

## Ανίχνευση ιών της ομάδας του έρπητος σε ελκώδη κολίτιδα

N. Καπράνος, Σ. Σάββα, Δ. Κοτρονιάς, Ε. Πατρά, Β. Δουλγέρογλου, Ε. Κόκκα

### *Detection of Herpesvirus in ulcerative colitis*

Kapranos N, Savva S, Kotronias D, Patra E, Doulgeroglou B, Kokka E  
Pathology and Molecular Pathology Departments, "Amalia Fleming" Gen. Hospital,  
Athens

**Aim:** The detection of herpes simplex virus 1,2 (HSV 1,2), cytomegalovirus (CMV) and Epstein-Barr (EBV) DNA in ulcerative colitis (UC) biopsies and the correlation of the findings with clinical and pathological parameters.

**Material - Methods:** Rectal biopsies from 30 patients with UC and 9 normal controls were examined by in situ hybridization technique using biotin-labeled DNA probes specific for HSV 1,2, CMV and EBV.

**Results:** Viral genome of at least one of the studied virus was detected in the epithelial cell of colonic crypts, in 18 cases of UC (60%) and in one out of 9 cases (11%) of normal controls ( $P=0,02$ ). HSV DNA was detected in 18 cases, CMV DNA in 14 cases and EBV DNA in 10 cases of UC. As regards the virus combinations in UC we found: HSV+CMV+EBV: 9 cases (30%), HSV+CMV: 5 cases (16,7%), HSV+EBV: 1 case (3%) και HSV only: 3 cases (10%). The percentage of virally labeled nuclei in relation to active and inactive UC respectively, was 6,3% - 11,3% for HSV, 7% - 5,8% for CMV and 1,5% - 6,4% for EBV. No correlation was found between the prevalence of viral DNA and indeterminate dysplasia, whereas in cases of neoplastic dysplasia a tendency toward the decrease of viral incidence was observed.

**Conclusion:** Our findings show a high prevalence of viruses of herpes group in ulcerative colitis, which may play a synergistic role in the pathogenesis or in reactivation of the disease.

**Key words:** Herpes, Virus, Ulcerative colitis, hybridization, Epstein Barr, Cytomegalovirus.

**Σκοπός:** Η ανίχνευση γονιδιώματος ιών έρπητος 1,2 (HSV), κυτταρομεγαλοϊού (CMV) και Epstein-Barr (EBV) σε βιοψίες ασθενών με χρόνια ελκώδη κολίτιδα και

η συσχέτιση της παρουσίας τους με τα ιστολογικά ευρήματα.

**Υλικό - Μέθοδοι:** Βιοψίες ορθού τριάντα ασθενών με ελκώδη κολίτιδα και εννέα ατόμων με φυσιολογικό παχύ έντερο εξετάσθηκαν με τη μέθοδο του *in situ* υβριδισμού και με τη χρήση δεικτών DNA σημασμένων με βιοτίνη για τους ιούς HSV1,2, CMV και EBV.

**Αποτελέσματα:** Γονιδίωμα ενός τουλάχιστον από τους παραπάνω ιούς ανιχνεύθηκε στους πυρήνες των επιθηλιακών κυττάρων των εντερικών κρυπτών, σε 18 περιπτώσεις ελκώδους κολίτιδος (60%) και 1 από τις 9 βιοψίες (11%) φυσιολογικού παχέος εντέρου. HSV DNA ανιχνεύθηκε σε 18, CMV DNA σε 14 και EBV DNA σε 10 περιπτώσεις. Ειδικότερα στην ελκώδη κολίτιδα ανιχνεύθηκαν: HSV+CMV+EBV: 9 περ. (30%), HSV+CMV: 5 περ. (16,7%), HSV+EBV: 1 περ. (3%) και HSV: 3 περ. (10%). HSV Το ποσοστό των δεικτών πυρήνων ανά βιοψία σε ενεργό και μη-ενεργό κολίτιδα για HSV ήταν 6,3 και 11,3 αντίστοιχα, για CMV 7 και 5,8 και για EBV 1,5 και 6,4 αντίστοιχα. Δεν βρέθηκε σχέση μεταξύ παρουσίας ιού και ακαθόριστης επιθηλιακής δυσπλασίας ενώ παρατηρήθηκε τάση ελάττωσης της δεικνότητας σε περιπτώσεις νεοπλασματικής δυσπλασίας.

**Συμπέρασμα:** Τα ευρήματα μας δείχνουν συχνή λοίμωξη από ιούς της ομάδας του έρπητος σε ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα, οι οποίοι πιθανόν να εξασκούν συνεργική δράση τόσο στην παθογένεια της νόσου όσο και στην εμφάνιση υποτροπών.

