

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Adéla Rezlerová

Adaptivní imunitní odpověď proti BK polyomavirové infekci
Adaptive immune response against BK polyomavirus infection

Bakalářská práce

Vedoucí práce/Školitel: RNDr. Martina Saláková, Ph.D.

Praha, 2023

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval/a samostatně a že jsem uvedl/a všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 3.8.2023

Podpis

Poděkování:

Děkuji vedoucí bakalářské práce RNDr. Martině Salákové, Ph.D. za nekonečnou trpělivost, odborné vedení a poskytnutí cenných rad a postřehů při zpracování této bakalářské práce.

Abstrakt

BK polyomavirus je malý neobalený virus, který se vyskytuje ve velké části lidské populace. K infekci BKPyV dochází běžně už v raném dětství. Virus zakládá perzistentní infekci v renálních tubulárních buňkách a buňkách uroepitelu. U imunosuprimovaných jedinců, zejména po transplantaci ledvin či hematopoetických kmenových buněk, může reaktivace BKPyV vést k závažným komplikacím, jako je BKPyV asociovaná nefropatie (BKVAN), stenóza ureteru či hemoragická cystitida. Adaptivní imunita hraje zásadní roli při kontrole replikace a progresu infekce BKPyV. Důležitá je zejména T buněčná odpověď, kdy dochází k produkci CD4⁺ a CD8⁺ T-lymfocytů. Důležité jsou i B-lymfocyty, které produkují virus neutralizující protilátky.

V současné době neexistují žádné účinné protivirové látky proti infekci BKPyV a snížení imunosuprese zůstává hlavní strategií k potlačení reaktivace. Zkoumání terapií založených na imunitním systému nabízí slibné možnosti účinné léčby komplikací spojených s polyomavirovou infekcí.

Klíčová slova: BK polyomavirus, T buněčná odpověď, protilátky, hemoragická cystitida, BK polyomavirus-asociovaná nefropatie

Abstract

BK polyomavirus is a small non-enveloped virus that is found in a large proportion of the human population. BKPyV infection commonly occurs in early childhood. The virus establishes persistent infection in renal tubular cells and uroepithelial cells. In immunosuppressed individuals, especially after renal or haematopoietic stem cell transplantation, BKPyV reactivation can lead to serious complications such as BKPyV-associated nephropathy (BKVAN), urethral stenosis or haemorrhagic cystitis. Adaptive immunity plays a crucial role in controlling the replication and progression of BKPyV infection. The T cell response is particularly important, with the production of CD4⁺ and CD8⁺ T-lymphocytes. B-lymphocytes, which produce virus neutralising antibodies, are also important.

Currently, there are no effective antiviral agents against BKPyV infection and reducing immunosuppression remains the main strategy to suppress reactivation. Exploration of immune-based therapies offers promising possibilities for effective treatment of complications associated with polyomavirus infection.

Key words: BK polyomavirus, T cell response, antibodies, BK polyomavirus-associated nephropathy, hemorrhagic cystitis

Obsah

1. Úvod.....	1
2. BK polyomavirus	2
2.1. Kapsida a virion.....	2
2.2. Genom	3
2.3. Tkáňový tropismus a životní cyklus BKPyV	6
2.4. Epidemiologie BKPyV	8
2.5. Onemocnění asociovaná s BK polyomavirem.....	8
2.5.1. BKPyV asociovaná nefropatie (BKVAN)	8
2.5.2. BKPyV hemoragická cystitida (HCT)	9
2.5.3. Uretrální stenóza	9
3. Imunitní odpověď na infekci BKPyV	9
3.1. Vrozená imunitní odpověď na BK polyomavirus	11
3.2. Adaptivní buněčná imunitní odpověď na BKPyV.....	13
3.3. Adaptivní humorální imunitní odpověď na BK polyomavirus.....	15
3.4. Sérotypy BK polyomaviru.....	15
4. Léčba BK polyomaviru.....	16
5. Závěr	18
6. Seznam použitých zdrojů.....	19

Seznam použitých zkratk

- APC – antigen-presenting cell, antigen prezentující buňka
- BKPyV – BK polyomavirus
- Bp – base pair, pár bází
- BKVAN – BK virus associated nephropathy, s BK polyomavirem asociovaná nefropatie
- CCL2 – C-C Motif Chemokine Ligand 2, chemokinový ligand 2 motivu C-C
- CCL5 – C-C Motif Chemokine Ligand 5, chemokinový ligand 5 motivu C-C
- CD3⁺ - CD3 positive T-cells, CD3⁺ pozitivní T-lymfocyty
- CD4⁺ - CD4 positive T-cells, CD4⁺ pozitivní T-lymfocyty
- CD8⁺ - CD8 positive T-cells, CD8⁺ pozitivní T-lymfocyty
- cGAS – cyclic GMP-AMP synthase, cyklická GMP-AMP syntáza
- CXCL8 – C-X-C motif chemokine ligand 8, chemokinový ligand 8 motivu C-X-C
- CXCL10 – C-X-C motif chemokine ligand 10, chemokinový ligand 10 motivu C-X-C
- dsRNA – double stranded RNA, dvouvláknová RNA
- ER – endoplasmic reticulum, endoplasmatické retikulum
- GRAF-1 – GTPase Regulator Associated with Focal Adhesion Kinase-1, GTPázový regulátor spojený s fokální adhezivní kinázou-1
- HC – hemorrhagic cystitis, hemoragická cystitida
- HD5 – human defensin 5, lidský defensin 5 neboli α -defensin 5
- IgA – immunoglobulin A, imunoglobulin A
- IgD – immunoglobulin D, imunoglobulin D
- IgE – immunoglobulin E, imunoglobulin E
- IgG – immunoglobulin G, imunoglobulin G
- IgM – immunoglobulin M, imunoglobulin M
- IL-6 – interleukin 6
- IL-8 – interleukin 8
- INF γ – interferon gamma, interferon gama
- IP-10 – interferon gamma-induced protein 10, protein 10 indukovaný interferonem gama
- IRF3 – interferon regulatory factor 3, interferonový regulační faktor 3
- IRF7 – interferon regulatory factor 7, interferonový regulační faktor 7
- IRF9 – interferon regulatory factor 9, interferonový regulační faktor 9
- IVIG – intravenous immunoglobulin, intravenózní globulin
- LTag – large tumor antigen, velký nádorový antigen
- MCP-1 - monocyte chemoattractant protein-1, monocytární chemoatraktant protein-1
- MHC I– major histocompatibility complex I, hlavní histokompatibilní komplex I. třídy

MHC II – major histocompatibility complex II, hlavní histokompatibilní komplex II. třídy
mRNA – messenger RNA, informační RNA
miRNA – microRNA
NCCR – non-coding control region, nekódující kontrolní oblast
NK – natural killer cell, buňka „přirozený zabiják“
NLRs – NOD-like receptors, NOD-like receptory
NLS – nucleus localization signal, jaderný lokalizační signál
nm – nanometr
ORI – origin, replikační počátek
PAMPs – pathogen-associated molecular patterns, molekulární vzory spojené s patogeny
PCR – polymerase chain reaction, polymerázová řetězová reakce
PRRs – pattern recognition receptors, receptory rozpoznávající vzory
RANTES – Regulated upon Activation, Normal T-cells Expressed and Secreted, regulováno při aktivaci, normální T-buňky exprimovány a vylučovány
RIG-1 – retinoic acid-inducible gene-I, gen-I indukovatelný kyselinou retinovou
RLRs – RIG-I-like receptors, receptory podobné RIG-I
RPTE – renal proximal tubular epithelial cells, renální proximální tubulární epiteliální buňky
SNPs – single nucleotide polymorphisms, jednonukleotidové polymorfismy
sTag – small tumor antigen, malý nádorový antigen
STAT1 – signal transducer and activator of transcription 1, přenašeč signálu a aktivátor transkripce 1
STAT2 – signal transducer and aktivátor of transcription 2, Přenašeč signálu a aktivátor transkripce 2
Tc – cytotoxic T-cell, cytotoxický T-lymfocyt
Th – helper T-cell, pomocný T-lymfocyt
TLR3 – toll-like receptor 3
TLR7 – toll-like receptor 7
TLR8 – toll-like receptor 8
TNF- α – tumor necrosis factor alpha, faktor alfa nekrotizující nádor
Treg – regulation T-cell, regulační T-lymfocyt
trunc-Tag – truncated tumor antigen, zkrácený nádorový antigen
VLPs – virus-like particles, viru podobné částice
VP1 – viral protein 1, virový protein 1
VP2 – viral protein 2, virový protein 2
VP3 – viral protein 3, virový protein 3
VST – virus specialised T-cells, virově specializované T-lymfocyty

1. Úvod

BK polyomavirus (BKPyV) je malý neobalený DNA virus patřící do čeledi *Polyomaviridae*, který je v lidské populaci hojně rozšířen. Primární infekce obvykle probíhá v raném dětství bez výraznějších příznaků. Virus poté putuje do urogenitálního systému, kde zakládá celoživotní latentní infekci s možností opětovné reaktivace. U zdravých jedinců reaktivace probíhá bezpříznakově, ale u imunosuprimovaných jedinců působí závažná onemocnění. Komplikace nastávají u pacientů po transplantaci ledviny, kdy infekce BKPyV může vyvolat asociovanou nefropatii (BKVAN) či stenózu močové trubice, a u pacientů po transplantaci kostní dřeně zase hemoragickou cystitidu (HC). Tato onemocnění komplikují potransplantační léčbu a výrazně ovlivňují úspěšnost transplantace.

Adaptivní imunitní odpověď hraje klíčovou roli v boji proti BKPyV infekci. Zahrnuje aktivaci specializovaných imunitních buněk, jako jsou T-lymfocyty a B-lymfocyty, což vede k tvorbě protilátek specifických pro virus a spuštění cytotoxických reakcí. Pochopení mechanismů adaptivní imunity při interakci s BKPyV má zásadní význam pro vývoj účinných diagnostických metod, preventivních strategií a terapeutických zásahů u nemocných pacientů.

Cílem této bakalářské práce je poskytnout přehled literatury zabývající se adaptivní imunitní odpovědí proti infekci BKPyV se zaměřením na úlohu CD4⁺ a CD8⁺ T-lymfocytů a B-lymfocytů. První část práce je věnovaná základní charakteristice BKPyV a asociovaným onemocněním. Druhá část se zabývá imunitní odpovědí, a v závěrečné části jsou shrnuty některé ze současných metod pro léčbu polyomavirové infekce.

