

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Přírodovědecká fakulta**

**Katedra genetiky a mikrobiologie**

Studijní program: Biologie  
Studijní obor: Biologie



**Kateřina Blagoevová**

Prevalence polyomavirů v lidské populaci  
Seroprevalence of polyomaviruses in human

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Alena Morávková, Ph.D.

Praha, 2012

**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, 9. 5. 2012

Podpis

# Obsah

Seznam zkratk	4
Abstrakt	5
1. Úvod	7
2. Čeleď polyomaviridae	8
2.1 Polyomaviry infikující zvířata	8
2.2 Lidské polyomaviry	9
3. BK virus	9
3.1 Virion	9
3.2 Životní cyklus	12
3.3 Onkogeneze navozená BK virem	12
3.4 Infekce a přenos viru	13
3.5 Detekce viru	14
3.6 Patogenita BKV	15
3.6.1 BKV nefropatie (BKVN)	16
3.6.2 BKV a hemoragická cystitida (HC)	17
4. Prevalence BKV	17
4. 1 Výskyt BKV v Asii	18
4. 2 Výskyt BKV v Japonsku	19
4. 3 Výskyt BKV ve Španělsku	20
4.4 Výskyt Itálie	21
5. Prevalence podtypů BKV ve světě	22
5. 1 Prevalence podtypů BKV I a IV	24
6. Závěr	25
7. Seznam použité literatury	26

## **Seznam zkratek**

SV40- opičí polyomavirus

PML - progresivní multifokální leukoencefalopatie

TAg - velký T antigen polyomaviru

tAg – malý T antigen polyomaviru

HRPTEC - renální proximální tubulární epiteliální buňky

SLE - systémový lupus erythematosus

BKVN - BK-virová nefropatie

PCR - polymerázová řetězová reakce

PBMC - periferní krevní mononukleární buňky

IgM – imunoglobulin třídy M

BMT – transplantace kostní dřeně

## Abstrakt

Lidský BK polyomavirus, též známý jako lidský polyomavirus typu 1, je malý živočišný tumorogenní virus. Vstupuje do buňky kaveolin-zprostředkovanou endocytózou a přes endoplazmatické retikulum se dostává až do jádra, kde se množí a exprimuje proteiny. K primární infekci dochází během dětství a je převážně asymptomatická, jen občas je doprovázena mírným onemocněním dýchacích cest či močového ústrojí a tím spojenou virurií. Po primární infekci se virus vyskytuje zejména v ledvinách a močových cestách a u imunokompetentních jedinců zůstává v nereplikativním stádiu. Zdravého člověka nijak nepoškozuje a přetrvává v něm jako celoživotní infekce. U imunosuprimovaných jedinců, zvláště pacientům po transplantaci ledvin nebo kostní dřeně, způsobuje virurie, virémie, stenózy močovodu až těžké nefropatie, které mohou vést k selhání štěpu. Výskyt tohoto viru je ve světové populaci značný, vědecké publikace uvádějí, že až 80% populace vykazuje specifické protilátky. Případné nízké hodnoty výskytu viru uváděné v některých publikacích jsou pravděpodobně zapříčiněny použitím různě citlivých detekčních metod a rozdílným typem vzorků.

Klíčová slova: lidský polyomavirus, BKV, BKV nefropatie, prevalence BK viru, podtypy BKV

## Abstract

Human BK polyomavirus, also known as Polyomavirus hominis type 1, is a small animal tumorigenic virus. It penetrates into the host cell by caveolin-mediated endocytosis and then through the ER pathway to get into the nucleus where the virus replicates and expresses viral proteins. BKV primary infection typically occurs during childhood and is mostly asymptomatic, it is only occasionally accompanied by mild respiratory or urinary tract illnesses associated with viruria. After primary infection the virus occurs mainly in the kidney and urinary tract and in immunocompetent individuals remains in nonreplicative state. Healthy individuals have no health problems and it persists as a lifelong infection. In immunosuppressed individuals, particularly renal and bone marrow transplant patients, causing viruria, viremia, ureteral stenosis and serious nephropathy, this can lead to graft failure. The prevalence of this virus in the world is significant, scientific publications indicate that up to 80% of the human population has specific antibodies. Any small amounts of the virus prevalence reported in some publications are probably caused by using various sensitive detection methods and different types of samples.

Key words: human polyomavirus, BKV, BKV nephritis, prevalence of BK virus, subtypes of BKV

# 1. Úvod

Polyomaviry jsou malé DNA viry infikující zvířata i lidi. Doteď bylo objeveno již 9 lidských polyomavirů. Mezi prvními objevenými byl BK virus, kterému se věnuje i tato práce.

Lidský BK polyomavirus (BKV) se stal z hlediska medicíny velmi významný, neboť patří mezi tumorogenní viry a tudíž má schopnost vyvolávat vznik nádorů. Tato skutečnost byla potvrzena pouze u zvířat, u lidí pravděpodobně nádorové bujení nevyvolává. Významnost tohoto viru nespočívá pouze v jeho onkogenním potenciálu, ale také v nemocech jím způsobenými, jako BKV nefropatie, což je vážné poškození ledvin u pacientů po transplantaci.

BKV nefropatie se stává čím dál častější komplikací po transplantaci a často vede až k selhání štěpu. Jednou z příčin nárůstu případů BKV nefropatie je vysoká prevalence BK viru v lidské populaci, která dle vědeckých publikací dosahuje až 80%.

Cílem této práce je pomocí odborné literatury podat ucelený pohled na celosvětový výskyt BK polyomaviru v lidské populaci a zhodnotit případné odchylky.

## 2. Čeleď polyomaviridae

### 2.1 Polyomaviry infikující zvířata

Polyomavirus je jediný rod v čeledi virů Polyomaviridae. Prvním objeveným polyomavirem byl myší polyomavirus. V roce 1953 ho objevil polsko-americký virolog Ludwik Gross při práci s virem, který způsobuje u myší leukémii (Gross, 1953).

Později bylo zjištěno, že mnoho polyomavirů infikuje primáty. Jedním příkladem je simian vacuolating virus 40 (SV40). Ten izoloval Sweet a Hilleman v roce 1960 z buněk ledvin makaků (*Macaca fascicularis* a *Macaca mulatta*). Infekce virem u nich nezpůsobovala žádný cytopatický efekt, na rozdíl od ledvinných buněk kočkodana zeleného, u kterých byl cytopatický efekt pozorován (Sweet a Hilleman, 1960).

Brzo po objevení SV40 bylo zjištěno, že SV40 izolovaný z ledvin *Macaca mulatta* zapříčiňuje tvorbu sarkomů u novorozených křečků (Eddy et al, 1961). Kromě toho bylo prokázáno, že nitrolební injekce SV40 indukuje u křečků ependymomy - neuroepiteliální nádory mozku (Eddy et al, 1962; Girardi et al., 1962; Eddy et al., 1961).

U lidí je možný vliv SV40 na vznik nádorů stále diskutován a nebylo prokázáno, že by je přímo způsoboval. Sekvence DNA, homologní se sekvencí SV40, byla nicméně izolována z několika specifických typů lidských nádorů: z ependymomů, nádorů plexus chorioideus, mezoteliomů, osteosarkomů a sarkomů, tedy stejných nádorů, které způsobuje SV40 u křečků (Eddy et al., 1961).

Je možné, že výskyt viru u lidí je následkem očkování kontaminovanými poliovakcínami a adenovakcínami v letech 1955 – 1963 (Eddy et al., 1961). Virus SV40 se ale vyskytuje i u lidí, kteří nemohli přijít do styku s kontaminovanými vakcínami. V USA bylo zjištěno, že SV40-pozitivní ependymomy, nádory choroid plexus a osteosarkomy se vyskytují i u pacientů, kteří se narodili mnoho let po roce 1963 a byli tedy bez rizika získání SV40 z kontaminovaných očkovacích látek. Nabízí se tedy myšlenka (zatím nepotvrzená), že je virus schopen se přenést z osoby na osobu (Strickler et al, 1996).