**Λέξεις κλειδιά:** Ελκώδης κολίτιδα, ερπητοϊοί, κυτταρομεγαλοϊός, ιός Epstein-Barr.

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ελκώδης κολίτιδα αποτελεί χρόνια φλεγμονώδη νόσο του παχέος εντέρου αγνώστου αιτιολογίας. Η νόσος προσβάλλει το βλεννογόνο του παχέος εντέρου και κυρίως του ορθού, από το οποίο εκδηλώνεται αρχικά και επεκτείνεται ακολούθως στο υπόλοιπο παχύ έντερο. Μεταξύ των παραγόντων που εμπλέκονται στην αιτιοπαθογένεια της νόσου περιλαμβάνονται λοιμώξεις, ανοσολογικοί μηχανισμοί, διαταραχές στη σύνδεση της βλέννης, γενετικοί παράγοντες και ψυχοκινητικές διαταραχές<sup>1</sup>. Όσον αφορά τους λοιμώδεις παράγοντες έχουν ενοχοποιηθεί στελέχη *Escherichia Coli*, *Campylobacter jejuni*, βακτηριοειδή (*Eubacterium spp*, *Peptococcus*, *Yersinia enterocolitica*) και το *Mycobacterium Kankasi*<sup>2</sup>.

Οι πρώτες υποψίες για την εμπλοκή ιών σε ελκώδεις κολίτιδες προέρχονται από πειράματα ενοφθαλμισμού κυττάρων από πάσχοντα εντερικό βλεννογόνο σε καλλιέργεια κυττάρων, όπου παρατηρήθηκε κυτταροπαθητική δράση ιογενούς τύπου<sup>3</sup>. Αντίθετα, πειράματα ενοφθαλμισμού κυττάρων από πάσχον παχύ

έντερο στο τοίχωμα εντέρου πειραματοζώου<sup>4</sup> καθώς και παρατηρήσεις με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο<sup>5</sup> δεν απέδωσαν σαφή αποτελέσματα. Μετέπειτα ιολογικές μελέτες συσχέτισαν τη νόσο με αδενοϊούς<sup>6</sup> και με τον ιό της ιλαράς<sup>7</sup>. Η πρώτη έμμεση ένδειξη για την εμπλοκή της ομάδας των ερπητοϊών, προήλθε από συγκριτική ορολογική μελέτη αντισωμάτων έναντι κυτταρομεγαλοϊού (CMV) στον ορό ασθενών με ενεργό ελκώδη κολίτιδα και υγιών μαρτύρων, όπου παρατηρήθηκε σημαντικά υψηλότερος τίτλος στην πρώτη ομάδα<sup>8</sup>. Εκτός από μεμονωμένες περιγραφές περιπτώσεων ελκώδους κολίτιδας όπου ανευρέθη λοίμωξη από CMV<sup>9-12</sup>, ή Epstein-Barr (EBV)<sup>13</sup> στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχει μία μόνο συστηματική μελέτη ιών της ομάδας του έρπητος σε ασθενείς με ιδιοπαθή φλεγμονώδη νόσο του εντέρου με την τεχνική του φωλεακού PCR<sup>14</sup> (Wakefield et al 1992). Για το λόγο αυτό θεωρήσαμε ιδιαίτερα ενδιαφέρον να μελετήσουμε ταυτόχρονα τη συχνότητα, εντόπιση και κατανομή των τριών βασικών τύπων της ομάδας του έρπητος δηλ. των ιών του απλού έρπητος 1,2 (HSV1,2), CMV και EBV σε Έλληνες α-

σθενείς με ελκώδη κολίτιδα με τη χρήση της μορφολογικής μοριακής τεχνικής του DNA *in situ* υβριδισμού.

## ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Το υλικό της μελέτης απετέλεσαν βιοψίες ορθού 30 ασθενών με ελκώδη κολίτιδα και 9 ατόμων με φυσιολογικό παχύ έντερο από το αρχείο του Παθολογοανατομικού Τμήματος του ΝΓΝΜ Αμαλία Φλέμιγκ. Από κάθε ασθενή ελήφθησαν 3-4 ιστοτεμαχίδια μεγαλύτερης διαμέτρου 0,2-0,3 εκ. Όλες οι βιοψίες μονιμοποιήθηκαν για διάστημα 12-24 ωρών σε ουδέτερη φορμόλη και εμπεδώθηκαν σε παραφίνη. Οι βιοψίες διαβαθμίσθηκαν όσον αφορά την παρουσία ενεργού φλεγμονής, και επιδηλιακής δυσπλασίας, ακαδόριστης ή νεοπλασματικής.

