

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědná fakulta**

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



**Dominik Musil**

**Role JC viru v etiologii a léčbě roztroušené sklerózy**

The role of JC virus in etiology and therapy of multiple sclerosis

**Bakalářská práce**

Školitel: RNDr. Hana Španielová, Ph.D.

Praha, 2018

**Prohlášení:**

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

V Havlíčkově Brodě, 9.5. 2018

Podpis:

**Poděkování:**

Tímto bych chtěl poděkovat své školitelce RNDr. Haně Španielové Ph.D. za velikou trpělivost, cenné rady a podporu při psaní této práce. Chtěl bych také poděkovat svým blízkým za podporu nejen při studiu.

## **Abstrakt:**

JCPyV je lidský polyomavirus. Infekce způsobené tímto virem bývají mnohdy bez klinických příznaků a JCPyV u infikovaných osob perzistuje po celý život převážně v ledvinách. Nejzávažnější onemocnění způsobené JCPyV je progresivní multifokální leukoencefalopatie, které způsobuje závažné demyelinizace neuronů v mozku. Kromě toho, v posledních letech se ukazuje, že k rozvoji PML dochází u některých pacientů s roztroušenou sklerózou, kteří jsou léčeni pomocí monoklonální protilátky natalizumab (Tysabri). Tato práce se věnuje analýze souvislostí mezi virovou infekcí JCPyV a etiologií roztroušené sklerózy a progresivní multifokální leukoencefalopatie. Jako rizikové faktory, které napomáhají k propuknutí progresivní multifokální leukoencefalopatie u osob s roztroušenou sklerózou, léčených pomocí natalizumab, byly prokázány: délka užívání natalizumab, předchozí imunosupresivní léčba a přítomnost protilátek proti JCPyV. Kromě těchto rizikových faktorů bylo také prokázáno, že u osob s progresivní multifokální leukoencefalopatií dochází k mutacím v genomu viru v regulační oblasti, stejně tak i v sekvenci kódující hlavní kapsidový protein VP1. Obě tyto mutace mohou hrát roli v patogenesi progresivní multifokální leukoencefalopatie.

**Klíčová slova:** JC virus, roztroušená skleróza (RS), Tysabri (natalizumab), progresivní multifokální leukoencefalopatie (PML)

## **Abstrakt:**

JCPyV is a human polyomavirus. Infections caused by this type of virus is often without any clinical symptoms and JCPyV mostly persists in kidneys of human for the rest of the life. The most serious disease caused by the JCPyV is progressive multifocal leukoencephalopathy, which causes severe demyelination of neurons in the brain. Multiple sclerosis, as well as progressive multifocal leukoencephalopathy, is characterised by the demyelination of neurons. In the past few years, it was shown that the development of PML occurs in some patients who suffered from multiple sclerosis and who were treated with the monoclonal antibody called natalizumab (Tysabri). This text describes the analysis of the connection between viral infection of JCPyV and the etiology of multiple sclerosis and progressive multifocal leukoencephalopathy. As the risk factors for the progression of progressive multifocal leukoencephalopathy in natalizumab treated multiple sclerosis patients the duration of the use, previous immunosuppressant therapy and the presence of the anti-JCPyV antibodies have been demonstrated. In addition to these risk factors, it has also been demonstrated that the people with progressive multifocal leukoencephalopathy have mutations in the genome of virus in the regulatory region, as well as in the coding sequence for the major capsid protein VP1. Both of these mutations may play a role in the pathogenesis of progressive multifocal leukoencephalopathy.

**Key words:** JC virus, multiple sclerosis, Tysabri (natalizumab), progressive multifocal leukoencephalopathy (PML)

## Seznam zkratek:

Ab	protilátka
BKV	BK virus
CIS	klinicky izolovaný syndrom
CNS	centrální nervová soustava
CT sken	počítačová tomografie
D	kyselina asparagová
D66H	mutace asparagové kyseliny na histidin v pozici 66
dsDNA	dvojřetězcová molekula DNA
ER	endoplasmatické retikulum
H	histidin
HPyV2	Human polyomavirus 2 (lidský polyomavirus 2) neboli JCPyV
HEB	hematoencefalická bariéra
IFN	interferon
IL-2	interleukin 2
JCV	virus Johna Cunninghama neboli JCPyV
LT-Ag	velký T antigen
mAb	monoklonální protilátka
MRI	magnetická rezonance
NA	Natalizumab
NCCR	nekódující kontrolní oblast (z anglického non-coding control region)
ORF	otevřený čtecí rámec
ORI	replikační počátek
PML	progresivní multifokální leukoencefalopatie
PPRS	primárně progresivní roztroušená skleróza
PyV	polyomavirus
RRRS	relabující-remitující roztroušení skleróza
RS	roztroušená skleróza
SPRS	sekundárně progresivní roztroušená skleróza
ST-Ag	malý T antigen

T-ag	tumorogenní antigeny neboli T-antigeny
VLA-4	Very Late Antigen-4 neboli $\alpha 4\beta 1$ integrin
5HT <sub>2A</sub> , 5HT <sub>2B</sub> , 5HT <sub>2C</sub>	5-hydroxytrypaminový 2 receptor
[(A) <sub>n</sub> ]	polyadenylovány konec

## **Obsah**

1. Úvod.....	1
2. JCPyV .....	2
3. Polyomaviridae .....	3
3.1. Klasifikace JCPyV.....	3
3.2. Struktura virionu JCPyV .....	4
3.3. Genom JCPyV .....	4
3.4. Životní cyklus JCPyV.....	5
4. Progresivní multifokální leukoencefalopatie .....	7
5. Roztroušená skleróza .....	10
6. Léčba a léky .....	13
6.1. Natalizumab.....	13
6.2. Další léky s podobným účinkem jako NA.....	14
7. Spojitost mezi JCPyV, PML a RS .....	16
8. Závěr .....	20
Seznam použité literatury.....	21

## **1. Úvod**

JCPyV je lidský neurotropní polyomavirus, který po vstupu do lidského organismu může perzistovat latentně po celý život v mandlích, kostní dřeni nebo převážně v ledvinách. Výskyt tohoto viru je v lidské populaci odhadován na 60 – 80 % (Alvarez-Lafuente et al., 2007; Bozic et al., 2014), kde infekce jsou často bezpříznakové, nicméně u osob s oslabeným imunitním systémem může způsobovat progresivní multifokální leukoencefalopatii (PML). V poslední době dochází k rozvoji PML u osob s roztroušenou sklerózou (RS), které jsou léčeny pomocí natalizumab. Natalizumab je monoklonální protilátka proti  $\alpha 4$  podjednotkám integrinů na leukocytech, kterým zabráňuje v překonání hematoencefalické bariéry a následnému ničení myelinu. Roztroušená skleróza i progresivní multifokální leukoencefalopatie jsou závažná onemocnění, která napadají převážně mozek a centrální nervovou soustavu (CNS) a způsobují demyelinizaci neuronů. Kromě toho, že pro PML jsou typické mutace v JCPyV genomu, existují také faktory, které zvyšují riziko propuknutí PML u osob s roztroušenou sklerózou, léčených pomocí natalizumab.

Hlavním cílem této bakalářské práce je zjistit, jaká je souvislost mezi virovou infekcí JCPyV, etiologií roztroušené sklerózy a progresivní multifokální leukoencefalopatií, a jakou roli zde hraje právě JCPyV.

## **2. JCPyV**

JCPyV, někdy též označovaný jako JC virus (JCV), je lidský neurotropní virus polyomavirus (PyV), jehož prevalence je v lidské populaci mezi 60 % až 80 % (Alvarez-Lafuente et al., 2007; Bozic et al., 2014). JCPyV byl poprvé izolován v roce 1971 (Padgett et al., 1971) od pacienta Johna Cunninghama, z jehož iniciál získal své pojmenování. Prevalence protilátek proti JCPyV stoupá s věkem a je vyšší u mužů než u žen (Brandstadter a Katz Sand, 2017). K primární infekci JC viru dochází často v dětství či v dospívání. Infekce bývá typicky asymptomatická či mírně symptomatická, za předpokladu, že nakažená osoba nemá oslabený imunitní systém. U osob nakažených JCPyV může dojít k virové infekci a poté JCPyV zůstává u nakažené osoby po celý život (Clerico et al., 2017).

JCPyV vstupuje do lidského organismu po požití či po vdechnutí infekční virové částice. Tento kontakt může vést k subklinické infekci, která vyvolá tvorbu protilátek a buněčnou imunitní odpověď (Padgett a Walker, 1973; Taguchi et al., 1982). Poté, co se JCPyV dostane do lidského organismu, může infikovat ledviny, kde vytváří latenci. Kromě toho, že JCPyV perzistuje v ledvinách, napadá také mandle, kostní dřeň a lymfatické orgány (Chesters et al., 1983). Virová DNA byla ale také detekována v gliových buňkách mozku, stromálních buňkách a B-lymfocytech (Monaco et al., 1998).

Nejzávažnějším onemocněním, které JCPyV způsobuje, je progresivní multifokální leukoencefalopatie (PML). V poslední době se zjišťuje, že JCPyV může způsobovat další onemocnění jako jsou encefalitidy či nádory tlustého střeva (Theodoropoulos et al., 2005). Kromě toho, JCPyV může také způsobit infekci u osob, které podstoupili transplantaci orgánů.

### **3. Polyomaviridae**

#### **3.1. Klasifikace JCPyV**

JCPyV je lidský, dvojřetězcový DNA (dsDNA), virus z čeledi Polyomaviridae. Podle Mezinárodního výboru pro klasifikaci virů patří JCPyV do rodu Polyomavirus, který je dále rozdělen na druhy *Alfapolyomavirus*, *Betapolyomavirus*, *Gammapolyomavirus* a *Deltapolyomavirus*. JCPyV patří spolu s BK virem (BKV) mezi *Betapolyomavirus*. Viry, řazeny mezi tento druh, mohou napadat různé organismy jako jsou savci, ptáci nebo i člověk. Kromě JCPyV jsou zde přítomné ještě další 3 lidské viry (viz. *Tabulka č. 1 – Lidské polyomaviry*). JCPyV bývá také označován jako lidský polyomavirus 2 (HPyV2).