## 2.2 Lidské polyomaviry

První lidské polyomaviry, BK virus (BKV) a JC virus (JCV) byly popsány v roce 1971. BKV byl izolován z moči pacienta s uretrální stenózou po transplantaci ledviny a JCV z mozkové tkáně pacienta s Hodgkinovým lymfomem, který trpěl progresivní multifokální leukoencefalopatií (PML). Názvy polyomavirů BK a JC jsou odvozeny od iniciál pacientů, ze kterých byly izolovány (Padgett et al., 1971; Gardner et al, 1971). Uplynulo téměř 40 let, než byly objeveny další lidské polyomaviry. Dnes je známo 9 lidských polyomavirů (BKV, JCV, MCV, KI, WU, HPyV6, HPyV7, trichodysplasia spinulosa-associated polyomavirus a HPyV9). KI a WU byly identifikovány z respiračních sekretů pacientů s infekcí respiračního traktu (Allander et al, 2007; Gaynor et al, 2007) a názvy těchto dvou polyomavirů jsou odvozeny od institucí, ve kterých byly prvně izolovány. MCV byl identifikován z nádoru Merkelových buněk metodou „digital transcriptome subtraction“, která dokáže nalézt cizorodé RNA transkripty mezi lidskou RNA. Jako jediný není pojmenován ani po pacientovi z kterého byl izolován ani po instituci ve které byl objeven, ale podle nádoru, ve kterém byl identifikován. Je to zároveň jediný polyomavirus, u kterého se zdá, že vyvolává nádorové bujení u lidí (Feng et al, 2008).

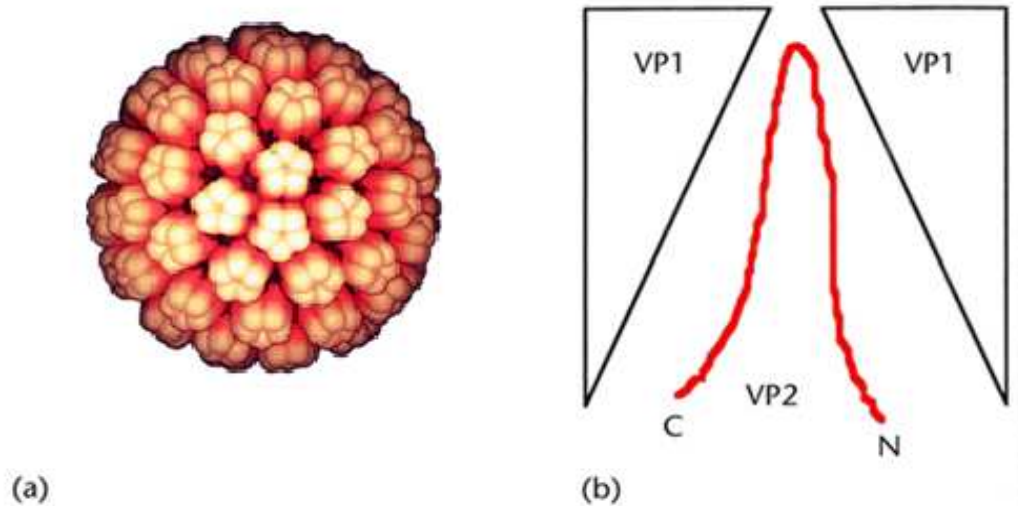
## 3. BK virus

### 3.1 Virion

BK virus (BKV) je lidský neobalený polyomavirus s ikosahedrální kapsidou. Velikost virionu se pohybuje okolo 45 nm (Mackay a Consigli; 1976). Genomem je cirkulární dsDNA stočená do superhelikální struktury společně s histony (H2A, H2B, H3, H4) získanými od hostitelské buňky (Mayor et al, 1963; Koch et al, 1967; Anderer et al, 1967). Virový genom kóduje tři kapsidové proteiny - VP1, VP2 a VP3. Pět molekul proteinu VP1 se samovolně skládá do složitější struktury - pentameru.

Kapsida viru je tvořena ze 72 pentamer, z čehož 12 pentamer je pentavalentních a 60 je hexavalentních. Minoritní kapsidové proteiny VP2 a VP3 asociují s vnitřní prohlubní VP1

pentameru, který tak obsahuje vždy buď VP2 nebo VP3 (obr. 2). Tyto minoritní proteiny nejsou potřeba ke vzniku kapsidy, avšak pro infekci hostitelské buňky jsou nezbytné (Salunke et al., 1986; Stehle et al., 1994).



Obr. č. 2: (a) Počítačem generovaný obraz virionu polyomaviru. (b) Umístění VP2 v VP1 pentameru (zde jsou uvedeny jen dvě molekuly VP1 z pěti). Převzato z Atwood a Shah (2001).

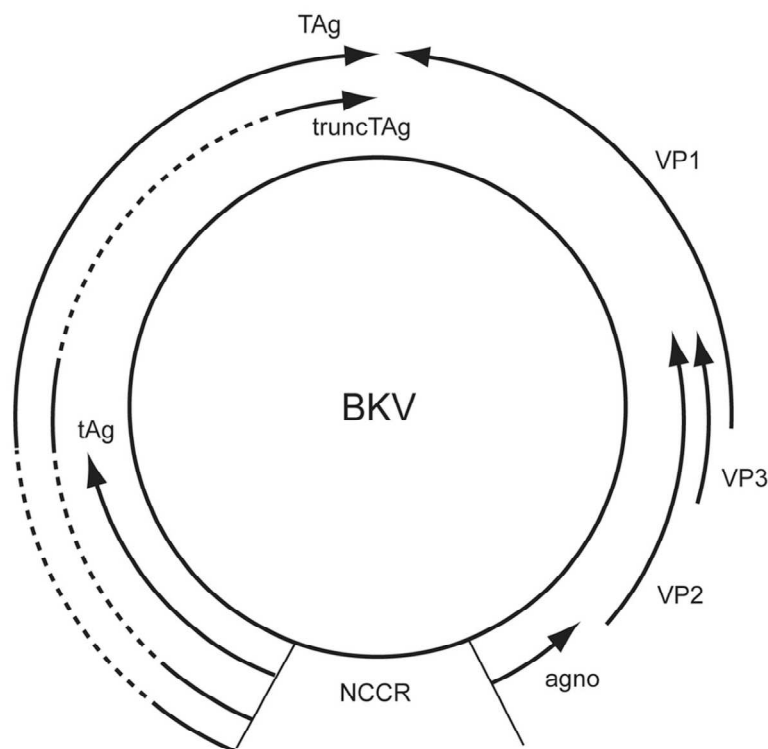
Hlavní kapsidový proteinu VP1 je složen z 5 domén, které jsou spojeny do smyček, pojmenovaných podle domén, které spojují BC, DE, EF, GH a HI (Griffith et al., 1992; Liddington et al., 1991). Smyčka BC společně se smyčkou HI interaguje při vstupu do buňky s kyselinou sialovou a zprostředkovává vstup. Mimo to obsahuje BC smyčka určitou oblast aminokyselin, podle které se rozlišují 4 podtypy (I-IV) BK viru (Jin et al., 1993).

Genom BKV je ~ 5 kb velký. Lze ho rozdělit do 3 funkčních oblastí. Časnou kódující oblast (early region), pozdní kódující oblast (late region) a nekódující oblast (non-coding control region - NCCR), která má funkci regulační. V časně kódující oblasti jsou kódovány tři proteiny, v pozdní oblasti čtyři proteiny. Mezi těmito oblastmi se nachází již zmiňovaná oblast nekódující (NCCR), která obsahuje sekvence důležité k zahájení replikace (promotory)

a transkripce (transkripční elementy, tj. promotory a enhancery). Obě kódující oblasti mají vlastní promotor a mají opačnou orientaci čtecího rámce (obr. 3) (Cole a Conzen, 2001).

Z časných genů vznikají proteiny velkého tumorogenního antigenu (TAg), malého tumorogenního antigenu (tAg) a zřejmě i nedávno objeveného tumorogenního antigenu – TruncTAg (Abend et al, 2009). Geny pro časné proteiny jsou překládány do společné mRNA, která je neštěpena na fragmenty specificky kódující jednotlivé proteiny. Kromě proteinů kapsidy je z pozdní oblasti produkován tzv. agnoprotein (Cole a Conzen, 2001).

Funkce agnoproteinu u BKV není zatím úplně známa, bylo pouze zjištěno, že interaguje s lipidickými vesikuly (LD) dokáže interagovat s proteinem  $\alpha$  – SNAP (Johannessen et al, 2011).



Obr. č. 3: Schematické znázornění kruhového DNA genomu BK polyomaviru s časnými a pozdními kódujícími oblastmi a jejich transkripty, a nekódující oblastí NCCR. Plné čáry naznačují translatované oblasti genomu a přerušované čáry introny. Přepis časné a pozdní oblasti probíhá ve směru nakreslených šipek. Převzato z Abend et al, (2009).

## 3.2 Životní cyklus

Životní cyklus BKV začíná interakcí kapsidového proteinu VP1s povrchovým receptorem infikované buňky (Low et al, 2006). Receptory využívané ke vstupu jsou buď gangliosidy GT1b či GD1b s  $\alpha$  2-8-vázanou kyselinou sialovou (nalezeny na buňkách ledvin infikovaných BKV) (Low et al, 2006) nebo také N – vázané glykoproteiny s  $\alpha$  2-3-vázanou kyselinou sialovou (Dugan et al, 2005). Viriony se do buňky dostávají receptor-zprostředkovanou endocytózou.