### *In situ* υβριδισμός

Η ανίχνευση του γονιδιώματος των ιών HSV, CMV και EBV έγινε με τη μέθοδο του *in situ* υβριδισμού ως ακολούθως. Τομές πάχους 4 μm τοποθετήθηκαν σε πλακίδια δετικώς φορτισμένα και ακολούθως παρέμειναν σε κλίβανο 45° C όλη τη νύκτα. Την επόμενη μέρα οι τομές αποπαραφινώθηκαν σε θερμοκρασία 65° C και ακολούθως σε ξυλόλη (2X15 min), και ενυδατώθηκαν σε αιθανόλη 100° (2X5 min) και 95° (2X5 min). Οι τομές επωάσθηκαν ακολούθως με πρωτεΐνωση K (250 μg/ml) σε θερμοκρασία 37° C για 10 min, εκπλύθηκαν σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού (PBS) pH 7.6 και ακολούθως τοποθετήθηκαν για 15 sec σε υδατικό διάλυμα οξικού οξέος 20% για τη απάλειψη της δραστηριότητας αλκαλικής φωσφατάσης. Μετά την έκπλυση των πλακιδίων σε PBS (3X5 min), οι τομές αφυδατώθηκαν σε αιθανόλη 95° και 100° και αφέθηκαν να στεγνώσουν σε κλίβανο 37° C. Η αποδιάταξη του DNA του δείκτη και των κυττάρων της τομής έγινε ταυτόχρονα σε θερμοκρασία 96° C για 10 min και ακολούθησε ολονύκτιος υβριδισμός σε θερμοκρασία 37° C. Οι δείκτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τύπου δίκλωνου DNA, μήκους 300-400 βάσεις περίπου, και είχαν σήμανση με βιοτίνη (ENZO Diagnostics, New York). Η μεθυβριδική έκπλυση έγινε με ρυθμιστικό διάλυμα κλωριούχου-κιτρικού νατρίου (2XSSC)/50% φορμαμίδιο σε 37° C για 15 min. Η ανίχνευση της αντίδρασης υβριδισμού έγινε με στρεπταβιδίνη-αλκαλική φωσφατάση

(40 min σε θερμοκρασία δωματίου (ΘΔ)) και μικτό χρωμογόνο υπόστρωμα Bromochloro-indolyphosphate και nitroblue tetrazolium (BCIP/NBT, 45 min, θερμοκρασία δωματίου). Η μετάχρωση των πυρήνων έγινε με nuclear fast red. Ως δετικοί μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν επιχρίσματα καλλιέργειών κυττάρων μολυσμένων με ιούς: Vero (HSV1,2), MRC-5 (CMV) και B95.8 (EBV). Ως αρνητικοί μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν τα ίδια επιχρίσματα κυττάρων ελεύθερα ιών.

### Στατιστική ανάλυση

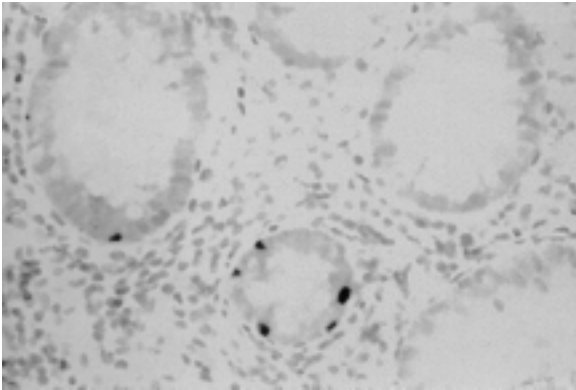
Τα αποτελέσματα της ανίχνευσης του DNA υβριδισμού και των παθολογοανατομικών χαρακτηριστικών των περιπτώσεων καταχωρήθηκαν σε στατιστικό πρόγραμμα ηλεκτρονικού υπολογιστή (Statistica for Windows, StatSoft, Tulsa, USA) και ακολούθησε στατιστική ανάλυση με τη χρήση των δοκιμασιών Fisher exact test και t-test. Στατιστικά σημαντική θεωρήθηκε κάθε τιμή στατιστικού σφάλματος (P) ίση ή μικρότερη από 0,05.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

