mindhárom vizsgált beteg szeparált perifériás lymphocytáiból ki lehetett mutatni, egy esetben nem történt meghatározás. PV-B19 DNS két beteg szérumában volt kimutatható, két betegében nem.

I. táblázat

Szám	Név	Nem ill. családtag	Életkor (év)	HHV-6B		HHV-7		PV B19	
				Szerológia	PCR	Szerológia	PCR	Szerológia	PCR
1	F.A.	Leány	13	IgM<1:20 IgG 1:20	n.v	IgM>1:640 IgG>1:640 MA-IgG<1:20	n.v	IgM>1:640 IgG>1:640 MA-IgG<1:20	pozitív
2	S.A.	Fiú	1.5	n.t	n.v	IgM<1:20 IgG 1:80 MA-IgG 1:80	pozitív	IgM<1:20 IgG<1:20 MA-IgG n.t	negatív
3	S.Z.	Apa	29	IgM<1:20 IgG 1:20 MA-IgG<1:20	n.v	IgM 1:80 IgG 1:160 MA-IgG 1:160	pozitív	IgM<1:20 IgG 1:160 MA-IgG 1:160	pozitív
4	B.G.	Anya	41	IgM<1:20 IgG<1:20 MA-IgG<1:20	n.v	IgM<1:20 IgG 1:160 MA-IgG 1:160	pozitív	IgM<1:20 IgG<1:20 MA-IgG<1:20	negatív

n.v: nem vizsgált

Megbeszélés

Jelen vizsgálatok voltak az első felmérések Magyarországon egészséges gyermekek és felnőttek körében a HHV-6B és a HHV-7 szeroepidemiológia területén. Megállapítottuk, hogy az elsődleges HHV-6B és HHV-7 fertőzés többnyire kisgyermekkorban megtörténik (18 hónapos kor előtt), ami jól egyezik a világ más részein közölt eredményekkel. Fontos azonban kiemelni, hogy a gyermekek egy része nem esik át HHV-7 fertőzésen, szeronegatív marad, következményesen későbbi életkorban is fogékony marad HHV-7 fertőzés iránt. Ugyancsak a mi vizsgálataink voltak az elsők, amelyekben a HHV-6B illetve a HHV-7 ellenes alacsony és magas aviditású IgG antitestek mennyiségét is meghatároztuk, hogy a betegektől nyert egyetlen rendelkezésre álló savómintában biztosabban elkülöníthessük az elsődleges vírusfertőzést a vírus reaktiválódástól vagy esetleges újrafertőződéstől pityriasis rosea lefolyása során. Ezek alapján megállapítottuk, hogy többnyire a HHV-7 szeronegatív fiatal felnőttekben bekövetkezett primér HHV-7 fertőzés váltja ki a PR tüneteit, bár egyes ritka esetekben a vírus reaktiválódása vagy a vírussal történt újrafertőződés is eredményezheti ugyanezt. A PR etiológiájából a HHV-6B fertőzés szerepét kizártuk.

További eredményeink arra is utalnak, hogy kesztyű-zokni betegségen mind a PV-B19, mind a HHV-7 etiológiai szerepet játszhat. A pathomechanismus során ezért felmerül a két vírus kölcsönhatása (ami gyakori Roseolovírusok tagjainak esetében) vagy esetleg mindkét vírus egy még nem azonosított ágenst aktiválhat, sőt a két vírus a betegek valamilyen ritka genetikai adottságával kerülhet kapcsolatba. Tudomásunk szerint mi voltunk az elsők, akik a PPGSS és a HHV-7 fertőzés között kapcsolatot találtak. Mivel ez a betegség rendkívül ritka, a rendelkezésre álló adatokból abszolút következtetéseket még korai lenne levonni arra vonatkozólag, hogy elsődleges vagy másodlagos (reaktiválódás, esetleg újrafertőződés) HHV-7

fertőzés váltja ki a kórképet. Ajánlani tudjuk azonban nagyobb számú minta gyűjtését, és fenti irányokban történő vizsgálatát.

Saját publikációk jegyzéke

Folyóiratban megjelent közlemények

1. Ongrádi J., Nagy K., **Vág T.**, Bánhegyi D., Miheller P., Sréter L., Horváth A. Human herpesvirus (HHV) 6A is , but HHV-6B and HHV-7 are not sexually transmitted infections. Magyar Venerológiai Archivum 2000;4: 79-84.
2. **Vág T.**, Sonkoly E., Kemény B., Kárpáti S., Horváth A., Ongrádi J. Az emberi 7-es herpesvírus újabb szerepének vizsgálata bőrbetegségekben (Studies on the novel association of human herpesvirus-7 with skin diseases). Orv. Hetil. 2003; 144: 1623-1629.
3. **Vág T.**, Sonkoly, E., Ongrádi J., Kárpáti S., Horváth A. Avidity of antibodies to human herpesvirus-7 suggests primary infection in young adults with pityriasis rosea. J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. 2004; 18: 738-740. **IF: 1,401**
4. **Vág T.**, Sonkoly E., Kemény B., Kárpáti S., Horváth A., Ongrádi J. Familiar occurrence of papular purpuric “gloves and socks” syndrome with human herpesvirus 7 and human parvovirus B19 infection. J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. 2004;18: 639-641. **IF: 1,401**