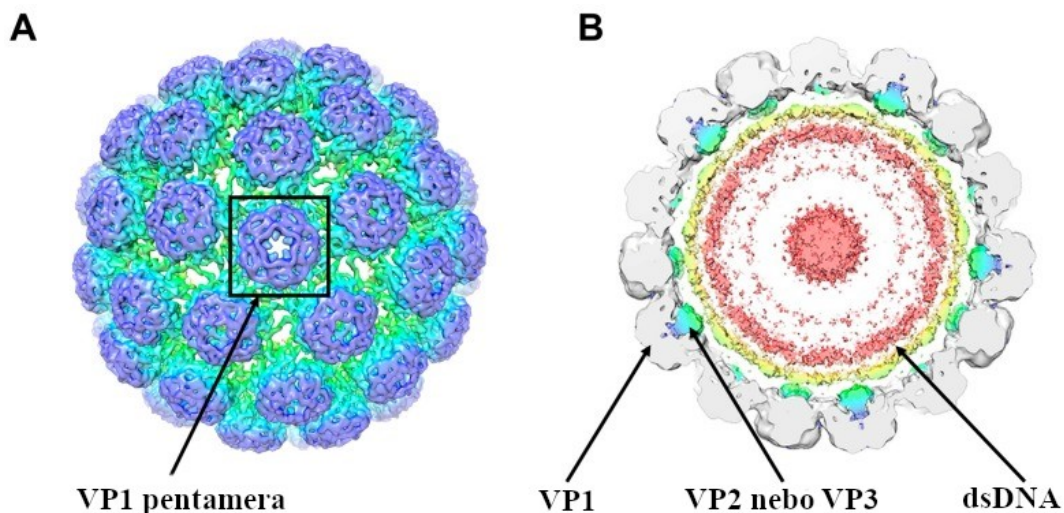
2. BK polyomavirus

BK polyomavirus byl poprvé izolován v roce 1971 z moči imunosuprimovaného pacienta, který podstoupil transplantaci ledvin. Iniciály pacienta byly použity k pojmenování viru (Gardner *et al.*, 1971). Virus se řadí do čeledi *Polyomaviridae*, rod *Betapolyomavirus* (Calvignac-Spencer *et al.*, 2016).

2.1. Kapsida a virion

BKPyV je malý neobalený virus o velikosti 45–50 nm. Kapsida BKPyV má ikosahedrální tvar a je složena z majoritního proteinu VP1 a minoritních proteinů VP2 a VP3. Povrch kapsidy tvoří 360 molekul proteinu VP1, které oligomerizují v 72 pentamerních kapsomer, z nichž 60 je hexavalentních a 12 pentavalentních (viz obrázek č. 1), (Hurdiss *et al.*, 2016). Posledních 45–50 aminokyselinových zbytků C-konce každého VP1 proteinu interaguje s okolními kapsomery a tím vytváří ikosahedrální strukturu (Nilsson *et al.*, 2005). N-konec VP1 proteinu interaguje s virovým genomem uvnitř kapsidy (Hurdiss *et al.*, 2016). Proteiny VP1 jsou schopné vytvořit kapsidu i bez přítomnosti proteinů VP2 a VP3. Takto vzniklé kapsidy jsou označovány jako viru podobné částice (VLPs), (Li *et al.*, 2003).

Proteiny VP2 a VP3 se nachází na vnitřní straně kapsidy v dutinách kapsomer, zde je přítomný vždy pouze jeden z nich (viz obrázek č. 1). C-konce proteinů VP2 a VP3 vytváří strukturu podobnou vlásence, která interaguje se specifickým místem v dutině kapsomery a je zde silně ukotvena hydrofobními interakcemi, které stabilizují i celý komplex (Chen, Stehle and Harrison, 1998). Proteiny VP2 a VP3 jsou nezbytné pro virovou infekci a morfogenezi viru po napadení hostitelské buňky (Forstová *et al.*, 1993; Hurdiss *et al.*, 2016).



Obrázek č. 1: Struktura virionu BKPyV (převzato z: (Hurdiss *et al.*, 2016), upraveno podle (Helle *et al.*, 2017)). Vnější pohled na strukturu ikosahedrální kapsidy se zvýrazněným pentamerem VP1 proteinu (A). Zobrazení struktury virionu. Šedě je znázorněn virový protein VP1, modře/zeleně je znázorněn virový protein VP2 či VP3, žlutě/červeně je znázorněna dvouvláknová DNA (B).

2.2. Genom

BK polyomavirus má dvouvláknový cirkulární genom o velikosti 5 100 – 5 300 pb, který je rozdělen na oblasti časných genů, pozdních genů a nekódující regulační oblast (viz obrázek č. 2). Uvnitř kapsidy je genom spojen s histony H2A, H2B, H3 a H4, svou strukturou tak připomíná minichromozom (Moens *et al.*, 2017).

Oblast časných genů kóduje velký tumorový antigen (LTag), malý tumorový antigen (sTag) a zkrácený tumorový antigen (trunc-Tag), (Seif, Khoury and Dhar, 1979). Geny časné oblasti se začínají exprimovat ihned po vstupu viru do jádra. Antigenní proteiny jsou transkribovány ze společného promotoru ležícího v NCCR oblasti a vznikají alternativním sestřihem ze společné pre-mRNA. (Abend *et al.*, 2009).

Velký T-antigen je hlavním regulačním proteinem, který reguluje transkripci i replikaci virového genomu a buněčnou proliferaci (Abend *et al.*, 2009). Vazebné domény LTag umožňují interakce s replikačním počátkem (ORI), (Dornreiter *et al.*, 1990; Brodsky and Pipas, 1998), buněčnými proteiny jako je např. chaperonový protein Hsc70 (Campbell *et al.*, 1997) či E3 ubikvitin ligáza (Abend *et al.*, 2009) a tumor supresorovými proteiny (DeCaprio *et al.*, 1988; Harris *et al.*, 1998). Tyto interakce ovlivňují buněčný cyklus tím, že se LTag specificky váže na regulační proteiny buněčného cyklu, jako jsou p53, pRb, p107 a p130. Tím naruší kontrolu buněčného růstu a donutí buňku rychle vstoupit do fáze syntézy

DNA (Harris, Christensen and Imperiale, 1996). Tato nekontrolovaná masivní virová replikace může způsobit poškození hostitelských buněk a zvýšit riziko maligní transformace. BKPyV také indukuje mutace v chromosomu hostitelské buňky a zároveň inhibuje apoptózu. To umožňuje buňkám s poškozeným DNA přežít, čímž se zvyšuje riziko maligní transformace (Tognon *et al.*, 2003).

Malý T-antigen obsahuje N-terminální J doménu shodnou s LTag. Jeho C-terminální unikátní doména se váže na protein fosfatázu 2A (PP2A) a mění substrátovou specificitu enzymu nebo inhibuje jeho aktivitu. Tímto přispívá k deregulaci buněčného cyklu a transformaci buněk (Pallas *et al.*, 1990; Skoczylas, Henglein and Rundell, 2005).

Zkrácený T-antigen má shodnou N-terminální oblast s LTag, která obsahuje doménu J a pRB vazebnou doménu. Předpokládá se tedy, že se trunc-Tag podílí na buněčné transformaci a deregulaci buněčného cyklu (Abend *et al.*, 2009).

Oblast pozdních genů kóduje strukturní proteiny VP1, VP2 a VP3 a agnoprotein. Promotor pozdních genů se nachází v oblasti NCCR, stejně jako u časných genů, ale jejich transkripce probíhá opačným směrem z opačného vlákna (Seif, Khoury and Dhar, 1979).

Protein VP1 je majoritní kapsidový protein, který tvoří vnější obal virionu. Zároveň umožňuje vstup viru do buňky prostřednictvím vazby na zbytek kyseliny sialové na gangliosidových receptorech na povrchu buněčné membrány (Low *et al.*, 2006).

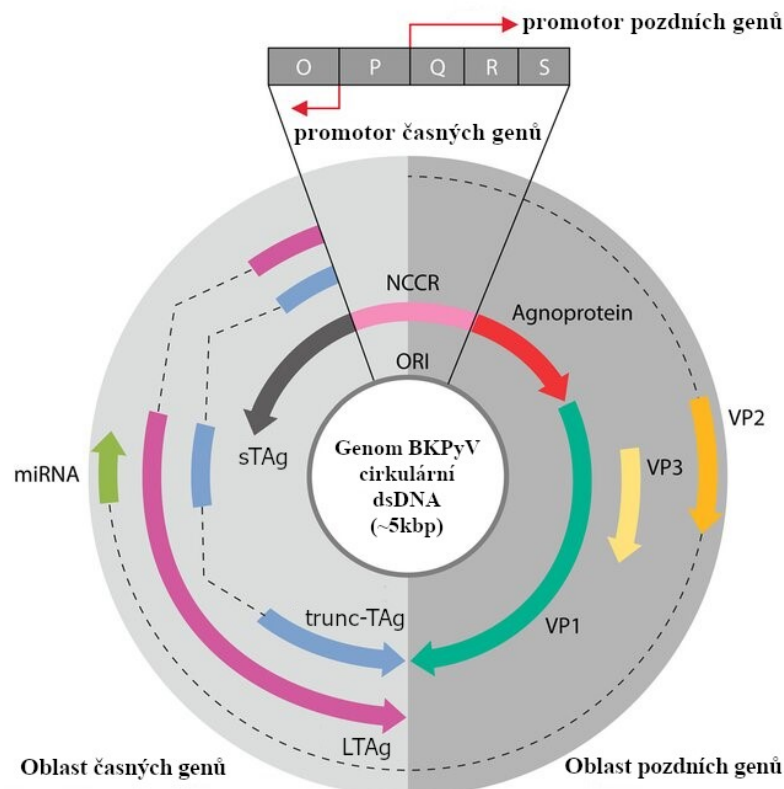
Proteiny VP2 a VP3 jsou minoritní kapsidové proteiny a jsou exprimovány ze stejného čtecího rámce, sdílejí identický C-konec. Na tomto konci se vyskytuje bazický lysin, který slouží jako jaderný lokalizační signál (NLS) a umožňuje BKPyV vstup do jádra hostitelské buňky. Jsou důležité pro efektivní virovou infekci (Forstová *et al.*, 1993; Bennett *et al.*, 2015).

Agnoprotein je regulační protein, který se nachází převážně v cytoplasmě, ale může být lokalizován i v jádře. Veškeré funkce agnoproteinu nebyly dosud objeveny, ale bylo prokázáno, že se podílí na regulaci exocytózy (Johannessen *et al.*, 2011), regulaci replikace virové DNA a sbalení virových genomů do infekčních virových částic (Gerits *et al.*, 2015) a uvolňování virionů z jádra hostitelské buňky (Panou *et al.*, 2018). Bez exprese agnoproteinu byla infektivita virionů *in vitro* (Panou *et al.*, 2018) i *in vivo* (Johannessen *et al.*, 2011) výrazně nižší.

Oblasti časných a pozdních genů jsou od sebe oddělené nekódující regulační oblastí (NCCR), (Seif, Khoury and Dhar, 1979). Tato oblast je krátkým úsekem DNA dlouhým cca 400 bp. NCCR reguluje expresi časných i pozdních genů, jejichž transkripce probíhá

obousměrně od ORI. Oblast se skládá z pěti sekvenčních bloků O – S, obsahujících replikační počátek (ORI), TATA-box, promotory a regulační sekvence pro expresi časných a pozdních genů (Markowitz and Dynan, 1988; Moens *et al.*, 1995). NCCR oblast je velmi variabilní, což je způsobeno delecemi, duplikacemi a bodovými mutacemi. Tato variabilita zřejmě hraje roli v patogenezi BK polyomaviru a v jeho adaptaci k různým buněčným typům hostitele (Hanssen Rinaldo, Hansen and Traavik, 2005). BK polyomavirus, u kterého nedošlo v NCCR k žádné přestavbě, se nazývá archetyp a je nejběžnějším typem BKPyV. Vyskytuje se u zdravých lidí i nemocných pacientů (Rubinstein, Pare and Harley, 1987).

Kromě proteinů kóduje genom také 2 sekvence pro mikroRNA (3p miRNA, 5p miRNA), (Tian *et al.*, 2014), které jsou exprimovány až v pozdější fázi během infekce. Tyto mikroRNA regulují časnou genovou expresi (Seo *et al.*, 2008), negativně ovlivňují replikaci virového genomu (Broekema and Imperiale, 2013) a chrání virus před imunitním systémem hostitele (Bauman *et al.*, 2011).



