

Univerzita Karlova
Pedagogická fakulta

BAKALÁRSKA PRÁCA

2019

Kludia Baloghová

Univerzita Karlova
Pedagogická fakulta
Katedra biologie, geologie a environmentálních studií

BAKALÁRSKA PRÁCA

Herpes simplex vírus

Herpes simplex virus

Herpes simplex virus

Klaudia Baloghová

Vedúca práce: RNDr. Lenka Pavlasová, Ph.D.

Študijný program: Specializace v pedagogice

Študijný odbor: Biologie, geologie a environmentalistika se zaměřením na vzdělání –
Chemie se zaměřením na vzdělání

2019

Odovzdaním tejto bakalárskej práce na tému Herpes simplex vírus potvrdzujem, že som ju vypracovala pod vedením vedúcej práce samostatne za použitia v práci uvedených prameňov a literatúry. Ďalej potvrdzujem, že táto práca nebola využitá k získaniu iného alebo rovnakého titulu.

V Prahe dňa

.....

podpis

POĎAKOVANIE

Rada by som poďakovala vedúcej mojej bakalárskej práce RNDr. Lenke Pavlasovej Ph.D. za jej čas venovaný mojej práci, jej cenné rady, pripomienky a vždy ústretový prístup.

ANOTÁCIA

Bakalárska práca na tému „ Herpes simplex vírus “ sa zaoberá vplyvom vírusu Herpes simplex na jedince, ktorí sú týmto vírusom postihnutí.

Vírus spôsobuje infekčné pľuzgierovité ochorenie sprevádzané bolesťami a ďalšími nežiaducimi účinkami. V práci sú popísané základné informácie a diagnostické postupy potrebné pre liečbu tohto ochorenia.

KLÚČOVÉ SLOVÁ

vírus, vírus herpes simplex, infekcia

ANOTACE

Bakalárská práce na téma „ Herpes simplex virus “ se zabývá vlyvem vírusu Herpes simplex na jedince, kteří jsou tímhle vírusem postižení.

Virus způsobuje infekční puchýřovité ochorení, které je doprovázeno bolesti a dalšími nežádoucími účinky. V práci jsou popsány základní informace a diagnostické postupy, které jsou pro léčbu ochorení potřebné.

KLÍČOVÉ SLOVA

virus, virus herpes simplex, infekce

ANNOTATION

The bachelor thesis "Herpes simplex virus" deals with the effect of Herpes simplex virus on individuals who are affected by this virus.

The virus causes infectious blistering disease accompanied by pain and other undesirable effects. The paper describes the basic information and diagnostic procedures needed for the treatment of this disease.

KEYWORDS

virus, virus herpes simplex, infection

Obsah

1. Úvod	8
2. Vírusy	9
2.1 Charakteristika a stavba vírusu	9
2.2 Stavba vírusového kapsidu	10
2.2.1 Helikálna symetria kapsidu	10
2.2.2 Ikozaedrálna symetria kapsidu	11
2.3 Nukleová kyselina vírusu	12
2.4 Baltimorova klasifikácia	13
2.5 Vzájomný vzťah medzi vírusom a hostiteľom	14
2.6 Vírusová infekcia	14
3. Laboratórna diagnostika vírusových chorôb	16
3.1 Elektrónová mikroskopia	16
3.2 Molekulárne biologické metódy	17
3.2.1 Imunofluorescencia	17
3.2.2 Aglutinácia	17
3.2.3 Imunochromatografia	18
4. Vírus herpes simplex	20
4.1 Morfológia vírusu	21
4.2 Hustota vírusových častíc	23
4.3 Vlastnosti DNA herpetického vírusu	23
4.4 Prítomnosť štruktúrnych bielkovín v herpetických vírusoch	24
4.5 Vnímateľnosť buniek na herpetickú infekciu	25
4.6 Cyklus vírusového rozmnožovania	26

4.7 Obranné mechanizmy organizmu	28
4.8 Herpes simplex vírus prvého typu (HSV – 1)	30
4.8.1 Príznaky a symptomy	30
4.8.2 Prenos	31
4.8.3 Priebeh onemocnenia	31
4.9 Herpes simplex druhého typu (HSV – 2)	32
4.9.1. Príznaky a symptomy	32
4.9.2 Prenos	33
4.9.3 Priebeh onemocnenia	33
4.9.4 Vírus herpes simplex druhého typu a karcinóm čapíka maternice	34
5. Ochorenia vyvolané vírusmi HSV- 1 A HSV – 2	36
6. Prevencia	41
6.1 Modulácia imunitnej odpovede	41
6.2 Vitamíny	41
6.2.1 Vitamín C	41
6.2.2 Vitamín D	42
6.3 Očkovanie	44
7. Liečba	45
7.1 Antivirotika	45
7.2 Klinická farmakológia	47
7.3 Výskum chemických látok na liečbu vírusu herpes simplex	47
7.4 Skúšky <i>in vivo</i>	48
7.5 Dermatologické a veterinárne skúšky	50
7.6 Skúšky <i>in vitro</i>	50
7.7 Komerčne dostupné preparáty	51
8. Záver	53

1. ÚVOD

Herpetické vírusy patria do skupiny významných infekčných agensov, ktoré postihujú zvieratá a ľudí. Rozliční herpetické vírusy sa izolovali postupne, preto nie všetky z nich sú rovnako preskúmané. Doteraz získané informácie a poznatky o herpetických vírusoch sa vhodne dopĺňajú a poskytujú informácie o príslušnosti novoizolovaných herpetických vírusov v danej skupine.

Vo fylogenetickom vývoji herpetických vírusov sa vyvinula ich priama závislosť na hostiteľa, čo sa rozlične prejavuje u jednotlivých predstaviteľov tejto skupiny.

Infekčné častice herpetického vírusu majú komplexné zloženie. No aj napriek tomu je ich štruktúra dobre definovaná a poukazuje na značný pokrok aj vo výskume chemického zloženia jednotlivých vrstiev herpetických vírusových častíc.

Keďže herpetické vírusy majú komplikované zloženie, podstatné pre pochopenie prenášania genetickej informácie sú poznatky, ktoré sa získali o ich rozmnožovaní v živočíšnej bunke.

Predložená práca vznikla na základe štúdia odbornej literatúry a vedeckých článkov.

Hlavným cieľom tejto bakalárskej práce je zhrnúť všetky podstatné, potrebné a zaujímavé informácie a doteraz získané poznatky z oblasti mikrobiológie, farmakológie a medicíny.

2. Vírusy

Vedný odbor, ktorý skúma častice submikroskopických rozmerov nazývame virológia.

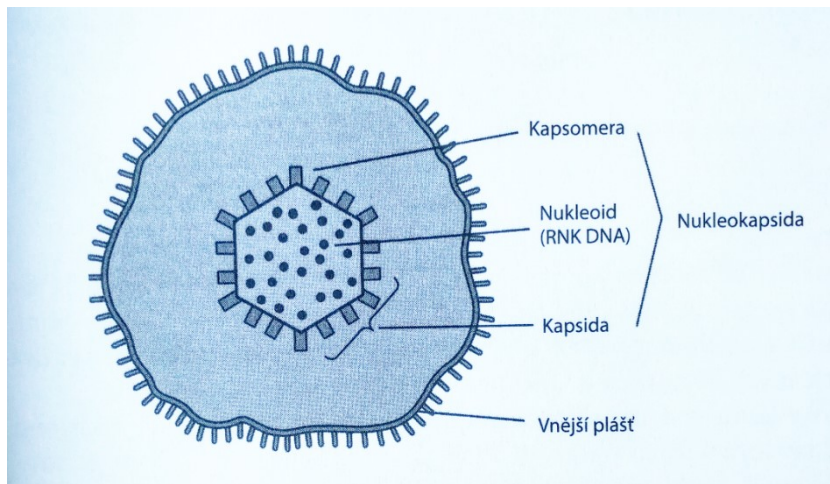
Na to, či je vírus organizmom alebo nie, nemôžeme jednoznačne odpovedať. Vírusy sa sami rozmnožovať nedokážu. K rozmnožovaniu dochádza vďaka bunecnému aparátu hostiteľskej bunky. Taktiež neobsahujú žiadny orgán alebo súbor orgánov. Vírus by bol organizmom, ak by sme za organizmus pokladali súbor makromolekul, ktoré sa navzájom ovplyvňujú. A podmienkou živého organizmu je schopnosť replikovať štruktúry, ktoré samostatnej replikácie nie sú schopné. Vírusy možno definovať ako najmenší infekčný agens, ktorý obsahuje jeden druh nukleovej kyseliny-DNA alebo RNA. Podľa spôsobu, akým sa rozmnožujú, môžeme vírusy pokladať za parazity na molekulárnej úrovni. V súčasnosti vírusy považujeme za nebunecné organizmy (Hamplová a kol., 2015).

2.1 Charakteristika a stavba vírusu

Vírusy sú nebunecné organizmy, ktorých veľkosť sa pohybuje približne od 15-390 nm. Kvôli svojej veľkosti mohli byť pozorované až v 40. rokoch 20. storočia, a to pomocou elektrónového mikroskopu. Predstavujú najjednoduchšiu biologickú štruktúru, ktorá nedosahuje úroveň bunky. Tvorí ich nukleová kyselina, ktorá je uzavretá v bielkovinovom obale-kapside (viď obr.1). Kapsid je tvorený viacerými druhmi bielkovín, ktoré spolu vytvárajú celky nazývané kapsoméry. Jednotlivé častice vírusu nazývame ako virióny.

Podľa typu prítomnosti nukleovej kyseliny, delíme vírusy na DNA-vírusy a RNA-vírusy.

Všetky gény daného vírusu nesie nukleová kyselina. Tá zabezpečuje reprodukciu a tvorí genom vírusu. Komplex tvorený kapsidom a nukleovou kyselinou nazývame ako nukleokapsid (Rosypal a kol., 2003 , Hamplová a kol., 2015).



Obrázok 1, Stavba vírusu, Zdroj: Hamplová a kol. 2015

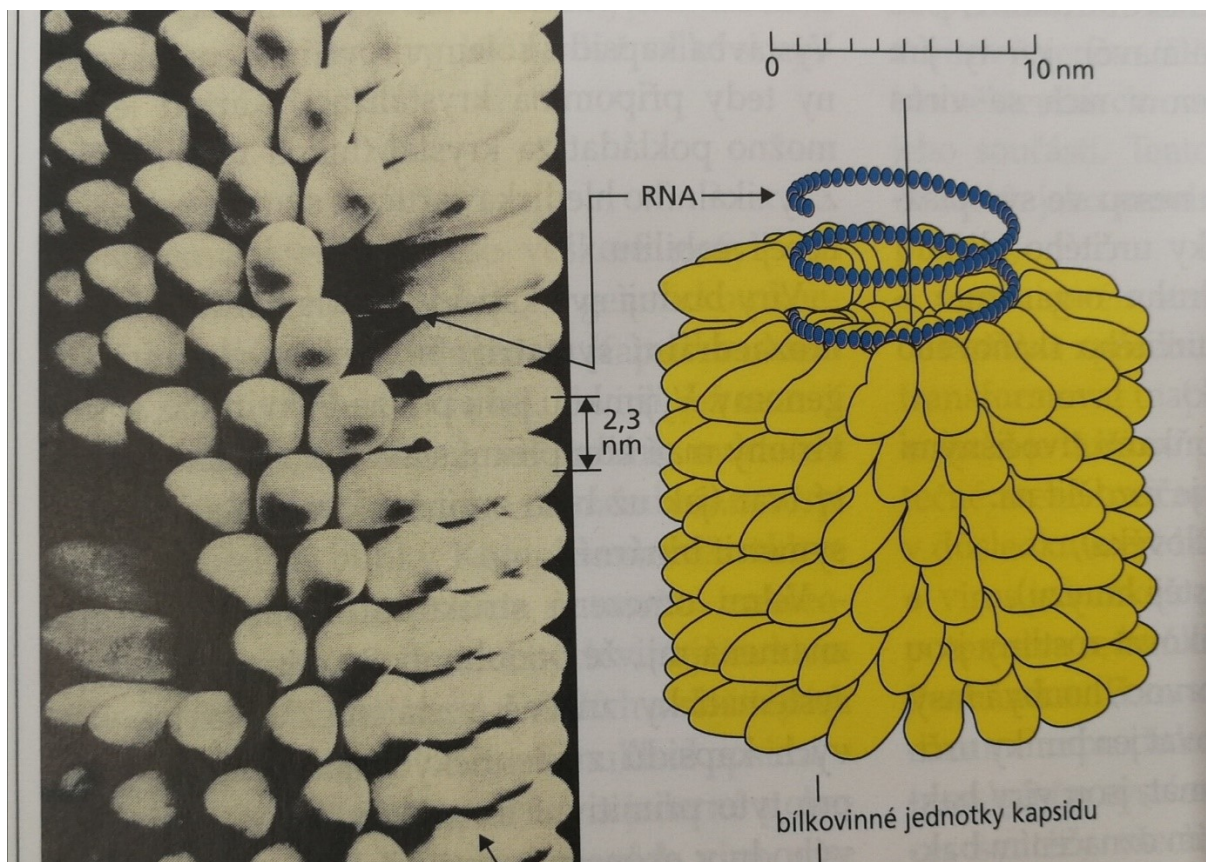
2.2 Stavba vírusového kapsidu

Kapsid každého viriónu je tvorený rovnakými štruktúrnymi jednotkami, ktoré sú navzájom spojené fyzikálnymi väzbami podľa danej symetrie. Kapsoméru tvorí jedna alebo viac identických proteinových makromolekul. Jej syntéza prebieha vďaka hostiteľskej bunke, a to podľa genových informácií infikujúceho vírusu. Z takto vzniknutých kapsomér sa autoagregačným procesom vytvára kapsid. Tento výstavbový autoagregačný mechanizmus je pre vírusy výhodný. Zabezpečuje vyradenie akejkoľvek konštrukčne nevyhovujúcej alebo nepresnej kapsoméry. Táto výstavba okolo nukleovej kyseliny pripomína proces kryštalizácie. Preto by sme kapsid mohli pokladať za kryštál, nie však celý virión. Vírusy budujú kapsidy dvoma spôsobmi symetrie. Buď je to helikálna alebo ikozaedrálna symetria. Výnimkou sú poxvírusy, ktoré patria do vírusu prvých kiahní a bakteriofágy (Rosypal a kol., 2003 , Hamplová a kol., 2015).

