

BK virová infekce po transplantaci ledvin

E. Novotná¹, O. Viklický^{1,2}

¹ Transplantační laboratoř, Pracoviště experimentální medicíny IKEM Praha, vedoucí doc. MUDr. Ondřej Viklický, CSc.

² Klinika nefrologie Transplantačního centra IKEM, Praha, přednosta prof. MUDr. Vladimír Teplan, DrSc.

Souhrn: Virové infekce představují významnou komplikaci u příjemců orgánových transplantací. Potransplantační imunosuprese je spojena s přenosem či reaktivací herpetických virů i polyomavirů. Lidský polyomavirus typu I, jinak BK virus (BKV) je příčinou vzniku nefropatie asociované s polyomavirovou infekcí (PVAN) u 1–10 % pacientů po transplantaci ledviny. Díky zvýšenému povědomí o PVAN a vylepšeným diagnostickým technikám se daří snížit počet ztrát štěpů, a to zejména v centrech se zavedeným screeningovým programem. Rizikové faktory vzniku PVAN nebyly dosud přesvědčivě definovány a pravděpodobně zahrnují determinující faktory pacienta, štěpu i samotného viru. Klíčové pro vznik onemocnění se zdá být selhávání rovnováhy mezi replikací BKV a BKV-specifickou imunitní kontrolou. Mezi faktory ovlivňující tuto rovnováhu je řazena trojkombinační imunosupresivní léčba, počet a typ HLA-neshod, předcházející rejekce a antirejekční terapie nebo BKV séropozitivní/séronegativní párování dárce/příjemce. Diagnóza PVAN je stanovována na základě nálezu polyomavirem poškozených buněk v biopsii ledviny a potvrzení BKV pomocí další techniky, jakou je např. imunohistochemie. Včasná diagnóza zvyšuje pravděpodobnost úspěšného léčebného zásahu. Je proto doporučováno provádět screening replikace BKV v moči a séru všech pacientů po transplantaci ledviny. Za základní terapeutický krok je považováno snížení a úprava imunosupresivní léčby. Dosud nebyl nalezen vhodný antivirový přípravek k léčbě PVAN. Retransplantace pacientů, u kterých došlo ke ztrátě štěpu na základě PVAN, je možná po vymizení BKV replikace.

Klíčová slova: BK virus – polyoma virus – PVAN – transplantace ledvin

BK viral infection after renal transplantation

Summary: Viral infections have been a subject of great interest in patients after organ transplantations. Post-transplant immunosuppressive therapy is often associated with transfection or reactivation of viruses. The human polyomavirus type I, also called BK virus (BKV), causes polyomavirus-associated nephropathy (PVAN) in 1–10% of renal transplant recipients. Thanks to increased PVAN awareness and improved diagnostic techniques, the rate of graft loss has lowered, more consistently in centres with active screening and intervention programs. The risk factors for PVAN are not conclusively defined and likely involve complementing determinants of recipient, graft, and virus. Central element seems to be the failing balance between BKV replication and BKV-specific immune control, which can result from intense triple immunosuppression, HLA-mismatches, prior rejection and anti-rejection treatment, or BKV-seropositive donor/seronegative recipient pairs. PVAN diagnosis requires the evaluation of a renal biopsy showing polyomavirus cytopathic changes and confirming BKV through an ancillary technique such as immunohistochemistry. The success rate of the intervention is increased with earlier diagnosis. Therefore, it is recommended that all renal transplant recipients should be screened for BKV replication in urine and serum. The treatment of BKVN consists mainly of reduction in immunosuppressive therapy. Currently, in the clinical management of PVAN, no satisfactory antiviral treatment has been defined. Retransplantation after renal allograft loss to PVAN remains a treatment option for patients clearing polyomavirus replication.