Obrázek č. 2: Struktura genomu BK polyomaviru (převzato z: (Ambalathingal *et al.*, 2017)). Transkripce časných i pozdních kódujících oblastí probíhá obousměrně od počátku replikace (ORI) v nekódující regulační oblasti (NCCR). Oblast časných genů kóduje velký nádorový antigen (LTag), malý nádorový antigen (sTag) a zkrácený nádorový antigen (trunc-Tag). Pozdní kódující oblast kóduje strukturální proteiny VP1, VP2, VP3 a agnoprotein. Genom BKPyV navíc kóduje 2 sekvence pro mikroRNA, 5p-miRNA a 3p-miRNA, které negativně ovlivňují replikaci virového genomu. Přerušovanými čarami jsou znázorněny introny.

2.3. Tkáňový tropismus a životní cyklus BK polyomaviru

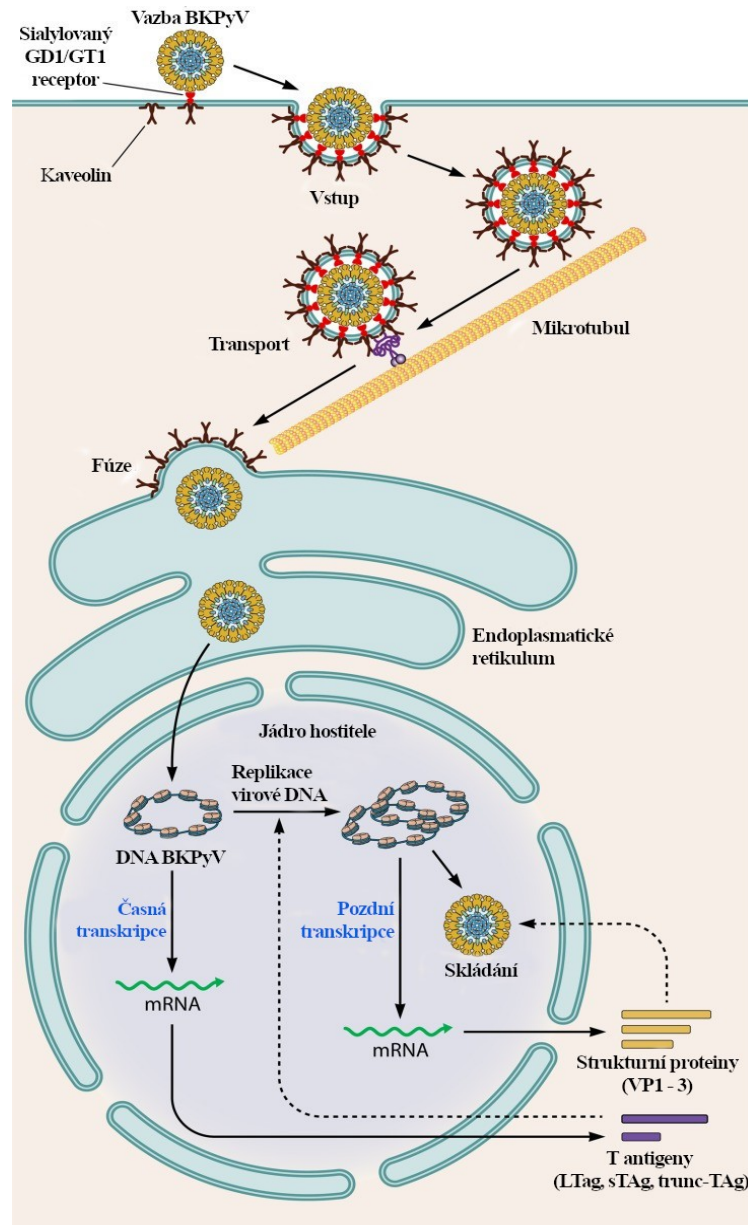
BKPyV vykazuje tkáňový tropismus pro buňky močových cest, především pro renální epiteliální buňky (RPTE), ale může infikovat i jiné buňky např. slinné žlázy, pankreatické buňky, leukocyty periferní krve, epitel mandlí, epitel dýchacích cest a endoteliální buňky. Perzistentní infekci zakládá především ve vaskulárních endoteliálních buňkách ledvin a močových cest (An *et al.*, 2019), ale může perzistovat i v mononukleárních krevních buňkách a buňkách centrální nervové soustavy (Elsner and Dörries, 1992; Dörries *et al.*, 1994). Životní cyklus viru začíná primární infekcí hostitele. Přesný způsob primární infekce není dosud znám. Po primární infekci je BKPyV transportován pomocí mononukleárních periferních buněk v krvi až do místa perzistence (Chatterjee, Weyandt and Frisque, 2000).

Životní cyklus BKPyV v buňce (viz obrázek č. 3) začíná u membrány hostitelské buňky, ve které se nachází gangliosidové receptory, na které je navázán zbytek kyseliny sialové. Na tento zbytek se váže VP1 protein BKPyV. Tato vazba navodí endocytózu, která vede k internalizaci viru do hostitelské buňky pomocí váčků s kaveolinem (Low *et al.*, 2006) či bez pomoci kaveolinu (Zhao *et al.*, 2016).

Internalizovaný virus v endozomu je dopraven pomocí mikrotubulů do endoplasmatického retikula (ER), (Moriyama and Sorokin, 2008). Během transportu do ER dochází k acidifikaci endozomu, což způsobuje konformační změny v kapsidě viru. Nízké pH pak spouští uvolnění virového genomu z kapsidy a odhaluje kapsidové proteiny VP2 a VP3. Váček poté fúzuje s membránou ER (Jiang, Abend, Tsai, *et al.*, 2009) a virus se uvolní do cytosolu. Virový genom, tvořený cirkulární dvouvláknovou DNA, je pak transportován do jádra hostitelské buňky. Jaderné lokalizační signály na virových kapsidových proteinech VP2 a VP3 umožňují transport genomu přes komplex jaderných pórů (Bennett *et al.*, 2015).

Uvnitř jádra je virový genom transkribován RNA polymerázou II hostitelské buňky, což vede k produkci primárního transkriptu, ze kterého vznikají alternativním sestřihem časné virové proteiny velký nádorový antigen (LTag), malý nádorový antigen (sTag) a zkrácený nádorový antigen (trunc-Tag). Proteiny deregulují buněčný cyklus tím, že ženou buňku do S-fáze, čímž umožňují replikaci virového genomu (DeCaprio *et al.*, 1988). LTag hraje klíčovou roli při zahájení replikace virové DNA. Váže se na replikační počátek a interaguje s hostitelskou DNA-polymerázou, čímž zahajuje a následně reguluje replikaci virového genomu (Dornreiter *et al.*, 1990). Po replikaci virové DNA je zahájena pozdní genová exprese. Vzniklý komplex majoritních a minoritních proteinů se translokuje pomocí jaderného

lokalizačního signálu (NLS) zpět do jádra. Nově syntetizované kapsidové proteiny se hromadí v jádře a asociují se s virovým genomem, dochází ke skládání nových virionů (Forstová *et al.*, 1993). K uvolnění nových virionů z buňky dochází pravděpodobně pomocí vazby agnoproteinu s α -SNAP proteinem (Johannessen *et al.*, 2011).



Obrázek č. 3: Schéma vstupu BKPyV do hostitelské buňky (převzato z: (Ambalathingal *et al.*, 2017)). BKPyV se váže na gangliosidové receptory na buněčné membráně. Pomocí endocytózy je BKPyV internalizován do endozomu. Ten je poté dopraven pomocí mikrotubulů do ER. Zároveň s transportem dochází k acidifikaci endozomu, což vede k rozkladu virové kapsidy a odhalení virového genomu. Genom je poté transportován do jádra hostitelské buňky. V jádře dochází nejprve k transkripci oblasti časných genů a poté k transkripci oblasti pozdních genů.

2.4. Epidemiologie BK polyomaviru

BKPyV je celosvětově rozšířená antroponóza. Většina jedinců se nakazí během raného dětství, séroprevalence je 65–90 %. Séroprevalenční studie ukázaly, že v dospělosti je přibližně 80–90 % populace infikováno (Jiang, Abend, Johnson, *et al.*, 2009). Primární infekce je obvykle asymptomatická nebo způsobuje mírné příznaky podobné chřipce (Knowles, 2006). Po primární infekci následuje doživotní perzistence viru především v epitelu ledvin či močových cest (Boldorini *et al.*, 2010).

Bylo navrženo několik způsobů přenosu BKPyV. Fekálně-orální cestou, detekce vysoké koncentrace BKPyV v odpadních vodách a dalších vodních zdrojích (Bofill-Mas *et al.*, 2001), respirační cestou nebo přímým kontaktem. Virus lze nalézt ve slinách, moči a dalších tělesných tekutinách infikovaných jedinců (Goudsmit *et al.*, 1982; Vanchiere *et al.*, 2005). Dalšími způsoby jsou transplacentární přenos z matky na plod (Pietropaolo *et al.*, 1998; Boldorini *et al.*, 2010), transfúze krve, transplantace orgánů či kostní dřeně a sexuální přenos prostřednictvím spermatu (Bofill-Mas, Pina and Girones, 2000; Jeffers, Madden and Webster-Cyriaque, 2009).

2.5. Onemocnění asociovaná s BK polyomavirem

BKPyV má tendenci se reaktivovat. U zdravých jedinců probíhá reaktivace asymptomaticky, virus je možné detekovat v moči, avšak u jedinců s oslabeným imunitním systémem může virus způsobit vážné zdravotní komplikace (Dalianis and Hirsch, 2013). Jedná se především o pacienty, kteří podstoupili transplantaci ledviny a kostní dřeně, ale vyskytly se jednotlivé případy onemocnění i u pacientů s transplantací plic, srdce a slinivky (Kuppachi *et al.*, 2016).

2.5.1. BKPyV asociovaná nefropatie (BKVAN)

BKPyV asociovaná nefropatie je důležitou příčinou ztráty štěpu ledviny, způsobenou reaktivací BKPyV u příjemců transplantátu. Je charakteristická akutní nekrózou proximálních tubulů a denudací bazální membrány v epiteliálních buňkách ledvin (Jiang, Abend, Johnson, *et al.*, 2009). Projevuje se u 1–10 % pacientů, obvykle v 1. roce po transplantaci ledviny (Hirsch *et al.*, 2006), s progresivním selháním ledvin a ztrátou transplantovaného orgánu ve 30–80 % případů (Hirsch *et al.*, 2002). K rozvoji BKVAN přispívá několik rizikových faktorů, které zahrnují intenzivní imunosupresi způsobenou zavedením nových hluboce

imunosupresivních léčiv, HLA neshody, vyšší věk pacienta a předchozí epizody akutní rejekce štěpu (Bohl and Brennan, 2007).

2.5.2. BKPyV hemoragická cystitida (HCT)

Hemoragická cystitida je stav charakterizovaný zánětem a krvácením v močovém měchýři, s různým stupněm závažnosti, způsobený reakcí imunitního systému na reaktivaci a masivní replikaci BKPyV. Projevuje se u 7–68 % pacientů po transplantaci hematopoetických buněk, z toho je 8–25 % dětských příjemců a 7–54 % dospělých příjemců (Cesaro *et al.*, 2018). HCT výrazně komplikuje potransplantační léčbu – způsobuje dysfunkci ledviny, v některých případech může končit smrtí (Fioriti *et al.*, 2005).

