ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KLİNİK ÖRNEKLERDEN EPSTEİN-BARR VİRÜSÜNÜN MOLEKÜLER ÇALIŞMASI

Hussein Jbarah Kadhim KADHIM

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2021

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Hussein Jbarah Kadhim KADHIM tarafından hazırlanan "**Klinik Örneklerden Epstein-barr Virüsünün Moleküler Çalışması**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman **:** Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN

Eş Danışman : Prof. Dr. Majid Noori HUMOUD

Jüri Üyeleri:

Başkan **:** Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN
Çankırı Karatekin Üniversitesi,
Biyoloji Anabilim Dalı

Üye **:** Doç. Dr. Mine TÜRKTAŞ ERKEN
Gazi Üniversitesi,
Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Üye **:** Dr. Öğr. Üyesi Ebru GÜL
Çankırı Karatekin Üniversitesi,
Toprak İlmi ve Ekolojisi Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ
Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "**Klinik Örneklerden Epstein-barr Virüsünün Moleküler Çalışması**" konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim. (30/06/2021).

Hussein Jbarah Kadhim KADHIM

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KLİNİK ÖRNEKLERDEN EPSTEİN-BARR VİRÜSÜNÜN MOLEKÜLER ÇALIŞMASI

Hussein Jbarah Kadhim KADHIM

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN
Eş Danışman: Prof. Dr. Majid Noori HUMOUD

Bu çalışmada, klinik örneklerden epstein-barr virüsünün tanımlanması için 60 tam kan ve serum örneği test edilmiştir. Alınana örneklerden 18 ile 80 yaşları arasındaki hastalarda, şiddetli mononükleoz enfeksiyonu ile ilgili semptomlar ve bulgular gelişmiştir. Alınan plazma örneklerinde, Epstein - Barr virüsü, VCA-IgM, Immunoglobulin ve EBNA-IgG için pozitif olarak test edilirken, VCA-IgG pozitif, EBNA-IgG ve negatif VCA-IgM için serolojik parametreler yaklaşık dokuz ay sonraki denemelerde ortaya çıkmıştır. Bu denemelerde, EBV-DNA bulmak için polimeraz zincir reaksiyonunu (PZR) kullanmaya karar verilmişitr. EBV reaktivasyonu sırasında EBV gp220 DNA'sının (100 viral kopya) bir PZR amplifiye (saptama limiti) spesifik fraksiyonu ile serotip devam etmiştir. Tüm tam kan örneklerinde PZR pozitif sonuçlar vermiştir. Elde edilen sonuçlar istatistiksel analiz yapılarak değerlendirilmiş ve iki Kappa parametresi arasında bir bağlantı olduğu bulunmuştur ($p < 0{,}001$). Tüm örneklerde EBV DNA teşhisi hastalık semptomlarına dayanmaktadır. Gelecekteki araştırmalar, gerçek zamanlı PZR'de virüs genlerinin mutasyon tipini belirlemek için EBV DNA'nın kullanımına işaret edebilir.

2021, 67 Sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Epstein – barr virüsü, VCA-IgM, herpes virüsleri, PZR

ABSTRACT

Master of Science Thesis

MOLECULAR STUDY OF EPSTEIN-BARR VIRUS FROM CLINICAL SPECIMENS

Hussein Jbarah Kadhim KADHIM

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Melda DÖLARSLAN
Co-Advisor: Prof. Dr. Majid Noori HUMOUD

In this study, 60 whole blood and serum samples were tested for the identification of epstein-barr virus from clinical samples. Patients aged 18 to 80 years from specimens developed symptoms and signs of severe mononucleosis infection. In plasma samples taken, Epstein - Barr virus tested positive for VCA-IgM, Immunoglobulin and EBNA-IgG, while serological parameters for VCA-IgG positive, EBNA-IgG and negative VCA-IgM emerged in trials approximately nine months later. In these trials, it was decided to use the polymerase chain reaction (PCR) to find EBV-DNA. The serotype persisted during EBV reactivation with a PCR amplified (limit of detection) specific fraction of EBV gp220 DNA (100 viral copies). PCR gave positive results in all whole blood samples. The results obtained were evaluated by performing statistical analysis and a correlation was found between the two Kappa parameters ($p < 0.001$). The EBV DNA diagnosis in all samples is based on disease symptoms. Future research may point to the use of EBV DNA to determine the mutation type of virus genes in real-time PCR.

2021, 67 pages

Keywords: Epstein - barr virus, VCA-IgM, Herpes viruses, PCR

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

"Klinik örneklerden Epstein-Barr virüsünün moleküler çalışması" adlı bu **Yüksek Lisans** çalışmamın her safhasında yakın ilgi ve önerileri ile beni yönlendiren, her türlü yardımını esirgemeyen, her zaman destekleyen ve inanılmaz bir anlayış gösteren değerli hocam Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN ve çalışmanın yönlendirilmesinde ve yürütülmesinde yol gösteren, kıymetli fikirlerini esirgemeden sunan, değerli eş danışman hocam sayın Prof. Dr. Majid Noori Humoud ALYASIRI'ye sonsuz teşekkür ederim.

Hussein Jbarah Kadhim KADHIM

Çankırı, Haziran 2021

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR iii
İÇİNDEKİLER iv
KISALTMALAR DİZİNİ vi
ŞEKİLLER DİZİNİ vii
ÇİZELGELER DİZİNİ viii
1. GİRİŞ 1
2. EVB İLE İLGİLİ HERPES VİRÜSLERİN ÖZELLİKLERİ 2
2.1 EBV'nin Yapısı 2
2.1.1 EBV genomu ve açık okuma çerçeveleri (Orf) 4
2.2 EBV'nin Biyolojik ve Genetik Özellikleri 5
2.2.1 Biyolojik özellikleri 5
2.2.2 EBV'nin genetik mekanizmaları 12
2.3 EBV ve Bağışıklık Sistemi 16
2.3.1 Doğal bağışıklık tepkisi 16
2.3.2 Adaptif bağışıklık tepkisi 17
2.3.3 CD8+ T hücre tepkisi 17
2.3.4 CD4+ T hücre tepkisi 18
2.3.5 CD4+ T düzenleyici hücreleri 19
2.3.6 Humoral bağışıklık tepkisi 20
2.4 EBV'nin İmmün Kaçış Mekanizması 21
2.5 EBV ve Moleküler Tespiti 23
2.5.1 EBV ile ilgili hastalıklar 25
2.5.2 Birincil ebv enfeksiyon 25
2.5.3 Bağışıklık sisteminin baskılanmasıyla ilişkili hastalıklar 26
2.5.4 EBV ile ilişkili diğer hastalıklar 31
3. MATERYAL VE YÖNTEM 34
3.1 Hastaların Seçimi 34
3.1.2 Malzemeler 35
3.2 Yöntem 36
3.2.1 Kan toplam 36
3.2.2 Genomik DNA izolasyonu protokolleri 36
3.2.3 Agaroz jel elektroforezi 38
3.2.4 Polimeraz zincirleme reaksiyonu 39
3.2.5 İmmünolojik tahliller 40
3.2.6 Virüs IgM antikorlarının ölçülmesi 41
3.3 Istatistiksel Analiz 41
4. BULGULAR 42
4.1 Çalışma Katılımcılarının Klinik Özellikleri 42
4.2 Moleküler Deneyler 43
4.2.1 Genomik dna'nın izolasyonu 43
4.2.2 EBV-DNA'nın amplifikasyonu 43

4.2.3 Hastalarda ve kontrol gruplarında ebv-dna prevalansı 44
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR 46
KAYNAKLAR 48
ÖZGEÇMİŞ 67

KISALTMALAR DİZİNİ

EBV	Epstein – barr virüsü
BL	Burkitt lenfoma
HV	Herpes virüsü
IM	İnfeksiyöz mononükleoz
CMV	Sitomegalovirüs
HSV	Herpes simpleks virüs
EBNA	Epstein-barr nükleer antijeni
OHL	Oral kıllı lökoplaki
BCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
DNA	Deoksiribonükleikasit
NHL	Non-hodgkin lenfoma
Mg^{+2}	Magnezyum iyonu
MgCl2	Magnezyum klorür
EBER	Ebv kodlayan rna
HD	Hodgkin hastaligi
HHV	Human herpes virüs
RNA	Ribonükleikasit
DSÖ	Dünya sağlık örgütü
CD21	Cluster of differentiation 21
NPC	Nazofaringeal karsinomda

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Ebstein-barr virüsünün yapısı(Murray and Young 2001).....4

Şekil 4.2 Hastanın lenf düğümü kümelerinin tam kan ve serum örneklerinden.....44

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Bu çalışmada kullanılan genel laboratuvar ekipmanı ve aleti……....35

Çizelge 4.1 Hasta ve kontrolün demografik verileri..... .42

Çizelge 4.3 Hastalarda ve kontrollerde gözlemlenen sayılar.....45

1. GİRİŞ

Epstein - Barr virüsü adını Anthony Epstein ve Yvonne Barr adlı bilim adamlarından almaktadır. Dennis Epstein, Yvonne Barr ve diğer bilim adamları, bu hastalığın etiyolojisi ve çevresel faktörleri ile ilgili önemli bilimsel ilerlemeler kaydetti (Burkitt and Wright 1966). Epstein serokonversiyon Barr, BL biyopsi ile alınan BL kesitlerinden alınan hücre kültüründe başarılı olmuştur. Bu hücrelerin elektron mikroskopisini inceleyen Epstein and Barr, 1964'te yeni bir tür herpes virüsünün varlığını ortaya çıkardı. Doğal BL hücre dizilerinin kullanımına dayanan serolojik teknikler yoluyla EBV, her yerde sık karşılaşılması muhtemel bir insan virüsü olarak sınıflandırıldı serokonversiyon EBV reaktif serum antikorlarının, dünya nüfusunun kabaca %90'ında tespit edilebilir olduğunu ortaya çıkardı. Negatif ila pozitif serokonaversiyon, virüsün kişiye hayatı boyunca bulaştığını gösterir. Bununla birlikte, düşük seviyelerde EBV ve anti-EBV reaktif antikorları ve T-hücreleri ile enfekte olmuş dolaşımdaki hücrelerden görülebileceği gibi Konakçının bağışıklık sistemi enfeksiyonu dengeleyebilir (Rickinson and Kieff 2001). Erken çocukluk döneminde bir enfeksiyon meydana gelirse, EBV büyük ölçüde asemptomatik kalır. Enfeksiyöz mononükleoz (IM) olarak bilinen bir klinik tanı, iyi huylu, sınırlayıcı bir lenfoproliferatif bozukluk, genellikle Batı toplumlarında ertelenmiş ilk enfeksiyonun sonucu olabilir. Son çalışmalarda, EBV'nin farklı malignite türleri dahil olmak üzere çeşitli durumlarla etiyolojik olarak bağlantılı olduğu gösterilmiştir (Middeldorp *et al*. 2003). DSÖ, 1997 yılında EBV'nin insan sağlığı alanında 1. Sınıf insan kanserojen virüsü olarak kabul edildiğini bildirdi (IARC 1997).

2. EVB İLE İLGİLİ HERPES VİRÜSLERİN ÖZELLİKLERİ

Herpesvirüs, yaklaşık 100 farklı hayvan ve insan türünü tanımlayan bir DNA virüsü ailesidir. İnsan herpesvirüs ailesinde üç alt aile vardır. Bunlar arasında α-herpesvirüs (tip 1 ve Tip 2 herpes simplex (HSV), variselazoter virüs (VZV), β-herpesvirüs (CMV) bulunur. İnsan sifiliz virüsleri (HHV-6, HHV-7) (Lenfokriptovirüs ve Rhadinovirüsler) EBV, β-herpes virüsü lenfokritovirüsü (Stauss and Strauss 2002).

Herpes virüslerinin temel ortak özellikleri şu şekilde sıralanabilir:

Çift sarmallı DNA'dan oluşan, çeşitli nükleer asit metabolizma enzimlerini kodlayan, DNA sentezleyen, protein muamelesi ve hücre konakçı regülasyonundan oluşan GMG'ler (Horst *et al.* 2007). Bazıları gizli enfekte hücrelerin yayılmasına neden olan konakçı hücre enfeksiyöz hastalığına neden olma yeteneği (IARC 1997). Benzer yapı, esas olarak simetrik bir kapaklı bir protein çekirdeğinden, fosfoproteinin bir plazma membran tabakasından ve bir lipit zarfı içeren glikoproteinden oluşur (Brink *et al*. 2003).

2.1 EBV'nin Yapısı

EBV, bir ikosahedral kapsid **(**Şekil 2.1) amorf bir tegument ve bir viral lipid çevreleme yüzeyi ile çevrili 172 KB normal çift sarmallı DNA molekülü içeren halka benzeri bir protein çekirdeğinden yapılır (Kieff 1996). Çap 120 ila 200 nm viral partikül arasındadır ve 25 ila 35 proteinden ve konakçıya özgü nükleer membrandan türetilmiş fosfolipitlerden oluşur (Johannsen *et al.* 2004). Kaplamadaki en yaygın glikoproteinler, yoğunluğa göre sıralanmıştır (Johannsen *et al*. 2004):

- Gp350 ve gp220 (en yaygın)
- gH
- gB
- gM

- gp42

- gL

- gp78

- gp150

- gN

Tegument şunları içerir (Roizman *et al.* 1992)

- BLRF2

- BRRF2

- BDLF2

- BKRF4

- Ana Aktin

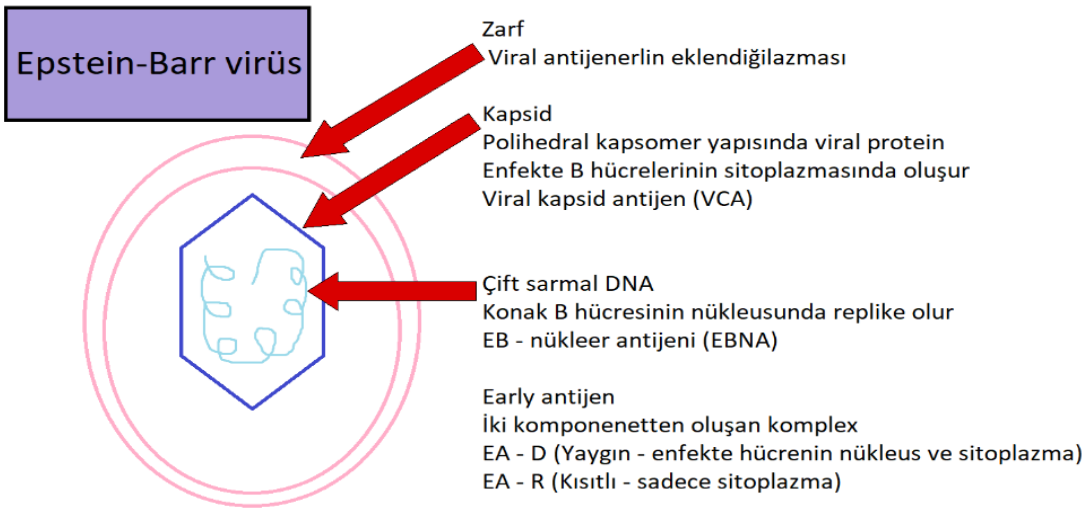
- Kofilin

- Tubilin

- Hsp90

- Hsp70

Kapsaisinin gelişimi, viral proteaz (BVRF1) tarafından parçalanan iskelenin (BdRF1) çekirdeği etrafındaki matris kapsidine DNA girişi ile başlar. Küçük BFRF3 kapsid proteini, kapside bağlanan kapsid dış kabuğunu kapatır. Başlığın karışımı Golgi'nin sitoplazmik zarı ile çevrilidir ve nükleer zardan geçtikten sonra hücresel salgı ile ayrılır (Stauss and Strauss 2002).



Şekil 2.1 Ebstein-barr virüsünün yapısı (Murray and Young 2001)

2.1.1 EBV genomu ve açık okuma çerçeveleri (Orf)

DNA molekülü, doğrusal iki sarmallı bir genom içerir. EBV Konakçı dokuda, EBV DNA, belki de konakçı DNA-polimeraz mekanizmasının her hücre bölünmesiyle sürekli olarak şiddetlendiği kapalı dairesel bir moleküldür. EBV izolatları, EBNA2 (Epstein-Barr nükleer antijen) ve EBNA3 peptitlerine (veya Tip A ve Tip B) göre Tip 1 ve Tip 2 olarak sınıflandırılır. EBV1, Batı popülasyonlarında EBV2'den daha yaygın gibi görünmektedir, ancak Orta Afrika'da ve özellikle Yeni Gine'de EBV2 enfeksiyonu yaygındır ve Alaska Esquimos EBV tip 1 ve 2'deki konakçı hücrelerin hücre büyümesi üzerindeki etkileri, EBV1'in en verimli olduğu yerlerde farklılık gösterir (Moss *et al.* 1987). Her iki tip EBV ile birlikte enfeksiyon genellikle HIV ile enfekte hastalarda tespit edilir, ancak bazen sağlıklı bireylerde de meydana gelebilir (Walling *et al.*1992). EBV tipleri 1 ve 2, EBNA2A, 3A, 3B veya 3C arasındaki sıralı varyasyon sırasıyla %36, %10, %12 ve %19 olarak rapor edilmiştir (Kieff 1996).

EBV, birçok iç tekrar alanı 80 ile 100 ORF ile yaklaşık 170 kB'lik bir genoma sahiptir. sadece 50-60 biraz farklı kodlama dizisi ile. Belirli bölgelerde ciddi birleşme mevcuttur ve ORF'ler yalnızca genomun sonundaki gizli enfeksiyonda ifade edilir. Sağ veya sol

transkriptte başlayan RNA bölgesi fragmanı BamH1'in boyutu, ORF'leri etiketlemek için kullanılır. BamH1-A, sağ çerçeve 1, BARF1'in bir örneğidir. (Chiang *et al.* 2012).

EBV sekansları olarak, EBV genomu tamamen açığa çıkarıldı ve B95.8 ve Raji (EBV tip 1) serisine göre ağırlığa göre kümelendi (Farrel 2005). B95-8 ve Raji, o zaman bile, yoğun in vitro üreme sırasında meydana gelebilecek belirli genomik delesyonları ve mutasyonları sergiler. Yakın zamanda tüm EBV 2 genomu (AG876) (Gatherer *et al.* 2006) ve GD-1 suşunun Çin NPC bağlantılı prototipi yayınlandı ve farklı EBV izolatlarının genomik fonksiyonları tüm dünyada elde edildi. Başladı: Genom, iki bitişte kısa bir terminal yeniden doldurma (TR) ve bir iç tekrarlayan ardışık gruplama (IR1-4) ile tanımlanır. Hastalık nedeniyle, doğrudan genom, son kopyalarda döngüsel olarak birleşir (Gatherer *et al.* 2006).

2.2 EBV'nin Biyolojik ve Genetik Özellikleri

2.2.1 Biyolojik özellikleri

Her yaşta ve her an EBV enfeksiyonu olan bireyler yaşam için taşıyıcı olabilirler ve bu da onların seropozitif olarak tanımlanmasına neden olur. EBV'nin ikili tropikleri, hem lenfoma hem de karsinom gelişimi ile ilişkisinde görüldüğü gibi, B lenfositleri ve epitelyumu ve ayrıca T- / NK ve monositleri içeren diğer hücre tiplerini enfekte edebilir. EBV enfeksiyonu, çeşitli hücre tiplerinde büyük ölçüde farklı aktivasyon yollarına neden olur ve çeşitli patojenik olaylarla ilişkilidir (Srivastava *et al.* 1996, Savard *et al.* 2000, Greenspan *et al.* 2007).

Tükrük salgısında bulunan EBV virionlarının testleri bademciklerden alınabilir. Bademciklerde hastalık, epitel hücrelerinin apikal yüzeyinin aksine bademciklerin mezarlarında meydana gelir (Berline *et al.* 2003, Hudnall *et al.* 2005) EBV, epitel bariyerini geçerek yüzeye bakan manto bölgesinde submukozal olan ve daha önce antijene maruz kalmamış olan B hücrelerine girebilir. kalıcı EBV enfeksiyon bölgelerinin oronasofaringeal lenfo-epitel olduğu düşünülmektedir. Epitel hücrelerini birincil EBV giriş noktası olarak destekleyen sınırlı veri vardır. Birincil EBV

enfeksiyonu tercihen B lenfositlerinde meydana gelebilir, çünkü bir B hücresi eksikliği olan bireyler genellikle EBV ile enfekte değildir ve virüs bu hastaların orofaringeal epitelinde lokal olarak bulunmaz (Faulkner *et al.* 1999). Bir çalışma, B hücre tükenmesinin EBV'yi vücuttan tamamen ortadan kaldırabildiğini göstermiştir ve B hücrelerinin EBV kalıcılığındaki önemli rolü ortaya çıkarılmıştır (Gratama *et al.* 1992).

CR2 veya CD21 olarak adlandırılan tamamlayıcı reseptör tip 2'ye bağlanma, gp350 / 220'nin hücre enfeksiyonundan kaynaklanır. Gp350 / 220'nin yüksek kalınlığı, CD21 işaretleme kompleksinin çapraz bağlanmasına izin vererek, hareketsiz B hücrelerinin G0'dan G1 hücre döngüsü aşamalarına ilerlemesine izin verir. MHC-II, dikkate değer bir EBV giriş reseptörüdür. Glikoprotein gp42 enfeksiyonunun glikoprotein gHgL ile işbirliği, enfeksiyon zarfının ve konakçı hücre tabakasının birleşmesine neden olur (Hutt-Fletcher and Turk 1995, Comeau *et al.* 1997) ve bu kompleksin gB ile etkileşimi ile tamamlanır (Haan *et al.* 2001).

Nükleokapsid EBV, EBV'nin B hücresi enfeksiyonu sırasında konakçı çekirdeğe iletilir. Bundan sonra, doğrusal DNA içeriği serbest bırakılır. Bu, gecikmelerle (LMP'ler) bağlantılı çeşitli nükleer (EBNA) ve zar proteinlerinin ekspresyonunu katalize eder (Middeldorp *et al.* 2003, Thorley-Lawson 2005). Başlangıçta Wp promotörü, CD21 aktivasyonu ile indüklenen hücresel transkripsiyon faktörleri tarafından aktive edilir ve EBNA2 ve LP ekspresyonuna yol açar. Transkripsiyon faktörü EBNA2, dokuz gizli genin tamamının ekspresyonunu destekler. Wp promoterinden Cp promoterine geçiş, Wp CpG'nin adacık sonrası metilasyonunun bir sonucu olarak meydana gelir ve daha tutarlı transkripsiyon ile sonuçlanır (Lee *et al.* 2004). EBNA2 ayrıca enfeksiyondan kısa bir süre sonra LMP1 ekspresyonunu yöneterek büyüme programının aktivasyonunu indükler (latans tip III). EBNA3A ve B'nin ekspresyonu, hücresel faktör Rbp-Jk için rekabet yoluyla EBNA2'nin aşağı regülasyonunu azaltır. EBNA3C, hücre döngüsünde G1 ilerlemesini aktive eder. Cp transkripsiyonu EBNA1'i ifade eder ve bölünmüş hücrelerde EBV genomunu tutmak için gerekli sinyalleri sağlar. Aktifleştirilmiş B hücresi aşağı, EBNA2 ve 3A-C Cp'nin folikül iletim aktivasyonunu kontrol eder. Bu nedenle EBNA2, varsayılan program (latans tipi III) (Thorley-Lawson 2005) olarak bilinen LMP1 ve LMP2A gen ifadesinden bağımsız olarak, Qp ile aktifleştirilmiş

EBNA1'e geçerken uygulanır. Bu aşamada, LMP1 ve 2A, enfekte olmuş B hücresinin harici sinyallere ihtiyaç duymadan hafıza merkezi reaksiyonuna (Thorley-Lawson 2005, Tunyaplin *et al*. 2003, Alexiou *et al*. 2004). Sistemik dolaşımda, EBV ile enfekte B-bellek hücreleri, promoter metilasyonu ile susturulmuş olan EBNA1 ile aktive edilmiş Qp ve BART transkriptleri dışında tüm bastırılmış gizli genleri oluşturur. Bu nedenle, latans 1 olarak adlandırılan normal bellek B hücrelerindeki viral genom, EBNA 1 bulundu (Hochberg *et al.* 2004). EBV ile enfekte B hücrelerinden türetilen in Vitro inaktif lenfosit hatları, aynı hücre yüzey fenotipine, hücre morfolojisine ve latent gen ekspresyonuna sahiptir. olağan birincil B hücresi enfeksiyonu profili (Farrell *et al.* 1987). B lenfosit girişinden sonra EBV'nin epitel hücre girişini ayrıntılı olarak açıklamak uygun olacaktır. Birincil enfeksiyon sırasında, orofaringeal yüzeyin mukozal epitelyumu, EBV viryonları için bir giriş kapısı olarak a ve nd sistemik enfeksiyon sırasında çoğalan EBV viryonları için bir kaçış yolu olarak işlev görebilir (Berline *et al.* 2003). AIDS ile ilişkili oral saç lökoplaki (OHL), EBV'nin latent ve litik gen ekspresyonunu birleştiren hiperplazi, verimli EBV mukus epitelini (dil) gösterebilir (Abrams *et al.* 1985, Frangou *et al.* 2002). Mide adenokarsinomundan (GC) ve nazofaringeal karsinomdan (NPC) epitelyal tümör hücrelerinde, değişken (NPC) ila negatif (GC) LMP1 ekspresyonu ile gizli EBV gen ekspresyonu, varsayılan programa benzer görünmektedir. Son çalışmalarda, tonsiller epitel hücrelerinin ex-vivo eksplant kültürünün, orofaringeal epitel enfeksiyonunun doğal EBV-konakçı etkileşiminin bir parçası olduğunu doğruladığı görülmektedir (Pegtel *et al.* 2004).