Virus vstupuje do buňky v oblastech lipidických raftů, na nichž probíhá kaveolin-zprostředkovaná endocytóza. Viriony jsou spolu s kaveolinem endocytovány v podobě malých váčků, endozómů, ve kterých je činností enzymu v-ATPázy postupně vytvářeno kyselé pH. Kyselé pH je pro infekci BKV důležité, neboť zapříčiní rozvolnění virové kapsidy. Virion prochází klasickou endocytickou dráhou přes tzv. časný endozóm, který postupně přechází v endozóm pozdní a ten se pak pravděpodobně spojuje s lyzozómem za vzniku endolyzozómů. Z endolyzozómu je rozvolněný virion transportován do Golgi a přes ER se dostává do jádra (Engel et al. 2011).

V jádře probíhá, za pomoci hostitelských enzymů, nejdříve produkce proteinů časně oblasti genomu, dále pak replikace a nakonec produkce proteinů z pozdní oblasti genomu. Časný protein TAg vykonává funkci DNA helikázy a váže proteiny, jako je replikační protein A (RPA) a DNA polymeráza  $\alpha$ /primáza, které jsou nutné k replikaci (Waga et al, 1994). Důležitou funkcí TAg proteinu, kromě iniciace replikace virového genomu, je také potlačení exprese časných genů a stimulace exprese genů pozdních. Po replikaci a vytvoření všech potřebných proteinů dochází ke složení a později k uvolnění nových infekčních virionů mimo buňku (Imperiale 2001).

## 3.3 Onkogeneze navozená BK virem

Lidský BK polyomavirus je řazen mezi tumorogenní viry, neboť časná oblast jeho genomu kóduje dva známé onkoproteiny: TAg a tAg (Imperiale, 2001; Barbanti-Brodano et al, 2006), které dokáží navodit nádorovou transformaci hlodavčích buněk a immortalizují buňky lidské (van der Nooraa, 1976; Watanabe, 1982). Naočkování BKV do mladých nebo

novorozených křečků, myši nebo krys vede k rozvoji několika různých typů nádorů (ependymomu, neuroblastomu, gliomu, nefroblastomu, nádory ostrůvků pankreatu, fibrosarkomu, liposarkom, osteosarkou) (Tognon et al, 2003; Corallini, et al, 2001).

Onkoprotein TAg se podílí na nádorové transformaci buněk interakcí s buněčným transkripčním faktorem p53, který za standardních situací zabraňuje vzniku nádoru tím, že reguluje expresi genů, které kontrolují růst buněk, apoptózu a opravu DNA (Gardner et al, 1971). Ale je-li tento transkripční faktor v komplexu s TAg, dochází k inaktivaci p53 a buňka uniká kontrole buněčného cyklu. TAg se neváže pouze na p53, ale i na další důležité nádorové supresory např. pRb (retinoblastoma protein), p107 a p130, u kterých taktéž dochází k jejich inaktivaci a tím deregulaci buněčného cyklu (Harris et al, 1996; Harris et al, 1998). Druhý onkoprotein tAg inhibuje protein fosfatázu 2A (PP2A), což vede k aktivaci MAP kinásové dráhy a následně také k buněčné proliferaci (Rundell et al, 1981; Sontag et al, 1993).

Nicméně vliv BK viru na vznik nádorů u lidí je stále diskutován. I přesto, že byly objeveny sekvence viru v mnoha typech lidských nádorů, podobně jako u viru SV40 nebylo prokázáno, že by virus byl jeho příčinou vzniku (Feng et al. 2008).

### 3.4 Infekce a přenos viru

K primární infekci dochází obvykle už během raného dětství, většinou po snížení hladiny mateřských protilátek. Ve věku 5 – 9 let dosahuje séroprevalence BKV až 91% (Knowles et al., 2003). Primární infekce je většinou bezpříznaková, jen v některých případech je doprovázena mírným onemocněním dýchacích cest nebo močového ústrojí (Padgett et al., 1983). Během infekce dochází k virémii (virus vstupuje do krevního řečiště hostitelského organismu). Infekční viriony jsou roznášeny krví do dalších orgánů, kde zůstávají v latentním stádiu. Hlavním místem výskytu BKV jsou ale především ledviny (Chesters et al, 1983; McCance, 1983) ve kterých virus infikuje zejména epiteliální buňky sběrných kanálků, tubulární epitel ledvin a ledvinové kalichy a pánvičky (Wiseman, 2009; Shinohara et al., 1993). Byl nalezen ale i na jiných místech - v močovém měchýři, v močovodu, v prostatě, leukocytech a na dalších místech v organismu člověka (Chesters et al., 1983, Zambrano et al., 2003, Hirsch a Steiger, 2003). Virus se po primární infekci vyskytuje dlouhodobě v těle jedince v nereplikativním (latentním) stavu a je kontrolován imunitním systémem. K tomuto

dochází u zdravých imunokompetentních jedinců. Ovšem u imunosuprimovaných jedinců, jako jsou pacienti po transplantaci, dochází k aktivaci viru a k závažným poruchám orgánů. Virus reaktivuje a způsobuje tubulo-intersticiální nefritidu, stenózu (zúžení) močovodu (Hirsch, 2010; Randhawa et al., 1999; Gardner et al., 1994; Gardner et al., 1971) nekrózy nebo destrukce tubulární bazální membrány v renálních epitelálních buňkách (Nickeleit et al., 1999).

Občas dochází k reaktivaci BKV i u jinak zdravých lidí, což vede k asymptomatické virurii (Kitamura et al., 1990). Reaktivace viru se může zvyšovat s vyšším věkem či poruchami imunitního systému (Hirsch a Steiger, 2003).

Způsob přenosu BKV nebyl dosud kompletně vysvětlen. Je zde možných několik cest. Jedinec se může nakazit respirací, nasvědčuje tomu výskyt viru v tkáni mandlí (Goudsmit et al., 1982), kontaminovanými předměty nebo orální cestou např. kontaminovanými potravinami či vodou jelikož přítomnost virové DNA byla zjištěna i v městské kanalizaci. Také je možný transplacentální přenos z matky na plod, který byl navržen na základě detekce specifických IgM v placentě a v krvi z pupečníku. Tato cesta přenosu je ale zatím stále diskutována (Knowles, 2001, Pietropaolo et al., 1998). Dále nesmíme opomenout možný přenos spermatem, transfuzí krve nebo transplantací orgánů zejména transplantací ledvin (Zambrano et al., 2003, Dolei et al., 2000, Andrews et al., 1988).

### 3.5 Detekce viru

Pro detekci infekce BKV jsou v klinických vzorcích používány protilátky proti velkému T-antigenu. Dále BKV infekci můžeme identifikovat pomocí PCR nebo pomocí Western blot analýzy za použití protilátek proti kapsidovému proteinu VP1. Bohužel tyto protilátky nejsou komerčně dostupné, ale dají se místo nich použít dostupné protilátky viru SV40, které křížově reagují s antigeny BKV (Moriyama a Sorokin, 2009).

K výzkumu BK viru *in vitro* se používají hlavně lidské renální proximální tubulární epitelální buňky (HRPTEC), především proto, že v jiných buňkách se virus příliš efektivně nemnoží.

### 3.6 Patogenita BKV

Vysoká prevalence, latentní infekce a asymptomatická reaktivace komplikují zhodnocení patogenní role BKV (Knowles, 2006). Infekce virem je spojována s různými patologiemi, jako je krvácivá cystitida, stenóza močovodu, vaskulopatie, pneumonie, encefalitida, retinitida, nefropatie a dokonce i multiorgánové selhání (Hirsch a Steiger, 2003).

Významné komplikace vznikají především u příjemců orgánových transplantací, neboť potransplantační imunosuprese je spojena mimo jiné s reaktivací latentních a perzistujících infekcí.

Jak už bylo zmíněno, virus přetrvává dlouhodobě zejména v ledvinách a močových cestách (Chesters et al., 1983). Během imunosuprese může dojít k reaktivaci viru, která se projevuje virurií (přítomnost viru v moči), virémií (přítomnost virů v krvi) a může vést až k závažným onemocněním jako je BKV-asociovaná nefropatie (BKVN). Reaktivace viru je nejběžnější u pacientů s transplantovanou kostní dřeví nebo u pacientů s transplantací ledvin. Byla pozorována i u jedinců s autoimunitními onemocněními, jako je systémový lupus erythematosus (SLE) nebo získaný syndrom imunitní nedostatečnosti (AIDS) (Chang et al., 1996; Munoz et al., 2005; Sundsfjord et al., 1999).