<i>Název</i>	<i>Zkratka</i>	<i>Název viru</i>	<i>Zkratka viru</i>	<i>Druh</i>
Lidský polyomavirus 1	HPyV1	BK polyomavirus	BKV; BKPyV	<i>Betapolyomavirus</i>
Lidský polyomavirus 2	HPyV2	JC Polyomavirus	JCV; JCPyV	<i>Betapolyomavirus</i>
Lidský polyomavirus 3	HPyV3	KI polyomavirus	KIPyV	<i>Betapolyomavirus</i>
Lidský polyomavirus 4	HPyV4	WU polyomavirus	WUPyV	<i>Betapolyomavirus</i>
Lidský polyomavirus 5	HPyV5	Merkel cell polyomavirus	MCPyV	<i>Alfapolyomavirus</i>
Lidský polyomavirus 6	HPyV6	Lidský polyomavirus 6	HPyV6	<i>Deltapolyomavirus</i>
Lidský polyomavirus 7	HPyV7	Lidský polyomavirus 7	HPyV7	<i>Deltapolyomavirus</i>
Lidský polyomavirus 8	HPyV8	Trichodyspasia spinulosa virus	TSPyV	<i>Alfapolyomavirus</i>
Lidský polyomavirus 9	HPyV9	Lidský polyomavirus 9	HPyV9	<i>Alfapolyomavirus</i>
Lidský polyomavirus 10	HPyV10	MW polyomavirus	MWPyV	<i>Deltapolyomavirus</i>
Lidský polyomavirus 11	HPyV11	STL polyomavirus	STLPyV	<i>Deltapolyomavirus</i>
Lidský polyomavirus 12	HPyV12	Lidský polyomavirus 12	HPyV12	<i>Alfapolyomavirus</i>
Lidský polyomavirus 13	HPyV13	New Jersey polyomavirus	NJPyV	<i>Alfapolyomavirus</i>

*Tabulka č. 1 – Lidské polyomaviry, převzato a zpracováno podle informací Mezinárodního výboru pro klasifikaci virů*

### 3.2. Struktura virionu JCPyV

JCPyV je neobalený virus rezistentní k rozpouštědlům lipidů a k vyšším teplotám. Jeho genom je uložený ve virové kapsidě, která má v průměru kolem 45 nanometrů. Tato kapsida, vykazující ikosahedrální symetrii ( $T = 7$ ), je složena ze tří kapsidových proteinů VP1, VP2 a VP3. Hlavní komponenta virových kapsid, VP1 je tvořena ze 72 kapsomer. Sekvence VP2 a VP3 jsou ze dvou třetin identické, nicméně sekvence VP2 je delší. Jak VP2, tak i VP3 jsou schované uvnitř pentameru VP1, který má flexibilní C konec.

### 3.3. Genom JCPyV

Polyomaviry mají kruhovou, kovalentně uzavřenou dvojřetězcovou DNA v kondenzovaném stavu s buněčnými histony H2A, H2B, H3 a H4. Tyto buněčné histony formují minichromosom (Ferency et al., 2012), kde každý minichromosom obsahuje 25 nukleosomů volně rozprostřených bez histonu H1, který je vytěsněn zřejmě VP1 (Ambrose et al., 1990). Velikost genomu JCPyV je 5130 bp. Stejně jako u jiných polyomavirů, genom obsahuje oblasti kódující časné a pozdní geny, oddělené nekódující kontrolní oblastí (dále NCCR z anglického non-coding control region). NCCR se skládá z replikačního počátku (ORI) a transkripčních elementů, kterými jsou enhancery a promotory.

Nepatogenní JCPyV, který latentně perzistuje například v ledvinách a není spojován s patologií viru, obsahuje NCCR oblast, nazývanou jako archetyp. Tato archetypní neboli původní oblast obsahující ORI a transkripční elementy se skládá zhruba z 267 nukleotidů, které jsou uspořádané do a, b, c, d, e, f sekvencí (Ferency et al., 2012; Ryschkewitsch et al., 2013) (viz. *Obrázek č. 1 – Genom JCPyV*).

Mezi časné geny jsou řazeny nestrukturní tumorogenní antigeny (T antigeny), kterými jsou velký T antigen (LT-Ag) a malý T antigen (ST-Ag). Kromě toho jsou zde také sestřihové varianty T antigenů  $T'_{135}$ ,  $T'_{136}$  a  $T'_{165}$  (Frisque, 2001; Tyagarajan a Frisque, 2006). Tato časná oblast je transkribována ihned po vstupu viru do jádra infikované buňky. Po replikaci virové DNA dochází k transkripci i pozdní části genomu, která obsahuje geny pro kapsidové proteiny VP1, VP2 a VP3. Bylo objeveno, že genom JCPyV obsahuje také sekvenci pro VP4 (Ehlers a Moens, 2014). Nicméně tato oblast pro VP4 je málo prozkoumána a je potřeba další výzkum.

Nejdůležitější z T antigenů je LT-Ag, který hraje hlavní roli, jak v replikaci a transkripci virového genomu, tak i v deregulaci buněčných kontrolních systémů (Prins a Frisque, 2001). LT-Ag také reguluje přepnutí z časné na pozdní transkripci. V těchto procesech jsou zapojeny také sestřihované varianty. Naopak kapsidové proteiny VP1, 2 a 3 mají zásadní vliv při tvorbě kapsidy, neboť se jedná o její strukturní složky. JCPyV obsahuje ve svém genomu také

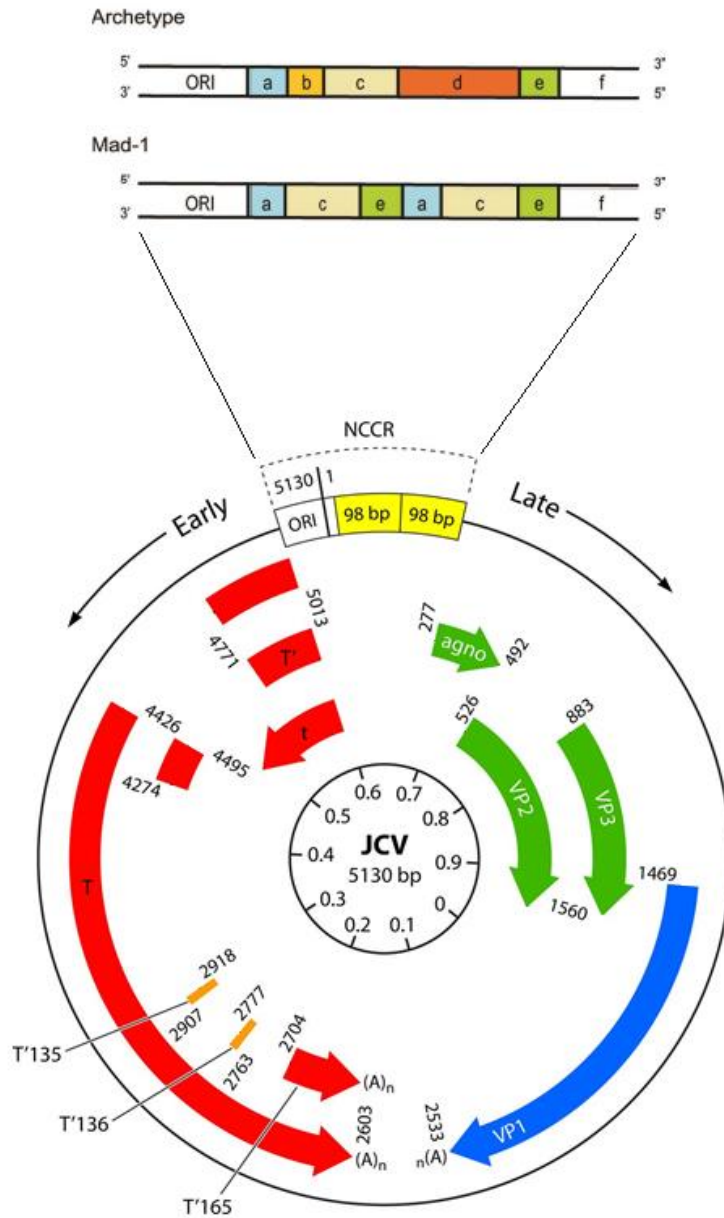
Agnoprotein. Tento malý pomocný protein exprimovaný během pozdní fáze buněčného cyklu, hraje roli při replikaci a transkripci virové DNA u JCPyV. Podílí se také na deregulaci buněčného cyklu, je zapojen ve virové propagaci a uvolnění virionů z buněk, a působí jako viroporin (Suzuki et al., 2010).

### 3.4. Životní cyklus JCPyV

Životní cyklus lze rozdělit na tři části; časná fáze, replikace virové DNA a pozdní fáze. Během časné fáze dochází k přichycení viru k hostitelské buňce, jeho vstupu do jádra a exprese časných genů. Po replikaci virové DNA dochází k expresi pozdních genů a morfogenezi virionů, které na konci pozdní fáze opouštějí buňku.

Pro přichycení na hostitelskou buňku využívá JCPyV  $\alpha$ 2,6-vázanou kyselinu sialovou na glykanový receptor a 5-hydroxytryptamin 2 serotoninový receptor (5HT<sub>2A</sub>, 5HT<sub>2B</sub>, 5HT<sub>2C</sub>) (Elphick et al., 2004). VP1 umožní přichycení virionu na receptor hostitelské buňky a následně pro vstup do buňky je využita endocytóza využívající klathrinové váčky. Pomocí klathrinové endocytózy se virus dostává nejprve do Rab5<sup>+</sup> časného endosomu (Pho et al., 2000) a poté do endoplasmatického retikula (ER). Z ER putuje přes cytosol pomocí mikrotubulů a mikrofilament do buněčného jádra (Ashok a Atwood, 2003). Ještě, ale před vstupem do buněčného jádra, proběhne, zřejmě vlivem nízké koncentrace vápenatých iontů v cytoplasmě, rozvolnění virové kapsidy. Kromě toho, pro vstup do jádra je také vyžadován jaderný lokalizační signál na VP1 (Qu et al., 2004), a poté už v jádře dochází k expresi časných genů T antigenů JCPyV. Po translaci T antigenů dochází k semikonzervativní dvousměrné replikaci a namnožení virové DNA hostitelským systémem. Po replikaci je dalším krokem transkripce pozdních genů VP1, VP2 a VP3.

Posledním krokem před tím, než nové viriony opustí hostitelskou buňku, je morfogeneze. Tento proces probíhá ještě v jádře hostitelské buňky a během něho dochází k uložení nově nasynthetizované virové dsDNA do nově sestavovaných kapsomer, které jsou složeny ze strukturních proteinů. Poté nová kompletní virová částice opouští hostitelskou buňku. Mechanismus opuštění zůstává stále nejasný, nicméně by v tomto procesu mohl hrát roli agnoprotein (Suzuki et al., 2010).



**Obrázek č. 1 – Genom JCPyV**

Obrázek schematicky zobrazuje genom JCPyV. Velikost kruhového genomu je 5130 bp a kóduje 9 proteinů; velký T-antigen (LT-Ag), malý T-antigen (ST-Ag), sestřihované varianty T-antigenu T'135, T'136, T'165, kapsidové proteiny VP1, VP2, VP3 a agnoprotein. Nahoře je nekódující kontrolní oblast (NCCR) složená z počátku replikace (ORI) a transkripčních elementů. Počáteční otevřený čtecí rámeček (ORF) vychází z NCCR v proti směru hodinových ručiček, zobrazující oblast výskytu genů pro antigeny a ve směru hodinových ručiček vychází pozdní ORF, zobrazující polohu genů kódující kapsidové proteiny. Jsou zde také místa začátku a konce syntézy. Transkripty jsou polyadenylovány [(A)<sub>n</sub>]. Nad genomem je popsána oblast NCCR u archetypu a prototypu Mad-1 zobrazující rozdílné uspořádání sekvencí v těchto dvou oblastech.

