

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2025

Magdaléna Vejnusková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Patogenita lidských polyomavirů

Bakalářská práce

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Magdaléna Vejnospová**
Osobní číslo: **C22267**
Studijní program: **B0914P360019 Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví**
Téma práce: **Patogenita lidských polyomavirů**
Téma práce anglicky: **Pathogenesis of Human Polyomavirus**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Seznamte se s literaturou týkající se lidských polyomavirů JC a BK a jejich patogenity.
2. Vypracujte literární rešerši o současné diagnostice JC a BK virů. Charakterizujte výskyt virů u člověka v souvislosti s transplantacemi a rozvojem progresivní multifokální leukoencefalopatie.
3. Informace zpracujte přehledně, použijte také obrázky, schémata, grafy a ze získaných literárních údajů vytvořte závěry, jak budou tyto nové informace využity při riziku vzniku onemocnění asociovaných s polyomavirovou infekcí.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Mgr. Marcela Slováková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **20. prosince 2024**

Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2025**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

LS.

prof. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2025

Prohlašuji:

Práci s názvem Patogenita lidských polyomavirů jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 26.06. 2025

Magdaléna Vejnusková 2025, v.r.

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala doc. Mgr. Marcele Slovákové, Ph.D. za trpělivost, čas, cenné rady a ochotu, které mi věnovala během celého zpracování této bakalářské práce. Dále děkuji svému okolí za podporu a motivaci, bez nichž by tato práce nevznikla.

ANOTACE

Tato bakalářská práce se zaměřuje na patogenitu lidských polyomavirů, které jsou sice málo známé široké veřejnosti, avšak jejich prevalence v populaci je velmi vysoká. Práce podává přehled základních charakteristik jednotlivých lidských polyomavirů, věnuje se používaným diagnostickým metodám a popisuje onemocnění, která jsou s těmito viry spojována.

KLÍČOVÁ SLOVA

patogenita, viry, polyomaviry, diagnostika polyomavirů, BK polyomavirus, nefropatie, hemoragická cystitida, JC polyomavirus, progresivní multifokální leukoencefalopatie, roztroušená skleróza, WU polyomavirus, KI polyomavirus, polyomavirus Merkelových buněk, MW polyomavirus, STL polyomavirus, Trichodysplasia spinulosa-asociovaný polyomavirus, lidské polyomaviry

TITLE

Pathogenesis of Human Polyomavirus

TITLE ABSTRACT

This bachelor thesis is focused on the pathogenicity of human polyomaviruses, which are less known to the general public, but their prevalence in the population is very high. This thesis gives an overview of the basic characteristics of the individual human polyomaviruses, discusses the used diagnostic methods and describes the diseases associated with these viruses.

KEY WORDS

Pathogenicity, viruses, polyomaviruses, diagnostic of polyomaviruses, BK polyomavirus, nephropathy, hemorrhagic cystitis, JC polyomavirus, progressive multifocal leukoencephalopathy, multiple sclerosis, WU polyomavirus, KI polyomavirus, Merkel cell polyomavirus, MW polyomavirus, STL polyomavirus, Trichodysplasia spinulosa-associated polyomavirus, human polyomavirus

OBSAH

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	10
ÚVOD.....	12
1 Polyomaviry.....	13
1.1 Taxonomie.....	14
1.2 Patogenita polyomavirů	15
2 BK polyomavirus.....	16
2.1 Detekční metody k průkazu viru.....	17
2.2 Onemocnění spojená s BK polyomavirem.....	18
2.2.1 Nefropatie asociovaná s BK polyomavirem.....	18
2.2.1.1 Histopatologická diagnostika	19
2.2.1.2 Detekce polymerázovou řetězovou reakcí.....	21
2.2.1.3 Léčba	22
2.2.2 Hemoragická cystitida	23
3 JC polyomavirus	24
3.1 Detekce JC polyomaviru.....	25
3.1.1 Nepřímá ELISA	25
3.1.2 Polymerázová řetězová reakce.....	26
3.2 Onemocnění způsobené JC polyomavirem – progresivní multifokální leukoencefalopatie	27
3.2.1 Diagnostika	29
A) Magnetická rezonance	29
B) Pozitronová emisní tomografie.....	29
C) Histopatologické vyšetření	30
3.2.2 Léčba.....	30
3.2.3 Roztroušená skleróza spojená s progresivní multifokální leukoencefalopatií.....	31
4 Polyomavirus Merkelových buněk	32
4.1 Laboratorní diagnostika	33
5 Ostatní polyomaviry	35
5.1 WU polyomavirus	35
5.2 KI polyomavirus.....	35

5.3	MW a STL polyomavirus.....	35
5.4	Trichodysplasia spinulosa-asociovaný polyomavirus	36
5.5	Lidský polyomavirus 6 a 7.....	36
5.6	Lidský polyomavirus 9.....	36
5.7	Méně známé lidské polyomaviry	37
	ZÁVĚR	38
	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	39

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AIDS	syndrom získaného selhání imunity (<i>Acquired Immune Deficiency Syndrome</i>)
ALL	akutní lymfoblastická leukemie
ALP	alkalická fosfatáza
BKPyV	BK polyomavirus
BKPyVAN	BK polyomavirus-asociovaná nefropatie
BKPyV-HC	BK polyomavirus hemoragická cystitida
CLL	chronická lymfocytární leukemie
CMV	cytomegaloviry
CNS	centrální nervová soustava
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ELISA	enzymově vázaný imunisorbentní test (<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>)
FDG	fluorodeoxyglukóza
GIT	gastrointestinální trakt
HAART	vysoce aktivní antiretroviróvá terapie (<i>highly active antiretroviral therapy</i>)
HIV	virus lidské imunitní nedostatečnosti (<i>human immunodeficiency virus</i>)
HPyV6	Lidský polyomavirus 6
HPyV7	Lidský polyomavirus 7
HPyV9	lidský polyomavirus 9
HRP	křenová peroxidáza
IARC	Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny
ICTV	Mezinárodní výbor pro taxonomii virů
IHC	imunohistochemická technika
IL-2	interleukin-2
IL-7	interleukin-7
JCPyV	JC polyomavirus
LTA _g	velký T antigen (<i>Large T antigen</i>)
MCC	karcinom Merkelových buněk
MCPyV	polyomavirus Merkelových buněk

MRI	magnetická rezonance
NCCR	nekódující regulační oblast genomu (<i>non-coding control region</i>)
PCR	polymerázová řetězová reakce
PET	pozitronová emisní tomografie
PML	progresivní multifokální leukoencefalopatie
PML-IRIS	progresivní multifokální leukoencefalopatie spojená se syndromem imunitní reaktivace
PP2A	fosfatáza 2A
qPCR	kvantitativní polymerázová řetězová reakce
RFLP	polymorfismus délky štěpných fragmentů (<i>restriction fragment length polymorphism</i>)
STAg	malý T antigen (<i>Small T antigen</i>)
VLA-4	velmi pozdní antigen-4 (<i>Very late antigen-4</i>)

ÚVOD

Polyomaviry jsou široce rozšířenou skupinou virů, která se běžně vyskytuje u všech savců i ptáků. Jejich prevalence je v živočišné říši velmi vysoká, přičemž primární infekce probíhá většinou asymptomaticky, a proto zůstává často neodhalená. Přesto však za určitých podmínek, zejména při oslabení imunitního systému, se mohou tyto viry v hostitelském organismu reaktivovat a vyvolat tak závažná onemocnění, která následně pro postižený organismus představují významné zdravotní riziko.

V posledních desetiletích roste význam a intenzita výzkumu lidských polyomavirů, zejména díky nárůstu počtu imunosupresovaných pacientů. Zájem podpořil pokrok molekulárně biologických metod, které umožňují přesnější detekci, typizaci i monitorování infekcí způsobených polyomaviry.

K nejvýznamnějším lidským polyomavirům patří BK a JC polyomavirus, tyto dva viry se v největší míře podílejí na závažných a potenciálně život ohrožujících onemocnění. Významný je také polyomavirus Merkelových buněk, jenž je spojován s rozvojem agresivních kožních nádorů. Do roku 2025 bylo identifikováno mnoho lidských polyomavirů, jejichž klinický význam je však v mnoha případech dosud nejasný a je stále předmětem dalších výzkumů.

Současné studie zkoumající polyomaviry se zaměřují na molekulární mechanismy infekce, interakci viru s hostitelskou buňkou a procesy vedoucí k jeho patogenitě. Ta je často založena na schopnosti viru měnit buněčné struktury hostitelské buňky a její funkce ve svůj vlastní prospěch, čímž může docházet k poruše buněčné regulace, imunitní odpovědi nebo dokonce k onkogenní transformaci.

Tato bakalářská práce se zaměřuje především na lidské polyomaviry – jejich taxonomii, biologii, patogenitu, onemocnění s nimi spojené a současné možnosti laboratorní diagnostiky. Cílem práce je shrnout aktuální poznatky o těchto virech a přispět tak k lepšímu porozumění jejich významu v lidské patologii, s mírným přesahem do klinické praxe.

1 Polyomaviry

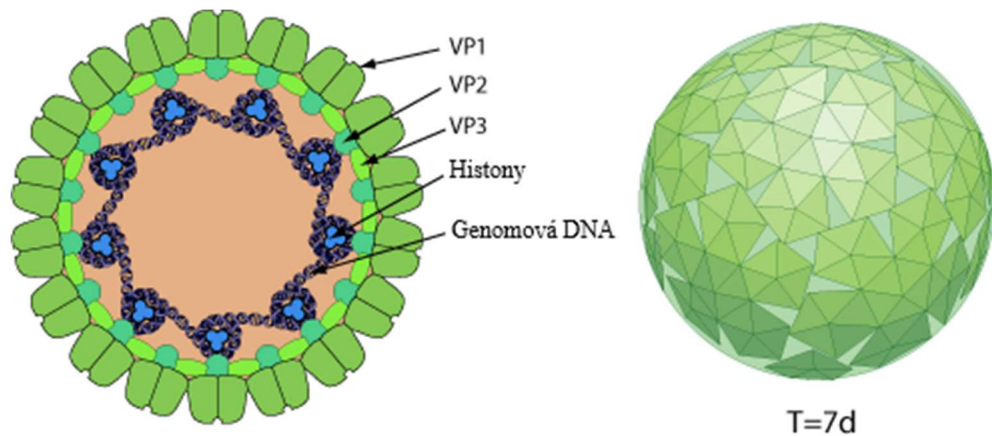
Jedná se o rod virů z čeledi *Papoviridae*, která byla poprvé popsána polsko-americkým virologem Ludwigem Grosseem v roce 1953. Název této skupiny vznikl spojením dvou slov řeckého původu „*poly*“ (mnoho) a „*oma*“ (nádor). Jak už napovídá samotný název, tyto viry mají schopnost přispívat ke vzniku nádorových onemocnění [1].

Hovoříme o neobalených, dvouvláknových DNA virech s přibližně 5000 párů bází v cirkulujícím genomu [2]. Polyomaviry jsou typické svým ikosaedrickým tvarem kapsidy. Viriony obsahují 72 pentamerů kapsomerů a jejich celková velikost se pohybuje mezi 42-45 nm [3]. Genom tohoto rodu můžeme funkčně rozdělit do tří oblastí: Časná oblast zahrnující geny pro regulační proteiny, které hrají klíčovou roli v řízení virové infekce. Pozdní oblast obsahuje geny pro strukturní a kapsidové proteiny. Kontrolní oblast představuje nekódující úsek, který je klíčový pro řízení replikace virové DNA a transkripce genů [2].

Mezi klíčové regulační proteiny polyomavirů patří velký T antigen (LTAg) a malý T antigen (STAg). Oba proteiny interagují s buněčnými regulačními mechanismy, ovlivňují buněčný růst a podporují replikaci virové DNA. Tyto proteiny nejsou součástí virové částice, ale jsou exprimovány až po vstupu virové DNA do jádra hostitelské buňky [3].

LTAg během primární infekce potlačuje apoptózu, prostřednictvím narušení kontrolních bodů buněčného cyklu, čímž usnadňuje přežití infikované buňky a umožňuje úspěšnou replikaci viru [4]. STAg hraje důležitou roli nejen při replikaci virové DNA, ale i v regulaci buněčných signálních drah prostřednictvím interakce s protein fosfatázou 2A (PP2A). Tato fosfatáza je zásadní pro kontrolu buněčného růstu a dělení. Proto její inhibice STAg může vést k nekontrolovatelnému buněčnému růstu a potenciální nádorové transformaci [3; 4].

Pozdní oblast (*late region*) polyomavirového genomu, která se aktivuje po replikaci virové DNA, je typická kapsidovými proteiny VP1, VP2 a VP3. Protein VP1 představuje hlavní kapsidový protein, tvořící vnější obal virionu. Zajišťuje interakci s povrchovými receptory na hostitelské buňky, zejména s glykany nesoucí zbytky kyseliny sialové. Po navázání dochází k zahájení infekčního procesu a vstupu do hostitelské buňky [5]. VP2 a VP3 jsou vedlejší kapsidové proteiny, přičemž protein VP3 je zkrácenou verzí proteinu VP2 vznikající alternativním translací. Oba se podílejí na stabilizaci kapsidy a podporují funkci proteinu VP1 během vstupu viru do buňky (obrázek 1) [6].