EBV, virüs salımı ve viral enfeksiyonun yayılması gibi mekanizmalar epitel hücreleri içinde tam olarak aydınlatılmamıştır. EVB'nin epitel hücrelere nasıl ulaştığına dair birkaç farklı model önerilmiştir. Bir çalışmada araştırmacılar, submukozal B hücrelerinin EVB ürettiğini ve bazal oral hücrede, polimer Ig reseptörü aracılığıyla endositoz yoluyla EVB'ye özgü dimerik IgA'ya bağlandığını öne sürmüşlerdir (Sixbey and Yao 1992). CD21 ve MHC-II ko-reseptörü normalde epitelde yoktur (Mogi 1975). Bununla birlikte, lokal inflamasyon / enfeksiyon atakları sırasında, epitel hücrelerinde HLA sınıf II ve CD21 aktivasyonu meydana gelebilir (Holling *et al.* 2004). Langerhans (LC) ve monositler gibi diğer hücre türlerinin, periferik kanda EVB ile enfekte restoratif

B hatırlaması dışında oral epitel hücrelerinde rol oynadığı bulunmuştur (Flaitz *et al.* 2007, Greenspan *et al.* 2007) .

Bazı çalışmalar Epstein-Barr Virüsünün polarize dil ve faringeal epitel hücrelerini nasıl enfekte ettiğine bakmış ve bunları CD21'e bağlı olmayan çeşitli yollarla enfekte edebildiğini bulmuştur (Berline *et al.* 2003). Bu yollar şu şekilde sıralanabilir:

•Apikal hücresel zarın Epstein-Barr Virüsü ile enfekte B hücreleri arasında hücreden hücreye doğrudan iletişim,

•EBV-BMRF2 zarf proteini ile kısmen etkileşime giren bazolateral hücresiz virüslerin girişi genellikle b1 ve a5 / b1 integralleri arasında bir RGD motifi içerir,

•Virüsler, desmozomlar ve bitişik epitel hücrelere hücre bağlantıları yoluyla yana doğru yayılır. İkinci model, en sevilen in vitro modeldir (Berline *et al.* 2003, Baldwin *et al.* 2006).

•Hem apikal hem de bazolateral membrandan epitel hücrelerini elimine ederek, viryonlar tükürük ve B hücre bölmelerine çift yönlü olarak yayılırlar. Son araştırmalar, B hücresiyle ilişkili Epstein-Barr Virüsünün, hücreden hücreye dokunma yoluyla doğrudan B hücrelerinden epitel hücrelerine aktarılabileceğini keşfetti (Pegtel *et al.* 2004, Baldwin *et al.* 2006). Dimerik gHgL kompleksi, virüsün bağlanmasına ve henüz bilinmeyen reseptöre (gHgLR) bağlanan epitelyal hücrelere penetrasyona aracılık eder ve virüs bağlanmasına ve epitel hücrelerine nüfuz etmesine izin vermek için konformasyonel değişikliklere sahip olduğu öne sürülür (Greenspan *et al.* 2007). GHgL içermeyen virüsün, in vitro (AGS) bir gastrik karsinoma hücre hattına bağlanamadığı bulunmuştur (Borza *et al.* 2000, Chiba *et al.* 2000).

MHC Sınıf II yoluyla B hücresine bağlanmada çok önemli bir role sahip olan Gp42, epitel hücreleri normalde insan lökosit antijen sınıf II moleküllerini eksprese etmediğinden EBV epitel girişinde önemli bir işleve sahip değildir (Hutt-Fletcher and Borza 2002).

Çalışmalarda ortaya çıktığı gibi, Gp42, tropizmin B lenfositinden epitel hücrelere geçişi olarak işlev görebilir (Hutt-Fletcher and Borza 2002). EBV ile enfekte B lenfositi ile epitel hücrelerini karşılaştıran bir çalışmada, insan lökosit antijeni II negatif epitelden türetilen virüsün, insan lökosit antijeni II pozitif B hücresinden türetilen EBV'ye göre daha fazla gp42 içerdiği ortaya çıkarılmış ve yine insan lökosit antijeni sınıf II negatif epitel hücreleri. B lenfositlerinin, insan lökosit antijeni sınıf II pozitif B lenfositlerinden 100 kat daha bulaşıcı olduğunu ve bunun tersi mekanizmalarla birlikte olduğunu göstermiştir (Hutt-Fletcher and Borza 2002).

Epitel hücreleri için beş kat daha bulaşıcı olanın da B hücresinden türetilen virüs olduğu gösterilmiştir. Bu bulgu, bir insan lökosit antijen sınıf II pozitif virüs üreten B hücrelerinde gp42'nin, insan lökosit antijeni II negatif virüsü üreten epitel hücrelerine kıyasla gp42 konsantrasyonunu azaltabilen insan lökosit antijen sınıf II bozunma yolu için bir hedef haline geldiğini kanıtlamaktadır (Hutt-Fletcher and Borza 2002). Sonuç olarak epitel hücrelerinin viral enfeksiyonunun virüs üretimini arttırdığını söylemek mümkün görünmektedir. Epstein-Barr virüsü ile enfekte olmuş bellek B hücrelerinin sınırlama olmaksızın bölündüğü gösterildi, ancak Epstein-Barr virüsünün (EBV), konak kromozomlarını hücre döngüsü başına bir kez kopyalayarak epizomlar olarak korunduğu gösterilmiştir (Leight and Sugden 2000). Epstein-Barr virüsü epizomunun replikasyonu, cis için ORIP ve trans için EBNA1 proteinleri tarafından düzenlenir. ORIP, EBV plazmidinin replike olmasını ve her bir yavru hücreye eşit şekilde ayrılmasını sağlar (Lindner and Sugden 2007). EBNA1, multimerik diners olarak ORIP proteinine bağlanır ve ayrıca transkripsiyon faktörleri olan AT-kancaları aracılığıyla kromozomları barındırmak için EBV genomunu bağlar (Aiyar *et al.* 2004). EBNA1'in enzimatik fonksiyonlardan yoksun olmasından dolayı, EBV gizli replikasyonu yalnızca hücresel DNA polimeraz aktivitelerine dayanır (Sugden and Middleton 1992, Humme *et al.*2003). ORIP Proteini, sırasıyla tekrarın (FR) ve çift simetrinin (DS) iki öğesi olan 16 ve 4 EBNA1 içerir; Bağlayıcı olan ORIP Proteini (Milman *et al.* 1985). DNA sentezi, DS'de veya yakınında, FR'de duraklayan veya sona eren replikasyon çatalları ile başlar (Carlos *et al.* 1989). EBNA1 ve FR'nin etkileşimi, bölünen hücrelerde uzun vadeli güvenilir EBV plazmit replikasyonunu destekler ve ayrıca bunda diğer gizli genlerin transkripsiyonunu arttırır (Carlos *et al.* 1989, Okazaki *et al.* 1993). Replikasyonun başlangıcında, EBNA1 homologları, EBV genomunu karboksi uç (amino asitler 451-

640) aracılığıyla FR'ye ve oriP'nin DS'sine bağlar (Mackey and Sugden 1999). OriP plazmitleri, hücresel enzimatik aktivitelerin S fazında yarı koruyucu olarak çoğalır (Leitch *et al.* 2004). Bir EBNA1 amino ayırıcı, konakçı mitotik kromozoma, A ve B'de (A: amino asitler 33-89) (B: amino asitler 328-378) ve hücresel proteinlerle heterosiklik etkileşim yoluyla DNA / 2D bağlanma alanı yoluyla eklenir. P32 / TAP için A ve B alanlarında ve EBP2 için B alanında bir ilişki var gibi görünmektedir (Avolio-Hunter *et al.* 1999, Middeldorp *et al.* 1998, Montalvo *et al.* 1997). Orijin tanıma kompleksi (ORC) (Bousset *et al.* 2001), MCM helix kompleksi (Chaudhuri *et al.* 2001) diğer hücresel faktörler, protein gibi. Bir çoğalma (Chen *et al.* 2005) ve rekombinant telomer faktörleri 2 (TRF2), EBNA1 tarafından menşe sahasına dahil görünmektedir (Deng *et al.* 2002). Profilleme aşamasında EBV plazmitleri, kardeş kromatitlere simetrik olarak bağlanır ve plazmidi ayırmak için sentromeri kullanır (Maruo *et al.* 2007, Aiyar *et al.* 2004). Viral döngü sekansındaki aktif rolüne ek olarak, EBNA1 bir transkriptaz güçlendirici olarak hareket eder ve proliferasyon kompleksi USP7-HAUSP / MDM2 ile etkileşim yoluyla p53'ün kararlı mimarisini bozar, ancak EBNA1'in kendisi doğrudan neoplastik değildir, muhtemelen katkıda bulunur. önemli ölçüde. Tümör oluşumu (Soni *et al.* 2008, Nguyen *et al.* 2005, Nilsson *et al.* 2004).

Birincil enfeksiyondan sonra EBV, bellek B hücreleriyle entegre olarak genomunu yeni konak hücrelere ulaştırmak için özelleştirilmiş bir dizi yol geliştirmiştir. EBV'nin bu gizli aşaması periyodik olarak yeniden etkinleştirme aşamasına geçer. Bu, viral DNA'nın amplifiye olmasına, bulaşıcı virüsün salınmasına ve konakçı hücrelerin ölümüne neden olur (Rickinson and Kieff 2001). Plazma hücrelerinde hafıza B hücrelerinin yeniden aktivasyonu, farklılıklarla ilişkilidir (Gross and Thorley-Lawson 2004). Az sayıda (litik) genin yeniden aktivasyonu - yani kürtaj olmaksızın - yeni virüs gelişimindeki forma veya indüklenen sinyallere bağlı olarak kısmen yeniden aktif hale getirilebilir (Gross and Thorley-Lawson 2004).

Butiratlar, nitrozamin, stres hormonları, gama ışınlaması, iltihaplanma gibi kimyasal etkilerin ve aşırı p53 ekspresyonu gibi çevresel değişikliklerin, litik döngüyü etkinleştirmek için EBV'yi tetiklediğinden şüphelenilmektedir (Kroemer *et al.* 2002, Sajid and Bano 2016, Alfredsson *et al.* 2020). Diğer LYtic enfeksiyon herpesvirüsleri gibi, viral genom aktivasyonu, koordine edilen ve sırayla oluşan üç farklı gen

ekspresyon gazına bölünerek gerçekleşir. Bu fazlar şunlardır: Lytic key için gerekli viral transkripsiyon faktörlerini içeren hemen erken (IE veya AE) faz.

Erken (I veya E), konakçı hücrelerin metabolizmasını ve DNA virüslerinin fiili replikasyonundan önce nükleotidlerin sentezini işleyen enzimleri içerir. Virüsün yapısal ve yapısal olmayan proteinler içerdiği geç aşama (G veya L).

Geç protein sentezi, viral DNA polimeraz inhibisyonu ile durdurulabilen yeni bir genom virüsüdür (Stuart *et al.* 2002, Chakravarty *et al.* 2018). EBV virionunun tam yapısını ifade etmek için kromozom aktivasyon adımı ayrıca litik replikasyonu da içerecektir. IE, BZLF1 ve BRLLF1 için iki ana gen ürünü, sıralı litik gen ekspresyonunun fazını başlatmak için litik döngüye geçişi kontrol eder (Rickinson and Kieff 2001).

Akata tarafından EVB reaktivasyonunu incelemek için kullanılan en yaygın hücre dizisi Burkitt lenfomadır (Takada and Ono 1989). Protein olmadan, LMP EBV, bir B-hücresi reseptörüne (BCR) antijen bağlanmasını taklit ederek anti-Ig antikor çapraz bağlı Ig yüzeyi ile yeniden etkinleştirilebilir (Shimizu and Takada 1993, Grywalska ve Rolinski 2015). BCR çapraz bağlama, fosfatidilinozitol 3-kinazı (P13K) aktive eder, ancak uyarılmış konak hücre transkripsiyon faktörleri yoluyla Zp ve Rp'nin transkripsiyonunu indükler, anında Protein Z'yi (ZEBRA, Zta, EB1) ve Protein R'yi (Rta) kodlar. Erken genler BZLF1 ve BRLF1 ifade edilmelidir. Burada bahsedilen transkripsiyon faktörleri şu şekilde sıralanabilir: “Lyn, Syk Aktivasyonu, YY1, SP1, SP3 / C, EBP-α, SMAD, EGR1, CREB, ATF1, ATF2 / c-jun-heterodimer” (Chang and Yang 2013, Bode *et al.* 2016, Kusano and Ikeda *et al.* 2019). Tüm bu proteinler, litik gen ekspresyon kademesini başlatmak için gereklidir. Ek olarak, Zta ve Rta proteinleri transkripsiyon düzenleyicileri olarak hareket eder ve EBV litik DNA replikasyonunda yer alan erken erken genlerin ekspresyonunu indükler. Bu anlık genler BMRF1 ve BALF2'nin yanı sıra RNA taşıma ve stabilite faktörleri BMLF1 / SM için kendi genleri, antapoptpz faktörleri BHRF1 ve BALF1, BCL-2 homologları ve bağışıklıktan kaçınma genleri BGLF5, BNLF2a ve BARF1 de aktive edilir. Burada BARF1'in çözünür bir CSF1 reseptörü olarak aktive edildiğine dikkat edilmelidir .

Lytic replikasyon, trans içindeki cis ve hayati çekirdek replikasyon proteinlerinde dinamik bir replikasyon bölgesi gerektirir (Hayward *et al.* 1995, Hammerschmidt ve Sugden 2013). Birincil proliferatif proteinler arasında viral nükleik asit polimerleri (BALF5), rekombinant nükleik asit polimerleri faktörü (BMRF1), sarmal (BBLF4), primatlar (BSLF1), öncü bağlayıcı protein (BBLF2/3) ve tek zincirli DNA bağlayıcı protein (BALF2) bulunur. Diğer erken proteinler, timidin kinaz (TK, BXLF1), dUTPase viral alt birimleri, ribonükleotid indirgeme birimleri (BORF2 ve BaRF1) gibi enzimler olarak hareket eder ve proliferatif olmayan hücrelerde uygun bir nükleotid substratı sağlar (Littler *et al.* 1986, Fleischmann *et al.* 2002). BNRF1, BFRF2, BFRF3, BLRF1, BLRF2, BLRF3, BCLF 1 (Capsid Master Protein), BLLF1 zarf, BXLF2, BZLF3 ve BKRF3 gibi Virion topluluk proteinleri, ekspresyon için temel olarak viral DNA sentezini gerektirir. BCLF1 gibi proteomikler ve immün modüle edici ajanlar dahil olmak üzere gecikmiş viral proteinlerin etkinliği. Konakçı hücrelerden olgun EBV virüslerinin salım mekanizmaları henüz aydınlatılmamıştır. Viral glikoproteinler, bağışıklık tepkilerini uyarır ve EBV enfeksiyonuna karşı aşılama ve immünoterapide hedef olarak kullanılır. Önemli olarak, viral DNA sentezi ve dolayısıyla viryon üretimi, aktive edilmiş EBV ile enfekte olmuş hücrelerin EBV BALF5 ile kodlanmış DNA polimeraz veya bir nükleosidin spesifik izotoplarına doğrudan müdahale eden kimyasallarla muamele edilmesiyle inhibe edilebilir. Bu nedenle, gansiklovir ve asiklovir gibi kimyasal ajanlar, virüs replikasyonu ile bağlantılı hastalıklarda etkili bir şekilde spesifik antiviral ajanlar olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bir konakçı polimeraz kompleksi ile vekilin kalıcılığı ile gizli EBV DNA'sının, bu faktörlerin etkisi olmadığı unutulmamalıdır .

2.2.2 EBV’nin genetik mekanizmaları

EBV enfeksiyonundaki tüm gecikmeler her zaman iki ürünle ifade edilir. EBV (EBER1 ve EBER2) ve BamH1 sağ transkriptleri, bu küçük kodlamayan RNA'lardır (BART'lar). EBER ve BART metni yalnızca, henüz net bir işlevsellik sağlamayan RNA biçiminde mevcuttur. Kalıcı ve bol ifadesi, EBER'ler ve BART'lar için önemli bir biyolojik rolü

belirtir. Son çalışmalar, BHRF1 ve BART transkriptlerinde kodlanan üç EBV SMA (miRNA) ailesi bulmuştur, ancak bu çalışmalar hala varoluşun erken dönemleridir (Chien *et al.* 2004, Bilello *et al.* 2006).

EBV kodlu küçük RNA, gizli bulaşıcı hücrelerde (EBER) bulunan en yaygın virüstür. EcoRI J 1000 bp'de kodlanan EBV'nin bir parçası, RNA polimeraz III transkripsiyon EBER'leridir. Bu genler, 161 baz çifti ile ayrılmış iki 167 (EBER1) ve 172 (EBER2) çevrilmemiş ve çevrilmemiş RNA kopyası içeren, hücre başına 1-10 milyon kopyalamaya kadar yukarı düzenlenir. EBER'ler, molekül içi baz eşleştirme (dsRNA) yoluyla çift sarmallı RNA oluşumuyla sonuçlanan bir kök-halka yapısı oluşturur. Nispeten bol ekspresyonu nedeniyle EBER'ler, özellikle EBeR2'den daha yüksek stabiliteye sahip EBER1, doku örneklerinde latent EBV enfeksiyonunun saptanması için altta yaygındır (Chang *et al.* 1992).

Çeşitli çalışmalar, tek bir doku örneğinde bile, negatiften negatife geniş ölçüde değişen bir ölçekte EBER'in değişken ekspresyonunu gözlemlemiştir; Bu, gizli pozitif EBV hücrelerinin EBER negatif durumu için potansiyeli gösterir (Yao *et al.* 2000). EBER'ler çoğunlukla çekirdekte yoğunlaşır, ancak aynı zamanda hücresel proteinlerin komplekslerini oluşturdukları sitoplazmada da bulunurlar. Bu hücresel proteinler, "RNA'ya (PKR) bağlı bir protein kinaz, L22 ribozom proteini, antijen içermez ve RIG-1 retinoik asit uyarıcı gen" olarak temsil edilebilir (Clemens *et al.* 2004, Ahmed *et al.* 2014, Imaizumi *et al.* 2006, Iwakiri and Takada 2004). Bu hücresel proteinlerle bağlantı, temel olarak EBER'in biyolojik rolü ile ilgilidir. EBER'ler, daha sonraki bir aşamada PKR bağlanması, fosforilasyon inhibisyonu ve anti-apoptotik protein modülasyonu yoluyla IFN-a ile indüklenen apoptoz direncini indükler (Feng *et al.* 2005). IL-10 gibi hücresel büyüme faktörleri, B ve IL-9 hücresindeki EBER'ler ve T. Hücrelerinde insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF) tarafından da uyarılabilir. -1) epitel hücrelerinde. Sitokin üretiminin, RIG-I sinyal aktivasyonu yoluyla EBER tarafından modüle edildiği gösterilmiştir (Aozasa *et al.* 2004, Eizuru *et al.* 2003, Chen *et al.* 2005). EBER'in hücrelerin büyümesini verimli bir şekilde dönüştürmeye yardımcı olabileceğini gösterdi. Bununla birlikte, EBER, lenfosit B'nin dolaşımı için ve apoptoza

ve sitokine karşı bağışıklık için gerekli değildir, çünkü LMP-1'in işlevleri bu etkilerin en güçlü olanını gizleyebilir.

BamH1-sağa doğru transkriptler (BART'lar), NPC dokularında başlangıçta tanımlanan ve bol miktarda eksprese edilen kodlanmamış bir poliadenilasyon rna grubu, aynı zamanda tamamlayıcı iplik transkriptleri, CST'ler olarak da bilinir (Hitt *et al.* 1989). BART ayrıca BL, B-LCL, EBV-GC dokularında, HD'de düşük seviyede ve periferik B hücrelerinde normal EBV stabilitesinde görülür. EBV genomunun BART bölgesinin silinmesi, EBV'nin vitro B hücrelerini ölümsüzleştirme kapasitesini tehlikeye atmaz ve EBV'ye bağlı tümörlerde BART'ın tutarlı bir şekilde silinmesi, hala tanımlanmamış olan bir in vivo katkı sağlayabilir (Maruo *et al.* 2007). BART-RNA'ları Bağlama cDNA'da tespit edilen en az 16 eksonda kısmen üst üste binen nispeten karmaşıktır (Maruo *et al.* 2007). Yalnızca harici olarak ifade edilen proteinler, bu ORF'lerin biyolojik özelliklerini tanımlayabilir (De Jesus *et al.* 2000, Weinmaster *et al.* 2001). Ekson 4'te (ve bazı CST'de ekson 5'te) bulunan RPMS1'in, EBNA2'yi hedefleyen ve Notch sinyal yoluna birincil yanıt olan CBF1 ile etkileştiği bildirilmiştir. A73, transfekte hücre sitoplazmasında eksprese edilen ekson 6 ve 7 bileşenlerinden oluşur ve protein C ve src-tirozin-sinaz sinyalini düzenleyen bir dönüştürücü olan RACK1 ile etkileşime girdiği gösterilmiştir (Buck *et al.* 1999). RK-BARFO'nun ekson 7'de Notch4'ü hücre dışı olarak bağlayan ligand ile etkileşime girdiği ve çekirdekte transdüksiyonla bazı Notch4 ile etkileşime girdiği gösterilmiştir (Brink *et al.* 2003). Bununla birlikte, sentetik RK-BARFO içeren formülasyonlarla in vitro transfeksiyonun bu çalışmalarda kullanıldığına dikkat edilmelidir. Spesifik monoklonal antikor ile, BART RNA'nın yerinde tespit edilmesine ve bir antikor reaksiyonundan şüphelenilmesine rağmen, RK-BARF0'ın gerçek ekspresyonu aynı hücrede EBV ile ölümsüzleştirilmiş hücreler tespit edilmedi, ancak RKBARF0 in vivo bulunmadı . A73 ve RPMS1 genleri için benzer bulgular bildirilmiş ve bu da EBV ile enfekte olmuş hücrenin BART ekspresyonu için farklı olduğu varsayımına yol açmıştır. Son araştırmalar, BART giriş bölgesinin iki farklı menü seti içeren BART-miRNA üretebildiğini bulmuştur (Vervoort *et al.* 2003, Kusano *et al*. 2004). miRNA'lar, proteinlere dönüşmeyen genom tarafından kodlanan küçük tek sarmallı RNA moleküllerini depolar; Aksine, gen ifadesini kontrol ederler. MiRNA'ları kodlayan genomik bölgeler hücre çekirdeğine kopyalanır. Yeni ortaya çıkan miRNA transkriptleri başlangıçta uzun öncüllere (birkaç kilobayt uzunluğunda) işlenir ve daha

sonra sitoplazmaya taşınır ve Drosha ve Dicer adlı iki enzim tarafından sırayla küçük fonksiyonel RNA'lara (yaklaşık 22 nükleotit) bölünür. MiRNA daha sonra RNA'dan türetilen bir RISC kompleksine entegre edilir ve hedef mRNA'yı (mRNA'lar) bozmak ve / veya çıkarmak için çevrilmemiş 3'-UTR (3'-UTR) bölgelerine bağlanır. MiRNA'nın işlevleri, ya çeviriyi bastırmak, mRNA bozunmasını uyarmak ya da hedef RNA moleküllerini ölçmektir (Filipowicz *et al.* 2007).