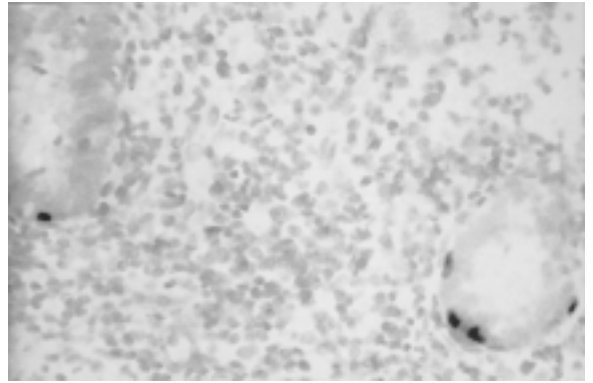
Η ιστολογική εξέταση των περιπτώσεων ελκώδους κολίτιδας που μελετήσαμε δεν εντόπισε κύτταρα με σαφείς μορφολογικούς χαρακτηριστικές ιογενούς λοίμωξης. Με την τεχνική του *in situ* υβριδισμού ανιχνεύθηκε DNA ενός τουλάχιστον από τους ιούς που αναζητήθηκαν σε 18 από τις 30 (60%) βιοψίες ορθού ασθενών με ελκώδη κολίτιδα. Το δετικό σήμα εντοπιζότο, για όλους τους τύπους των ιών, στον πυρήνα των επιδηλιακών κυττάρων των εντερικών κρυπτών (Εικ. 1-3). Η κατανομή των τύπων ιών στις ελκώδεις κολίτιδες φαίνεται στον πίνακα 1. Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων προκύπτει ότι πρώτος σε συχνότητα

**Πίνακας 1.** Κατανομή των ιών HSV(1,2), CMV και EBV στις 30 περιπτώσεις ελκώδους κολίτιδας που μελετήθηκαν.

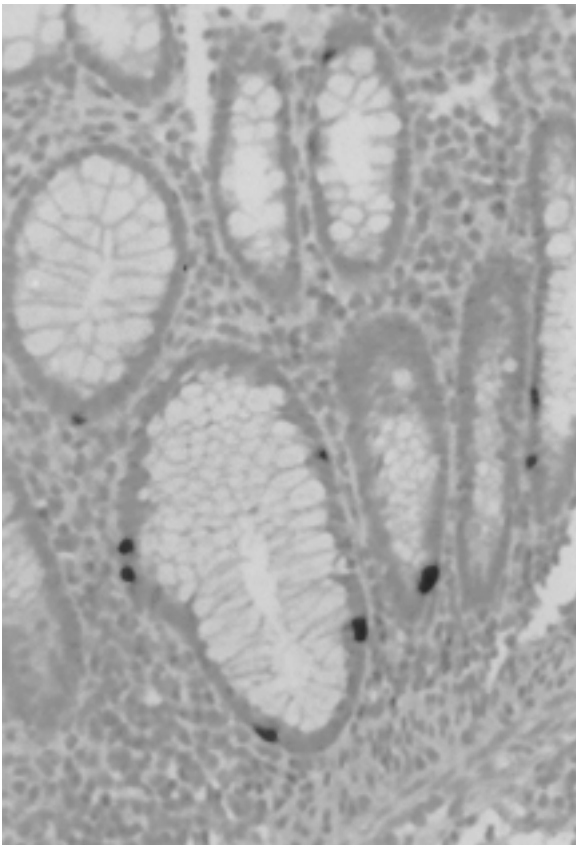
Τύποι ιών	Αρ. περιπ.	%
HSV+CMV+EBV	9	30
HSV+CMV	5	16,7
HSV	3	10
HSV+EBV	1	3,3
Σύνολο δετ. περ.	18	60
Σύνολο αρν. περ.	12	40



**Εικόνα 1.** Περίπτωση ελκώδους κολίτιδος επεξεργασθείσα με την τεχνική του *in situ* υβριδισμού. Οι πυρήνες των επιθηλιακών κυττάρων των κρυπτών που έχουν χρωσθεί μώβ είναι θετικοί σε DNA HSV (1,2). Μετάχρωση με nuclear fast red. (X 30).



**Εικόνα 3.** Περίπτωση ελκώδους κολίτιδας θετική για EBV με *in situ* υβριδισμό. Το γονιδίωμα του ιού εντοπίζεται στους πυρήνες των επιθηλιακών κυττάρων των κρυπτών. Μετάχρωση με nuclear fast red. (X 30).



**Εικόνα 2.** Ελκώδης κολίτιδα μετά από *in situ* υβριδισμό για CMV. Αρκετοί πυρήνες επιθηλιακών κυττάρων των κρυπτών (χρώση μώβ) είναι θετικοί για γονιδίωμα CMV. Μετάχρωση με nuclear fast red. (X 20).

ανευρέδη ο HSV (18 περιπτώσεις), δεύτερος ο CMV (14 περιπτώσεις) και τρίτος ο EBV (10 περιπτώσεις). Στις βιοψίες φυσιολογικού βλεννογόνου παχέος εντέρου ανιχνεύθηκε μόνο μία περίπτωση θετική και στους τρεις τύπους ιών. Η διαφορά θετικότητας μεταξύ περιπτώσεων ελκώδους κολίτιδος και φυσιολογικού βλεννογόνου παχέος εντέρου ήταν στατιστικά σημαντική ( $P=0,02$ ).