Obrázek 1: Struktura polyomavirů (upraveno) [7]

1.1 Taxonomie

Dle aktualizace Mezinárodního výboru pro taxonomii virů (ICTV) ze srpna 2024 byla potvrzena existence celkem 122 druhů polyomavirů, které byly dále rozdělených do 8 rodů. Jejich fylogenetické vztahy jsou určování na základě rozdílu LTA_g sekvencí. Názvy rodů jsou tvořeny řeckými písmeny a samotným názvem celé čeledi [2; 8].

Mezi nejpočetnější rody patří *Alfapolyomaviry* a *Betapolyomaviry*, kde najdeme až 80 % všech druhů. Zbylé druhy jsou zařazeny do rodů: *Deltapolyomaviry*, *Epsilonpolyomaviry*, *Etapolyomaviry*, *Gammapolyomaviry*, *Thetapolyomaviry* a *Zetapolyomaviry* [8].

Lidské polyomaviry se vyskytují především ve třech rodech:

- *Alfapolyomaviry* – zahrnující například New Jersey polyomavirus, LI polyomavirus a polyomavirus Merkelových buněk.
- *Deltapolyomaviry* – do této skupiny patří Lidský polyomavirus 6 a 7 (HPyV6, HPyV7), STL polyomavirus a MW polyomavirus.
- *Betapolyomaviry* – sem se řadí JC polyomavirus, BK polyomavirus, WU polyomavirus a KI polyomavirus [2].

1.2 Patogenita polyomavirů

Většina lidské populace se s polyomaviry zpravidla setkává během života, přičemž k primární infekci dochází nejčastěji již v období raného dětství. Za fyziologických podmínek viry v těle perzistují v latentní formě a nezpůsobují klinicky významné potíže. Není možné určit univerzální místo latence platné pro všechny lidské polyomaviry, neboť každý z nich vykazuje tropismus k odlišné cílové tkáni. Nejčastěji dochází ke perzistenci v tkáních, jež v případě imunoprese – ať už geneticky podmíněné, získané, nebo vyvolané jako vedlejší účinek léčby, způsobí závažná onemocnění [9].

Reaktivace latentní infekce významně zvyšuje riziko ztráty transplantovaného orgánu či znemožnit pokračování jinak nezbytné léčby. Studium polyomavirů je proto zásadní nejen pro pochopení jejich patogeneze, ale i pro rozvoj screeningových a preventivních programů, které by umožnily včasnou diagnostiku u rizikových osob [10].

2 BK polyomavirus

BK polyomavirus získal svůj název podle iniciálu pacienta, jenž v roce 1971 podstoupil transplantaci ledvin. Transplantace byla nezbytná kvůli rozsáhlému poškození ledvinné pánvičky způsobené bakteriální infekcí. V důsledku komplikací spojených s transplantovanou ledvinou bylo nutné provést komplexní vyšetření, během kterého byl ze získaného vzorku identifikován virus BK [11].

S tímto patogenem se organismus setkává již v raném věku života. Předpokládá se, že šíření viru by mohlo probíhat fekálně-orální cestou nebo prostřednictvím kapének při dýchání [12; 13]. Po primární infekci pravděpodobně přetrvává v buňkách močového traktu latentní formě, tedy aniž by u hostitele vyvolával klinické příznaky [1]. Vzhledem k nespecifickým projevům primární infekce, nelze s přesnou jistotou určit, jakou formou opravdu k přenosu dochází [12; 13]. Epidemiologická data naznačují, že tento patogen perzistuje u přibližně 80-90 % jedinců starších 23 let, což svědčí o jeho široké endemické přítomnosti v populaci [13; 14].

Závažné projevy infekce se vyskytují zejména u jedinců s oslabeným imunitním systémem, a to jak v důsledku získaných poruch imunity (např. při současné infekci jiným patogenem), tak i vrozených imunodeficiencí. K závažným komplikacím může docházet také po transplantaci ledviny či ledvinných štěpů, a výjimečně i během transplantace krevních elementů [15].

V důsledku imunosupresivní terapie po transplantaci často dochází narušení imunitního systému, což vede k reaktivaci BK viru. Tato reaktivace může způsobit poškození transplantovaného štěpu a pravděpodobně i rozvoj BKPyV-asociované nefropatie (BKPyVAN), případně úplné odmítnutí transplantovaného orgánu [16]. U pacientů po transplantaci kostní dřeně představuje závažnou komplikaci hemoragická cystitida [15].

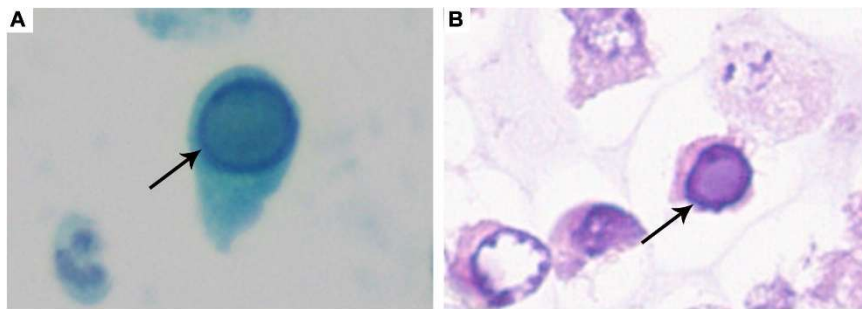
V roce 1993 provedl vědecký tým Jin et al. genotypizaci BK polyomaviru za využití PCR amplifikace. Bylo zjištěno, že virus vykazuje genetické rozdíly v oblasti VP1 genu, jenž kóduje hlavní kapsidový protein. Na základě těchto rozdílů bylo možné BKPyV rozdělit do čtyř genotypů (I-IV). Později se ukázalo, že rozdělení je v souladu s dřívějším tříděním viru na sérotypy, které provedli Knowles et al. v roce 1989. Genetické a sérologické vlastnosti BKPyV jsou tedy vzájemně propojené [17; 18].

Genotyp I je nejrozšířenější po celém světě a tvoří dominantní variantu v globální populaci. Obvykle se dále člení na subtypy Ia, Ib1, Ib2 a Ibc. Druhým nejčastěji se vyskytujícím genotypem je genotyp IV, který je hojně zastoupen zejména na asijském kontinentu. Ten se dále rozděluje na subtypy IVa1, IVa2, IVb1, IVb2, IVc1 a IVc2. Naopak genotypy II a III se v populaci vyskytují jen zřídka [13; 19].

2.1 Detekční metody k průkazu viru

Detekce BK polyomaviru v současnosti spočívá především v metodách založených na PCR testování. Real-time PCR je díky své citlivosti a rychlosti schopna spolehlivě detekovat přítomnost virů ve vzorcích plazmy, moči a u pacientů po transplantaci ledviny také v bioptickém vzorku pro histologické vyšetření ledvinové tkáně [20]. Podrobnější popis PCR metody je uveden v kapitole číslo 2.2.1.2.

Důležitou roli v detekčních metodách hraje také cytologické vyšetření moči, při kterém se hledají tzv. „signální buňky“ (*decoy cells*) (obrázek 2). Jedná se o renální tubulární buňky, které ve své struktuře obsahují BKPyV. Jejich přítomnost je velmi citlivým ukazatelem infekce, avšak sama o sobě není jednoznačným důkazem BKV nefropatie. Další možností laboratorní diagnostiky je detekce virového proteinu VP1 [21].



Obrázek 2: (A) „signální buňky“, barvení dle Papanicolaou. (B) „signální buňky“ barvení hemotoxylinem-eosinem [22].

V minulosti hrála významnou roli také elektronová mikroskopie, která nabízela pozorování virových částic v moči pacientů. Dnes je tato metoda postupně nahrazována citlivějšími technikami [20].

2.2 Onemocnění spojená s BK polyomavirem

2.2.1 Nefropatie asociovaná s BK polyomavirem

Jak již bylo uvedeno v předchozích kapitolách, BK polyomavirus je rozšířený patogen, který u imunosuprimovaných jedinců může vést k rozvoji závažných onemocnění či patologiím. Za nejvýznamnější klinický projev tohoto viru je považována BKPyV-asociovaná nefropatie (BKPyVAN), představující závažnou komplikaci především u příjemců transplantované ledviny. Aktivovaný virus infikuje epitelové buňky ledvinného štěpu, což může vést k jeho poškození a v konečném důsledku až k jeho selhání. K reaktivaci dochází u 1-10 % pacientů po transplantaci, přičemž u 30-80 % z nich vede k nevratné ztrátě štěpu [15; 23].

Rozvoj imunosupresivní terapie, zejména podávání takrolimu a mykofenolátu mofetilu, běžně používané během transplantace jako prevence proti rejekci transplantovaných orgánů, přispěl k identifikaci prvního případu BKPyV-asociované nefropatie. První případ byl popsán v roce 1995 [24].

Takrolimus patří mezi imunosupresivní léčiva, jež po navázání na bílkovinu FKBP12, nacházející se v cytoplasmě buněk, tvoří aktivní komplex FKBP12-takrolimus. Tento komplex blokuje enzym kalcineurin, který je důležitý pro tvorbu cytokinů, zejména interleukinu 2, aktivujícího imunitní odpověď. Inhibice kalcineurinu zamezuje aktivaci T-lymfocytů a dochází k potlačení imunitní reakce [25].

Mykofenolát mofetil je taktéž imunosupresivní léčivo, využívané nejen jako prevence odmítnutí štěpu, ale také během léčby autoimunitních onemocnění. V těle je hydrolyzován na aktivní formu – mykofenolovou kyseliny, jejichž účinek inhibuje inosinmonofosfátdehydrogenázu (IMPDH). Tento enzym je klíčový pro syntézu purinů, a inhibice vede k apoptóze aktivovaných T lymfocytů. Díky metabolickým přeměnám mykofenolátu mofetilu se u pacientů mohou objevit výrazné vedlejší účinky, přičemž nejčastější jsou gastrointestinální problémy (GIT) [26].

Zajímavé je, že některé studie z minulých let upozorňují na možnou souvislost této patologie také s výskytem jiného lidského polyomavirem – JC virem, ale také na další faktory, jejichž účinek by napomohl k zvýšení rozvoje rizika nefropatie [15]. Mezi těmito faktory se uvádí vliv mužského pohlaví, který je spojen s přirozenou produkcí testosteronu, a také zvýšené riziko spojené s opakovaným užíváním steroidních hormonů, jež jsou v dnešní době hojně

využívány pro své účinky. Dalšími faktory jsou vyšší věk příjemce, etnický původ a předchozí případy odmítnutí štěpu po transplantaci. Studie kladou důraz na důkladné vyšetření shodnosti HLA antigenů mezi dárcem i příjemcem, a to hlavně HLA-C7 [27].

Patogeneze BKPyV-asociované nefropatie je komplexní proces, do kterého se zapojují jak humorální imunita, tak i buněčná imunita. Pokud byl pacient již dříve vystaven BK polyomaviru, má nižší pravděpodobnost rozvoje BKPyVAN díky vytvořené imunitní odpovědi. Avšak přítomnost protilátek proti virovým antigenům není vždy zcela ochranná. Klíčovou roli hraje buněčná imunita, zejména CD3+, CD4+ T-lymfocyty, které mohou virus rozpoznávat a eliminovat, čímž snižují riziko vzniku infekce [28].

Onemocnění, která mají za následek poškozování buněčné imunity mohou výrazně ovlivnit riziko vzniku této patologie. Příkladem takového onemocnění je AIDS (syndrom získaného selhání imunity), snižující hladiny CD4+ T-lymfocytů v organismu. Tento pokles imunitních buněk omezuje schopnost těla bránit se proti virovým infekcím [29]. K reaktivaci latentních virů však mohou přispívat i některé autoimunitní choroby, například systémový *lupus erythematoses*, který je geneticky podmíněný [15].

2.2.1.1 Histopatologická diagnostika

Histopatologická diagnostika je prováděna standardizovanou metodou, jejímž cílem je vytvořit obarvený preparát z velmi tenkých řezů tkáně, které jsou následně hodnoceny pod světelným mikroskopem. Ačkoliv se celý postup může zdát na první pohled jednoduchý, ve skutečnosti je časově náročný a vyžaduje pečlivou technickou přípravu. Základní protokol zahrnuje pět hlavních fází: fixaci, zpracování a dehydrataci, zalití do parafinového bločku, krájení na mikrotomu, a nakonec barvení preparátu [30].

Prvním krokem úpravy vzorku pro histologické vyšetření je dehydratace. V této fázi je nutné odstranit z tkáně vodu, aby bylo možné vzorek dále zpracovávat a krájet na tenké řezy vhodné k mikroskopickému pozorování. K dehydrataci se nejčastěji používá řada ethanolu se stoupající koncentrací. V závěrečné fázi řady je ethanol odstraněn pomocí xylenu, který slouží jako pročišťovací činidlo a zároveň připravuje tkáň na zalití parafínem. Zalití do parafinového bločku zajišťuje mechanickou stabilitu tkáně, umožňuje její snadnou manipulaci v dalších fázích zpracování a poskytuje podmínky pro dlouhodobou archivaci [31].

Parafínový bloček je následně na mikrotomu krájen na velmi tenké řezy o tloušťce 3-5 μm , což přibližně odpovídá jedné buněčné vrstvě. Nařezané řezy jsou přeneseny na podložní mikroskopická sklíčka. Po zahřátí sklíček na ohřevné desce dojde k přichycení řezů a současně i k odstranění parafínu, který by mohl bránit následnému barvení [32].