EBV, kodlanmış miRNA'lara sahip ilk insan virüsüdür (Chien *et al.* 2004). BHRF (3 miRNA) ve iki Çok Bölümlü BART kümesi, Grup I'de 12 ve Grup II'de 15 ve miR BART2, üç gruba bölünmüş 23 milRNA'yı kodlayan ayrı bir miRNA'dır (Bilello *et al.* 2006, Lear *et al.* 1993). Tamamen dönüştürülebilir olan 12 kB delesyon suşu B95.8 EBV, yalnızca 8 miRNA genini kodlar. Aşağıdakiler listelenebilir: "miR-BHRF1-1-2, -3, miR-BART-1, -2, -3, -4 ve miR-BART5 kısmen silinmiştir" (Busson *et al.* 2006). MiRNA'nın hedefleri tam olarak anlaşılmamıştır. MiR-BART2, BALF5 mRNA'nın 3'UTR'sine duyarlı olduğundan, miR-BART2'nin viral Polimeraz DNA bölünmesine (BALF5) katıldığı önerildi (Barth *et al.* 2008). Bir çalışmada (Xing and Kieff 2007), yüksek miR-BHRF1-1, -2 ve 3 seviyeleri, Cp güdümlü EBNA transkriptlerinin intronlarında kodlanan EBV tip III enfeksiyonunun bir özelliği olarak tanımlanmıştır (Bilello *et al.* 2006, Callegari *et al.* 2014). Hedef bilinmemekle birlikte, miR-BHRF'ler Tip III bulaşma enfeksiyonlarında rol oynayacaktır. MiR-BART grupları 1 ve 2, EBV ile enfekte epitel hatlarında bulundu (Callegari *et al.* 2014). Başka bir çalışmada (Liao *et al.* 2007), Group miR-BART 1. Hedef LMP1 3'UTR gösterildi ve LMP1 ifadesi negatif olarak değiştirildi. EBV, LMP1 aşırı ekspresyonu ile indüklenen hücre büyümesi tarafından inhibe edilebilir ve cisplatin gibi stres kaynaklı kemoterapinin programatik etkilerini güçlendirir (Cheung *et al.* 2002, Biel *et al.* 2019). MiR-BART grup 1'in CNE-EBV hücre çizgisi ile transfeksiyonu, LMP1 proteininin ekspresyonunu inhibe eder, böylece sisplatinin duyarlılığını ve ayrıca NF-kB aktivitesinin doza bağlı modifikasyonunu azaltır, böylece hücre canlılığını arttırır (Liao *et al.* 2007).

EBV biyolojisi ve genetik malign büyümede mRNA EBV kodlamasının rolünü tam olarak anlamak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.3 EBV ve Bağışıklık Sistemi

EBV, yaşamı sınırlamak ve sürdürmek için bir dizi ayarlama yapan, bağışıklık sistemi hücrelerinde yaşayan bir insan virüsüdür. Dünya çapında büyük bir popülasyon, ev sahibinin etkili bir şekilde tedavi edildiğini düşündüren belirgin semptomlar veya hastalıklar olmaksızın EBV ile enfekte olmuştur. EBV'nin güçlü dönüştürme kapasitesine karşı koymak için, konukçu güçlü bir bağışıklık kontrol mekanizması geliştirir. Bir noktada, EBV immün yetmezlik zamanlarında baskın hale gelebilir ve virüsle ilişkili hastalıklara yol açabilir. Çoğu durumda bu hastalıklar, viryon üretiminden ziyade EBV ile dönüştürülmüş hücrelerin replikasyonu ile ilişkilidir. Tükürükte virüs üretimi esas olarak tespit edilir. Aslında, EBV-konağın etkileşimi viral replikasyon, viral hücrelerin yayılması ve konak izleme arasındaki ömür boyu dinamik dengeye bağlıdır (O'Reilly *et al.* 1998, Lotz *et al.* 1986).

2.3.1 Doğal bağışıklık tepkisi

Doğuştan gelen bağışıklık, b ve b hücreleri ve sitokinler ile interferonlar ve ardından dendritik hücreler (DC) ve doğal hücreler (NK) dahil olmak üzere bir dizi hücre ve hücre tarafından yönetilir. Enfeksiyöz Mononuclose (IM) hastaları, ancak klinik bir semptom ortaya çıktıktan sonra tıbbi yardım ararlar, bu nedenle EBV enfeksiyonlarının çok erken aşamasına yönelik araştırmalar çok sınırlıdır. EBV ile enfekte olmuş epitel hücrelerinde mono-nükleer kan hücrelerinde (PBMC'ler) B ve NK hücreleri tarafından INF-α'nın ana üretimi INF-α tarafından 24 saat içinde gerçekleştirilir (Kresina 2020).

EBV ile enfekte olmuş b hücrelerindeki EBER'ler ve EBNA2 ve LP, IFN-a direncine aracılık ediyor gibi görünmektedir ve LMP1, apoptoza karşı IFN-a koruyucu gibi görünmektedir (Boer *et al.* 2016). Bundan, IFN-a tarafından indüklenen faktörlerin, konakçı hücreyi EBV enfeksiyonundan koruma konusunda sınırlı bir kabiliyete sahip olduğunu söylemek mümkün görünmektedir. Bademciklerdeki NK hücreleri, IL-12 üreten dendritik hücrelerin varlığında IFN-g salımı yoluyla B hücresi dönüşümünü sınırlayabilir (Hislop *et al.* 2007). Ek olarak, NK aktivitesinin bağışıklığı zayıflamış

hastalarda yeterli bağışıklık koruması sağlamadığı durumlar olabilir (O'Reilly *et al.* 1998).

Aktivasyon için uyaranlar henüz tanımlanmamış olmasına rağmen, dendritik hücreler, çeşitli olgunlaşma aşamalarına sahip EBV antibiyotiklerinin bir karışımı ile T hücrelerinin immün reaktivitesinde rol oynar ve ayrıca NK hücrelerini aktive eder. Enfeksiyonun erken evresindeki doğuştan gelen bağışıklık tepkisi çok önemlidir ve antijene özgü adaptif bağışıklık tepkisini indüklemek için gerekli sinyalleri sunar (Elliott *et al*. 2001, Goodman *et al*. 2003).

2.3.2 Adaptif bağışıklık tepkisi

EBV'ye verilen adaptif immün tepkiye çeşitli immün hücreler katılır. Bu hücreler, aşağıda belirtilen farklı B ve T hücreleridir.

2.3.3 CD8+ T hücre tepkisi

Bu hücreler Sitotoksik T hücreleridir (CTL) ve tümör hücreleri ve virüsler dahil olmak üzere endojen enfeksiyona karşı önemli bir bağışıklık savunması görevi görür. Proteozomlar, endojen (viral) proteinleri tedavi etmek ve saflaştırmak için kullanılır. Antijen işleme ile bağlantılı olarak, elde edilen peptitler daha sonra yeni sentezlenmiş Sınıf I moleküllerine yüklenen taşıyıcı ER lümenine (TAP1, 2) aktarıldı. Sınıf I peptit molekülleri, CD8+T hücrelerine EBV peptitinin bir CD8+T havuzunu aktive eden peptit sağlar. IFN-g üretiminin ölçümü de dahil olmak üzere, bu reaksiyonun gerçekleşip gerçekleşmediğini belirlemek için birkaç aktivasyon markörü kullanılabilir. Perforin ve Fas-FasL aktivitesi ayrıca hem tümör hücrelerini hem de viral hücreleri doğrudan öldürmek için CD8+T hücreleri içerir. Hedef hücreler, aksine, bağışıklığın ortadan kalkmasını önlemek için mekanizmalar geliştirebilir (Meij *et al*. 2002). CD8 + T hücreleri, EBV ile enfekte hücre proliferasyonunu sınırlamak için yeterli koruma sağlar. Gizli ve litik EBV'nin neden olduğu birincil enfeksiyona yanıt olarak, hızla büyüyen CD8+T hücre yanıtı, EBV ile enfekte olmuş B bellek hücrelerini hızla terk ederek

sürekli ve saptanabilir enfeksiyonlara yol açar. EBV CD8 + T hücre havuzlarının hafızasını genişleten yeni EBV hücreleri, düzenli reaktivasyonla üretilir (Rickinson and Moss 1997, Heller *et al.* 2002, Edhi *et al*. 2017).

Esas olarak performans veya granzimde pozitif olan ve yüksek oligoklonal aktiviteye sahip olan CD8+T hücreleri, IM gibi akut hastalıklar için görülür (Hanna *et al*. 1998). Bağışıklık tepkisi, gizli EBV proteinleri yerine gizli EBNA3A, EBNA3B ve EBNA3C proteinlerine yöneliktir (Steven *et al*. 1996). Bu aktive edilmiş T hücreleri, düşük BCL2 ve BCLX anti-apoptotik seviyeleri ve pro-apoptotik BAX nedeniyle daha fazla uyarı olmaksızın apoptoza bağlı olarak hızla ölür (Hatton *et al*. 2000). Diğer EBV antijenlerine karşı alt baskın reaktiviteler, enfeksiyondan birkaç ay sonra ortaya çıkacak olan birincil ve bellek CD8+ T hücre havuzu arasında farklı spesifik özellikler gösterebilir (Hislop *et al*. 2007).

Litik fazda, CD8 + T hücreleri çoğunlukla hemen erken (IE) proteinlere dönüşür ve L'de en fakir olan EE'den E'ye önemli bir düşüş gösterir (Hislop *et al.* 2007). IE aşamasında, MHC sınıf I hücre yüzeyi moleküllerinin ekspresyonu, latent faz enfeksiyonu ve TAP antijen taşıyıcısının bozulması ile karşılaştırıldığında yaklaşık beş kat artar (Jones *et al.* 2002, Gomez *et al.* 2005). EBV litik aşaması, periyodik büyüme ve virüs bulaşması için çok önemliydi. Bu nedenle, immün sürveyanstan kaçınmalıdırlar. Çalışmalar, erken protein DNAzının (BGLF5), mRNA'yı kodlayan MHC sınıf I moleküllerini spesifik olarak bozduğunu ve böylece antijen sunumuna müdahale ettiğini göstermiştir. CD8+ T'nin EBV epitopuna zamanla tutarlı bir oranı bu çalışmada görünmektedir, ancak bireylerde CD8+ T hücrelerinin sayısı 60 yaşın üzerinde artmaktadır (Crough *et al.* 2005, Ouyang *et al*. 2003).

2.3.4 CD4+ T hücre tepkisi

EBV enfeksiyonunun akut aşamasında, CD+T hücrelerinin sayısı, oldukça fazla sayıdaki EBV-reaktif CD8+ T hücrelerinden giderek daha az klonal görünmektedir. Bununla birlikte, birkaç çalışma, CD4+ T hücrelerinin, CD8+ T hücrelerinin ve antikorların fonksiyonel üretimini sürdürmeye ve ayrıca EBV ile enfekte olmuş

hücrelerin genişlemesini bağımsız olarak ortadan kaldırmaya veya sınırlamaya yardımcı olarak göstermiştir (Hislop *et al*. 2007, Hogquist *et al*. 2011, Hislop *et al.* 2018).

CD4+ T hücrelerinin sayısı yavaş yavaş azalır ve akut enfeksiyonda stabil bir kalıcı enfeksiyon durumuna ulaşır (Callan *et al*. 2003). Primer enfeksiyondaki CD4+ T hücreleri, bireysel litik (BMLF1'den daha yüksek BZLF1) ve latent (EBNA3A) (Precopio *et al*. 2003, Woodberry *et al*. 2005) karşı yönlendirilir ve EBNA1'e karşı daha az reaktivite gösterir (Precopio, *et al*. 2003). Erken litik faz sırasında, MHC sınıf II yüzey molekülleri latent faza kıyasla iki kez azalır, bu da CD4+ T-hücresi antijen tanımasını sınırlar (Jones *et al.*2002). CD4 + T hücreleri ayrıca, virüs yapısal proteinleri enfekte hücrelerden salındığı için DC yoluyla çapraz ifade ile indüklenen BCRF1, gp350 ve gp110 gibi L antijenlerini de tanır (Hislop *et al.* 2014).

Esas olarak latent antijenlere odaklanan bellek CD4+ T hücresi EBNA1 hakim iken (C-terminalinin yarısı), ayrıca EBNA2'yi, EBNA3 ailesini ve daha az ölçüde LMP1 ve LMP2'yi (N terminal-hidrofobik kısım) alt baskın olarak tanır (Blake *et al*. 2001). Hücre içi antijenler; Dendritik hücreler, CD4+ T hücresine otofaji veya EBV antijeni sunmak üzere tetiklenen tümör hücreleri tarafından alınan virüs bulaşmış hücrelerin çapraz sunumuyla bir peptit olarak üretilebilir (Goodman *et al.* 2003, Munz 2012, Leung 2015). Niemann-Pick Tip C (NPC) hastalarında, CD8+ T hücreleri için epitopların tanımlanmasına paralel olarak, CD4+ T hücrelerinin LMP1 ve LMP2'ye kıyasla ağırlıklı olarak EBNA1'i hedeflediği görülmektedir. Bu, CD4+ T hücrelerinin konsantrasyonunun tümör evresi ile ilişkili olduğunu gösterir (Blake *et al.* 2001). BL hücrelerindeki MHC sınıf I bozukluğunda, EBNA1'e özgü CD4+ T hücrelerinin, "öldürücü" CD4+ T olarak bağışıklık koruması sağladığı gösterilmiştir (Nikiforow *et al.* 2003). EBNA2, EBNA3C, LMP2a, BHRF1, BALF4 ve BLLF1'i tanıyan CD4+ T hücreleri, B hücre dönüşümünü de önleyebilir (Schendel *et al.* 2001, Houssaint *et al.* 2004, Adhikary *et al*. 2006).

2.3.5 CD4+ T düzenleyici hücreleri

CD4+ T hücrelerinin yaklaşık %10'u T'nin düzenleyici hücrelerini oluşturur. Aşağıdakiler listelenebilir: T düzenleyici hücreler: "BOXP3, CD4+, CD25+." Periferik

kan ve çeşitli tümör hücreleri de bu hücreleri içerir. (Doherty *et al.* 2002, Manns *et al.* 2005, Albers *et al*. 2005, Chung *et al.* 2010). CD4+ T- düzenleyici hücreler, CD8+ ve CD4+ hücrelerinin aktivasyonunu ve çoğalmasını baskılar ve otoreaktif T hücrelerinin kontrolünü sağlar (Corthay 2009).

Niemann-Pick Tip C ve Huntington Hastalıkları gibi EBV ile ilişkili malignite dokularında infiltre lenfositler gözlenir. Bununla birlikte, bağışıklık tepkisinin sınırlı olduğu da gösterilmiştir. Sızan lenfositlerin çoğunun da T-düzenleyici hücreler olduğu gösterilmiştir. CD4+ T hücreleri ve T hücreleri, eşit EBNA1 ve LMP1 epitoplarını tanır, ancak bağışıklık modülasyonu zıt roller oynar (Frappier *et al*. 2005, Culligan *et al*. 2007, Lou *et al.* 2017).

2.3.6 Humoral bağışıklık tepkisi

B lenfositleri, T hücrelerinin yardımıyla bir dizi antikor üretir, bu da antijen üreten plazma hücreleri ve hafıza hücreleri ile sonuçlanır. Bu temastan sonra antijen, B lenfositleri tarafından tekrar temas ettirilir ve antimikrobiyal plazma hücrelerine farklılaştırılır. Patojenler bağlanır ve nötralize edici antikor tarafından hücrelere girmeleri engellenir. Buna karşılık, antikora bağlı sitotoksik hücreler, Fc yüzey bağı antikoru ile doğrudan öldürme için NK Fc reseptörleri aracılığıyla Fc ile daha fazla etkileşime girer (Campbell *et al.* 2008, Clynes *et al.* 2000). Örneğin serum veya tükürük gibi vücut sıvılarında EBV proteinlerine karşı açık karşı etkili ajan reaksiyonları, EBV ile ilişkili hastalıkların analizi için katı belirteçler olarak görülür. Bu şekilde, vücut sıvılarında EBV proteinlerine karşı bu belirli karşı etki eden ajan reaksiyonlarının varlığı ve unsurları, doğrudan viral organik eylem ve bir antijene karşı duyarlı olmayan çerçevenin açıklığı ile tanımlanır (Horst *et al.* 2007, Saxena *et al.* 2017).

Akut enfeksiyöz mononükleoz sırasında, immünoglobulin (IgA, IgB ve IgM) yanıtları IE, E ve VCA proteinleri tarafından yönlendirilir. IgA bir ay sonra tamamen kaybolurken, IgM yanıtı üç ay boyunca etkili olabilir (Bhaduri-McIntosh *et al.* 2007). EA'ya kıyasla IgG'nin düşüklüğü VCA'dan çok daha hızlıdır. IgG'nin bu düşüşü, ya tamamen saptanamaz hale gelmekle ya da çok düşük bir kararlılık oranına ulaşmakla

sona erer . Akut fazda IgG'nin EBNA2 ile saptanmasının geçici bir sonuç olarak ortaya çıktığı bildirilmiştir. Bununla birlikte, EBNA1 ile etkileşim kalıcı hale gelir, bunun ana nedeni gb350 ve 220'ye karşı antikorların oluşmasıdır (Bhaduri-McIntosh *et al*. 2007). IgG anti EBNA1, anti-gp-350, anti-BZLF1, anti-BFRF3 ve BdRF1, asemptomatik EBV taşıyıcılarında gözlenir (Rickinson and Kieff 2001). Epitel M hücrelerinde spesifik antijen örneklemesi, erişim için bir mikrobiyal portun özelliklerine sahiptir. nötralize edici antikor dahil olmak üzere spesifik IgA antikor tepkileri geliştirmek için mikrobiyal antijenlerin işlendiği submukoza. Spesifik kemokin ve adhezyon molekülleri, plazma IgA yerine sekresyon üreten mukozal B hücresi olgunlaşmasına neden olabilir (Macpherson *et al.* 2008). EBV antijenlerine karşı IgA tepkileri, kan plazmasında olduğu kadar tükürükte de bulunur ve NPC gibi mukozal ilişkili EBV ile ilişkili hastalıklar için bir teşhis aracı olarak görünür (Anson *et al.* 2001, Austin *et al*. 2002).

İlginç bir şekilde, litik antijenlere ve EBNA1'e karşı antikorlar kolayca tespit edilirken, EBV tarafından şifrelenen tümör ile ilişkili proteinler LMP1,2 ve BARF1'e humoral yanıt marjinaldir ve çoğu kişi hiç tespit edilmez. LMP1, LMP2 ve BARF1 pozitif tümörleri olan tümör hastalarının bile tespit ve teşhiste zorluklarla karşılaştığı bildirilmiştir (van Beek 2005).

2.4 EBV'nin İmmün Kaçış Mekanizması

Düzgün işleyen bir bağışıklık sisteminde EBV, konakçı hücrede hayatta kalmak için çeşitli stratejiler geliştirebilen bir virüstür. Bu stratejiler, EBV'nin kaçış mekanizmaları veya immün kaçış mekanizmaları olarak adlandırılabilir. Bu tür mekanizmalar, şiddetli hastalık sırasında sınırlı gen ekspresyonunu, aşağı regülasyonu ve yapışkan molekülleri ve immün ayrıcalıklı dokuların viral replikasyonunu içerir (Gewurz *et al.* 2000).

EBV'nin bağışıklık tepkisinden ve bağışıklık sistemi kontrolünden kaçınmanın en etkili yolu, gizli rezervuarı oluşturan hücrelerde gizli gen metilasyonunu destekleyerek viral gen ekspresyonunu aşağı kontrol etmektir. Böylece hücre başına çok daha az EBV proteini bağışıklık tepkisine maruz kalır (Ambinder *et al*. 2012).

Gizli enfekte hücrelerde EBNA1 ve LMP1 en önemli proteinlerdir (Zhang and Coffino 2004, Barker *et al.* 2003). EBNA1, proteozom tarafından antijen tanınmasını önlemek için Gar alanından yararlanır. Böylece, MCH sınıf I ekspresyonunun inhibisyonu yoluyla CD8+ T-hücresi tanınmasını önler (Levitskaya *et al.* 1997). Ek olarak GAr, cis'te mRNA çevirisini inhibe ederek EBNA1 ekspresyonunu kontrol eder ve bu nedenle EBNA1 ekspresyonunu sınırlar (Yin *et al.* 2003). Peptit türevi ve saflaştırılmış LMP1, EBV seropozitif bireylerde enfekte periferal kan mononükleik hücrelerine ve T hücresi genişlemesinin bir parçası olarak yüksek düzeyde IL-10 üretimine yol açar. Enfekte B hücrelerinin canlılığı, bu durumda T hücresi üretimi ve IFN-g salgılanması yoluyla korunur (Barker *et al.* 2003). Ek olarak, LMP1, birinci transmembran alanında korunan bir dizi ile aktive olan T hücrelerini aktif olarak susturabilir. LMP1, ayrıca immünosupresif özelliklere de sahip olan eksozomlar ile birlikte lenfoid ve epitelyal hücrelerden iletilebilir (Middeldorp *et al.* 2003, Busson *et al.* 2006).