Key words: BK virus – polyoma virus – PVAN – renal transplantation

Úvod

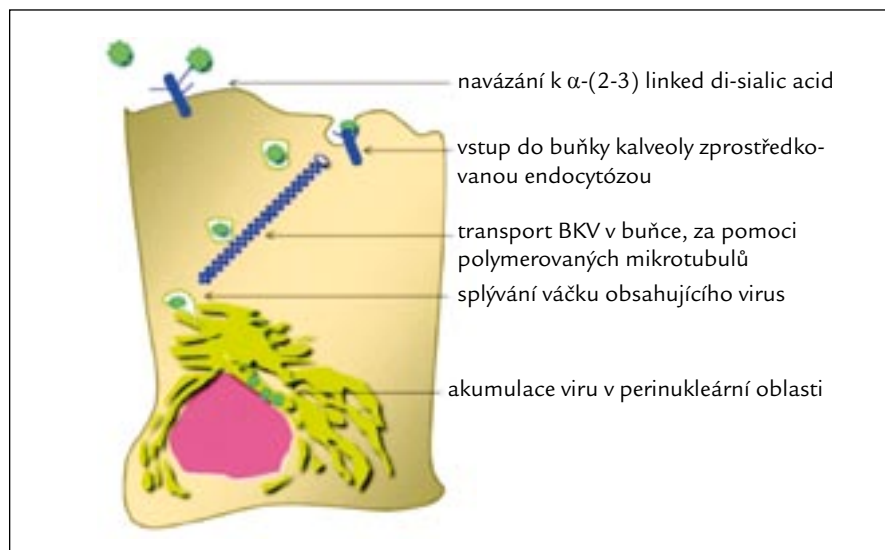
Transplantace ledviny představuje metodu volby léčby u nemocných s nevratným selháním ledvin. Dlouhodobé výsledky transplantací ovlivňují rejekce alogenního štěpu a na druhé straně komplikace dlouhodobé imunosupresivní léčby. Mezi ně patří virové infekce; kromě cytomegaloviru (CMV) se v poslední době dostal do popředí zájmu transplantologů polyoma BK virus. Nefropatie asociovaná s polyomavirovou infekcí (PVAN) může způsobit ireverzibilní poškození či ztrátu štěpu u 1–10 % pacientů.

Rozvoj BK-asociované nefropatie (BKVN) probíhá u většiny pacientů asymptomaticky. Protože prognóza přežití štěpu je závislá na stadiu rozvoje onemocnění v době diagnózy, je v současné době kladen důraz na včasné rozpoznání asymptomatické BK infekce. Do monitorace pacientů po transplantaci ledviny jsou zaváděny metody umožňující stanovovat hladiny replikace virů v tkáni, krvi i moči nemocných.

Infekce polyomavirem byla poprvé popsána v moči pacienta po transplantaci ledviny v roce 1971 a podle jeho iniciál, B. K., byl virus označen [1].

Později byly izolovány další kmeny BKV, ve většině případů z moči pacientů po transplantaci ledviny nebo pacientů se syndromem Wiskott-Aldrich (X-recesivně dědičná choroba charakterizovaná defekty celulární a humorální imunity) [2].

Virurie byla často považována za asymptomatickou nebo byla spojena s přechodnou dysfunkcí štěpu. Případné virem způsobené poškození tkáně bylo většinou zjištěno až při nefrektomii nebo při pitvě [3,4]. Známým nálezem při přítomnosti BKV byla stenóza ureteru [5].



Obr. 1. Infekční cesta vstupu BKV do buňky. Podle [12].

Nová éra výzkumu BKV nastala, když punkční biopsií transplantované ledviny byla místo akutní rejeckce poprvé prokázána BKVN (BK virová nefropatie). Tento případ byl popsán v roce 1993, publikován v roce 1995 [4]. Následně byla tato diagnóza prokázána i v ostatních centrech [3,4]. Nárůst incidence BKVN v 90. letech minulého století je spojován s používáním nových účinnějších imunosupresiv, jakými jsou takrolimus a mykofenolát-mofetil [3–6].