2.2.1 Helikálna symetria kapsidu

Helikálna (závitnicová) symetria kapsidu je najlepšie pozorovateľná na tyčinkových viriónoch rastlinného vírusu mozaiky tabaku (TMV). Virión TMV je dlhý asi 300 nm a jeho priemer dosahuje 18 nm. Tvorí ho jednoreťazová molekula RNA, ktorej molekulová hmotnosť nadobúda hodnotu $2,3 \times 10^6$. Kapsid je tvorený 2130 identickými kapsomerami (proteinovými

monomérmí), ktoré majú elipsovité tvar. Každá kapsomera sa skladá z peptidových reťazcov, ktorých tvorí 158 aminokyselín. Kapsomery sú poskladané do valcovitého kapsidu závitnicovo, a to tak, že každú otočku závitnice tvorí 16 a 1/3 jednotky (viď obr. 2). To znamená, že celok troch za sebou idúcich otáčok sa rovnako opakujú po celej dĺžke viriónu. Závitnicová RNA neleží voľne v centrálnej dutine viriónu, ale je natiahnutá medzi užšími časťami jednotiek. Kapsoméne závitky sústavy presne odpovedajú závitom závitnice RNA. Táto štruktúra je prísne rigidná (tuhá). Toto však neplatí pre vírusy s vláknitou štruktúrou, ktoré obsahujú jednoreťazovú RNA a kapsid s helikálnou symetriou, ale ich helikálna osa viriónov je ohybná (Rosypal a kol., 2003 , Hamplová a kol., 2015 , Zima, 2002).

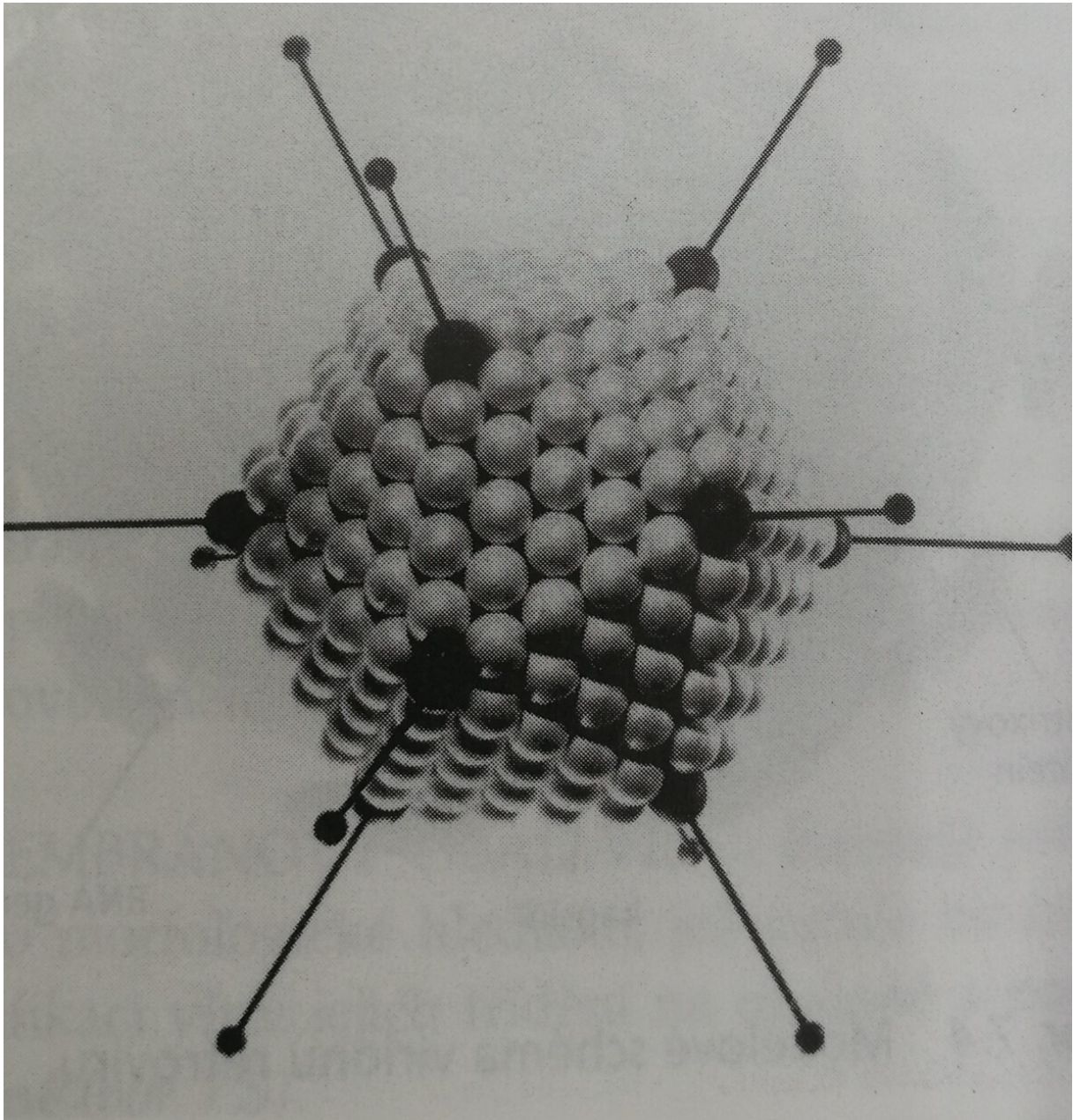


Obrázok č.2, Helikálna štruktúra kapsidu, Zdroj : Rosypal a kol., 2003

2.2.2 Ikozaedrální symetria kapsidu

Väčšina živočíšnych vírusov buduje svoje kapsidy podľa ikozaedrálnéj symetrie (dvadsaťsten). Ikozaéder je geometrické teleso, ktoré je vymedzené dvadsiatimi rovnakými trojuholníkovými stenami, ktorých trojuholníky sú rovnostranné. Má tridsať rovnako dlhých hran a dvanásť vrcholov. Ikozaedrálny kapsid tvorí menšie alebo väčšie identické globulárne kapsomey,

ktorých je buď 60 alebo príslušný násobok 60. (Rosypal a kol., 2003 , Hamplová a kol., 2015 , Zima, 2002).



Obrázok č.3, Ikozaedrálna symetria kapsidu, Zdroj: Rosypal a kol., 2003

2.3 Nukleová kyselina vírusu

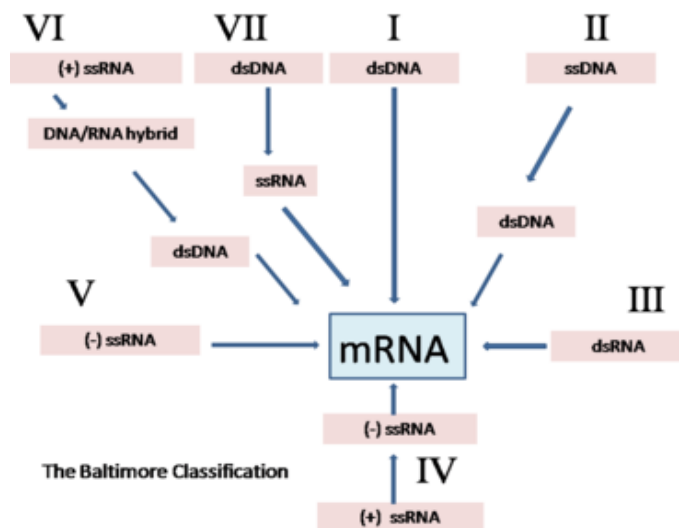
Vírusový genom obsahuje DNA, alebo RNA. Podľa typu vírusu môže byť jednoreťazová, dvojreťazová, lineárna alebo kružnicová. Jednoreťazová molekula RNA je vo svojich vírusoch

prítomna ako pozitívna (+ RNA) alebo negatívna (- RNA). Jednoreťazová genomová DNA je vo väčšine prípadoch pozitívna.

Niektoré RNA-vírusy, ktoré majú pozitívnu jednoreťazovú RNA nesú gén kódujúci RNA riadenou DNA polymerázou (tzv. reverzní transkriptázou). Hostiteľská bunka po infekcii takýmto vírusom podľa informácie, ktorú obsahuje gén, tento enzým syntetizuje, a ten potom prepíše celú vírusovú pozitívnu RNA do negatívnej jednoreťazovej DNA, ktorá si následne vysyntetizuje druhé vlákno, začlení sa do genomu hostiteľskej bunky a stane sa tak provírusovou. Celý tento proces nazývame ako spätná (reverzná) transkripcia (Rosypal a kol. 2003).

2.4 Baltimorova klasifikácia

Rôznorodosť vírusov môže v taxonómii spôsobovať komplikácie. Jasne definované pravidlá, ktoré sa používajú v taxonómii bunčných organizmov, u vírusov ako nebunčných organizmov nemusia byť úplne jednoznačné. V súčasnosti International Committee on Viruses definuje 6 vírusových rádo, 87 čeľadí, 350 rodov, 2284 druhov. No aj tak existuje ešte niekoľko tisíc vírusov, ktoré zatiaľ klasifikované neboli. V praxi je používaná tzv. Baltimorova klasifikácia, ktorá vírusy rozdeľuje podľa ich typu genomu. (Sauerova, 2011).



Obrázok č.4, Baltimorova klasifikácia vírusov, Zdroj: https://cs.unionpedia.org/c/Baltimorova_klasifikace/vs/Virus

2.5 Vzájomný vzťah medzi vírusom a hostiteľom

Vírusy považujeme za špecifické parazity buniek. Bakteriálne vírusy-bakteriofágy sa dokážu pomnožovať v bunkách bakterií, rastlinné vírusy v rastlinných a živočíšne vírusy v živočíšnych bunkách. Každý druh vírusu je pre svojho hostiteľa špecifický. Znamená to, že napríklad bakteriofág sa nedokáže pomnožovať alebo infikovať bunku rastlinnú a pod. Eukaryotické bunky živočíchov sú napadané živočíšnymi vírusmi, nie sú však špecifické len pre nejaký živočíšny druh, ale pomnožovanie prebieha na určitej skupine živočíchov, aj to len v určitých bunkách. Pokiaľ vírus napadne viacero orgánov, dochádza k systémovej infekcii (Lesley a kol., 2017).

2.6 Vírusová infekcia

Vírusovú infekciu definujeme ako preniknutie nukleovej kyseliny vírusu do hostiteľskej bunky. Po infekcii sa vírus buď zdržiava v bunke bez toho, aby došlo k replikácii-latentná infekcia, alebo dochádza len k nepatrnej replikácii, ktorá nemá žiadne vedľajšie alebo škodlivé dôsledky-perzistentná infekcia. Následne sa DNA začína začleňovať do genomu hostiteľskej bunky a stáva sa jej súčasťou. Tento útvar nazývame ako provírus. Provírus môže spôsobiť zmeny ako je napríklad transformácia bunky, ktorú nachádzame aj u buniek nádorových (Hamplová a kol., 2015, Whitley, R. J., & Roizman, B., 2001).

U väčšiny vírusových chorôb dochádza v počiatočnej fázy k primárnemu rozmnoženiu a to v mieste vstupu, počas ktorého sa aktivuje imunitná odpoveď hostiteľa. Pokiaľ je virulencia a infekčná dávka dostatočná k tomu, aby boli prekonané nástrahy imunitných mechanizmov hostiteľa a v mieste sú neaktívne makrofágy, vírus potom ľahko preniká do lymfatických uzlín a odtiaľ do krvi. Následne vzniká virémia, ktorú sprevádza zvýšená teplota alebo horúčka a to kvôli fagocytóze viriónov. V prípade, že je kapacita fagocytózy prekročená, dochádza k sekundárnej virémii, pri ktorej infekčné virióny putujú do cieľových orgánov a vyvolávajú celosystémové infekcie. Pokiaľ špecifická imunitná odpoveď nie je schopná eliminácie danej infekcie, vzniká chronická perzistujúca infekcia (Whitley, R. J., & Roizman, B., 2001).

Najčastejšími vírusovými pôvodcami prolongovaných febrilných stavov sú HIV, herpetické viry-CMV,EBV, menej časté sú HHV6 enterovírusy, vírusy hepatitídy, vírus lymfocytárnej choriomengititídy, vírus besnoty a ďalšie. EBV a CMV infekcie sa prejavujú ako prolongované

horúčky bez nejakého väčšieho zdravotného postihnutia. U pacientov, ktorí sú HIV pozitívni ide hlavne o oportunnú infekciu CMV, ktorá sa manifestuje hlavne u starších pacientov.

Ako klinický validný materiál sa používa nezáraňanlivá krv (EDTA) k antigénémii a virémii. Zraňanlivá krv (sérum) sa používa k vyšetreniu protilátok (Klaban a kol., 2011, Whitley, R. J., & Roizman, B., 2001).

3. Laboratórna diagnostika vírusových chorôb

3.1 Elektrónová mikroskopia

Elektrónová mikroskopia je jedinou metódou, ktorá umožňuje vizualizáciu vírusu a jeho vyšetrenie bez predchádzajúceho agens. Vírusy sú identifikované na základe svojej morfológie. Pripravená vzorka sa pozoruje pri 50 000 násobnom zväčšení. Špecifickosť vyšetrenia môže byť zvýšená metódou imunoelektronmikroskopie, pri ktorej špecifické monoklonálne protilátky aglutinujú vírusové partikule, alebo ich môžu zachytávať na sieťke.

Vyšetrenie sa používalo na dôkaz etiológie vírusových hnačiek, prípadne vyšetrenie pľuzgierov a iných kožných deformácií, herpetických vírusov alebo papilomavírusov (Egerton, Ray F., 2011).

Vo virológii sa ku kultivácii používajú len tkanivové kultúry ako sú napríklad HeLa bunky (nádorové epitelové bunky), ktoré sa používajú k izolácii adenovírusov alebo enterovírusov. Používajú sa tiež aj očkovania do kuracích zárodokov, ktoré slúžia k zachyteniu vírusov chrípky. Bunky, v ktorých sa daný vírus pomnožil sa častokrát zmenia vďaka cytopatickému efektu (CPE). K cytopatickému efektu dochádza pri narušení bunky a procesov, ktoré v nej prebiehajú, pričom vlastná životaschopnosť bunky je zachovaná. Pokiaľ je CPE zaznamenaný, prebiehajú ďalšie testy, pri ktorých sa využíva kultúrna tekutina. Ak sú bunky v nezmenenom stave, vykonávajú sa ešte ďalšie vyšetrenia (Egerton, Ray F., 2011, Zima, 2002).

K urýchleniu predbežnej diagnózy sa naočkované tkanivové kultúry vyšetrujú podobne ako ľudské vzorky. To znamená, že v nich môžeme hľadať virióny elektrónovým mikroskopom alebo vírusové antigény sérologickými reakciami. Sérologické reakcie sú založené na reakcii medzi antigénom a protilátkou. Jednu z látok poznáme a druhá sa vyšetruje.

Pri podozrení na adenovírusy, vírus herpes simplex alebo RS-vírus je postačujúce, ak sa v tekutine z kultúry preukáže skupinový antigén vírusu komplement fixačnej reakcie. Niekedy je možné vírusové antigény v tkanivovej kultúre preukázať imunoenzymaticky alebo molekulárnegeneticky. Najčastejšie však prebieha neutralizačným testom. Testy, ktoré sa používajú na dôkaz citlivosti na antivirotika sa vykonávajú v príslušnom mikrobiologickom pracovisku (Egerton, Ray F., 2011, Zima, 2002).

3.2 Molekulárne biologické metódy

Vírusový antigén sa vo vzorku zviditeľňuje rôznymi metódami, ktoré sú založené na princípe väzby antigénu s protilátkami. Príkladom je imunofluorescencia, aglutinácia, imunochromatografia a ďalšie (Zima, 2002).