2.5.3. Uretrální stenóza

Stenóza uretry spojená s BKPyV je relativně vzácná, vyskytuje se u 2–6 % pacientů po transplantaci ledvin. Přesná patogeneze uretrální stenózy spojené s BKPyV je prozatím nejasná, ale předpokládá se, že zahrnuje virovou replikaci BKPyV v uroteliálních buňkách močové trubice, což vede k zánětu, fibróze a následnému zúžení uretrálního lumenu. Onemocnění se projevuje potížemi při močení, pacienti mohou také trpět opakovanými infekcemi močových cest, hematurií nebo v závažných případech až k obstrukční nefropatii ledvin (Krajewski *et al.*, 2020).

3. Imunitní odpověď na infekci BK polyomaviru

Imunitní systém hraje klíčovou roli v ochraně proti různým infekčním agens, mezi něž patří i viry. Tato kapitola se zaměřuje na imunitní odpověď proti virům, v souvislosti s tím lze imunitu chápat jako schopnost těla bránit se proti exogenním i endogenním patogenům a také proti cizorodým látkám jako jsou toxiny a alergeny, narušujícím integritu fyziologických funkcí (Medina, 2016). Hlavní funkcí imunitního systému je tedy prevence či omezení infekce. Patří mezi základní a nejdůležitější funkce živého organismu (Alam, 1998). Imunitní systém lze rozdělit na vrozenou a adaptivní imunitu. Oba imunitní mechanismy mají svou buněčnou a humorální složku.

Vrozená imunitní odpověď je první linií obrany, při setkání s cizím patogenem. Jedná se o rychlou a nespecifickou reakci, zaměřuje se na širokou škálu patogenů bez rozlišení. Buněčná složka zahrnuje fagocytující buňky jako jsou neutrofilů, makrofágy, bazofily, eozinofily, dendritické buňky, žírné buňky, a cytotoxické buňky jako jsou NK buňky.

Humorální složka zahrnuje komplementový systém, cytokiny a proteiny akutní fáze (Marshall *et al.*, 2018). Hepatocyty vylučují proteiny akutní fáze a komplementu jako odpověď na zánětlivé cytokiny, ty pak opsonizují patogenní buňky a lákají fagocytující buňky do místa infekce (Medina, 2016), produkty komplementu navíc také způsobují osmotickou lyzi patogenních buněk (Hořejší *et al.*, 2017). Dendritické buňky kromě fagocytózy slouží také jako antigen prezentující buňky (APC), čímž se podílí na aktivaci adaptivní buněčné odpovědi (Turvey and Broide, 2010).

Adaptivní imunitní odpověď je vysoce specifický obranný mechanismus, který se vyvíjí po expozici patogenu. Spuštění odpovědi trvá déle, v řádu několika dní, ale poskytuje dlouhodobou ochranu a imunologickou paměť. Při prvním setkání s patogenem se vytvoří paměťové buňky, které přetrvávají v organismu po celý život. Tyto buňky se při opětovné expozici daným patogenům aktivují a poskytnou velmi rychlou, silnou a účinnou imunitní odpověď (Bonilla and Oettgen, 2010). Buněčná složka zahrnuje především T-lymfocyty. T-lymfocyty nesou na svém povrchu koreceptory CD4 nebo CD8 (Kellie and Al-Mansour, 2017). CD4⁺ T-lymfocyty vytváří pomocné T-lymfocyty (Th) a regulační T-lymfocyty (Treg), které bojují proti extracelulárním patogenům. Aktivované Th-lymfocyty produkují cytokiny, které stimulují další imunitní buňky, a aktivují cytotoxické T-lymfocyty. Treg-lymfocyty omezují a potlačují imunitní reakce (Wik and Skålhegg, 2022). CD8⁺ T-lymfocyty dávají vznik cytotoxickým T-lymfocytům (Tc), které bojují proti intracelulárním patogenům. Eliminují infikované buňky pomocí cytotoxických granul a jsou schopné produkovat cytokiny, které napomáhají v eskalaci a urychlení imunitní reakce (Mittrücker, Visekruna and Huber, 2014). Humorální složka zahrnuje protilátky, které jsou produkovány B-lymfocyty. Protilátky, respektive imunoglobuliny (Ig), jsou rozděleny do 5 hlavních skupin: IgM, IgG, IgA, IgD a IgE. Rozdíly mezi jednotlivými imunoglobuliny jsou způsobené různými variacemi aminokyselinových sekvencí a odlišnou glykosylací těžkého řetězce, díky čemuž mohou plnit různé funkce v imunitním systému (Medina, 2016), viz tabulka č. 1.

Když patogen infikuje tělo, po čase narazí na lymfocyty nesoucí příslušný antigeně specifický receptor nebo jsou jeho peptidy prezentovány APC buňkami T-lymfocytům. Rozpoznáním antigenu dojde k aktivaci lymfocytů, jejich pomnožení a vytvoření klonů se stejnou specifitou, které eliminují patogen s příslušným antigenem. Pro aktivaci antigeně specifických lymfocytů je krom navázání antigenu potřebný kostimulační signál od dalších imunitních buněk. Tento regulační systém zabraňuje nežádoucímu spuštění imunitní reakce (Hořejší *et al.*, 2017).

Tabulka č. 1: Vlastnosti, funkce a lokalizace izotypů lidských imunoglobulinů (převzato a upraveno podle (Hořejší et al., 2017)).

Izotyp	Obsah v séru (g/l)	Lokalizace	Biologický poločas (dny)	Funkce
IgM	8-18	sérum, povrch B-lymfocytů	21	aktivace komplementu, primární odpověď, receptor pro antigen
IgG	0,9-3,5	sérum, intersticiální tekutina	6	opsonizace, neutralizace, přestupuje placentu, sekundární odpověď
IgA	0,9-2,5	sérum, slzy, sliny, povrch sliznic, mléko	6	ochrana sliznic, opsonizace
IgD	0,1	sérum, povrch B-lymfocytů	3	receptor pro antigen
IgE	3×10^{-4}	sérum, intersticiální tekutina	2	ochrana proti parazitům

3.1. Vrozená imunitní odpověď na BK polyomavirus

Když BK polyomavirus infikuje hostitelskou buňku, začne uvolňovat virové složky, respektive PAMPs. PAMPs jsou molekulární vzory asociované s patogeny a v hostiteli se běžně nevyskytují, slouží tedy jako poplašné signály pro imunitní systém k detekci přítomnosti infekčního agens (Medzhitov and Janeway, 1997). Pro BKPyV to mohou být např. virové nukleové kyseliny a virové proteiny. PAMPs jsou rozpoznávány receptory pro rozpoznávání vzorů (PRRs), (Medzhitov and Janeway, 1997). Tyto receptory jsou exprimovány různými imunitními buňkami, včetně dendritických buněk, makrofágů a některých epiteliálních buněk. Hlavní skupinou PRRs jsou Toll-like receptory (TLRs), které jsou klíčové pro detekci virových infekcí, zejména TLR3, TLR7, TLR8 a TLR9. Receptor TLR3 rozpoznává dvouvláknovou RNA, která je produkována během replikace viru. TLR7 a TLR8 rozpoznávají virovou jednovláknovou RNA. TLR9 rozpoznává nemetylované CpG motivy přítomné ve virové DNA (Akira, Uematsu and Takeuchi, 2006). Jakmile TLRs detekují virové PAMPs, iniciují signální kaskádu, která spouští imunitní odpověď. Kromě TLRs detekují virovou infekci i další receptory spadající do PRRs jako jsou RIG-I-like receptory (RLRs), NOD-like receptory (NLRs), cyklická GMP-AMP syntáza (cGAS), lektinové receptory a scavenger receptory (shrnuť v: (Galiana-Arnoux and Imler, 2006; Lester and Li, 2014)).

Bylo zjištěno, že různé typy buněk vykazují rozdílné přirozené imunitní reakce na infekci BKPyV. Např. u endoteliálních buněk nastává indukce dráhy vedoucí k produkci interferonu typu I, aktivace interferonového regulačního faktoru IRF3, IRF7, IRF9 a pozitivních regulátorů interferonové signalizace STAT1, STAT2 a zvyšuje se množství mRNA řady interferonem stimulovaných genů, jako jsou např. antivirové efekторы MX1, RSAD2, BST2, ISG15, HERC5, EIF2AK2 (PKR), OAS1, OAS2, OAS3, OASL a senzory patogenů DDX60, DDX58 a MB21D1. Naproti tomu infikované ledvinové proximální tubulární epitelové buňky nevykazují po infekci BKPyV podstatnou interferonovou signalizaci (An *et al.*, 2019). V další studii Ribeiro *et al.*, (2012) zjistili, že tyto buňky vykazují zvýšenou expresi TLR3, který rozpoznává dsRNA, což vede ke zvýšené tvorbě mRNA prozánětlivých cytokinů jako je interleukin 6 (IL-6) a chemokinů, jako je CXCL10. Z toho vyplývá, že zánět je důležitým obranným mechanismem používaným imunitním systémem k detekci a boji proti infekci BKPyV. Spouští řadu událostí, které vedou k náboru imunitních buněk, aktivaci adaptivní imunity a omezení replikace viru.

Ze všech typů buněk potenciálně napadnutelných BKPyV je právě u epitelových buněk v renálních tubulech imunitní reakce prostudována nejlépe, vzhledem k závažnosti problému polyomavirové nefropatie. Vstupu BKPyV do hostitelské buňky zabráňuje α -defensin 5 (HD5). HD5 se nachází v Panethových buňkách tenkého střeva a v urogenitálním traktu. Inhibuje infekci tím, že fyzicky interaguje s BKPyV a způsobí jeho agregaci. Zmenšením plochy povrchu viru a sekvestrací vazebných epitopů zabrání jeho interakci s povrchem hostitelských buněk. Agregované viry nemohou vstoupit dovnitř buňky, a tak zůstávají nahloučené v extracelulárním prostoru. Protože je HD5 součástí vrozené imunity v gastrointestinálním traktu, lze předpokládat, že jeho produkce by měla být víceméně konstantní. To, zda infekce BKV vede k up-regulaci exprese α -defensinu 5 zatím nebylo objasněno (Dugan *et al.*, 2008). V napadených buňkách pak dochází k aktivaci TLR3 a ke zvýšené expresi IL-6 a IL-8/CXCL8, RANTES/CCL5, MCP-1/CCL2 a IP-10/CXCL10 (Ribeiro *et al.*, 2012).

Na vrozené buněčné odpovědi na infekci BK polyomavirem se podílí dendritické buňky. Studie (Womer *et al.*, 2010) ukázala, že právě pacienti, u nichž došlo po transplantaci ledvinových štěpů k reaktivaci BKPyV, vykazovali již před transplantací i po ní deficit dendritických buněk v periferním krevním oběhu. Dendritické buňky jsou zároveň antigen prezentujícími buňkami (APC) a jako takové indukují jednu z cest adaptivní buněčné odpovědi, konkrétně aktivaci CD8⁺ T-lymfocytů se specifitou pro BKPyV (Comoli, Hirsch

and Ginevri, 2008). *In vitro* byl pozorován zajímavý jev, kdy dendritické buňky odvozené z monocytů pohlcovaly částice BKPyV nekonvenčním procesem endocytózy prostřednictvím GTPasového proteinu GRAF-1, a následně viriony chránily před neutralizačním působením specifických protilátek a umožňovaly jejich přenos do permissivních buněk. Lze předpokládat, že podobně se chovají i konvenční, respektive myeloidní, dendritické buňky *in vivo*. Situace, kdy viry dokáží změnit chování dendritických buněk a využít je ke svému prospěchu, byla již popsána ve více případech, např. (Pollara *et al.*, 2005; Rahman, Khan and Jain, 2011).