Litik faz sırasında yaklaşık on altı farklı protein üretilir. Çok yüksek bir kopya sayısına sahip olmanın yanı sıra, bu proteinler yüksek oranda immünojeniktir. Sonuç olarak, kaçınılması gerekir (CD8 + ve CD4 + T hücreleri). EBV, diğer herpes virüsleri gibi, litik aşamada insan konağın bağışıklık tepkisinden kaçmak için birden fazla mekanizma geliştirmiş gibi görünmektedir. BZLF1 ekspresyonunda, EVB latent enfeksiyonu ile karşılaştırıldığında, HLA sınıf I 4-5 kattır ve HLA sınıf II, 2 kat daha fazla aşağı regüle edilir (Jones *et al.* 2002). Ek olarak, BZLF1 gen ürünü, konakçı hücrelerde INF-g ile indüklenen yanıtlara müdahale edebilir (Morrison *et al.* 2001). BCRF-1, vIL100 kodlaması, TAP-1-ilişkisel TAP I ekspresyonunu düşürebilir ve sitotoksik aktivasyonun T-hücresi yanıtını, EBV ile enfekte olmuş hücreleri öldürme yeteneklerinden yoksun bırakabilir (Zeidler *et al.* 1997). vIL-10 ayrıca T hücrelerinin monositler ve makrofajlar tarafından aktive edilmesini önler ve IFN-g reaksiyonlarını bloke ederek enfekte B hücrelerinin hayatta kalmasına yardımcı olur (Suzuki *et al.* 1995). Geç faz gp42, HLA sınıf II peptid kompleksleri ile bağlanır ve molekül yüzeyinde yeni bir konformasyon oluşturarak CD4+ T hücrelerinin tanınmasını engeller (Heemskerk *et al.* 2003, Gomez *et al.* 2005). Çalışmalara göre, BLNF2a proteini, TAP ve ATP'yi bağlayarak yüzeydeki HLA Sınıf I molokular ekspresyonunu azaltmaktadır (Horst *et al.* 2007). Ayrıca, viral DNAz BGLF5'in, mRNA stabilitesini azaltarak konakçı protein sentezinin kesintiye uğramasına neden olduğu ve dolayısıyla viral peptidi CD8 + T lenfositlerine sunmak

için HLA sınıf I yüzey molekülünü aşağı regüle ettiği çalışmalarla da açıkça gösterilmiştir (Schirrmann *et al.* 2015). BARF1 kolonilerini uyaran koloni faktörü, enfekte olmuş hücrelerden (CSF-1) doğal olarak salgılanır. Bu aynı zamanda makrofaj aktivasyonunu da inhibe edebilir ve EBV enfeksiyonu olan B hücrelerinde INF-a salgılanmasını etkileyebilir. IFN-a tarafından viral enfeksiyona erken yanıt burada bir rol oynar (Middeldorp *et al.* 1998, Lekstrom and Cohen 1999). Tüm bu bilgilere dayanarak, EBV tarafından kodlanan biyolojik ve genetik fonksiyonların, konakçı bağışıklık sisteminden kaçmaya ve viral varlığını sürdürmeye katkıda bulunması muhtemeldir.

2.5 EBV ve Moleküler Tespiti

Küresel nüfusun yaklaşık %90'ında EBV enfeksiyonu var. Bu nedenle hastalık halini oluşturan vakaların değerlendirilmesi ve incelenmesi önemlidir. EVB ile ilişkili farklı hastalıklar olduğu için EBV'nin incelenmesi özellikle önemlidir. EBV'nin varlığını ve aktivitesini tespit etmek için farklı yöntemlerin varlığından bahsetmek mümkündür (IARC 1997).

EBV'nin DNA'sının tespiti, doku, tükürük veya dolaşımdaki EBV'nin varlığını belirlemek için işlevsel olabilir. Southern Blot Analysis, EBV DNA amplifikasyon teknolojilerine dayanan bir polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yaklaşımıdır ve en erken ve en hızlı tespit sürecidir. Southern Blot Analizi, PZR'ye kıyasla daha az hassasiyet gösterir ve daha karmaşıktır. Çünkü bu yaklaşımın hedef DNA'nın %1'inden fazlasını değerlendirmeye ihtiyacı vardır (IARC 1997). Bununla birlikte, bu yöntemin, tümör DNA özütlerinde EBV klonalitesinin saptanması için yararlı ve işlevsel olduğu belirtilmelidir (Raab-Traub 2002). Günümüzde, EBV kopya sayısını gerçek zamanlı olarak ölçen real-time PZR (Real Time PZR), geleneksel PZR yaklaşımının yerini almıştır (Stevens *et al.* 2002). Artan EBV DNA sayısı, vücut sıvılarında, lenfositlerde veya epitel hücrelerinde artan EBV aktivitesinin bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. Gerçek zamanlı PZR şu anda en çok sevilen tanı, tedavi ve risk kontrol yöntemidir (Cariani *et al.* 2007). Zaman içindeki dinamik yük değişiklikleri, tek başına EBV DNA

yükü yerine daha net ve daha işlevsel bir hastalık göstergesi olarak görülmektedir (Stevens *et al.* 2002).

EBV aktivitesi, DNA'nın RNA'ya transkripsiyonunda da kullanılabilen ters transkriptaz PZR (RT-PZR) ve nükleik asit (NASBA) kullanılarak tespit edilebilir. RT-PZR, ilk transkript RNA'dan cDNA'ya küçük miktarlarda RNA'nın geleneksel PZR aracılığıyla saptanmasına ve amplifiye edilmesine izin verir. Bununla birlikte, numunedeki DNA'nın paralel varlığı komplikasyonlar yaratabilir ve yalnızca bölünmüş genler güvenilir bir şekilde incelenebilir (Stevens *et al.* 2005). NASBA, arka plan DNA mevcut olduğunda bile, açıklanamayan transkripti tespit etmek için RNA yönteminin amplifiye edici bir izotermidir. Bu prosedür, RT-PZR'den daha yüksek hassasiyet ve hız sağlar (Jordan *et al.* 2002, Keer and Birch 2003).

EBV ile enfekte olmuş hücreler ayrıca EBV geninin ürününün ekspresyonu yoluyla morfolojik tekniklerle tanımlanır. EBER-RISH (yerinde RNA hipotezi) doku EBV tespiti için standart altındır (Mann and Ambinder 1994). EBV pozitif olarak enfekte olmuş hücrelerin çoğunda EBER 1 ve EBER2 ekspresyonu bu yönteme dayanmaktadır. Bugün, EBER-RISH yaklaşımı radyoaktif olmayan etiketleme ile gerçekleştirilmektedir; bununla birlikte, bu yöntem teknik zorluklar nedeniyle engellenir ve numune hazırlama sırasında mRNA bozulmasına karşı hassastır, bu nedenle yanlış negatife yol açabilir (Middeldorp *et al.* 2003). Öte yandan, EBV gen ürününe karşı monoklonal antikorlar, diğer bir deyişle biyobelirteçler kullanan immünohistokimya yaklaşımlarının, örneğin tüm tümör hücrelerinde bulunan EBNA1 (Delecluse *et al.* 2007) veya LMP1 (içinde ifade edilen) gibi EBER-RISH'in yerini aldığı düşünülmektedir (çoğu gecikme II tümör) (Jiwa *et al.* 1993). Gizli ve litik Genlerin tespiti, tek hücre seviyesindeki gecikme tipinin belirlenmesine yardımcı olabilir (Hirai and Shirakata 2001). Bu teknik, özellikle dokunun formalin fiksasyonu ile maskelenmiş parafin segmentlerindeki epitopları ortaya çıkarmak için bir antijen geri dönüşüm tekniğinin zaten geliştirilmesinden sonra, tekli veya çoklu EBV genetik ürünlerinin saptanması için seçenekler sunar (Shi *et al.* 1997). Seroloji, EBV hastalığı durumuna karar vermede anahtar stratejidir; EBV antijenlerine karşı ajan reaktivitesini tahmin ederek, temel kirliliği olan kişiler, boş kontaminasyona sahip taşıyıcılar verme ortadan kaldırılan kişiler için alternatif bir aşılama modeli çözülmüştür . Bireysel EBV antijenine karşı antikorlar, EBV serolojisi için hala en yaygın kullanılan altın standart

olan farklı hücre substratları üzerinde immünofloresans testi (IFA) ile ölçülebilir (Fachiroh 2009). Ek olarak enzime bağlı immünosorbent testi (ELISA), immünoblot saptama andrmenötralize edici antikor yöntemleri kullanılır. Ayrıca multipleks ışın tekniği (MBT), birden fazla EBV antijenine karşı antikorların eşzamanlı olarak değerlendirilmesine izin veren, EBV serolojisini daha az emek yoğun hale getiren ve belirli bir standardizasyon sağlayan yeni bir yaklaşımdır (Klutts *et al.* 2004).

2.5.1 EBV ile ilgili hastalıklar

EBV'nin hem iyi huylu hem de kötü huylu hastalıklarla bağlantısı, türünün tek örneği bir DNA virüsüdür. Farklı EBV latent genlerinin ekspresyonu, bu hastalıkların farklı patojenik yolları yansıtan farklı latent tipler halinde gruplanabileceğini göstermektedir. Hastalıklar iki kategoriye ayrılabilir: bağışıklığı baskılanmış insanları etkileyenler ve herhangi bir bağışıklığı baskılama belirtisi göstermeyen kişileri etkileyenler.

2.5.2 Birincil ebv enfeksiyon

Birincil EBV enfeksiyonu özellikle gelişmiş ülkelerde ve erken yaşta yaygındır. Bu birincil EBV enfeksiyonu genellikle asemptomatiktir a ve nd klinik olarak asemptomatik kişilere yol açar. Bununla birlikte, birincil enfeksiyondaki ergen gecikmeleri, enfeksiyöz mononükleoz (İM), ateş, boğaz ağrısı, adenopati ve splenomegali sınırlayıcı lenfosproliferatif bozukluğa yol açabilir. CD8 + T hücrelerinin aşırı gelişimi tipik olarak IM semptomlarının nedenidir (Kutok and Wang 2006). Heterofilik antikorlar (HA), koyun, sığır ve at kırmızı kan hücrelerine karşı IgM antikorlarından oluşur ve erken faz IM'de rastgele EBV dönüştürülmüş B hücreleri tarafından üretilir. Bu durumun keşfi eski çağlara kadar uzanmasına rağmen, günümüzde hala IM tanısı için yaygın olarak kullanılmaktadır, ancak düşük duyarlılık ve özgüllük ve bir yıl boyunca devam eden düşük antikor seviyesi nedeniyle işlevsel olmadığı düşünülmektedir. Daha doğru teşhis için, IgM ve IgG'nin EA ve VCA'ya artan tepkisi ile karakterize edilen spesifik EBV antijenine karşı antikor ölçümünün

kullanılması tavsiye edilir (Henle *et al*. 1974). Anti-VCA IgG antikorpları yavaşça artar, ancak sert enfeksiyon süresince devam eder. Bununla birlikte, hem VCA IgM hem de anti-EA (D) IgG antikorları, hasta hızla iyileştiğinde ve yaklaşık bir yıl içinde çirkin hale geldiğinde hızla azalmaktadır (Horwitz *et al*. 1985). IM genellikle bir veya iki ay içinde düzelir, ancak altı aydan uzun sürer ve sonunda kronik aktif enfeksiyona, başka bir deyişle kronik mononükleoza ve yaşamı tehdit eden bir komplikasyona dönüşebilir. İmmünoblot analizine göre, bu hastalık EBV antijenlerine karşı yüksek bir IgG yanıtı gösterir ve EBNA1'e değil, IE, E ve L antijenlerine karşı reaktivite gösterir (Fachiroh *et al*. 2004). Bu durum, hücre lenfoma B ve T'ye bağlı kronik bir durum olarak kabul edilmektedir (Okano *et al*. 1991).

EBV enfeksiyonu, bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde doğrudan çeşitli hastalıklara yol açabilir. Altta yatan genetik nedenlere bağlı olarak bu hastalıklar değişiklik gösterir. EBV ile enfekte hastalıklara bağlı hastalıklar arasında lenfosifal enfeksiyonlar, lenfoma, oral saçlı lökoplaki, AIDS ile ilişkili lenfoma, immünosupresyon ve lenfoproliferatif hastalıklar yer alır (Fachiroh 2009, Middeldorp *et al*. 2003, Hopwood and Crawford 2000).

2.5.3 Bağışıklık sisteminin baskılanmasıyla ilişkili hastalıklar

2.5.3.1 Oral kıllı lökoplaki

Oral lökoplaki (OHL), genellikle dilin yan tarafında beyaz proliferatif, hiperkeratotik, skuamöz mukozal epitel hücre lezyonu ile karakterize, bağışıklık sistemi baskılanmış bağışıklık sendromu olan oral lökoplaki (AIDS) olan kişilerde iyi huylu bir hastalıktır. EBV partikülleri, yüzeyel epitelde bol miktarda bulunur ve EBV'nin epitel hücresini enfekte etme kabiliyetini doğrular (Abrams *et al.* 1985). Aslında OHL, latent proteinin ve özellikle LMP1 proteininin virüs üreten hücrenin büyümesini ve hayatta kalmasını sağladığı latent ve litik enfeksiyonun bir kombinasyonudur (Webster-Cyriaque *et al*. 2000). Normal EBV taşıyıcıları dilde yalnızca sporadik EBV replikasyonuna sahip

olduğundan (Frangou *et al.* 2002), HIV kaynaklı immünosupresyonun dilde EBV litik aktivasyonunu nasıl uyardığı hala tam olarak açıklanmamıştır. Bazı çalışmalar monositlerin ve dendritik hücrelerin OHL patogenezinde rol oynadığını göstermiştir (Greenspan *et al.* 2007).

2.5.3.2 AIDS ile ilişkili lenfoma

AIDS ile ilişkili lenfomalar (ARL), germinal merkezden veya post-foliküler B hücrelerinden türetilen heterolog B lenfositik tümörlerdir. Bu lenfomalar şunları içerir. Diffüz masif B hücreli lenfomalar, Hodgkin ve Non-Hodgkin lenfomalar (HL ve MHL), BL benzeri lenfomalar ve primer efüzyon lenfomaları, merkezi sinir sistemini etkileyen lenfomalardır. Primer Efüzyon Lenfomaları, değişen EBV enfeksiyonu seviyeleri ile bağlantılıdır. EBV, Merkezi Sinir Sistemi lenfomalarının görüldüğü tüm durumlarda kullanılmıştır. Yaygın ve büyük B hücreli NHL ve HL vakalarının yarısından fazlasının EBV ile ilişkili olduğu, BL ve BL benzeri lenfomaların yarısından daha azının EBV ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Kutok and Wang 2006).

HIV taşıyıcılarındaki kronik antijenik stimülasyonun, lenfogenezdeki artan sıklığın temeli olabileceği düşünülmektedir. OHL dışında, bağışıklık sistemi baskılanmış EBV ile ilişkili lenfoproliferatif hastalıkların çoğu, fark edilmeden bırakılırsa ve tedavi edilmezse, sonraki aşamalarda lenfomaya neden olur (Kutok and Wang 2006).

2.5.3.3 Posttransplant lenfoproliferatif hastalık

Transplantasyon sonrası lenfoproliferatif hastalık (PTLD), EBV pozitif B hücrelerinin proliferasyonunun neden olduğu agresif bir hastalıktır ve immünosupresyon için ilaç tedavisinin bir sonucu olarak oldukça kolay hale gelir. EBV, katı organ nakli alıcılarında tipik donör kökenidir, ancak aynı şey kemik iliği nakli alıcıları için de geçerlidir (Swinnen 2000). Birincil EBV enfeksiyonu çoğu soruna neden olur. Bu

nedenle, nakilden önce donörde ve alıcıda EBV serostatının saptanması önemlidir (Starzl *et al.* 1984). Örneğin, Siklosporin A immünosupresif bir ilaç olarak ilk kez kullanıldığında yüksek bir PTLD insidansı bulundu ve ilaç dozu azaltıldığında bu durumda bir azalma kaydedildi (Starzl *et al.*1984, Beveridge *et al.* 1984) . Daha yakın zamanlarda, tam kan fraksiyonundan EBV-DNA viral yükünün ölçümü, benzer semptomlara sahip akut hücre reddinden kaynaklanan PTLD'yi belirlemek ve ayrıca PTLD taraması için kullanılmıştır (Stevenns *et al.* 2001). Erken evre PTLD için düzenli tarama, zamanında müdahale sağlar ve ölümcül komplikasyonları önleyebilir (Greenberg 2005).

2.5.3.4 Bağışıklık problemi olmayan kişilerde ebv'nin neden olduğu hastalıklar

Bağışıklık sisteminde herhangi bir sorunu olmayan, yani bağışıklık sistemi baskılanmış veya bağışıklığı yeterli olan kişilerde EBV'nin neden olduğu bir dizi istenmeyen durum görülür. Bunların başında EBV kaynaklı kanserler gelmektedir. Bu hastalıklar; "Burkitt Lenfoma (BL), Hodgkin lenfoma (HL), Non-lenfoma Hodgkin (NHL), B hücresi, T hücresi ve NK hücresi NHL, Gastrik (mide) adenokarsinom (GC) ve Nazofarengeal (üst farenks) karsinomu (NPC)" sayılabilecek kanserlerden bazılarıdır (Middeldorp *et al.* 2003). Bu hastalıklarda birincil EBV enfeksiyonu, hastalıkların klinik tanısından yıllar önce ortaya çıkar. Ayrıca bireyin biyolojisinin, yaşam tarzının ve çevresinin de bu hastalıkların gelişiminde rol oynayacağı unutulmamalıdır (Middeldorp *et al.* 2003).

2.5.3.5 Burkitt lenfoma

BL, genellikle "yıldızlı gökyüzü manzarası" olarak tanımlanan çoklu makrofajların oluşumu ile karakterizedir. BL genellikle Afrika'nın Ekvator kuşağı üzerindeki bölgelerinde ve Papua Yeni Gine'nin endemik sıtma taşıyan topraklarında görülür. BL'nin klinik geliştirilmesinden önce VCA ve EBV enfeksiyonuna karşı artan IgG reaktivitesi arasında %95'lik bir korelasyon olduğu keşfedilmiştir (Magrath *et al.* 1992,

De-Thé 1982). EBV yalnızca sessiz durumda bulunur ve kodlanmamış EBER'leri ve EBNA1'i ifade eder.

BL karakteristik olarak, 8 numaralı kromozomun q24 bandında bulunan c-myc onkogeninin kromozomal translokasyonlarını ve 14 numaralı kromozomun q32 bandında veya 2 numaralı ve 22 numaralı kromozomdaki hafif zincir lokusundaki lokalize edilmiş Ig ağır zincir lokusunu gösterir (Dalla-Favera *et al.* 1987). Kromozomal translokasyon, genin yeniden düzenlenmesi veya sıtmaya bağlı B hücresi aktivasyonu üzerine sınıf değişimi sırasında tetiklenebilir. BL'nin karakteristik belirteçleri olan CD10 veCD77, BL'yi germinal merkez B hücresi olarak gösterir vekronik sıtma genişlemesi sırasında genişler (Pagano *et al*. 2004). Dahası, sıtma parazitleri üzerindeki bir yüzey proteininin, B hücrelerini spesifik olarak aktive ettiği vedestekleyici bir fonksiyonun varlığını doğruladığı gösterilmiştir (Chêne *et al.* 2007). Endemik olmayan bölgelerde BL yaklaşık yüz kat daha az görülmekte ve bu bölgelerde c-myc ve Ig translokasyonu görülmesine rağmen farklı kuruluş noktalarında enfeksiyon oluşumu tetiklenmektedir. Ayrıca bu bölgelerde enfeksiyon daha çok ileri yaşlarda görülmektedir. Bu nedenle EBV ve BL ilişkisi oranı %20'lere kadar düşmektedir (Magrath *et al.* 1992).

2.5.3.6 Hodgkin lenfoma

Hodgkin Lenfoma (HL), tümör kütlesinin %1'inden azını oluşturan ve post-germinal merkez B hücrelerinden geldiği düşünülen Hodgkin/Reed-Sternberg (HRS) hücrelerinin varlığı ile tanımlanır. EBV mevcut olduğunda, HRS hücrelerinde bulunan klonal bir virüstür (Kutok and Wang 2006).

Klasik HL üçe ayrılır (Glaser *et al.* 1997):

nodüler sklerozan

- Karışık hücresel

Zayıf lenfosit

Klasik HL'nin alt tipleri arasında, yukarıda bahsedilen üçü sırasıyla %20, %70 ve %100 EBV ile ilişkilidir (Glaser *et al.* 1997). HL vakalarının neredeyse %100'ü, özellikle az gelişmiş ülkelerde ve HIV virüsü taşıyıcılarında EBV enfeksiyonu ile ilişkilidir. Ayrıca İM hastalık öyküsünün HL riskini artırdığı bildirilmektedir. Anormal EBV antikor yanıtları, klinisyenlerin EBV'nin hastalıktaki karmaşık rolüyle eşitlediği, hastalığın başlangıcından önce ortaya çıkar (Mueller *et al.* 1989).

2.5.3.7 Lenfoepitelyoma benzeri karsinoma

Karsinom benzeri lenfoepitelioma (LELC/LEBK) çok sayıda karakteristik lenfosit içerir ve timus, larinks, tonsiller, tükrük bezleri, akciğerler, deri, uterin, serviks, mesane ve mide gibi farklı bölgelerde tanımlanmıştır. farklılaşmamış nazofaringeal karsinom. Ön bağırsak kaynaklı tümörlerin dünyadaki bazı popülasyonlarda endemik olduğu da unutulmamalıdır. Yakın zamanda yapılan büyük bir sero-epidemiyolojik çalışma, gastro-intestinal sistemi kaplayan lenfomaların, bu tümörler büyük ölçüde EBV negatif olmasına rağmen, eşleştirilmiş kontrollere göre anormal EBV antikor tepkileri ile daha fazla ilişkili olduğunu bulmuştur (Lanier *et al.* 1991, Wong *et al.* 1995, Kutok and Wang 2006).

2.5.3.8 Gastrtik (mide) karsinoma

Coğrafi kökene bakılmaksızın dünya çapındaki mide kanseri (GC) vakalarının yüzde 10'u EBV ile ilişkilidir (Shekitka *et al.* 1990, Shibata *et al.* 1991). GC, her tür için farklı EBV ilişki oranları ile üç alt gruba ayrılır: Göreceli olarak nadir lenfoepitelit, mide adenokarsinomlarının %80'i, başka bir yerde belirtilmemiş ve güdük karsinomlarının %35'i EBV ile ilişkilidir (Takad 2000, Musler *et al.* 1998).

EBV pozitif GC vakaları, lokalizasyon, yaş, cinsiyet, immünolojik özellikler ve prognoz açısından helikobakter ile ilişkili GC'den farklıdır (Hausen *et al.* 2004, Berkhof *et al.* 2006). EBV enfeksiyonları genellikle güdük karsinomları ile ilişkilidir. EBV'nin

nedensel işlevi henüz tam olarak kurulmamıştır. Öte yandan EBV, EBV pozitif GC olaylarında klonalite gösterir (Shibata and Weiss 1992). EBV ile ilişkili diğer malignitelerden farklı bir gecikme paterni nedeniyle, BARF1 olası bir alternatif viral dönüştürme faktörü olarak tanımlanmıştır (Craanen *et al*. 2000). EBV pozitif GC vakalarının klinik teşhisinden önce bile EBV'ye yüksek bir antikor tepkisi keşfedilmiştir (Hayashi *et al.* 1994, Hildesheim *et al.* 1995, Koriyama *et al.* 2000). EBV pozitif GC vakaları çok iyi bir prognoza sahiptir ve Helicobacter pylori ile ilişkili EBV negatif GC vakalarına kıyasla genellikle farklı bir yer gözlenir (Hausen *et al*. 2004).

2.5.3.9 Ekstranodal Nk/T hücreli lenfoma

Hem Extranodal NK hem de T hücre lenfomaları (ENK/T) agresif malignitelerdir ve sıklıkla burun ve paranazal bölgeyi etkiler. Histolojik görünüm, salatalık benzeri uzun çekirdek görünümüdür (Jaffe 1996). Bu tümör Güneydoğu Asya'da daha yaygındır ve bu bölgede gözlenen kronik aktif EBV enfeksiyonlarının daha yüksek sıklığıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu malignite, patolojik olarak nazal tip ve agresif lenfoma / lösemi olarak sınıflandırılır. NK ve T lenfoma parafine gömülü doku örneklerinin CD3 boyamasında tanısal zorluk, kriyostat bölümünde (Chan *et al.* 1996). Nazal tip EBER-RISH boyaması pozitif sonuç verir. EBV viral yükü, hastalık durumunu (Au *et al.* 2004), hayatta kalmayı (Hsieh *et al*. 2007) tahmin etmek için yararlı bir araçtır, ancak prognostik bir gösterge olarak çok işlevsel değildir (Suwiwat *et al.* 2007). Güneydoğu Asya'da kronik olarak aktif EBV enfeksiyonu daha yaygındır ve hemofagositik sendromla, sıklıkla NK / T hücreli lenfoma ile bağlantılıdır (Imashuku 2007).