3.2.1 Imunofluorescencia

Je metóda, ktorá je založená na vizualizácii reakcie antigén a protilátka. V imunológii patrí medzi veľmi dôležité biologické metódy. Slúži k lokalizácii antigénu v tkanivách alebo bunkách po ich reakcii s fluorescenčnými látkami (protilátkami). Imunofluorescenčné techniky sa používajú aj k detekcii sérových autoprotilátok, ktoré sú namerané proti tkanivovým, bunecným alebo subbunecným štruktúram. Pre detekciu autoprotilátok je potrebné mať vhodný substrát, na ktorom vyšetrenie bude prebiehať. Tým môže byť histologická alebo cytologická štruktúra v mikrotomovom reze z príslušného tkaniva, benčnej suspenzie alebo fixovanej tkanivovej kultúry (Pepperkok, R., a kol., 2000).

3.2.2 Aglutinácia

Aglutinácia patrí ku klasickým sérologickým metódam, kedy sa na nosič, ktorými môžu byť napríklad latexové partikule, naviaže špecifická protilátka, ktorá v prípade, že je vo vzorku antigén, proti ktorému je zameraná, aglutinuje a klesá na dno reakčnej jamky. Tam potom vytvára aj okom viditeľnú zraženinu. Podobná je aj opačná reakcia, kedy je antigén naviazaný na častice a v skúmanom vzorku sú prítomné protilátky. K aglutinácii dochádza len v prítomnosti protilátok triedy IgG a IgM. Výhodou tejto metódy je jej nenáročnosť na vybavenie daného laboratórneho zariadenia, rýchlosť a lacnosť. Medzi nevýhody patrí nízka citlivosť, ktorá sa pohybuje okolo 0,2 – 2 μg protilátky. Ďalším mínusom je aj to, že častice sa s naviazanou protilátkou alebo antigénom môžu pri skladovaní spolu zhlukovať (Ginnons, Ian, 1989).

3.2.3 Imunochromatografia

Imunochromatografia spája výhody chromatografických a imunochemických techník. Jej uplatnenie nachádzame pri urgentných vyšetreniach. Princípom metódy je reakcia antigénu prítomného v sledovanom vzorku s konjugátom za vzniku komplexu antigén – konjugát. Ten potom migruje smerom k špecifickému proteínu, ktorý je imobilizovaný na poréznej membráne (nitrocelulóza). Ak je v danom vzorku prítomný antigén, vznikne v mieste naviazania komplexu antigén – konjugát na imobilizovaný proteín špecifický band, ktorý signalizuje pozitívny výsledok (Ching a kol., 2003).

Dôkaz respiračných vírusov sa vykonáva v materiáloch z dýchacích ciest, rotavírusy, adenovírusy a astrovírusy zo stolice pomocou latexovej aglutinácie, cytomegalovírusy v periférnych leukocytoch pomocou imunofluorescencie. Zásadnou vecou pri vyšetreniach je kvalita vyšetovaného vzorku. Medzi výhody týchto vyšetrení patrí rýchlosť, dobrá dostupnosť a nízka cena. Nevýhodou je nízka citlivosť a úplná závislosť na kvalite vzorku- správny odber s čo najväčšou prítomnosťou infikovaných buniek (Ching a kol., 2003).

Správny odber materiálu, skladovanie a transport do laboratórneho zariadenia za vhodných podmienok (preanalytická fáza) zaručuje získanie presných výsledkov určitej laboratórnej diagnostickej metódy. Podľa typu metódy, ktorá je použitá k preukázaniu infekčného agens, môžeme na základe časového intervalu prítomnosť agens potvrdiť alebo vylúčiť. Vhodnú diagnostickú metódu určuje zodpovedný pracovník príslušného laboratórneho zariadenia.

Klinické prejavy danej infekcie predstavujú základný a najdôležitejší údaj pri hľadaní zdroja pacientových ťažkostí. Pre urýchlenie určenia diagnózy vždy prispieva konzultácia s vybraným laboratóriom, v ktorom bude prebiehať vyšetrenie. Klinický priebeh mikrobiálnych infekcií je veľmi rozmanitý a taktiež závisí na typu vyvolávajúceho agens, infekčnej dávke, fázy infekcie a imunitnom stave postihnutého jedinca.

Pri vírusových infekciách sa môže inkubačná doba pohybovať od niekoľkých dní až niekoľko mesiacov. Dĺžka inkubačnej doby je závislá na pôvodcovi danej nákazy. Ovplyvnený je imunitný stav jedinca a veľkosť infekčnej dávky. Krátka inkubačná doba (1-2 dni) nachádzame u rinovírusov, vírusov chrípky alebo norovírusov. U týchto typov vírusov bola zaznamenaná inkubačná doba, ktorá trvala len niekoľko hodín. Inkubačná doba oparu sa pohybuje od 2-6 dní.

Približne dvojtýždňová inkubačná doba býva u kliešťovej meningoencefalitidy. Až 160 dní trvá inkubačná doba u vírusovej hepatitídy B a 180 dní u hepatitídy C. Infekcia ľudským vírusom imunitnej nedostatočnosti (HIV 1 a HIV 2) je priemerná doba od nakazenia do výskyt špecifických protilátok v krvi infikovaného pacienta 21 dní, ale môže trvať dokonca aj niekoľko rokov (Zima a kol., 2002, Ching a kol., 2003).



Obrázok č.5, Elektronový mikroskop, Zdroj: <https://www.nanocastice.info/35-analyza-nanocastic-transmisni-elektronova-mikroskopie/>

4. Vírus herpes simplex

Vírus herpes simplex (HSV) bežne označovaný aj ako „herpes“ je infekčné ochorenie, ktoré vo svojom výskyte dosiahlo celosvetový rozmer. Odhadovaný počet infikovaných ľudí je okolo 70 % - 80 % populácie v USA, ako publikovalo Americké združenie pre zdravie spoločnosti (ASHA- American Social Health Association). Každým rokom sa tento stav zvyšuje a to približne o 500 000 a viac jedincov. Poznáme dva typy herpesu simplexu: vírus herpes simplex 1 (HSV-1) a vírus herpes simplex 2 (HSV-2) (Liesegang, Thomas J., 2001).

Vírus herpes simplex sa do ľudského tela dostáva cez epidermálne tkanivo, ktoré v sebe skrýva rozmerovo veľmi malé trhliny. Infekcia nastáva pri styku s infikovaným nositeľom. Prejavuje sa ako vyrážka, jeden alebo viacero pľuzgierov, veľmi často zoskupených do zhlukov. Následná inkubačná perióda trvá asi 4 až 10 dní. U ľudí so zníženou imunitou môže trvať aj niekoľko mesiacov. Typický priebeh infekcie sa začína prodromálnym štádiom, vývojom pľuzgierovej vyrážky, ďalej dochádza k ulcerácii - tvorbe vredov, splývaniu, miznutiu, až napokon k latentnej perióde (viď obr. 6). Pľuzgiere sa objavujú kdekoľvek na koži alebo sliznici. Ich najčastejší výskyt je na perách, ústnej sliznici, žľazách, rohovke a spojivkách, genitáliách, análnej sliznici a peri-análnom tkanive (Liesegang, Thomas J., 2001).

K symptómom patrí opuch, teplota, bolesti hlavy, svalstva, malátnosť alebo aj zdurenie žliaz. Niektorí jedinci, ktorí sú postihnutí orálnym herpesom trpia neznesiteľnými bolesťami, ťažkosťami s prehĺtaním a opuchom tváre. Príčinou je, že pri orálnom herpese je zasiahnutý trojklaný nerv, ktorý zaisťuje citlivosť tváre a priľahlých častí hlavy. Patrí medzi najsilnejší hlavový nerv. Osoby so zasiahnutým sakrálnym nervom mávajú silné bolesti vo vrchnej časti dolných končatín, opuchy a ťažkosti spojené s chôdzou (Liesegang, Thomas J., 2001).

Tým, že herpes sídli v nervových gangliách, je pravdepodobné, že sa po nejakom čase znova objaví. Podnety vyvolania nie sú však doteraz známe. Odhaduje sa však, že jeho opakovaný výskyt môže nastať napríklad nadmerným slnením, požívaním určitých potravín, liečivami, stresom, menštruáciou alebo horúčkovým ochorením. Infekcia HSV-1 a HSV-2 spôsobuje veľmi vážne ohrozenie zdravia. Veľmi častá je slepota, riziko vzniku rakoviny krčnej oblasti, encefalitída, novorodenecká úmrtnosť a ďalšie (Rosypal a kol., 2003, Liesegang, Thomas J., 2001).

HSV je taktiež zodpovedný aj za psychologické a emocionálne ťažkosti (Liesegang, Thomas J., 2001).

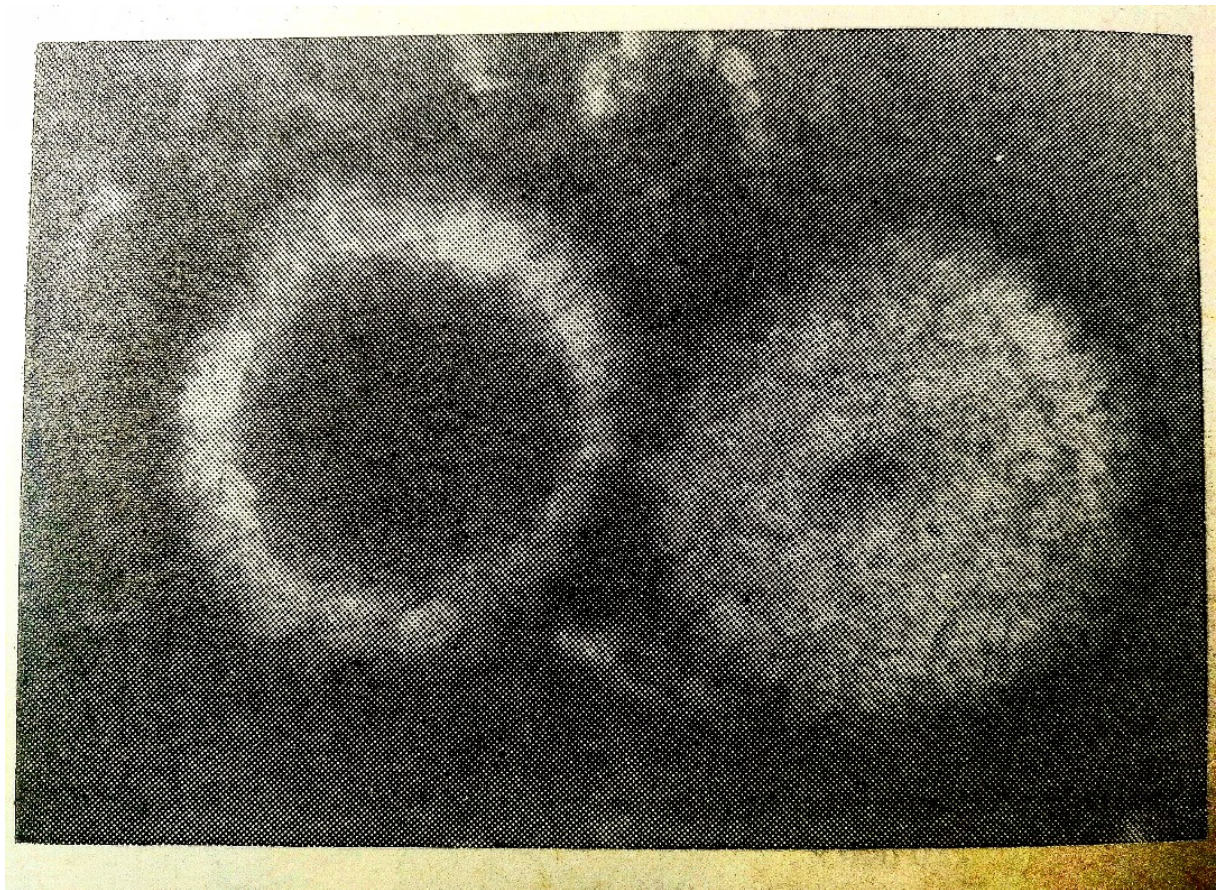
Zaznamenané sú aj ekonomické straty krajín celého sveta. (Rosypal a kol., 2003, Liesegang, Thomas J., 2001).



Obrázok č.6, Pluzgiere spôsobené Virus herpes simplex, Zdroj: <https://www.wisegeek.com/what-is-the-herpes-simplex-virus.htm>

4.1 Morfológia vírusu

Obal a kapsid nevyplňajú celý obsah častice, ale tvoria škrupinky. Niektoré štúdie predpokladajú, že neobalené častice majú ešte navyše jeden vnútorný obal, ktorý je priepustný pre farbivo potrebné pre skúmanie pod mikroskopom (Wildy a kol., 1960).



Obrázok č.7, Neobalené častice herpetického vírusu, Vľavo prázdna častica, Vpravo plná častica, Zdroj: Cibulka, 2011

Táto skutočnosť by teoreticky vysvetľovala vzdialenosť vonkajšieho obalu od kapsidu. Autori výskumu izolovali z lyzátov buniek, ktoré boli infikované HSV po fixácii formaldehydom častice s rozmermi 25 nm a 45 nm. Častice menších rozmerov pokladali za dreň vírusu a väčšie častice za komplex drene a tzv. vnútorný kapsid. Ďalej predpokladali, že vnútorný kapsid obklopuje ďalší obal tzv. prostredný kapsid, z ktorého vychádzajú kapsoméry „vonkajšieho obalu“. Morfológickým vyšetrením však nie je možné zistiť o aký druh herpetického vírusu ide. Veľkosti a tvary kapsidov a kapsomér patria medzi najdôležitejšie morfológické kritéria čeľade Herpetoviridae. Táto charakteristická morfológia sa využíva najmä v diagnostike herpetických vírusov (Wildy a kol., 1960).

4.2 Hustota vírusových častíc

Hustotu herpetických častíc môžeme určiť pomocou gradientovej centrifugácie.

Ako príklad môžeme uviesť pokus s časticami vírusu HSV v gradiente chloridu cézneho (CsCl). Výsledkom bolo zistenie, že rôzne kmene vírusov HSV vykazujú odlišnú hustotu.

Na hustotu obalených vírusov vplýva nielen samotný vírus, ale aj hostiteľská bunka.

Vírusový kmeň po rozmnožení v rozličných hostiteľských bunkách pozostáva z viriónov rôznej hustoty. Príčinou tohto javu je zloženie vírusového obalu, ktorý obaluje nielen vírusové, ale aj hostiteľské komponenty. Dôkazom tejto skutočnosti je aj to, že po odstránení obalu z viriónov rozmnožených v rôznych bunkách sa získajú nukleokapsidy o rovnakej hustote.

Najväčšiu hustotu však pozorujeme u CsCl. Napríklad hustota vírusu infekčného potratu koní v gradiente silikagélu je dokonca až o $0,019 \text{ g.cm}^{-3}$ nižšia ako v CsCl.

Príčinou vysokých hodnôt hustoty v CsCl je osmotický efekt (prienik CsCl cez obal vírusu je pomerne ťažký) (Szantó a kol., 1979).

4.3 Vlastnosti DNA herpetického vírusu

DNA herpetických vírusov je dvojitá a lineárna. Prítomnosť atypických báz nebola zistená. Obsah dusíkatých báz guaninu a cytozínu v DNA herpetických vírusov dosť kolíše (34 % - 73 %). Väčšinou však ich prítomnosť býva častejšia než v bunkách hostiteľských.