Barvení preparátu se nejčastěji provádí kombinací hematoxylinu a eosinu, jež poskytuje dostatečný kontrast a umožňuje zřetelné rozlišení morfologických struktur potřebných pro diagnostické hodnocení tkáně. Nejprve se na preparát aplikuje hematoxylin, tedy zásadité barvivo, které barví kyselé buněčné struktury, jako je například buněčné jádro, do fialovomodré. Následně se používá eosin, kyselé barvivo, jež se váže na zásadité složky cytoplazmy a extracelulární matrix a zbarvuje preparát do červenorůžova [30].

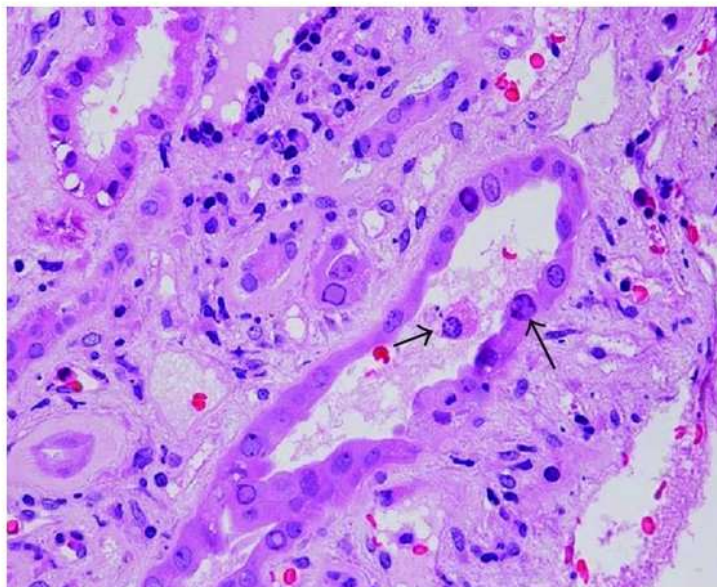
Fixace je klíčovým krokem histologické přípravy, při kterém jsou pomocí chemických látek fixovány buněčné a tkáňové struktury tak, aby nedocházelo k jejich degradaci. Cílem fixace je uchování morfologie vzorku v co nejpřirozenějším stavu. Nejčastěji se k tomuto účelu používá 10% neutrální pufovaný formalín, který je univerzálním fixačním činidlem pro většinu tkání. Pro specializované účely, například při zpracování mozkové nebo embryonální tkáně, se využívá Bouinův roztok, díky své schopnosti zachovat jemnou jadernou strukturu a glykogen. Pro ostatní tkáně je však nevhodný kvůli možným deformacím, zejména v mitochondriálních oblastech [32].

Progrese onemocnění v ledvinné tkáni lze rozdělit do tří základních fází A, B, C, na základě histologických změn. Změny jsou pozorovány z biopsie aloštěpu transplantované ledviny [33].

Fáze A, označována jako časné stádium, je charakteristické počínající infekcí, kdy jsou fokálně postiženy epitelové buňky ledvinných kanálů. Dochází k produkci velkého T antigenu (LTA_g) a vzniku jaderných inkluzí. Nejsou pozorována buněčná zánětlivá ložiska ani známky akutního poškození, které by ovlivnily funkci štěpu [34].

Ve fázi B BKPyVAN dochází výrazným morfologickým změnám tubulárních epitelálních buněk. Probíhá jejich nekrotický zánik a současně se rozvíjí zánětlivá reakce, která poškozuje jak samotné buňky, tak i okolní tkáň (obrázek 3) [35].

Poslední fáze C je specifická již těžkým stupněm poškozením tkáně. Fibrózní tkáň se nahrazována vazivem, čímž ledvina ztrácí svou funkčnost. Zasažená tkáň se stává trvale poškozenou, bez možnosti regenerace a obnovení fyziologických funkcí, což vede až k chronickému selhání transplantovaného štěpu [34].



Obrázek 3: Histologický preparát ledvinné tkáně barvený hematoxylinem a eosinem. Šipky označují tubulární epitelové buňky infikované BKPyV a začínající známky nekrózy. Nález odpovídá fázi B BKPyVAN [36].

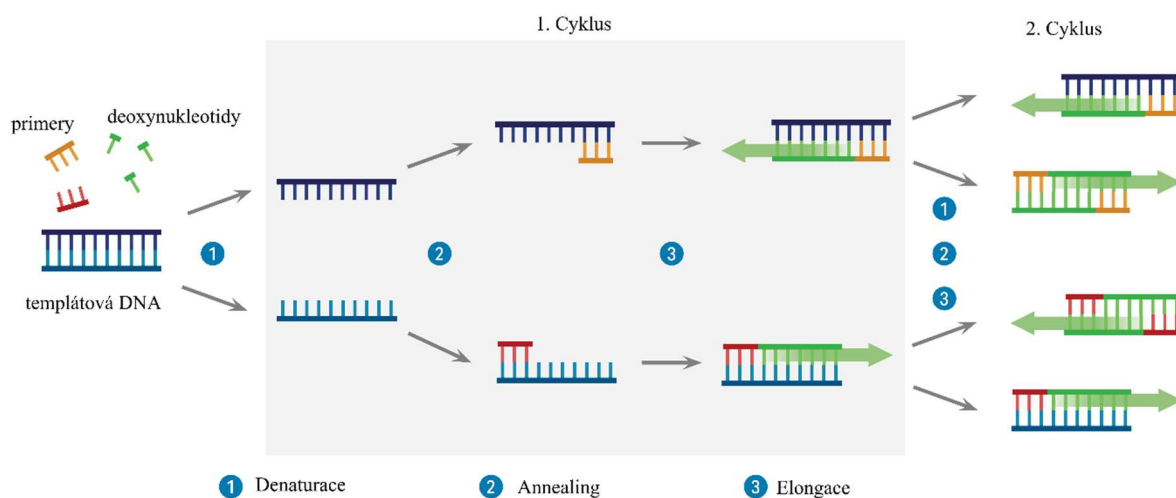
Histologické nálezy u transplantovaných ledvin lze rozlišit a hodnotit také na základě Banffova 97 klasifikace (*Banff 1997 Classification*). Hovoříme o mezinárodně uznávaném systému, sloužící k hodnocení akutního i chronického poškození transplantované ledviny. Banffova 97 klasifikace zahrnuje několik skupin podle typu výskytu patologických procesů. Každá ze skupin je dále hodnocena do tříd, které označují intenzitu a závažnost poškození [37; 38].

2.2.1.2 Detekce polymerázovou řetězovou reakcí

BKPyVAN lze diagnostikovat také z moči nebo plazmy, protože histologická vyšetření jsou často časově náročná a zároveň dochází k odhalení spíše pozdějších stádií, kdy štěp bývá značně poškozen. Proto se v klinické praxi stále častěji využívá testování pomocí kvantitativní PCR v reálném čase (qPCR) [39].

qPCR je metoda založená na principu stanovení počtu amplifikované specifické DNA sekvence v reálném čase. V prvním kroku je nutné izolovanou DNA denaturovat (zahřátím na vysokou teplotu, typicky kolem 95 °C), aby došlo k rozpadu vodíkových můstků mezi jednotlivými bázemi a tím oddělení řetězců DNA. Po denuraci následuje annealing, kdy se teplota snižuje až o 20-40 °C, přičemž dochází k nasedání DNA primerů na templátovou DNA. Posledním krokem je elongace, během které DNA polymeráza prodlužuje primery a syntetizuje

nový řetězec DNA. Po dokončení cyklu se reakce opět vrací do fáze denaturace a celý cyklus se opakuje typicky 20-40krát (obrázek 4) [40].



Obrázek 4: Schéma metody qPCR (upraveno) [41]

Během metody qPCR se využívají fluorescenční sondy, které umožňují sledovat a kvantifikovat množství nově vzniklé DNA během každého cyklu. Nejvíce využívané fluorescenčně značené jsou sondy typu TaqMan, zaměřené primárně na selekci DNA BKPyV, obvykle v oblasti genů VP1 nebo LTA_g [42; 40].

2.2.1.3 Léčba

Doposud nebyla objevena žádná antivirotika, která by úspěšně léčily infekci způsobenou BKPyV. Na základně podobnosti s cytomegaloviry (CMV), patřící do rodiny *Herpesviridae*, byla testována antivirotika určená k léčbě CMV. Účinnost, avšak byla minimální, a proto se od jejich používání v léčbě BKPyVAN upustilo [13].

Prvním krokem léčby pacientů, kteří podstoupili transplantaci ledvin a u nichž jsou sledovány projevy akutní BKPyV-asociované nefropatie, bývá snížení dávek nebo vysazení imunosupresiv, sloužících jako prevence proti rejekci ledvinového štěpu. Převážná část studií zabývajících se touto problematikou uvádí, že více než u 85 % pacientů došlo k úspěšnému zničení patogenu uvnitř transplantované ledvin [23]. Po celou dobu léčby dochází k monitorování pacienta, včetně pravidelných odběrů pro sledování hladiny sérového kreatinu a množství virové DNA [15]

2.2.2 Hemoragická cystitida

Hemoragická cystitida představuje jedno z možných rizik spojených s transplantací hematopoetických kmenových buněk. Jedná se o lékařský zákrok, při kterém jsou pacientovi podány kmenové buňky za účelem obnovení funkce kostní dřeně, například po ukončení chemoterapie nebo radioterapie. Výskyt BK polyomaviru bývá nejčastěji zaznamenán v období mezi 2. a 8. týdnem hojení, ve výjimečných případech až během prvních 6. měsíců [43]. Klinicky vyšetřovaným materiálem bývá nejčastěji plazma nebo moč [44].

Hovoříme o patologii, která postihuje močový měchýř, jehož míru poškození lze popsat dle klasifikace Bediet al. Tato klasifikace rozděluje stav pacienta do čtyř stupňů závažnosti na základě makroskopických i mikroskopických projevů hematurie. V prvním stupni se vyskytuje pouze mikroskopická hematurie, zatímco ve čtvrtém stupni je přítomna masivní makroskopická hematurie s krevními sraženinami, která často vede k neprůchodnosti močových cest a může vyústit v akutní selhání ledvin, přičemž je často nezbytný chirurgický zákrok [45; 43].

Cystitida se obvykle projevuje pálivou až řezavou bolestí v oblasti močové trubice a podbřišku, někdy i bolestí v oblasti boků. Mezi typické příznaky jsou poruchy funkce močového měchýře, jako je časté a naléhavé nutkání na močení, doprovázené pocitem neúplného vyprázdnění [45].

Detekce BKPyV-HC je primárně založena na testování plazmy pomocí metody qPCR v reálném čase. Doplňkovými testy mohou být testy moči prováděné v biochemických nebo v cytologických laboratořích, které slouží k detekci hematurie, nebo prokázání přítomnosti signálních buněk [44].

Mechanismus reaktivace BKPyV a následného poškození močových cest dosud nebyl zcela objasněn, což významně komplikuje stanovení optimální terapeutické léčby. V současnosti se zkouší několik léčebných přístupů, včetně podání antivirotik, jako je cidofovir, jehož účinek spočívá v inhibici virové DNA polymerázy a následným omezení replikace virové DNA. Některé studie uvádějí podávání růstových faktorů, například keratinocytového růstového faktoru, který podporuje regeneraci urotelu a může přispět ke zmírnění příznaků makrohematurie [46].

3 JC polyomavirus

JC polyomavirus, v odborné literatuře označovaný také zkratkou JCPyV, byl poprvé izolován z mozkové tkáně v roce 1971 u pacienta s iniciály *JC*, podle něhož byl pojmenován. Tento pacient byl hospitalizován s Hodgkinovým lymfomem, avšak zároveň se u něj objevily příznaky progresivní multifokální leukoencefalopatie (PML) [47]. Progresivní multifokální leukoencefalopatie bude podrobněji vysvětlena v následujících kapitolách.

K primární infekci JC polyomavirem dochází nejčastěji v pozdním dětství nebo během dospívání. Na základě rozdílů ve struktuře nekódující regulační oblasti (NCCR) genomu JCPyV, lze rozlišit dvě formy viru. První, archetypální forma JCPyV, je nejběžněji se vyskytující forma v lidské populaci, a typicky perzistuje v organismu v latentní podobě. Archetypální forma má jednoduchou a stabilní strukturu NCCR. Druhou je forma neurotropní, která díky změnám v sekvencích NCCR má zvýšenou schopnost infikovat nervový systém a může vést k rozvoji PML. Předpokládá se, že neurotropní forma vzniká z archetypální formy, avšak přímé důkazy zatím nebyly objeveny [48].

Studie naznačují, že k primárnímu přenosu JC viru dochází pravděpodobně dýchacími cestami. Tento závěr vychází z nálezů virové DNA v B-lymfocytech přítomných v krčních mandlích a buňkách oblasti hltanu. Alternativní možností je přenos prostřednictvím gastrointestinálního traktu, rovněž na základě detekce virových částic v různých úsecích trávicí soustavy. Zajímavostí je, že viriony byly nalezeny také v kontaminované a odpadní vodě, dokonce i v potravě. Virus byl rovněž prokázán v dalších tkáních lidského těla, kde může přetrvávat v latentní formě – například v plicích, lymfatických uzlinách, kostní dřeni, a zejména v ledvinách [47].

Klasifikace JCPyV byla rozdělena podle dvou navzájem propojených systémů, které vycházejí ze zkoumání genetické informace viru. Byla provedena analýza moče a periferní krve [49].