Dalšími buňkami vrozeného imunitního systému reagujícími na infekci BKPyV jsou NK buňky, které infikované buňky detekují prostřednictvím immunoglobulin-like receptorů (Trydzenskaya *et al.*, 2013) a reagují aktivací cytokinů a navozením apoptózy napadených buněk. Dalším typem buněk, které zde hrají roli jsou neutrofily (Brinkmann *et al.*, 2004).

3.2. Adaptivní buněčná imunitní odpověď na BK polyomavirus

Pro zabránění replikaci viru a prevenci chronického onemocnění je rozhodující buněčná imunitní odpověď specifická pro virus. U zdravých jedinců s latentně přítomným BKPyV právě ona zabraňuje reaktivaci viru (Dekeyser *et al.*, 2015).

Adaptivní buněčnou odpověď na infekci BK polyomavirem zajišťují především CD4⁺ T-lymfocyty a CD8⁺ T-lymfocyty. Specifickými antigeny vyvolávajícími imunitní odpověď na přítomnost BK polyomaviru jsou zejména strukturální kapsidové proteiny VP1, VP2 a VP3, a regulační velký a malý tumorový antigen (Tong *et al.*, 2005; Zhou *et al.*, 2007), přičemž se zdá, že CD4⁺ T-lymfocyty rozpoznávají preferenčně antigen VP1 a CD8⁺ T-lymfocyty zase velký tumorový antigen (Binggeli *et al.*, 2007). Důležitý je však také antigen VP3, který vyvolává reakci paměťových T-lymfocytů u všech pacientů s rozvojem infekce, včetně těch, kde nebyla detekovatelná odpověď na VP1 ani na velký tumorový antigen (Mueller *et al.*, 2011). Agnoprotein je naopak pravděpodobně ignorován a mohl by být zodpovědný za únik viru imunitnímu systému (Leuenberger *et al.*, 2007).

Řada výzkumných projektů se zabývá kinetikou specifické odpovědi, tedy časovým průběhem nárůstu nebo poklesu množství BKPyV-specifických T-lymfocytů v korelaci s virovou náloží, rovnováhou mezi imunosupresí a ponecháním přirozené imunity pacientů po transplantaci ledvin a otázkou, zda je u nich specifická imunitní reakce spíše prospěšná, tj. aktivním potlačováním virové infekce, či naopak mohou převážit negativní příliš silné zánětlivé a cytotoxické efekty vedoucí k poškození ledvin. Výsledky studie (Ginevri *et al.*, 2007) hovoří spíše ve prospěch imunitní reakce zprostředkované specifickými T-lymfocyty

proti BKPyV, a to na základě srovnání hladin těchto T-lymfocytů u zdravých jedinců a pacientů immunosuprimovaných po transplantaci ledvin, u nichž došlo k reaktivaci polyomaviru. Pacienti s detekovatelnou virémií, tedy přítomností virové DNA v krevní plasmě, měli před jejím nástupem nižší hladinu BKPyV-specifických T-lymfocytů než zdraví jedinci, a na začátku reaktive viru tendenci k dalšímu poklesu buněk, zřejmě vlivem imunosuprese. Po zmírnění imunosuprese se intenzita imunitní odpovědi vrátila na úroveň zdravých jedinců či ji dokonce převýšila, urychlila odeznění virémie a snižovala riziko vzniku polyomavirové nefropatie.

O důležitosti T-lymfocytů pro předcházení rozvoji polyomavirové nefropatii svědčí i studie na skupině pacientů, kde došlo k reaktivaci BKPyV, avšak dosud nikoli k rozvoji onemocnění. Zde byl v období po cca 21-27 týdnech pozorován nárůst nejprve specifických T-lymfocytů proti nestrukturním antigenům LTag a sTag, a následně proti strukturním antigenům VP1, VP2, VP3. Virémie i bez dalšího terapeutického zásahu během cca 1 měsíce odezněla. Naproti tomu k nárůstu virové nálože nad kritickou hodnotu, řádově nad 10^4 kopií DNA na ml krevní plasmy, a rozvoji nefropatie docházelo pouze u druhé, srovnávací skupiny, kde byly hladiny T-lymfocytů od začátku signifikantně nižší a nástup specifické imunity celkově pomalejší, než ve skupině první (Schachtner *et al.*, 2011). Také další práce potvrzují, a to u dětí i dospělých, riziko reaktive BKPyV, respektive těžkého průběhu vedoucího až k nefropatii, pouze u pacientů bez nebo se slabou T-lymfocyty zprostředkovanou imunitní odpovědí, a opět poukazují na možnost snížením imunosuprese vyvolat nárůst počtu T-lymfocytů vedoucí k poklesu virové nálože (Costa *et al.*, 2017; Ahlenstiel-Grunow *et al.*, 2020).

U zdravých séropozitivních jedinců jsou přítomny specifické CD4⁺ i CD8⁺ T-lymfocyty. Hlavními mechanismy protivirového působení CD4⁺ T-lymfocytů je v tomto případě exprese prozánětlivých cytokinů, včetně interferonu γ (IFN γ) a prozánětlivých cytokinů tumor nekrotizujících faktorů (TNF), (Zhou *et al.*, 2007). V reakci na infekci polyomavirem, respektive na přítomnost jeho specifických peptid, dochází nejprve k nárůstu počtu CD4⁺ T-lymfocytů a později, s rostoucí koncentrací patogenu, roste i reakce CD8⁺ T-lymfocytů (Weist *et al.*, 2014). Reakce CD4⁺ T-lymfocytů byla nalezena u 91 % zdravých jedinců, zatímco CD8⁺ typ byl aktivní jen u 33 % (Tong *et al.*, 2005). Immunosuprimovaní jedinci vykazují zpravidla výrazně nižší hladinu T-lymfocytů produkujících INF γ , přičemž po omezení imunosuprese se jejich hladina vrací na úroveň přibližně odpovídající zdravým jedincům. CD4⁺ T-lymfocyty specifické pro BKPyV se u jedinců s aktivně se replikujícím

BKPyV vyskytují s vyšší frekvencí oproti zdravé kontrole, avšak vykazují nižší proliferační aktivitu a nižší míru polyfunkcionality, která je však pro kontrolu infekce BKPyV zásadní (Schmidt *et al.*, 2014).

3.3. Adaptivní humorální imunitní odpověď na BK polyomavirus

Protilátky se objevují již v raném dětství. Specifickými protilátkami proti BKPyV jsou zejména imunoglobuliny tříd IgG, IgM a IgA, přičemž IgG vykazují měřitelný titr, respektive séropozitivitu, i u zdravých jedinců majících BKPyV v latentní formě. Ve věku do 30 let může být až 87 % zdravých jedinců séropozitivních. Séropozitivita klesá směrem od nejmladších po nejstarší věkové skupiny (Egli *et al.*, 2009). V české populaci je séropozitivita nejvyšší mezi 10. a 30. rokem, tedy téměř 80 %, ve věkové skupině nad 59 let pak jen 55,7 % (Šroller *et al.*, 2014). Po propuknutí infekce hladiny imunoglobulinů narůstají, prakticky nikdy nepostačují pro úplné potlačení infekce (Egli *et al.*, 2009). Základní hladiny IgG protilátek jsou stejné u zdravých séropozitivních jedinců i příjemců transplantovaných ledvinových štěpů. Zvýšení sérové aktivity BKPyV u viremických příjemců transplantátu souvisí s délkou trvání a vrcholovou hladinou BKPyV, respektive je ovlivněno předchozí replikací BKPyV (Wunderink *et al.*, 2017). Pozdější studie zabývající se charakterizací jednotlivých protilátek potvrdily, že se na neutralizaci BKPyV vedle IgG významnou měrou podílí i isotyp IgM, jehož titr významně narůstá v průběhu reaktivace BKPyV (Lindner *et al.*, 2019; Nguyen *et al.*, 2021). Nguyen *et al.*, (2021) nabízí možné vysvětlení z hlediska tvaru a struktury, totiž že pětičetná a šestičetná symetrie v distribuci určitých epitopů na kapsidách BKPyV může zvýhodňovat protilátky třídy IgM. Pokud tomu tak je, pak lze očekávat, že IgM budou významně přispívat k receptorovému repertoáru i u paměťových B-lymfocytů specifických pro jiné neobalené viry s ikosahedrální kapsidou. Výše zmíněné převaze paměťových B-lymfocytů IgM typu nad typem s IgG receptory pak odpovídá i vyšší produkce specifických protilátek třídy IgM.

3.4. Sérotypy BK polyomaviru

V současnosti jsou na základě jednonukleotidových polymorfismů (SNPs) v DNA pro VP1 protein rozlišovány čtyři hlavní genotypy viru: I, II, III a IV. Skupiny I a IV jsou heterogenní, a proto byly dále rozděleny do podskupin. V rámci genotypu I byly rozlišeny čtyři podtypy: Ia, Ib-1, Ib-2, Ic a šest podtypů v rámci genotypu IV: IVa-1, IVa-2, IVb-1, IVb-2, IVc-1 a IVc-2, tedy celkem 12 různých variant BKPyV (Furmaga *et al.*, 2021). Pomocí neutralizačního testu Pastrana *et al.*, (2013) stanovili jednotlivé sérotypy na základě alespoň

100násobného rozdílu v neutralizačním titru mezi dvěma variantami BKV, alespoň pro jeden vzorek lidského séra. Dle této definice lze genotypy I, II, III a IV považovat za odlišné sérotypy. U některých jedinců se tedy sérotypy Ib-1 a Ib-2 mohou chovat jako rozdílné sérotypy. Oproti tomu sérotypy Ib-2 a Ic představují stejný sérotyp, stejně jako všechny podtypy v rámci genotypu IV. Celková séroprevalence v populaci je cca 90 % (Kean *et al.*, 2009), přičemž nejčastější je typ I následovaný typem IV, který je častější v Asii. Sérotypy II a III se vyskytují nejméně (Zheng *et al.*, 2007). Sérotypy II a III vykazují zkříženou reakci s typem IV, totéž platí mezi podskupinami sérotypu I, poměrně častá je přítomnost BKPyV dvou různých sérotypů u téhož jedince (Herman F. Wunderink *et al.*, 2019a). Většina postupů pro určení typu se zatím zakládala na izolátech virové DNA od jedinců vykazujících virémii, respektive virurii, avšak v poslední době jsou vyvíjeny metody pro jejich stanovení i u zdravých jedinců, typicky u dárců štěpů pro transplantaci, a to na základě stanovení IgG protilátek proti VP1 BKPyV pomocí technologie Luminex a sérum neutralizačních protilátek pomocí neutralizačního testu (H. F. Wunderink *et al.*, 2019a). Diskutovaným tématem bylo, zda rozdíl v sérotypu mezi dárcem a příjemcem transplantátu má vliv na vznik virémie, respektive polyomavirové nefropatie, po transplantaci. Recentní studie ukazují, že pravděpodobně nikoli (H. F. Wunderink *et al.*, 2019b).