To nám umožňuje separáciu vírusovej DNA od DNA hostiteľskej bunky centrifugovaním v gradiente CsCl do rovnováhy. Závislosť medzi hustotou DNA a obsahom guaninu a cytozínu je lineárna. Relatívna molekulová hmotnosť herpetického genomu sa od 50 do 100 miliónov.

Neporušená pôvodná DNA vírusu HS má relatívnu molekulovú hmotnosť 95-100 miliónov, jej dĺžka sa pohybuje okolo $52 \mu\text{m}$ a obsah guaninu a cytozínu je 67 %.

Rozpad dvojitá DNA spôsobuje alkalická denaturácia. Následne vznikajú jednovláknové reťazce a ich fragmenty, ktoré sa izolujú pomocou centrifugácie v gradiente sacharózy a elektroforézou v agarovom géli.

Jednovláknová DNA je po neutralizácii zase schopná utvoriť dvojitá úsek a to vďaka prítomnosti opakujúcich sa (repetovaných) navzájom obrátených (inverzných) komplementárnych nukleotidových sekvencií. Vírusová DNA obsahuje celkom dve inverzné

repetície. Ich prítomnosť medzi sebou oddeľuje dva rôzne dlhé úseky neopakujúcich sa sekvencií.

Súdržnosť DNA zabezpečuje prítomnosť vodíkových väzieb medzi dusíkatými bázami.

Medzi adenínom a tymínom sa nachádzajú 2 vodíkové väzby a medzi guanínom a cytozínom 3 vodíkové väzby (Mistríková, 2011).

4.4 Prítomnosť štruktúrnych bielkovín v herpetických vírusoch

Podstatnú časť vírusovej hmoty tvoria bielkoviny. Chemickou analýzou sa zistilo, že prítomnosť obsahu bielkovín, lipidov, cukrov a DNA je v pomere 1000 : 320 : 25 : 100.

Bunky, ktoré sú infikované herpetickými vírusmi syntetizujú antigénové bielkoviny špecifické pre daný vírus. Tieto bielkoviny môžu byť buď štruktúrne alebo neštruktúrne. Syntéza štruktúrnych bielkovín dosahuje maximálnu hladinu po štyroch hodinách po infekcii a má súvis s tvorbou nových enzýmov v infikovaných bunkách. Špecifické štruktúrne bielkoviny sú následne súčasťou tvoriacich sa viriónov a majú význam pri tvorbe protilátok v organizme.

Antigény, ktoré sú zodpovedné za difúziu fluorescenciu v jadre ale aj cytoplazme infikovaných buniek syntetizovaných krátko po infekcii, vyžadujú pre svoju tvorbu arginínu (Whitley a kol., 2001, Mistríková, 2011).

Pre tvorbu neutralizačných protilátok v organizme je potrebné pripravovať antigény, ktoré by mohli zohrávať hlavnú úlohu pri predpokladanom onkogénnom procese niektorých herpetických vírusov. Ďalej pripraviť vhodné monošpecifické imúnne séra proti antigénom. Problém týchto štruktúrnych bielkovín obalených alebo nahých častíc niektorých herpetických vírus skúmalo viacero vedeckých pracovníkov. Dôkazom niektorých výskumov bola prítomnosť 24 štruktúrnych bielkovín vo virióne po infekcii buniek vírusom HSV-1. Štruktúrnymi bielkovinami vírusového obalu sú glykoproteíny, ktorých relatívna atómová hmotnosť sa pohybuje od 25 000 do 27 000. Niektoré vysokomolekulové bielkoviny sa môžu zhlukovať a vytvoriť komplex skladajúci sa z dvoch alebo aj troch bielkovín. Týmito pozorovaniami sa zistila prítomnosť 25 800 aminokyselín. To znamená, že 47 % genetickej informácie vírusu je zodpovedných za tvorbu štruktúrnych vírusových bielkovín. (Mistríková, 2011).

Analýza štruktúrnych bielkovín herpetických vírusov sa vykonáva pomocou elektroforézy v polyakrylamidových géloch za prítomnosti dodecylsulfátu sodného.

Táto metóda nám umožňuje separovať vírusové polypeptidy s rozdielnymi hodnotami relatívnych molekulových hmotností.

K identifikácii sa používa farbenie gélov, autorádiografia značených vírusových bielkovín alebo určenie rádioaktivity priečne rozrezaných gélov, ktorých hrúbka činí približne 1-2 mm. Zafarbením gélu bola zistená prítomnosť okolo 20 štruktúrnych bielkovín vo virióne infekčného potratu koní. Vo víruse HSV bolo identifikovaných 24 proteínov (Mistríková, 2011).

4.5 Vnímavosť buniek na herpetickú infekciu

Významnou biologickou vlastnosťou buniek a systémov ľudského tela je vnímavosť na vírusovú infekciu. Infekcia sa začína interakciou vnímavej bunky s daným vírusom.

Dôležitá je cesta a spôsob nákazy, druh diferencovanej bunky, ktorá sa do styku s daným vírusom dostane. Nakazené môžu byť bunky sliznic tráviaceho, dýchacieho a genitálneho ústrojenstva, bunky centrálného a periférneho nervového systému, lymfatického systému, krvné elementy, bunky kože, spojivového vaku svalstva alebo podkožia.

Infekcia epitelových buniek ústnej sliznice a perí vírusom herpes simplex prvého typu, ešte neznačí, že na tento druh vírusu je vnímavý len tento typ buniek. Herpes simplex sa môže rozmnožovať nielen v bunkách ľudského organizmu, ale aj v bunkách zvierat.

Príkladom môžu byť bunky myší, morčiat, králikov, bunky kuracích zárodkov a ďalších iných stavovcov (Whitley a kol., 2001, Mistríková, 2011).

Vnímavosť buniek na vírusovú infekciu in vitro (pokusom vykonaným mimo ľudské telo) rozumieme schopnosť vírusu rozmnožovať sa v tkanivových kultúrach pripravených z ľudských alebo živočíšnych orgánov. Táto vnímavosť na infekciu herpetickým vírusom je veľmi často úmerná ich patogenite pre hostiteľa in vivo (na živom organizme).

Vírusy herpes simplex prvého a druhého typu sa na rozdiel od iných druhov herpetických vírusov množia dobre v rozličných druhoch biologických kultúr.

Spoločnou zaujímavosťou všetkých druhov herpesových vírusov však je, že infekcia sa nemusí šíriť nutne len z bunky do bunky. Veľmi častá je aj mimobunková cesta.

Pri infekcii vírusom HSV in vitro sa vírus pomerne rýchlo uvoľňuje z bunky do vonkajšieho prostredia a tým dokáže infikovať ďalšie bunky. Tkanivové kultúry majú pre výskum vírusov

veľký význam. Experimentálne poznatky je možno aplikovať do rôznych oblastí virologického výskumu (Whitley a kol., 2001, Mistríková, 2011).

Na adsorpciu vírusu na povrch bunky a ďalšie dôležité procesy vplývajú fyzikálno-chemické faktory. Medzi najvýznamnejšie patrí teplota, ultrafialové žiarenie, rentgenové žiarenie, pH prostredia a obsah živín potrebných pre správny rast buniek a množenie vírusov. Jedným z najdôležitejších fyzikálnych faktorov pre množenie vírusov je teplota. Optimálna teplota pre množenie herpetických vírusov je 32-37 °C.

Pri výskume množenia herpetických vírusov v tzv. Maitlandových kultúrach z kuracieho embryového tkaniva pri teplote okolo 40 °C sa zistilo, že je množenie zastavené.

Podobný výsledok bol zaznamenaný aj u obličiek hovädzieho dobytky, ktoré boli infikované herpetickým vírusom (Whitley a kol., 2001, Mistríková, 2011).

Zvýšená teplota bola použitá aj pri rozlišovacích pokusoch HS1 a HS2.

Vírus HSV-1 sa pri teplote 39 °C alebo 40 °C v kultúrach chrčacích embryových obličiek, v bunkách embryových pľúc a v bunkách králičích pľúc rozmnožoval dosť dobre.

Naopak však rozmnožovanie vírusu HSV-2 bolo inhibované.

Predpokladom vzniku tohto rozdielu pri rozmnožovaní nad 37 °C môže byť aj použitý bunkový systém (Mistríková, 2011).

4.6 Cyklus vírusového rozmnožovania

Rozmnožovanie vírusov je zložitý proces, ktorého podstata je založená na vzájomných reakciách molekulových systémov vírusu alebo bunky.

Pri rozmnožovaní vírusu môže dôjsť k dvom typom infekcie. Prvým typom je infekcia produktívna a druhým infekcia neproduktívna.

Produktívna infekcia je charakterizovaná syntézou infekčných viriónov, ktoré ireverzibilne inhibujú syntézu makromolekulových bunčných komponentov, patogenicky môžu bunku poškodzovať alebo spôsobiť jej zánik.

Pre všetky typy herpetických vírusov je však charakteristická neproduktívna infekcia, pri ktorej je samotný vírusový genóm alebo vírusová častica v istej forme prítomná v bunke (Zima, 2013, Flemington, Erik K., 2001).

Pre adsorpciu vírusu sú dôležité elektrolyty vonkajšieho prostredia. Konkrétne sa jedná o vápnik a horčík. Adsorpcia je urýchľovaná prítomnosťou polyvalentných katiónov, ktoré sú zriedené. Vyššie koncentrácie však proces adsorpcie spomaľujú. Pri adsorpcii hrajú dôležitú úlohu bunkové receptory, ktoré môžu byť mukoproteinové alebo lipoproteinové.

Vlastnosťou herpetických vírusov je ich väzba na lipoproteinové receptory. Hlavnú úlohu tu majú sulfo-hydrilové skupiny receptorov. Pozorovaním pomocou elektrónového mikroskopu sa zistilo, že adsorpcia HS na bunky je pomerne rýchla. Priemerná dĺžka adsorpcie sa pohybuje od 45 do 60 minút. (Zima, 2013, Flemington, Erik K., 2001).

Ďalším procesom po adsorpcii je penetrácia (prenikanie) vírusu do intracelulárneho prostredia. Prenikanie sa uskutočňuje pomocou pinocytózy alebo viropexis, ktorý predstavuje zložitý mechanizmus prenikania vírusu cez cytoplazmatickú membránu. Proces trvá niekoľko minút, je však závislý na bunkovej kultúre. Príkladom sú herpetické vírusy, ktoré penetrovali do desiatich minút, a to vďaka rezistencii voči nízkemu pH vonkajšieho prostredia a neutralizačným látkam v kultúre. Pri ďalšom pokuse sa zase zistilo, že pri bunkách HeLa (nádorové epitelové bunky), ktoré boli infikované s vyššou multiplicitou infekcie bola dĺžka penetrácie dlhšia. Za 10 minút prenikla iba $\frac{1}{4}$ vírusových častíc.

Preto niektorí vedci predpokladajú, že okrem procesu pinocytózy je prienik možný aj spojením s bunkovou membránou, čím nastáva zlúpnutie obalu častice.

Preto pri penetrácii dochádza k morfológickým zmenám, kedy herpetický virión stráca svoj vonkajší obal. Proces je ďalej sprevádzaný radou enzymatických reakcií (Zima, 2013, Flemington, Erik K., 2001).

Po penetrácii dochádza k fáze eklipsy vírusového rozmnožovania. Ide o časové rozpätie, v ktorom nie je možné dokázať prítomnosť vírusu. Ďalej by sme mohli povedať, že je to obdobie od skončenia preniknutia viriónu do bunky po syntézu špecifických vírusových enzýmov, novej DNA a bielkovín vírusu. Jej dĺžka závisí od typu použitia bunkovej kultúry, vírusového kmeňa, ale aj multiplicity infekcie.

Ekliptická fáza rozmnožovania vírusu HS v bunkách králičích pľúc, v bunkách HeLa alebo v králičích obličkových bunkách bola 4-6 hodín.

Hneď na začiatku eklipsy sa syntetizujú včasné proteíny. Niektoré z nich sú enzymatickej povahy, ktoré sú potrebné na syntézu DNA. Poznáme DNA- polymerázu a tymidínkynázu. Štruktúru týchto neštrukturovaných bielkovín kóduje špecifická vírusová iRNA (Zima, 2002, Flemington, Erik K., 2001).

Po ukončení fázy eklipsy sa vírus začína exponenciálne množiť. Aktívne množenie vírusu je charakteristické tvorbou plnohodnotných vírusových častíc v perinukleovej cisterne alebo vo vezikulách infikovanej bunky. Prechodom cez jadrovú membránu nukleokapsidy herpetických viriónov navyše priberajú z hostiteľskej bunky aj jej vonkajší obal, s obsahom špecifických vírusových glykoproteínov, ktoré majú význam pre vírusovú infekčnosť.

Podnetom exponenciálneho množenia vírusu je pravdepodobne syntéza DNA. Nevylučuje sa však ani výstavba viriónu, ktorá je založená na zvýšení hladiny nejakého dôležitého prekursora alebo enzýmu, ktorý je zodpovedný za kinetiku množenia vírusu (Zima, 2002, Flemington, Erik K., 2001).

Kompletizácia herpetických vírusov sa uskutočňuje prechodom cez vnútornú lamelu jadrovej membrány do kanálikov endoplazmatického retikula alebo cytoplazmatických vezikúl.

Transport k povrchu bunky zabezpečujú vakuoly. Uvoľnením cytoplazmatickej membrány sa virióny z prasknutej vakuoly dostávajú do vonkajšieho prostredia. Predpokladá sa, že proces uvoľňovania viriónov z bunky je riadený génmi vírusov, ktoré sa rozmnožujú v jadre buniek (Hamplová a kol., 2015 , Zima, 2002, Flemington, Erik K., 2001).

4.7 Obranné mechanizmy organizmu

Na základe sérologických výskumov sa zistilo, že pri narodení ma približne 65 % detí neutralizačné protilátky, ktoré zvyčajne vymiznú do šiestich mesiacov. S pribúdajúcim vekom sa percento ľudí s protilátkami postupne zvyšuje. Veľké množstvo ľudí prechováva vírus HS v latentnej forme a v 25 % je možné vírus izolovať z klinicky úplne zdravých jedincov.

Opakovaná manifestácia herpetickej infekcie býva miernejšia ako prvá, pričom sa hladina neutralizačných protilátok meniť nemusí. Na vysvetlenie imunitných mechanizmov je potrebné brať do úvahy viaceré skutočnosti. Príkladom sú klinicko-patologické prípady, ktoré závisia na danom jedinci (type hostiteľa), imunosuprimovaní jedinci, novorodenci, imúnne faktory uplatňujúce sa pri reaktivácii a regulácii rekurentných foriem infekcie, súvislosť medzi herpetickými vírusmi a nádorovými ochoreniami alebo aj úsilie o vypracovanie účinnej antiherpetickej vakcíny. Imunologické výskumy však nie je možné skúmať len z pohľadu účinku protilátok na samotný vírus. Dôležitý je aj ich účinok na bunky, ktoré sú infikované herpetickým vírusom a bunky nesúce špecifické antigény vírusu HSV na svojom povrchu (Krejsek a kol., 2004).