U 10-15% pacientů po transplantaci ledvin přechází virus z močového traktu (virurie) do celého systému (virémie). Trvalé virémie jsou příznakem intersticiální nefritidy (Wiseman et al., 2009; Brennan et al., 2005; Babel et al., 2009).

V posledních 10 letech došlo k nárůstu onemocnění BK virem. Děje se tomu pravděpodobně kvůli zavedení nových, účinnějších imunosupresiv.

I přes intenzivní výzkum není zatím stanovena žádná efektivní antivirové terapie, (Moriyama a Sorokin, 2009) ačkoliv se testují antivirotika jako je cidofovir nebo leflunomid, které fungují slibně *in vitro*, ovšem *in vivo* jsou neúčinné a s vedlejšími účinky na organismus. Obvyklá strategie pro léčbu virové infekce je tedy prozatím jen snížit míru imunosuprese, aby imunitní systém získal znovu kontrolu nad infekcí (Rinaldo a Hirsch, 2007).

### 3.6.1 BKV nefropatie (BKVN)

BKV nefropatie je závažné onemocnění ledvin způsobené BK polyomavirem a je považováno v dnešní době za významnou infekční komplikaci po transplantaci ledvin. Prvně bylo diagnostikováno u pacientů po transplantaci v roce 1995. Vyskytuje se u 2-5% příjemců ledvinných štěpů a u 30-60% postižených vede k jejich selhání (Ahuja et al, 2001; Hussain et al, 2002).

BK virus vyvolává u pacientů po transplantaci ledviny celé spektrum změn od asymptomatické replikace viru v močovém traktu, přes stenózy močovodu, přechodné snížení funkce štěpu až po nefropatii štěpu, která může vést k jeho selhání. K selhání dochází díky intenzivní replikaci viru v tubulárních buňkách, která vyústí až v těžkou tubulární nekrózu a intersticiální fibrózu.

Na virové reaktivaci, která může vést až ke vzniku BKVN, se podílí zejména imunopresivními léčiva podávaná po transplantaci. Reaktivace začíná do 3 měsíců po operaci a je pozorována u 30-50% pacientů (Bressollette- Bodin et al, 2005; Brennan et al, 2005). Nejsou-li provedena příslušná opatření po zaznamenání reaktivace viru, dochází přibližně u 45% případů k selhání štěpu. Byly zkoumány i jiné rizikové faktory, které se mohou a pravděpodobně účastní na vzniku BKVN, jsou to: vyšší věk, bílá rasa, antirejekční léčba, diabetes mellitus, nepřítomnost alely HLA-C7 a pohlaví, neboť u mužů je výskyt častější (Bohl et al., 2005; Hirsch et al., 2005; Hirsch et al., 2002).

Pro úspěšný terapeutický zásah je důležité, aby byla virová nefropatie rozeznána co nejdříve, jelikož časná stádia onemocnění jsou na rozdíl od konečných stádií reverzibilní (Nickeleit a Mihatsch, 2006; Schwartz a Twining, 2006). Diagnóza BKV nefritidy se stanovuje pomocí biopsie, cytopatických efektů (tzv. „decoy cells“ v moči), přítomností viru v moči, séru nebo v krvi a sledováním protivirové imunity (BKV specifické protilátky). Virové kultury se k detekci viru nepoužívají.

„Decoy cells“ vylučují pacienti s BKVN v moči. Jsou to infikované tubulární epiteliální buňky s intranukleárními bazofilními tělísky (Wiseman, 2009; Drachenberg et al., 2001; Hariharan, 2006). Přítomnost „decoy cells“ vypovídá o přítomnosti BKV v uroepitelu, ale nepotvrzuje BKVN. Naopak detekce a stupeň zvýšení protilátek IgM v krvi pacienta lze využít jako dobrý ukazatel akutní BKVN (Hariharan, 2006).



Přítomnost viru v moči, krvi nebo séru zjistíme pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR). Tyto testy se doporučují provádět každé 3 měsíce během prvních 2 let po transplantaci (Hirsch et al., 2005). Definitivní diagnóza je nakonec potvrzena přítomností virových inkluzí v tubulárních nebo glomerulárních buňkách epitelu v biopsii (Schwartz a Twining 2006; Ramos a Hirsch 2006).

### 3.6.2 BKV a hemoragická cystitida (HC)

Hemoragická cystitida je vážná komplikace spojená s infekcí BKV. Postihuje pacienty po transplantaci kostní dřeně (BMT) z 25-60%. Projevuje se přibližně 2 týdny po transplantaci a vyžaduje lékařskou péči (Dropulic a Jones, 2008). Vzniká pravděpodobně díky virové reaktivaci v uroepitelu neboť ve vyloučených epiteliálních buňkách můžeme detekovat BK viriony (Fogazzi et al., 2001; Hiraoka et al., 1991).

## 4. Prevalence BKV

Lidský polyomavirus BK je společně s polyomavirem JC nejrozšířenějším lidským polyomavirem na světě (Polo et al, 2004). Podle provedených sérologických studií, jsou tyto viry v lidské populaci všudypřítomné a běžně se vyskytují i u zdravých lidí - více jak 70% zdravé dospělé populace vykazuje specifické protilátky (Reploeg et al, 2001). V tabulce 1. je uveden celosvětový výskyt BKV u zdravých lidí.

Počet vzorků	Počet vzorků infikovaných BKV	Geografická oblast	Citováno podle:
91	25 (26%)	severovýchodní Čína	Chen et al. 2006
66	17 (26%)	severozápadní Čína	Chen et al. 2006
96	24 (25%)	jihovýchodní Čína	Chen et al. 2006
80	15 (19%)	jihozápadní Čína	Chen et al. 2006
450	122 (27%)	Japonsko	Zhong,et al. 2007
51	8 (15,7%)	Španělsko	Polo et al. 2004
947	720(76%)	Itálie	Viscidi et al. 2011
96	22 (24%)	Vietnam	Chen et al. 2006
30	9 (30%)	Mongolsko	Chen et al. 2006
334	248 (74%)	Maryland (USA)	Shah et al. 1973
1501	1231 (82%)	Colorado (USA)	Kean et al. 2009
51	30 (59%)	severo-východ USA	Zhong et al. 2009
117	112 (96%)	Austrálie	Antonsson et al. 2010
2435	1972 (81%)	Velká Británie	<u>Knowles</u> et al. 2003

Tabulka 1.: Výskyt BK viru ve světě

#### 4. 1 Výskyt BKV v Asii

Rozšíření BKV bylo zkoumáno v Asii, konkrétně v Asii východní, ze vzorků moči. Standardně se používají vzorky získané od imunokomprimovaných pacientů (Agostini et al, 1995; Di Taranto et al, 1997; Jin et al, 1993; Jin et al, 1995, Takasaka et al, 2004), zde však byly použity od imunokompetentních dospělých lidí. Byly odebrány z oblastí: severovýchodní Číny, severozápadní Číny, jihovýchodní Číny, jihozápadní Číny, Vietnamu, Mongolska a Japonska.

DNA BK viru byla detekována pomocí PCR amplifikace 287 párů basí BKV genomu. Výskyt viru v jednotlivých geografických oblastech byl podobný, pohyboval se procentuálně od 19% (v jihozápadní Číně) do 30% (v Mongolsku). Průměrný výskyt BKV ve východní Asii je tedy 24%. V šesti ze sedmi geografických oblastí se daly vzorky bez problémů analyzovat, pouze v jedné oblasti (jihozápadní Čína), mohla být použita jen polovina odebraných vzorků, neboť docházelo z neznámých důvodů k nízké účinnosti kopírování fragmentů DNA. Vzorky byly také použity k určení podtypu BKV. Ukázalo se, že všechny

vzorky získané v této studii se s vysokou pravděpodobností (95 - 100%) řadí k podtypu I a IV. Žádné izolované BKV nemohly být klasifikovány jako podtyp II ani III (Chen et al, 2006).

Zastoupení podtypů I a IV se liší v různých oblastech. V Japonsku a na jihovýchodu Číny byl častější podtyp I než podtyp IV. V Mongolsku, jihozápadní Číně a severozápadní Číně byl naopak podtyp IV častější než podtyp I. Pouze v severovýchodní Číně a Vietnamu byl výskyt obou podtypů podobný (Chen et al, 2006; Zheng et al, 2007).