Obrázek převzat a upraven od Ferenczy et al. (2012).

#### **4. Progresivní multifokální leukoencefalopatie**

Progresivní multifokální leukoencefalopatie (PML) je mimořádně vzácné demyelinizační infekční onemocnění, způsobené JCPyV. Poprvé byla popsána v roce 1958 u pacientů s lymfoproliferačními poruchami B lymfocytů (chronickou lymfatickou leukémií). Svě pojmenování získala pro patologický popis velkých plaků myelinu, rozpadajících se v subkortikální bílé hmotě mozku (Astrom et al., 1958). Prevalence PML se odhaduje kolem 0,2 nakažených na 100 000 osob s autoimunitním onemocněním (Ferency et al., 2012).

Mezi typické příznaky této nemoci patří kromě zhoršujícího se zánětu mozku, také hemiparéza, ataxie, zmatenost až demence a kognitivní disfunkce. Za tyto disfunkce jsou převážně považovány ztráta paměti, poruchy chování spolu s poruchami zraku (Williamson a Berger, 2017). U některých osob může dojít také k poruchám řeči či svalové slabosti, až dystrofii. Symptomy se mohou vyvinout během několika měsíců.

PML je nejčastěji detekována pomocí magnetické rezonance (MRI) (viz. *Obrázek č. 3 – Detekce PML pomocí MRI*). Díky její citlivosti lze na mozku v oblastech bílé hmoty detekovat léze (Williamson a Berger, 2017). Charakteristický obraz PML také vykazuje počítačová tomografie (CT sken).

Jak přesně souvisí rozvoj PML s biologií viru JCPyV není doposud zcela zřejmé. Předpokládá se, že JCPyV, který perzistuje latentně v ledvinách, může za určitých podmínek pronikat do lymfatických tkání a kostní dřeni. Pokud u osob, u kterých je přítomna latentní forma JCPyV, dojde k oslabení imunitního systému, může u nich dojít k reaktivaci viru. Předpokládá se, že právě imunosuprese má vliv na reaktivaci JCPyV. V kostní dřeni se mohou virem infikovat CD34+ buňky, které poté migrují do periferní cirkulace. Zde se CD34+ buňky diferenciují na B buňky, které obsahují JCPyV. B buňky se poté krví dostanou do mozku, kde překonávají hematoencefalickou bariéru a napadají myelin spolu oligodendrocyty a astrocyty (Chalkias et al., 2014; Chapagain a Nerurkar, 2010; Ferency et al., 2012; Houff et al., 1989; Kunitake et al., 1995; Marzocchetti et al., 2009). Po napadení myelinu, oligodendrocytů a astrocytů, dochází k jejich demyelinizaci a propuknutí PML. Z tohoto je patrné, proč je PML považována za oportunistickou infekci vyvolanou JCPyV, protože se projevuje v období lidské imunosuprese. Imunosuprese nastává například během roztroušené sklerózy, ale také u pacientů s HIV, Hodgkinovým lymfomem nebo u osob, které prodělali transplantaci orgánů.

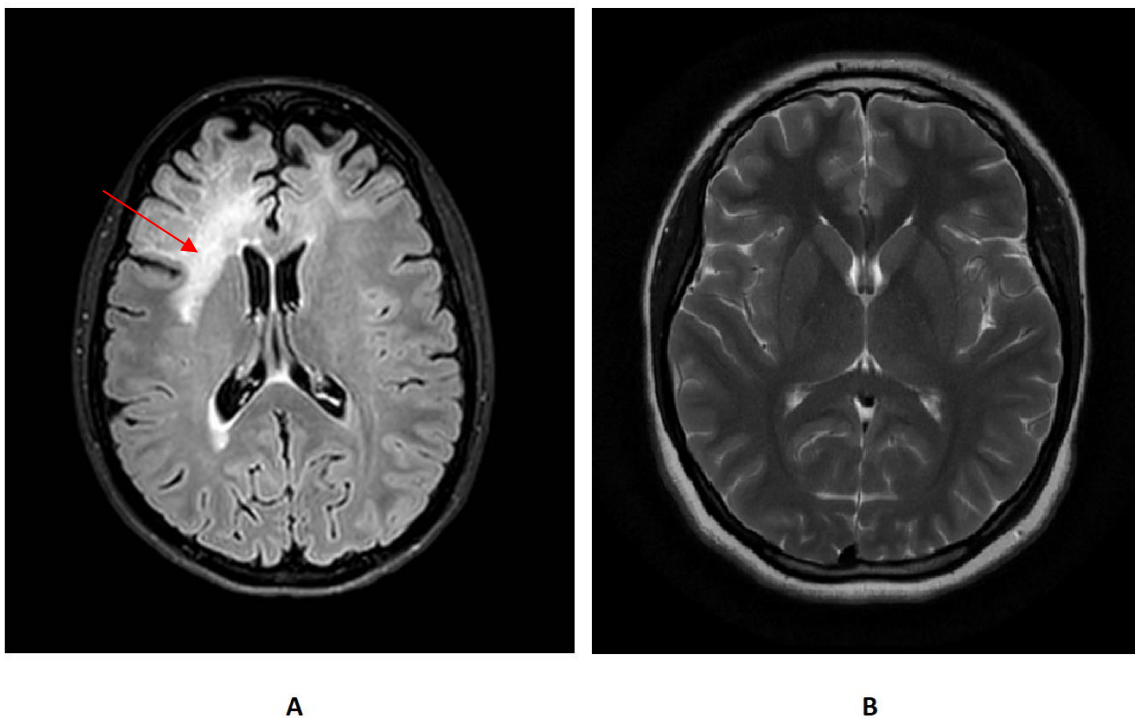
Při rozvoji PML může sehrát roli i genetická variabilita viru. Existuje hypotéza, že při diferenciaci JCPyV infikovaných CD34+ buněk na B buňky, dochází také k přeuspořádání

virového genomu v oblasti NCCR (Van Loy et al., 2014). Jak již bylo zmíněno, NCCR oblast u nepatogenního archetypu JCPyV obsahuje ORI a transkripční elementy, které jsou uspořádány v sekvenci *a, b, c, d, e* a *f*.

Nicméně, u osob trpících progresivní multifokální leukoencefalopatií, byla objevena zmutovaná forma archetypu NCCR, která má nukleotidy uspořádané v sekvenci *a, c, e, a, c, e, f*. Tato zmutovaná forma NCCR obsahuje dvě 98 nukleotidové repetice, kde každá má kompletní TATA box (Monaco et al., 1998). Mimoto bylo zjištěno, že zmutovaná forma neobsahuje 23 a 66 bp vložené nukleotidy v porovnání s archetypem (Pfister et al., 2001). Tato zmutovaná forma neboli prototyp, je pojmenována jako Mad-1, protože byla izolována na Univerzitě ve Wisconsinu – Madison. Byly izolovány i další mutované sekvence archetypu NCCR, nazývané jako Mad-2, Mad-3 a podobně, které se od Mad-1 liší pouze v jiném zastoupení nukleotidů (Monaco et al., 1998). Tyto Mad- mutace jsou detekovány v mozku a mozkomíšní tekutině u osob s PML, zatímco archetyp bývá detekován pouze v moči a bývá velmi vzácně spojován s PML (Ryschkewitsch et al., 2013). Kromě toho, přeuspořádání v NCCR oblasti zvyšuje expresi časných virových genů a podporuje vyšší rychlost virové replikace v gliových buňkách (Van Loy et al., 2014). Předpokládá se, že toto přeuspořádání genomu v NCCR oblasti, vyskytující se během období imunosuprese, vede k šíření viru do CNS a vývoji PML (Pfister et al., 2001).

U osob infikovaných PML byly také objeveny mutace ve VP1. Přestože je již existence těchto mutací známa, Chalkias a spolupracovníci v roce 2018 detekovali mutace v genomu pro VP1 (Chalkias et al., 2018). Jednalo se o 24 nukleotidových substitucí, kde 12 z těchto mutací je spojeno se změnou aminokyseliny. Nejčastěji byla u osob s PML detekována změna asparagové kyseliny (D) na histidin (H) v poloze 66 (D66H). Tato D66H mutace je podle autorů spojována se zvýšeným tropismem JCPyV a fitness výhodou oproti jiným variantám VP1. Kromě toho, Chalkias a spolupracovníci také detekovali 1 missense mutaci ve VP2 a 1 nonsense mutaci ve VP3 (Chalkias et al., 2018). I další autoři podporují myšlenku, že mutace v genomu pro VP1 zvyšuje riziko propuknutí PML (Gorelik et al., 2011; Sunyaev et al., 2009).

Uspokojivá léčba proti PML v současné době chybí, přestože byly v minulosti vyzkoušeny různé preparáty. Jednou z možností je použití interleukin 2 (IL-2), který podporuje růst T, B a NK buněk. Využívány jsou také interferony (IFN), nicméně ty mají zatím pouze teoretický potenciál, protože důkazy na podporu jejich účinku chybí (Williamson a Berger, 2017). I přes veškeré vynaložené úsilí PML, v 22 – 23 % všech případů léčba končí smrtí pacienta (Bloomgren et al., 2012; Singer, 2017).



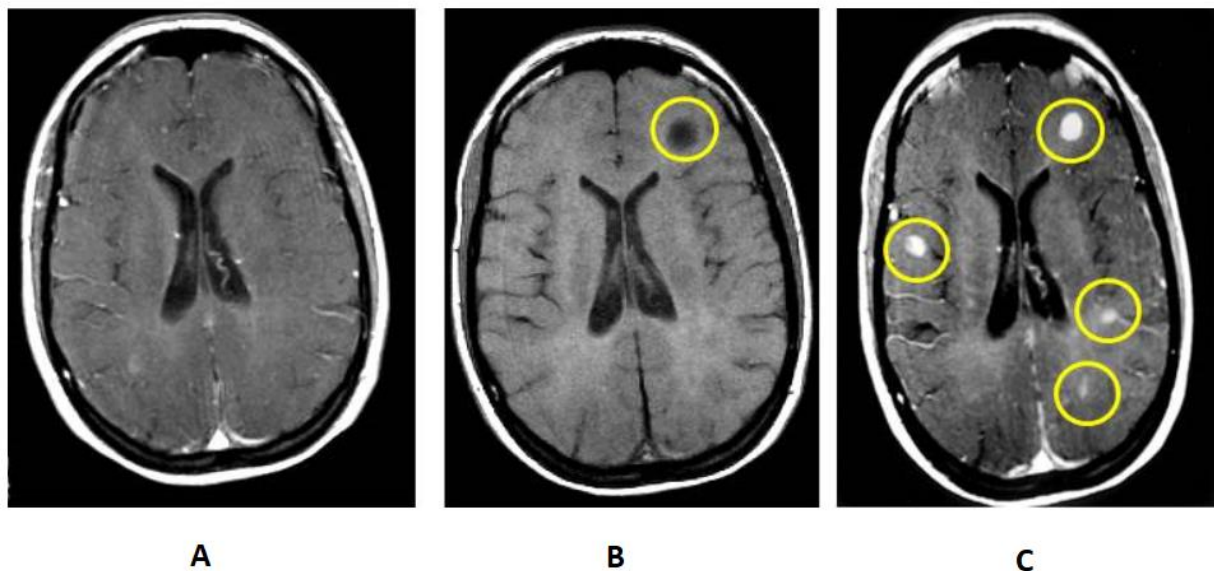
**Obrázek č. 2 – Detekce PML pomocí MRI**

Obrázek A) zobrazuje mozek osoby s PML, kde bílá místa, vyznačeny šipkou, ukazují výskyt infekce

Obrázek B) zobrazuje mozek zdravé osoby

Oba obrázky byly detekovány pomocí MRI.