Virologie

BK virus (BKV) je řazen mezi lidské polyomaviry stejně jako JC virus (JCV), Simian virus (SV40) a nově objevené viry KI a WU [7]. BKV je neobalený virus o velikosti 45 nm. Jeho genom představuje cirkulární dvoušroubovicovou molekulu DNA obsahující 5 300 pb. Genetickou organizací se podobá dalším polyomavirům s vysokou homologií (70%) k JCV a Simian viru (SV40) [8]. JCV je u člověka spojován se vznikem virové encefalopatie a ojedinele také se vznikem virové nefropatie, a to buď soliterně, či častěji v kombinaci s BKV [9]. Genomová architektura BKV je stálá a skládá se z tzv. nekódujícího kontrolního regionu (NCCR), časných genů a pozdních genů. NCCR zahrnuje oblast počátku replikace, transkripční promotorový region a transkripční „enhancer“ region.

Časné geny kódují „small tumor antigen“ (STag) a „large tumor antigen“ (LTag). LTag je multifunkčním regulátorem polyomavirové transkripce a replikace, účastní se interakce s proteiny hostitelské buňky a poškozuje její části tak, aby získal faktory pro replikaci.

Všechny polyomaviry kódují 3 kapsidové proteiny, virový protein (VP) VP1, VP2 a VP3. Kapsidové proteiny VP1, 2, 3 a agnoprotein jsou u BKV kódovány pozdními geny.

VP1 je jediným VP exponovaným na vnějším obalu virionu a jsou v něm malé rýhy, které interagují s hostitelskými celulárními receptory [10,11].

Vstup a transport BKV v buňce

Interakce BKV s receptory hostitelské buňky není dosud plně objasněna. Přirozeným cílem BKV nefritidy jsou epitelální buňky renálních proximálních tubulů (EBRPT). Právě biologická analýza interakce BKV s EBRPT by mohla být základem pro vývoj nových strategií léčby [12].

Receptorem hostitelské buňky pro BKV je N-glykoprotein, ve kterém byly identifikovány gangliosidové komponenty GT1b a GD1b. BKV receptor je schopen interagovat s malými rýhami mezi BC1 a BC2 smyčkami hlavního kapsidového proteinu BKV, VP1 [12,13]. Neobalené viry nemohou přímo fúzovat s membránou hosti-

telské buňky, využívají jiné možnosti vstupu do buňky: kalveoly zprostředkovaný vstup, clathrin-dependetní vstup, makropinocytózu a dle novějších studií non-clathrin, non-calveolae endocytózní vstup [12]. Studie ukazují, že BKV využívá kalveoly zprostředkovanou endocytózu. Z experimentální studie vyplývá, že by mohl putovat dále buňkou Golgiho aparátem (GA) k endoplazmatickému retikulu (ER). Vezikuly obsahující částice BKV pravděpodobně fúzí s ER strukturami a možná také s organelami GA a následně se shlukují v perinukleárním prostoru [14]. Pohyb BKV v buňce je zřejmě závislý na mikrotubulech a naopak nezávislý na aktinových vláknech. Infekce se stává nezávislou na stavu mikrotubulů zhruba po 10 hodinách, tedy v době, kdy BK virion dosáhl požadované lokalizace [15].

Prevalence a způsob přenosu

Přibližně u 80–90% běžné populace je možno detekovat protilátky proti BKV i JCV. K primární infekci dochází v dětství (50% dětí má ve 3 letech detekovatelné protilátky proti BKV a v 6 letech proti JCV). V 10 letech má většina dětí protilátky proti BKV a v 15 letech 70–90% dětí protilátky proti JCV [8].

Způsob přenosu BKV viru nebyl dosud kompletně vysvětlen. Přítomnost viru byla popsána v krvi, semenu, tkáňích genitálií, ale také např. v pokožce. Znám je i možný transplacentární přenos z matky na plod. Přítomnost virové DNA byla zjištěna i v městské kanalizaci a pravděpodobně existuje možnost orofekálního přenosu [3,16].

Po primární infekci se virus stává latentním a přežívá zejména v urinárním epitelu [16].

K reaktivaci a nízkému stupni replikace s asymptomatickou virurií dochází u zhruba 5% zdravé populace [17].

BKVN/PVAN

Polyomavirová nemoc (PVAN) je definována jako histopatologická nebo ultrastrukturální přítomnost cytopatologických změn nebo orgánového poškození polyomavirem.