2.5.4 EBV ile ilişkili diğer hastalıklar

EBV ile B dışındaki hücrelerden ve mukozal epitelyal hücrelerden kaynaklanan diğer malign hastalıklar arasındaki ilişki, PZR veya tümör hücrelerinin boyanmasına dayalı olarak tanımlanabilir. Düz kas hücresi leiomyomu ve leiomyosarkom, HIV virüsü ile enfekte olan pediyatrik hastalarda veya organ nakli hastalarında EBER boyamasında

%90 pozitif sonuç verir ve kanda yüksek EBV DNA kopyası gösterir (Jenson *et al.* 1995, Pollock *et al.* 1997, Alashari *et al.* 1995).

EBV ile ilişkili hepatoselüler karsinomlarda (HCC) ve meme adenokarsinomlarında bildirilen diğer çalışma sonuçlarının birbiriyle tutarsız olduğu bildirilmiştir. Bu bağlamda yapılan bir çalışmada, HCC örnekleri incelenmiş ve EBV ilişkisi %37 olarak bulunmuştur (Sugawara *et al.* 1999). Ancak başka bir çalışmada EBV ile HCC arasında bir ilişki olmadığı bildirilmiştir (Junying *et al.* 2003). EBV ile ilişkili göğüs adenokarsinomunun pozitif boyanması, EBNA1 antikoru ile hücresel proteinler arasındaki çapraz reaktiviteye bağlıdır ve yanlış bir pozitif sonuca yol açar (Bonnet *et al*. 1999, Murray 2006). Bununla birlikte, göğüs adenokarsinomunda küçük bir EBER pozitif boyanma yüzdesi de bildirilmiştir (Labrecque *et al*. 1995, McCall *et al*. 2001). Bazı sonuçların, duktal epitelyal göğüs hücrelerinde yaygın bir EBV enfeksiyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Hutt-Fletcher *et al*. 2003).

EBV'nin ayrıca Sjögren (SS) Sendromu, SLE ve MS dahil olmak üzere otoimmün bozuklukların başlangıcı ile ilişkili olduğu görülmektedir, ancak patogenetik henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. Sonuçlar (Harley *et al.* 2006, Harley and James 2006).

2.5.4.1 Nazofarenks karsinom

Farklılaşmamış nazofaringeal karsinomda (NPC'ler) EBV her zaman tespit edilmiştir. NPC biyopsilerinde ifade edilen bazı EBV genlerinin saptanmasıyla, EBV latent tip II ve NPC arasındaki ilişki doğrulanmıştır. Bu genler "EBERler, EBNA1, LMP1, LMP2A ve BARF1" olarak sıralanabilir (Bouguermouh *et al.* 2000, Sadler *et al.* 1992). Litik faz antijeni genellikle düşük BZLF1 ekspresyonu duşunda tümör dokusunda tespit edilmez. Bu, NPV'deki çeşitli erken ve geç litik faz antijenlerinin yanı sıra EBNA1'e karşı yüksek antikor tepkileriyle çelişir. Bunlar, epitel altı bölgelerdeki aktif viral replikasyonun bir göstergesi olarak ve ayrıca tümör içindeki farklılaşan epitel hücrelerine yanıt olarak değerlendirilebilir ve ardından EBV litik döngüsünü başlatır (Chen *et al.* 1998).

NPC hastalarında EBV antijenlerine karşı antikor profili yaşa bağlı olarak değişmektedir. Yapılan bir çalışmada NPC antikor profilinin EBV antijenlerine karşı ileri yaşa bağlı olarak daha kısıtlı IgG ve IgA motifi gösterdiği ortaya konmuştur (Karray *et al.* 2005).

Dahası, EBV DNA'sı çok az farklılaşmış ve farklılaşmamış NPC'de yüksek ila düşük insidanslı alanlarda bulundu ve skuamöz tip I hücrelerde saptanmadı. "NPC WHO tip I", yüksek insidanslı endami ve daha az tutarlı bulgulardaki EBV DNA vakalarının yüzde 1'inden daha azını oluşturmaktadır (Raab-Traub 2002).

EBV ile ilişkisini desteklemek için premalign abrazyonlar EBV limanının nazofaringeal epitelinde yer alır. Bu, enfeksiyonun, klonal genomu içeren virüs-pozitif tümörlerle karsinojenezin erken bir aşamasında meydana gelebileceği yönünde bir öneriye yol açar (Gulley 2001). Klonalite, her bir DNA molekülü için EBV'nin genomunun çeşitli sayıda son aşama tekrarları (TR'ler) ile çevrelenmiş olması gerçeğine dayanmaktadır. Hücreler tek bir viral DNA içinde olduğunda, bir terminal tekrar alanı (TR) tarafından stabil bir hücre içi ekstrakromozomal epizom oluşturulur. EBV DNA, her tümör hücresinde aynı TR'ye sahiptir, bu da NPC tümörünün aynı orijinal enfekte hücreden türetildiğini gösterir (Raab-Traub 2002). Anlaşmaların EBV ve NPC enfeksiyonu arasında düzenlendiği bildiriliyor. Enfekte olmayan vakalarda, EBV enfeksiyonunun daha hızlı büyüme, daha az varyasyon ve daha fazla NPC metastazı ile bağlantılı olduğu bulgusu bunu desteklemektedir. Bu bulgular (Tsai *et al.* 1998). EBV enfeksiyonu bazen yüksek dereceli NPC'de görülür, ancak düşük dereceli displastik epitelde görülmez, NPC'ye ilerleme sırasında EBV'den önce belirli genetik değişiklikler görülür. EBV latent gen ekspresyonu, kısa süre önce normal bademcik epitel eksplantlarında doğrulanmıştır (Pegtel *et al.* 2004, González-Lucano *et al.* 2019). EBV, kimyasal olarak hasar görmüş epitel hücrelerine hayatta kalma sinyalleri sağlayarak kanser oluşumunu hızlandırabilir (Middeldorp *et al.* 2003). Sonuç olarak, NPC patogenezinde EBV enfeksiyonu artık erken ve gerekli bir olay olabilir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Hastaların Seçimi

Genel olarak Thi Qar'daki Al-Shatra Eğitim Hastanesinden toplam 60 klinik örnek seçilmiştir . Deney grubundaki hastalarda aşağıdaki özellikler not edildi:

- 18 yaşından 80 yaşına kadar olanlar
- Çalışmanın sonuçlarını etkileyen farklı bir hastalık bulunmamaktadır.
- Çalışmanın sonuçlarını etkileyen ilaç dışı kullanım

Çalışmanın sonuçlarını etkileyecek standart veya deneysel bir tedavi yoktur. Bulaşıcı Hastalıklar Polikliniği'ndeki doktorlar EBV taşıyıcısından onay istedi. Hasta örneklemesinden önce hastalara çalışma hakkında yazılı ve sözlü bilgi verildi ve hastane etik kurulu ve başhekimden onay alındı.

3.1.2 Malzemeler

Çalışmada kullanılan ekipmanlar ve aletler Çizelge 3.1'de sunulmaktadır.

Çizelge 3.1 Bu çalışmada kullanılan genel laboratuvar ekipmanı ve aleti

No.	**ALETLER VE ARAÇLAR**	**MENŞEİ**	**ŞİRKET**
1	Otoklav	Japonya	Haramaya
2	Soğutma santrifüjü	ABD	PrismR
3	Derin dondurucu	Almanya	GFL
4	Tek kullanımlık şırıngalar (5 mL)	Suriye	Medical jet
5	Damıtma aparatı	Almanya	GFL
6	EDTA tüp (5 mL)	Ürdün	AFCO
7	Mikroplak okuyucu ve yıkayıcı	ABD	Biotech
8	Eppendorf tüp (1,5 mL)	Çin	Biotech
9	Hood	Kore	Labtech
10	Yatay jel elektroforezi (agaroz)	Japonya	Autto
11	Hot plate	İngiltere	Grant
12	Jel tüp (2,5 mL)	Ürdün	AFCOVAC
13	Incubator	Almanya	Fisher Scient
14	Mikropipetler (5 -50µL), (2-20µL), (20-200µL), (100-1000µL)	Almanya	Slamed
15	PZR termocycler	Kore	Bioneer
16	Fotoğraf dokümantasyonu	Japonya	E-Graph
17	Spektrometre	Avusturya	Varian
18	Tarama düşüşü	Almanya	Analytikjena
19	Hassas denge	Almanya	Sartorius
20	Fırın	Çin	Binder
21	Vortex (electronik)	İngiltere	Clever
22	UV transillüminatör	Japonya	E-Graph
23	Su banyosu	Almanya	GFL

3.2 Yöntem

3.2.1 Kan toplam

Kontrol ve EBV hastalarından kan alındı (5 mL) ve iki tüpe bölündü. İlk EDTA kaplı toplama şişeleri, moleküler analiz gerçekleştirilinceye kadar -20°C'de dondurucuda saklandı. Serumu tespit etmek için ikinci tam kan örneği steril tüp ve kapaklara alındı. Daha sonra, pıhtının oda sıcaklığında (18-15 ° C) yaklaşık 1 saat boyunca bozulmaması için toplanmaları boşaltıldı. Tüpler yaklaşık 1000xg'de 10 dakika santrifüj edildi. Serum üç parçaya pipetlendi ve analiz tamamlanana kadar -20°C'de saklandı.

3.2.2 Genomik DNA izolasyonu protokolleri

EDTA tüpünde ve pıhtılaşma önleyici DNA taze, tam kan saflaştırma yoluyla toplanmıştır; PZR dahil olmak üzere daha sonra DNA manipülasyonu için hiçbir zararlı etki bulunmadı. Pıhtılaşma önleyici, kan örneklerini 2-8°C'de iki aya kadar saklamak mümkündür, ancak artan saklama süresi ile DNA üretimi azalmaktadır.

1- 900 µL hücre liziz solüsyonu (1 ila 300 µL numune boyutu için) 1,5 ml'lik dar bir steril tüpe uygulanır.

2- Kan tüpünü iyice karışana kadar çalkalayın. Kan daha sonra kataliz solüsyonu tüpüne aktarılacaktır.

3- Oda sıcaklığında 2-3 kez 10 dakika inkübe edildikten sonra kırmızı kan hücrelerinin analizi için oda sıcaklığında 300 Maikarolter'de 20 saniye süreyle numuneden çıkarıldı.

4- Süpernatant çıkarıldı ve görünen beyaz granülü bozmadan büyük bir miktarı atıldı.

5- Beyaz kan hücreleri askıya alınana kadar tüpü kuvvetlice döndürün (10-15 saniye).

6- Askıya alınmış hücrelerle (300 µL numune hacmi ile 300 µL) çekirdeklenme çözeltisi ektedir. Beyaz kan hücresi analizi için çözelti 5-6 kez kurutuldu. Karıştırıldıktan sonra hücreler görünüyorsa, çözelti yapışkan bir çözelti haline

getirilebilir. Daha sonra çözelti, kümeler parçalanana kadar 37 ° C'de inkübe edilir. Kümelerin 1 saat içinde hala görünür olduğu yerlerde, ilave çekirdeklenme çözeltisi eklenmiştir, inkübasyon tekrarlanır (300 µL numune hacmi için 100 µL).

7- Nükleer analizör, 2 ila 5 kat karıştırılarak 1,5 l'lik (300 l numune hacmi) bir RNase çözeltisi ile desteklendi. Karışım, 15 dakika boyunca 37 ° F'de oda sıcaklığına kadar soğutuldu.

8- Nükleer analizörlere ek olarak, protein çökeltme çözeltisi (300 µL numune hacmi için 100 µL) 10-20 saniye kuvvetli bir şekilde takas edildi. Girdap, görünür küçük protein kümelerine sahipti.

9- Süpernatant, oda sıcaklığında 300 µL izopropanol içeren temiz bir 1,5 mL santrifüj tüpüne taşınmıştır.

10- Çözelti, DNA iplikçikleri gibi beyaz ipliklerden görsel bir kütle oluşturacak şekilde dikkatlice karıştırıldı.

11- Örnek oda sıcaklığında 13000 - 16000 µL/g'de santrifüj edildi. Küçük beyaz bir kütle DNA olarak kabul edildi.

12- Üstteki kısım süzüldü ve DNA, oda sıcaklığında yüzde 70 etanol içeren bir numune hacmi ile ilave edildi. DNA peletlerini yıkamak için tüp birkaç kez ters çevrildi ve Mikrosantrifüj tüpünün yanları 12 adımda olduğu gibi santrifüjlendi.

13- Pasteur pull-up veya seri pipet ucu, genetik olarak etanol içine solunmuştur. Bu şekilde DNA pelleti gevşetilir. Peletlerin pipetin içine çekilmemesine dikkat edildi. Bu tüp, kuru havalı temiz bir kağıtla yaklaşık 10-15 dakika aktarıldı.

14- Tüpe DNA eşlik eder (300 mikronluk numune hacmi için 100 mikron). DNA'yı kurutmak için yaklaşık bir saat boyunca sıcaklıkta 65oC'ye bir değişiklik kullanılır. Çözeltiyi 4 ° C'lik bir oda sıcaklığında alternatif olarak gece boyunca inkübe ederek DNA rehidre edildi.

15- 2-8 Santigrat derece DNA'yı saklayın.

3.2.3 Agaroz jel elektroforezi

Ekstrakte edilen DNA'nın varlığını doğrulamak için bir agaroz jel elektroforezi uygulandı.

3.2.3.1 Agaroz jel hazırlama ve döküm

1. Bir silindire 10 mL 10 X TBE (Tris Borat EDTA) alınarak 90 mL distal su ilave edilerek 1X TBE tamponundan (100) elde edilir.
2. 2-100 mL %1,5 agaroz solüsyonu hazırlamak için, 1,5 g agaroz tartılmış ve 1X TBE tamponuna eklenmiştir.
3. Çözelti, agaroz tamamen çözülene kadar bir mikrodalga kullanılarak (2 dakika) kaynama noktasına kadar ısıtılarak çözündürüldü.
4. Çözelti, 50 ° C'lik bir sıcaklıkta soğumaya bırakıldı.
5. 100 mL agaroz jele 5 ul güvenli kırmızı miktarı eklenmiştir.
6. Agaroz solüsyonu jel tepsisine döküldü. Çok fazla hava kabarcığı oluşmaması için dikkatlice dökün. Ayrıca, tepsinin tüm alt kısmının kapatıldığından emin olun. Herhangi bir hava kabarcığı bir pipetle çıkarıldı.
7. Jel aparatının, agaroz jel oda sıcaklığında 10 dakika katılaşana kadar dokunulmadan beklemesi sağlandı.
8. Sabitlenen tarak nazikçe çıkarıldı ve jel tepsisi jel tankına yerleştirildi. Kuyucukların dibinin yırtılmasını önlemek için, tarağı nazikçe kıpırdatarak dişleri jelden kurtarın. Tarakın bir tarafını hafifçe kaldırın, sonra diğer tarafını.
9. Tank, jel yüzeyinde 2 mm'ye ulaşıncaya kadar 1X TBE tamponu ile doldurulmuştur.

3.2.3.2 DNA yükleme ve elektroforez

DNA'dan 5 uL'lik bir miktar alındı ve 2 uL DNA yükleme boyası (bromofenol mavisi ve ksilen siyanol) ile karıştırıldı. Numune dikkatli bir şekilde agaroz jelin ayrı kuyucuklarına yüklendi ve ardından 2 saat boyunca 70 volt / cm^2de elektrik gücü açıldı. Daha sonra DNA, negatif elektrottan (katot) pozitif elektrota (anot) taşındı. Jeldeki DNA bantları, bir UV transillüminatör kullanılarak görselleştirildi.

3.2.4 Polimeraz zincirleme reaksiyonu

PZR, hacmi 50-l ve genomik DNA konsantrasyonu 20-l (1 g genomik DNA) olan toplam kan örneklerinde gerçekleştirildi. Örnekler ayrıca 100 mL olan 20 µL DNA (belirlenmemiş DNA konsantrasyonu) içerebilir. Tris'e. DNA, DNA Taq polimeraz ünitesi 2,5 (Invitrogen, ABD), DNTP 200 $^{\mu M}$ (ABD). MgCl2 1,5 ^{mM}; gp 220 0,4 $^{\mu m}$ her biri EBVgp1 - 5'- TGG GG GAG CAA TGT TA - 3' ve 5'- CCT TAG GAA CAA GTC CC -3'; hidroklorik asit ve KCl 500 ^{mM}; gp1 - 5'- TGG GG GAG CAA TGT TA - 3 ve 5'- CCT TAG GAA CAA GTC CC -3' (MWG Biotech tarafından üretilmiştir). Örnekler, 50 µl steril bir mineral yağ ile sağlandı. İlk beş dakikalık dereceli 95 °C zaman adımı. Daha sonra 95 ° C'de 30 saniyenin 40'ı çevrilir. Daha sonra 57 ° C'de 30 s'lik bir hızda ve ardından bir dakikalık bir sürede 72 ° C'lik bir hızda döndürülürler. Son 5 dakikalık uzatma 72°C'lik bir amplifikasyon hızında sona erdi. Bir elektrikli cihazda %2 etidiyumbromid içeren agaroz jelde, PZR ürünleri (239 bp) belirlendi. EBV GP220 gen kodlaması, 100 viral kopya limitine yükseltildi. Aynı zamanda büyütüldü. Her testte, insan genomik veya serum DNA'sı yerine enfekte olmayan bir kişinin steril suları veya DNA'sı, viral kültürlerin negatif kontrol ve pozitiflik nöbeti olarak test edildi.

3.2.5 İmmünolojik tahliller

3.2.5.1 VCA'ya karşı IgG antikorlarının ölçümü

IgG ELISA Pozitif VCA antikoru >20 AU/mL ve pozitif VCA-IgM, ELISA ile tespit edildi. IgG, ELISA (Sanofi Diagnostics Pasteur, Fransa) tarafından EBNA ile tanımlanmıştır. Sert EBV enfeksiyonları (IgM, IgG, güçlü ancak negatif IgG-EBNA enfeksiyonu; EBV, Post-Hard EBV enfeksiyonu (IgG, pozitif ve negatif IgG-EBNA'dan VcA'ya)); Kişisel olarak olumsuz olan EBV, üreticinin talimatlarına göre başka bir yerde açıklanan diğer protokollere ek olarak (üç serum belirteci için negatif) kümelenmiştir.

3.2.5.2 Tahlil prosedürü

1. Seyreltilmiş standart ve numuneler ilgili kuyucuklara eklenmiştir. Kuyular folyo ile kapatıldı. 37°C'de (60 dakika) 1 saat inkübasyon.

2. Kuyucuk içeriği emilir ve üç kez 300 µL yıkama solüsyonu ile yıkanır.

3. Toplam 100 bölücü IgG antikor konjugatı alınmış ve iyice dağıtılmıştır. Bunları örtmek için Folyo kullanılmıştır. Bir sıcaklıkta (20-25 ° C) 30 dakika inkübe edildi.

4. TMB'nin (100 litre) substratum solüsyonu çıkarıldı ve tüm kuyucuklarda 15 dakikaya kadar bir sıcaklıkta (20-25 °C) inkübe edildi.

5. 100 uL'lik bir miktar durdurma çözeltisi eklendi. Kuluçka sırasında Mavi rengin gelişimi gerçekleşti. Daha sonra sarıya döndü.

6. Durdurma çözeltisinin eklenmesinden sonra, numune absorbansı 30 dakika 450 nm'de hesaplandı.

3.2.6 Virüs IgM antikorlarının ölçülmesi

3.2.6.1 Testin ilkeleri

Virüse karşı IgM antikorlarının kantitatif hesaplaması ELISA tekniğine dayanmaktadır. Saflaştırılmış virüs antijeni, virüs IgM spesifik antikoru eklenerek yüzey üzerine kaplanır. Anti-organik antijen kompleksine bağlanan anti-insan, anti-kas kontrollü enzim (HRP), tüm bağlanmamış materyalleri temizlemek için kullanılır. Fazla enzim konjugatı, mavi bir reaksiyon ürünü veren kromejenik substrat eklenerek (TMB) yıkanır. Karmaşık görselleştirildi. Üretilen renk yoğunluğu, örneklenen IgM antikor miktarı ile orantılıdır. Hidroklorik asit ile reaksiyonu artırın. Sarı rengin gelişmesine yol açan üretir. Sonuçlar, 450 nm'de emilimde bir mikro-kuyu okuyucu tarafından bulunur.

3.3 Istatistiksel Analiz

Ortalama ± SD üzerinden veriler analiz edildi. Öğrenci testinde değişkenlerin ortalamasındaki farklılıklar incelenmiştir. Grup başına 96 kişinin büyüklüğünün, birden fazla formatta 0: 14'ten yüzde 80 ve yüzde 5 farklılık (Delta) olduğu tahmin edildi, gruplar arasındaki sıklık yüzde 80'dir. Farklar, hastalarda alelik frekansları saptamak için Fisher'in kesin testi kullanılarak değerlendirildi. Hücre gözlemlerinin sayısı nerede. T-testlerinin çoklu karşılaştırmaları, P <0,05'in önemli olduğu düşünülerek, gözlenen allel sayısıyla P değerlerini düzeltmiştir. %95 (CI) güven aralığı beklentilerini, tanımlanan GD-genotip-tüm ilişkili ilişkinin bir ölçüsü olarak kullanın. İle2 testi kullanılarak Hardy-Weinberg dengesi bulundu. GD ile ilişkili bağımsız faktörleri araştırın, SPSS v16 kullanılarak çoklu lojistik regresyon teknikleri yapıldı. 0 yazılım.

4. BULGULAR

4.1 Çalışma Katılımcılarının Klinik Özellikleri

Çizelge, hastaların ve kontrol vakalarının klinik özelliklerini göstermektedir (Çizelge 4.1). Ortalama yaş, menarş (yıl) ve ortalama vücut kitle indeksi (BMI) (kg/m^2), hastalar ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık göstermedi. P> 0,05

Çizelge 4.1 Hasta ve kontrolün demografik verileri

ÖZELLİKLER	**CASES (ORTALAMA ±SD)**	**KONTROL (ORTALAMA ±SD)**	**P DEĞER**
Ortalama yaş (yıl)	66,23±4,76	66,89±5,22	p>0,05
VCA'ya karşı IgG antikorları	25,35±2,4	5,20±1,4	0,0001
Virüs IgM	21,2±2,64	4,66±1,3	0,0001

Başlangıçta, 5 yaşında, sert enfeksiyöz mononükleozun ilk turu sırasında, çocukta VCA-IgM ve IgG pozitif sonuçları vardı. Her iki EBNA-IgG negatifti. iki ay sonra, VCA-IgM saptanamaz hale geldi ve bu arada VCA-IgG pozitif kaldı. EBNA-IgG bu zamanda üretime başladı. Bu serotip (VCA-IgG pozitif, EBNA-IgG ve VCAIgM negatif) klinik ataklar sırasında 6 aya kadar korunmuştur. Bu, EBV yeniden aktivasyonunun bir sınırlamasını gösterir. Diğer bir deyişle, EBV enfeksiyonu veya akut enfeksiyondan sonra serum taşıyıcı profili, EBV aktivasyonunu izlemek için serolojik parametreler kullanıldığında, periferik kan lökositlerinden izole edilen 24 DNA örneği EBV DNA için pozitif iken 24 serum örneğinden sadece 12'si pozitifti. EBV DNA'nın pozitif sonuçları Şekil 4.2, bazı PZR sonuçlarını gösterir. Çoğu durumda, PZR için kullanılan pozitif serum örneği, bu nedenle asiklovir ile tedaviye başlamaya karşılık gelir ve yaşamı tehdit eden bir nöbet meydana gelmeden önce hastaneye kaldırılmalısınız. 25 numaralı serum örneği, uzun süreli kritik hastanede kalış süresine karşılık gelir. Aynı zamanda gözlerde EBV-DNA ve periferik beyaz kan hücreleri ve

serum örnekleri de tespit edildi (sulu mizah). Aksine, 20 EBV DNA örneği negatifti. Serum örnekleri poliklinik takibi sırasında veya antibiyotik ve antiviral tedavinin sonunda alınır. Çoğu durumda hasta sağlıklıdır. Çizelge 4.1, 6 aylık takip süresi boyunca alınan klinik özellikleri, laboratuvar verilerini ve tedavi önlemlerini özetlemektedir.