Obrázky převzaty a upraveny od [neurosciencenews.com](http://neurosciencenews.com) a [radiopaedia.org](http://radiopaedia.org)



**Obrázek č. 3 – Detekce RS pomocí MRI**

Obrázek A) zobrazuje mozek zdravé osoby, Obrázek B) zobrazuje mozek osoby s RS se starší lézí

Obrázek C) zobrazuje mozek osoby s RS s novými lézemi. Všechny viditelné léze jsou ohraničeny žlutě.

Obrázky byly detekovány pomocí MRI.

Obrázky převzaty a upraveny od [multiple-sclerosis-research.blogspot.com](http://multiple-sclerosis-research.blogspot.com)

## **5. Roztroušená skleróza**

Roztroušená skleróza (RS) je považována za vážné autoimunitní onemocnění, postihující jakékoli oblasti centrální nervové soustavy, převážně ale mozek a míchu (Doshi a Chataway, 2016). Je odhadováno, že momentálně je roztroušenou sklerózou postiženo 2,3 až 2,5 milionů světové populace s průměrným výskytem 50 - 300 osob na 100 000 obyvatel (Browne et al., 2014). Například dle Doshi a Chataway (2016), je jenom v Evropě výskyt RS 108 postižených osob na 100 000 obyvatel, zatímco v Kanadě tato hodnota dosahuje až 340 osob na 100 000 obyvatel.

Roztroušená skleróza se může projevit prakticky v jakémkoliv věku, nicméně riziko propuknutí je nejvyšší u dospívajících a mladých lidí ve věku od 20 do 40 let. Kromě toho, v posledních letech došlo k dramatickému nárůstu nemoci u žen (Thompson et al., 2018), kde ženy jsou postihovány dvakrát až třikrát častěji než muži. Další zajímavostí je, že podle Thompson et al. (2018) prevalence choroby klesá směrem k rovníku.

Roztroušená skleróza má mnoho symptomů, které ji charakterizují. Nicméně jsou značně nepředvídatelné a u každé osoby se projevují odlišně. Mezi základní charakteristiky onemocnění patří únava, deprese, poruchy kognitivních funkcí a další poruchy, jako jsou například poruchy močového měchýře, hybnosti a potíže s výslovností (Dendrou et al., 2015). Dalšími typickými symptomy jsou poruchy zraku, jako například optická neuritida, nebo poruchy chůze, necitlivost svalů a brnění. U mnohých pacientů s RS se vyskytuje také Uhthoffův a Lhermittův příznak. Tyto příznaky způsobují, že postižené osoby mají výraznou citlivost ke zvýšené tělesné teplotě a pocit elektrických výbojů na páteři (Doshi a Chataway, 2016). Propuknutí těchto symptomů může být způsobeno přerušáním či snížením velikosti přenosu nervového impulsu způsobeného demyelinizací.

Je zde také několik faktorů, které výrazným způsobem ovlivňují výskyt a propuknutí roztroušené sklerózy v lidské populaci. Přestože původ nemoci není plně objasněn, vědci se shodují, že vliv mají genetické, imunologické a environmentální faktory spolu s životním stylem.

Mezi rizikové faktory patří nízká hladina vitamínu D v těle, kouření, obezita a nedostatek pohybu. Spolu s dědičností tyto faktory přispívají k propuknutí a výskytu RS (Doshi a Chataway, 2016; Thompson et al., 2018).

V patogenezi roztroušené sklerózy hraje také roli autoimunitní zánět (Loma a Heyman, 2011). Při vzniku tohoto zánětu má zásadní vliv imunitní systém, kde klíčovou roli hraje diferenciací T lymfocytů na Th1 a Th2 buňky, protože právě tato diferenciací podporuje zánět (Gandhi et al., 2010).

Při RS probíhá aktivace buněk imunitního systému, které migrují krevním řečištěm. Tyto buňky, jako jsou leukocyty, rozpoznávají molekuly na vlastních tkáních jako cizí, a protože je považují za patogenní, zahajují jejich destrukci. Při RS T lymfocyty reagují proti myelinu.

Pro překonání hematoencefalické bariéry (HEB) mají T lymfocyty na svém povrchu  $\alpha 4$  integrin, pomocí kterého se váží na VCAM-1 povrchové receptory endoteliálních buněk. Pokud se lymfocyty dostanou do mozku a budou chtít překonat HEB,  $\alpha 4$  integrin lymfocytů vytvoří vazbu s VCAM-1 receptorem na povrchu endoteliálních buněk. Pro překonání HEB využívají lymfocyty také proteolytické enzymy a jejich pohyb v CNS je řízen prostřednictvím cytokinů, které jsou tvořeny především buňkami imunitního systému (Pavelek a Krejsek, n.d.). Následně dochází k napadání myelinu spolu s oligodendrocyty a astrocyty. Důsledkem napadání myelinu T lymfocyty je demyelinizace, která vede k tvorbě lézí na neuronech, které jsou charakteristickým znakem roztroušené sklerózy (Dendrou et al., 2015). Podle typu těchto lézí je také možné charakterizovat subtypy této nemoci.

Mezi jednotlivé subtypy RS patří relabující-remitující roztroušená skleróza (RRRS), primárně progresivní roztroušená skleróza (PPRS) a sekundárně progresivní roztroušená skleróza (SPRS) (Thompson et al., 2018). Tyto jednotlivé formy mohou být rozpoznány podle vzniku lézí, které vznikají převážně v oblastech výskytu neuronů. Na základě popisu průběhu jednotlivých fází se může vyskytovat i pre-symptomatické onemocnění roztroušené sklerózy (Dendrou et al., 2015). Někdy je pre-symptomatické onemocnění RS označováno jako klinicky izolovaný syndrom (CIS) (Doshi a Chataway, 2016).

Mezi nejběžnější formu onemocnění patří relabující-remitující roztroušená skleróza. Touto formou onemocnění trpí zhruba 85 % osob s RS a je charakterizována nepředvídatelnými přerušovanými relapsy a následným částečným navrácením neurologických symptomů do původního stavu (Hawker, 2011). Relaps je popisován jako období, při kterém dochází ke vzniku „ataků“, respektive dochází k projevení jednotlivých symptomů charakterizující RS. Ataky mohou trvat po různě dlouhou dobu a jejich četnost a závažnost je u každé osoby s RS různě dlouhá (Dendrou et al., 2015). Naopak remise je charakteristická vymizením symptomů a navrácením pacienta do relativně původního stavu, kde může docházet i k regeneraci některých demyelinizačních oblastí. Doba mezi jednotlivými relapsy může být různě dlouhá,

nicméně postupem času relapsů přibývá a možnost regenerace se snižuje (Hawker, 2011). Pacienti, kteří už měli minimálně dvě relapse, jsou označováni, že mají relabující-remitující formu RS (Thompson et al., 2018). Zhruba u 10–15 % pacientů se vyvine progresivní forma, označována jako primární progresivní roztroušená skleróza, která může převládat u starší části populace. Zde už jsou symptomy relativně trvalé a bez relapsů, s vysokým rizikem invalidity (Doshi a Chataway, 2016). Naopak až u 80 % osob se vyvine sekundárně progresivní roztroušená skleróza, která může být způsobena neléčením, nebo k ní může docházet, když organismus zcela vyčerpá svou schopnost regenerace a dojde k pravděpodobnému zhoršení stavu axonů. Tato forma se projeví asi po deseti až patnácti letech RRRS a je charakterizována dalším poškození axonů a atrofií v hnědé i bílé mozkové kůře, která je náchylnější k neurodegeneraci (Eriksson et al., 2003; Lassmann et al., 2012).

Roztroušenou sklerózu je možné detekovat pomocí různých metod. Mezi základní metodu, stejně jako u PML, patří MRI, pomocí které jsou detekovány léze v oblasti demyelinizovaných neuronů (viz. *Obrázek č. 3 – Detekce RS pomocí MRI*). Další možností je také detekce nervového potenciálu, který detekuje různé zpoždění převodů signálu, pokud je poškozen myelin.

V současné době se v léčbě roztroušené sklerózy využívá široké spektrum léků. Mezi nejběžněji používané léčebné prostředky patří například glatiramer acetát nebo interferon beta, který je spolu s mitoxantron (Novantrone) nejběžněji používán v Evropě proti RS (Hawker, 2011).

Existuje i další významná skupina léčiv, která jsou velmi účinná v léčbě RS, nicméně tyto léky vyvolávají závažné vedlejší efekty (Doshi and Chataway, 2016).

Jedním z nejznámějších léků této skupiny je natalizumab (Tysabri).

## **6. Léčba a léky**

### **6.1 Natalizumab**

Jednu z nejúčinnějších látek v léčbě roztroušené sklerózy je již výše zmíněný natalizumab (NA). NA (Tysabri®; Biogen Idec/Elan, Cambridge, MA, USA) je humanizovaná monoklonální protilátka (mAb) proti  $\alpha 4$  podjednotce  $\alpha 4\beta 1$  a  $\alpha 4\beta 7$  integrinů leukocytů (Brandstadter a Katz Sand, 2017; Lanza Cariccio et al., 2018).

NA inhibuje asociaci integrinů na povrchu leukocytů s receptory endoteliálních buněk a znemožňuje leukocytům migrovat z krve do mozku, takže dochází k redukci zánětů, stejně tak i symptomů RS (Harrer et al., 2011). Jeho hlavní využití je v léčbě proti relabující-remitující formě roztroušené sklerózy, nicméně natalizumab může být použit i v léčbě jiných onemocnění jako jsou Crohnova choroba, Bechtěrevova nemoc, revmatoidní artritida nebo proti různým psoriázám (Bellizzi et al., 2013; Bozic et al., 2014).