Molekulárněbiologické studie uvádějí, že většina případů PVAN je způsobena *Polyomavirus hominis I* (BKV), ve výjimečných případech může být způsobena i *Polyomavirus hominis II* (JCV) nebo SV 40 [18]. V dnešní době je BKNV považována za významnou infekční komplikaci po transplantaci ledviny [19].

Rozvíjí se u 1–10% pacientů po transplantaci ledviny. U většiny pacientů je diagnostikována během 1. roku po transplantaci, přibližně 1/4 je diagnostikována později.

Popisovaná ztráta štěpu u pacientů s diagnostikovaným PVAN se u jednotlivých studií liší, a to od 0 do více než 80% [18–20].

Rizikové faktory

Rizikové faktory vzniku PVAN zahrnují determinanty pacienta, orgánu a viru. Základem vývoje onemocnění je selhávání rovnováhy mezi BKNV replikací a BKNV-specifickou imunitní kontrolou. K této nerovnováze může dojít vlivem a kombinací mnoha různých příčin. Diskutovanými faktory jsou vliv trojkombinační imunosuprese, počet HLA-neshod, anamnéza rejekcí a anti-rejekční terapie, BKNV-séropozitivita dárce/příjemce, poškození štěpu atd.

Imunosuprese. Zvýšená incidence BKNV bývá spojována se zavedením nových účinnějších imunosupresiv, jakými jsou takrolimus (Tac) nebo mykofenolát-mofetil (MMF) [8]. Někteří autoři poukazují na vztah kombinace Tac/MMF s vyšší virurií oproti kombinaci cyklosporin A (CsA)/MMF. Prospektivní studie u 200 příjemců ledvin neprokázala zvýšenou incidenci BK viremie a virurie mezi skupinami randomizovanými k léčbě Tac, CyA, MMF nebo AZA samostatně. Studie v multivariátní analýze prokazuje signifikantně vyšší riziko virurie a viremie u Tac/MMF a CyA/AZA oproti CyA/MMF [21,22]. Např. Vasudev et al neprokázali vliv typu imunosuprese jako rizikový faktor [21]. Zdá se, že důležitější než typ použité imunosuprese je její intenzita [22].

Vliv sérotypu a sérostatu. BKNV infekce u transplantovaného pacienta může vzniknout jak na podkladě BK positivity dárce, tak příjemce. Bohl et al ukázali vyšší poměr infekcí u pacientů, kteří obdrželi orgán od séropozitivního dárce [20]. U dětských pacientů může séronegativita příjemce zvyšovat riziko BKNV [8]. Přítomnost protilátek jedince neochraňuje před vznikem viremie či PVAN [3].

Poškození štěpu. U transplantací ledvin dochází k reaktivaci BKNV ve větší míře než u jiných transplantací. Zvažuje se vliv poškození ledviny během manipulace a vliv opožděného nástupu funkce štěpu. Dosavadní studie nepotvrdily vliv trvání studené ischemie. Byla popsána asociace mezi zvýšenou incidencí BKNV replikace a použitím uretrálního stentu [3,21].

Vliv HLA. Některé studie poukazují na trend zvýšeného počtu HLA-neshod mezi dárce a příjemce, u kterých se vyvinula viremie [23]. Bohl et al v roce 2005 nenalezli žádnou významnou závislost mezi BKNV infekcí a počtem HLA-neshod, zjistili však závislost mezi přítomností BKNV infekce a nepřítomností alely C7 jak u dárce, tak příjemce [20].

Vztah BKNV k cytomegaloviru (CMV). CMV i BKNV se mohou po primoinfekci stát latentními a po transplantaci ledviny může dojít k jejich reaktivaci. Bylo prokázáno, že polyomavirus může navodit genovou expresi CMV stimulací buněčných regulačních proteinů nebo pomocí vlastních regulačních proteinů [24].

Antirejekční terapie a antilymfocytární preparáty. Hirsch et al v roce 2002 popsali hraniční závislost počtu kortikosteroidních pulzů a vzniku BKNV. Signifikantní závislost našli ve vztahu počtu kortikosteroidních pulzů a viremie [23]. Použití antilymfocytárních preparátů u rejekce rezistentní k léčbě steroidy bylo spojeno se zvýšenou replikací polyomavirů. Je znám případ rychlého selhání štěpu po stanovení mylné diagnózy akutní rejekce při BKNV a podání antilymfocytárního globulinu [3,6,18].