Vírus, ktorý vnikne do organizmu ako antigén prinúti bunky, aby začali produkovať špecifické protilátky. Tie sa naviažu na vírus a spolu s ďalšími inými nešpecifickými mechanizmami pomáhajú neutralizovať infekčný vírus a zároveň ho z organizmu odstraňovať. Týmto mechanizmom sa pacient začína uzdravovať. Na základe hlbšieho štúdia sa však zistilo, že tento mechanizmus nemá na organizmus celkom blahodarný účinok.

Na základe výskumov a pozorovaní môžeme uviesť, že jednou z možných príčin je vznik takzvaných cirkulujúcich komplexov antigénu a danej protilátky (Krejsek a kol., 2004).

V priebehu ochorenia sa identifikovali cirkulujúce kryoproteínové komplexy antigénu a protilátky, ktoré však v priebehu uzdravovania pacienta úplne vymizli. Tieto komplexy sa skladali z imunoglobulínov ako sú IgG, IgM a IgA (Krejsek a kol., 2004).

Imunologické problémy herpetických infekcií sa skúmajú na molekulárnej úrovni. Dôležitá je spojitosť medzi štruktúrnymi a neštruktúrnymi proteínmi vírusu HSV-1 a HSV-2 a imunitnou odpoveďou organizmu na daný druh herpetickej infekcie. Kmene vírusu HSV-1 a HSV-2 majú rovnaký počet a molárne koncentrácie štruktúrnych bielkovín, ale relatívna molekulová hmotnosť kapsidových a nekapsidových bielkovín je rôzna. Dôležitý rozdiel je v tom, že hlavný kapsidový polypeptid VP5 všetkých kmeňov vírusu HS2 je väčší ako kmeňov vírusu HS1. Preto sa tento kapsidový polypeptid stal aj významným faktorom pri skúmaní variability v rámci jedného sérologického typu vírusu HSV (Krejsek a kol., 2004).

Z buniek, ktoré boli infikované vírusom HS sa pomocou elektroforézy v polyakrylamidovom gély izolovali špecifické polypeptidy charakteristické len pre neinfikované bunky.

Ich syntéza je náhradou syntézy bielkovín charakteristických pre neinfikované bunky. Časť polypeptidov sa v elektroforéze pohybovala rovnako ako ako štruktúrne polypeptidy viriónu HSV. Kmene obidvoch typov vírusu HSV a kmene rovnakého sérologického typu sa porovnávajú. Niektoré štruktúrne a neštruktúrne polypeptidy môžu byť totožné. Ich kinetika je však rozličná (Krejsek a kol., 2004).

4.8 Herpes simplex vírus prvého typu (HSV-1)

HSV-1 je vysoko nákazlivá infekcia, ktorej výskyt je známy a bežný po celom svete. Väčšina infekcií HSV-1 sa získava v detstve a infekcia je celoživotná. Najčastejšie sa vyskytujúca infekcia HSV-1 je orálny herpes, kedy sa infekcia vyskytuje v ústach alebo okolo úst. Ďalšími postihnutými časťami môžu byť napríklad aj genitálie alebo oblasť análneho otvoru. Takže tu nachádzame prítomnosť HSV-1, genitálneho herpesu (Mistríková, 2011, Smith a kol., 2002).

4.8.1 Príznaky a symptomy

Perorálna herpetická infekcia je vo väčšine prípadoch asymptomatická. Ľudia infikovaný týmto vírusom o danej infekcii ani nevedia. Medzi symptomy orálneho herpesu patria bolestivé pľuzgiere alebo dokonca aj otvorené vredy vo vnútri alebo okolo ústnej dutiny. Infikované osoby často pociťujú brnenie, svrbenie alebo pocity pálenia okolo úst, a to ešte predtým, než sa vred objaví. Po začiatkovej infekcii sa pľuzgiere alebo vredy môžu opakovane opakovať. Počet opakovaní sa líši od daného jedinca, ktorý je infekciou postihnutý (Smith a kol., 2002).

Genitálny herpes spôsobený HSV-1 môže byť asymptomatická alebo môže mať mierne príznaky, ktoré sú ale nerozpoznatelné. Pokiaľ sa príznaky vyskytnú, môžeme v oblasti genitálií alebo análneho otvoru pozorovať viacero pľuzgierov alebo vredov. Po začiatkových skoro nebadateľných príznakoch sa genitálny herpes môže rozvinúť do závažnej nepríjemnej choroby. Našťastie je jeho výskyt menej častý ako herpes orálny (Mistríková, 2011).

4.8.2 Prenos

HSV-1 sa prenáša prevažne ústnym kontaktom, čo spôsobuje orálnu infekciu. Kontakt s vírusom HSV-1 môže nastať prenosom pomocou slín alebo dotykom prostredníctvom infikovaných predmetov. HSV-1 môže byť prenesený aj do genitálnej oblasti pomocou oral-genitálneho kontaktu, ktorý spôsobuje genitálny herpes. Jedinci, ktorí príznaky genitálneho herpesu už majú, mali by sa zdržať sexuálnej aktivity.

Ak už infekcia HSV-1 prítomná je, riziko výskytu ďalšieho HSV-1 je nulové.

Aj napriek tejto skutočnosti sú však vystavení riziku výskytu herpes simplex vírusu druhého typu (Smith a kol., 2002).

Tehotné ženy s príznakom genitálneho herpesu by o tomto náleze mali informovať poskytovateľov zdravotníckej starostlivosti. V prípade výskytu v neskoršom štádiu tehotenstva, je veľmi vysoké riziko výskytu novorodeneckého herpesu (Mistríková, 2011).

Podľa odhadov bolo v roku 2012 HSV-1 infikovaných približne 3,7 miliardy obyvateľov, ktorých vek nepresiahol 50 rokov. Tento počet predstavuje približne 67 % populácie.

Odhadovaná prevalencia bola však najvyššia v Afrike (87 %) a najnižšia v Amerike (40-50 %) (Mistríková, 2011, Smith a kol., 2002).

4.8.3 Priebeh onemocnenia

K najčastejším prejavom patrí herpetický zápal ďasien a úst. Ochorenie je sprevádzané horúčkou, nepríjemnými bolesťami v oblasti krku, častý je aj odtok hltanu.

Na sliznici ústnej dutiny a perách sa tvoria veľmi bolestivé pľuzgiere. Ďalej sa objavuje aj zápal hltanu, či herpetická infekcia oka (Mistríková, 2011).

U imunokompromitovaných ľudí, ktorí sú zároveň infikovaný vírusom HIV, môže mať HSV-1 závažnejšie príznaky a následné komplikácie.

K najčastejším patrí napríklad encefalitída alebo keratitída (infekcia oka) (Mistríková, 2011).



Obrázok č. 8, Vírus HSV-1 prítomný v ústnej dutine,

Zdroj: <https://www.intechopen.com/books/diagnosis-and-management-of-oral-lesions-and-conditions-a-resource-handbook-for-the-clinician/benign-infectious-lesions-conditions-of-the-oral-mucous-membrane>

4.9 Herpes simplex virus druhého typu (HSV-2)

HSV-1 infekcia je rozšírená po celom svete a je takmer výlučne sexuálne prenosná. Spôsobuje genitálny opar. HSV-2 je hlavnou príčinou genitálneho herpesu, ktorý môže byť taktiež spôsobený vírusom herpes simplex prvého typu. Avšak infekcia HSV-2 je celoživotná a nevyliciteľná (Mistríková, 2011, Smith a kol., 2002).

4.9.1 Príznaky a symptomy

Genitálne infekcie často nemajú vôbec žiadne príznaky alebo len mierne príznaky.

Preto si väčšina ľudí ani neuvedomuje, že nejakú infekciu má. Predchádzajúcu diagnózu genitálneho herpesu hlási približne len 10 % postihnutých.

Pokiaľ sa nejaké príznaky vyskytnú, genitálny herpes je charakterizovaný jedným alebo aj viacerými análnymi pľuzgiermi, niekedy aj otvorenými vredmi. Častá je aj horúčka, zdiereň lymfatické uzliny alebo celkové bolesti tela.

Ľudia infikovaní HSV-2 môžu pociťovať mierne mravčenie alebo vpichy v oblasti nôh, bokov alebo chrbta ešte pred príznakmi genitálneho vredu (Mistríková, 2011, Smith a kol., 2002).

4.9.2 Prenos

HSV-2 sa vyskytuje hlavne v dospelosti, pri kontakte s genitáliami, kožou, vredmi alebo tekutinami infikovaného jedinca. Nie je však vylúčený ani prenos z análnej oblasti, na ktorej sa príznaky danej infekcie vôbec neprejavili.

Vo vzácných prípadoch je možná aj infekcia HSV-2 prenášaná z matky na dieťa počas pôrodu (Mistríková, 2011).

4.9.3 Priebeh onemocnenia

Infekcie, ktoré sú prenášané pohlavným stykom sa prejavujú približne po týždennej inkubačnej dobe herpetickou vyrážkou. U žien sa vyskytuje v oblasti čapíku maternice alebo vagíny, u mužov na žaludi penisu. Pľuzgiere sa dosť rýchlo menia na vrede. Zápalová reakcia však trvá aj niekoľko týždňov.

Bolo dokázané, že HSV-2 a HIV sa navzájom ovplyvňujú. HSV-2 totiž zvyšuje riziko nárastu novej infekcie HIV približne až o trojnásobok. Navyše ľudia, ktorí trpia infekciou HIV a HSV-2 pravdepodobne šíria HIV medzi iné osoby. Až 60-90% ľudí žijúcich s HIV zároveň trpí aj HSV-2.

Pri pokročilejšom štádiu HIV môže HSV-2 viesť k závažnejším, ale zároveň vzácnejším komplikáciám. Príkladom je meningoencefalitída, ezofagitída, hepatitída, pneumonitída, nekróza sietnice a ďalšie (Mistríková, 2011, Smith a kol., 2002).



Obrázok č. 9, Kožné pluzgiere vyvolané vírusom HSV-2,

Zdroj: <https://www.bobbybukamd.com/medical-services/herpes-simplex-virus-hsv-2/>

4.9.4 Vírus herpes simplex druhého typu a karcinóm čapíka maternice

Prvé dôkazy o prítomnosti HSV-2 v etiológii nádoru pochádzajú zo séroepidemiologických výskumov. Séra pacientiek, ktoré trpeli invazívnym karcinómom čapíka maternice mali vo vyššom počte prípadov protilátky, ktoré neutralizovali vírus (78 %) ako séra kontrolovaných jedincov (22 %).

Séra prostitútok vykazovali výskyt neutralizačných protilátok v 54 % prípadov, čo je dôkazom toho, že vírus HSV-2 sa šíri a prenáša pohlavným stykom. Výskumy ukázali aj to, že pacientky s karcinómom čapíka majú vyššie priemerné hladiny protilátok proti vírusu HSV-2, ako u kontrolovaných osôb (Szantó, 1979).

Séroepidemiologické výskumy však nedávajú priamu odpoveď na otázku hlavnej úlohy vírusu HSV-2 v etiológii karcinomu čapíka. Výskyt HSV-2 je vzhľadom na výskyt karcinomu čapíka maternice v rôznych štátoch rozdielny. Príkladom je Izrael, ktorý má nízku incidenciu karcinómu čapíka, narozdiel od Kolumbie, v ktorej je incidencia najvyššia.

Z tohto vyplýva, že vírus HSV-2 nie je jediným faktorom, ktorý sa zúčastňuje na etiológii nádoru. Pri sériologických výskumoch sa použili antigény z neproduktívne infikovaných buniek, ktoré sa skladujú pri teplote 4 °C. V priebehu troch týždňov skladovania pri tejto teplote sa antigén rozloží a jeho reakcia s väzbou komplementu už nie je aktívna (Szantó, 1979).

Dôkazy o vírusovom pôvode karcinómu čapíka vyplývajú z pozorovania buniek pošvových náterov, v ktorých sa vírusy nachádzali. Izolácia vírusu z karcinómu čapíka nie je častá. Približne u 9 % žien so zdravým epitelom čapíka sa pomocou fluorescencie našla prítomnosť vírusu HSV-2 v pošvovom nátery. Výsledky pozitívnej imunofluorescencie sú obmedzené na malý počet buniek. Všetky uvedené výsledky sú len prvým krokom ku konečnému dôkazu, že genóm herpetického vírusu, ktorý by mohol navodiť transformáciu buniek in vitro, má onkogénny účinok aj na in vivo. Za onkogén považujeme aj časť vírusovej DNA. Je dosť možné, že karcinogénny účinok herpetického vírusu sa uplatňuje len v určitých okolnostiach ako jeden z faktorov kancerogenézy (zhubného bujenia). Nie je vylúčená ani kombinácia s onkogénnymi vírusmi-retrovírusmi. Úloha ostatných faktorov ako je častá erózia, posun fyziologickej hranice dlaždicového epitelu čapíka a cylindrického epitelu krčka, nie je známa (Mistríková, 2011, Szantó, 1979).

5. Ochorenia vyvolané vírusmi HSV-1 a HSV-2

Ochorenia, ktoré vznikajú vírusmi HSV-1 a HSV-2 sú vyvolané prvoinfekciou, alebo vzplanutím endogénneho vírusu. Sekundárna infekcia je výnimočná (Mistríková, 2011).

Herpetická gingivostomatitída

Je prítomná u detí od jedného do troch rokov, ale jeho výskyt nie je vylúčený ani u dospelých jedincov. Je najčastejšie sa vyskytujúca forma prvoinfekcie vírusom HSV-1. Inkubačná doba trvá okolo piatich dní. Prodromálnymi príznakmi sú zvracanie, horúčka, malátnosť, niekedy aj krče. Sčervenenie vzniká na vnútornej strane tváre, jazyku, ďasnách alebo perách.

Uprostred sčervenania sa vytvára pľuzgier, ktorý sa mení na oválnu eróziu so šedavožltou spodinou. Veľkosť priemeru erózií je od dvoch do štyroch milimetrov, ale ich celkový počet môže dosahovať aj niekoľko desiatok milimetrov. Ich výskyt nie je vylúčený ani na miestach ako je nos, nosohltan alebo horné dýchacie cesty.

Pľuzgiere spolu splývajú najmä v okolí ústnej dutiny. Hojenie prebieha po dobu troch týždňov a vzniku žlkastých krúst (Harel a kol., 2004, Christie a kol., 1998).



Obrázok č.10, Herpetická gingivostomatitída, Zdroj: <https://sk.medixa.org/choroby/herpeticka-gingivostomatitida>

Primárna herpetická dermatitída

Vzniká súčasne so stomatitídou alebo ako kontaktná infekcia pri profesionálnej expozícii séronegívnej osoby. Predispozičným faktorom sú rôzne defekty kože, ako aj popáleniny.

V oblasti výskytu kožného sčervenania vzniká papulózne zdurenie, ktoré prechádza v pľuzgier. Usporiadanie pľuzgierov je buď oblúkovité alebo lineárne, takže ich rozloženie pripomína zosteriformný herpes.