## 4. 2 Výskyt BKV v Japonsku

K výzkumu distribuce BKV v Japonsku byly použity taktéž vzorky moči. Celkově jich bylo odebráno 450, z toho 351 vzorků od ambulantních pacientů, kteří navštěvovali ústřední nemocnici v Nagareyama a dětskou kliniku v Yasuda a 99 vzorků od zdravých dobrovolníků. Žádný ze zúčastněných nepodstoupil v době odběru imunosupresivní nebo protinádorovou léčbou a všichni byli japonské národnosti. Vzorky byly odebrány od 253 mužů a 197 žen různých věkových skupin včetně dětí. Věkové skupiny byly rozděleny po 10 letech od 0 do 89 roku života a analyzovány metodou PCR (Zhong et al, 2007).

Největší prevalence BK viru byla ve věkové skupině 80 – 89 let, zde dosahovala 44%. Směrem k nižším věkovým kategoriím se výskyt snižoval, až dosáhl minima ve věkové kategorii 20 – 29 let (pouhých 14%). Dál se ovšem naopak mírně zvyšoval, ve věku 10 – 19 let dosáhl 16% a v kategorii 0-9 let 24 %. Vyšší virurie u dětí než u mladších dospělých (20 – 29 rok) je pravděpodobně dána tím, že k primární infekci dochází v raném věku a ta je doprovázena virurií. Důležitým zjištěním je, že se virurie nevyskytuje jenom u jedinců s imunosupresí, u nichž dochází k reaktivaci viru v ledvinách, ale i u imunokompetentních jedinců a to ve všech věkových kategoriích, navíc u dospělých se zvyšuje s přibývajícím věkem (Zhong et al, 2007).

Otázkou také je, jak je to u lidí s mírnou imunosupresí, zda to má či nemá vliv na virurii. Srovnávala se skupina zdravých osob a skupina osob s mírnou imunosupresí tzv. osoby, které neužívaly žádná imunosupresiva ani léky proti nádorům, ale byli mírně imunosuprimováni z jiných příčin např. těhotenství, selhání ledvin, diabetes mellitus nebo osoby s infekcí. Po získání dat, bylo ovšem zjištěno, že mírný rozdíl v činnosti imunitního systému má jen malý vliv na BK virurii (Zhong et al, 2007).

### 4. 3 Výskyt BKV ve Španělsku

Ve studii byly analyzovány vzorky moči u zdravých dospělých jedinců a i dětí. Během výzkumu bylo získáno a použito 280 vzorků od zdravých osob (51 dospělých ve věku 25 až 57 let a 15 dětí ve věku 3 až 13 let). Odběry moči se u jedinců prováděly opakovaně. Po prvním odběru vzorků byly další odebrány po 7, 15, 30, 90 a 180 dnech. Ovšem je nutné uvést, že po prvním odběru spolupracovalo dál na výzkumu už jen 28 dospělých a 9 dětí. Nikdo z těchto osob neužíval žádné léky, které by mohly mít vliv na vylučování, a žádná žena nebyla během studia těhotná. Vzorky byly uloženy v -70 °C až do zpracování. K detekci viru byla použita metoda PCR (Polo et al, 2004).

Na počátku studie z 51 analyzovaných dospělých vylučovalo virus v moči jen 8 (15,7%) a jen 1 dítě (6,6%) z 15 analyzovaných bylo pozitivní na BKV, u ostatních se infekce nepotvrdila. Ovšem v průběhu výzkumu se výskyt viru v moči u různých pacientů měnil, viz tabulka 2. Můžeme tedy říci, že BKV je vylučován u nakažených jen příležitostně a to jak u dospělých tak u dětí (Polo et al, 2004).

	<b>Výskyt BKV</b>					
	<b>1. den</b>	<b>7. den</b>	<b>15. den</b>	<b>30. den</b>	<b>90. den</b>	<b>180. den</b>
dospělý 1						
dospělý 2				ano		
dospělý 3					ano	
dospělý 4						ano
dospělý 5					ano	
dospělý 6						
dospělý 7						
dospělý 8				ano		
dospělý 9						
dospělý 10						
dospělý 11					ano	
dospělý 12						
dospělý 13						
dospělý 14						
dospělý 15	ano	ano	ano	ano		
dospělý 16						
dospělý 17						
dospělý 18	ano		ano			ano
dospělý 19						
dospělý 20						

dospělý 21						
dospělý 22	ano	ano			ano	ano
dospělý 23	ano	ano		ano		
dospělý 24						
dospělý 25						
dospělý 26			ano	ano		
dospělý 27						
dospělý 28						
dítě 1						
dítě 2						
dítě 3	ano		ano		ano	
dítě 4						ano
dítě 5		ano	ano	ano		
dítě 6						ano
dítě 7						
dítě 8						
dítě 9						

Tabulka 2.: Výskyt BKV v moči zdravých jedinců. Převzato z Polo et al. (2004)

#### 4.4 Výskyt Itálie

Lidský BK polyomavirus přetrvává, jak už bylo zmíněno, v tkáni ledvin. Ale kromě ledvin, byly sekvence DNA polyomaviru detekovány i v krevních buňkách, konkrétně v periferních krevních mononukleárních buňkách (PBMC), jako jsou lymfocyty, monocyty nebo makrofágy. Výskyt viru v těchto buňkách byl častý u osob s poruchou imunity, jako jsou pacienti nakažení virem HIV nebo po transplantaci (Sundsford et al., 1994; Azzi et al., 1996; Degener et al., 1997; Lafon et al., 1998). Zatímco výskyt viru u imunokomprimovaných jedinců byl prokázán v několika studiích, u imunokompetentních zdravých jedinců se studie výrazně lišily, v rozmezí nulového až 90% výskytu. (Sundsford et al., 1994; Azzi et al., 1996; De Mattei et al., 1995; Dorries et al., 1994). Tento problém se snažila vyřešit rozsáhlá studie, ve které bylo analyzováno 231 vzorků krve od zdravých osob. Z těchto 231 vzorků bylo 67 (29%) pozitivních na BK virus (Dolei et al, 2000).

Zajímavé výsledky dostaneme, když si rozdělíme dárce podle věku do tří skupin a zhodnotíme výsledky z tohoto hlediska, neboť v první skupině (dárce ve věku 40 let a více)

bude výskyt nulový, ve druhé skupině (dávci ve věku 21-40 let) bude vyšší – 12,5% a v poslední věkové skupině (dávci ve věku 20 let a méně) nejvyšší - až 37,5% (viz tabulka 3) (Dolei et al, 2000).

Věk dárců krve	výskyt BKV (%)
< 20	37,5
21 - 40	12,5
> 40	0

Tabulka 3.: Výskyt BKV infikovaných osob dle věku. Převzato z Dolei et al. (2000)

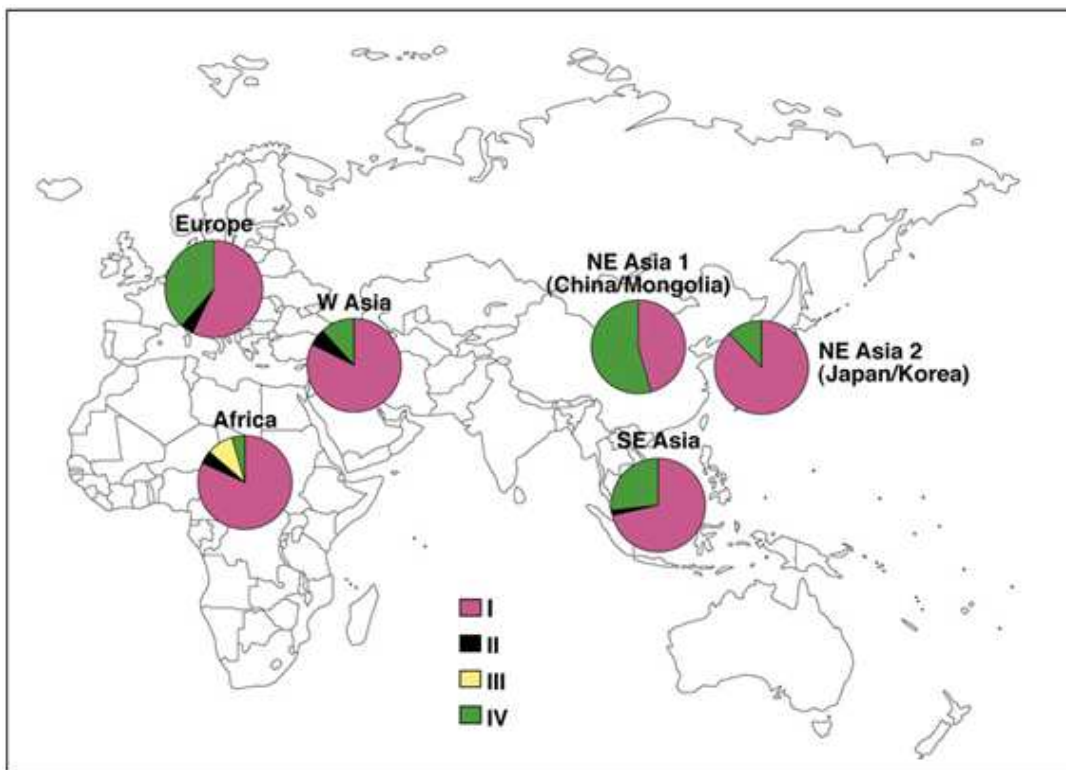
Z tohoto plyne, že prevalence viru v krevních buňkách u imunokompetentních lidí se s věkem snižuje. Tento jev si můžeme vysvětlit tak, že PBMC pravděpodobně nejsou místem latence viru u zdravých jedinců. Přítomnost viru v krevních buňkách můžeme tedy detekovat převážně jen v době primární infekce, ke které dochází v raném věku, a době bezprostředně po infekci. Proto je prevalence viru v krvi nejvyšší v mladém věku. Nesmíme opomenout možnost reaktivace viru, v takovém případě je výskyt BKV v krevních buňkách taktéž možný (Dolei et al, 2000).