Η σύγκριση της παρουσίας ή μη ιϊκού DNA με τη δραστηριότητα της νόσου (Πίνακας 2) ή με την παρουσία ακαθόριστης δυσπλασίας δεν έδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά. Αντίθετα, όταν έγινε ανάλυση της παρουσίας ή μη ιϊκού DNA σε σχέση με τη νεοπλασματική δυσπλασία (Πίνακας 3) παρατηρήθηκε σημαντικά μικρότερος αριθμός θετικών περιπτώσεων (3/9, 33%) επί επιθηλιακής δυσπλασίας σε σχέση με τις περιπτώσεις χωρίς δυσπλασία (15/21, 71%,  $P=0,05$ ).

Το γεγονός ότι οι κύβοι παραφίνης που χρησιμοποιήθηκαν περιείχαν σχετικά σταθερό

**Πίνακας 2.** Συσχέτιση της παρουσίας ή μή ιϊκού DNA με την ενεργότητα της ελκώδους κολίτιδας. Ανάλυση ανά τύπο ιού.

Τύπος ιού	Ενεργός E.K.		Ανενεργός E.K.		P*
	+	-	+	-	
HSV	7	4	11	8	0,53
CMV	5	6	9	10	0,61
EBV	2	9	8	11	0,17

\* Fisher exact test, E.K= Ελκώδης κολίτιδα

**Πίνακας 3.** Συσχέτιση της παρουσίας ή μη ιϊκού DNA με την παρουσία νεοπλασματικής δυσπλασίας.

Ιϊκό DNA	Δυσπλ +	Δυσπλ -	P*
	Αρ. περ.	Αρ.περ	
+	3	15	0,05
-	6	6	
Σύνολο	9	21	

\*Fisher exact test

αριθμό ιστοτεμαχιδίων με επίσης σταθερό μέγεθος ανά τεμαχίδιο, μας επέτρεψε την ποσοτικοποίηση των δετικών πυρήνων. Η συσχέτιση του μέσου αριθμού δετικών πυρήνων με την ενεργότητα ή μη της νόσου (Πίνακας 4) έδειξε την παρουσία σημαντικά μεγαλύτερου αριθμού δετικών πυρήνων σε μη-ενεργό ελκώδη κολίτιδα για τους ιούς HSV και EBV. Για τον ιό EBV ιδιαίτερα, η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική (P=0,05). Όσον αφορά τον κυτταρομεγαλοϊό δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά δετικών πυρήνων σε σχέση με την ενεργότητα της φλεγμονής.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στη μελέτη αυτή με την τεχνική του *in situ* υβριδισμού ανιχνεύσαμε υψηλό ποσοστό (60%) λοίμωξης από ιούς της ομάδας του έρπητος. Το ποσοστό αυτό είναι σημαντικά υψηλότερο από το αντίστοιχο σε φυσιολογικό βλεννογόνο παχέος εντέρου (11%). Οι Wakefield και συν.<sup>14</sup>, με τη χρήση της τεχνικής του φωλεακού PCR ανίχνευσαν CMV στο 81% και EBV στο 76% των δειγμάτων παχέος εντέρου ασθενών με ελκώδη κολίτιδα. Στην ίδια μελέτη ανιχνεύθηκε CMV στο 29% και EBV στο 19% των δειγμάτων παχέος εντέρου υγιών μαρτύρων. Τα αποτελέσματα της παραπάνω μελέτης μπορούν να θεωρηθούν συγκρίσιμα με αυτά της παρούσης αν ληφθεί υπ' όψιν η χρήση πλέον

**Πίνακας 4.** Μέσος αριθμός πυρήνων με ιϊκό DNA/βιοψία ελκώδους κολίτιδας σε σχέση με την ενεργότητα της φλεγμονής (t-test).

Τύπος ιού	Μέσος αρ. δετ. πυρ./βιοψία (%)		P
	Ενεργός E.K.	Ανενεργός E.K.	
HSV	6.3	11.3	0.15
CMV	7	5.8	0.75
EBV	1.5	6.4	0.05