Často dochádza aj k zdureniu uzlín. Príznaky sú veľmi podobné ako aj pri stomatitíde. Pre diagnózu tejto infekcie je rozhodujúca anamnéza (kontakt s infekciou a inkubačná doba trvajúca asi päť dní), charakteristické početné erupcie (možná izolácia vírusu), štvornásobné zvýšenie titra špecifických protilátok alebo sérokonverzia (Scheinfeld, 2005).

Eczema herpeticum

Ide o herpetickú infekciu kože, ktorej predchádzal atopický ekzém. Koža ekzematika sa infikuje vírusom, ktorý sa môže vylučovať slinami u perizistentne infikovaných osôb.

Vyskytuje sa na tvári, krku, a ďalších miestach, na ktorých neskôr vznikajú vezikuly, ktoré pretrvávajú približne deväť dní. U detí s oslabenou imunitou hrozí virémia s generalizáciou vírusu, nekróza kôry nadobličiek alebo ťažký šok (Gao, 2010).



Obrázok č.11, Eczema herpeticum, Zdroj: <https://www.webmd.com/skin-problems-and-treatments/eczema/picture-of-eczema-herpeticum>

Keratokonjunktivitída

Vzniká ako následok rekurentného herpesu alebo prvoinfekcia. Ak vzniká ako prvoinfekcia, môže sa gingivostomatitída komplikovať ako zápal spojovky alebo sa môže vyskytnúť pľuzgier na rohovke jedného, či oboch očí. Rohovka je dosť bolestivá. Pacienti trpia nadmerným slzením alebo fotofóbiou.

Hojenie tohto defektu trvá dva alebo tri týždne. Izolácia vírusu je možná z tekutiny prednej očnej komory. Účinnou liečbou je lokálna aplikácia jóddeoxyuridínu, aj vďaka svojim toxickým účinnkom (Mistriková, 2011).

Herpes labialis

Patrí medzi najčastejšie formy rekurentného herpesu. Prejavuje sa v oblasti prechodu kože a sliznice v okolí pier, na tvári, ale aj na iných a akýchkoľvek miestach kože.

Vznikajú pľuzgiere alebo početné vezikuly. Hojenie trvá dva týždne, ktoré sprevádza vznik krusty, ktorá po regenerácii epitelu odpadá. Z histologického pohľadu sú pľuzgiere lokalizované intraepiteliálne. Najprv vzniká balónovitá degradácia buniek, ktorá neskôr zhrubne. Spodinu tvoria nekrotické bunky. Kryt je tvorený rohovinou, ktorá však vydrží dlhšie než kryt pľuzgierov, ktorí nemajú rohovinový dlaždicový epitel (Szantó, 1979).

Herpetická encefalitída

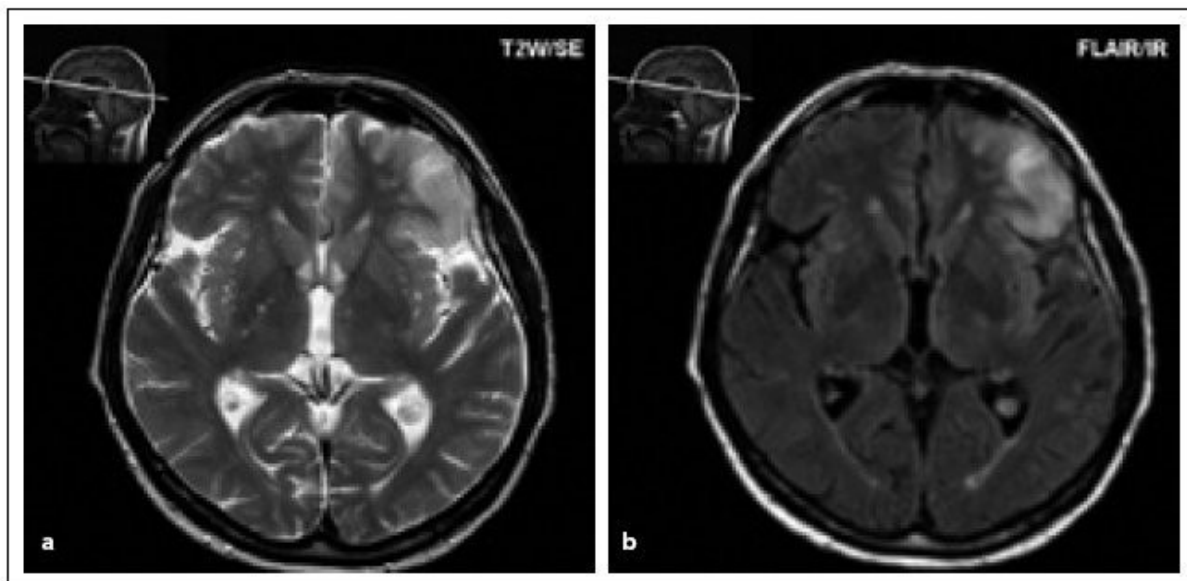
Priebeh herpetickej encefalitídy má častokrát smrteľné následky. Vzniká buď ako prvoinfekcia alebo následkom aktivácie endogénneho vírusu.

Pri prvoinfekcii ju predchádza herpetická stomatitída. Častokrát nadväzuje na generalizovaný herpes novorodencov. Väčšinou však herpetická encefalitída vzniká úplne náhle z celkovo dobrého zdravotného stavu jedinca (Mistriková, 2011).

Jej výskyt je možný v každom veku. Príznakom je horúčka, ktorá je spojená aj so psychickými problémami ako je strata pamäti, epileptické kŕče alebo bezvedomie.

Ďalším príznakom je vysoký vnútrobunečný tlak.

V patogenéze sa uplatňuje šírenie vírusu HS krvnou cestou, ale možné je aj šírenie pozdĺž nervov. Šírenie pomocou krvnej cesty sa uplatňuje hlavne vtedy, ak encefalitída vzniká ako komplikácia generalizovaného herpesu u novorodencov. Najčastejším šírením pozdĺž nervovej je pomocou čuchových dráh. Pitevné nálezy ukazujú na poškodenie templorálnej a frontálnej kôry a limbického systému (Vandercam a kol., 2008).



Obrázok č.12, Herpetická encefalitída, Zdroj: http://www.csnn.eu/ceska-slovenska-neurologie-clanek/moznost-predikce-prubehu-herpeticke-encefalitidy-pomoci-magneticke-rezonance-kazuistika-32818?message=add&id_topic=32818

Herpes genitálu

Herpes genitálu môžeme považovať za ochorenie, ktoré je spôsobené vírusom HS2 a je šírené pohlavným stykom. U mužského pohlavia vznikajú pri prvoinfekcii pľuzgier. V niekoľkých prípadoch

už bola zaznamenaná aj uretritída (zápal močovej trubice) alebo prostatitída (zápal predstojnej žľazy). U ženského pohlavia vzniká pri prvoinfekcii častokrát nepozorovane, pretože výskyt pľuzgierov a ďalších defektov je na pošvovej klenbe a v oblasti vonkajšieho vyústenia krčka maternice.

Zriedkavejšie vzniká aj herpetická vulvovaginitída (zápal vonkajších rodidiel a pošvy) , v niektorých prípadoch aj s postihnutím kože v oblasti stehien.

Klinickými príznakmi sú pálenie, svrbenie a ďalšie. Prítomné je aj zdurenie miestnych uzlín (Mistríková, 2011).

Herpes novorodencov

Má viacero klinických foriem. Kožné manifestácie sú prítomné asi len u polovici prípadov. Tvorí sa výrazné splývavé buly, lokalizované kdekoľvek, ale najčastejšie v oblasti stehien.

Časté je olupovanie búl a ich druhotné infikovanie.

Najvýznamnejšou formou je hepatoadrenálna nekróza, ktorá sa prejavuje tretí až dvanásť deň po pôrode. Prítomné sú rozsiahle krvácania do kože a sliznice, ktoré spôsobuje porucha zrážanlivosti krvi. Herpes spôsobuje horúčky, kŕče, poruchy dýchania, niekedy aj kómu (Kimberlin a kol., 2007).

6. Prevencia

6.1 Modulácia imunitnej odpovedi

Imunitný systém je systémom, ktorý riadi sám seba. Odpoveď na daný antigén je často špecifická a ohraničená. Ak je antigén odstránený, imunitná odpoveď síce začne klesať, ale vytvára sa tzv. pamäť, ktorá v prípade opätovného stretnutia s daným antigénom spustí rýchlejšiu a účinnejšiu imunitnú reakciu.

Mechanizmy imunomodulácie (ovplyvňovanie imunity organizmu) môžu byť namierené proti T-lymfocytom a B-lymfocytom. Imunomodulácia má buď tlmivý alebo povzbudzujúci účinok. Povzbudzujúcou látkou môže byť špecifická látka akou je aj látka očkovacia. Podstatou vakcinácie je stimulácia imunity proti známym antigénom (Krejsek a kol., 2004).

6.2 Vitamíny

Vitamíny patria medzi esenciálne látky, ktoré patria k základným zložkám ľudskej stravy. V potrave sa však môžu vyskytovať buď vo forme provitamínov, alebo ako konečné formy. Výnimkou sú vitamíny H, K a D, ktoré sa do tela dostávajú pomocou mikroorganizmov hrubého čreva alebo na základe faktorov vonkajšieho prostredia.

Sú dôležité na udržanie životných funkcií, výstavbu nových tkanív a ochranu proti vírusovým infekciám (Mandelová a kol., 2007).

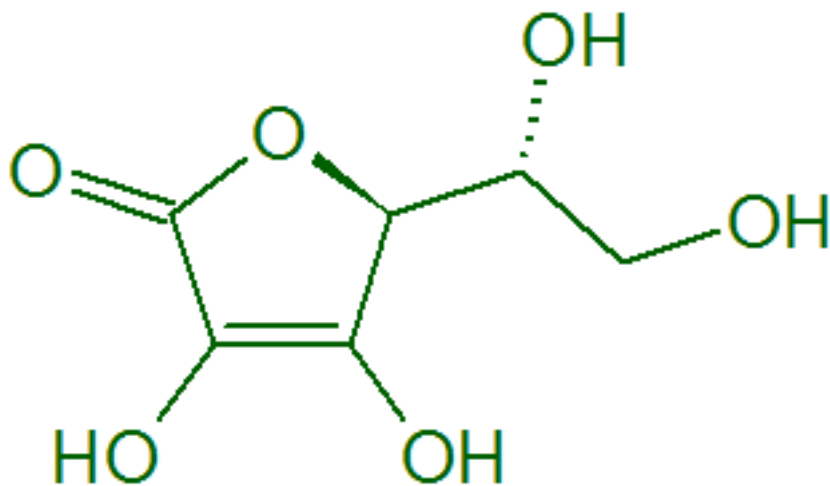
6.2.1 Vitamín C

Vitamín C (kyselina askorbová) patrí medzi najsilnejšie fyziologické antioxidanty ľudského organizmu kde plní veľa dôležitých funkcií. Dôležitou schopnosťou je neutralizácia reaktívnych foriem kyslíka, ktoré sú prítomné vo forme radikálov. Vitamín C aktivuje obranyschopnosť organizmu. Je imunomodulátorom, ktorý je potrebný pre správne fungovanie imunitného systému. Americký National Institute of Environmental Health Science na krvných

vzorkách dokázal, že vitamín C poskytuje najrýchlejšiu ochranu pred oxidačným stresom (nedostatkom vitamínu C).

Vitamín C sa nachádza skoro vo všetkých živých organizmoch, najviac ale v čerstvej zelenine a ovocí. Veľa výrobkov je o vitamín C umelo obohatených.

Avitaminóza (úplný nedostatok vitamínu) sa v dnešnej dobe nevyskytuje príliš často. Môže sa prejavovať u jedincov, ktorí neprijímajú ani minimálnu dávku, ktorá predstavuje 8-10 mg/deň (Padayatty a kol., 2004).



Obrázok č.13, Chemický vzorec kyseliny askorbovej, Zdroj: <https://www.vitaminy-mineraly.sk/clanky/kyselina-askorbova---vitamin-c.html>

6.2.2 Vitamín D

Medzi najčastejšie prijímaný a požívaný vitamín proti vírusovým ochoreniam patrí vitamín C. Požíva sa preventívne proti prechladnutiu, chrípke, ale aj ďalším vírusovým ochoreniam.

Mnoho ľudí však nevie, že okrem spomínaného „C – čka“ je dôležitý aj príjem vitamínu D.

Vitamín D prijímaný zo slnečného žiarenia je vytváraný v koži. V prípade jeho nedostatku najmä v chladnejšom období, je organizmus náchylnejší na vírusové ochorenia (Mithal a kol., 2009).

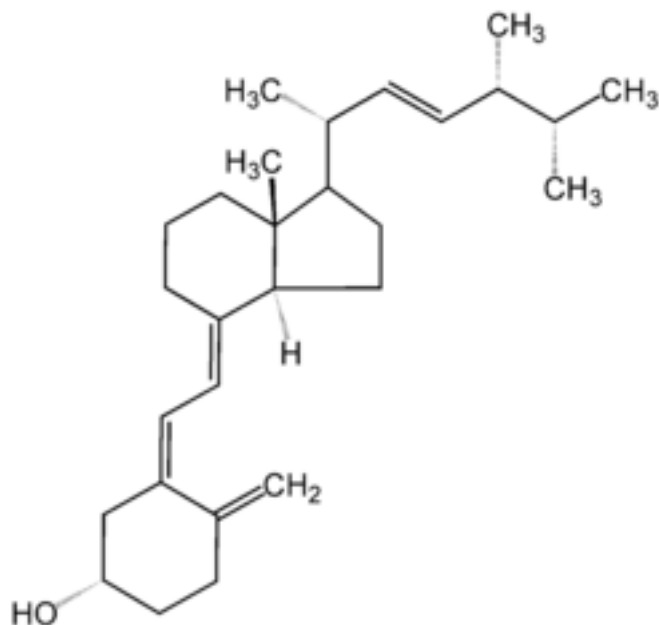
Nové štúdie, ktoré boli publikované v odborných časopisoch Nature Immunology a European Journal of Clinical Nutrition zamerali svoju pozornosť na prepojenie buniek imunitného systému a vitamínu D3-cholecalciferolu, ktorý je vytváraný v koži po vystavení slnečnému žiareniu. Pozornosť bola daná aj na súvislosť medzi nedostatkom vitamínu D a zvýšenou

vnímavosťou tela na infekcie dýchacích ciest. Na základe týchto zistení bol dôkladne preskúmaný liečebný potenciál vitamínu D3 ako liečiva vhodného v prevencii proti vírusovým ochoreniam. Jeho účinok ktorý bol pozorovaný na bunkových kultúrach s vírusmi pri laboratórnych podmienkach sa spája so schopnosťou vitamínu D3 stimulovať tvorbu mnohých organických zlúčenín, ktoré sú schopné pôsobiť proti mikroorganizmom (Mithal a kol., 2009).

Tieto širokospektrálne organické zlúčeniny patria k hlavným premožiteľom vírusových patogénov. Ich schopnosťou je inaktivácia vírusov a zvýšenie smerovania bielych krviniek, ktoré dokážu pohlcovať škodlivé látky do takých miest, kde sa vírusy rozmnožujú a následne spôsobujú poškodenie celých tkanív (Mithal a kol., 2009).