První systém navrhla v roce 2019 výzkumná skupina Yogo et al., která zkoumala JC polyomavirus pomocí molekulárně-biologické metody RFLP, založené na porovnání rozdílů v délce restrikčních fragmentů DNA mezi různými kmeny viru. Na základě těchto rozdílů byly definovány čtyři hlavní skupiny, označené písmeny A-D. Tyto skupiny vypovídají o tom, v jaké podobě se virus v těle nachází – zda jde o běžnou, neškodnou formu, nebo zda už došlo k určitým změnám, které by mohly souviset se vznikem přidružených onemocnění [50; 51].

Druhý systém klasifikace vychází z rozdílů v sekvencích kódujících oblast VP1, tedy hlavního kapsidového proteinu polyomavirů. Na tomto základě byl virus rozdělen do sedmi genotypových skupin označených čísly 1 až 8. Každý genotyp je charakteristický specifickým geografickým výskytem a představuje evolučně příbuzné linie, což umožňuje sledovat fylogeografii viru a jeho šíření v lidské populaci [52].

Oba výše popsané klasifikační systémy umožňují přehlednější sledování výskytu a rozšíření JC viru do celého světa. Bylo zjištěno, že jednotlivé genotypy mají typický výskyt v konkrétních geografických oblastech. (viz. tabulka č.1) [52; 53].

Tabulka č.1 Přehled výskytu jednotlivých genotypů v konkrétní geografické oblasti [52; 53]

Genotyp	Oblast výskytu
1A, 1B	Evropa, Severní Amerika
2A1, 2A2, 2B, 2D1,2D2	Asie, oblast Tichomoří
3A, 3B	Afrika
4	Evropa, Severní Amerika
6	Afrika
7A, 7B1, 7B2, 7C1, 7C2	Asie
8A,8B	Oblast Tichomoří

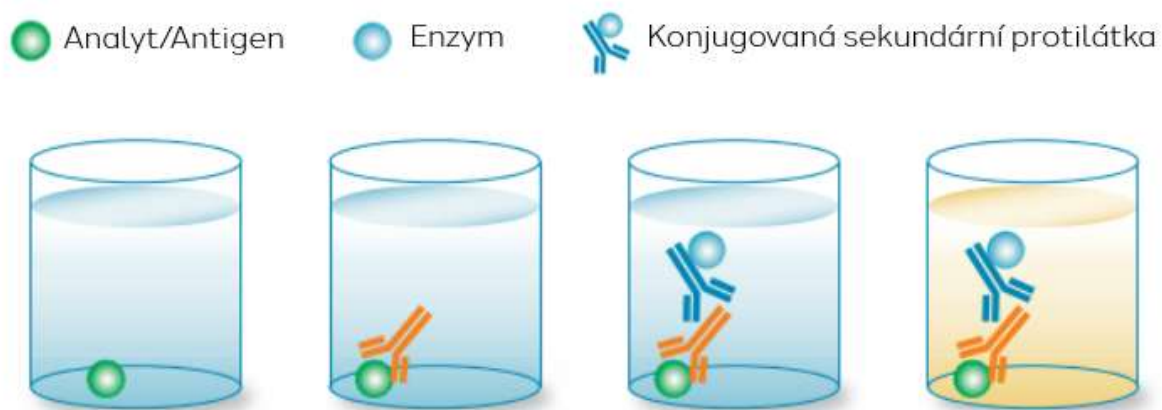
3.1 Detekce JC polyomaviru

3.1.1 Nepřímá ELISA

Imunologická laboratorní metoda ELISA (enzymově vázaný imunosorbentní test) je vysoce citlivá analytická technika, která byla vyvinuta na počátku 70. let 20 století. Její princip spočívá se specifické interakci antigenu s protilátkou za přítomnosti enzymu, umožňující detekci vazby prostřednictvím barevné změny. Nejčastěji používanými enzymy v rámci ELISA metody jsou křenová peroxidáza (HRP) a alkalická fosfatáza (ALP) [54].

Existuje několik variant této metody, které se liší především laboratorní přípravou a principem měření. Mezi hlavní typy patří: přímá ELISA, nepřímá ELISA, sendvičová ELISA a kompetitivní ELISA [55].

Nepřímá ELISA je dvoukroková metoda. V prvním kroku se na pevnou fázi, pokrytou imobilizovaným antigenem, naváže primární protilátka ze vzorku. Ve druhém kroku se přidává enzymem značená sekundární protilátka, která rozpoznává a váže se na primární protilátku. Po přidání substrátu dochází k barevné změně, jejíž intenzita je úměrná množství detekovaných protilátek a je měřitelná spektrofotometricky [54; 55].



Obrázek 5: Schéma metody nepřímé ELISY [56]

Roku 2012 byla objeven nový přístup umožňující sérologické stanovení přítomnosti protilátek proti JCPyV. Pro vyšetření se využívá vzorek krve, ve kterém se měří hladina specifických protilátek za použití humanizovaných monoklonálních protilátek anti-JCPyV. Výsledek se porovnává s hodnotami zdravých jedinců s již vytvořenou imunitní odpovědí vůči JCPyV. Na základě tohoto srovnání se vypočítá tzv. JCPyV index, jenž slouží k odhadnutí rizika rozvoje progresivní multifokální leukoencefalopatie [57].

3.1.2 Polymerázová řetězová reakce

Stejně jako u polyomaviru BK lze i DNA JCPyV laboratorně detekovat pomocí PCR v reálném čase. Nejčastěji se jako biologický materiál využívá mozkomíšní mok. V časných stádiích PML bývá koncentrace JCPyV DNA v mozkomíšním moku velmi nízká, což značně komplikuje detekci a zvyšuje riziko falešně negativních výsledků. Přestože se jedná o metodu se senzitivitou až 88 % a specificitou až 98 %, její spolehlivost závisí na kvalitě provedení a

detekčních limitech konkrétní laboratoře. I přes tato úskalí je jak pozitivní, tak i negativní nález JCPyV DNA v mozkomíšním moku považován za jedno z klíčových kritérií při stanovení diagnózy [57; 58].

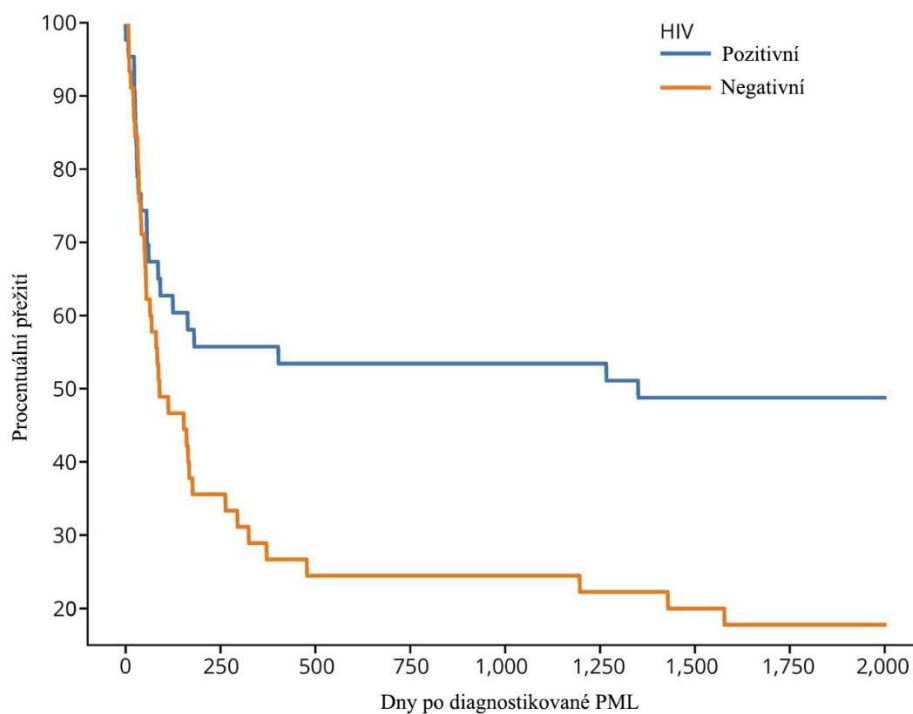
3.2 Onemocnění způsobené JC polyomavirem – progresivní multifokální leukoencefalopatie

Nejčastějším patogenní onemocněním způsobeným JC polyomavirem je progresivní multifokální leukoencefalopatie. První odborné zmínky o této problematice byly popsány výzkumnou skupinou Äström et al. již v 50. letech minulého století [57]. Přestože se jedná o vzácné onemocnění, jeho rozvoj má závažné důsledky a často může vést až k úmrtí pacienta. Závažnost spočívá zejména v lokalizaci patologického procesu, jak již název vypovídá, postižena je centrální nervová soustava. K reaktivaci viru a rozvoji PML dochází zpravidla v důsledku výrazného oslabení imunitního systému, obdobně jako u BK polyomaviru. Mezi rizikové faktory tedy patří HIV infekce, maligní onemocnění, biologická léčba, ale i osoby trpící roztroušenou sklerózou [58].

Nejzávažnější průběh tohoto onemocnění byly popsány u pacientů trpících lymfoproliferativními onemocněními, mezi něž patří například akutní lymfoblastické leukemie (ALL), chronická lymfocytární leukemie (CLL), Hodgkinův lymfom, ne Hodgkinové lymfomy a další [59].

K výraznému nárůstu případů s potvrzenou diagnózou PML došlo v 80. letech 20. století, a to v důsledku prudkého rozšíření HIV infekce. HIV pozitivní pacienti dodnes představují největší skupinu, u které byla tato vzácná nemoc diagnostikována [60].

V roce 2019 byla završena 25letá retrospektivní studie pod vedením Dr. Pria Anand, která porovnávala průběh onemocnění PML u HIV pozitivních a HIV negativních jedinců. Studie se zaměřila mimo jiné na přežívání pacientů po stanovení diagnózy. Zajímavým zjištěním bylo, že HIV pozitivní pacienti vykazovali delší dobu přežití, až 1992 dnů ve srovnání s HIV negativní jedinci, u nichž činila mediánová doba přežití pouze 101 dnů. Jednalo se o sledování mediánu přežití, tedy časového údaje, při kterém přežívá 50 % sledovaných osob. Na základě získaných dat byl sestaven Kaplan-Meierův odhad přežití (obrázek č.6) [61].



Obrázek 6: Kaplan-Meierův graf na odhad přežití (upraveno)[61]

Studie naznačují, že k tomuto jevu by mohlo docházet díky zavedení antiretrovirové terapie (HAART) u HIV pozitivních pacientů. Tato léčba snižuje virovou nálož HIV a podporuje částečnou obnovu imunitního systému prostřednictvím nárůstu počtu CD4+ T-lymfocytů. Přestože HAART nevede k úplnému obnovení specifické imunity, dochází ke zvýšené imunitní odpovědi vůči oportunním patogenům. Tento efekt pravděpodobně přispívá k lepší kontrole infekce a delšímu přežívání pacientů s PML v HIV pozitivní populaci. Jedná se o zvláštní formu PML, označovanou jako progresivní multifokální leukoencefalopatie spojená se syndromem imunitní reaktivace (PML-IRIS) [62; 63].

Reaktivace JCPyV a následný rozvoj PML představují riziko z důvodů nevratného poškození oligodendrocytů v bílé mozkové hmotě a neurocytů v šedé hmotě mozku a mozečku. Virus v těchto oblastech vytváří expandující léze, tedy ložiska poškození, která se postupně zvětšují. Tyto léze jsou typicky ohraničeny infikovanými oligodendrocyty typu „matného skla“, které pod mikroskopem vykazují zamlžený vzhled s zvětšeným jádrem v důsledku aktivní virové replikace. Poškozené buňky postupně odumírají, což způsobuje poškození myelinového obalu nervových vláken a podporuje tak vznik nekrózy mozkové tkáně. Z tohoto důvodu lze v histologických preparátech pozorovat zvýšené množství aktivovaných makrofágů [64].

Typické příznaky PML se týkají tedy hlavně neurologických obtíží, jako jsou poruchy zhoršená paměť, zpomalené myšlení, ztrátu orientace v čase i prostoru, poruchy zraku, řeči, hybnosti nebo citlivosti. U pacientů se můžou objevovat neurologické záchvaty nebo zhoršená koordinace pohybů [65].

3.2.1 Diagnostika

A) Magnetická rezonance

Magnetická rezonance (MRI) patří mezi důležité zobrazovací metody využívané v lékařské diagnostice. Umožňuje získat detailní anatomické snímky, díky kterým lze snadno odhalit patologické změny na orgánech [66].

Obraz vzniká díky kombinaci tří typů elektromagnetických polí s různými frekvencemi – statického magnetického pole, proměnlivého magnetického pole a rádiových vln. Buňky jsou tak vystaveny různým intenzitám a frekvenčním rozsahům těchto polí, přičemž dochází k excitaci jader vodíku. Tato excitovaná jádra emitují signál, ze kterého je následně za pomoci dalších technologií sestaven výsledný obraz [66].

U PML je možné pomocí magnetické rezonance zobrazit mozek a sledovat léze způsobené JCPyV. U pacientů s potvrzenou diagnózou se následně sleduje vývoj těchto lézí, zejména změny jejich velikosti. MRI je natolik citlivá, že umožňuje odhalit také léze PML již v časných stádiích. V praxi se pro přesnou diagnostiku a sledování průběhu onemocnění využívá kombinace MRI a PCR testování [64; 58].