Idézhető előadáskivonatok

1. Ongrádi J., Nagy K., **Vág T.**, Bánhegyi D., Horváth A. Human herpesvirus (HHV) 6 variant A is, but HHV-6B and HHV-7 are not sexually transmitted diseases. 16th IUSTI European Congress on STDS and AIDS, Budapest, Sept 3-5 ,2000, Magyar Venerológiai Archivum 2000; 4: 135.
2. **Vág,T.**, Becker,K., Kemény,B., Kárpáti,S., Mezey,I., Horváth,A., Ongrádi,J. HHV-7 and human parvovirus B19 in the papular-purpuric „gloves and socks“ syndrome. Meeting of the Hungarian Society for Microbiology, Keszthely, August, 24-26, 2001, Acta Microbiol. Immunol. Hung. 2001; 48: 283.
3. Ongrádi,J., Kovács,K., **Vág,T.**, Bánhegyi,D., Nagy,K., Miheller,P., Horváth,A. Serological evidence of possible sexual transmission of HHV-6A, but not HHV-6B and HHV-7. Conferinta Nationala de Dermatologie, Poiana Brasov, Románia, Sept. 28-30, 2000. Abstract Book p. 21.
4. Ongrádi,J., Kovács,K., Miheller,P., **Vág,T.**, Kárpáti,S., Sréter,L., Horváth,A. HHV-6A, HHV-6B és HHV-7 mint három különálló kórokozó bőr- és nemibetegségekben (HHV-6A ,HHV-6B and HHV-7, as three distinct pathogens in dermato-venereological disorders). Meeting of the Hungarian Society for Dermatology, Budapest, December 8-9, 2000. Abstracts

5. **Vág,T.**, Sonkoly,E. Az emberi 7-es herpesvírus (HHV-7), mint a pityriasis rosea (PR) és a “kesztyű-zokni” betegség (PPGSS) lehetséges kórokozója (The human herpesvirus 7 /HHV-7/ as the possible causative agent of pityriasis rosea /PR/ and „gloves and socks“ syndrome /PPGSS/). SE Orvos- és Gyógyszerésztudományi Karok Diákköri Konferenciája (Conference of Young Investigators, Faculties of Medicine and Pharmacology, Semmelweis University), Budapest, February 21-22, 2000. Előadás kivonatok 237. old. (Abstracts p.237), Second prize, awarded by Semmelweis University.
6. **Vág,T.**, Kemény,B., Mezey, I., Horváth,A., Ongrádi,J. Acute primary HHV-7 infection in pityriasis rosea and papular-purpuric „gloves and socks“ syndrome. Fourth Intern. Conference on Human Herpesviruses 6,7 and 8, Institut Pasteur, Paris, May 10-12,2001. Book of Abstracts p.O.27.
7. **Vág,T.**, Sonkoly,E., Kemény, B., Nagy, K., Horváth, A., Ongrádi, J. Antikörper und PCR Positivität gegenüber Humanes Herpesvirus 7 in Pityiasis Rosea und im Papular Purpuric “gloves-and-socks” Syndrome (Antibody titre and PCR positivity to human herpesvirus 7 in pityriasis rosea and papular purpuric „gloves-and-socks“ syndrome).The Austrian Society for Dermato-Venereology, Vienna, November 23-25, 2001. Abstract book p.27.

8. **Vág,T.**, Sonkoly, E., Kemény,B., Kárpáti, S., Nagy, K., Horváth, A.,Ongrádi, J. Pityriasis roseában és “kesztyű-zokni” betegségben a lymphocyták HHV-7 PCR pozitivitása párhuzamos a szérum antitestek magas titerével (HHV-7 PCR positivity of lymphocytes is parallel to the high serum antibody level in patients with pityriasis rosea and papular purpuric „gloves-and-socks“ syndrome). Meeting of the Hungarian Society for Dermatology, Budapest, December 13-15, 2001. Abstract book p. 39.