Podľa odborníkov nie je možné, aby človek dokázal pokryť doporučenú dennú dávku vitamínu D len z prijatej stravy. Na dosiahnutie optimálnej dennej hladiny by jedinec musel skonzumovať 6 kg syra feta, alebo 33 vajec. Preto je veľmi dôležité dostatočné slnenie, ktoré by malo byť aspoň trikrát týždenne po desiatich minútach a to bez opaľovacích krémov.

V období jesene a zimy sa odporúča príjem vitamínu D pomocou doplnkov stravy (Mithal a kol., 2009).



Obrázok č.14, Chemický vzorec vitamínu D, Zdroj: <http://radosv.blog.cz/0703/vitamin-d>

6.3 Očkovanie

Očkovanie u herpetických vírusov je zatiaľ len teoretickou možnosťou prevencie. Prakticky táto možnosť preventívneho opatrenia ešte nebola vyskúšaná.

Historicky prvé očkovanie bolo určené proti dvom závažným vírusovým infekciám a to variole a besnote. Očkovanie využíva vlastnosti imunitného systému človeka. Systém pri stretnutí s antigénom začne produkovať špecifické protilátky pomocou bielych krviniek

(B-lymfocytov) alebo pomocou buniek killer cells, ktoré daný antigén úplne zlikvidujú (T-lymfocyty) (Kovalinka, Machala, 2011).

Princípom očkovania je vnesenie antigénu do organizmu s cieľom vzniku odolnosti založenej na tvorbe protilátok a T-lymfocytov, a to bez priebehu danej infekčnej choroby. Najdlhšie používanými sú tzv. vakcíny prvej generácie, ktoré obsahujú celý patogénny mikroorganizmus. Na to, aby vírus nebol schopný vyvolať chorobu a ponechal si schopnosť navodenia imunity, môže byť usmrtený buď vysokou teplotou alebo chemicky pomocou formaldehydu. Veľa protivírusových vakcín však obsahuje živý vírus, ktorý je oslabený alebo atenuovaný. Pestovanie nových generácií mikroorganizmov pôvodného vírusu na zvieratách alebo rôznych tkanivových kultúrach, môže spôsobiť oslabenie vírusu (Kovalinka, Machala, 2011).

Vakcíny druhej generácie zvyčajne už neobsahujú celý mikroorganizmus, ale len jeho určitú časť (antigény). Tie sú získavané štiepením vírusových častíc a ich separáciou. Modernejšie vakcíny obsahujú geneticky modifikované mikroorganizmy. Príkladom je kvasinka *Saccharomyces cerevisiae*, ktorá dokáže syntetizovať povrchový antigén vírusu hepatitídy B alebo obalové bielkoviny papilomavírusov, ktoré spôsobujú rakovinu čípka maternice. Očkovanie proti väčšine chorôb je kvôli aplikácii priamo pod kožu alebo do svalu dosť bolestivé. Existuje však aj aplikácia očkovacích látok pomocou nosných kvapiek, no táto metóda je používaná oveľa zriedkavejšie (Kovalinka, Machala, 2011).

7. Liečba

7.1 Antivirotika

Podávanie acyklovírusmi sú štandardným postupom pri liečbe infekcií herpes simplex.

Dostupné sú v perorálnej aj intravenózne forme. Perorálne podanie nie však až tak veľmi dostupné. Preto sa uprednostňuje podanie intravenóznou cestou, pretože pri tomto spôsobe podávania lieku môžeme dosiahnuť až desaťnásobne vyššie koncentrácie.

Polčas rozpadu acyklovírusu je približne dva a pol hodiny, preto je veľmi dôležité presne určené dávkovanie. Perorálna aplikácia si vyžaduje dávkovanie päť krát denne, pričom sa vynecháva nočná dávka. Jedna dávka obsahuje 200 mg acyklovírusu, toto množstvo je možno v prípade potreby zvýšiť na 400 mg. Malé deti a jedinci s ťažším renálnym poškodením dostávajú nižšie dávky. Priemerná dĺžka liečby je päť dní, ale u každého jedinca sa môže individuálne predĺžiť (Kozub, Šimaljaková, 2008).

Intravenózne dávkovanie je určené pre pacientov s ťažkými prípadmi ako je napríklad vírus herpes simplex pri infekcii HIV, novorodenecký herpes sepsa alebo herpetická encefalitída.

Dávkovanie je určené v osem hodinových intervaloch trikrát denne. Dávkuje sa 5 mg/kg acyklovírusu po dobu siedmich až desiatich dní. Herpetická encefalitída a herpes sepsa si vyžadujú vyššie dávky a to 10 mg/kg antivirotika. Acyklovírus veľmi dobre preniká do tkaniva cez hematoencefalickú bariéru, ale aj cez placentu. Intravenózne, ale aj perorálne podanie je veľmi tolerantné a zároveň bezpečné. Vyššiu pozornosť je potrebné venovať starším pacientom, ktorí majú vyšší sklon k dehydratácii alebo u pacientov s ťažkými poruchami obličiek. U týchto pacientov môže dôjsť ku kryštalizácii v renálnych tubuloch, čo môže spôsobiť reverzibilne zvýšenú hladinu kreatinínu alebo ojedinele k akútnej tubulárnej nekróze. Vedľajšie účinky sú mierne. Pokiaľ to nie je nevyhnutné, podávanie acyklovírusov v období gravidity nie je doporučované. Registry doteraz neukázali žiaden poškodenie plodu, ale počty gravidít, ktoré boli monitorované nie sú dostatočné. V prípade nájdenia infekcie v genitálnej oblasti pred pôrodom sa spolupracuje s gynekológom (Kozub, Šimaljaková, 2008).

Preto sa v takýchto prípadoch zvolí alternatíva pôrodu cisárskym rezom. Toto rozhodnutie je však potrebné uskutočniť najneskôr do šiestich hodín po ruptúre plodového obalu. V opačnom prípade by mohlo dôjsť k ascendentnej infekcii. Ak k objaveniu infekcie dôjde inokedy než v období pred pôrodom, zvažuje sa pomer benefit-riziko, podľa ktorého k danej liečbe

acyklovírusom dôjdem, alebo nedôjde. Opakované rekurentné opary sa riešia preventívnou liečbou, ktorá môže byť kontinuálna alebo intermitentná. Kontinuálna liečba zahŕňa 4 x 200 mg acyklovírusu alebo častejšie 2 x 400 mg. Užívanie je individuálne, no nemalo by trvať menej ako dva mesiace. Pri intermitentnej liečbe je dôležité liek užívať hneď po prvých príznakoch choroby (Kozub, Šimaljaková, 2008).

Valacyklovir je antibiotikum, ktoré je prekurzorom acyklovírusu. Má dobrú absorpciu gastrointestinálnym traktom. Jeho biologická dostupnosť pri perorálnom podávaní je tri až päťkrát vyššia než u acyklovírusu. Jedna škandinávská štúdia ukázala, že jednodňová liečba v dávke 2 x 1000 mg znižuje počet a intenzitu rekurencií. Namiesto antivirových liekov môžu pacienti užívať aj iné imunomodulačné látky, ktoré posilnia slabú imunitu pacienta nepriamo vďaka antigénom rôznych mikroorganizmov, alebo priamo pôsobením na vírusy alebo lymfocyty. Túto liečbu predpisuje imunológ jedincom, ktorí trpia defektom vrodenej a bunkovej imunity (Kozub, Šimaljaková, 2008).

Na liečbu vírusu herpes simplex pôsobí aj diéta. Nadbytok arginínu spôsobuje vyššie riziko vzniku herpesu. Lyzín má zase opačný účinok. Medzi potraviny, ktoré majú vyššie hladiny lyzínu a nízke hladiny arginínu patria napríklad syry, mlieko, kvasnice, ryby, väčšina ovocia a zeleniny, okrem hrachu. Nedoporučuje sa želatína, ovos, biela múka, celozrnné pečivo alebo čokoláda (Kozub, Šimaljaková, 2008).

Úspešná liečba si vyžaduje aj prevenciu. Po miestnom ošetrení lézií je potrebná zvýšená hygiena, dôkladné umývanie rúk, používanie vlastných uterákov a bielizne. Prevenciou je aj vyhýbanie sa intímnemu kontaktu (Kozub, Šimaljaková, 2008).

V súčasnosti sa liečba herpes simplex opiera o virostatiká, ktoré inhibujú vírusovú DNA, majú dobrý bezpečnostný profil, sú vysoko účinné a neinteragujú s ostatnými liekmi. Nevýhodou je, že nedokážu herpetické vírusy eradikovať (ničiť choroboplodné zárodky), preto je výskum účinnej vakcíny stále aktívny (Kozub, Šimaljaková, 2008).

7.2 Klinická farmakológia

Na liečbu herpesu boli navrhnuté rôzne spôsoby liečby. Príkladom sú látky, ktoré zahŕňali povrchovú aplikáciu ako jód, idoxuridín, trifluorotymidín alebo acyclovir. Tento spôsob liečby mal rôzny stupeň úspešnosti, na rozdiel od predošlých spôsobov, ktoré úspešné neboli.

Acyclovir, ktorý sa užíva orálne je účinný len trochu. Je však účinný len na prerušenie replikácie vírusu. Lepšie výsledky pozorujeme pri systémovej liečbe infekčného vzplanutia. Účinné liečenie pri povrchovej aplikácii nebolo zatiaľ vyskúmané. Jedinci, ktorí trpia syndrómom autoimunitnej nedostatočnosti (AIDS) majú vážne zníženu imunitu a oslabujúce vzplanutie vírusu HS. Taktiež osoby s AIDS môžu byť nositeľmi kmeňov vírusu HSV, ktoré sú rezistentné na acyclovir, čo je dôvodom jeho neúčinnosti.

Preto je veľmi dôležité, aby sa vyvinula úspešná a hlavne bezpečná metóda liečby na prekonanie vážnych ťažkostí spojených s infekciou vírusom HSV (Rott a kol., 2006).

7.3 Výskum chemických látok na liečbu vírusu herpes simplex

Bola preskúmaná veľká časť chemických látok, ktoré by mohli byť pri liečbe úspešné.

Pozoroval sa experiment s 2%-90% fytochemickým koncentrátom druhu *Echinacea purpurea* a od 0,005%-0,8% benzalkóniumchloridom, pričom fytochemický koncentrát obsahoval ešte ďalšie fytochemikálie (Squires, 2002).

Tieto látky sa použili na prípravu liečiva a liečenie ochorení vyvolaných vírusom herpes simplex a iných infekčných ochorení. Tento liek sa aplikuje zvonka a jeho účinok je veľmi rýchly a účinný. Navyše je tento spôsob liečenia bezpečný, dostupný a lacný.

Vylepšený liek nazývaný ako Viracea obsahuje novú liečebnú kompozíciu, antimikrobiálnu látku, formuláciu a roztok. Tento antimikrobiálny spôsob liečby je úspešný hlavne pri liečbe oboch typov vírusu HSV (HSV-1 a HSV-2) ako povrchová liečba, ale pri liečení iných mikrobiálnych infekcií podobných herpesu. Výsledky liečby sú prekvapivo dobré a výhodné.

Úvodné skúšky vykonávané *in vivo* s povrchovou aplikáciou ukázali ústup bolesti v priebehu niekoľkých minút a veľmi rýchle vymiznutie pľuzgierovej vyrážky. Ak sa liečebný postup začne aplikovať ešte v počiatočnom štádiu, infekcia sa preruší a k ďalším vzplanutiam už nedôjde. Ďalšie skúšky *in vitro* preukázali veľmi prekvapujúce inhibičné účinky.

Tento inhibičný účinok je veľmi žiaduci. Látka obsahuje inhibítory mikrobov, ktoré inhibujú, potláčajú a zastavujú mikrobiálnu infekciu. Mikroby zahŕňajú fytochemikálie prítomné

v *Echinacea purpurea*. Za určitých okolností inhibítory mikrobov môžu obsahovať aj inhibítory plesní. K lepším účinkom prispieva aj prítomnosť *Echinacea purpurea* v surovom, neposekanom, ani nijak inak spracovanom či upravenom stave. Liek sa môže nanášať pomocou spreju, naprášením, tampónom, hubkou, kefkou alebo poliatím (Squires, 2002).

Keďže je táto liečba prospešná a účinná pre osoby (ľudské bytosti), nie je vylúčená ani užitočnosť vo veterinárstve (Squires, 2002).

Účinnou povrchovo aktívnou látkou je benzalkóniumchlorid, ktorý je vo vodnom roztoku komerčne dostupný ako Zephiran[®] a dodávateľom je Sanofi Winthrop Pharmaceuticals. Benzalkóniumchlorid je antiinfekčná a stredne účinkujúca povrchovo aktívna látka.

Účinkuje proti baktériám, vírusom, ale aj plesniam a prvokom (Squires, 2002).

Bakteriálne spóry sú však rezistentné. Benzalkóniumchloridové roztoky sú podľa danej koncentrácie bakteriostatické alebo baktericídne. Presný mechanizmus pôsobenia nie je známy, ale predpokladá sa, že pri ňom dochádza k inaktivácii enzýmov. Jeho aktivita sa zvyšuje s rastúcimi hodnotami fyzikálnych a chemických veličín ako je teplota a pH (Squires, 2002).

Grampozitívne baktérie sú na benzalkóniumchlorid oveľa citlivejšie ako gramnegatívne baktérie. K jeho inaktivácii dochádza pri reakcii s mydlami, aniónovými detergentmi, sérom a niektorými proteínmi. Preto už v mnohých laboratóriách prestáva byť obľúbenou chemikáliou (Squires, 2002).

Pri povrchovej aplikácii samotného benzalkóniumchloridu *in vivo* na infekčné vzplanutia herpes simplex, nebola pozorovaná žiadna účinnosť. Pri aplikácii *in vitro* sa prejavili vysoké hodnoty bunecnej toxicity, a to aj pri jeho zriedenom stave (Squires, 2002).

7.4 Skúšky *in vivo*

V úvode výskumov bolo vykonaných niekoľko skúšok na zhodnotenie účinkov spôsobu liečby a lieku vyššie opísaného experimentu. Skúšky boli vykonané na siedmich osobách, u ktorých sa zistilo, že sú pozitívni na vírus HSV-1 alebo HSV-2. Pacientom bola povrchovo aplikovaná zmes liečiva, ktorá obsahovala aktívnu látku benzalkóniumchlorid vo vodnom roztoku v presnom pomere (1:750) a bylinným výťažkom *Echinacea purpurea* a to v práškovej forme s prítomnosťou len vybraných chemikálií (Squires, 2002).

Aplikácia lieku prebehla dvojstupňovo. Najprv boli navlhčené miesta kde sa vyskytoval pľuzgier benzalkóniumchloridom prostredníctvom spreja alebo kvapkadla. V ďalšom kroku sa vytvoril povlak fytochemikálií na zvlhčenú plochu buď pomocou tampónu alebo ručným naprášením prášku na postihnuté miesto. Dôležitým aspektom liečby bolo úplne pokrytie zasiahnutej plochy počas vzplanutia. Preto postihnuté plochy museli byť prekrývané aj opätovne (Squires, 2002).