B) Pozitronová emisní tomografie

Pozitronová emisní tomografie (PET) je vysoce citlivá zobrazovací metoda s velmi dobrým prostorovým rozlišením. Umožňuje vytvoření kvantitativního obrazu za využití radiofarmak a ionizujícího záření. Mezi nejčastěji používané radioligandy patří izotopy ^{18}F a ^{11}C . Radiofarmakem obsahující radioligand ^{18}F je fluorodeoxyglukóza (FDG), která se akumuluje ve strukturách s vysokou spotřebou glukózy. Pomocí PET je tak možné sledovat metabolickou aktivitu mozkových lézí způsobných PML. U pacientů s PML mozek vykazuje sníženou metabolickou aktivitu, proto nedochází k výrazné akumulaci FDG v postižené

mozkové tkáni. V případě PML-IRIS však může být pozorována naopak zvýšená akumulace FDG vlivem zánětlivé odpovědi imunitního systému [64].

C) Histopatologické vyšetření

Vyšetření bioptického vzorku se při diagnostice PML využívá zejména tehdy, pokud zobrazovací nebo laboratorní metody neposkytnou jednoznačný výsledek, nebo je nutné odlišit PML od jiných demyelinizačních či nádorových onemocnění. Klíčovým faktorem pro úspěšné potvrzení diagnózy je odběr vzorku přímo z aktivní léze [67].

Histologické vyšetření poté umožňuje zhodnotit přítomnost typických strukturálních změn v mozkové tkáni. Sledují se zejména známky demyelinizace, změny ve vzhledu a chování astrocytů a oligodendrocytů. I když rozsah vzorku může být u biopsie omezený, poskytuje cenné informace, které mohou být rozhodující pro stanovení diagnózy, zejména v časných nebo atypických případech [68].

3.2.2 Léčba

U pacientů s HIV infekcí je po potvrzení diagnózy PML důrazně doporučeno zahájit kombinovanou antiretrovirovou terapii (cART). Mezi další možnosti léčby pacientů s PML patří T-buněčné terapie – například podáváním interleukinů, transplantace T-lymfocytů, léčba protilátkami blokující programovanou buněčnou smrt (anti-PD-1) nebo podáváním interferonů. Je však důležité zdůraznit, že tyto přístupy mohou vést ke zlepšení symptomů s PML, avšak obvykle nevedou k úplnému zotavení pacienta [61].

Léčba pomocí interleukinů-2 a interleukinů-7 (IL-2 a IL-7), tedy látek produkovaných převážně T-lymfocyty, představuje jeden z možných terapeutických přístupů. Interleukiny hrají klíčovou roli v regulaci imunitní odpovědi a mohou tak napomoci organismu v boji proti oportunním infekcím. IL-2 je důležitou látkou pro správné fungování adaptivní imunity, zejména pro aktivaci a udržení funkce T-lymfocytů. Jeho využití se uplatňuje zejména u pacientů s hematologickými onemocněními nebo po transplantaci kmenových buněk. IL-7 podporuje proliferaci T-lymfocytů, především těch, které nesou na svém povrchu znak CD4+. Podání IL-7 bylo popsáno u pacientů se zánětlivými onemocněními, nebo u případů PML vzniklých na podkladě idiopatické CD4+ lymfopenie [69].

Další možností terapie je transplantace T-lymfocytů, které jsou schopné rozpoznat peptidy JCPyV. Tyto T-lymfocyty jsou odebrány zdravému dárci, následně laboratorně namnoženy a aktivovány pomocí virových peptidů. Po ověření shody HLA antigenů mezi dárcem a příjemcem jsou přeneseny do těla pacienta. Aktivované T-lymfocyty pak pronikají do mozku, kde napomáhají potlačit replikaci JCPyV [65].

Terapie protilátkami blokuujícími programovanou smrt (anti-PD-1) se běžně využívají při léčbě nádorových onemocnění. Blokádou receptoru PD-1 na T-lymfocytech dochází k reaktivaci vyčerpaných cytotoxických CD8⁺ T-lymfocytů čímž posiluje imunitní odpověď. Tento přístup se zkoumá i u chronických virových infekcí, kde může napomoci obnovit funkci T-lymfocytů a zlepšit obranyschopnost organismu vůči virům [69].

3.2.3. Roztroušená skleróza spojená s progresivní multifokální leukoencefalopatií

Roztroušená skleróza patří mezi autoimunitní onemocnění postihující centrální nervový systém. Stejně jako u PML i zde dochází k demyelinizaci nervových vláken, vedoucí k nevratným poruchám centrálního nervového systému [70].

Studie naznačují, že pacienti s diagnostikovanou roztroušenou sklerózou mají zvýšené riziko reaktivace JCPyV, což může vést k rozvoji progresivní multifokální leukoencefalopatie. Z tohoto důvodu je důležité pravidelně testovat hladiny protilátek proti JCPyV, v séru nebo plazmě. Zvýšený titr těchto protilátek, zejména hodnota indexu anti-JCV více než 0,9, je spojen s vyšším rizikem rozvoje PML, a to především u pacientů léčených natalizumabem [71].

Léčba roztroušené sklerózy pomocí humanizovaných monoklonálních protilátek natalizumabu (Tysabri), je založena na jeho schopnosti vázat se na adhezivní molekulu VLA-4 (velmi pozdní antigen-4), která se nachází na povrchu hematopoetických buněk, zejména T- a B-lymfocytů. Tato molekula umožňuje leukocytům navázat se na adhezivní molekuly na povrchu endotelu, čímž získává schopnost procházet přes hematoencefalickou bariéru do centrálního nervového systému. Tím dochází k cílené imunitní reakci proti zánětlivým ložiskům typickým pro roztroušenou sklerózu [57].

Blokádou VLA-4 brání natalizumab migraci lymfocytů do CNS a tlumí zánětlivou aktivitu. Současně však dochází ke zvýšení počtu B-lymfocytů, které mohou aktivovat latentní polyomavirus JC v kostní dřeni. Reaktivace JC viru může vést k rozvoji PML [57].

4 Polyomavirus Merkelových buněk

Polyomavirus Merkelových buněk (MCPyV) je dalším z klinicky významných lidských polyomavirů. Jak již název napovídá, tento virus se vyskytuje v Merkelových buňkách v bazální vrstvě pokožky. Merkelovy buňky tvoří spolu s nervovými zakončeními Merkelův disk, jenž funguje jako mechanoreceptor citlivý na dotyk [72; 73].

Virus byl poprvé identifikován v roce 2008 týmem vědců na Univerzitě v Pittsburghu ve vzorcích nádorové tkáně pacientů s karcinomem Merkelových buněk (MCC). MCPyV je přítomen až v 80 % tohoto vzácného onemocnění. MCC řadíme mezi velmi agresivní kožní nádory s rychlým nárůstem metastází. Na základně dostupných studií byla jeho karcinogenita zařazena Mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny (IARC) do skupiny 2A, tedy mezi látky „pravděpodobně karcinogenní pro člověka“ [72; 74].

Rizikovými faktory pro rozvoj MCC jsou:

- Vyšší věk (nejčastější výskyt u seniorů),
- Oslabený imunitní systém (imunoprese jakéhokoliv původu),
- Nadměrná expozice slunečního a UV záření [74; 75]

Další kroky výzkumu ukázaly, že MCPyV se běžně vyskytuje jako součást kožní mikroflóry a většina lidí se s ním setkává již v dětství. Virus po primární infekci perzistuje v těle asymptomaticky, přičemž ke karcinogenní transformaci dochází pouze za určitých podmínek, které jsou velmi podobné s rizikovými faktory MCC. Ve výjimečných případech může také dojít k mutacím v jeho genomu MCPyV, což také může vést k reaktivaci a potenciálně k rozvoji karcinomu [75].

Stále není přesně známo, jak MCPyV způsobuje rakovinné změny v Merkelových buňkách. Je to hlavně proto, že se virus špatně množí v laboratorních podmínkách a dlouho nebylo jasné, které buňky v lidském těle virus přirozeně napadá. Významný pokrok nastal až kolem roku 2016, kdy bylo zjištěno, že přirozenými hostitelskými buňkami jsou kožní fibrinoblasty. Spolu s tím byly identifikovány i buněčné signální dráhy, které mohou infekci MCPyV podporovat. Tyto dráhy mohou být aktivovány právě faktory, které zároveň zvyšují riziko MCC [75].“

4.1 Laboratorní diagnostika

Stejně jako u jiných polyomavirů je i diagnostika MCPyV založena především na polymerázové řetězové reakci (PCR). Virus MCPyV však lze detekovat také pomocí imunohistochemických metod, které hrají důležitou roli zejména při histopatologickém hodnocení nádorové tkáně. Pozitivní preparáty vykazují typické morfologické znaky, jako jsou menší nádorové buňky s omezeným množstvím cytoplazmy a kulatými jádry. Na rozdíl od nádorových buněk mají za fyziologických podmínek Merkelovy buňky spíše protáhlá jádra, silnější cytoplazmu a patrná jádérka [76].

Při imunohistochemickém vyšetření se využívají barvení specifických virových proteinů, zejména velkého T antigenu. Virová pozitivita se zpravidla projevuje tečkovým uspořádáním barviva cytokeratin20 v cytoplazmě nádorových buněk [76].

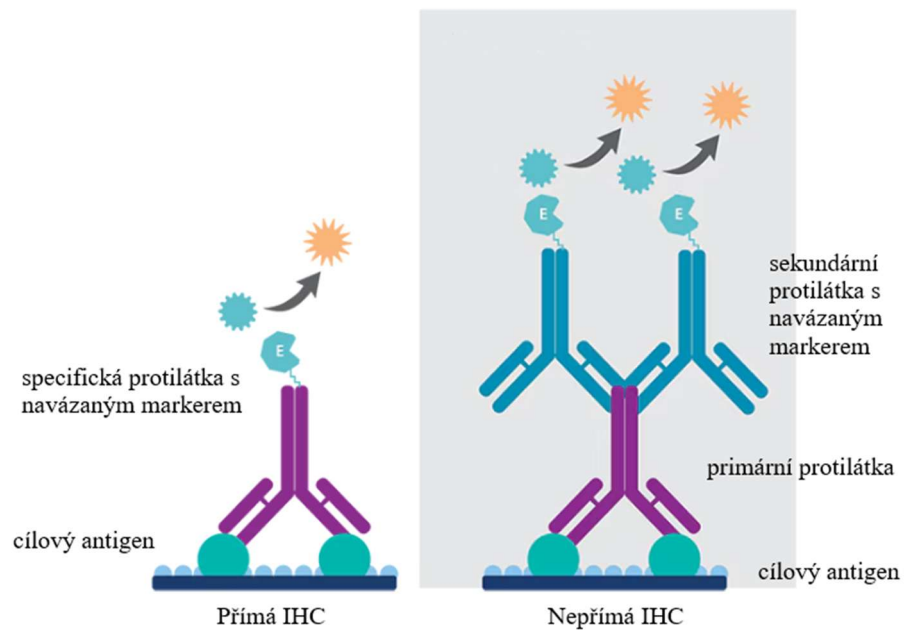
Výzkumná skupina Shuda a kol. začátkem roku 2009 vyvinula monoklonální protilátku CM2B4, která umožňuje spolehlivou detekci proteinu LTA ve vzorcích fixovaných formalínem. Tento objev významně přispěl k rozvoji imunohistochemických metod v diagnostice MCPyV. [77]

Imunohistochemie (IHC) je laboratorní metoda založená na specifické interakci mezi antigenem (cílovým proteinem) a protilátkou, která jej rozpoznává. K detekci se používají monoklonální nebo polyklonální protilátky, které se vážou na konkrétní epitopy v buňkách nebo mezibuněčných strukturách. Výsledný signál je vizualizován pomocí chromogenního barvení, jež umožňuje pozorování vzorku pomocí standardního světelného mikroskopu. Alternativně je možné použít fluorescenčně značené protilátky, avšak k jejich vizualizaci je nezbytné využití fluorescenční mikroskopie [78].

IHC lze rozdělit do dvou hlavních metod podle způsobu značení a navázání protilátek na přímou a nepřímou IHC [79].

U přímé IHC je detekovatelný marker přímo navázán na specifickou protilátku, která se váže na cílový antigen ve vzorku. Tento přístup je jednodušší a rychlejší, avšak často méně citlivý, protože dochází pouze k jedné vazebné interakci. Naopak u nepřímé IHC se nejprve aplikuje neznačená primární protilátka, která specificky rozpoznává daný antigen, Tato protilátka obvykle pochází z jiného živočišného druhu, například z myši nebo králíka. Následně se přidává sekundární protilátka, která je již konjugována s detekovatelným markerem a váže

se na primární protilátku (obrázek č.7). Tento dvoustupňový systém umožňuje zesílení signálu, což výrazně zvyšuje citlivost celé metody [80].



Obrázek 7: Schéma přímé x nepřímé IHC metody (upraveno) [79]

5 Ostatní polyomaviry

5.1 WU polyomavirus

Virus nese jméno podle Washingtonské univerzity, kde byl poprvé identifikován v roce 2007. Tento patogen byl izolován z dýchacích cest dítěte s infekcí dolních cest dýchacích. Dosud avšak nebylo jednoznačně prokázáno, zda je přítomnost WU polyomaviru přímo spojena s respiračními onemocněními [81].

Virus lze detekovat nejen u pacientů s oslabenou imunitní odpovědí, ale také u osob s funkčním imunitním systémem. Přítomnost virové DNA byla potvrzena ve vzorcích mozkomíšního moku, krve, stolice a moči, což naznačuje možnou perzistenci nebo širokou distribuci viru v organismu [81; 82].