E.K= Ελκώδης κολίτιδα

ευαίσθητης τεχνικής (PCR) από τους παραπάνω ερευνητές. Πιστεύουμε όμως ότι η μέθοδος PCR με τη μεγάλη ευαισθησία ανίχνευσης που έχει<sup>15</sup>, ενδεχομένως να έχει συμπεριλάβει και αρκετές περιπτώσεις λανθάνουσας - υποκλινικής λοίμωξης ως και περιπτώσεις επιμόλυνσης του δείγματος η οποία μπορεί ιδιαίτερα να επισυμβεί στο φωλεακό PCR. Για το λόγο αυτό θεωρούμε ότι ο *in situ* υβριδισμός με το συνδυασμό της μορφολογικής εκτίμησης και ποσοτικό προσδιορισμό των μοριακών ευρημάτων που παρέχει καθώς και τη δυνατότητα εύκολης εφαρμογής σε τομές παραφίνης, αποτελεί ένα πολύτιμο εργαλείο για την ανίχνευση γονιδιώματος ιών σε βιοψίες ασθενών με ελκώδη κολίτιδα. Θα ήταν δε ιδιαίτερα χρήσιμο ακόμη και σε εργαστήρια με τεχνικές PCR να εφαρμόζουν παράλληλα την τεχνική του *in situ* υβριδισμού για τη μορφολογική εκτίμηση και επιβεβαίωση των ευρημάτων τους.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η παρατηρηθείσα αντιστρόφως ανάλογη σχέση μεταξύ συχνότητας μολυσμένων επιθηλιακών κυττάρων και δραστηριότητας της νόσου για τους ιούς EBV και HSV. Το εύρημα αυτό θα μπορούσε να δέσει το ερώτημα αν η μεγάλη καταστροφή που υφίστανται τα επιθηλιακά κύτταρα από την ενεργό αντίδραση του οργανισμού συμβάλλει στην ταυτόχρονη εξάλειψη των μολυσμένων κυττάρων. Όσον αφορά την μικρότερη συχνότητα ανίχνευσης ιών σε επιθηλιακά κύτταρα με αληθή δυσπλασία, θεωρείται πιθανόν ότι αυτή μπορεί να οφείλεται στην αλλαγή της κατάστασης του ιού. Όπως είναι γνωστό από μελέτες DNA ιών κατά τη διαδικασία της κακοήθους εξαλλαγής το γονιδίωμα του ιού ευρίσκεται κατά το πλείστον ενσωματωμένο στο DNA του κυττάρου ξενιστού σε ελάχιστο αριθμό αντιγράφων<sup>16,17</sup>. Συνηγορητική προς την κατεύθυνση αυτή είναι η παρατήρησή μας, ότι ακόμη και στις περιπτώσεις με δυσπλασία που ανιχνεύθηκαν ιοί, αυτοί εντοπίζοντο σε κύτταρα εκτός της δυσπλαστικής περιοχής, δηλ. σε κύτταρα στα οποία το ιϊκό DNA θα ευρίσκετο ακόμη σε επισωματική μορφή.

Οι περιπτώσεις ελκώδους κολίτιδας που χρησιμοποιήσαμε ήταν χρόνιες, σε φάση υποτροπής και επομένως δεν μπορούμε να ισχυριστούμε ότι η παρουσία των ιών αυτών έχει σαφή παθογενετική σημασία, δεδομένου ότι θα μπορούσε να αποδοθεί στην προκαλούμενη ανοσοκαταστολή από τη χρήση κορτικοστε-

ροειδών, τα οποία οι περισσότεροι των ασθενών μας είχαν λάβει για κάποιο χρονικό διάστημα. Η υπόθεση αυτή θα μπορούσε να διεκρινισθεί πληρέστερα, με μελέτη μεγαλύτερου αριθμού περιπτώσεων σε ομάδες ασθενών με διαφορετικά θεραπευτικά πρωτόκολλα, η οποία ευρίσκεται σε εξέλιξη από την ερευνητική μας ομάδα. Οι Wakefield και συν.<sup>14</sup> στην προαναφερθείσα μελέτη ανίχνευσης ιών της ομάδος του έρπητος σε ελκώδεις κολίτιδες, βρήκαν παρόμοιο ποσοστό λοίμωξης τόσο σε ασθενείς που είχαν λάβει θεραπεία κορτικοστεροειδών όσο και σε αυτούς που δεν είχαν λάβει κορτικοστεροειδή. Σε άλλη μελέτη αναφέρθηκε επίσης ότι η διάγνωση CMV λοίμωξης σε δύο ασθενείς συνέπεσε με την έναρξη της ελκώδους κολίτιδος<sup>18</sup>. Πρόσφατα επιδημιολογικά δεδομένα υποστηρίζουν εξάλλου ότι η νεογενική ιογενής λοίμωξη αποτελεί τον ισχυρότερο παράγοντα κινδύνου για την επακόλουθη ανάπτυξη φλεγμονώδους νόσου εντέρου<sup>19</sup>. Θεωρείται επομένως πιθανό ότι μία πρώιμη τυχαία έκθεση σε ιούς της ομάδας του έρπητος θα μπορούσε να οδηγήσει σε λανθάνουσα λοίμωξη του βλεννογόνου του παχέος εντέρου, η οποία αργότερα να ενεργοποιηθεί και να οδηγήσει, με τη συνέργεια και άλλων παραγόντων, σε ελκώδη κολίτιδα.