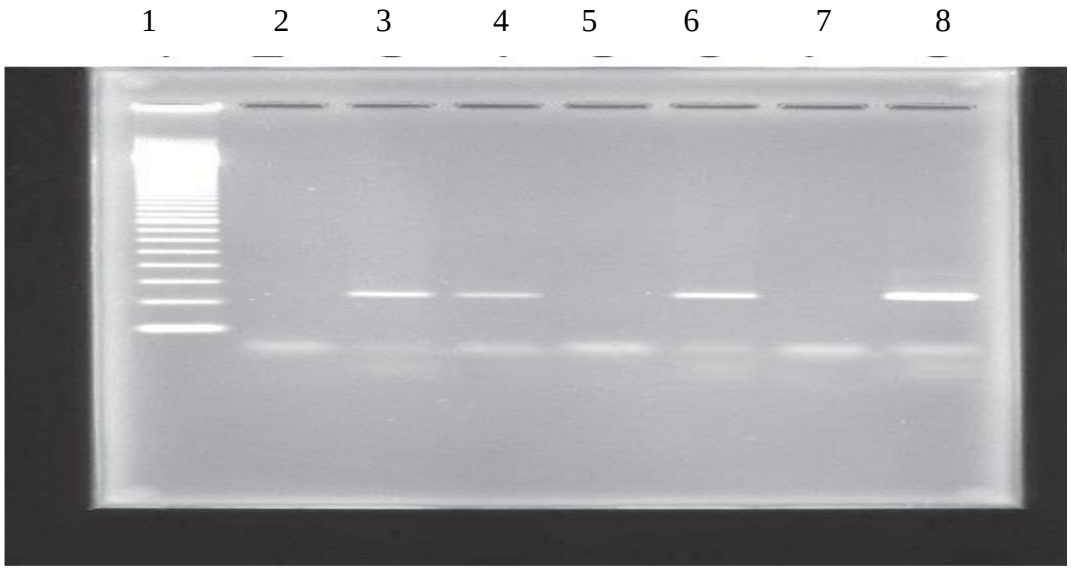
4.2 Moleküler Deneyler

4.2.1 Genomik dna'nın izolasyonu

Ekstrakte edilen DNA, elektroforez ve etidyum bromür ile boyandıktan sonra 60-500 nanogram/mL DNA konsantrasyon dizisi ile agaroz jele yüklendi. İzole edilen, standart sekans için aynı DNA konumuna aktarılacaktır. Tek bir şerit, DNA fragmantasyonunun olmadığını gösteren hiçbir iz bırakmayan tanımlanmış bir şerittir. 60 ng / L'lik nihai konsantrasyon, DNA saflığı, 260 ve 280 nm'de ölçümler emilerek ve 260/280 nm oranı hesaplanarak belirlendi. Oran 1,8 idi ve moleküler tanı için kullanılan DNA için gerekli aralık. Sonraki 1,7-2,0 aralığında.

4.2.2 EBV-DNA'nın amplifikasyonu

Bu çalışmada, EBV 220'nin seçilmiş bir bölümünde 100 viral kopyayı tespit edebilen ünlü bir kantitatif olmayan PZR protokolü ile serum örneklerinde EBV-DNA tespiti ve EBV reaktivitesi arasındaki bağlantıyı araştırmayı amaçladık. Gene. (Şekil 4-2)1'de bir dizi PZR etkisi doğrulanmıştır.



Şekil 4.2 Hastanın lenf düğümü kümelerinin tam kan ve serum örneklerinden EBV-DNA amplifikasyonu. Şerit 1: moleküler ağırlık işaretçisi 100 bp merdiven (Invitrogen); şerit 2: negatif kontrol (DNA yerine steril su); şerit 3: tam kandan DNA'ya karşılık gelen pozitif örnek

4.2.3 Hastalarda ve kontrol gruplarında ebv-dna prevalansı

Çizelgede gösterilen EBV-DNA frekansları (Çizelge 4.3). EBV-DNA her iki grupta daha yüksek frekans erişim istatistiksel anlamlılığı ile bulundu (p = 1,6 ×10-12), hasta grubunun %66,0'ı, kontrol gruplarında frekans %24,0 tek oranı 4,60 idi EF ile = 0,45 ve (%95 CI: 2,83-6,78).

EBV-DNA sadece yatan hasta gruplarında mevcuttu ve sıklığı %2,0 olan tek oran 12,40 idi. Bu yüksek tek oran, virüsü taşıyan bireyde virüsün bulunmadığı kişilerde allel sıklığına göre hastada gelişme sıklığının 13 kat daha fazla olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.3 Hastalarda ve kontrollerde gözlemlenen sayılar ve yüzde frekansları EBV-DNA

GEN	HASTALAR	KONTROLLER	GARİP ORAN	EF or PF	P	%95 C.I
EBV-DNA	%66	%24	4,60	0,45	$1,6 \times 10^{-12}$	2,83-6,78

Not: EF: Etiyolojik fraksiyon, PF:Önleyici kesir,:Fisher'in kesin olasılığı, C.I:Güven aralığı

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Bu çalışma, tüm kan örneklerinden ekstrakte edilen 60 DNA örneğinde pozitif bir amplifikasyon gösterdi. Hastalar kronik enfeksiyonlara sahip olduğundan ve immünosupresyonu izlediklerinden, bu sonuçlar makul. Bu hasta grubunda etkili EBV klirensi norm değildir (PIETTI, RD). Bağışıklığı baskılanmış hastalarda (Stevenns *et al.* 2002) EBV aktivitesi ile LLP başlangıcı arasındaki ilişkiyi değerlendirin. Diğer araştırmalar, mükemmel EBV-DNA ile serum örneklerindeki bozukluk ilgisi arasında bir ilişki olduğunu teşhis etti. Bununla birlikte, bazı yazarlar, serumun bilimsel bir model olduğunu, bunun gerçek zamanlı polimeraz zincir yanıtında bir aşamada test için istenmeyen ve farklı kantitatif teknikler olduğunu belirtmişlerdir (Shao *et al.* 2004). DNA EBV gebelik testidir, çünkü virüsle ilişkili hücrelerin varlığını yok sayar ve kontrol dışı mobilüler liziz, invaziv olmayan sonuçlara veya aşırı değerli DNA yüküne neden olabilir (Wagner *et al.* 2002). Ancak çalışmalar, EBV DNA'nın tüm kan örneklerinde ortaya çıktığını göstermiştir. 24 serum örneğinden yaklaşık 12'si sözleşme kapsamında belirlendi. Hastane epileptik nöbetlerden alınan numunelerin PZR testi sonuçları pozitif olmasına rağmen, negatif PZR sonuçlarının çoğu klinik olarak stabil pediyatrik vakalarla uyumluydu (Wagner *et al.* 2002). PZR ile serum örneklerinde EBV hastalığı aktivitesi için Kappa testi (değer 0) (bu çalışmada hastaneye yatış ve antiretroviral tedavi gerektiren gösterilmiştir) (Zingg *et al.* 1999).

Bu çalışmada sağlanan veriler yalnızca, bağışıklığı baskılanmış kronik olarak enfekte hastaların kriz geçirdiği tek klinik çalışmada analiz edilmiştir. Bunun yerine, bir serum örneğinde (hücresiz) polimeraz zincir reaksiyonu EBV DNA tespit edildiğinde, bunun hızlı ve ucuz bir şekilde tespit edilebileceğini belirttiler (Smatti *et al.* 2018). (EBV virüsü) 100 kopya. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RTP) veya kantitatif amplifikasyon yöntemleri olmadan, mikrogram başına insan DNA virüslerinin sayısı, kronik immün yetmezliği olan hastalarda hastalık aktivitesi için bir işaret olarak kullanılabilir. Sonuçlar, EBV DNA testi ile hastane semptomlarının ve hastalığın ilerlemesinin operasyonların gösterdiği gibi önemli ölçüde ilişkili olduğunu göstermektedir.

Tüm örneklerde EBV DNA teşhisi hastalık semptomlarına dayanmaktadır. Gelecekteki araştırmalar, gerçek zamanlı PZR'de virüs genlerinin mutasyon tipini belirlemek için EBV DNA'nın kullanımına işaret edebilir. Çocuklukta EBV'ye yakalanan dünya nüfusunun genellikle herhangi bir semptomu yoktur. EBV, mononükleoz olarak kendini gösterir. Lenfoproliferatif bir durum olan enfekte Batı nüfusu buna eğilimlidir. Hodgkin hastalığı anlayışımızdaki ilerlemelere rağmen, EBV'nin rolü hakkında çok az şey bilinmektedir. EBV, gamma herpesvirüs ailesinden bir lenfosit virüsüdür. EBV, özellikle lenfatik sistemde birçok hastalıktan sorumlu olabilir. Bu nedenle EBV'yi teşhis etmek ve teşhis etmek önemlidir. EBV'nin moleküler teşhisi, patojenik EBV'nin etkili kontrolü, profilaksi veya EBV varlığının tespiti ve tedavi sürecinin yönetimi için gereklidir.

EBV'nin moleküler teşhisi için şu anda çeşitli yöntemler mevcuttur. En hızlı ve en verimli olanı, PZR tabanlı bir yöntem olan EBV nükleik asit amplifikasyon tekniklerine dayanan güney blot analizidir.

KAYNAKLAR

Abrams, D. I., Lennette, E. T., Freese, U. K. Conant, M. A., Greenspan, D., Petersen, V. and Greenspan, J. S., 1985. Replication of Epstein–Barr virus within the epithelial cells of oral hairy leukoplakia, an AIDS-associated lesion. New England Journal of Medicine, 313 (25), 1564-1571.

Adhikary, D., Bornkamm, G. W., Moosmann, A., Behrends, U., Witter, K. and Mautner, J. 2006. Control of Epstein-Barr virus infection in vitro by T helper cells specific for virion glycoproteins. The Journal of experimental medicine, 203(4), 995-1006.

Ahmed, W., Tariq, S., Philip, P. S. and Khan, G. 2014. Epstein-Barr virus-encoded small RNAs (EBERs) are present in fractions related to exosomes released by EBV-transformed cells. Plus one, 9 (6), e99163.

Aiyar, A., Sears, J., Wong, S., Middeldorp, J., Ott, C. and Ujihara, M. 2004. The amino terminus of Epstein-Barr Virus (EBV) nuclear antigen 1 contains AT hooks that facilitate the replication and partitioning of latent EBV genomes by tethering them to cellular chromosomes. Journal of virology, 78 (21), 11487-11505.

Alashari, M., Jaffe, R., Lee, E. S., Nalesnik, M., Locker, J., Reyes, J. and Dickman, P. S. 1995. The association of Epstein–Barr virus with smooth-muscle tumors occurring after organ transplantation. New England Journal of Medicine, 332 (1), 19-25.

Albers, A., Schaefer, C., Myers, E. N., Hoermann, K., Kim, G. G. and Whiteside, T. L. 2005. Characteristics of CD4+ CD25+ regulatory T cells in the peripheral circulation of patients with head and neck cancer. British journal of cancer, 92 (5), 913-920.

Alexiou, M., Panagopoulos, D., Victoratos, P., Kollias, G. and Mosialos, G. 2004. Comparative analysis of signal transduction with CD40 and the Epstein-Barr virus oncoprotein LMP1 in vivo. Journal of virology, 78 (23), 13253-13261.

Alfredsson, L., Butt, J., Hedström, A. K., Brenner, N., Hillert, J., Waterboer, T. and Huang, J. 2020. Smoking and Epstein–Barr virus infection in multiple sclerosis deandlopment. Scientific reports, 10 (1), 1-7.

Ambinder, R. F., Choi, G. C. G., Li, L., Su, X., Cao, Y. and Tao, Q. 2012. Methylation profiling of Epstein-Barr virus immediate-early gene promoters, BZLF1 and BRLF1 in tumors of epithelial, NK-and B-cell origins. BMC cancer, 12(1), 1-10.

Anson, O., Sarid, O., Margalith, M. and Yaari, A. 2001. Epstein-Barr virus specific salivary antibodies attached stress caused by examinations. Journal of Medical Virology, 64 (2), 149-156.

Aozasa, K., Oshimi, K., Yang, L. and Takada, K. 2004. Epstein-Barr virus (EBV) - encoded RNA promotes growth of EBV-infected T cells during interleukin-9 induction. Cancer research, 64 (15), 5332-5337.

Au, W. Y., Chim, C. S., Pang, A., Kwong, Y. L. and Choy, C. 2004. Quantification of circulating Epstein-Barr virus (EBV) DNA in the diagnosis and monitoring of natural killer cell and EBV-positive lymphomas in immunocompetent patients. Blood, 104 (1), 243-249.

Austin, J. P., Clancy, R. L., Gleeson, M., Fricker, P. A., Pyne, D. B. and McDonald, W. A. 2002. Epstein-Barr virus reactivation and upper-respiratory disease in elite swimmers. Medicine and science in sports and exercise, 34 (3), 411-417.

Avolio-Hunter, T. M., Frappier, L, Ceccarelli, D. F. and Shire, K. 1999. EBP2, a human protein that interacts with sequences of the Epstein-Barr virus nuclear antigen 1 important for plasmid maintenance. Journal of virology, 73 (4), 2587-2595.

Baldwin, G., Shannon-Lowe, C. D., Delecluse, H. J, Neuhierl, B. and Rickinson, A. B. 2006. Resting B cells as a transfer vehicle for Epstein–Barr virus infection of epithelial cells. Proceedings of the National Academy of Sciences, 103 (18), 7065-7070.

Barker, R. N., Marshall, N. A. and Vickers, M. A. 2003. Regulatory T cells secreting IL-10 dominate the immune response to EBV latent membrane protein 1. The Journal of Immunology, 170 (12), 6183-6189.

Barth, S., T., Ehses, C., Pfuhl, Grässer, F. A., Roemer, K., Mamiani, A. and Kremmer, E. 2008. Epstein–Barr virus-encoded MicroRNA miR-BART2 down-regulates the viral DNA polymerase BALF5. Nucleic acids research, 36 (2), 666-675.

Berkhof, J., Van Beek, J., zur Hausen, A., Snel, S. N., Kranenbarg, E. K., van de Velde, C. J. and Bloemena, E. 2006. Morphological evidence of an activated cytotoxic T-cell infiltrate in EBV-positive gastric carcinoma preventing lymph node metastases. The American journal of surgical pathology, 30 (1), 59-65.

Berline, J. W. Palefsky, J. M. and Tugizov, S. M. 2003. Epstein-Barr virus infection of polarized tongue and nasopharyngeal epithelial cells. Nature medicine, 9 (3), 307-314.

Beveridge, T., Krupp, P. and McKibbin, C. 1984. Lymphomas and lymphoproliferative lesions developing beneath cyclosporin therapy. Lancet, London, England, 1, 8380, 788-788.

Bhaduri-McIntosh, S., Landry, M. L., Nikiforow, S., Miller, G El-Guindy, A. and Rotenberg, M. 2007. Serum IgA antibodies to Epstein-Barr virus (EBV) early lytic antigens are present in primary EBV infection. The Journal of infectious diseases, 195 (4), 483-492.

Bilello, J. P., Cai, X., Schäfer, A., Desrosiers, R. C., Lu, S., Edwards, R. and Cullen, B. R. 2006. Epstein–Barr virus microRNAs are evolutionarily conserved and differentially expressed. PLoS pathog, 2 (3), e23.

Blake, N., Leen, A. N. N., Bloemena, E., Middeldorp, J., Rickinson, A., Redchenko, I. and Meij, P. 2001. Differential immunogenicity of Epstein-Barr virus latent-cycle proteins for human CD4+ T-helper 1 responses. Journal of virology, 75 (18), 8649-8659.

Bode, A. M., Cao, Y., Liu, S., Hu, J., Luo, X., Li, N. and Li, H. 2016. Epstein-Barr virus lytic reactivation regulation and its pathogenic role in carcinogenesis. International journal of biological sciences, 12(11), 1309.

Boer, I. G., Hooykaas, M. J., Soppe, J. A., Van Gent, M., Kruse, E., Van Leenen, D. and Lebbink, R. J. 2016. EBV microrna BART16 suppresses type I in signaling. The Journal of Immunology, 198(10), 4062-4073.

Bonnet, M., Benhamou, E., Kremmer, E., Grunewald, V., Contesso, G., Guinebretiere, J. M. and Joab, I. 1999. Detection of Epstein-Barr virus in invasive breast cancers. Journal of the National Cancer Institute, 91 (16), 1376-1381.

Bouguermouh, A., Decaussin, G., Ooka, T., Sbih-Lammali, F. and de Turenne-Tessier, M. 2000. Expression of BARF1 gene encoded by Epstein-Barr virus in nasopharyngeal carcinoma biopsies. Cancer research, 60 (19), 5584-5588.

Bousset, K., Yates, J. L., Schepers, A., Kremmer, E., Harwood, J., Ritzi, M. and Hammerschmidt, W. 2001. Human origin recognition complex binds to the region of the latent origin of DNA replication of Epstein–Barr virus. The EMBO journal, 20 (16), 4588-4602.

Brink, A. A., Meijer, C. J., Hayes, D. P., Middeldorp, J. M., Van Den Brule, A. J. and Vervoort, M. B. 2003. Expression of Epstein-Barr virus (EBV) transcripts encoding homologues of important human proteins in diverse EBV associated diseases. Molecular Pathology, 52 (2), 97.

Buck, M., Kienzle, N., Greco, S., Krauer, K. and Sculley, T. B. 1999. Epstein-Barr virus-encoded RK-BARF0 protein expression. Journal of virology, 73 (10), 8902-8906.

Burkitt, D. and Wright, D. 1966. Geographical and tribal distribution of the African lymphoma in Uganda. British medical journal, 1, 5487, 569.

Busson, P., Keryer-Bibens, C., Souquère, S., Hirashima, M., Pioche-Durieu, C., Nishi, N. and Villemant, C. 2006. Exosomes released by EBV-infected nasopharyngeal carcinoma cells convey the viral latent membrane protein 1 and the immunomodulatory protein galectin 9. BMC cancer, 6 (1), 1-8.

Callan, M. F., Hatton, C., Amyes, E., Montamat-Sicotte, D., Gudgeon, N., McMichael, A. J. and Rickinson, A. B. 2003. Characterization of the CD4+ T cell response to Epstein-Barr virus during primary and persistent infection. The Journal of experimental medicine, 198 (6), 903

Callegari, S., Faridani, O. R., Gastaldello, S. and Masucci, M. G. 2014. Epstein–Barr virus encoded micro RNA is target SUMO-regulated cellular functions. The FEBS journal, 281(21), 4935-4950.

Campbell, K. S., Binyamin, L., L. M. and Alpaugh, R. K., Lutz, C. T. and Hughes, T. L. Weiner. 2008. Blocking NK cell inhibitory self-recognition promotes antibody-dependent cellular cytotoxicity in a model of anti-lymphoma therapy. The Journal of Immunology, 180(9), 6392-6401.

Carlos, M. P., Haase, S. B. and Krysan, P. J. 1989. Isolation of human sequences that replicate autonomously in human cells. Molecular and cellular biology, 9(3), 1026-1033.

Chakravarty, E. F., Jog, N. R., Guthridge, J. M. and James, J. A. 2018. Epstein Barr virus interleukin 10 suppresses anti-inflammatory phenotype in human monocytes. Frontiers in immunology, 9, 2198.

Chan, J. K., Ng, C. S. and Tsang, W. Y. 1996. Clarification of CD3 immunoreactivity in nasal T/natural killer cell lymphomas: the neoplastic cells are often CD3 epsilon+ [letter; comment].

Chang, K. L., Shibata, D., Chen, Y. Y. and Weiss, L. M. 1992. Description of an in situ hybridization methodology for found of Epstein-Barr virus RNA in paraffin-embedded tissues, with a survey of normal and neoplastic tissues. Diagnostic molecular pathology: the American journal of surgical pathology, part B, 1(4), 246-255.

Chang, L. K. and Yang, Y. C. 2013. Role of TAF4 in transcriptional activation by Rate of Epstein-Barr Virus. Plus one, 8(1), e54075.

Chaudhuri, B., Dhar, S. K., Machida, Y., Khaira, P., Yoshida, K., Dutta, A. and Wohlschlegel, J. A. 2001. Replication from oriP of Epstein-Barr virus requires human ORC and is inhibited by geminin. Cell, 106(3), 287-296.

Chen, H. L., Ng, M. H., Zhang, J. X., Zong, Y. S., Nicholls, J., Middeldorp, J. M. and Chan, K. H. 1998. Epstein-Barr virus expression within keratinizing nasopharyngeal carcinoma. Journal of medical virology, 55(3), 227-233.

Chen, J. Y., Iwakiri, D., Huang, D. P., Sheen, T. S. and Takada, K. 2005. Epstein–Barr virus-encoded small RNA induces insulin-like growth factor 1 and supports growth of nasopharyngeal carcinoma-derived cell lines. Oncogene, 24(10), 1767-1773.

Chêne, A., Donati, D., Levitsky, V., Chen, Q., Guerreiro-Cacais, A. O., Falk, K. I. and Bejarano, M. T. 2007. A molecular link between malaria and Epstein–Barr virus reactivation. PLoS Pathog, 3(6), e80.

Chiang, A. K. Tong, A. H., Kwok, H., Lok, S., Farrell, P. J., Kwong, D. L. and Lin, C. H., 2012. Genomic sequencing and comparative analysis of Epstein-Barr virus genome isolated from primary nasopharyngeal carcinoma biopsy. Plus one, 7(5), e36939.

Chiba, S., Oda, T., Imai, S. and Takada, K. 2000. Epstein–Barr virus lacking glycoprotein gp85 cannot infect B cells and epithelial cells. Virology, 276(1), 52-58.

Chien, M., Zavolan, M., Russo, J. J., Tuschl, T., Ju, J., Pfeffer, S. and Grässer, F. A. 2004. Identification of virus-encoded microRNAs. Science, 304 (5671), 734-736.

Chung, H. S., Lee, H., Nho, D., Kim, S. H., Lee, H., Shin, M. K. and Bae, H. 2010. CD4+ CD25+ regulatory T cells attenuate cisplatin-induced nephrotoxicity in mice. Kidney international, 78(11), 1100-1109.

Clemens, M. J., Elia, A., Vyas, J. and Laing, K. G. 2004. Ribosomal protein L22 inhibits regulation of cellular activities by the Epstein-Barr virus small RNA EBER-1. European journal of biochemistry, 271(10), 1895-1905.

Clynes, R. A., Presta, L. G., Towers, T. L. and Ravetch, J. V. 2000. Inhibitory Fc receptors modulate in vivo cytoxicity against tumor targets. Nature medicine, 6(4), 443-446.