5.2 KI polyomavirus

KI polyomavirus, stejně jako WU polyomavirus, byl poprvé identifikován v roce 2007, přičemž jejich objevy probíhaly nezávisle na sobě. Oba viry vykazují značnou podobnost, zejména v oblasti výskytu. KI polyomavirus se také nachází v respiračním traktu dětí ve věku 1-2 roky, především v oblasti mandlí. Jeho přítomnost lze prokázat výtěry z krku nebo ve vzorcích stolice [83].

K detekci KI polyomaviru se nejčastěji používá metoda real-time PCR. Vzhledem k omezenému počtu provedených studií je k dnešnímu dni známo jen málo informací o tomto patogenu [84].

5.3 MW a STL polyomavirus

Tyto polyomaviry byly izolovány v roce 2012 a 2013 ze vzorku stolice dětí a dospělých, kteří byli hospitalizováni s průjmovými onemocněními. Po následném bádání byl virus prokázán v tkáni mandlí a předpokládá se, že právě v této oblasti probíhá replikace viru [85].

5.4 Trichodysplasia spinulosa-associovaný polyomavirus

Poprvé zaznamenán v roce 2010, kdy se objevily spekulace, že u imunosuprimovaných jedinců může způsobovat onemocnění *trichodysplasia spinulosa* [86]. Jedná se o vzácné dermatologické onemocnění, které se vyznačuje drobnými keratinovými jehličkovitými výrůstky v oblasti vlasových váčků na obličeji, může vést až k alopecii řas i obočí [87; 88]. K detekci viru byla použita metoda amplifikace DNA s rostoucím kruhem [89]. Předpokládá se, že k přenosu patogenu dochází již v dětství, nejčastěji mezi sourozenci nebo z matky na dítě, avšak přesný mechanismus přenosu nebyl objasněn [86].

5.5 Lidský polyomavirus 6 a 7

Lidské polyomaviry 6 a 7 (HPyV6 a HPyV7) se běžně vyskytují na lidské kůži, kde jsou chronicky vylučovány. U většiny jedinců zůstávají asymptomatické, avšak v případě reaktivace, mohou vést ke svědivým kožním onemocněním. Tento klinický obraz je známý jako „svědivá a dyskeratotická dermatóza spojená s HPyV6 a HPyV7“. Jedná se o typ polyomavirů, které za normálních okolností nezpůsobují závažná onemocnění. Poprvé byly identifikovány z kožních vzorků zdravých jedinců v roce 2010, a to za pomoci PCR [90].

5.6 Lidský polyomavirus 9

Lidský polyomavirus 9 (HPyV9) byl objeven v roce 2011 a patří mezi lidské polyomaviry, které jsou blízce příbuzné opičím polyomavirům. Dosavadní studie ukazují, že v populaci se vyskytuje méně často než jiné lidské polyomaviry. Séropozitivita u dospělých dosahuje přibližně 36 %. Výzkumy naznačují, že přenos může probíhat za pomoci dýchacích cest, které by zároveň mohly představovat cílovou lokalitu infekce. Zatím nebyla prokázána přímá souvislost HPyV9 s konkrétními onemocněními, nicméně podobně jako u BK polyomaviru se předpokládá, že by mohl sehrát roli zejména u pacientů po transplantacích orgánů [91].

5.7 Méně známé lidské polyomaviry

Mezi málo prozkoumané a klinicky málo významné lidské polyomaviry patří následující:

- Lidský polyomavirus 10
- Lidský polyomavirus 12
- New Jersey Polyomavirus
- Lyon Polyomavirs
- Lidský polyomavirus 14

Zmíněné druhy polyomavirů byly objeveny hlavně v posledních 10-15 letech, nejčastěji za pomoci PCR a dalších biologických technik při analýze vzorků asymptomatických jedinců. Jejich přesný patogenní potenciál je dosud málo objasněn a ve většině případů nejsou spojovány ke konkrétními lidskými onemocněními [92; 93].

ZÁVĚR

Tato bakalářská práce se zaměřila na rešerši dostupných informací o lidských polyomavirech. Jejím cílem bylo přehledně shrnout současný stav poznatků v této oblasti a poukázat na jejich rostoucí význam ve virologii i klinické medicíně. Práce obsahuje klíčové informace nejen o biologii těchto virů, ale také o onemocněních, která mohou způsobovat.

Největší pozornost byla věnována klinicky nejvýznamnějším zástupcům JC a BK polyomavirům, často spojovanými s vážnými neurologickými a renálními komplikacemi, zejména u imunosupresivních pacientů. Byla popsána jejich patogeneze, způsoby přenosu, klinické projevy i možnosti diagnostiky. Zmíněny byly i další lidské polyomaviry, jejichž patogenita zůstává stále nejasná a poukazuje na nutnost dalších výzkumů, zaměřených především na objasnění jejich potencionálního dopadu na lidské zdraví.

V oblasti laboratorní diagnostiky hraje zásadní roli metoda PCR, která umožňuje spolehlivou detekci virové DNA. Ve spojení s dalšími doplňkovými technikami představuje efektivní nástroj pro diagnostiku a sledování infekcí způsobených polyomaviry v klinické praxi.

Přínosem této bakalářské práce je systematické zpracování a shrnutí aktuálních informací o lidských polyomavirech, které mohou posloužit jako výchozí bod pro další výzkum i pro klinickou praxi. Závěrem lze říci, že přestože některé aspekty infekcí těmito viry byly dobře popsány, zůstává řada nejasností, které by měly být předmětem dalších vědeckých publikací.

SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] LAMARCHE, Caroline, Julie ORIO, Suzon COLLETTE, Lynne SENÉCAL, Marie-Josée HÉBERT, Édith RENOULT, Lee Anne TIBBLES a Jean-Sébastien DELISLE. BK Polyomavirus and the Transplanted Kidney. *Transplantation* [online]. 2016, **100**(11), 2276-2287 [cit. 2025-03-15]. ISSN 0041-1337. Dostupné z: doi:10.1097/TP.0000000000001333
- [2] MOENS, Ugo, Sébastien CALVIGNAC-SPENCER, Chris LAUBER, Torbjörn RAMQVIST, Mariet C. W. FELTKAMP, Matthew D. DAUGHERTY, Ernst J. VERSCHOOR a Bernhard EHLERS. ICTV Virus Taxonomy Profile: Polyomaviridae. *Journal of General Virology* [online]. 2017, 2017-06-01, **98**(6), 1159-1160 [cit. 2025-03-15]. ISSN 0022-1317. Dostupné z: doi:10.1099/jgv.0.000839
- [3] MOENS, Ugo, Andi KRUMBHOLZ, Bernhard EHLERS, Roland ZELL, Reimar JOHNE, Sébastien CALVIGNAC-SPENCER a Chris LAUBER. Biology, evolution, and medical importance of polyomaviruses: An update. *Infection, Genetics and Evolution* [online]. 2017, **54**, 18-38 [cit. 2025-03-15]. ISSN 15671348. Dostupné z: doi:10.1016/j.meegid.2017.06.011
- [4] VAN DER MEIJDEN, Els, Siamaque KAZEM, Christina A. DARGEL, Nick VAN VUREN, Paul J. HENSBERGEN, Mariet C. W. FELTKAMP a M. J. IMPERIALE. Characterization of T Antigens, Including Middle T and Alternative T, Expressed by the Human Polyomavirus Associated with Trichodysplasia Spinulosa. *Journal of Virology* [online]. 2015, 2015-09-15, **89**(18), 9427-9439 [cit. 2025-03-25]. ISSN 0022-538X. Dostupné z: doi:10.1128/JVI.00911-15
- [5] STRÖH, Luisa J., Nils H. RUSTMEIER, Bärbel S. BLAUM, et al. Structural Basis and Evolution of Glycan Receptor Specificities within the Polyomavirus Family. *MBio* [online]. 2020, 2020-08-25, **11**(4), e00745-20 [cit. 2025-03-25]. ISSN 2161-2129. Dostupné z: doi:10.1128/mBio.00745-20
- [6] BAROUCH, D H a S C HARRISON. Interactions among the major and minor coat proteins of polyomavirus. *Journal of Virology* [online]. 1994, **68**(6), 3982-3989 [cit. 2025-03-25]. ISSN 0022-538X. Dostupné z: doi:10.1128/jvi.68.6.3982-3989.1994
- [7] *ViralZone* [online]. [cit. 2025-04-26]. Dostupné z: https://viralzone.expasy.org/148?outline=all_by_species
- [8] *ICTV* [online]. 2024 [cit. 2025-03-31]. Dostupné z: <https://ictv.global/taxonomy>
- [9] WIEDINGER, Kari, Constantine BITSAKTSIS a Sulie CHANG. Reactivation of human polyomaviruses in immunocompromised states. *Journal of NeuroVirology* [online]. 2014, **20**(1), 1-8 [cit. 2025-04-25]. ISSN 1355-0284. Dostupné z: doi:10.1007/s13365-014-0234-x
- [10] KAMMINGA, Sergio, Igor A. SIDOROV, Michaël TADESSE, Els VAN DER MEIJDEN, Caroline DE BROUWER, Hans L. ZAAIJER, Mariet C.W. FELTKAMP a

- Alexander E. GORBALENYA. Translating genomic exploration of the family Polyomaviridae into confident human polyomavirus detection. *IScience* [online]. 2022, **25**(1) [cit. 2025-04-25]. ISSN 25890042. Dostupné z: doi:10.1016/j.isci.2021.103613
- [11] GARDNER, SylviaD., AnneM. FIELD, DulcieV. COLEMAN a B. HULME. NEW HUMAN PAPOVAVIRUS (B.K.) ISOLATED FROM URINE AFTER RENAL TRANSPLANTATION. *The Lancet* [online]. 1971, **297**(7712), 1253-1257 [cit. 2025-03-20]. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(71)91776-4
- [12] HIRSCH, H. H. a D. R. SNYDMAN. BK Virus: Opportunity Makes a Pathogen. *Clinical Infectious Diseases* [online]. 2005, 2005-08-01, **41**(3), 354-360 [cit. 2025-03-20]. ISSN 1058-4838. Dostupné z: doi:10.1086/431488
- [13] JAMBOTI, Jagadish S. BK virus nephropathy in renal transplant recipients. *Nephrology* [online]. 2016, **21**(8), 647-654 [cit. 2025-03-20]. ISSN 1320-5358. Dostupné z: doi:10.1111/nep.12728
- [14] HARIHARAN, S. BK virus nephritis after renal transplantation. *Kidney International* [online]. 2006, **69**(4), 655-662 [cit. 2025-03-20]. ISSN 00852538. Dostupné z: doi:10.1038/sj.ki.5000040
- [15] GONZALEZ, S., D.P. ESCOBAR-SERNA, O. SUAREZ, X. BENAVIDES, J.F. ESCOBAR-SERNA a E. LOZANO. BK Virus Nephropathy in Kidney Transplantation: An Approach Proposal and Update on Risk Factors, Diagnosis, and Treatment. *Transplantation Proceedings* [online]. 2015, **47**(6), 1777-1785 [cit. 2025-03-21]. ISSN 00411345. Dostupné z: doi:10.1016/j.transproceed.2015.05.010
- [16] HÖCKER, Britta, Lukas SCHNEBLE, Luisa MURER, et al. Epidemiology of and Risk Factors for BK Polyomavirus Replication and Nephropathy in Pediatric Renal Transplant Recipients: An International CERTAIN Registry Study. *Transplantation* [online]. 2019, **103**(6), 1224-1233 [cit. 2025-03-21]. ISSN 0041-1337. Dostupné z: doi:10.1097/TP.0000000000002414
- [17] SHARMA, Preety M., Gaurav GUPTA, Abhay VATS, Ron SHAPIRO a Parmjeet RANDHAWA. Phylogenetic Analysis of Polyomavirus BK Sequences. *Journal of Virology* [online]. 2006, 2006-09-15, **80**(18), 8869-8879 [cit. 2025-03-21]. ISSN 0022-538X. Dostupné z: doi:10.1128/JVI.00510-06
- [18] TORRES, Carolina. Evolution and molecular epidemiology of polyomaviruses. *Infection, Genetics and Evolution* [online]. 2020, **79** [cit. 2025-03-21]. ISSN 15671348. Dostupné z: doi:10.1016/j.meegid.2019.104150
- [19] VARELLA, Rafael B., Ana Carolina J. ZALONA, Nuria C. DIAZ, Mariano G. ZALIS a Guilherme SANTORO-LOPES. BK polyomavirus genotypes Ia and Ib1 exhibit different biological properties in renal transplant recipients. *Virus Research* [online]. 2018, **243**, 65-68 [cit. 2025-03-25]. ISSN 01681702. Dostupné z: doi:10.1016/j.virusres.2017.10.018
- [20] HASAN, Mohammad R., Rusung TAN, Ghada AL-RAWAHI, Eva THOMAS a Peter TILLEY. Comparative evaluation of laboratory developed real-time PCR assays and