4. Léčba BK polyomaviru

BK polyomavirová infekce představuje významný klinický problém u imunokompromitovaných jedinců, zejména u příjemců transplantátu, kdy u pacientů po transplantaci hematopoetických kmenových buněk může reaktivovaný BKPyV způsobit hemoragickou cystitidu (HC) a u pacientů po transplantaci ledvin BKPyV asociovanou nefropatii (BKVAN), viz kapitola 2.5. V rozvoji infekce lze zabránit včasnou diagnostikou pomocí screeningu, např. metodou PCR v reálném čase, jako vzorek slouží moč či sérum pacienta nebo pomocí renální bopsie (Bechert *et al.*, 2010).

V současné době je standardní léčbou snížení hladiny imunosupresivních léků, které mohou významně inhibovat imunitní odpověď T-lymfocytů specificky zaměřenou proti BKPyV, a tím zabránit replikaci viru a precipitaci na BKVAN (Hirsch and Randhawa, 2013). Snížení hladin imunosupresiv však neznamená definitivní a optimální léčbu (Nesselhauf, Strutt and Bastani, 2015), protože toto snížení podporuje reakci imunitního systému proti transplantovanému štěpu a může tak vést k jeho akutní rejekci. Úspěšnost imunosupresivní

léčby se pohybuje od 50 do 80 %. U některých pacientů navzdory této léčbě infekce stále přetrvává (Johnston *et al.*, 2010).

Další terapeutickou možností může být použití antivirotika, avšak proti BKPyV neexistuje žádná specifická antivirová léčba. Klinické studie potvrzují účinnost léku zvaného leflunomid (Josephson *et al.*, 2006; Teschner *et al.*, 2009), používaného při léčbě revmatoidní artritidy, který má antivirové i imunosupresivní účinky a inhibicí syntézy pyrimidinů zabraňuje syntéze DNA i RNA, čímž zabraňuje nežádoucí proliferaci virů i T-lymfocytů (Pinto and Dougados, 2006). Navzdory tomu existují studie, např. (Leca *et al.*, 2008; Guasch *et al.*, 2010), které tyto výsledky nepodpořily, takže účinnost leflunomidu zůstává sporná. Dalším možným antivirotikem je např. cidofovir, na kterém byly také vykonané retrospektivní studie za účelem posouzení jeho účinnosti. cidofovir byl podáván k symptomatické léčbě hemoragické cystitidy (HC). Výsledkem bylo, že 66 % pacientů vykázalo částečnou odpověď a 33 % úplnou odpověď na tento typ léčby. Bylo prokázáno snížení závažnosti infekce (Coomes *et al.*, 2018), avšak v porovnání s ostatními studiemi, např. (Kuypers *et al.*, 2005; Burgos *et al.*, 2006; Wadei *et al.*, 2006), vztah mezi cidofovirem, virovou zátěží BKPyV v moči a HC byl nekonzistentní, takže studie nelze brát jako průkazné. Kvůli významnému vedlejšímu účinku renální toxicity, je cidofovir stále předmětem studií (Coomes *et al.*, 2018).

Intravenózní imunoglobuliny (IVIG) jsou další možností, jak regulovat infekci BKPyV. IVIG jsou připravovány ze sdružené plasmy mnoha dárců, výsledný produkt obsahuje velké množství protilátky IgG, mezi 95-99 %, se stopovým množstvím protilátek IgA, IgM, IgE a IgD (Nowak-Wegrzyn and Lederman, 1999). IVIG tedy obsahuje velké množství neutralizační protilátek s širokou specifitou a jsou tedy schopné neutralizovat všechny hlavní genotypy BKPyV (Randhawa *et al.*, 2015). Používají se jako preventivní a podpůrná léčba především při BK virémii a BKVAN (Benotmane *et al.*, 2021). Randhawa *et al.*, (2015) provedli studii *in vitro*, podle které IVIG pravděpodobně fungují tak, že neutralizují viriony vazbou protilátek na virový kapsidový protein VP1, čímž inhibují jejich transport přes membránu hostitelské buňky, nebo mohou jejich protilátky napomáhat při zprostředkovaném odstranění viru T-lymfocyty. Zda to tak funguje i v klinické praxi je nutné ověřit dalšími studiemi. Nevýhodou IVIG je vysoká cena a omezená dostupnost (Sener *et al.*, 2006).

Výše zmíněné terapeutické přístupy vykazují omezenou účinnost a potenciální nežádoucí účinky, což vyžaduje zkoumání nových léčebných strategií. Jako slibná cesta k řešení infekce BKPyV se jeví buněčná imunoterapie, která využívá schopnosti imunitního

systému rozpoznat a eliminovat buňky infikované virem. Jedná se konkrétně o virově specifické T-lymfocyty (VST) proti BKPyV, které pomáhají snížit symptomatickou infekci a virovou zátěž u pacientů po transplantaci kostní dřeně či solidních orgánů. VST jsou vyrobeny *ex vivo* z mononukleárních buněk periferní krve dárce, respektive příbuzného pacienta či od nepříbuzných dárců, třetí strany (Nelson *et al.*, 2020). Centrifugací jsou z krve izolovány buňky, které jsou následně upraveny v laboratoři (shrnuto v: (Papadopoulou *et al.*, 2014)). VST jsou poté podány intravenózně zpět pacientovi. Tyto aktivované T-lymfocyty nyní mohou rozpoznávat buňky infikované BKPyV a selektivně je napadat. Dle studie (Nelson *et al.*, 2020) byla u většiny pacientů zaznamenána vysoká míra protivirové odpovědi spojená s minimální toxicitou VST. Tento výsledek se shoduje i s ostatními studii (Papadopoulou *et al.*, 2014; Tzannou *et al.*, 2017).

5. Závěr

Ačkoli jsou znalosti imunitní odpovědi proti infekci BKPyV omezené, studie naznačují, že T-lymfocyty a B-lymfocyty hrají klíčovou roli při kontrole replikace BKPyV a potlačení infekce. V současné době bohužel není k dispozici žádná specifická protivirová léčba proti polyomavirové infekci, takže terapie zahrnuje především snížení imunosuprese s cílem obnovit účinnou imunitní odpověď. To může vést k napadení transplantovaného štěpu imunitním systémem a k jeho akutní rejekci, která může vést až k úplné ztrátě štěpu, a pacient pak musí podstoupit novou transplantaci. Buněčná imunoterapie se ukazuje jako slibný přístup k posílení adaptivní imunitní odpovědi a účinnému zvládnutí onemocnění spojených s BKPyV, avšak jsou zapotřebí další klinické studie pro zdokonalení optimální léčby.

6. Seznam použitých zdrojů

- Abend, J.R. *et al.* (2009) 'A truncated T antigen expressed from an alternatively spliced BK virus early mRNA', *Journal of General Virology*, 90(5). Available at: <https://doi.org/10.1099/vir.0.009159-0>.
- Ahlenstiel-Grunow, T. *et al.* (2020) 'BK polyomavirus-specific T cells as a diagnostic and prognostic marker for bk polyomavirus infections after pediatric kidney transplantation', *Transplantation* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000003133>.
- Akira, S., Uematsu, S. and Takeuchi, O. (2006) 'Pathogen recognition and innate immunity', *Cell*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.02.015>.
- Alam, R. (1998) 'A brief review of the immune system', *Primary Care - Clinics in Office Practice*, 25(4). Available at: [https://doi.org/10.1016/S0095-4543\(05\)70084-1](https://doi.org/10.1016/S0095-4543(05)70084-1).
- Ambalathingal, G.R. *et al.* (2017) 'BK polyomavirus: Clinical aspects, immune regulation, and emerging therapies', *Clinical Microbiology Reviews*. Available at: <https://doi.org/10.1128/CMR.00074-16>.
- An, P. *et al.* (2019) 'Human polyomavirus BKV infection of endothelial cells results in interferon pathway induction and persistence', *PLOS Pathogens*, 15(1), pp. 1–24. doi: 10.1371/journal.ppat.1007505.
- Bauman, Y. *et al.* (2011) 'An Identical miRNA of the Human JC and BK Polyoma Viruses Targets the Stress-Induced Ligand ULBP3 to Escape Immune Elimination', *Cell Host & Microbe*, 9(2), pp. 93–102. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2011.01.008>.
- Bechert, C.J. *et al.* (2010) 'Monitoring of BK viral load in renal allograft recipients by real-time PCR assays', *American Journal of Clinical Pathology*. Available at: <https://doi.org/10.1309/AJCP63VDFCKCRUUL>.
- Bennett, S.M. *et al.* (2015) 'Role of a nuclear localization signal on the minor capsid Proteins VP2 and VP3 in BKPyV nuclear entry', *Virology*, 474. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2014.10.013>.
- Benotmane, I. *et al.* (2021) 'Intravenous immunoglobulin as a preventive strategy against BK virus viremia and BKV-associated nephropathy in kidney transplant recipients—Results from a proof-of-concept study', *American Journal of Transplantation*, 21(1). Available at: <https://doi.org/10.1111/ajt.16233>.
- Binggeli, S. *et al.* (2007) 'Polyomavirus BK-specific cellular immune response to VP1 and large T-antigen in kidney transplant recipients', *American Journal of Transplantation*, 7(5). Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2007.01754.x>.
- Bofill-Mas, S. *et al.* (2001) 'Potential Transmission of Human Polyomaviruses through the Gastrointestinal Tract after Exposure to Virions or Viral DNA', *Journal of Virology*, 75(21). Available at: <https://doi.org/10.1128/jvi.75.21.10290-10299.2001>.

- Bofill-Mas, S., Pina, S. and Girones, R. (2000) 'Documenting the epidemiologic patterns of polyomaviruses in human populations by studying their presence in urban sewage', *Applied and Environmental Microbiology*, 66(1). Available at: <https://doi.org/10.1128/AEM.66.1.238-245.2000>.
- Bohl, D.L. and Brennan, D.C. (2007) 'BK virus nephropathy and kidney transplantation', *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 2(SUPPL. 1). Available at: <https://doi.org/10.2215/CJN.00920207>.
- Boldorini, R. *et al.* (2010) 'BK virus sequences in specimens from aborted fetuses', *Journal of Medical Virology*, 82(12). Available at: <https://doi.org/10.1002/jmv.21923>.
- Bonilla, F.A. and Oettgen, H.C. (2010) 'Adaptive immunity', *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2 SUPPL. 2). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.09.017>.
- Brinkmann, V. *et al.* (2004) 'Neutrophil Extracellular Traps Kill Bacteria', *Science*, 303(5663). Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1092385>.
- Brodsky, J.L. and Pipas, J.M. (1998) 'Polyomavirus T Antigens: Molecular Chaperones for Multiprotein Complexes', *Journal of Virology*, 72(7). Available at: <https://doi.org/10.1128/jvi.72.7.5329-5334.1998>.
- Broekema, N.M. and Imperiale, M.J. (2013) 'MiRNA regulation of BK polyomavirus replication during early infection', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(20). Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.1301907110>.
- Burgos, D. *et al.* (2006) 'Polyomavirus BK Nephropathy: The Effect of an Early Diagnosis on Renal Function or Graft Loss', *Transplantation Proceedings*, 38(8). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2006.08.027>.
- Calvignac-Spencer, S. *et al.* (2016) 'A taxonomy update for the family Polyomaviridae', *Archives of Virology*, 161(6). Available at: <https://doi.org/10.1007/s00705-016-2794-y>.
- Campbell, K.S. *et al.* (1997) 'DnaJ/hsp40 chaperone domain of SV40 large T antigen promotes efficient viral DNA replication', *Genes and Development*, 11(9). Available at: <https://doi.org/10.1101/gad.11.9.1098>.
- Cesaro, S. *et al.* (2018) 'ECIL guidelines for the prevention, diagnosis and treatment of BK polyomavirus-associated haemorrhagic cystitis in haematopoietic stem cell transplant recipients', *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(1). Available at: <https://doi.org/10.1093/jac/dkx324>.
- Chatterjee, M., Weyandt, T.B. and Frisque, R.J. (2000) 'Identification of archetype and rearranged forms of BK virus in leukocytes from healthy individuals', *Journal of Medical Virology*, 60(3). Available at: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9071\(200003\)60:3<353::AID-JMV16>3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9071(200003)60:3<353::AID-JMV16>3.0.CO;2-R).
- Chen, X.S., Stehle, T. and Harrison, S.C. (1998) 'Interaction of polyomavirus internal protein VP2 with the major capsid protein VP1 and implications for participation of VP2 in viral entry', *EMBO Journal*, 17(12). Available at: <https://doi.org/10.1093/emboj/17.12.3233>.
- Comoli, P., Hirsch, H.H. and Ginevri, F. (2008) 'Cellular immune responses to BK virus', *Current Opinion in Organ Transplantation*, pp. 569–574. Available at: <https://doi.org/10.1097/MOT.0b013e3283186b93>.