Comeau, M. Spriggs, M. K., Li, Q., R., Kovats, S., Turk, S. M., Nepom, B. and Hutt-Fletcher, L. M. 1997. Epstein-Barr virus uses HLA class II as a cofactor for infection of B lymphocytes. Journal of virology, 71(6), 4657-4662.

Corthay, A. 2009. How do regulatory T cells work?. Scandinavian journal of immunology, 70(4), 326-336.

Craanen, M. E., Hausen, A., Middeldorp, J. M., Brink, A. A., Meijer, C. J. and van den Brule, A. J. 2000. Unique transcription pattern of Epstein-Barr virus (EBV) in EBV-carrying gastric adenocarcinomas: expression of the transforming BARF1 gene. Cancer Research, 60(10), 2745-2748.

Crough, T., Davenport, M. P., Fazou, C., Walker, S., Burrows, J. M. and Khanna, R. 2005. Contemporaneous fluctuations in T cell responses to persistent herpes virus infections. European journal of immunology, 35(1), 139-149.

Culligan, D. J., Marshall, N. A., Barker, R. N., Vickers, M. A., Johnston, P. W. and Tighe, J. 2007. The relationships between Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 and regulatory T cells in Hodgkin's lymphoma. Experimental hematology, 35(4), 596-604.

Dalla-Favera, R., Lanfrancone, L., Pelicci, P. G., Cesarman, E., Lombardi, L. and Neri, A. 1987. Mechanism of Activation and Biological Role of the c-myc Oncogene in B-cell Lymphomagenesis. Annals of the New York Academy of Sciences, 511(1), 207-218.

De Jesus, O., Karstegl, C. E., Smith, P. R., Hollyoake, M., Griffin, B. E., Turner, D. and Farrell, P. J. 2000. Structure and coding content of CST (BART) family RNAs of Epstein-Barr virus. Journal of virology, 74(7), 3082-3092.

Delecluse, H. J., O'Sullivan, B., Feederle, R. and Taniere, P. 2007. Epstein–Barr virus-associated tumours: an update for the attention of the working pathologist. Journal of clinical pathology, 60(12), 1358-1364.

Deng, Z., Lezina, L., Shtivelband, S., So, W., Chen, C. J. and Lieberman, P. M. 2002. Telomeric proteins regulate episomal maintenance of Epstein-Barr virus origin of plasmid replication. Molecular cell, 9(3), 493-503.

De-Thé, G. 1982. Epidemiology of Epstein-Barr Virus and Associated Diseases in Man. The herpesviruses, 25-103.

Doherty, G., Linehan, D. C., Moore, T. T., Tanaka, Y., Herrmann, V., Joo, H. G. and Liyanage, U. K. 2002. Prevalence of regulatory T cells is increased in peripheral blood and tumor microenvironment of patients with pancreas or breast adenocarcinoma. The Journal of Immunology, 169(5), 2756-2761.

Edhi, M. M., Hashmi, A. A., Hussain, Z. F., Zafar, M. I., Hashmi, K. A., Faridi, N. and Khan, M. 2017. Latent membrane protein 1 (LMP1) expression in Hodgkin lymphoma and its correlation with clinical and histologic parameters. World journal of surgical oncology, 15(1), 1-5.

Eizuru, Y., Iwakiri, D. Tokunaga, M. and Takada, K. 2003. Autocrine growth of Epstein-Barr virus-positive gastric carcinoma cells mediated by an Epstein-Barr virus-encoded small RNA. Cancer research, 63(21), 7062-7067.

Elliott, S. L., Bharadwaj, M., Cross, S. M., Silleri, J. M., Silins, S. L., Sherritt, M. A. and Misko, I. S. 2001. Asymptomatic primary Epstein-Barr virus infection occurs in the absence of blood T-cell repertoire perturbations despite high levels of systemic viral load. Blood, The Journal of the American Society of Hematology, 98(13), 3739-3744.

Fachiroh, J. 2009. New approaches for primary diagnosis and screening of nasopharyngeal carcinoma by using Eppstein-Barr virus markers.

Fachiroh, J., Paramita, D. K., Harijadi, A., Hariwiyanto, B., Haryana, S. M., Schouten, T. and Middeldorp, J. M. 2004. Molecular diversity of Epstein-Barr virus IgG and IgA antibody responses in nasopharyngeal carcinoma: a comparison of Indonesian, Chinese and European subjects. The Journal of infectious diseases, 53-62.

Farrel, P. 2005. EBV- virus genome. Caister Academic Press, Norfolk, UK

Farrell, P. J., Gregory, C. D., Rowe, M., Young, L. S., Rupani, H., Rowe, D. T. and Rickinson, A. B. 1987. Differences in B cell growth phenotype reflect novel patterns of Epstein-Barr virus latent gene expression in Burkitt's lymphoma cells. The EMBO journal, 6(9), 2743-2751.

Faulkner, G. C., Moss, D. J., Burrows, S. R., Khanna, R., Bird, A. G. and Crawford, D. H. 1999. X-Linked agammaglobulinemia patients are not infected with Epstein-Barr virus: implications for the biology of the virus. Journal of Virology, 73(2), 1555-1564.

Feng, H., Chang, R. C. C., Wang, Q., Wong, H. L., Wang, X., Jin, D. Y. and Tsao, S. W. 2005. Stable expression of EBERs in immortalized nasopharyngeal epithelial cells confers resistance to apoptotic stress. Molecular Carcinogenesis: Published in cooperation with the University of Texas MD Anderson Cancer Center, 44(2), 92-101.

Filipowicz, W., Pillai, R. S. and Bhattacharyya, S. N. 2007. Repression of protein synthesis by miRNAs: how many mechanisms?. Trends in cell biology, 17(3), 118-126.

Flaitz, C. M., Walling, D. M., Nichols, J. E., Ray, A. J. and Nichols, C. M. 2007. Epstein-Barr virus infection of Langerhans cell precursors as a mechanism of oral epithelial entry, persistence, and reactivation. Journal of virology, 81(13), 7249-7268.

Fleischmann, J., Grässer, F. A., Kremmer, E., Greenspan, J. S. and Niedobitek, G. 2002. Expression of viral and human dUTPase in Epstein-Barr virus-associated diseases. Journal of medical virology, 68(4), 568-573.

Frangou, P., Niedobitek, G, Herrmann, K. and Middeldorp, J. 2002. Epstein–Barr virus replication in tongue epithelial cells. Journal of General Virology, 83 (12), 2995-2998.

Frappier, L., Voo, K. S., Li, Y., Guo, Z., Peng, G., Fu, T. and Wang, R. F. 2005. Functional characterization of EBV-encoded nuclear antigen 1–specific CD4+ helper and regulatory T cells elicited by in vitro peptide stimulation. Cancer research, 65(4), 1577-1586.

Gatherer, D., McGeoch, D. J. Addison, C., Davison, A. J. and Dolan, A. 2006. The genome of Epstein–Barr virus type 2 strain AG876. Virology, 350 (1), 164-170.

Gewurz, B. E., Furman, M. H., Ploegh, H. L., Schust, D. J. and Tortorella, D. 2000. Viral subversion of the immune system. Annual review of immunology, 18(1), 861-926.

Glaser, S. L., Ambinder, R. F., Stewart, S. L., Lin, R. J., Jarrett, R. F., Brousset, P. and Claviez, A. 1997. Epstein-Barr virus-associated Hodgkin's disease: epidemiologic characteristics in international data. International journal of cancer, 70(4), 375-382.

Gomez, R., Van Leeuwen, D., Ressing, M. E., Franken, K. L., Verreck, F. A., Keating, S. and Wiertz, E. J. 2005. Epstein-Barr virus gp42 is posttranslationally modified to produce soluble gp42 that mediates HLA class II immune evasion. Journal of Virology, 79(2), 841-852.

González-Lucano, L. R., Vasquez-Armenta, G. V., Ramirez-de Los Santos, S., Ramírez-de Arellano, A., Pereira-Suárez, A. L. and Lopez-Pulido, E. I. 2019. Prevalence of Epstein-Barr virus DNA in tonsillar tissue from patients with chronic tonsillitis in Mexican population. The Journal of Infection in Developing Countries, 13(08), 764-767.

Goodman, K., Bickham, K., Paludan, C., Tsang, M. L., Nikiforow, S., Steinman, R. M. and Münz, C. 2003. Dendritic cells initiate immune control of Epstein-Barr virus transformation of B lymphocytes in vitro. The Journal of experimental medicine, 198(11), 1653-1663.

Gratama, J. W., Fibbe, W. E., Ringden, O., Oosterveer, M. A. P., Lepoutre, J., Vossen, J. M. J. J. and Ernberg, I. 1992. Epstein-Barr virus infection in allogeneic marrow grafting: lessons for transplant physicians and virologists. Annals of hematology, 64(1), A162-A165.

Greenberg, D. E. 2005. Viral infections in ICU patients. In Tropical and Parasitic Infections in the Intensive Care Unit, 57-87. Springer, Boston, MA.

Greenspan, J., Herrera, R., D., Tugizov, S., Veluppillai, P. and Palefsky, J. M. 2007. Epstein-Barr virus (EBV) -infected monocytes facilitate dissemination of EBV within the oral mucosal epithelium. Journal of Virology, 81(11), 5484-5496.

Gross, A. and Thorley-Lawson, D. A. 2004. Persistence of the Epstein–Barr virus and the origins of associated lymphomas. New England Journal of Medicine, 350(13), 1328-1337.

Gulley, M. L. 2001. Molecular diagnosis of Epstein Barr virus-related diseases. The Journal of molecular diagnostics, 3(1), 1-10.

Haan, K. M., Lee, S. K. and Longnecker, R. 2001. Different functional domains in the cytoplasmic tail of glycoprotein B are involved in Epstein–Barr virus-induced membrane fusion. Virology, 290(1), 106-114.

Hammerschmidt, W. and Sugden, B. 2013. Replication of Epstein–Barr Viral DNA. Cold Spring Harbor perspectives in biology, 5(1), a013029.

Hanna, W. L., Spaeny-Dekking, E. H., Swaak, A. J., Wolbink, A. M., Wever, P. C., Kummer, A. J. and Hack, C. E. 1998. Extracellular granzymes A and B in humans: detection of native species during CTL responses in vitro and in vivo. The Journal of Immunology, 160(7), 3610-3616.

Harley, J. B. and James, J. A. 2006. Epstein-Barr virus infection induces lupus autoimmunity. Bulletin of the NYU hospital for joint diseases, 64(1/2), 45.

Harley, J. B., Guthridge, J. M., Harley, I. T. W. and James, J. A. 2006. The curiously suspicious: a role for Epstein Barr virus in lupus. Lupus, 15(11), 768-777.

Hatton, C., Callan, M. F., Yang, H., Rostron, T., Poon, K., Fazou, C. and McMichael, A. J. 2000. CD8+ T-cell selection, function, and death in the primary immune response in vivo. The Journal of clinical investigation, 106(10), 1251-1261.

Hausen, A., Van Beek, J., Zur van de Velde, C. J., Kranenbarg, E., Middeldorp, J. M., Klein van den Brule, A. J. and Bloemena, E. 2004. EBV-positive gastric adenocarcinoma: a distinct clinicopathologic entity with a low frequency of lymph node involvement. Journal of Clinical Oncology, 22(4), 664-670.

Hayashi, Y., Fukayama, M., Ooba, T., Takizawa, T., Iwasaki, Y., Chong, J. and Hirai, K. 1994. Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma and Epstein-Barr virus infection of the stomach. Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology, 71(1), 73-81.

Hayward, G. S., Fixman, E. D. and Hayward, S. D. 1995. Replication of Epstein-Barr virus oriLyt: lack of a dedicated virally encoded origin-binding protein and dependence on Zta in cotransfection assays. Journal of virology, 69(5), 2998-3006.

Heemskerk, B., Gomez, R., Ressing, M. E., Verreck, F. A., Van Leeuwen, D., Toebes, M. and Wiertz, E. J. 2003. Interference with T cell receptor–HLA-DR interactions by Epstein–Barr virus gp42 results in reduced T helper cell recognition. Proceedings of the National Academy of Sciences, 100 (20), 11583-11588.

Heller, G., Ferguson, T. L., Koehne, G., Smith, K. M., Pamer, E. G., Williams, R. Y. and O'Reilly, R. J. 2002. Quantitation, selection, and functional characterization of Epstein-Barr virus–specific and alloreactive T cells detected by intracellular

interferon-γ production and growth of cytotoxic precursors. Blood, The Journal of the American Society of Hematology, 99(5), 1730-1740.

Henle, W., Henle, G. E. and Horwitz, C. A. 1974. Epstein-barr virus specific diagnostic tests in infectous mononucleosis. Human pathology, 5 (5), 551-565.

Hildesheim, A., Stemmermann, G., Levine, P. H., Lennette, E. T., Shibata, D. and Nomura, A. 1995. Elevated antibody titers to Epstein-Barr virus prior to the diagnosis of Epstein-Barr-virus-associated gastric adenocarcinoma. International journal of cancer, 60 (5), 642-644.

Hirai, K. and Shirakata, M. 2001. Replication licensing of the EBV oriP minichromosome. Epstein-Barr Virus and Human Cancer, 13-33.

Hislop, A. D., Forrest, C., Rickinson, A. B. and Zuo, J. 2018. Proteome-wide analysis of CD8+ T cell responses to EBV reveals differences between primary and persistent infection. PLoS pathogens, 14(9), e1007110.

Hislop, A. D., Long, H. M., Palendira, U., Münz, C., and Rickinson, A. B. 2014. Cellular immune controls over Epstein–Barr virus infection: new lessons from the clinic and the laboratory. Trends in immunology, 35(4), 159-169.

Hislop, A. D., Sauce, D., Rickinson, A. B. and Taylor, G. S. 2007. Cellular responses to viral infection in humans: lessons from Epstein-Barr virus. Annu. Rev. Immunol., 25, 587-617.

Hitt, M. M., Allday, M. J., Karran, L., Jones, M. D., Busson, P., Hara, T. and Griffin, B. E. 1989. EBV gene expression in an NPC-related tumour. The EMBO Journal, 8 (9), 2639-2651.

Hochberg, D., Sullivan, J. L., Middeldorp, J. M., Luzuriaga, K., Catalina, M. and Thorley-Lawson, D. A. 2004. Demonstration of the Burkitt's lymphoma Epstein-Barr virus phenotype in dividing latently infected memory cells in vivo. Proceedings of the National Academy of Sciences, 101 (1), 239-244.

Hogquist, K. A., Odumade, O. A. and Balfour, H. H. 2011. Progress and problems in understanding and managing primary Epstein-Barr virus infections. Clinical microbiology reviews, 24(1), 193-209.

Holling, T. M., van Den Elsen, P. J. and Schooten, E. 2004. Function and regulation of MHC class II molecules in T-lymphocytes: of mice and men. Human immunology, 65 (4), 282-290.

Hopwood, P. and Crawford, D. H. 2000. The role of EBV in post-transplant malignancies: a review. Journal of clinical pathology, 53 (4), 248-254.

Horst, D., Hislop, A. D., Ressing, M. E., Pudney, V. A., Koppers-Lalic, D., Van Leeuwen, D. and Wiertz, E. J. 2007. A CD8+ T cell immune evasion protein specific to Epstein-Barr virus and its close relatives in Old World primates. The Journal of experimental medicine, 204 (8), 1863-1873.

Horwitz, C. A., Henle, G., Henle, W., Rudnick, H. and Latts, E. 1985. Long-term serological follow-up of patients for Epstein-Barr virus after recovery from infectious mononucleosis. The Journal of infectious diseases, 151 (6), 1150-1153.

Houssaint, E., Peyrat, M. A., Landais, E., Saulquin, X., Trautmann, L., Yates, J. L. and Scotet, E. 2004. Direct killing of Epstein-Barr virus (EBV)–infected B cells by CD4 T cells directed against the EBV lytic protein BHRF1. Blood, 103 (4), 1408-1416

Hsieh, P. P., Liao, J. B., Tung, C. L., Wang, J. S., Tseng, H. H., Chan, A. B. W. and Chang, C. C. 2007. EBV viral load in tumor tissue is an important prognostic indicator for nasal NK/T-cell lymphoma. American journal of clinical pathology, 128 (4), 579-584.

Hudnall, S. D., Ge, Y., Yang, N. P., Wang, H. Q., Wei, L. and Chen, T. 2005. Distribution and phenotype of Epstein–Barr virus-infected cells in human pharyngeal tonsils. Modern Pathology, 18 (4), 519-527.

Humme, S., Feederle, R., Bousset, K., Reisbach, G., Hammerschmidt, W., Delecluse, H. J. and Schepers, A. 2003. The EBV nuclear antigen 1 (EBNA1) enhances B cell immortalization several thousandfold. Proceedings of the National Academy of Sciences, 100 (19), 10989-10994.

Hutt-Fletcher, L. M. and Borza, C. M. 2002. Alternate replication in B cells and epithelial cells switches tropism of Epstein–Barr virus. Nature medicine, 8 (6), 594-599.

Hutt-Fletcher, L. M. and Turk, S. M. 1995. The Epstein Barr virus (EBV) BZLF2 gene product associates with the gH and gL homologs of EBV and carries an epitope critical to infection of B-cells but not of epithelial cells. Journal of virology, 69 (7), 3987-3994.

Hutt-Fletcher, L., Huang, J., Ambinder, R. F., Chen, H. and Hayward, S. D. 2003. Lytic viral replication as a contributor to the detection of Epstein-Barr virus in breast cancer. Journal of virology, 77 (24), 13267-13274.

IARC. 1997. Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans and International Agency for Research on Cancer. Epstein-Barr virus and Kaposi's sarcoma, herpesvirus-human herpesvirus.

Imaizumi, T., Samanta, M., Takada, K., Kanda, T. and Iwakiri, D. 2006. EB virus-encoded RNAs are recognized by RIG-I and activate signaling to induce type I IFN. The EMBO journal, 25 (18), 4207-4214.

Imashuku, S. 2007. Systemic type Epstein-Barr virus related lympho-proliferative diseases in children and young adults: challenges for pediatric hemato-oncologists and infectious disease specialists. Pediatric hematology and oncology, 24 (8), 563-568.

Iwakiri, D. and Takada, K. 2004. Phosphatidylinositol 3-kinase is a determinant of responsiveness to B cell antigen receptor-mediated Epstein-Barr virus activation. The Journal of Immunology, 172 (3), 1561-1566.

Jaffe, E. S. 1996. Classification of natural killer (NK) cell and NK-like T-cell malignancies.

Jenson, H. B., Joshi, V. V., Pollock, B. H., McClain, K. L., Leach, C. T., Parmley, R. T. and Murphy, S. B. 1995. Association of Epstein–Barr virus with leiomyosarcomas in young people with AIDS. New England Journal of Medicine, 332 (1), 12-18.

Jiwa, N. M., Valk, P. V. D., Horstman, A., Kanavaros, P., Vos, W., De Bruin, P. C. and Meijer, C. J. L. M. 1993. Presence of Epstein-Barr virus harbouring small and intermediate-sized cells in Hodgkin's disease. Is there a relationship with Reed-Sternberg cells?. The Journal of pathology, 170 (2), 129-136.

Johannsen, E., Weicksel, S., Cahir-McFarland, E., Luftig, M., Chase, M. R., Illanes, D. and Kieff, E. 2004. Proteins of purified Epstein-Barr virus. Proceedings of the National Academy of Sciences, 101 (46), 16286-16291.

Jones, M., Keating, S., Prince, S. and Rowe, M. 2002. The lytic cycle of Epstein-Barr virus is associated with decreased expression of cell surface major histocompatibility complex class I and class II molecules. Journal of virology, 76 (16), 8179-8188.

Jordan, H. L., Moscardini, M., Scappino, L. A. and Pistello, M. 2002. Detection of feline immunodeficiency virus RNA by two nucleic acid sequence based amplification (NASBA) formats. Journal of virological methods, 103 (1), 1-13.

Junying, J., Lissauer, D., Herrmann, K., Davies, G., Bell, A., Timms, J. and Murray, P. G. 2003. Absence of Epstein–Barr virus DNA in the tumor cells of European hepatocellular carcinoma. Virology, 306 (2), 236-243.

Karray, H., Hammami, A., Ayadi, W., Daoud, J., Drira, M. M., Fki, L. and Middeldorp, J. M. 2005. Comparison of three different serological techniques for primary diagnosis and monitoring of nasopharyngeal carcinoma in two age groups from Tunisia. Journal of medical virology, 75 (4), 593-602

Keer, J. T. and Birch, L. 2003. Molecular methods for the assessment of bacterial viability. Journal of microbiological methods, 53 (2), 175-183.

Kieff, E. 1996. Epstein-Barr virus and its replication. Fields virology.

Klutts, J. S., Goto, M., Liao, R. S. and Gronowski, A. M. 2004 . Evaluation of a multiplexed bead assay for assessment of Epstein-Barr virus immunologic status. Journal of clinical microbiology, 42 (11), 4996-5000.

Knipe, D. M., Fields, B. N., Chanock, R. M., Hırsch, M. S., Melnıck, J. L., Monath, T. P. and Roızman, B. 1993. Fields Virology. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 35, 72-72.

Koriyama, C., Shinkura, R., Yamamoto, N., Eizuru, Y., Shinmura, Y. and Tokunaga, M. 2000. Epstein-Barr virus-specific antibodies in Epstein-Barr virus-positive and-negative gastric carcinoma cases in Japan. Journal of medical virology, 60 (4), 411-416.

Kresina, T. F. 2020. Monoclonal Antibodies: Cytokines and Arthritis, Mediators of Inflammation and Therapy. CRC Press.

Kroemer, G., Haouzi, D., Rouault, A., Belzacq, A. S., Metivier, D., Jan, G. B. A. S. and Brenner, C. 2002. Propionibacteria induce apoptosis of colorectal carcinoma cells

via short-chain fatty acids acting on mitochondria. Cell Death and Differentiation, 9(2), 179-188.

Kusano, S. and Ikeda, M. 2019. Interaction of phospholipid scramblase 1 with the Epstein-Barr virus protein BZLF1 represses BZLF1-mediated lytic gene transcription. Journal of Biological Chemistry, 294 (41), 15104-15116.

Kusano, S., Thornburg, N. J. and Raab-Traub, N. 2004. Identification of Epstein-Barr virus RK-BARF0-interacting proteins and characterization of expression pattern. Journal of virology, 78 (23), 12848-12856.

Kutok, J. L., and Wang, F. 2006. Spectrum of Epstein-Barr virus–associated diseases. Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis., 1, 375-404.

Labrecque, L. G., Fentiman, I. S., Barnes, D. M. and Griffin, B. E. 1995. Epstein-Barr virus in epithelial cell tumors: a breast cancer study. Cancer research, 55 (1), 39-45.

Lanier, A. P., Goepfert, H., Bornkamm, G., Henle, W., Clift, S. R. and Raab-Traub, N. 1991. Epstein-Barr virus and malignant lymphoepithelial lesions of the salivary gland. Arctic medical research, 50 (2), 55-61.

Lear, A. L., Brooks, L. A., Young, L. S. and Rickinson, A. B. 1993. Transcripts from the Epstein-Barr virus BamHI A fragment are detectable in all three forms of virus latency. Journal of virology, 67 (6), 3182-3190.

Lee, S. P., Al-Jarrah, H., Haigh, T. A., Brooks, J. M., Taylor, G. S., Thomas, W. A. and Blake, N. W. 2004. CD8 T cell recognition of endogenously expressed Epstein-Barr virus nuclear antigen 1. The Journal of experimental medicine, 199 (10), 1409-1420.

Leight, E. R. and Sugden, B. 2000. EBNA-1: a protein pivotal to latent infection by Epstein–Barr virus. Reviews in medical virology, 10 (2), 83-100.