- RealStar® BKV PCR Kit for quantitative detection of BK polyomavirus. *Journal of Virological Methods* [online]. 2016, **234**, 80-86 [cit. 2025-03-31]. ISSN 01660934. Dostupné z: doi:10.1016/j.jviromet.2016.04.009
- [21] MBIANDA, Christiane, Ashraf EL-MEANAWY a Andrey SOROKIN. Mechanisms of BK virus infection of renal cells and therapeutic implications. *Journal of Clinical Virology* [online]. 2015, **71**, 59-62 [cit. 2025-03-31]. ISSN 13866532. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcv.2015.08.003
- [22] HUANG, Yang, Xu-Tao CHEN, Shi-Cong YANG, et al. Detection of Proximal Tubule Involvement by BK Polyomavirus in Kidney Transplant Recipients With Urinary Sediment Double-Immunostaining. *Frontiers in Immunology* [online]. 2020, 2020-9-23, **11** [cit. 2025-04-26]. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2020.582678
- [23] HIRSCH, H.H. a P. RANDHAWA. BK Polyomavirus in Solid Organ Transplantation. *American Journal of Transplantation* [online]. 2013, **13**, 179-188 [cit. 2025-04-04]. ISSN 16006135. Dostupné z: doi:10.1111/ajt.12110
- [24] PURIGHALLA, Raman, Ron SHAPIRO, Jerry MCCAULEY a Parmjeet RANDHAWA. BK virus infection in a kidney allograft diagnosed by needle biopsy. *American Journal of Kidney Diseases* [online]. 1995, **26**(4), 671-673 [cit. 2025-04-06]. ISSN 02726386. Dostupné z: doi:10.1016/0272-6386(95)90608-8
- [25] SAUDEK, František. *Takrolimus s prodlouženým uvolňováním*. Dostupné také z: <http://www.remedia.cz/Archiv-rocniku/Rocnik-2007/5-2007/Takrolimus-s-prodlouzenym-uvolnovanim/e-9p-9Z-iz.magarticle.aspx>
- [26] CALMET, Fernando H, Andres J YARUR, Geetha PUKAZHENDHI, Jawad AHMAD a Kalyan R BHAMIDIMARRI. *Endoscopic and histological features of mycophenolate mofetil colitis in patients after solid organ transplantation* [online]. 2014, 18.12.2014 [cit. 2025-04-26]. Dostupné z: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4480174/>
- [27] BOHL, Daniel L., Gregory A. STORCH, Caroline RYSCHKEWITSCH, Monique GAUDREULT-KEENER, A. Schnitzler MARK, Eugene O. MAJOR a Daniel C. BRENNAN. Donor Origin of BK Virus in Renal Transplantation and Role of HLA C7 in Susceptibility to Sustained BK Viremia. *American Journal of Transplantation* [online]. 2005, **5**(9), 2213-2221 [cit. 2025-04-06]. ISSN 16006135. Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-6143.2005.01000.x
- [28] SCADDEN, Jacob RW, Adnan SHARIF, Kassi SKORDILIS a Richard BORROWS. Polyoma virus nephropathy in kidney transplantation. *World Journal of Transplantation* [online]. 2017, 2017-12-24, **7**(6), 329-338 [cit. 2025-04-06]. ISSN 2220-3230. Dostupné z: doi:10.5500/wjt.v7.i6.329
- [29] HIRSCH, Hans H a Jürg STEIGER. Polyomavirus BK. *The Lancet Infectious Diseases* [online]. 2003, **3**(10), 611-623 [cit. 2025-04-06]. ISSN 14733099. Dostupné z: doi:10.1016/S1473-3099(03)00770-9

- [30] AL-SABAAWY, Hadil B., Asseel M. RAHAWI a Saevan S. AL-MAHMOOD. Standard techniques for formalin-fixed paraffin-embedded tissue: A Pathologist's perspective. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences* [online]. 2021, 2021-12-01, **35**(Supplement I-III), 127-135 [cit. 2025-06-25]. ISSN 2071-1255. Dostupné z: doi:10.33899/ijvs.2021.131918.2023
- [31] ALTURKISTANI, Hani A, Faris M TASHKANDI a Zuhair M MOHAMMEDSALEH. Histological Stains: A Literature Review and Case Study. *Global Journal of Health Science* [online]. 2015, 2015-06-25, **8**(3) [cit. 2025-06-25]. ISSN 1916-9744. Dostupné z: doi:10.5539/gjhs.v8n3p72
- [32] GURINA, Tatyana S. a Lary SIMMS. *Histology, Staining* [online]. 2023. StatPearls Publishing, 2023 [cit. 2025-06-25]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557663/>
- [33] FAJFR, Miroslav. Polyomavirus-associated nephropathy. *Interní medicína pro praxi* [online]. 2019, 2019-6-30, **21**(3), 158-161 [cit. 2025-04-21]. ISSN 12127299. Dostupné z: doi:10.36290/int.2019.023
- [34] HIRSCH, Hans H a Jürg STEIGER. Polyomavirus BK. *The Lancet Infectious Diseases* [online]. 2003, **3**(10), 611-623 [cit. 2025-04-25]. ISSN 14733099. Dostupné z: doi:10.1016/S1473-3099(03)00770-9
- [35] ALCENDOR, Donald J. BK Polyomavirus Virus Glomerular Tropism: Implications for Virus Reactivation from Latency and Amplification during Immunosuppression. *Journal of Clinical Medicine* [online]. 2019, **8**(9) [cit. 2025-04-25]. ISSN 2077-0383. Dostupné z: doi:10.3390/jcm8091477
- [36] LI, Xue, Qiquan SUN, Jinsong CHEN, Shuming JI, Jiqui WEN, Dongrei CHENG a Zhihong LIU. Immunophenotyping in BK Virus Allograft Nephropathy Distinct from Acute Rejection. *Clinical and Developmental Immunology* [online]. 2013, **2013**, 1-8 [cit. 2025-05-02]. ISSN 1740-2522. Dostupné z: doi:10.1155/2013/412902
- [37] NICKELEIT, Volker, Harsharan K. SINGH, Parmjeet RANDHAWA, et al. The Banff Working Group Classification of Definitive Polyomavirus Nephropathy: Morphologic Definitions and Clinical Correlations. *Journal of the American Society of Nephrology* [online]. 2018, **29**(2), 680-693 [cit. 2025-04-25]. ISSN 1046-6673. Dostupné z: doi:10.1681/ASN.2017050477
- [38] ADAM, B., P. RANDHAWA, S. CHAN, et al. Banff Initiative for Quality Assurance in Transplantation (BIFQUIT): Reproducibility of Polyomavirus Immunohistochemistry in Kidney Allografts. *American Journal of Transplantation* [online]. 2014, **14**(9), 2137-2147 [cit. 2025-04-25]. ISSN 16006135. Dostupné z: doi:10.1111/ajt.12794
- [39] AI, Lu, Yating ZHAO, Chianru TAN, et al. Development of a droplet digital PCR assay for the detection of BK polyomavirus. *Microbiology Spectrum* [online]. 2024, 2024-11-05, **12**(11), e01089-24 [cit. 2025-04-27]. ISSN 2165-0497. Dostupné z: doi:10.1128/spectrum.01089-24

- [40] JALALI, Mehdi, Justyna ZABOROWSKA a Morteza JALALI. The Polymerase Chain Reaction. In: *Basic Science Methods for Clinical Researchers* [online]. Elsevier, 2017, s. 1-18 [cit. 2025-04-27]. ISBN 9780128030776. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-803077-6.00001-1
- [41] AAT Bioquest. *AAT Bioquest* [online]. [cit. 2025-05-02]. Dostupné z: <https://images.aatbio.com/universal/catalog/qPCR/PCRworkflow.png>
- [42] AI, Lu, Yating ZHAO, Chianru TAN, et al. Development of a droplet digital PCR assay for the detection of BK polyomavirus. *Microbiology Spectrum* [online]. 2024, 2024-11-05, **12**(11), e01089-24 [cit. 2025-04-28]. ISSN 2165-0497. Dostupné z: doi:10.1128/spectrum.01089-24
- [43] CESARO, Simone, Tina DALIANIS, Christine HANSSEN RINALDO, Minna KOSKENVUO, Anna PEGORARO, Hermann EINSELE, Catherine CORDONNIER a Hans H. HIRSCH. ECIL guidelines for the prevention, diagnosis and treatment of BK polyomavirus-associated haemorrhagic cystitis in haematopoietic stem cell transplant recipients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [online]. 2017, 2017-09-08 [cit. 2025-04-28]. ISSN 0305-7453. Dostupné z: doi:10.1093/jac/dkx324
- [44] IMLAY, Hannah, Hu XIE, Wendy M. LEISENRING, et al. Presentation of BK polyomavirus-associated hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood Advances* [online]. 2020, 2020-02-25, **4**(4), 617-628 [cit. 2025-04-28]. ISSN 2473-9529. Dostupné z: doi:10.1182/bloodadvances.2019000802
- [45] SAADE, Anastasia, Jan STYCZYNSKI a Simone CESARO. BK virus infection in allogeneic hematopoietic cell transplantation: An update on pathogenesis, immune responses, diagnosis and treatments. *Journal of Infection* [online]. 2020, **81**(3), 372-382 [cit. 2025-05-02]. ISSN 01634453. Dostupné z: doi:10.1016/j.jinf.2020.06.009
- [46] SCHNEIDEWIND, Laila, Thomas NEUMANN, Jennifer KRANZ, Florian KNOLL, Alexandre Egon PELZER, Christian SCHMIDT a William KRÜGER. Nationwide survey of BK polyomavirus associated hemorrhagic cystitis in adult allogeneic stem cell transplantation among haematologists and urologists. *Annals of Hematology* [online]. 2017, **96**(5), 797-803 [cit. 2025-05-03]. ISSN 0939-5555. Dostupné z: doi:10.1007/s00277-017-2935-8
- [47] DELBUE, Serena, Manola COMAR a Pasquale FERRANTE. Review on the role of the human Polyomavirus JC in the development of tumors. *Infectious Agents and Cancer* [online]. 2017, **12**(1) [cit. 2025-05-04]. ISSN 1750-9378. Dostupné z: doi:10.1186/s13027-017-0122-0
- [48] WOLLEBO, Hassen S., Martyn K. WHITE, Jennifer GORDON, Joseph R. BERGER a Kamel KHALILI. Persistence and pathogenesis of the neurotropic polyomavirus JC. *Annals of Neurology* [online]. 2015, **77**(4), 560-570 [cit. 2025-05-10]. ISSN 0364-5134. Dostupné z: doi:10.1002/ana.24371
- [49] ROTONDO, John Charles, Tommaso CANDIAN, Rita SELVATICI, Elisa MAZZONI, Gloria BONACCORSI, Pantaleo GRECO, Mauro TOGNON a Fernanda MARTINI.

- Tracing Males From Different Continents by Genotyping JC Polyomavirus in DNA From Semen Samples. *Journal of Cellular Physiology* [online]. 2017, **232**(5), 982-985 [cit. 2025-05-12]. ISSN 0021-9541. Dostupné z: doi:10.1002/jcp.25686
- [50] *National Library of Medicine* [online]. [cit. 2025-05-11]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/probe/docs/techrflp/>
- [51] MAKVANDI, Manoochehr, Hayat MOMBEINI, Somayeh Biparva HAGHIGHI, Maryam DASTOORPOOR, Nastaran KHODADAD, Mohammad Karimi BABAAHMADI, Maryam TABASI a Roya PIRMORADI. Molecular epidemiology of JC polyomavirus in HIV-infected patients and healthy individuals from Iran. *Brazilian Journal of Microbiology* [online]. 2020, **51**(1), 37-43 [cit. 2025-06-17]. ISSN 1517-8382. Dostupné z: doi:10.1007/s42770-019-00117-y
- [52] FERENCZY, Michael W., Leslie J. MARSHALL, Christian D. S. NELSON, Walter J. ATWOOD, Avindra NATH, Kamel KHALILI a Eugene O. MAJOR. Molecular Biology, Epidemiology, and Pathogenesis of Progressive Multifocal Leukoencephalopathy, the JC Virus-Induced Demyelinating Disease of the Human Brain. *Clinical Microbiology Reviews* [online]. 2012, **25**(3), 471-506 [cit. 2025-05-12]. ISSN 0893-8512. Dostupné z: doi:10.1128/CMR.05031-11
- [53] MAKVANDI, Manoochehr, Hayat MOMBEINI, Somayeh Biparva HAGHIGHI, Maryam DASTOORPOOR, Nastaran KHODADAD, Mohammad Karimi BABAAHMADI, Maryam TABASI a Roya PIRMORADI. Molecular epidemiology of JC polyomavirus in HIV-infected patients and healthy individuals from Iran. *Brazilian Journal of Microbiology* [online]. 2020, **51**(1), 37-43 [cit. 2025-05-12]. ISSN 1517-8382. Dostupné z: doi:10.1007/s42770-019-00117-y
- [54] AYDIN, Suleyman. A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides* [online]. 2015, **72**, 4-15 [cit. 2025-05-16]. ISSN 01969781. Dostupné z: doi:10.1016/j.peptides.2015.04.012
- [55] SAKAMOTO, Seiichi, Waraporn PUTALUN, Sornkanok VIMOLMANGKANG, Waranyoo PHOOLCHAROEN, Yukihiro SHOYAMA, Hiroyuki TANAKA a Satoshi MORIMOTO. Enzyme-linked immunosorbent assay for the quantitative/qualitative analysis of plant secondary metabolites. *Journal of Natural Medicines* [online]. 2018, **72**(1), 32-42 [cit. 2025-05-16]. ISSN 1340-3443. Dostupné z: doi:10.1007/s11418-017-1144-z
- [56] *Baria* [online]. [cit. 2025-05-16]. Dostupné z: <https://www.baria.cz/rsc6186731-metoda-elisa-aspekty-jednotlivych-usporadani>
- [57] ŠTOURAČ, Pavel, Jana BEDNÁŘOVÁ a Zbyšek PAVELEK. Etiopathogenesis and diagnostics of progressive multifocal leukoencephalopathy in patients treated with natalizumab. *Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie* [online]. 2021, 2021-4-30, **84/117**(2) [cit. 2025-05-14]. ISSN 12107859. Dostupné z: doi:10.48095/cccsnn2021135
- [58] CORTESE, Irene, Gina NORATO, Patrick R HARRINGTON, et al. Biomarkers for progressive multifocal leukoencephalopathy: emerging data for use of JC virus DNA copy