- Coomes, E.A. *et al.* (2018) 'Efficacy of Cidofovir in Treatment of BK Virus–Induced Hemorrhagic Cystitis in Allogeneic Hematopoietic Cell Transplant Recipients', *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 24(9). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2018.04.009>.
- Costa, J.S. *et al.* (2017) 'Polyomavirus Nephropathy: Ten-Year Experience', *Transplantation Proceedings*, 49(4). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2017.01.072>.
- Dalianis, T. and Hirsch, H.H. (2013) 'Human polyomaviruses in disease and cancer', *Virology*, 437(2), pp. 63–72. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.VIROL.2012.12.015>.
- DeCaprio, J.A. *et al.* (1988) 'SV40 large tumor antigen forms a specific complex with the product of the retinoblastoma susceptibility gene', *Cell*, 54(2). Available at: [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(88\)90559-4](https://doi.org/10.1016/0092-8674(88)90559-4).
- Dekeyser, M. *et al.* (2015) 'Polyomavirus-specific cellular immunity: From BK-virus-specific cellular immunity to BK-virus-associated nephropathy?', *Frontiers in Immunology*. Available at: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00307>.
- DÖnries, K. *et al.* (1994) 'Infection of human polyomaviruses JC and BK in peripheral blood leukocytes from immunocompetent individuals', *Virology*, 198(1). Available at: <https://doi.org/10.1006/viro.1994.1008>.
- Dornreiter, I. *et al.* (1990) 'SV40 T antigen binds directly to the large subunit of purified DNA polymerase alpha', *EMBO Journal*, 9(10). Available at: <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1990.tb07533.x>.
- Dugan, A.S. *et al.* (2008) 'Human α -defensins inhibit BK virus infection by aggregating virions and blocking binding to host cells', *Journal of Biological Chemistry*, 283(45). Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.M805902200>.
- Egli, A. *et al.* (2009) 'Prevalence of polyomavirus BK and JC infection and replication in 400 healthy blood donors', *Journal of Infectious Diseases*, 199(6). Available at: <https://doi.org/10.1086/597126>.
- Elsner, C. and Dörries, K. (1992) 'Evidence of human polyomavirus BK and JC infection in normal brain tissue', *Virology*, 191(1). Available at: [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(92\)90167-N](https://doi.org/10.1016/0042-6822(92)90167-N).
- Fioriti, D. *et al.* (2005) 'BKV infection and hemorrhagic cystitis after allogeneic bone marrow transplant', *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 18(2). Available at: <https://doi.org/10.1177/039463200501800213>.
- Forstová, J. *et al.* (1993) 'Cooperation of structural proteins during late events in the life cycle of polyomavirus', *Journal of Virology*, 67(3). Available at: <https://doi.org/10.1128/jvi.67.3.1405-1413.1993>.
- Furmaga, J. *et al.* (2021) 'Bk polyomavirus—biology, genomic variation and diagnosis', *Viruses*. Available at: <https://doi.org/10.3390/v13081502>.
- Galiana-Arnoux, D. and Imler, J.L. (2006) 'Toll-like receptors and innate antiviral immunity', *Tissue Antigens*. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2006.00583.x>.

Gardner, S.D. *et al.* (1971) 'NEW HUMAN PAPOVAVIRUS (B.K.) ISOLATED FROM URINE AFTER RENAL TRANSPLANTATION', *The Lancet*, 297(7712), pp. 1253–1257. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(71\)91776-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(71)91776-4).

Gerits, N. *et al.* (2015) 'Agnoprotein of polyomavirus BK interacts with proliferating cell nuclear antigen and inhibits DNA replication', *Virology Journal*, 12(1). Available at: <https://doi.org/10.1186/s12985-014-0220-1>.

Ginevri, F. *et al.* (2007) 'Prospective monitoring of polyomavirus BK replication and impact of pre-emptive intervention in pediatric kidney recipients', *American Journal of Transplantation*, 7(12). Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2007.01984.x>.

Goudsmit, J. *et al.* (1982) 'The role of BK virus in acute respiratory tract disease and the presence of BKV DNA in tonsils', *Journal of Medical Virology*, 10(2). Available at: <https://doi.org/10.1002/jmv.1890100203>.

Guasch, A. *et al.* (2010) 'Assessment of efficacy and safety of FK778 in comparison with standard care in renal transplant recipients with untreated BK nephropathy', *Transplantation*, 90(8). Available at: <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e3181f2c94b>.

Hanssen Rinaldo, C., Hansen, H. and Traavik, T. (2005) 'Human endothelial cells allow passage of an archetypal BK virus (BKV) strain - A tool for cultivation and functional studies of natural BKV strains', *Archives of Virology*, 150(7). Available at: <https://doi.org/10.1007/s00705-005-0511-3>.

Harris, K.F. *et al.* (1998) 'BK virus as a potential co-factor in human cancer.', *Developments in biological standardization*.

Harris, K.F., Christensen, J.B. and Imperiale, M.J. (1996) 'BK virus large T antigen: interactions with the retinoblastoma family of tumor suppressor proteins and effects on cellular growth control', *Journal of Virology*, 70(4). Available at: <https://doi.org/10.1128/jvi.70.4.2378-2386.1996>.

Helle, F. *et al.* (2017) 'Biology of the BKPyV: An update', *Viruses*. Available at: <https://doi.org/10.3390/v9110327>.

Hirsch, H.H. *et al.* (2002) 'Prospective Study of Polyomavirus Type BK Replication and Nephropathy in Renal-Transplant Recipients', *New England Journal of Medicine*, 347(7). Available at: <https://doi.org/10.1056/nejmoa020439>.

Hirsch, H.H. *et al.* (2006) 'Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: Critical issues of screening and management', *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Available at: https://doi.org/10.1007/0-387-32957-9_11.

Hirsch, H.H. and Randhawa, P. (2013) 'BK polyomavirus in solid organ transplantation', *American Journal of Transplantation*, 13(SUPPL.4). Available at: <https://doi.org/10.1111/ajt.12110>.

HOŘEJŠÍ, Václav, Jiřina BARTUŇKOVÁ, Tomáš BRDIČKA a Radek ŠPÍŠEK. *Základy imunologie. 6., aktualizované vydání. V Praze: Stanislav Juhaňák - Triton, 2017. ISBN 978-80-7553-250-3.*

Hurdiss, D.L. *et al.* (2016) 'New Structural Insights into the Genome and Minor Capsid Proteins of BK Polyomavirus using Cryo-Electron Microscopy', *Structure*, 24(4). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.str.2016.02.008>.

- Jeffers, L.K., Madden, V. and Webster-Cyriaque, J. (2009) 'BK virus has tropism for human salivary gland cells in vitro: Implications for transmission', *Virology*, 394(2). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2009.07.022>.
- Jiang, M., Abend, J.R., Tsai, B., *et al.* (2009) 'Early Events during BK Virus Entry and Disassembly', *Journal of Virology*, 83(3). Available at: <https://doi.org/10.1128/jvi.02169-08>.
- Jiang, M., Abend, J.R., Johnson, S.F., *et al.* (2009) 'The role of polyomaviruses in human disease', *Virology*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2008.09.027>.
- Johannessen, M. *et al.* (2011) 'BKV agnoprotein interacts with α -soluble N-ethylmaleimide-sensitive fusion attachment protein, and negatively influences transport of VSVG-EGFP', *PLoS ONE*, 6(9). Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024489>.
- Johnston, O. *et al.* (2010) 'Treatment of Polyomavirus Infection in Kidney Transplant Recipients: A Systematic Review', *Transplantation*, 89(9). Available at: <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e3181d0e15e>.
- Josephson, M.A. *et al.* (2006) 'Treatment of renal allograft polyoma BK virus infection with leflunomide', *Transplantation*, 81(5). Available at: <https://doi.org/10.1097/01.tp.0000181149.76113.50>.
- Kean, J.M. *et al.* (2009) 'Seroepidemiology of human polyomaviruses', *PLoS Pathogens*, 5(3). Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000363>.
- Kellie, S. and Al-Mansour, Z. (2017) 'Overview of the Immune System', in *Micro- and Nanotechnology in Vaccine Development*. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-39981-4.00004-X>.
- Knowles, W.A. (2006) 'Discovery and epidemiology of the human polyomaviruses BK virus (BKV) and JC virus (JCV)', *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Available at: https://doi.org/10.1007/0-387-32957-9_2.
- Krajewski, W. *et al.* (2020) 'Pathogenicity of BK virus on the urinary system', *Central European Journal of Urology*. Available at: <https://doi.org/10.5173/ceju.2020.0034>.
- Kuppachi, S. and others, *BK polyoma virus infection and renal disease in non-renal solid organ transplantation*, *Clinical Kidney Journal*, Volume 9, Issue 2, April 2016, Pages 310–318, <https://doi.org/10.1093/ckj/sfv143>
- Kuypers, D.R.J. *et al.* (2005) 'Adjuvant low-dose cidofovir therapy for BK polyomavirus interstitial nephritis in renal transplant recipients', *American Journal of Transplantation*, 5(8). Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2005.00980.x>.
- Leca, N. *et al.* (2008) 'Higher levels of leflunomide Are associated with hemolysis and are not superior to lower levels for BK virus clearance in renal transplant patients', *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 3(3). Available at: <https://doi.org/10.2215/CJN.03930907>.
- Lester, S.N. and Li, K. (2014) 'Toll-like receptors in antiviral innate immunity', *Journal of Molecular Biology*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2013.11.024>.