Mechanismus působení NA je spojen s omezením přístupu buněk imunitního systému do mozku. Jak již bylo zmíněno, aktivované buňky imunitního systému při RS migrují krevním řečištěm. Jakmile se dostanou do mozku, tyto imunitní buňky překonají HEB a dostávají se k neuronům, kterým ničí myelin. Všechny leukocyty, jako jsou v tomto případě například T lymfocyty, mají na svém povrchu  $\alpha 4$  integrin, který se váže na VCAM-1 povrchový receptor endoteliálních buněk cév. Po navázání integrinu na receptor, překonají imunitní buňky HEB a napadají neurony. Natalizumab funguje tak, že se naváže na  $\alpha 4$  podjednotku  $\alpha 4\beta 1$  a  $\alpha 4\beta 7$  integrinů (VLA-4) na povrchu leukocytů a tím jim zabrání vytvořit vazbu s adhezivním VCAM-1 receptorem endoteliálních buněk (Bellizzi et al., 2013; Clerico et al., 2017; Harrer et al., 2011; Nicholas et al., 2014; Singer, 2017). NA tedy inhibuje migraci leukocytů do mozku, čímž se aktivované T lymfocyty nedostanou do CNS a dochází tak k redukci zánětů spojených s demyelinizací mozkové tkáně (Houff a Berger, 2008).

Natalizumab také výrazně snižuje riziko celoživotního postižení u osob s roztroušenou sklerózou (da Silva et al., 2014). Bylo prokázáno, že NA snížil relapsy o 68 % během jednoho roku, došlo k zlepšení průběhu nemoci u 42 % osob a také, že léčba pomocí NA způsobila v 92 % snížení výskytu mozkových lézí (Singer, 2017). V jiné studii (Polman et al., 2006) NA snížil riziko postižení o 42-54 %. Rovněž je zajímavé, že dle informací v literatuře, je natalizumab v případě RS používán primárně v léčbě proti RRRS, protože tato forma RS je nejlépe ovlivnitelnou léčbou, zatímco zbylé formy jsou mnohem méně.

Přes všechny tyto úspěchy má natalizumab i negativní účinky. Jedním z nich je skutečnost, že u osob léčených pomocí NA byla prokázána úmrtnost 24 % (Reuwer et al., 2017). Nicméně, autor zde neuvádí, zda se jedná o přímý důsledek léčby, či zda na tato úmrtí mohou mít vliv nějaké možné další události či léky, které byly používány spolu s natalizumab.

Druhým, a o to velice vážnějším důsledkem, je již výše zmíněné propuknutí progresivní multifokální leukoencefalopatie u osob s RS. Natalizumab byl poprvé schválen pro léčbu RS v roce 2004. V roce 2005 bylo ale použití NA v léčbě RS přerušeno z důvodu výskytu 3 případů PML (Bloomgren et al., 2012). NA byl znovu uveden v roce 2006 po ustanovení intenzivního rizikového programu, který měl za cíl kontrolovat a definovat bezpečnostní profil natalizumab (Clerico et al., 2017). Podle Bloomgren et al. (2012), v únoru roku 2012 bylo potvrzeno 212 případů PML u 99,571 osob léčených pomocí natalizumab. Tomuto odpovídá prevalence 2,1 případů na 1000 léčených osob. Podle Singer (2017), do února roku 2017 byl natalizumab použit celosvětově v léčbě u 167 300 osob. Z toho počtu léčených bylo potvrzeno 714 případů PML s prevalencí 4,27 případů na 1000 léčených osob. Z tohoto je patrné, že riziko výskytu PML se v posledních letech zvýšilo. Byly také provedeny další studie, jako například AFFIRM (Polman et al., 2006) či SENTINEL (Rudick et al., 2006), které získaly podobné výsledky. Nicméně nevýhodou těchto studií je, že počet testovaných osob je malý. Je zde ale také důležité, kolik dávek NA testované osoby dostávaly a také délka léčby, protože se prokazuje, že délka užívání NA je jedním z hlavních rizikových faktorů k propuknutí PML u RS pacientů (McGuigan et al., 2016).

I přes výše zmíněná negativa léčby, vyplývající z použití NA, natalizumab v současné době zůstává jednou z nejzásadnějších možností léčby v boji proti roztroušené skleróze.

## **6.2 Další léky s podobným účinkem jako NA**

Kromě NA, existují i další léky, které jsou používány v léčbě roztroušené sklerózy. Všechny tyto léky jsou relativně účinné, nicméně je zajímavé, že všechny mohou v různé míře vyvolávat vznik PML u osob s RRRS. Jedním z těchto léků je elifazumab, který je kromě léčby RS využit ještě také v léčbě psoriázy a stejně jako u NA, jeho hlavním vedlejším efektem je PML.

Mezi další léky patří například alemtuzumab, dimethyl fumarát, glukokortikoidy, fingolimod, rituximab a teriflunomid. Vlastnosti a rizika použití těchto látek jsou shrnuty v *Tabulce č. 2 – Popis a vlastnosti léčiv*.

Léčivo	Cíl léčby	Efekt na imunitní systém	Riziko PML
Alemtuzumab	Monoklonální protilátka proti CD52	Zvyšuje regulaci T buněk a Th2 buněk. Vede k dlouhotrvající lymfocytopenii. Způsobuje úbytek buněk s CD52 jako jsou neutrofilů, monocytů, T lymfocytů a maturující B lymfocytů	neznámé, výskyt PML popsán, ale ne u pacientů s RS
Dimethyl fumarát	Protizánětlivý a antioxidační stres. Má komplexní interakci pomocí široké škály v různých typech buněk	Snižuje počet CD4 – a CD8- pozitivních T buněk, má antiproliferační účinek na lymfocyty. Redukuje pohyb zánětlivých buněk skrz hematoencefalickou bariéru.	rostoucí, popsány případy u RS
Glukokortikoidy	Vazba na glukokortikoidní receptory exprimované na povrchu různých typů buněk	Způsobuje přechodnou leukocytózu, potlačuje zánět a obnovuje hematoencefalickou bariéru	rostoucí
Fingolimod	Receptorový antagonist a sfingosinu-1-fosfát	Sekvestrace lymfocytů v mízní uzlině. Sníží počet cirkulujících T a B lymfocytů	nízké, ale rostoucí
Rituximab	Monoklonální protilátka proti CD20	Způsobuje úbytek pozitivních CD20 pozitivních B buněk s dlouhotrvající životností.	nízké, ale rostoucí
Teriflunomid	Inhibuje syntézu pirimidinu <i>de novo</i>	Inhibuje proliferaci aktivovaných nebo replikujících se B lymfocytů a interferonů gama produkujících T lymfocytů.	neznámé, s pravděpodobným růstem

**Tabulka č. 2 – Popis a vlastnosti léčiv, zpracována podle Reuwer et al., 2017 a Winkelmann et al., 2016**

Navíc, podle Dendrou, Fugger a Friese (2015) léčiva jako ocrelizumab a rituximab efektivně redukuje počet relapsů. V léčbě roztroušené sklerózy, stejně jako u PML, mají vliv i interferony- $\beta$ , které snižují výskyt virového genomu v krvi u osob s RRRS (Delbue et al., 2008; Focosi et al., 2008).

## **7. Spojitost mezi JCPyV, PML a RS**

Je zajímavé, že z historického hlediska byl JCPyV považován za původce jak roztroušené sklerózy, tak i progresivní multifokální leukoencefalopatie (Altschuler, 2000). Jedním z důvodů pro tuto teorii byl fakt, že obě onemocnění mají některé rysy společné. Jedním ze společných znaků je poškozování myelinu, což vede k narušení přenosu nervových vzruchů a demyelinizaci. Na základě tohoto společného znaku Stoner udává, že vztah mezi RS a PML, kde obě jsou vyvolané virovou infekcí, by mohl být takový, že jeden virus může vyvolat dvě demyelinizační patogeneze, a že následná odpověď imunitního systému určuje typ patologie, která se projeví (Stoner G. L., 2009; Stoner et al., 1986).

V současné době bylo prokázáno, že JCPyV způsobuje pouze PML, zatímco infekční původce roztroušené sklerózy prokázán nebyl. Nicméně Geginat a spolupracovníci předpokládají, že v patogenezi RS mohou hrát roli virové infekce, včetně JCPyV (Geginat et al., 2017). Podle tohoto lze teoreticky usuzovat, že v patogenezi RS opravdu hraje roli i JCPyV.

Ačkoliv jsou virové infekce u roztroušené sklerózy málo prostudované, nelze tedy s jistotou říci, jakou roli JCPyV hraje v patogenezi RS. Na druhou stranu tuto hypotézu nelze ani vyloučit.

Přestože nelze potvrdit přímý vliv JCPyV na propuknutí RS, bylo ale potvrzeno, že JCPyV má vliv na propuknutí PML u osob trpících roztroušenou sklerózou. A právě jedním z rizikových faktorů, který zvyšuje riziko propuknutí PML u osob s RS, léčených pomocí NA, je přítomnost protilátek proti JCPyV (Plavina et al., 2014; Vennegoor et al., 2015).

Bylo prokázáno, že u osob, které nemají protilátky proti JCPyV, je riziko propuknutí PML minimální; incidence je 0,09 případů na 1000 léčených osob (Bellaguarda et al., 2015). Naopak u osob, které mají protilátky proti JCPyV, je riziko onemocnění PML vyšší: incidence je 11,1 nemocných na 1000 léčených osob (Bellaguarda et al., 2015). Z tohoto je jasně patrné, že osoby s protilátkami proti JCPyV mají riziko propuknutí PML více než 100x větší než osoby bez protilátek. Tento závěr podporuje i McGuigan et al. (2016) a další, kteří dospěli ke stejným hodnotám. Je ale potřeba brát v potaz, že do této vysoké hodnoty je také započtena délka užívání NA a předchozí imunosupresivní léčba. To ale neznamená, že u osob s roztroušenou sklerózou léčených NA, které nemají protilátky proti JCPyV, nemůže propuknout PML. Podle Ticha a spolupracovníků byly zaznamenány případy, kdy k tomuto došlo (Plavina et al., 2014).

Da Silva, Santos a Portuguese JEMS Study Investigators (2014) publikuje, že séroprevalence protilátek proti JCPyV je u osob s RS mezi 50 % až 90 % (da Silva et al., 2014).

Kromě toho, tito autoři uvádí, že séroprevalence protilátek proti JCPyV se liší s délkou léčby a na základě své studie odhadují prevalenci protilátek proti JCPyV u osob s RS na 69,5 %. Naopak podle Branca a spolupracovníků je průměrná séroprevalence JCPyV protilátek u dospělých osob s roztroušenou sklerózou 57,1 % (Paz et al., 2018). Tento závěr podporuje také Bozic et al. (2014), kteří séroprevalenci stanovili kolem 55 % nebo Bloomgren et al. (2012) s 54,9 %. Tyto hodnoty séroprevalence, 69,5 % a 57,1 %, jsou relativně odlišné. Rozdíl v těchto hodnotách může být způsoben kromě jiného například metodami, pomocí kterých je séroprevalence protilátek proti JCPyV u osob s RS detekována. Neexistuje žádné porovnání v tom smyslu, která metoda je lepší a přesnější. Další rozdíl mezi studiemi může být také dán počtem osob, které se studie zúčastnili. Ze statistického hlediska lze říci, že menší počet osob bude mít větší rozptyl a studie bude tedy méně přesná než druhá studie, které se zúčastní větší počet osob. S tímto bodem také souvisí fakt, že da Silva a kolektiv publikovali svá data v roce 2014, zatímco Branco et al. v roce 2018. Od té doby mohlo dojít ke zvýšení či naopak ke snížení počtu osob mající protilátky (Ab) proti JCPyV, takže počet osob s Ab proti JCPyV nemusí být stejný jako před 5 lety. Podobný rozptyl v hodnotách nevykazuje pouze da Silva, Santos a Portuguese JEMS Study Investigators (2014), ale také například Domínguez-Mozo et al., (2016).