- number in clinical trials. *The Lancet Neurology* [online]. 2024, **23**(5), 534-544 [cit. 2025-05-14]. ISSN 14744422. Dostupné z: doi:10.1016/S1474-4422(24)00099-1
- [59] MÖHN, Nora, Lea GROTE-LEVI, Mike P. WATTJES, et al. Directly Isolated Allogeneic Virus-Specific T Cells in Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. *JAMA Neurology* [online]. 2024, 2024-11-01, **81**(11) [cit. 2025-05-14]. ISSN 2168-6149. Dostupné z: doi:10.1001/jamaneurol.2024.3324
- [60] KEDAR, Sachin a Joseph R. BERGER. The Changing Landscape of Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. *Current Infectious Disease Reports* [online]. 2011, **13**(4), 380-386 [cit. 2025-05-14]. ISSN 1523-3847. Dostupné z: doi:10.1007/s11908-011-0196-6
- [61] ANAND, Pria, Gladia C. HOTAN, Andre VOGEL, Nagagopal VENNA a Farrah J. MATEEN. Progressive multifocal leukoencephalopathy. *Neurology Neuroimmunology & Neuroinflammation* [online]. 2019, **6**(6) [cit. 2025-05-14]. ISSN 2332-7812. Dostupné z: doi:10.1212/NXI.0000000000000618
- [62] KIM, Jinnam, Changhyup KIM, Jung Ah LEE, et al. Long-term prognosis and overall mortality in patients with progressive multifocal leukoencephalopathy. *Scientific Reports* [online]. 2023, **13**(1) [cit. 2025-05-15]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-023-41147-9
- [63] VELLA, Stefano a Lucia PALMISANO. Antiretroviral therapy: state of the HAART. *Antiviral Research* [online]. 2000, **45**(1), 1-7 [cit. 2025-05-15]. ISSN 01663542. Dostupné z: doi:10.1016/S0166-3542(99)00068-6
- [64] BALDASSARI, Laura E, Mike P WATTJES, Irene C M CORTESE, Achim GASS, Imke METZ, Tarek YOUSRY, Daniel S REICH a Nancy RICHERT. The neuroradiology of progressive multifocal leukoencephalopathy: a clinical trial perspective. *Brain* [online]. 2022, 2022-02-01, **145**(2), 426-440 [cit. 2025-05-15]. ISSN 0006-8950. Dostupné z: doi:10.1093/brain/awab419
- [65] BERNARD-VALNET, Raphaël, Igor J. KORALNIK a Renaud DU PASQUIER. Advances in Treatment of Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. *Annals of Neurology* [online]. 2021, **90**(6), 865-873 [cit. 2025-05-16]. ISSN 0364-5134. Dostupné z: doi:10.1002/ana.26198
- [66] VIJAYALAXMI, Mahsa FATAHI a Oliver SPECK. Magnetic resonance imaging (MRI): A review of genetic damage investigations. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* [online]. 2015, **764**, 51-63 [cit. 2025-05-18]. ISSN 13835742. Dostupné z: doi:10.1016/j.mrrev.2015.02.002
- [67] KIZAKI, Toshiya, Masato KANAZAWA, Takanobu ISHIGURO, et al. Indications for a brain biopsy in neurological diseases of unknown etiology: The role of magnetic resonance imaging findings and liquid biopsy in yielding definitive pathological diagnoses. *Journal of the Neurological Sciences* [online]. 2024, **463** [cit. 2025-05-21]. ISSN 0022510X. Dostupné z: doi:10.1016/j.jns.2024.123150

- [68] SHISHIDO-HARA, Yukiko. Brain biopsy and pathological diagnosis for drug-associated progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) with inflammatory reactions. *Pathology International* [online]. 2024, **74**(12), 673-681 [cit. 2025-05-21]. ISSN 1320-5463. Dostupné z: doi:10.1111/pin.13492
- [69] MÖHN, Nora, Lea GROTE-LEVI, Franziska HOPFNER, et al. Innovative therapeutic concepts of progressive multifocal leukoencephalopathy. *Journal of Neurology* [online]. 2022, **269**(5), 2403-2413 [cit. 2025-05-31]. ISSN 0340-5354. Dostupné z: doi:10.1007/s00415-021-10952-5
- [70] MAZZONI, Elisa, Ilaria BONONI, Silvia PIETROBON, et al. Specific antibodies reacting to JC polyomavirus capsid protein mimotopes in sera from multiple sclerosis and other neurological diseases-affected patients. *Journal of Cellular Physiology* [online]. 2020, **235**(7-8), 5847-5855 [cit. 2025-06-01]. ISSN 0021-9541. Dostupné z: doi:10.1002/jcp.29533
- [71] PIETROPAOLO, Valeria, Anna BELLIZZI, Elena ANZIVINO, et al. Human polyomavirus JC replication and non-coding control region analysis in multiple sclerosis patients under natalizumab treatment. *Journal of NeuroVirology* [online]. 2015, **21**(6), 653-665 [cit. 2025-05-31]. ISSN 1355-0284. Dostupné z: doi:10.1007/s13365-015-0338-y
- [72] GOH, Gerald, Trent WALRADT, Vladimir MARKAROV, et al. Mutational landscape of MCPyV-positive and MCPyV-negative Merkel cell carcinomas with implications for immunotherapy. *Oncotarget* [online]. 2016, 2016-01-19, **7**(3), 3403-3415 [cit. 2025-03-15]. ISSN 1949-2553. Dostupné z: doi:10.18632/oncotarget.6494
- [73] National Cancer. <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/merkel-cell> [online]. [cit. 2025-06-08]. Dostupné z: <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/merkel-cell>
- [74] DECAPRIO, James A. Merkel cell polyomavirus and Merkel cell carcinoma. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* [online]. 2017, 2017-10-19, **372**(1732) [cit. 2025-06-08]. ISSN 0962-8436. Dostupné z: doi:10.1098/rstb.2016.0276
- [75] LIU, Wei, Margo MACDONALD a Jianxin YOU. Merkel cell polyomavirus infection and Merkel cell carcinoma. *Current Opinion in Virology* [online]. 2016, **20**, 20-27 [cit. 2025-06-08]. ISSN 18796257. Dostupné z: doi:10.1016/j.coviro.2016.07.011
- [76] KERVARREC, Thibault, Anne TALLET, Elodie MIQUELESTORENA-STANDLEY, et al. Morphologic and immunophenotypical features distinguishing Merkel cell polyomavirus-positive and negative Merkel cell carcinoma. *Modern Pathology* [online]. 2019, **32**(11), 1605-1616 [cit. 2025-06-20]. ISSN 08933952. Dostupné z: doi:10.1038/s41379-019-0288-7
- [77] LEROUX-KOZAL, Valérie, Nicolas LÉVÊQUE, Véronique BRODARD, Candice LESAGE, Oriane DUDEZ, Marc MAKEIEFF, Lukshe KANAGARATNAM a Marie-Danièle DIEBOLD. Merkel cell carcinoma: histopathologic and prognostic features

- according to the immunohistochemical expression of Merkel cell polyomavirus large T antigen correlated with viral load. *Human Pathology* [online]. 2015, **46**(3), 443-453 [cit. 2025-06-26]. ISSN 00468177. Dostupné z: doi:10.1016/j.humpath.2014.12.001
- [78] DURAIYAN, Jeyapradha, Rajeshwar GOVINDARAJAN, Karunakaran KALIYAPPAN a Murugesan PALANISAMY. Applications of immunohistochemistry. *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences* [online]. 2012, **4**(6) [cit. 2025-06-25]. ISSN 0975-7406. Dostupné z: doi:10.4103/0975-7406.100281
- [79] Immunohistochemistry. *Biosciences* [online]. Immunohistochemistry [cit. 2025-06-26]. Dostupné z: <https://www.bdbiosciences.com/en-gb/learn/applications/immunohistochemistry?tab=IHC-Detection-Methods>
- [80] PARK, Gyutae, Sieun S. KIM, Jiwon SHIM a Seung-Jae V. LEE. Brief guide to immunostaining. *Molecules and Cells* [online]. 2025, **48**(1) [cit. 2025-06-26]. ISSN 10168478. Dostupné z: doi:10.1016/j.mocell.2024.100157
- [81] WANG, Chao, Tianli WEI, Yiman HUANG, Qiong GUO, Zhiping XIE, Jingdong SONG, Aijun CHEN a Lishu ZHENG. Isolation and characterization of WUPyV in polarized human airway epithelial cells. *BMC Infectious Diseases* [online]. 2020, **20**(1) [cit. 2025-03-12]. ISSN 1471-2334. Dostupné z: doi:10.1186/s12879-020-05224-y
- [82] UDA, Kazuhiro, Chitose KOYAMA-WAKAI, Kensuke SHOJI, Noriyasu IWASE, Daisuke MOTOOKA, Shota NAKAMURA a Isao MIYAIRI. WU polyomavirus detected in children with severe respiratory failure. *Journal of Clinical Virology* [online]. 2018, **107**, 25-28 [cit. 2025-03-15]. ISSN 13866532. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcv.2018.08.003
- [83] YUAN, Xin-hui, Yu JIN, Zhi-ping XIE, et al. Prevalence of Human KI and WU Polyomaviruses in Children with Acute Respiratory Tract Infection in China. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. 2008, **46**(10), 3522-3525 [cit. 2025-03-15]. ISSN 0095-1137. Dostupné z: doi:10.1128/JCM.01301-08
- [84] RAO, Suchitra, Marilla G. LUCERO, Hanna NOHYNEK, Veronica TALLO, Socorro P. LUPISAN, Robert L. GARCEA a Eric A.F. SIMÕES. WU and KI polyomavirus infections in Filipino children with lower respiratory tract disease. *Journal of Clinical Virology* [online]. 2016, **82**, 112-118 [cit. 2025-03-15]. ISSN 13866532. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcv.2016.07.013
- [85] KATONA, Melinda, Krisztina JELES, Péter TAKÁCS a Eszter CSOMA. DNA and seroprevalence study of MW and STL polyomaviruses. *Journal of Medical Virology* [online]. 2024, **96**(8) [cit. 2025-03-16]. ISSN 0146-6615. Dostupné z: doi:10.1002/jmv.29860
- [86] CURMAN, P., A. NÄSMAN a H. BRAUNER. Trichodysplasia spinulosa: a comprehensive review of the disease and its treatment. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* [online]. 2021, **35**(5), 1067-1076 [cit. 2025-03-16]. ISSN 0926-9959. Dostupné z: doi:10.1111/jdv.17081

- [87] VAN DER MEIJDEN, Els, Barbara HORVÁTH, Marcel NIJLAND, et al. Primary Polyomavirus Infection, Not Reactivation, as the Cause of Trichodysplasia Spinulosa in Immunocompromised Patients. *Journal of Infectious Diseases* [online]. [cit. 2025-03-17]. ISSN 0022-1899. Dostupné z: doi:10.1093/infdis/jiw403
- [88] JOSE, Aju, Taimur DAD, Andrew STRAND, et al. Trichodysplasia spinulosa: Case reports and review of literature. *Transplant Infectious Disease* [online]. 2020, **22**(5) [cit. 2025-03-16]. ISSN 1398-2273. Dostupné z: doi:10.1111/tid.13342
- [89] DECRESCENZO, Andrew J., Rebecca C. PHILIPS a Michael G. WILKERSON. Trichodysplasia spinulosa: A rare complication of immunosuppression. *JAAD Case Reports* [online]. 2016, **2**(4), 307-309 [cit. 2025-03-17]. ISSN 23525126. Dostupné z: doi:10.1016/j.jdc.2016.07.002
- [90] NGUYEN, Khang D., Eunice E. LEE, Yangbo YUE, et al. Human polyomavirus 6 and 7 are associated with pruritic and dyskeratotic dermatoses. *Journal of the American Academy of Dermatology* [online]. 2017, **76**(5), 932-940.e3 [cit. 2025-06-21]. ISSN 01909622. Dostupné z: doi:10.1016/j.jaad.2016.11.035
- [91] KATONA, Melinda, Krisztina JELES, Péter TAKÁCS a Eszter CSOMA. Prevalence and in vitro study of human polyomavirus 9. *Scientific Reports* [online]. 2024, **14**(1) [cit. 2025-06-26]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-024-80806-3
- [92] COOK, Linda. Polyomaviruses. In: HAYDEN, Randall T., Donna M. WOLK, Karen C. CARROLL a Yi-Wei TANG, ed. *Diagnostic Microbiology of the Immunocompromised Host* [online]. Washington, DC: ASM Press, 2016, s. 197-216 [cit. 2025-06-21]. ISBN 9781683670704. Dostupné z: doi:10.1128/9781555819040.ch9
- [93] TOPTAN, Tuna, Samuel A. YOUSEM, Jonhan HO, et al. Survey for human polyomaviruses in cancer. *JCI Insight* [online]. 2016, 2016-2-25, **1**(2) [cit. 2025-06-21]. ISSN 2379-3708. Dostupné z: doi:10.1172/jci.insight.85562