- Leuenberger, D. *et al.* (2007) 'Human polyomavirus type 1 (BK virus) agnoprotein is abundantly expressed but immunologically ignored', *Clinical and Vaccine Immunology*, 14(8). Available at: <https://doi.org/10.1128/CVI.00123-07>.
- Li, T.C. *et al.* (2003) 'Characterization of self-assembled virus-like particles of human polyomavirus BK generated by recombinant baculoviruses', *Virology*, 311(1). Available at: [https://doi.org/10.1016/S0042-6822\(03\)00141-7](https://doi.org/10.1016/S0042-6822(03)00141-7).
- Lindner, J.M. *et al.* (2019) 'Human Memory B Cells Harbor Diverse Cross-Neutralizing Antibodies against BK and JC Polyomaviruses', *Immunity*, 50(3). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.02.003>.
- Low, J.A. *et al.* (2006) 'Identification of Gangliosides GD1b and GT1b as Receptors for BK Virus', *Journal of Virology*, 80(3). Available at: <https://doi.org/10.1128/jvi.80.3.1361-1366.2006>.
- Markowitz, R.B. and Dynan, W.S. (1988) 'Binding of cellular proteins to the regulatory region of BK virus DNA', *Journal of Virology*, 62(9). Available at: <https://doi.org/10.1128/jvi.62.9.3388-3398.1988>.
- Marshall, J.S. *et al.* (2018) 'An introduction to immunology and immunopathology', *Allergy, Asthma and Clinical Immunology*. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13223-018-0278-1>.
- Medina, K.L. (2016) 'Overview of the immune system', in *Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier, pp. 61–76. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63432-0.00004-9>.
- Medzhitov, R. and Janeway, C.A. (1997) 'Innate immunity: The virtues of a nonclonal system of recognition', *Cell*. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80412-2](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80412-2).
- Mittrücker, H.W., Visekruna, A. and Huber, M. (2014) 'Heterogeneity in the Differentiation and Function of CD8+ T Cells', *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 62(6). Available at: <https://doi.org/10.1007/s00005-014-0293-y>.
- Moens, U. *et al.* (1995) 'Noncoding control region of naturally occurring BK virus variants: Sequence comparison and functional analysis', *Virus Genes*, 10(3). Available at: <https://doi.org/10.1007/BF01701816>.
- Moens, U. *et al.* (2017) 'Biology, evolution, and medical importance of polyomaviruses: An update', *Infection, Genetics and Evolution*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.06.011>.
- Moriyama, T. and Sorokin, A. (2008) 'Intracellular trafficking pathway of BK Virus in human renal proximal tubular epithelial cells', *Virology*, 371(2). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.09.030>.
- Mueller, K. *et al.* (2011) 'BK-VP3 as a new target of cellular immunity in BK virus infection', *Transplantation*, 91(1). Available at: <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e3181fe1335>.
- Nelson, A.S. *et al.* (2020) 'Virus-specific T-cell therapy to treat BK polyomavirus infection in bone marrow and solid organ transplant recipients', *Blood Advances*, 4(22). Available at: <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2020003073>.

Nesselhauf, N., Strutt, J. and Bastani, B. (2015) 'Evaluation of leflunomide for the treatment of BK viremia and biopsy proven BK nephropathy; a single center experience', *Journal of Nephropathology*, 5(1). Available at: <https://doi.org/10.15171/jnp.2016.06>.

Nguyen, NK. *et al.* (2021) 'The humoral response to BK polyomavirus in kidney transplant recipients is dominated by IgM antibodies that use a distinct repertoire compared to IgG against the same antigen', *medRxiv* [Preprint], (PG-2021.02.04.21250913).

Nguyen NK, Devilder MC, Gautreau-Rolland L, Fourgeux C, Sinha D, Poschmann J, Hourmant M, Bressollette-Bodin C, Saulquin X, McIlroy D. A cluster of broadly neutralizing IgG against BK polyomavirus in a repertoire dominated by IgM. *Life Sci Alliance*. 2023 Jan 30;6(4):e202201567. doi: 10.26508/lsa.202201567. PMID: 36717250; PMCID: PMC9887757.

Nilsson, J. *et al.* (2005) 'Structure and Assembly of a T =1 Virus-Like Particle in BK Polyomavirus', *Journal of Virology*, 79(9). Available at: <https://doi.org/10.1128/jvi.79.9.5337-5345.2005>.

Nowak-Wegrzyn, A. and Lederman, H.M. (1999) 'Supply, use, and abuse of intravenous immunoglobulin', *Current Opinion in Pediatrics*, 11(6). Available at: <https://doi.org/10.1097/00008480-199912000-00011>.

Pallas, D.C. *et al.* (1990) 'Polyoma small and middle T antigens and SV40 small t antigen form stable complexes with protein phosphatase 2A', *Cell*, 60(1). Available at: [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(90\)90726-U](https://doi.org/10.1016/0092-8674(90)90726-U).

Panou, M.M. *et al.* (2018) 'Agnoprotein is an essential egress factor during BK Polyomavirus infection', *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3). Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms19030902>.

Papadopoulou, A. *et al.* (2014) 'Activity of broad-spectrum T cells as treatment for AdV, EBV, CMV, BKV, and HHV6 infections after HSCT', *Science Translational Medicine*, 6(242). Available at: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3008825>.

Pastrana, D. V. *et al.* (2013) 'BK Polyomavirus Genotypes Represent Distinct Serotypes with Distinct Entry Tropism', *Journal of Virology*, 87(18). Available at: <https://doi.org/10.1128/jvi.01189-13>.

Pietropaolo, V. *et al.* (1998) 'Transplacental transmission of human polyomavirus BK', *Journal of Medical Virology*, 56(4). Available at: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9071\(199812\)56:4<372::AID-JMV14>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9071(199812)56:4<372::AID-JMV14>3.0.CO;2-4).

Pinto, P. and Dougados, M. (2006) 'Leflunomide in clinical practice.', *Acta reumatológica portuguesa*. Available at: <https://doi.org/10.14412/1996-7012-2014-1-59-63>.

Pollara, G. *et al.* (2005) 'Dendritic cells in viral pathogenesis: Protective or defective?', *International Journal of Experimental Pathology*, pp. 187–204. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.0959-9673.2005.00440.x>.

Rahman, S., Khan, Z.K. and Jain, P. (2011) 'The tug-of-war between dendritic cells and human chronic viruses', *International Reviews of Immunology*. Available at: <https://doi.org/10.3109/08830185.2011.561506>.

- Randhawa, P. *et al.* (2015) 'Commercially available immunoglobulins contain virus neutralizing antibodies against all major genotypes of polyomavirus BK', *American Journal of Transplantation*, 15(4). Available at: <https://doi.org/10.1111/ajt.13083>.
- Ribeiro, A. *et al.* (2012) 'Activation of innate immune defense mechanisms contributes to polyomavirus BK-associated nephropathy', *Kidney International*, 81(1). Available at: <https://doi.org/10.1038/ki.2011.311>.
- Rubinstein, R., Pare, N. and Harley, E.H. (1987) 'Structure and function of the transcriptional control region of nonpassaged BK virus', *Journal of Virology*, 61(5). Available at: <https://doi.org/10.1128/jvi.61.5.1747-1750.1987>.
- Schachtner, T. *et al.* (2011) 'BK virus-specific immunity kinetics: A predictor of recovery from polyomavirus BK-associated nephropathy', *American Journal of Transplantation*, 11(11). Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2011.03693.x>.
- Schmidt, T. *et al.* (2014) 'BK polyomavirus-specific cellular immune responses are age-dependent and strongly correlate with phases of virus replication', *American Journal of Transplantation*, 14(6). Available at: <https://doi.org/10.1111/ajt.12689>.
- Seif, I., Khoury, G. and Dhar, R. (1979) 'The genome of human papovavirus BKV', *Cell*, 18(4). Available at: [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(79\)90209-5](https://doi.org/10.1016/0092-8674(79)90209-5).
- Sener, A. *et al.* (2006) 'Intravenous immunoglobulin as a treatment for BK virus associated nephropathy: One-year follow-up of renal allograft recipients', *Transplantation*, 81(1). Available at: <https://doi.org/10.1097/01.tp.0000181096.14257.c2>.
- Seo, G.J. *et al.* (2008) 'Evolutionarily Conserved Function of a Viral MicroRNA', *Journal of Virology*, 82(20). Available at: <https://doi.org/10.1128/jvi.01144-08>.
- Skoczylas, C., Henglein, B. and Rundell, K. (2005) 'PP2A-dependent transactivation of the cyclin A promoter by SV40 ST is mediated by a cell cycle-regulated E2F site', *Virology*, 332(2). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2004.12.017>.
- Šroller, V. *et al.* (2014) 'Seroprevalence rates of BKV, JCV, and MCPyV polyomaviruses in the general czech republic population', *Journal of Medical Virology*, 86(9). Available at: <https://doi.org/10.1002/jmv.23841>.
- Teschner, S. *et al.* (2009) 'Leflunomide Therapy for Polyomavirus-Induced Allograft Nephropathy: Efficient BK Virus Elimination Without Increased Risk of Rejection', *Transplantation Proceedings*, 41(6). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2009.06.099>.
- Tian, Y.C. *et al.* (2014) 'Polyomavirus BK-encoded microRNA suppresses autoregulation of viral replication', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 447(3). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.04.030>.
- Tognon, M. *et al.* (2003) 'Oncogenic transformation by BK virus and association with human tumors', *Oncogene*. Available at: <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206550>.
- Tong D, Miller J, Kokko Ket al., "Healthy individuals generate a predominantly CD4 cell reponse against polyomavirus BK," *American Journal of Transplantation*, vol. 5 (11):452, 2005.

- Trydzenskaya, H. *et al.* (2013) 'The genetic predisposition of natural killer cell to BK virus-associated nephropathy in renal transplant patients', *Kidney International*, 84(2). Available at: <https://doi.org/10.1038/ki.2013.59>.
- Turvey, S.E. and Broide, D.H. (2010) 'Innate immunity', *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2 SUPPL. 2). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.07.016>.
- Tzannou, I. *et al.* (2017) 'Off-the-shelf virus-specific T cells to treat BK virus, human herpesvirus 6, cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, and adenovirus infections after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation', *Journal of Clinical Oncology*, 35(31). Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.73.0655>.
- Vanchiere, J.A. *et al.* (2005) 'Frequent detection of polyomaviruses in stool samples from hospitalized children', *Journal of Infectious Diseases*, 192(4). Available at: <https://doi.org/10.1086/432076>.
- Wadei, H.M. *et al.* (2006) 'Kidney transplant function and histological clearance of virus following diagnosis of polyomavirus-associated nephropathy (PVAN)', *American Journal of Transplantation*, 6(5 I). Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2006.01296.x>.
- Wik, J.A. and Skálhegg, B.S. (2022) 'T Cell Metabolism in Infection', *Frontiers in Immunology*. Available at: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.840610>.
- Womer, K.L. *et al.* (2010) 'Dendritic cell deficiency associated with development of BK viremia and nephropathy in renal transplant recipients', *Transplantation*, 89(1). Available at: <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e3181bc6096>.
- Wunderink, H.F. *et al.* (2017) 'Stability of BK polyomavirus IgG seroreactivity and its correlation with preceding viremia', *Journal of Clinical Virology*, 90. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2017.03.015>.
- Wunderink, Herman F. *et al.* (2019) 'Development and evaluation of a BK polyomavirus serotyping assay using Luminex technology', *Journal of Clinical Virology*, 110. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2018.11.009>.
- Wunderink, H. F. *et al.* (2019) 'Source and relevance of the BK polyomavirus genotype for infection after kidney transplantation', *Open Forum Infectious Diseases*, 6(3). Available at: <https://doi.org/10.1093/ofid/ofz078>.
- Zhao, L. *et al.* (2016) 'Caveolin- and clathrin-independent entry of BKPyV into primary human proximal tubule epithelial cells', *Virology*, 492. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2016.02.007>.
- Zheng, H.Y. *et al.* (2007) 'Relationships between BK virus lineages and human populations', *Microbes and Infection*, 9(2). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2006.11.008>.
- Zhou, W. *et al.* (2007) 'Functional characterization of BK virus-specific CD4+ T cells with cytotoxic potential in seropositive adults', *Viral Immunology*, 20(3). Available at: <https://doi.org/10.1089/vim.2007.0030>.