Όσον αφορά τους μηχανισμούς με τους οποίους η ιογενής λοίμωξη από ερπητοϊούς πιθανόν να προκαλεί την αντίδραση του ξενιστού θα πρέπει να σημειώσουμε ότι πολλοί σύγχρονοι ερευνητές, που ασχολούνται με την παθογένεση της ελκώδους κολίτιδος, αποδίδουν μεγάλη σημασία στην αλληλεπίδραση μεταξύ επιδηλίου και ανοσολογικών μηχανισμών<sup>20,21</sup>. Θα μπορούσε να υποδέσει κανείς ότι οι λοίμωξη από ιούς της ομάδας του έρπητος, και ιδιαίτερα η συνύπαρξη δύο ή περισσότερων από αυτούς, ενδεχομένως να εμπλέκεται στις μεταβολικού και ανοσολογικού τύπου διαταραχές του επιδηλίου, προκαλώντας ανοσοδιέγερση μέσω ιντερλευκινών και κυτταρική αντίδραση του τύπου των κυτταροτοξικών Τ-λεμφοκυττάρων και των κυττάρων φονιδίων<sup>22,23</sup>.

Ιδιαίτερα θα πρέπει να τονισθεί η πιθανή συμβολή λοίμωξης από ερπητοϊούς, είτε υπό μορφή προσφάτου λοίμωξης είτε υπό μορφή αναζωπύρωσης παλαιάς λανθάνουσας λοίμωξης, στην επιδείνωση της νόσου. Στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρονται περιπτώσεις όπου η εκδήλωση λοίμωξης σε ερπητοϊούς, σε μη-

ανοσοκατεσταλμένα άτομα, συνέπεσε με την επιδείνωση της ελκώδους κολίτιδος<sup>11,12,24,25</sup>. Για το λόγο αυτό απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή όσον αφορά την θεραπεία των περιπτώσεων ελκώδους κολίτιδας με ταυτόχρονη λοίμωξη από ιούς της ομάδας του έρπητος, δεδομένου ότι η χορήγηση κορτικοστεροειδών μπορεί να οδηγήσει σε επιδείνωση της νόσου. Αντίθετα η παύση της θεραπείας στεροειδών στις περιπτώσεις με ιογενή λοίμωξη ερπητοϊών οδηγεί κατά κανόνα σε ύφεση της νόσου σε κλινικό και ιστολογικό επίπεδο<sup>12,18,26</sup>. Στις περιπτώσεις αυτές είναι προτιμότερη η χορήγηση αντιϊκής θεραπείας, όπως η ιντερφερόνη η οποία αν δοθεί σε πρώιμο στάδιο, ελαττώνει την πιθανότητα χρονιότητας της νόσου<sup>27</sup>. Επιτυχώς έχει δοκιμασθεί και η εφαρμογή ακυκλοβίρης σε μη ανταποκρινόμενες στην κλασσική αγωγή περιπτώσεις<sup>25</sup>.

Συμπερασματικά, τα ευρήματα μας δείχνουν συχνή λοίμωξη από ιούς της ομάδας του έρπητος σε ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα, οι οποίοι πιθανόν να εξασκούν συνεργική δράση τόσο στην παθογένεια της νόσου όσο και στην εμφάνιση υποτροπών. Η ανίχνευση πιθανής λοίμωξης από τους ιούς αυτούς με τη βοήθεια της τεχνικής του *in situ* υβριδισμού, η οποία εφαρμόζεται εύκολα και αξιόπιστα σε τομές παραφίνης, μπορεί να συμβάλλει σημαντικά στον ορθολογικότερο και αποτελεσματικότερο σχεδιασμό της θεραπευτικής αγωγής.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Morson and Dawson's: Gastrointestinal pathology. Blackwell Scientific Pub. 3<sup>rd</sup> ed. Oxford 1990, 491-495.
2. Bartnik W, Shorter RG. Inflammatory bowel disease's immunologic developments. In: Berk, JE. (ed). Development in Digestive diseases. Lea & Febiger, Philadelphia 1980, 109.
3. Gitnick GL, Rosen VJ, Arthur MH, Hertweck SA. Evidence for the isolation of a new virus from ulcerative colitis patients. Comparison with virus derived from Crohn's disease. Dig Dis Sci 24:609, 1979
4. Cave D. Aetiology: transmissible agents. In: Inflammatory bowel disease. Allan RN, Keighley MRB, Alexander-Williams J, Hawkins C (eds). Churchill Livingstone, Edinburgh 1983.
5. McLaren LC, Gitnick G. Ulcerative colitis and Crohn's disease tissue cytotoxins. Gastroenterology 82:1381.
6. Kagnoff MF, Austin RK, Hubert JJ, Bernardin