## 5. Prevalence podtypů BKV ve světě

BKV je jediný z polyomavirů, který má sérologicky diferencované podtypy (I-IV) (Jin et al., 1993), které se vyskytují po světě s různou četností. Ke stanovení distribuce těchto podtypů byly odebrány vzorky moči od imunokompetentních zdravých dobrovolníků a od pacientů. Vzorky, které byly pozitivní na BKV virus byly dále analyzovány a přiřazeny k příslušným podtypům (Zheng et al, 2007). Viz 3.1.

Moč byla získána z různých míst Evropy, Asie a Afriky. Pro lepší přehlednost byly lokality rozděleny do 6 hlavních oblastí: Evropa, Afrika, západní Asie, severovýchodní Asie 1 (Mongolsko a Čína), severovýchodní Asie 2 (Jižní Korea a Japonsko) a jihovýchodní Asie. Frekvence podtypů pro každou z hlavních zeměpisných oblastí jsou přehledně zobrazeny na mapě světa (Obr. č. 4). Poznatky lze shrnout následovně:

Podtyp I převládá ve všech hlavních geografických oblastech kromě severovýchodní Asie 1, kde je až druhý nejrozšířenější. Výskyt tohoto podtypu se pohybuje od 46% do 82%. Podtyp IV je druhý nejčastější ve všech oblastech kromě Afriky, kde je nejčastější hned po podtypu I podtyp III a podtyp IV je zde až na 3. místě společně s podtypem II. A také v severovýchodní Asii 1, kde je podtyp IV úplně nejrozšířenější. Zbývající dva podtypy (II a III) se vyskytovaly jen velmi zřídka, podtyp III byl detekován pouze v Africe, v ostatních oblastech chyběl. Podtyp II byl naproti typu III častější, ale i tak se jeho prevalence pohybovala velmi nízko. Viz tabulka 4. (Zheng et al, 2007; Chen et al, 2006; Zhong et al, 2009)



Obr. č. 4.: Distribuce podtypů BKV v hlavních geografických oblastech. Frekvence BKV podtypů je zastoupena různými barvami v koláčových grafech. Převzato ze Zheng et al. (2007)

BKV I pravděpodobně vznikl v Africe a poté byl rozptýlen po celé zemi migrací lidských populací (Chen et al, 2006). Podtyp IV byl také rozšířen po světě pohybem člověka, ale předpokládá se, že původně vznikl ve východní Asii a byl do Evropy a Spojených států zavlečen relativně nedávno (Balzeau et al, 2005; Liu et al, 2005).

Geografická oblast	Počet izolovaných vzorků s BKV	Počet (%) klasifikovaných izolátů			
		I	II	III	IV
Evropa	70 (100%)	40 (57%)	3 (4%)	0 (0%)	27 (39%)
Afrika	44 (100%)	36 (82%)	2 (5%)	4 (9%)	2 (5%)
západní Asie	17 (100%)	14 (82%)	1 (6%)	0 (0%)	2 (12%)
severovýchodní Asie 1	79 (100%)	36 (46%)	0 (0%)	0 (0%)	43 (54%)
severovýchodní Asie 2	33 (100%)	29 (88%)	0 (0%)	0 (0%)	4 (12%)
jihovýchodní Asie	56 (100%)	40 (71%)	1 (2%)	0 (0%)	15 (27%)

Tabulka 4.: Četnost BKV podtypů v různých geografických oblastech. Převzato z Zheng et al. (2007)

## 5. 1 Prevalence podtypů BKV I a IV

Pomocí fylogenetické analýzy je podtyp I dále rozdělen do čtyř podskupin (I / a, I/b-1, I/b-2 a I / c), každá podskupina má své geografické rozložení: a nejvíce převládá v Africe, b-1 v jihovýchodní Asii, b-2 v Evropě a c v severovýchodní Asii (Ikegaya et al., 2006; Takasaka et al., 2004; Zheng et al., 2007).

Nedávno byla provedena i detailní fylogenetická analýza podtypu IV z izolátů po celém světě. Podtyp IV byl identifikován do šesti podskupin (IV/a-1, IV/a-2, IV/b-1, IV/b-2, IV/c-1 a IV/c-2) (Nishimoto et al, 2007). Podobně jako podskupiny podtypu I, i zde mají podskupiny své geografické rozložení. Všechny s výjimkou IV/c-2 se vyskytují převážně ve východní asijské populaci, IV/c-2 se vyskytují v Evropě a v severovýchodní Asii (Nishimoto et al., 2007).



## 6. Závěr

Tato práce je rozdělena do dvou částí zabývajících se lidskými polyomaviry. První část práce je zaměřena na popis a charakteristiku polyomavirů, zejména BK viru. Jsou zde zmíněny jeho onkogenní účinky studované na zvířecích i lidských buňkách a onemocnění BKVN způsobené tímto virem. Onkogenní potenciál a závažnost nefropatie po transplantacích je důvodem, proč by se tento virus měl nadále zkoumat.

Druhá část bakalářské práce se zabývá výskytem BK viru v populaci a v závěru se stručně zmiňuje o BKV podtypech a jejich rozšíření.

Hlavním cílem této práce je poukázat na vysoký výskyt BK polyomaviru v lidské populaci v různých částech světa. Dle dostupných vědeckých publikací, použitých v této práci, se výskyt viru v různých oblastech vzájemně dost odlišuje (viz tabulka 3). To může mít několik příčin. Jednou z nich může být použití různých detekčních metod s různou mírou citlivosti. Také nesmíme opomenout fakt, že pro výsledky uvedené v tabulce byly použity především výsledky detekce moči a to vždy u imunokompetentních jedinců. U imunokompetentních jedinců pokud jsou nakaženi, nedochází k virurii kontinuálně, jako je tomu u imunokomprimovaných pacientů, ale jen občasně, tudíž negativní výsledek vzorku může být zavádějící. Ve studiích, které použily k detekci BKV, resp. protilátek proti němu, krevní sérum, byly vzorky pozitivní až z 96%. Můžeme tedy předpokládat, že pokud by byly použity k výzkumu pouze krevní séra osob nebo by byly jedinci imunokomprimováni, pozitivní výsledky by pravděpodobně dosahovaly vyšších procentuálních hodnot.

Vysoký výskyt BK viru v populaci patří rozhodně k zajímavým faktům týkající se čeledi Polyomaviridae a určitě ne k posledním, neboť je stále hodně neznámého ohledně lidských polyomavirů a i BK viru samotného, co čeká na objevení.

## 7. Seznam použité literatury

Abend Johanna R., Jiang Mengxi, and Imperiale Michael J.; (2009); BK Virus and Human Cancer: Innocent until Proven Guilty; *Semin Cancer Biol.* August; 19(4): 252–260

Agostini HT, Brubaker GR, Shao J, Levin A, Ryschkewitsch CF, Blattner WA, Stoner GL; (1995); BK virus and a new type of JC virus excreted by HIV-1 positive patients in rural Tanzania. *Arch Virol* 140: 1919–1934

Ahuja M, Cohen EP, Dayer AM et al.; (2001); Polyoma virus infection after renal transplantation. Use of immunostaining as a guide to diagnosis. *Transplantation* 71: 896–899.

Allander, T, Andreasson, K, Gupta, S, Bjerkner, A, Bogdanovic, G, Persson, MA, Dalianis, T, Ramqvist, T, Andersson, B.; (2007); Identification of a third human polyomavirus. *J Virol*; 81: 4130–4136.