Folyóiratban megjelent nem disszertációhoz kapcsolódó közlemények

1. Vieira JM., Santos SC., Espadinhs C., Correia I., **Vag T.**, Casalou C., Cavaco BM., Catarino AL., Dias S., Leite V. Expression of VEGF and its receptors in thyroid carcinoma of follicular origin: a potential autocrine loop. Eur J Endocrinol. 2005 Nov;153(5):701-9 **IF:3,140**
2. **Vag T.**, Pfliederer S, Boettcher J, Wurdinger S., Gajda M., Camara O., Kaiser WA. Introducing a 10-Gauge handheld vacuum assisted breast biopsy device with self contained vacuum generating system. Eur Radiol 2007; 17: 3100-02 **IF: 3,405**
3. **Vag T.**, Baltzer P., Pfliederer S., Gajda M, Camara O., Kaiser WA. Diagnosis of ductal carcinoma in situ using contrast-enhanced magnetic resonance mammography compared with conventional mammography. Manuscript accepted in Clinical Imaging **IF: 0,711**

Nem disszertációhoz kapcsolódó idézhető előadáskivonatok

1. **Vag T.**, Schramm T., Hilger I., Kaiser WA. Identifying molecular targets for near infrared fluorescence imaging of angiogenesis. European Congress of Radiology , March 3-7 2006, Vienna, Austria. Eur Radiol Suppl 1 to Vol. 2006 ;16: 427
2. **Vag T.**, Schramm T., Hilger I., Kaiser WA. Molecular Markers for optical imaging of angiogenesis. Deutscher Röntgenkongress (German Congress of Radiology), May 24-27 2006, Berlin, Germany. Fortschritte Röntgenstr. 2006; 178:343
3. **Vag T.**, Schramm T., Kaiser WA., Hilger I. in Vitro Optical Imaging of the Angiogenic Markers CD105, VEGFR2 and TEM7. Workshop on Molecular Imaging, July 3-4 2006, Jena, Germany. Abstract Book: 80.
4. **Vag T.**, Pfleiderer S., Boettcher J, Kaiser WA. Vacuum assisted biopsy of the breast using a self contained device. Meeting of the Radiological Society of North America (RSNA), Nov. 25- Dec 2 2006, Chicago, USA. Radiology, 2006:Suppl.:266
5. **Vag T.**, Kaiser WA, Hilger I. Optical imaging of angiogenesis markers in an in vitro model for senescent and proliferating endothelial cells. European Society for Molecular Imaging (ESMI), Naples, June 14-15 2007. Molecular Imaging Vol. 6 2007; 5: 354

6. **Vag T.**, Pauli J., Haag R., Resch U, Kaiser WA, Hilger I.
Characterization of new near infrared fluorescence dyes for molecular imaging. European Society for molecular imaging (ESMI), Naples, June 14-15 2007. *Molecular Imaging* Vol. 6 2007; 5: 360
7. **Vag T.**, Haag R., Pauli J., Resch U., Kaiser WA., Hilger I. Stability and cytotoxicity of new near infrared dyes for optical imaging. Congress of the German Society for Molecular Imaging (MoBi), Kiel, July 5-7 2007. *Frontiers in Bioscience* 2008 Vol. 13, Suppl.: 45.
8. Pauli J., **Vag T.**, Haag R., Hilger I., Kaiser WA., Resch-Genger U.
Spectroscopic properties of new near infrared dyes for molecular imaging. Congress of the German Society for Molecular Imaging (MoBi), Kiel, July 5-7 2007. *Frontiers in Bioscience* 2008 Vol. 13, Suppl.: 41.
9. Pauli J., **Vag T.**, Haag R., Kaiser WA., Hilger I. Resch-Genger U.
Characterization of new near infrared dyes for optical imaging. *Methods and Applications of Fluorescence*, Salzburg Sept. 9-12, 2007. Abstract Book.
10. Pfeleiderer SOR, Brunzlow H., Schulz-Wendtland R., Pamilo M., **Vag T.**, Kaiser WA. Stereotactic 9-G biopsy of the breast using a self-contained vacuum-assisted device: a multicenter trial. *Deutscher Röntgenkongress (German Congress of Radiology)*, May 25-28 2007, Berlin, Germany, *Fortschr. Röntgenstr.* 2007; 179

11. **Vag T.**, Kaiser WA., Hilger I. Optical Imaging of Angiogenesis Markers in an in vitro model mimicking physiological and angiogenic endothelial cells. Meeting of the Radiological Society of North America (RSNA), Nov. 25- Dec 2 2007, Chicago, USA. Radiology, 2007 :Suppl.: 456

12. **Vag T.**, Baltzer PAT., Renz DM., Pfeiderer SOR. , Gajda M., Camara O., Kaiser WA. Diagnosis of Ductal Carcinoma in Situ using Contrast-Enhanced Breast MRI compared to conventional mammography. European Congress of Radiology March 7-11 2008. Eur Radiol Suppl 2008 18: 361

13. Renz DM., Baltzer PAT., Böttcher J., Thaher F., **Vag T.**, Gajda M., Camara O., Kaiser WA. Malignant and benign inflammation in MR-mammography: Can MRI distinguish inflammatory breast carcinoma from acute mastitis? European Congress of Radiology March, 7-11 2008. Eur Radiol Suppl 2008; 18:360