Přítomnost protilátek proti JCPyV má tedy vliv na pro propuknutí PML. Nicméně v některých vědeckých pracích je ještě rozlišováno, zda osoby jsou JCPyV Ab séropozitivní či séronegativní (Bloomgren et al., 2012; da Silva et al., 2014; Plavina et al., 2014). Toto znamená, že séropozitivní osoby mají protilátky proti JCPyV, zatímco u séronegativních osob žádné protilátky proti JCPyV nejsou.

U některých osob s roztroušenou sklerózou, které užívají natalizumab, může proběhnout sérokonverze z JCPyV negativních na JCPyV pozitivní (Plavina et al., 2014). S tímto názorem souhlasí i Alroughani a kolektiv, nicméně dodávají, že tento jev není moc častý (Alroughani et al., 2018). Mimoto je velice zajímavé, že pokud dojde ke konverzi, tento stav může přetrvat, nebo naopak může dojít k vrácení do původního stavu (Hegen et al., 2017). Ve studii, kterou provedl Hegen a spolupracovníci je zaznamenáno, že například ze 43 osob bez protilátek proti JCPyV byla později u 12 osob detekována přítomnost protilátek proti JCPyV. A z těchto 12 osob nakonec 7 konvertovalo zpět na Ab proti JCPyV negativní. Hegen a spolupracovníci ale dodávají, že všechny tyto konvertující osoby musely mít protilátky proti JCPyV a tato konverze byla způsobena tím, že protilátky byli na hranici detekce (Hegen et al., 2017). To znamená, že v při jednom měření byla detekována vyšší hladina protilátek proti JCPyV, než byla minimální stanovená hladina, zatímco při další detekci přítomnost protilátek prokázána nebyla. Z toho je

zřejmě, že určování přítomnosti JCPyV pomocí stanovení protilátek proti JCPyV u ohrožených léčených pacientů s RS nemusí být zcela spolehlivé.

Pro větší objektivitu byla zavedena definice hladiny JCPyV protilátek značena jako tzv. JCPyV index (Diotti et al., 2016), kde vyšší JCPyV index je spojován s větším rizikem PML. Hodnoty těchto JCPyV indexů pacientů poskytují lékařům informace k lepší charakterizaci rizika PML a následně, zda by mělo dojít k přerušení či zastavení užívání NA, který tento index zvyšuje (Peters a Williamson, 2017). Je všeobecně přijímáno, že pokud osoby s JCPyV indexem menším než 0,9 mají riziko k propuknutí PML významně nižší než osoby s vyšším indexem. Kromě toho, JCPyV index umožňuje předpovědět propuknutí PML s vysokou citlivostí, ale na druhou stranu s nízkou specifitou, protože i když je hladina Ab proti JCPyV vysoká, nemusí dojít u těchto osob k propuknutí PML (Plavina et al., 2014). V souvislosti s JCPyV indexem, hodnota tohoto indexu roste s rostoucím věkem osoby (Hegen et al., 2017). Tento závěr podporuje i Olsson a spolupracovníci a dodávají, že přítomnost protilátek proti JCPyV je také vyšší u mužů než u žen (Olsson et al., 2013). Bozic et al. (2014) se domnívají, že prevalence protilátek proti JCPyV je ovlivněna také zemí, ve které osoby žijí.

Dalšími faktory, které mají významný vliv na propuknutí PML u osob s RS je doba užívání natalizumab, a také předchozí imunosupresivní léčba (Ho et al., 2017). V souvislosti s délkou léčby se rozlišují tři intervaly, po které léčba probíhá. Jsou jimi 0–24 měsíců, 24–48 měsíců a déle než 48 měsíců (Kuesters et al., 2015). Bylo prokázáno, že největší riziko k propuknutí PML je pro osoby s léčbou delší než 48 měsíců, kde toto riziko může být 10,12 nemocných na 1000 léčených osob (Kuesters et al., 2015) nebo již výše zmíněný 11,1 nemocných na 1000 léčených osob. Nutno podotknout, že v těchto hodnotách je započítána již i předchozí imunosupresivní léčba. Podle Bloomgren et al. (2012), osoby, které před užíváním NA nepoužívaly žádné jiné léky, mají riziko výskytu 0,31 nemocných na 1000 léčených osob, zatímco u osob, které použily další léky kromě NA, je riziko 0,88 nemocných na 1000 léčených osob. Po porovnání je patrné, že předchozí léčba může zvýšit riziko skoro 3x.

Souvislost mezi léčbou NA u pacientů s RS a propuknutím PML byla nalezena i na molekulárně biologické úrovni. Mechanismem, který není zcela objasněn, dochází vlivem natalizumab ke zvýšené hladině CD34+ buněk v krvi (Singer 2017). Jak již bylo zmíněno v kapitole o PML (viz. Kapitola 6), v kostní dřeni se mohou CD34+ buňky infikovat JCPyV a poté migrovat do periferní cirkulace, kde se diferencují na B buňky. A zde je propojení s natalizumab, protože

právě natalizumab způsobuje migraci CD34+ buněk z kostní dřeně (Warnke et al. 2010), které obsahují JCPyV. Právě skupina vedená Eugenem O. Majorem (Bethesda, MD, USA) prokázala, že se JCPyV dostává do CD34+ buněk (Frohman et al. 2014). Protože vlivem NA dojde ke zvýšené cirkulaci a počtu CD34+ buněk (Bellizzi et al. 2013) a migraci do periferní oběhové soustavy, dojde také ke zvětšení počtu migrujících virových částic. Nelze opomenout, že právě v CD34+ buňkách byl pozorován zvýšený výskyt přestaveb v NCCR oblasti JCPyV (Van Loy et al., 2014) nalézáný u Mad- variant viru, které jsou spojeny s propuknutím PML.

Přestože existuje několik hlavních faktorů, majících vliv na propuknutí PML u osob s RS, léčených pomocí NA, je možné, že existují další příčiny, které doposud nebyly prokázány.

## Závěr

JCPyV byl prokázán jako původce progresivní multifokální leukoencefalopatie: V posledních letech se výskyt tohoto onemocnění mnohonásobně zvýšil u pacientů s RS léčených preparátem natalizumab (Tysabri).

Byly prokázány důležité faktory zvyšující riziko výskytu PML u osob s RS léčených pomocí NA. Těmito faktory jsou délka užívání natalizumab, předchozí imunosupresivní léčba a možná nejdůležitější, přítomnost protilátek proti JCPyV. Mimoto je možné, že existují i další faktory mající vliv na vznik PML u osob s RS, které zatím nebyly objeveny.

Bylo také potvrzeno, že natalizumab způsobuje zvýšení hladiny CD34+ buněk v krvi a zároveň způsobuje jejich migraci do periferní krve. Předpokládá se, že v periferní krvi se CD34+ buňky diferenciují na B buňky, které nesou virové částice JCPyV. Tyto B buňky mohou následně migrovat krví do mozku, kde po překonání hematoencefalické bariéry způsobuje JCPyV progresivní multifokální leukoencefalopatii. Kromě toho, také byly u osob nakažených PML prokázány mutace v nekódující kontrolní oblasti JCPyV a také mutace v sekvenci pro VP1, kde tyto mutace jsou typické pro osoby s PML. Obě tyto mutace mohou hrát roli v patogenezi PML.

Nicméně riziko výskytu progresivní multifokální leukoencefalopatie u osob s roztroušenou sklerózou, léčených pomocí NA, je možné kontrolovat pomocí častých lékařských kontrol, regulace léčby a testů, prokazujících přítomnost protilátek proti JCPyV u osob s RS. Pokud tato regulace léčby bude probíhat, pak je tu šance na snížení rizika propuknutí PML u těchto osob.

Není vyloučeno, že se JCPyV může podílet i na rozvoji roztroušené sklerózy, ale zatím neexistuje žádný doklad o tom, že hraje přímou roli v její patogenezi. Lze tedy závěrem shrnout, že JCPyV je pouze potvrzený původce PML, který musí být monitorován při léčbě RS. Pochopení mechanismů, které vedou ke zvýšenému riziku propuknutí PML u pacientů s RS však může poskytnout cenné informace o biologii viru JCPyV i etiologii obou onemocnění.

## **Seznam použité literatury:**

- Alroughani, R., Akhtar, S., Ahmed, S., Al-Hashel, J., 2018. A longitudinal study of JC virus serostatus stability among multiple sclerosis patients. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 20, 132–135. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2018.01.016>
- Altschuler, E.L., 2000. Is JC polyoma virus the cause of ulcerative colitis and multiple sclerosis? *Med. Hypotheses* 55, 335–336. <https://doi.org/10.1054/mehy.2000.1064>
- Alvarez-Lafuente, R., García-Montojo, M., De Las Heras, V., Bartolomé, M., Arroyo, R., 2007. JC virus in cerebrospinal fluid samples of multiple sclerosis patients at the first demyelinating event. *Mult. Scler. Houndmills Basingstoke Engl.* 13, 590–595. <https://doi.org/10.1177/1352458506073116>
- Ambrose, C., Lowman, H., Rajadhyaksha, A., Blasquez, V., Bina, M., 1990. Location of nucleosomes in simian virus 40 chromatin. *J. Mol. Biol.* 214, 875–884. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(90\)90342-J](https://doi.org/10.1016/0022-2836(90)90342-J)
- Ashok, A., Atwood, W.J., 2003. Contrasting roles of endosomal pH and the cytoskeleton in infection of human glial cells by JC virus and simian virus 40. *J. Virol.* 77, 1347–1356.
- Astrom, K.E., Mancall, E.L., Richardson, E.P., 1958. Progressive multifocal leukoencephalopathy; a hitherto unrecognized complication of chronic lymphatic leukaemia and Hodgkin's disease. *Brain J. Neurol.* 81, 93–111.
- Bellaguarda, E., Keyashian, K., Pekow, J., Rubin, D.T., Cohen, R.D., Sakuraba, A., 2015. Prevalence of Antibodies Against JC Virus in Serum of Patients With Refractory Crohn's Disease and Effects of Natalizumab Therapy. *Clin. Gastroenterol. Hepatol. Off. Clin. Pract. J. Am. Gastroenterol. Assoc.* 13, 1919–1925. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2015.05.022>
- Bellizzi, A., Anzivino, E., Rodio, D.M., Palamara, A.T., Nencioni, L., Pietropaolo, V., 2013. New Insights on Human Polyomavirus JC and Pathogenesis of Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. *Clin. Dev. Immunol.* 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/839719>
- Bloomgren, G., Richman, S., Hotermans, C., Subramanyam, M., Goelz, S., Natarajan, A., Lee, S., Plavina, T., Scanlon, J.V., Sandrock, A., Bozic, C., 2012. Risk of Natalizumab-Associated Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. *N. Engl. J. Med.* 366, 1870–1880. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1107829>
- Bozic, C., Subramanyam, M., Richman, S., Plavina, T., Zhang, A., Ticho, B., 2014. Anti-JC virus (JCV) antibody prevalence in the JCV Epidemiology in MS (JEMS) trial. *Eur. J. Neurol.* 21, 299–304. <https://doi.org/10.1111/ene.12304>
- Brandstadter, R., Katz Sand, I., 2017. The use of natalizumab for multiple sclerosis. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 13, 1691–1702. <https://doi.org/10.2147/NDT.S114636>
- Browne, P., Chandraratna, D., Angood, C., Tremlett, H., Baker, C., Taylor, B.V., Thompson, A.J., 2014. Atlas of Multiple Sclerosis 2013: A growing global problem with widespread inequity. *Neurology* 83, 1022–1024. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000000768>
- Chalkias, S., Dang, X., Bord, E., Stein, M.C., Kinkel, R.P., Sloane, J.A., Donnelly, M., Ionete, C., Houtchens, M.K., Buckle, G.J., Batson, S., Korálnik, I.J., 2014. JC virus reactivation during prolonged natalizumab monotherapy for multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 75, 925–934. <https://doi.org/10.1002/ana.24148>