Leitch, H. A., Leenman, E. E., Panzer-Grümayer, R. E., Fischer, S., Horsman, D. E., Lion, T. and Lestou, V. S. 2004. Rapid determination of Epstein–Barr virus latent or lytic infection in single human cells using in situ hybridization. Modern pathology, 17(12), 1564-1572.

Lekstrom, K. and Cohen, J. I. 1999. Epstein-Barr virus BARF1 protein is dispensable for B-cell transformation and inhibits alpha interferon secretion from mononuclear cells. Journal of virology, 73(9), 7627-7632.

Leung, C. S. 2015. Endogenous antigen presentation of MHC class II epitopes through non-autophagic pathways. Frontiers in immunology, 6, 464.

Levitskaya, J., Sharipo, A., Leonchiks, A., Ciechanover, A. Masucci, M. G. 1997. Inhibition of ubiquitin/proteasome-dependent protein degradation by the Gly-Ala repeat domain of the Epstein–Barr virus nuclear antigen 1. Proceedings of the National Academy of Sciences, 94(23), 12616-12621.

Liao, G., Lo, A., To, K. F ., Hui, J. W. Y., Lung, R. W. M., Lo, K. W. and Hayward, S. D. 2007. Modulation of LMP1 protein expression by EBV-encoded microRNAs. Proceedings of the National Academy of Sciences, 104(41), 16164-16169.

Lindner, S. E. and Sugden, B. 2007. The plasmid replicon of Epstein–Barr virus: mechanistic insights into efficient, licensed, extrachromosomal replication in human cells. Plasmid, 58(1), 1-12.

Littler, E., Zeuthen, J., Trøst Sørensen, E., Walsh-Arrand, J. E., Powell, K. L., McBride, A. A. and Arrand, J. R. 1986. Identification of an Epstein-Barr virus-coded thymidine kinase. The EMBO journal, 5 (8), 1959-1966.

Lotz, M., Carson, D. A., Dinarello, C. A., Fong, S., Tsoukas, C. D. and Vaughan, J. H. 1986. Release of lymphocytes after infection with Epstein Barr virus in vitro. II. A monocyte-dependent inhibitor of interleukin 1 downregulates the production of interleukin 2 and interferon-gamma in rheumatoid arthritis. The Journal of Immunology, 136 (10), 3643-3648.

Lou, P. J., Lin, M. C., Young, T. H., Chen, S. T. and Lin, Y. C. 2017. Therapeutic vaccine targeting Epstein-Barr virus latent protein, LMP1, suppresses LMP1-expressing tumor growth and metastasis in vivo. BMC cancer, 17 (1), 1-9.

Mackey, D. and Sugden, B. 1999. The linking regions of EBNA1 are essential for its support of replication and transcription. Molecular and Cellular Biology, 19 (5), 3349-3359.

Macpherson, A. J., Johansen, F. E. and Brandtzaeg, P. 2008. The immune geography of IgA induction and function. Mucosal immunology, 1 (1), 11-22.

Magrath, I., Jain, V., McCoy, K. D. and Bhatia, K. 1992. Epstein-Barr virus and Burkitt's lymphoma. In Seminars in cancer biology (Vol. 3, No. 5, pp. 285-295).

Mann, R B. and Ambinder, R. F. 1994. Detection and characterization of Epstein-Barr virus in clinical specimens. The American journal of pathology, 145 (2), 239.

Manns, M. P., Greten, T. F., Ormandy, L. A., Korangy, F., Hillemann, T. and Wedemeyer, H. 2005. Increased populations of regulatory T cells in peripheral blood of patients with hepatocellular carcinoma. Cancer research, 65 (6), 2457-2464.

Maruo, S., Kanda, T., Iwakiri, D., Kamiya, M. and Takada, K. 2007. Symmetrical localization of extrachromosomally replicating viral genomes on sister chromatids. Journal of cell science, 120 (9), 1529-1539.

McCall, S. A., Chu, W. S., Lichy, J. H., Aguilera, N. S., Bijwaard, K. E. and Taubenberger, J. K. 2001. Epstein-Barr virus detection in ductal carcinoma of the breast. Journal of the National Cancer Institute, 93 (2), 148-150.

Meij, P., Schwartz, C., Vervoort, M. B., Schouten, T. E., Grufferman, S., Bloemena, E. and Middeldorp, J. M. 2002. Antibody responses to Epstein-Barr virus-encoded latent membrane protein-1 (LMP1) and expression of LMP1 in juvenile Hodgkin's disease. Journal of medical virology, 68 (3), 370-377.

Middeldorp, J. M., Chen, M. R., Wu, C. W., Yang, J. F. and Chen, J. Y. 1998. Physical association between the EBV protein EBNA-1 and P32/TAP/hyaluronectin. Journal of biomedical science, 5 (3), 173-179.

Middeldorp, J., Flanagan, J. and Sculley, T. 2003. Localization of the Epstein–Barr virus protein LMP 1 to exosomes. Journal of General Virology, 84 (7), 1871-1879.

Milman, G., Hayward, S. D., Rawlins, D. R. and Hayward, G. S. 1985. Sequence-specific DNA binding of the Epstein-Barr virus nuclear antigen (EBNA-1) to clustered sites in the plasmid maintenance region. Cell, 42 (3), 859-868.

Mogi, G. 1975. Secretory immunoglobulin A in oral and respiratory passages in man. Annals of Otology, Rhinology and Laryngology, 84 (20_suppl), 1-23.

Montalvo, E. A., Wang, Y. C. J. and Huang, J. M. 1997. Characterization of proteins binding to the ZII element in the Epstein–Barr virus BZLF1 promoter: transactivation by ATF1. Virology, 227 (2), 323-330.

Morrison, T. E., Mauser, A., Ting, J. P. Y., Wong, A. and Kenney, S. C. 2001. Inhibition of IFN-γ signaling by an Epstein-Barr virus immediate-early protein. Immunity, 15 (5), 787-799.

Moss, D. J., Rooney, C. M., Rupani, H., Yao, Q. Y., Young, L. S., Sculley, T. B. and Rickinson, A. B. 1987. New Type B Isolates of Epstein—Barr Virus from Burkitt's Lymphoma and from Normal Individuals in Endemic Areas. Journal of General Virology, 68 (11), 2853-2862.

Mueller, N., Evans, A., Jellum, E., Harris, N. L., Magnus, K., Comstock, G. W. and Vogelman, J. 1989. Hodgkin's disease and Epstein-Barr virus. New England Journal of Medicine, 320 (11), 689-695.

Munz, C. 2012. Antigen processing for MHC class II presentation via autophagy. Frontiers in immunology, 3, 9.

Murray PG, Young LS.2001 Epstein-Barr virus infection: Basis of malignancy and potential for theraphy. Expert *Rev Mol Med* ;3:1-20.

Murray, P. G. 2006. Epstein-Barr virus in breast cancer: artefact or etiological agent?. The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland, 209 (4), 427-429.

Musler, A., Baas, I. O., Craanen, M. E., Berg, F. M., Offerhaus, G. J., Van Rees, B. P., Van Den and Tytgat, G. N. 1998. Helicobacter pylori and Epstein-Barr virus infection and the p53 tumor suppressor pathway in gastric stump cancer compared with carcinoma in the non-operated stomach. Journal of clinical pathology, 51 (9), 662-666.

Nguyen, T., Saridakis, V., Holowaty, M. N., Sheng, Y., Shire, K., Sarkari, F. and Frappier, L. 2005. Structure of the p53 binding domain of HAUSP/USP7 bound to Epstein-Barr nuclear antigen 1: implications for EBV-mediated immortalization. Molecular cell, 18 (1), 25-36.

Nikiforow, S., Miller, G., Bottomly, K. and Münz, C. 2003. Cytolytic CD4+-T-cell clones reactive to EBNA1 inhibit Epstein-Barr virus-induced B-cell proliferation. Journal of virology, 77 (22), 12088-12104.

Nilsson, T., Boreström, C., Rymo, L. and Zetterberg, H. 2004. Multiple EBNA1-binding sites within oriPI are required for EBNA1-dependent transactivation of the Epstein-Barr virus C promoter. International journal of oncology, 25 (3), 693-696.

Okano, M., Matsumoto, S., Sakiyama, Y., Thiele, G. M., Osato, T. and Purtilo, D. T. 1991. Severe chronic active Epstein-Barr virus infection syndrome. Clinical microbiology reviews, 4 (1), 129-135.

Okazaki., Satoh, H., Masukata, H. and T Obuse, C. 1993. Autonomous replication of human chromosomal DNA fragments in human cells. Molecular biology of the cell, 4 (11), 1121-1132.

O'Reilly, R. J., Lucas, K., Papadopoulos, E., Lacerda, J., Small, T. N. and Koulova, L. 1998. Adoptive immunotherapy for Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorders complicating marrow allografts. In Springer seminars in immunopathology, 20 (3), 455-491.

Ouyang, Q., Wagner, W. M., Walter, S., Müller, C. A., Wikby, A., Aubert, G., Klatt, T., Stevanovic, S., Dodi, T. and Pawelec, G. 2003. An age-related increase in the number of CD8+ T cells carrying receptors for an immunodominant Epstein–Barr virus (EBV) epitope is counteracted by a decreased frequency of their antigen-specific responsiveness. Mechanisms of ageing and development, 124(4), 477-485.

Pagano, J. S., Blaser, M., Buendia, M. A., Damania, B., Khalili, K., Raab-Traub, N. and Roizman, B. 2004. Infectious agents and cancer: criteria for a causal relation. In Seminars in cancer biology, 14 (6), 453-471.

Pegtel, D. M., Middeldorp, J. and Thorley-Lawson, D. A. 2004. Epstein-Barr virus infection in ex vivo tonsil epithelial cell cultures of asymptomatic carriers. Journal of Virology, 78 (22), 12613-12624.

Perandin, F., Cariani, E., Pollara, C. P. and Manca, N. 2007. Comparison of commercial and in-house Real-time PCR assays for quantification of Epstein-Barr virus (EBV) DNA in plasma. BMC microbiology, 7(1), 1-7.

Pollock, B. H., Jenson, H. B., Parmley, R. T., Joshi, V. V., Leach, C. T., McClain, K. L. and Murphy, S. B. 1997. Benign and malignant smooth muscle tumors containing Epstein-Barr virus in children with AIDS. Leukemia and lymphoma, 27 (3-4), 303-314.

Precopio, M. L., Sullivan, J. L., Somasundaran, M., Willard, C. and Luzuriaga, K. 2003. Differential kinetics and specificity of EBV-specific CD4+ and CD8+ T cells during primary infection. The Journal of Immunology, 170 (5), 2590-2598.

Raab-Traub, N. 2002. Epstein–Barr virus in the pathogenesis of NPC. In Seminars in cancer biology. Vol. 12, No. 6, 431-441.

Rickinson, A. B. and Moss, D. J. 1997. Human cytotoxic T lymphocyte responses to Epstein-Barr virus infection. Annual review of immunology, 15 (1), 405-431.

Rickinson, A. B. Kieff E. 2001. Epstein–Barr virus. Fields Virology, Philadelphia, 2575-2627.

Roizman, B., Desrosiers. B., Lopez. A., Fleckenstein. C., Minson. R. and M. Studdert 1992. The family herpesviridae: an update. Arch. Virol. 123:425-49.

Sadler, R., McCoy, R., Busson, P., Gilligan, K., Tursz, T. and Raab-Traub, N. 1992. Consistent transcription of the Epstein-Barr virus LMP2 gene in nasopharyngeal carcinoma. Journal of virology, 66 (5), 3257-3262.

Sajid, F. and Bano, S. 2016. Pro inflammatory interleukins and thyroid function in Naswar (dipping tobacco) users: a case control study. BMC endocrine disorders, 16 (1), 1-6.

Savard, M., Gourde, P., Bélanger, C., Flamand, L., Tardif, M. and Gosselin, J. 2000. Infection of primary human monocytes by Epstein-Barr virus. Journal of virology, 74 (6), 2612-2619.

Saxena, A., Liu, H., Sidhu, S. S. and Wu, D. 2017. Fc engineering for developing therapeutic bispecific antibodies and novel scaffolds. Frontiers in immunology, 8, 38.

Schendel, D. J., Roskrow, M. A., Su, Z., Peluso, M. V. and Raffegerst, S. H. 2001. The generation of LMP2a-specific cytotoxic T lymphocytes for the treatment of patients with Epstein-Barr virus-positive Hodgkin disease. European journal of immunology, 31 (3), 947-958.

Schirrmann, L., Hüls, C., Zeidler, R., Rancan, C. and Moosmann, A. 2015. Latent membrane protein LMP2A impairs recognition of EBV-infected cells by CD8+ T cells. PLoS Pathog, 11(6), e1004906.

Shao, J. Y., Li, Y. H., Zhang, L., Gao, H. Y., Wu, Q. L., Cui, N. J. and Zeng, Y. X. 2004. Comparison of plasma Epstein–Barr virus (EBV) DNA levels and serum EBV immunoglobulin A/ virus capsid antigen antibody titers in patients with nasopharyngeal carcinoma. Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society, 100(6), 1162-1170.

Shekitka, K. M., Burke, A. P., Yen, T. S. and Sobin, L. H. 1990. Lymphoepithelial carcinoma of the stomach with Epstein-Barr virus demonstrated by polymerase chain reaction. Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc, 3 (3), 377-380.

Shi, S. R., Taylor, C. R. and Cote, R. J. 1997. Antigen retrieval immunohistochemistry: past, present, and future. Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 45 (3), 327-343.

Shibata, D. and Weiss, L. M. 1992. Epstein-Barr virus-associated gastric adenocarcinoma. The American journal of pathology, 140 (4), 769.

Shibata, D., Sato, E., Tanaka, S., Uemura, Y., Tokunaga, M. and Weiss, L. M. 1991. Association of Epstein-Barr virus with undifferentiated gastric carcinomas with intense lymphoid infiltration. Lymphoepithelioma-like carcinoma. The American journal of pathology, 139 (3), 469.

Shimizu, N. and Takada, K. 1993. Analysis of the BZLF1 promoter of Epstein-Barr virus: identification of an anti-immunoglobulin response sequence. Journal of virology, 67 (6), 3240-3245.

Sixbey, J. W. and Yao, Q. Y. 1992. Immunoglobulin A-induced shift of Epstein-Barr virus tissue tropism. Science, 255 (5051), 1578-1580.

Smatti, M. K., Al-Sadeq, D. W., Ali, N. H., Pintus, G., Abou-Saleh, H. and Nasrallah, G. K. 2018. Epstein–Barr virus epidemiology, serology and genetic variability of LMP-1 oncogene among healthy population: an update. Frontiers in oncology, 8, 211.

Soni, V., Bronson, R., Kieff, E. and Kang, M. S. 2008. Epstein-Barr virus nuclear antigen 1 does not cause lymphoma in C57BL/6J mice. Journal of virology, 82 (8), 4180-4183.

Srivastava, G., Tao, Q., Chiang, A. K. and Ho, F. C., 1996. Nasal NK-and T-cell lymphomas share the same type of Epstein-Barr virus latency as nasopharyngeal carcinoma and Hodgkin's disease. International journal of cancer, 68 (3), 285-290.

Starzl, T. E., Shaw Jr, B. W., Porter, K. A., Iwatsuki, S., Rosenthal, J. T., Atchison, R. W. and Bahnson, H. T. 1984. Reversibility of lymphomas and lymphoproliferative lesions developing under cyclosporin-steroid therapy. The Lancet, 323 (8377), 583-587.

Stauss, J. and E. Strauss. 2002. DNA containing virus. Academic Press, Orlando, Fl.

Stevenn, N. M., Leese, A. M., Lee, S. P., Annels, N. E. and Rickinson, A. B. 1996. Epitope focusing on the primary cytotoxic T cell response to Epstein-Barr virus and its relationship to T cell memory. The Journal of experimental medicine, 184 (5), 1801-1813.

Stevenns, S. J. Verschuuren, E. A., Van Den Brule, A. J., Meijer, C. J., Verkuijlen, S. A. and Middeldorp, J. M. 2002. Role of Epstein-Barr virus DNA load monitoring in prevention and early detection of post-transplant lymphoproliferative disease. Leukemia and lymphoma, 43 (4), 831-840.

Stevenns, S. J., Hariwiyanto, B., Fachiroh, J., Paramita, D. K., Tan, I. B., Verkuijlen, S. A. and Middeldorp, J. M. 2005. The diagnostic value of measuring Epstein-Barr virus (EBV) DNA load and carcinoma-specific viral mRNA in relation to anti-EBV immunoglobulin A (IgA) and IgG antibody levels in blood of nasopharyngeal carcinoma patients from Indonesia. Journal of clinical microbiology, 43 (7), 3066-3073.

Stevenns, S. J., van Der Bij, W., Pronk, I., Verschuuren, E. A. and Harmsen, M. C. 2001. The TH, Meijer CJ, van Den Brule AJ, Middeldorp JM. Frequent monitoring of Epstein-Barr virus DNA load unfractionated whole blood is essential for early detection of posttransplant lymphoproliferative disease in high-risk patients. Blood, 97 (5), 1165-1171.

Stuart, A. D., Salek-Ardakani, S., Arrand, J. R., Mackett, M., Lyons, S. and Arrand, J. E. 2002. High level expression and purification of the Epstein-Barr virus encoded

cytokine viral interleukin 10: efficient removal of endotoxin. Cytokine, 17 (1), 1-13.

Sugawara, Y., Mizugaki, Y., Uchida, T., Imai, S., Torii, T., Makuuchi, M. and Takada, K. 1999. Detection of Epstein–Barr virus (EBV) in hepatocellular carcinoma tissue: a novel EBV latency characterized by the absence of EBV-encoded small RNA expression. Virology, 256 (2), 196-202.

Sugden, B. I. L. L. and Middleton, T. 1992. EBNA1 can link the enhancer element to the initiator element of the Epstein-Barr virus plasmid origin of DNA replication. Journal of virology, 66 (1), 489-495.

Suwiwat, S., Pradutkanchana, J., Ishida, T. and Mitarnun, W. 2007. Quantitative analysis of cell-free Epstein-Barr virus DNA in the plasma of patients with peripheral T-cell and NK-cell lymphomas and peripheral T-cell proliferative diseases. Journal of clinical virology, 40 (4), 277-283.

Suzuki, T., Robbins, P., Tahara, H., Narula, S., Moore, K. W. and Lotze, M. T. 1995. Viral interleukin 10 (IL-10), the human herpes virus 4 cellular IL-10 homologue, induces local energy to allogeneic and syngeneic tumors. The Journal of experimental medicine, 182 (2), 477-486.

Swinnen, L. J. 2000. Posttransplant lymphoproliferative disorder. In Infectious Causes of Cancer (pp. 63-76). Humana Press, Totowa, NJ.

Takada, K. 2000. Epstein-Barr virus and gastric carcinoma. Molecular Pathology, 53 (5), 255.

Takada, K. and Ono, Y. 1989. Synchronous and sequential activation of latently infected Epstein-Barr virus genomes. Journal of virology, 63 (1), 445-449.

Thorley-Lawson, D. A. 2005. EBV the prototypical human tumor virus—just how bad is it?. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 116 (2), 251-261.

Tsai, S. T., Jin, Y. T., Mann, R. B. and Ambinder, R. F. 1998. Epstein-barr virus detection in nasopharyngeal tissues of patients with suspected nasopharyngeal carcinoma. Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society, 82 (8), 1449-1453.

Tunyaplin, C ., Calame, K. L. and Lin, K. I. 2003. The regulatory mechanisms that determine the development and function of plasma cells. Annual review of immunology, 21 (1), 205-230.

Van Beek, J. 2005. EBV-bearing gastric carcinomas: expression patterns, pathogenesis and clinical features.

Vervoort, M. B., Middeldorp, J. M., Brink, A. A., Meijer, C. J., van Zijp, M. J., van Beek, J. and van den Brule, A. J. 2003. In vivo transcription of the Epstein–Barr virus (EBV) BamHI-A region without associated in vivo BARF0 protein expression in multiple EBV-associated disorders. Journal of general virology, 84 (10), 2647-2659.

Wagner, H. J., Holbe, M., Fischer, L., Pethig, K., Jabs, W. J. and Bucsky, P. 2002. Longitudinal analysis of Epstein-Barr viral load in plasma and peripheral blood

mononuclear cells of transplanted patients by real-time polymerase chain reaction12. Transplantation, 74(5), 656-664.

Walling, D. M., Abdel-Hamid, M., Edmiston, S. N., Resnick, L., Sixbey, J. W. and Raab-Traub, N. 1992. Coinfection with multiple strains of the Epstein-Barr virus in human immunodeficiency virus-associated hairy leukoplakia. Proceedings of the National Academy of Sciences, 89 (14), 6560-6564.

Webster-Cyriaque, J., Raab-Traub, N. and Middeldorp, J. 2000. Hairy leukoplakia: an unusual combination of transforming and permissive Epstein-Barr virus infections. Journal of virology, 74 (16), 7610-7618.

Weinmaster, G., Hayward, S. D., Chen, H. and Zhang, J. 2001. Epstein-Barr virus BamHi-a rightward transcript-encoded RPMS protein interacts with the CBF1-associated corepressor CIR to negatively regulate the activity of EBNA2 and NotchIC. Journal of virology, 75 (6), 2946-2956.

Wong, M. P., Chung, L. P., Yuen, S. T., Leung, S. Y., Chan, S. Y., Wang, E. and Fu, K. H. 1995. In situ detection of Epstein–Barr virus in non-small cell lung carcinomas. The Journal of pathology, 177 (3), 233-240.

Woodberry, T., Henry, L. M., Frahm, N., Davis, J. K., Walker, B. D., Suscovich, T. J. and Brander, C. 2005. Differential targeting and shifts in the immunodominance of Epstein-Barr virus–specific CD8 and CD4 T cell responses during acute and persistent infection. Journal of Infectious Diseases, 192 (9), 1513-1524.

Xing, L. and Kieff, E. 2007. Epstein-Barr virus BHRF1 micro-and stable RNAs during latency III and after induction of replication. Journal of virology, 81 (18), 9967-9975.

Yao, Y., Minter, H. A., Reynolds, G. M., Bromley, M., Chen, X. and Arrand, J. R. 2000. Heterogeneity of HLA and EBER expression in epstein-barr virus-associated nasopharyngeal carcinoma. International journal of cancer, 88 (6), 949-955.

Yin, Y., Fåhraeus, R. and Manoury, B. 2003. Self-inhibition of synthesis and antigen presentation by Epstein-Barr virus-encoded EBNA1. Science, 301 (5638), 1371-1374.

Zeidler, R., Uebel, S., Lazis, S., Meissner, P., Tampé, R., Eissner, G. and Hammerschmidt, W. 1997. Downregulation of TAP1 in B lymphocytes by cellular and Epstein-Barr virus–encoded interleukin-10. Blood, The Journal of the American Society of Hematology, 90 (6), 2390-2397.

Zhang, M. and Coffino, P. 2004. Repeat sequence of Epstein-Barr virus-encoded nuclear antigen 1 protein interrupts proteasome substrate processing. Journal of Biological Chemistry, 279 (10), 8635-8641.

Zingg, W.; Bossart, W.; Berli, E. and NADAL, D. - Detection and quantitation of cell-free Epstein-Barr virus by polymerase chain reaction and subsequent DNA enzyme immunoassay. J. Virol. Meth., 79: 141-148, 1999.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Husseın Jbarah Kadhım KADHIM

Yabancı Dili : İngilizce ve Türkçe

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Imam Sadiq 2006

Lisans : Basra Üniversitesi 2011

Yüksek Lisans : Çankırı Karatekin Üniversitesi 2021

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

Thi Qar Sağlık Genel Müdürlüğü 2012