Anderer FA, Schlumberger HD, Koch MA, Frank H, Eggers HJ.; (1967); Structure of simian virus 40. II. Symmetry and components of the virus particle; *Virology*. 1967 Jul;32(3):511-23.

Antonsson Annika, Adele C. Green, Kylie-Ann Mallitt, Peter K. O'Rourke, Michael Pawlita, Tim Waterboer and Rachel E. Neale; (2010); Prevalence and stability of antibodies to the BK and JC polyomaviruses: a long-term longitudinal study of Australians; *Journal of General Virology*, 91, 1849–1853

Azzi, A., De Santis, R., Ciappi, S., Leoncini, F., Sterrantino, G., Marino, N., Mazzotta, F., Laszlo, D., Fanci, R. & Bosi, A. (1996) Human polyomaviruses DNA detection in peripheral blood leukocytes from immunocompetent and immunocompromised individuals. *J Neurovirol.* Dec;2(6):411-6.

Balzeau, A, Grimaud-Herve, D., Jacob, T.; (2005); Internal cranial features of the Mojokerto child fossil (East Java, Indonesia). *J Hum Evol.* Jun;48(6):535-53.

Barbanti-Brodano G, Sabbioni S, Martini F, Negrini M, Corallini A, Tognon M.; (2006); BK virus, JC virus and Simian Virus 40 infection in humans, and association with human tumors. *Adv Exp Med Biol*; 577:319–41.

Bohl DL, Storch GA, Ryschkewitsch C, Gaudreault-Keener M, Schnitzler MA, Major EO, Brennan DC.; (2005); Donor origin of BK virus in renal transplantation and role of HLA C7 in susceptibility to sustained BK viremia; *American Journal of Transplantation*; 5: 2213–2221

Brennan DC, Agha I, Bohl DL, Schnitzler MA, Hardinger KL, Lockwood M, et al.; (2005); Incidence of BK with tacrolimus versus cyclosporine and impact of preemptive immunosuppression reduction. *Am J Transplant*; 5(3):582–94

Bressollette-Bodin C, Coste-Burel M, Hourmant M, Sebille V, Andre-Garnier E, Imbert-Marcille BM; (2005); A prospective longitudinal study of BK virus infection in 104 renal transplant recipients. *Am J Transplant*; 5(8):1926–33.

Chen Q., Zheng H.-Y., Zhong S., Ikegaya H., He H.-X., Wei W., He Y.-Y., Kobayashi N., Honjo T., Takasaka T., Takahashi S., Kitamura T., Yogo Y., (2006), Subtype IV of the BK polyomavirus is prevalent in East Asia. *Arch Virol* 151: 2419–2429 review

Chesters PM, Heritage J, McCance DJ.; (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

Cole a Conzen; (2001); Citováno podle Abend Johanna R., Jiang Mengxi, and Imperiale Michael J.; (2009); BK Virus and Human Cancer: Innocent until Proven Guilty; *Semin Cancer Biol.* August; 19(4): 252–260

Corallini, A.; Tognon, M.; Negrini, M.; Barbanti-Brodano, G.; (2001); Evidence for BK Virus as a Human Tumor Virus. In: Khalili, K.; Stoner, GL., editors. Human Polyomaviruses: Molecular and Clinical Perspectives. New York: Wiley-Liss, Inc;. p. 431-60.

Degener, A. M., Pietropaolo, V., Di Taranto, C., Rizzuti, V., Ameglio, F., Cordiali Fei, P., Caprilli, F., Capitanio, B., Sinibaldi, L. & Orsi, N.; (1997); Detection of JC and BK viral genome in specimens of HIV-1 infected subjects. *New Microbiol.* Apr;20(2):115-22.

De Mattei, M., Martini, F., Corallini, A., Gerosa, M., Scotlandi, K., Carinci, P., Barbanti-Brodano, G. & Tognon, M.; (1995); High incidence of BK virus large-T-antigen-coding sequences in normal human tissues and tumors of different histotypes. *Int J Cancer.* Jun 9;61(6):756-60.

Dorries, K., Vogel, E., Gunther, S. & Czub, S. (1994) Infection of human polyomaviruses JC and BK in peripheral blood leukocytes from immunocompetent individuals. *Virology.* Jan;198(1):59-70.

Di Taranto C, Pietropaolo V, Orsi GB, Jin L, Sinibaldi L, DegenerAM (1997) Detection of BK polyomavirus genotypes in healthy and HIV-positive children. *Eur J Epidemiol* 13: 653–657

Dolei A, Pietropaolo V, Gomes E, Di Taranto C, Ziccheddu M, Spanu MA, Lavorino C, Manca M, Degener AM.; (2000); Polyomavirus persistence in lymphocytes: prevalence in lymphocytes from blood donors and healthy personnel of a blood transfusion centre. *J Gen Virol.* Aug;81(Pt 8):1967-73.

Dropulic LK, Jones RJ.; (2008); Polyomavirus BK infection in blood and marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplant*;41(1):11–8

Dugan, A. S., S. Eash, and W. J. Atwood.; (2005); An N-linked glykoprotein with (2,3) linked sialic acid is a receptor for BK virus. *J. Virol.* 79:14442–14445.

Eddy B. E., Borman G. S., Berkeley W. H., and Young R. D.; (1961); *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 107, 191 ± 197.

Eddy, B. E., Borman, G. S., Grubbs, G. E., Young, R. D.; (1962); Identification of the oncogenic substance in rhesus monkey kidney cell culture as simian virus 40. *Virology* 17, 65-75.

Engel Sabrina, Thomas Heger, Roberta Mancini, Fabian Herzog, Jurgen Kartenbeck, Arnold Hayer, Ari Helenius; (2011); Role of Endosomes in Simian Virus 40 Entry and Infection; *Journal of Virology*, May, p. 4198–4211

Feng, Huichen Jennifer L. Taylor, Panayiotis V. Benos, Robert Newton, Keith Waddell, Sebastien B. Lucas, Yuan Chang, and Patrick S. Moore; (2007); Human Transcriptome Subtraction by Using Short Sequence Tags To Search for Tumor Viruses in Conjunctival Carcinoma; *Journal of virology*, Oct. 2007, p. 11332–11340

Feng H, Shuda M, Chang Y, Moore PS.; (2008); Clonal integration of a polyomavirus in human Merkel cell carcinoma; *Science*. Feb 2008 22;319(5866):1096-100.

Gardner SD, Field AM, Coleman DV, Hulme B.; (1971); New human papovavirus (B.K.) isolated from urine after renal transplantation. *Lancet* 1(7712):1253–7.

Gaynor, AM, Nissen, MD, Whiley, DM, Mackay, IM, Lambert, SB, Wu, G, Brennan, DC, Storch, GA, Sloots, TP, Wang D.; (2007); Identification of a novel polyomavirus from patients with acute respiratory tract infections. *PLoS Pathog*; 3: e64.

Girardi, A. J., Sweet, B. H., Slotnick, V. B., Hilleman, M. R.; (1962); Development of tumors in hamsters inoculated in the neonatal period with vacuolating virus, SV-40.

Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 109, 649-660.

Griffith JP, Griffith DL, Rayment I, Murakami WT, Caspar DL.; (1992); Inside polyomavirus at 25-A resolution. Nature;355:652–654.

Gross, L.; (1953); A filterable agent, recovered from Ak leukemic extracts, causing salivary gland carcinomas in C3H mice. Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 83, 414-421.

Hussain S, Bresnahan BA, Cohen EP, Hariharan S.; (2002); Rapid kidney allograft failure in patients with polyoma virus nephritis with prior treatment with antilymphocyte agents. Clin Transplant 16: 43–47.

Ikegaya, H., Saukko, P. J., Terti, R., Metsarinne, K. P., Carr, M. J., Crowley, B., Sakurada, K., Zheng, H.-Y., Kitamura, T. & Yogo, Y.; (2006); Identification of a genomic subgroup of BK polyomavirus spread in European populations. J Gen Virol 87, 3201–3208.

Imperiale MJ.; (2001); Oncogenic transformation by the human polyomaviruses. Oncogene;20(54):7917– 23 review

Jin L, Gibson PE, Booth JC, Clewley JP; (1993); Genomic typing of BK virus in clinical specimens by direct sequencing of polymerase chain reaction products. J Med Virol 41: 11–17

Jin L, Gibson PE, Knowles WA, Clewley JP.; (1993); BK virus antigenic variants: sequence analysis within the capsid VP1 epitope. J Med Virol;39:50–56.