- JE, Kasarda DD. Possible role for a human adenovirus in the pathogenesis of celiac disease. *J Exp Med* 160:1544-1557, 1994
7. Ekblom A, Wakefield AJ, Zack M, Adami HO. Perinatal measles infection and subsequent Crohn's disease. *Lancet* 344:508-510, 1984.
8. Farmer GW, Monroe MV, Fuccilo DA, Barbosa LH, Ritman S, Serer JL, Gitnic GL. Viral investigations in ulcerative colitis and regional enteritis. *Gastroenterology* 65:8-18, 1973.
9. Diepersloot RJ, Kroes AC, Visser W, Jiwa NM, Rothbart PH. Acute ulcerative proctocolitis associated with primary cytomegalovirus infection. *Arch Intern Med* 150:1749-1751, 1990.
10. Kotanagi H, Fukuota T, Shibata Y, Yoshioka T, Aizawa O, Saito Y, et al. A case of toxic megacolon in ulcerative colitis associated with cytomegalovirus infection. *J Gastroenterol* 29:501-505, 1994.
11. Loftus EV, Alexander GL, Carpenter HA. Cytomegalovirus as an exacerbating factor in ulcerative colitis. *J Clin Gastroenterol* 19:306-309, 1994.
12. Rachima C, Maoz E, Apter S, Thaler M, Grossman E, Rosenthal T. Cytomegalovirus infection associated with ulcerative colitis in immunocompetent individuals. *Postgrad Med* 74:486-489, 1998.
13. Yanai H, Shimizu N, Nagasaki S, Mitani N, Kiwamu O. Epstein-Barr infection in the colon with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 94:1582-1586, 1999.
14. Wakefield AJ, Fox JD, Sawyerr AM, Taylor JE, Sweenie CH, Smith M, et al. Detection of Herpesvirus DNA in the large intestine of patients with ulcerative colitis and Crohn's disease using the nested polymerase chain reaction. *J Med Virol* 38:183-190, 1992.
15. Morishima T Progress in diagnosing herpesvirus infections. *Nagoya J Med Sci* 62:83-97, 1999
16. Frenkel N, Roizman B, Cassai E, Nahmias A. A DNA fragment of herpes simplex 2 and its transcription in human cervical cancer tissue. *Proc Nat Acad Sci USA* 69:3734-3789, 1972.
17. Galloway DA, McDougall JK. The oncogenic potential of herpes simplex viruses: evidence for a hit and run mechanism. *Nature* 302:21-24, 1983.
18. Orvar K, Murray J, Carmen G, Conklin J. Cytomegalovirus infection associated with the onset of inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 38:2307-2310, 1993.
19. Ekblom A, Adami HO, Hernick CJ, Jonzon A, Zack MM. Perinatal risk factors for inflammatory bowel disease; A case control study. *Am J Epidemiol* 132:1111-1119, 1990.
20. Griffel LH, Das KM. Ulcerative colitis: pathogenesis, diagnosis, and current treatment. *J Assoc Acad Minor Phys* 7:63-69, 1996.
21. Gibson PR. Ulcerative colitis: an epithelial disease? *Baillieres Clin Gastroenterol* 11:17-33, 1997.
22. Fawaz LM, Sharif-Askari E, Menezes J. Up-regulation of NK cytotoxic activity via IL-15 induction by different viruses: a comparative study. *J Immunol* 163:4473-4480, 1999.
23. Jones CM, Cose SC, Coles RM, Winterhalter AC, Brooks AG, Heath WR, Carbone FR. Herpes simplex virus type 1-specific cytotoxic T-lymphocyte arming occurs within lymph nodes draining the site of cutaneous infection. *J Virol* 74:2414-2419, 2000.
24. Orloff JJ, Saito R, Lasky S, Dave H. Toxic megacolon in cytomegalovirus colitis. *Am J Gastroenterol* 84:794-797, 1989.
25. Begos DG, Rappaport R, Jain D. Cytomegalovirus infection masquerading as an ulcerative colitis flare up: case report and review of the literature. *Yale J Biol Med* 69:323-328, 1996
26. Berk T, Gordon SJ, Choi HY, Cooper HS. Cytomegalovirus infection of the colon: a possible role in exacerbation of inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 80:355-360, 1985.
27. Ruther U, Nunnensiek C, Muller HAG, Bader H, May U, Jipp P. Interferon alpha (IFN  $\alpha$ 2a) therapy for herpes virus-associated inflammatory bowel disease (Ulcerative colitis and Crohn's disease). *Hepato-gastroenterol* 45:691-699, 1998.

---

Corresponding author

Kapranos N.

Megalou Spileou str. 11

11522 Athens

Tel. 01 8038121, Fax: 8041372

email: nkapran@otenet.gr