Skúšky sa zúčastnilo šesť žien a jeden muž. Muž bol vo veku 38 rokov a ženy mali 8, 27, 30, 32, 38 a 39 rokov. Po dobu šiestich týždňov došlo k dvanástim vzplanutiam. Deväť vzplanutí bolo pôvodom vírusu HSV-2 - genitálny herpes, a tri boli pôvodom vírusu HSV-1 - chladné vredey.

Dve najmladšie ženy mali vírus HSV-1. Ostatné ženy a muž mali genitálny herpes. U všetkých osôb bola história daného ochorenia veľmi dobre zdokumentovaná, a tak bolo ľahké určiť štandardný priebeh ochorenia. Aby získané údaje boli čo najobjektívnejšie, nikto z osôb nedostal informácie o skúšanej liečbe a podávaných liekoch. Po čase však pacientom bolo povedané, že vo vzorkách preparátu môže byť zmiešané aj placebo.

Antimikrobiálna kompozícia sa u každého pacienta podával v prodromálnom štádiu.

Pri každej aplikácii lieku každý pacient opisoval pocit niekoľkosekundového štipania. Viditeľná bola aj priľnavosť kompozície na pľuzgier alebo postihnutému miestu, ktorá ostala aj po osprchovaní alebo opláchnutí daného miesta vodou (Squires, 2002).

Výsledky skúšok boli prekvapujúco dobré a veľmi konzistentné. Každý pacient taktiež opisoval zmiznutie bolesti po dobu desiatich až dvadsiatich minút. Vo všetkých prípadoch, keď bol liek podávaný v prodromálnom štádiu, okrem bolesti sa stratili aj príznaky nasledujúceho vzplanutia. Všetky vonkajšie fyzikálne prejavy a symptómy herpesu vymizli v priebehu niekoľkých hodín po aplikácii kompozície. V piatich prípadoch, kde bola kompozícia aplikovaná na pľuzgiere, osoby opisovali zmiznutie pálenia, svrbenia a vysušenie pľuzgierov po dobu necelého dňa. U všetkých jedincov oslabujúce príznaky ako horúčka, malátnosť, opuchy alebo bolestivé močenie po aplikácii lieku úplne vymizli (Squires, 2002).

Pri ďalšom sledovaní keď bola pacientom darovaná kompozícia v prípade výskytu vzplanutia v budúcnosti, sa liek aplikoval hneď po počiatočných známkach vzplanutia. Výsledky boli aj v týchto prípadoch veľmi pozitívne. Zaujímavé je aj to, že osoby, ktoré zvykli mať niekoľko vzplanutí ročne, ich výskyt sa objavoval v dlhších latenčných periódach (Squires, 2002).

Upozornením je, že jedna osoba mužského pohlavia hlásila, že po počiatočnej aplikácii kompozície v prodromálnom období sa osprchovala a zabudla na opätovnú aplikáciu lieku počas tridsiatich hodín. Výsledkom tejto nepozornosti bolo vyhodenie viacerých pľuzgierov, ktoré po určitom čase začali spolu splývať. Pacient následne pokračoval v aplikácii lieku a udržiaval miesto pokryté podávanou zmesou.

K zmiznutou vzplanutiu došlo približne po dvadsiatich hodinách (Squires, 2002).

Ďalšie pozorovanie ukázalo, že oslabenie účinku kompozície môže nastať aj v prípade so styku s mydlami alebo inými proteínmi. Jedna skúšaná osoba ženského pohlavia postihnuté miesto čistila nie príliš vhodným a miernym spôsobom a to pred plánovanou aplikáciou lieku. Po aplikácii lieku po umytí sa nedostavili pocity štipania ani ďalšie ustúpenia príznakov. Po uplynutí jedného dňa, kým pacientka požiadala o radu, vzplanutie sa vyvinulo do štádia pľuzgieru so všetkými príznakmi ochorenia. Pokyny, ktoré dostala boli, aby odstránila všetky pozostatky mydla z postihnutých miest, dobre ich vysušila a opätovne aplikovala kompozíciu. Po aplikácii lieku vzplanutie vymizlo a dostavili sa rovnaké účinky ako v predchádzajúcich prípadoch (Squires, 2002).

7.5 Dermatologické a veterinárne skúšky

Skúšky boli vykonané aj na zvieratách s cieľom aby sa zistila akákoľvek možná dermatologická alergická reakcia vyvolaná danou antimikrobiálnou kompozíciou.

Zvieratá na ktorých sa skúšky vykonali boli: tri samice králik, dva psy (dvojročná samica a deväťročný samec) a jeden trojročný vykastrovaný kocúr. Zvieratám bola kompozícia aplikovaná predtým stanoveným spôsobom do vnútra vonkajšieho ucha. Ošetrená plocha sa udržiavala pokrytá zmesou po dobu jedného dňa, čo zodpovedalo časovému údaju aj ľudí.

Výsledkom skúšok neboli žiadne známky alergickej reakcie alebo iného dermatologického podráždenia (Squires, 2002).

7.6 Skúšky *in vitro*

Laboratórne skúšky sa vykonali v Laboratóriách klinickej mikrobiológie na Chicagskej Univerzite. Cieľom bolo stanoviť inhibičnú aktivitu *in vitro* tohto spôsobu liečby a antimikrobiálnej kompozície. Skúšky boli vykonané zástupcom riaditeľa, profesora patológie, ktorý daný liek skúmal a jeho výsledky boli taktiež veľmi dobré. Kompozícia lieku

mala dobrú inhibičnú aktivitu na vírus HSV-1 a HSV-2. Patológ vyhlásil, že od kedy skúma liečbu vírusu HS, takéto dobré pôsobenie lieku ešte nevidel.

Pri týchto skúškach využívali surové materiály, ktoré neboli prečistené. No aj napriek tomu výsledky skúšok preukázali dobrú inhibičnú aktivitu a synergiu medzi zložkami.

Možným vysvetlením je vzájomná reakcia medzi bezalkóniumchloridom a *Echinacea purpurea* (Squires, 2002).

7.7 Komerčne dostupné preparáty

V praxi sa používajú rôzne nukleosidy, ktoré ako falošné substráty majú schopnosť zablokovať funkciu DNA-polymerázy a zastavia replikáciu vírusovej DNA.

Pre opätovnú aktiváciu je potrebná vírusová tymidinkináza, ktorá vyhladá bunky napadnuté herpesvírusmi a zdravé bunky neovplyvní.

Pri primárnych infekciách sa podávajú po dobu siedmich až desiatich dní, u rekurentných infekcií okolo piatich dní (Litvik, 2008).

Cidofovir sa podáva u HSV, ktoré sú rezistentné voči acyklovirom. Nežiadúce účinky predstavujú bolesti hlavy, alopeciu (vypadávanie vlasov v zhlukoch), nauzeu (nevoľnosť) a ďalšie (Obstová, 2010).

Medzi komerčne dostupné preparáty patrí napríklad aj Brivudin, ktorý je určený na terapiu cytomegalovírusových infekcií, pre liečbu herpes simplex len okrajovo. Liečba trvá päť až desať dní (Litvik, 2008).

Inosinum pranobexum je prípravok, ktorý a schopnosť zvyšovať prirodzenú obranyschopnosť organizmu a posilňuje jeho imunitnú odpoveď na vírusové infekcie. Pôsobí hlavne na zložky bunecnej imunity. Taktiež má aj protivírusový účinok (Litvik, 2008).

Viru-Merz sa používa na liečbu infekcií spôsobených vírusom herpes simplex. Prípravok sa používa hneď na začiatku keď je vírus ešte v počiatkovej fáze, teda pred vznikom pľuzgiera. Medzi tieto počiatkové príznaky patrí napríklad bodanie, pálenie, bolesť, pocit svrbenia alebo aj pálenia (Litvik, 2008).

Magnesii hydroxidum je ďalším účinným chladiacim liekom, ktorý slúži hlavne na zmiernenie pocitu pálenia a svrbenia. Taktiež podporuje regeneráciu kože. Svojim protizápalovým sťahujúcim účinkom zabraňuje, aby lymfatické cievy rozširovali infekciu aj do svojho okolia (Litvik, 2008).

Docosanol (Erazaban) pôsobí proti vírusom. Používa sa k liečbe časných štádií vírusu herpes simplex, pokiaľ sa pľuzgiere ešte neobjavujú. Je vhodný pre dospelých a dospievajúcich. Aj po prvotných príznakoch oparu ako je sčervenanie, svrbenie, bolesť alebo pálenie sa liek naďalej aplikuje, a to až dovtedy, kým sa opar úplne nezahojí. Dĺžka liečby je približne jedno týždňová. (Litvik, 2008).

8. Záver

Moja bakalárska práca sa zaoberá infekčným vírusovým ochorením – vírusom herpes simplex. Vírusy ako nebunkové organizmy mikroskopických rozmerov potrebujú k svojmu rozmnožovaniu hostiteľskú bunku s vlastným bunečným aparátom. Pre lepšiu a hlbšiu výskum sa využívajú laboratórne diagnostické metódy a postupy, ktorým vďačíme za lepšiu vizualizáciu a vyšetrenie daného vírusu a jeho následnú diagnostiku.

Vírus herpes simplex patrí medzi najrozšírenejšie vírusové ochorenia vo svete. Sposobuje opary v rozličných častiach organizmu. Prvý typ vírusu (HSV – 1) je známy ako orálny herpes, sprevádzaný bolestivými pľuzgiermi hlavne v oblasti tváre. Druhý typ vírusu (HSV – 2) je pohlavne prenosný a jeho výsledkom je genitálny herpes, ktorý je nebezpečný aj v prípade tehotenstva, kedy hrozí prenesenie infekcie z matky na dieťa.

Vzhľadom na rozličné možnosti interakcie herpetických vírusov s infekčnými bunkami a mnohotvárne cesty šírenia sa herpetických vírusov vo vnútri organizmu je patogenéza týchto infekcií dosť zložitá.

V závislosti od obrannej schopnosti organizmu a taktiež od stavu organizmu v čase prvoinfekcie, vznikajú rozmanité klinické formy ochorení.

Bakalárska práca na túto tému ma veľmi zaujímala a rada by som v tomto smere pokračovala aj v ďalšom štúdiu a vypracovaní diplomovej práce.

Zoznam použitej literatúry a prameňov :

- EGERTON, Ray F. *Electron energy-loss spectroscopy in the electron microscope*. Springer Science & Business Media, 2011.
- FLEMINGTON, Erik K. Herpesvirus lytic replication and the cell cycle: arresting new developments. *Journal of virology*, 2001, 75.10: 4475-4481.
- GAO, Pei-Song, et al. Genetic variants in thymic stromal lymphopoietin are associated with atopic dermatitis and eczema herpeticum. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2010, 125.6: 1403-1407. e4.
- GIBBONS, Ian. *Agglutination assay*. U.S. Patent No 4,829,011, 1989.
- HAMPLOVÁ, Lidmila, et al. *Mikrobiologie, imunologie, epidemiologie, hygiena pro bakalárske studium a všetky typy zdravotníckych škôl*. Stanislav Juhaňák-Triton, 2015.
- HAREL, Liora, et al. Presence of viremia in patients with primary herpetic gingivostomatitis. *Clinical infectious diseases*, 2004, 39.5: 636-640.
- CHING, Shanfun; BILLING, Patricia A.; GORDON, Julian. *Process for immunochromatography with colloidal particles*. U.S. Patent No 6,534,320, 2003."
- CHRISTIE, S. N., et al. Recrudescence herpes simplex infection mimicking primary herpetic gingivostomatitis. *Journal of oral pathology & medicine*, 1998, 27.1: 8-10.
- KIMBERLIN, David W. Herpes simplex virus infections of the newborn. In: *Seminars in perinatology*. WB Saunders, 2007. p. 19-25.
- KLABAN, Vladimír. *Ekologie mikroorganizmů: ilustrovaný lexikon biologie, ekologie a patogenity mikroorganizmů*. Galén, 2011.
- KONVALINKA, Jan; MACHALA, Ladislav. *Viry pro 21. století*. Academia, 2011.
- KOZUB, Peter; ŠIMALJAKOVÁ, Mária. Herpes simplex—aktuálne pohľady na liečbu. *Via Pract*, 2008, 9: 365-369.
- KREJSEK, Jan; KOPECKÝ, Otakar. *Klinická imunologie*. NUCLEUS HK, 2004.
- LESLEY, S. M., et al. STUDIES ON THE RELATIONSHIP BETWEEN VIRUS AND HOST CELL: II. THE BREAKDOWN OF T2 r+ BACTERIOPHAGE UPON INFECTION OF ITS HOST ESCHERICHIA COLI. *Canadian journal of medical sciences*, 1951, 29.3: 128-143.
- LIESEGANG, Thomas J. Herpes simplex virus epidemiology and ocular importance. *Cornea*, 2001, 20.1: 1-13.

- LITVIK, R. Úloha kožní bariéry u atopické dermatitidy. 2008.
- MANDELOVÁ, Lucie; HRNČIŘÍKOVÁ, Iva. *Základy výživy ve sportu*. MU, 2007.
- MISTRÍKOVÁ, Jela, Aktuální přehľad herpetických vírusov človeka a iných živočíšnych druhov, I. časť , 2011
- MITHAL, Ambrish, et al. Global vitamin D status and determinants of hypovitaminosis D. *Osteoporosis international*, 2009, 20.11: 1807-1820.
- OBSTOVÁ, I. Iličová S. Každodenní péče o suchou a citlivou pokožku. *Léčba ran a péče o pokožku*, 2010, 1: 68-75.
- PADAYATTY, Sebastian J., et al. Vitamin C pharmacokinetics: implications for oral and intravenous use. *Annals of internal medicine*, 2004, 140.7: 533-537.
- PEPPERKOK, Rainer, et al. COPI vesicles accumulating in the presence of a GTP restricted arf1 mutant are depleted of anterograde and retrograde cargo. *J Cell Sci*, 2000, 113.1: 135-144.
- ROSYPAL, S. a kol. Nový přehled biologie. Praha. *Scientia*, 2003.
- SAUEROVÁ, Pavla. Interference vybraných DNA virů s procesy apoptózy. 2011.
- SCHEINFELD, Noah. Diaper dermatitis. *American journal of clinical dermatology*, 2005, 6.5: 273-281.
- SMITH, Jennifer S., et al. Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 2002, 94.21: 1604-1613.
- SQUIRES, Meryl. *Antimicrobial prevention and treatment of human immunodeficiency virus and other infectious diseases*. U.S. Patent No 6,350,784, 2002.
- SZANTÓ, Ján., Herpetické vírusy v ľudskej patológii, 1979
- TOMÁŠ, Zíma. Laboratorní diagnostika. 2002.
- VANDERCAM, T., et al. Herpetic encephalitis is a risk factor for acute retinal necrosis. *Neurology*, 2008, 71.16: 1268-1274.
- WHITLEY, Richard J.; ROIZMAN, Bernard. Herpes simplex virus infections. *The lancet*, 2001, 357.9267: 1513-1518.
- WILDY, P.; RUSSELL, W. C.; HORNE, R. W. The morphology of herpes virus. *Virology*, 1960, 12.2: 204-222.