- Chalkias, S., Gorham, J.M., Mazaika, E., Parfenov, M., Dang, X., DePalma, S., McKean, D., Seidman, C.E., Seidman, J.G., Korálnik, I.J., 2018. ViroFind: A novel target-enrichment deep-sequencing platform reveals a complex JC virus population in the brain of PML patients. *PLoS One* 13, e0186945. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186945>
- Chapagain, M.L., Nerurkar, V.R., 2010. JCV infection of human B lymphocytes: A possible mechanism for JCV transmigration across the blood-brain barrier. *J. Infect. Dis.* 202, 184–191. <https://doi.org/10.1086/653823>
- Chesters, P.M., Heritage, J., McCance, D.J., 1983. Persistence of DNA sequences of BK virus and JC virus in normal human tissues and in diseased tissues. *J. Infect. Dis.* 147, 676–684.
- Clerico, M., Artusi, C.A., Di Liberto, A., Rolla, S., Bardina, V., Barbero, P., De Mercanti, S.F., Durelli, L., 2017. Long-term safety evaluation of natalizumab for the treatment of multiple sclerosis. *Expert Opin. Drug Saf.* 16, 963–972. <https://doi.org/10.1080/14740338.2017.1346082>
- da Silva, A.M., Santos, M.E., Portuguese JEMS Study Investigators, 2014. JCV epidemiology in MS (JEMS)--epidemiology of anti-JCV antibody prevalence in multiple sclerosis patients--Portuguese data. *J. Neurol. Sci.* 337, 119–122. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2013.11.031>
- Delbue, S., Guerini, F.R., Mancuso, R., Caputo, D., Mazziotti, R., Saresella, M., Ferrante, P., 2008. Reply to letter to the editor. *J. Neurovirol.* 14, 87–88. <https://doi.org/10.1080/13550280701816576>
- Dendrou, C.A., Fugger, L., Friese, M.A., 2015. Immunopathology of multiple sclerosis. *Nat. Rev. Immunol.* 15, 545–558. <https://doi.org/10.1038/nri3871>
- Diotti, R.A., Capra, R., Moiola, L., Caputo, V., De Rossi, N., Sangalli, F., Martinelli, V., Burioni, R., Clementi, M., Mancini, N., 2016. Divergent Trends of Anti-JCPyV Serum Reactivity and Neutralizing Activity in Multiple Sclerosis (MS) Patients during Treatment with Natalizumab. *Viruses* 8. <https://doi.org/10.3390/v8050128>
- Domínguez-Mozo, M.I., García-Montojo, M., Arias-Leal, A., García-Martínez, Á., Santiago, J.L., Casanova, I., Galán, V., Arroyo, R., Fernández-Arquero, M., Alvarez-Lafuente, R., 2016. Monitoring the John Cunningham virus throughout natalizumab treatment in multiple sclerosis patients. *Eur. J. Neurol.* 23, 182–189. <https://doi.org/10.1111/ene.12834>
- Doshi, A., Chataway, J., 2016. Multiple sclerosis, a treatable disease. *Clin. Med. Lond. Engl.* 16, s53–s59. <https://doi.org/10.7861/clinmedicine.16-6-s53>
- Ehlers, B., Moens, U., 2014. Genome analysis of non-human primate polyomaviruses. *Infect. Genet. Evol.* 26, 283–294. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.05.030>
- Elphick, G.F., Querbes, W., Jordan, J.A., Gee, G.V., Eash, S., Manley, K., Dugan, A., Stanifer, M., Bhatnagar, A., Kroeze, W.K., Roth, B.L., Atwood, W.J., 2004. The human polyomavirus, JCV, uses serotonin receptors to infect cells. *Science* 306, 1380–1383. <https://doi.org/10.1126/science.1103492>
- Eriksson, M., Andersen, O., Runmarker, B., 2003. Long-term follow up of patients with clinically isolated syndromes, relapsing-remitting and secondary progressive multiple sclerosis. *Mult. Scler. Houndmills Basingstoke Engl.* 9, 260–274. <https://doi.org/10.1191/1352458503ms914oa>
- Ferenczy, M.W., Marshall, L.J., Nelson, C.D.S., Atwood, W.J., Nath, A., Khalili, K., Major, E.O., 2012. Molecular biology, epidemiology, and pathogenesis of progressive multifocal leukoencephalopathy, the JC virus-induced demyelinating disease of the human brain. *Clin. Microbiol. Rev.* 25, 471–506. <https://doi.org/10.1128/CMR.05031-11>

- Focosi, D., Kast, R.E., Petrini, M., 2008. JC viremia and multiple sclerosis. *J. Neurovirol.* 14, 85–86. <https://doi.org/10.1080/13550280701809076>
- Frisque, R.J., 2001. Structure and function of JC virus T' proteins. *J. Neurovirol.* 7, 293–297. <https://doi.org/10.1080/13550280152537120>
- Gandhi, R., Laroni, A., Weiner, H.L., 2010. Role of the innate immune system in the pathogenesis of multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.* 221, 7–14. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2009.10.015>
- Geginat, J., Paroni, M., Pagani, M., Galimberti, D., De Francesco, R., Scarpini, E., Abrignani, S., 2017. The Enigmatic Role of Viruses in Multiple Sclerosis: Molecular Mimicry or Disturbed Immune Surveillance? *Trends Immunol.* 38, 498–512. <https://doi.org/10.1016/j.it.2017.04.006>
- Gorelik, L., Reid, C., Testa, M., Brickelmaier, M., Bossolasco, S., Pazzi, A., Bestetti, A., Carmillo, P., Wilson, E., McAuliffe, M., Tonkin, C., Carulli, J.P., Lugovskoy, A., Lazzarin, A., Sunyaev, S., Simon, K., Cinque, P., 2011. Progressive Multifocal Leukoencephalopathy (PML) Development Is Associated With Mutations in JC Virus Capsid Protein VP1 That Change Its Receptor Specificity. *J. Infect. Dis.* 204, 103–114. <https://doi.org/10.1093/infdis/jir198>
- Harrer, A., Wipfler, P., Einhaeupl, M., Pilz, G., Oppermann, K., Hitzl, W., Afazel, S., Haschke-Becher, E., Strasser, P., Trinkka, E., Kraus, J., 2011. Natalizumab therapy decreases surface expression of both VLA-heterodimer subunits on peripheral blood mononuclear cells. *J. Neuroimmunol.* 234, 148–154. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2011.03.001>
- Hawker, K., 2011. Progressive multiple sclerosis: characteristics and management. *Neurol. Clin.* 29, 423–434. <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2011.01.002>
- Hegen, H., Auer, M., Bsteh, G., Di Pauli, F., Plavina, T., Walde, J., Deisenhammer, F., Berger, T., 2017. Stability and predictive value of anti-JCV antibody index in multiple sclerosis: A 6-year longitudinal study. *PLoS ONE* 12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174005>
- Ho, P.-R., Koendgen, H., Campbell, N., Haddock, B., Richman, S., Chang, I., 2017. Risk of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy in patients with multiple sclerosis: a retrospective analysis of data from four clinical studies. *Lancet Neurol.* 16, 925–933. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30282-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30282-X)
- Houff, S.A., Berger, J.R., 2008. The bone marrow, B cells, and JC virus. *J. Neurovirol.* 14, 341–343. <https://doi.org/10.1080/13550280802348222>
- Houff, S.A., Katz, D., Kufta, C.V., Major, E.O., 1989. A rapid method for in situ hybridization for viral DNA in brain biopsies from patients with AIDS. *AIDS Lond. Engl.* 3, 843–845.
- Kuesters, G., Plavina, T., Lee, S., Campagnolo, D., Richman, S., Belachew, S., Subramanyam, M., 2015. Anti-JC Virus (JCV) Antibody Index Differentiates Risk of Progressive Multifocal Leukoencephalopathy (PML) in Natalizumab-Treated Multiple Sclerosis (MS) Patients with No Prior Immunosuppressant (IS) Use: An Updated Analysis (P4.031). *Neurology* 84.
- Kunitake, T., Kitamura, T., Guo, J., Taguchi, F., Kawabe, K., Yogo, Y., 1995. Parent-to-child transmission is relatively common in the spread of the human polyomavirus JC virus. *J. Clin. Microbiol.* 33, 1448–1451.
- Lanza Cariccio, V., Bramanti, P., Mazzon, E., 2018. Biomarkers identification for PML monitoring, during Natalizumab (Tysabri®) treatment in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 20, 93–99. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2018.01.011>