Jin L, Pietropaolo V, Booth JC, Ward KH, Brown DW; (1995); Prevalence and distribution of BK virus subtypes in healthy people and immunocompromised patients detected by PCR-restriction enzyme analysis. *Clin Diagn Virol* 3: 285–295

Johannessen M, Walquist M, Gerits N, Dragset M, Spang A, Moens U.; (2011); BKV agnoprotein interacts with  $\alpha$ -soluble N-ethylmaleimide-sensitive fusion attachment protein, and negatively influences transport of VSVG-EGFP. *PLoS One*. 6(9):e24489. Epub 2011 Sep 12

Kean Jaime M., Suchitra Rao, Michael Wang, Robert L. Garcea; (2009); Seroepidemiology of Human Polyomaviruses; *PLoS Pathog*. 2009 Mar;5(3):e1000363

Knowles WA, Pipkin P, Andrews N, Vyse A, Minor P, Brown DW, Miller E.; (2003); Population-based study of antibody to the human polyomaviruses BKV and JCV and the simian polyomavirus SV40; *J Med Virol*. Sep;71(1):115-23

Koch MA, Eggers HJ, Anderer FA, Schlumberger HD, Frank H.; (1967); Structure of simian virus 40. I. Purification and physical characterization of the virus particle; *Virology* 1967 Jul;32(3):503-10.

Lafon, M. E., Dutronc, H., Dubois, V., Pellegrin, I., Barbeau, P., Ragnaud, J. M., Pellegrin, J. L. & Fleury, H. J.; (1998); JC virus remains latent in peripheral blood B lymphocytes but replicates actively in urine from AIDS patients. *J Infect Dis*. Jun;177(6):1502-5.

Liddington RC, Yan Y, Moulai J, Sahli R, Benjamin TL, Harrison SC.; (1991); Structure of simian virus 40 at 3.8-Å resolution. *Nature*;354:278–284.

Liu W, Zhang Y, Wu X; (2005); Middle Pleistocene human cranium from Tangshan (Nanjing), Southeast China: a new reconstruction and comparisons with *Homo erectus*

from Eurasia and Africa. *Am J Phys Anthropol* 127: 253–262

Mackay RL, Consigli RA.; (1976); Early events in polyoma virus infection: attachment, penetration, and nuclear entry. *J Virol.* Aug;19(2):620-36.

Mayor HD, Jamison RM, Jordan LE.; (1963); Biophysical studies on the nature of the simian papova virus particle (vacuolating SV40 virus); *Virology* 1963 Mar;19:359-66.

McCance D.J.; (1983); Persistence of animal and human papovavirus in renal and nervous tissue, *Prog. Clin. Biol. Res.* 105 343– 357

Moens Ugo, Ludvigsen Maria, Marijke Van Ghelue; (2011); Human Polyomaviruses in Skin Diseases; *Pathology Research International* Volume 2011

Nickeleit V, Mihatsch M; (2006); Polyomavirus nephropathy in native kidneys and renal allografts: an update on an escalatin Great. *Transplant Int*, 19: 960-973

Nishimoto, Y., Zheng, H.-Y., Zhong, S., Ikegaya, H., Chen, Q., Sugimoto, C., Kitamura, T. & Yogo, Y.; (2007); An Asian origin for subtype IV BK virus based on phylogenetic analysis. *J Mol Evol* 65, 103–111.

Padgett B.L., D.L. Walker, M.M. Desquitado, D.U. Kim; (1983); BK virus and non-haemorrhagic cystitis in a child; *Lancet.* Apr 2;1(8327):770.

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 leucoencephalopathy. *Lancet* 1, 1257-1260.



Polo, C., Perez, J. L., Mielnichuck, A., Fedele, C. G., Niubo, J. and Tenorio, A; (2004); Prevalence and patterns of polyomavirus urinary excretion in immunocompetent adults and children. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10: 640–644.

Reploeg, MD, Storch, GA, Clifford, DB.; (2001); Bk virus: a clinical review. *Clin Infect Dis.* Jul 15;33(2):191-202.

Rundell K, Major EO, Lampert M.; (1981); Association of cellular 56,000- and 32,000 molecular-weight protein with BK virus and polyoma virus t-antigens. *J Virol* 37(3):1090–3.

Salunke DM, Caspar DLD and Garcea RL; (1986); Self assembly of purified polyomavirus capsid protein VP1. *Cell* 46: 895–904.

Schwartz SE, Twining LM; (2006); BK virus infection in kidney transplantation? A case for early intervention. *Prog Transplant* 16: 133-137

Shah K. V., Daniel R. W., Warszawski R. M.; (1973); High Prevalence of Antibodies to BK Virus, an SV40-related Papovavirus, in Residents of Maryland; *The Journal of Infectious Diseases* VOL. 128, No. 6 784-787.

Sontag E, Fedorov S, Kamibayashi C, Robbins D, Cobb M, Mumby M.; (1993); The interaction of SV40 small tumor antigen with protein phosphatase 2A stimulates the map kinase pathway and induces cell proliferation. *Cell* 75(5):887–97.

Stehle T, Yan Y, Benjamin TL and Harrison SC; (1994); Structure of murine polyomavirus complexed with an oligosaccharide receptor fragment. *Nature* 369: 160–163.

Stoner G. L., Hübner R.; (2001); Citováno podle Ugo Moens, Maria Ludvigsen, Marijke Van Ghelue; (2011); Human Polyomaviruses in Skin Diseases; Volume 2011, Article ID 123491, 12 pages

Strickler HD, Goedert JJ, Fleming M, Travis WD, Williams AE, Rabkin CS, Daniel RW, Shah KV.; (1996); Simian virus 40 and pleural mesothelioma in humans. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 5: 473–5.

Sundsford, A., Flaegstad, T., Flø, R., Spein, A. R., Pedersen, M., Permin, H., Julsrud, J. & Traavik, T.; (1994); BK and JC viruses in human immunodeficiency virus type 1-infected persons: prevalence, excretion, viremia, and viral regulatory regions. *J Infect Dis.* Mar;169(3):485-90

Sweet BH, Hilleman MR; (1960); The vacuolating virus, S. V. 40. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1960 Nov;105:420-7.

Takasaka, T., Goya, N., Tokumoto, T., Tanabe, K., Toma, H., Ogawa, Y., Hokama, S., Momose, A., Funyu, T. and other authors; (2004); Subtypes of BK virus prevalent in Japan and variation in their transcriptional control region. *J Gen Virol* 85, 2821–2827.

Tognon M, Corallini A, Martini F, Negrini M, Barbanti-Brodano G.; (2003); Oncogenic transformation by BK virus and association with human tumors. *Oncogene*;22(33):5192–200

van der Noorda J.; (1976); Infectivity, oncogenicity and transforming ability of BK virus and BK virus DNA. *J Gen Virol* 30(3):371–3.

Viscidi P, Raphael, Dana E, Rollison, Vernon K, Sondak, Barbara Silver, Jane L, Messina, Anna R, Giuliano, William Fulp, Abidemi Ajidahun, and Daniela Rivanera; (2011); Age-Specific Seroprevalence of Merkel Cell Polyomavirus, BK Virus, and JC Virus; *Clinical and valine imunology*, Oct. 2011, p. 1737–1743

Waga S, Bauer G, Stillman B.; (1994); Reconstitution of complete SV40 DNA replication with purified replication factors. *J Biol Chem.* Apr 8;269(14):10923-34.

Watanabe S, Kotake S, Nozawa A, Muto T, Uchida S.; (1982); Tumorigenicity of human BK papovavirus plaque isolates, wild-type and plaque morphology mutant, in hamsters. *Int J Cancer* 29(5):583– 6.

Zheng ,Huai-Ying, Nishimoto, Yuriko, Chen, Qin, Hasegawa, Masami, Zhong, Shan, Ikegaya, Hiroshi, Ohno, Norikazu, Sugimoto ,Chie, Takasaka, Tomokazu, Kitamura, Tadaichi, Yogo, Yoshiaki; (2007); Relationships between BK virus lineages and human populations, *Microbes and Infection* 9: 204-213.

Zhong S, Zheng HY, Suzuki M, Chen Q, Ikegaya H, Aoki N, Usuku S, Kobayashi N, Nukuzuma S, Yasuda Y, Kuniyoshi N, Yogo Y, Kitamura T;(2007); Age-Related Urinary Excretion of BK Polyomavirus by Nonimmunocompromised Individuals; *Journal of clinical microbiology*, 45: 193–198.

Zhong Shan, Parmjeet S. Randhawa, Hiroshi Ikegaya, Qin Chen, Huai-Ying Zheng, Motofumi Suzuki, Takumi Takeuchi, Ayako Shibuya, Tadaichi Kitamura and Yoshiaki Yogo; (2009); Distribution patterns of BK polyomavirus (BKV) subtypes and subgroups in American, European and Asian populations suggest co-migration of BKV and the human race; *Journal of General Virology*, 90, 144–152