- Lassmann, H., van Horssen, J., Mahad, D., 2012. Progressive multiple sclerosis: pathology and pathogenesis. *Nat. Rev. Neurol.* 8, 647–656.  
<https://doi.org/10.1038/nrneurol.2012.168>
- Loma, I., Heyman, R., 2011. Multiple Sclerosis: Pathogenesis and Treatment. *Curr. Neuropharmacol.* 9, 409–416. <https://doi.org/10.2174/157015911796557911>
- Marzocchetti, A., Lima, M., Tompkins, T., Kavanagh, D.G., Gandhi, R.T., O'Neill, D.W., Bhardwaj, N., Koralnik, I.J., 2009. Efficient in vitro Expansion of JC virus-Specific CD8+ T-Cell Responses by JCV peptide-stimulated Dendritic Cells from patients with Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. *Virology* 383, 173–177.  
<https://doi.org/10.1016/j.virol.2008.10.046>
- McGuigan, C., Craner, M., Guadagno, J., Kapoor, R., Mazibrada, G., Molyneux, P., Nicholas, R., Palace, J., Pearson, O.R., Rog, D., Young, C.A., 2016. Stratification and monitoring of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy risk: recommendations from an expert group. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 87, 117–125. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2015-311100>
- Monaco, M.C.G., Jensen, P.N., Hou, J., Durham, L.C., Major, E.O., 1998. Detection of JC Virus DNA in Human Tonsil Tissue: Evidence for Site of Initial Viral Infection. *J. Virol.* 72, 9918–9923.
- Nicholas, J.A., Racke, M.K., Imitola, J., Boster, A.L., 2014. First-line natalizumab in multiple sclerosis: rationale, patient selection, benefits and risks. *Ther. Adv. Chronic Dis.* 5, 62–68. <https://doi.org/10.1177/2040622313514790>
- Olsson, T., Achiron, A., Alfredsson, L., Berger, T., Brassat, D., Chan, A., Comi, G., Eraksoy, M., Hegen, H., Hillert, J., Jensen, P.E.H., Moiola, L., Myhr, K.-M., Oturai, A., Schippling, S., Siva, A., Sorensen, P.S., Trampe, A.-K., Weber, T., Potts, J., Plavina, T., Paes, D., Subramanyam, M., Wiendl, H., Dib, H., Uren, D., Hemmer, B., Buck, D., 2013. Anti-JC virus antibody prevalence in a multinational multiple sclerosis cohort. *Mult. Scler. Houndmills Basingstoke Engl.* 19, 1533–1538.  
<https://doi.org/10.1177/1352458513477925>
- Padgett, B.L., Walker, D.L., 1973. Prevalence of Antibodies in Human Sera against JC Virus, an Isolate from a Case of Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. *J. Infect. Dis.* 127, 467–470. <https://doi.org/10.1093/infdis/127.4.467>
- Padgett, B.L., Walker, D.L., ZuRhein, G.M., Eckroade, R.J., Dessel, B.H., 1971. Cultivation of papova-like virus from human brain with progressive multifocal leukoencephalopathy. *Lancet Lond. Engl.* 1, 1257–1260.
- Paroni, M., Maltese, V., De Simone, M., Ranzani, V., Larghi, P., Fenoglio, C., Pietroboni, A.M., De Riz, M.A., Crosti, M.C., Maglie, S., Moro, M., Caprioli, F., Rossi, R., Rossetti, G., Galimberti, D., Pagani, M., Scarpini, E., Abrignani, S., Geginat, J., 2017. Recognition of viral and self-antigens by TH1 and TH1/TH17 central memory cells in patients with multiple sclerosis reveals distinct roles in immune surveillance and relapses. *J. Allergy Clin. Immunol.* 140, 797–808.  
<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.11.045>
- Pavelek, Mud.Z., Krejsek, Rnd.J., n.d. Role T a B lymfocytů v patogenezi roztroušené sklerózy 4.
- Paz, S.P.C., Branco, L., Pereira, M.A. de C., Spessotto, C., Fragoso, Y.D., 2018. Systematic review of the published data on the worldwide prevalence of John Cunningham virus in patients with multiple sclerosis and neuromyelitis optica. *Epidemiol. Health* 40, e2018001. <https://doi.org/10.4178/epih.e2018001>
- Peters, J., Williamson, E., 2017. Natalizumab therapy is associated with changes in serum JC virus antibody indices over time. *J. Neurol.* 264, 2409–2412.  
<https://doi.org/10.1007/s00415-017-8643-4>

- Pfister, L.A., Letvin, N.L., Korolnik, I.J., 2001. JC virus regulatory region tandem repeats in plasma and central nervous system isolates correlate with poor clinical outcome in patients with progressive multifocal leukoencephalopathy. *J. Virol.* 75, 5672–5676. <https://doi.org/10.1128/JVI.75.12.5672-5676.2001>
- Pho, M.T., Ashok, A., Atwood, W.J., 2000. JC Virus Enters Human Glial Cells by Clathrin-Dependent Receptor-Mediated Endocytosis. *J. Virol.* 74, 2288–2292.
- Plavina, T., Subramanyam, M., Bloomgren, G., Richman, S., Pace, A., Lee, S., Schlain, B., Campagnolo, D., Belachew, S., Ticho, B., 2014. Anti-JC virus antibody levels in serum or plasma further define risk of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *Ann. Neurol.* 76, 802–812. <https://doi.org/10.1002/ana.24286>
- Polman, C.H., O'Connor, P.W., Havrdova, E., Hutchinson, M., Kappos, L., Miller, D.H., Phillips, J.T., Lublin, F.D., Giovannoni, G., Wajgt, A., Toal, M., Lynn, F., Panzara, M.A., Sandrock, A.W., 2006. A Randomized, Placebo-Controlled Trial of Natalizumab for Relapsing Multiple Sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 354, 899–910. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa044397>
- Prins, C., Frisque, R.J., 2001. JC virus T' proteins encoded by alternatively spliced early mRNAs enhance T antigen-mediated viral DNA replication in human cells. *J. Neurovirol.* 7, 250–264. <https://doi.org/10.1080/13550280152403290>
- Qu, Q., Sawa, H., Suzuki, T., Semba, S., Henmi, C., Okada, Y., Tsuda, M., Tanaka, S., Atwood, W.J., Nagashima, K., 2004. Nuclear entry mechanism of the human polyomavirus JC virus-like particle: role of importins and the nuclear pore complex. *J. Biol. Chem.* 279, 27735–27742. <https://doi.org/10.1074/jbc.M310827200>
- Reuwer, A.Q., Heron, M., van der Dussen, D., Schneider-Hohendorf, T., Murk, J.L., 2017. The clinical utility of JC virus antibody index measurements in the context of progressive multifocal leukoencephalopathy. *Acta Neurol. Scand.* 136 Suppl 201, 37–44. <https://doi.org/10.1111/ane.12840>
- Rudick, R.A., Stuart, W.H., Calabresi, P.A., Confavreux, C., Galetta, S.L., Radue, E.-W., Lublin, F.D., Weinstock-Guttman, B., Wynn, D.R., Lynn, F., Panzara, M.A., Sandrock, A.W., 2006. Natalizumab plus Interferon Beta-1a for Relapsing Multiple Sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 354, 911–923. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa044396>
- Ryschkewitsch, C.F., Jensen, P.N., Major, E.O., 2013. Multiplex qPCR assay for ultra sensitive detection of JCV DNA with simultaneous identification of genotypes that discriminates non-virulent from virulent variants. *J. Clin. Virol. Off. Publ. Pan Am. Soc. Clin. Virol.* 57, 243–248. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2013.03.009>
- Singer, B.A., 2017. The role of natalizumab in the treatment of multiple sclerosis: benefits and risks. *Ther. Adv. Neurol. Disord.* 10, 327–336. <https://doi.org/10.1177/1756285617716002>
- Stoner G. L., 2009. Implications of progressive multifocal leukoencephalopathy and JC virus for the etiology of MS. *Acta Neurol. Scand.* 83, 20–33. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.1991.tb03954.x>
- Stoner, G.L., Ryschkewitsch, C.F., Walker, D.L., Soffer, D., Webster, H. de F., 1986. Immunocytochemical search for JC papovavirus large T-antigen in multiple sclerosis brain tissue. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 70, 345–347. <https://doi.org/10.1007/BF00686096>
- Sunyaev, S.R., Lugovskoy, A., Simon, K., Gorelik, L., 2009. Adaptive mutations in the JC virus protein capsid are associated with progressive multifocal leukoencephalopathy (PML). *PLoS Genet.* 5, e1000368. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000368>
- Suzuki, T., Orba, Y., Okada, Y., Sunden, Y., Kimura, T., Tanaka, S., Nagashima, K., Hall, W.W., Sawa, H., 2010. The human polyoma JC virus agnoprotein acts as a viroporin. *PLoS Pathog.* 6, e1000801. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000801>

- Taguchi, F., Kajioka, J., Miyamura, T., 1982. Prevalence rate and age of acquisition of antibodies against JC virus and BK virus in human sera. *Microbiol. Immunol.* 26, 1057–1064.
- Theodoropoulos, G., Panoussopoulos, D., Papaconstantinou, I., Gazouli, M., Perdiki, M., Bramis, J., Lazaris, A.C., 2005. Assessment of JC polyoma virus in colon neoplasms. *Dis. Colon Rectum* 48, 86–91.
- Thompson, A.J., Baranzini, S.E., Geurts, J., Hemmer, B., Ciccarelli, O., 2018. Multiple sclerosis. *Lancet Lond. Engl.* [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)30481-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)30481-1)
- Tyagarajan, S.K., Frisque, R.J., 2006. Stability and Function of JC Virus Large T Antigen and T' Proteins Are Altered by Mutation of Their Phosphorylated Threonine 125 Residues. *J. Virol.* 80, 2083–2091. <https://doi.org/10.1128/JVI.80.5.2083-2091.2006>
- Van Loy, T., Thys, K., Ryschkewitsch, C., Lagatie, O., Monaco, M.C., Major, E.O., Tritsmans, L., Stuyver, L.J., 2014. JC Virus Quasispecies Analysis Reveals a Complex Viral Population Underlying Progressive Multifocal Leukoencephalopathy and Supports Viral Dissemination via the Hematogenous Route. *J. Virol.* 89, 1340–1347. <https://doi.org/10.1128/JVI.02565-14>
- Vennegoor, A., van Rossum, J.A., Polman, C.H., Wattjes, M.P., Killestein, J., 2015. Longitudinal JCV serology in multiple sclerosis patients preceding natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *Mult. Scler. Houndmills Basingstoke Engl.* 21, 1600–1603. <https://doi.org/10.1177/1352458514567728>
- Williamson, E.M.L., Berger, J.R., 2017. Diagnosis and Treatment of Progressive Multifocal Leukoencephalopathy Associated with Multiple Sclerosis Therapies. *Neurother. J. Am. Soc. Exp. Neurother.* 14, 961–973. <https://doi.org/10.1007/s13311-017-0570-7>
- Winkelmann, A., Loebermann, M., Reisinger, E.C., Hartung, H.-P., Zettl, U.K., 2016. Disease-modifying therapies and infectious risks in multiple sclerosis. *Nat. Rev. Neurol.* 12, 217–233. <https://doi.org/10.1038/nrneuro.2016.21>

*Internetové zdroje:*

Mezinárodní výbor pro klasifikaci virů, 2017; URL <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>

Pml brain scan ms patient by NeuroscienceNews.com, 2015;

URL <http://neurosciencenews.com/pml-jc-viruc-vaccination-2726/pml-brain-scan-ms-patient/>

Normal brain by radiopaedia.org, 2017;

URL <https://radiopaedia.org/cases/normal-brain-mri-6>

MS lesion by multiple-sclerosis-research.blogspot.com, 2015; URL <http://multiple-sclerosis-research.blogspot.com/2015/01/education-whats-mri.html>