Dalšími faktory, které dle některých studií mohou mít vliv na reaktivaci BKNV, jsou věk (> 50), etnikum pacienta (vyšší riziko pro „kavkazské“ etnikum), stav imunitního systému před transplantací a diabetes mellitus [4,17,21,22].

Patogeneze

U pacientů po transplantaci ledviny je změna latentní fáze BKNV ve fázi lytickou pravděpodobně započata ischemií, vlivem kalcineurinových inhibitorů, poškozením spojeným s akutní rejekcí nebo vlivem jiných výše popsaných rizikových faktorů.

Expresí kapsidových proteinů ve vnímavé buňce vede ke shromažďování virionu v jádře buňky a k její následné lýze. U imunokompetentního pacienta vyvolává uvolnění virových a buněčných složek nespecifickou zánětlivou reakci, následovanou odpovědí humorální a celulární specifické imunity. Po transplantaci ledviny je indukce imunosupresivní léčby narušena dynamika imunitní odpovědi. Vlivem imunosuprese dochází k porušení funkce paměťových T buněk, které se účastní kontroly virové replikace a umožní aktivaci viru [25].

Za použití DNA „mikroarray eseje“ bylo prokázáno, že BKNV je asociována se zvýšeným přepisem několika velkých skupin mRNA. Zahrnují CD8, interferon γ , CXCR3 a perforin. Tyto molekuly jsou upregulovány i při akutní celulární rejekci [4]. Bylo také prokázáno, že převaha CD20 pozitivních lymfocytů (B-lymfocyty) v renální histologii může předpovídat BK infekci [3].

Klinický obraz

Nejčastějším symptomem spojeným s BKNV primoinfekcí je infekce horních cest dýchacích. Ojedinele se vyskytuje akutní cystitida s hematurií nebo bez ní. Po primoinfekci se virus dostává do latentní fáze. Latentní forma viru přetrvává zejména v urogenitálním traktu (ledviny, močový měchýř, čípek, pochva, testes, prostata), detekován může být i v hematolymfoidních tkáních (PBMC – mononukleární buňky periferní krve, tonsily).

Tab. 1. Histologické stupně BK virové nefropatie. Podle [19].**Stupeň A (časné změny)**

- virová aktivace v kůře a/nebo ve dřeni s přítomností intracelulárních shluků a/nebo pozitivní imunohistochemie nebo in situ hybridizace
- žádná nebo minimální nekróza/lýza tubulárních epiteliálních buněk
- bez obnažení bazálních membrán tubulů
- žádný nebo minimální intersticiální zánět v místech s virovou aktivací
- žádná nebo minimální tubulární atrofie a intersticiální fibróza ($\leq 10\%$)

Stupeň B (floridní změny)

- výrazná aktivace viru v kortexu a/nebo v medule
- výrazná virem způsobená nekróza/lýza tubulárních epiteliálních buněk a obnažení bazálních membrán tubulů
- intersticiální zánět (minimální až výrazný)
- intersticiální fibróza a tubulární atrofie (od minimální po výraznou $\leq 50\%$)

Stupeň B1

- postiženo $\leq 25\%$ bioptické tkáně

Stupeň B2

- postiženo $> 26\%$ a $< 50\%$ bioptické tkáně

Stupeň B3

- postiženo $\geq 50\%$ bioptické tkáně (pokud je intersticiální fibróza a tubulární atrofie $> 50\%$: stupeň C)

Stupeň C (pozdní sklerotizující změny)

- virová aktivace v kortexu a/nebo v medule
- intersticiální fibróza a tubulární atrofie $> 50\%$ bioptického tkáně
- nekróza/lýza tubulárních epiteliálních buněk a obnažení bazálních membrán tubulů
- intersticiální zánět (minimální až výrazný)

Většina pacientů po transplantaci ledviny i přes hladiny kopií viru přesahující 10^7 kopií/ml moči nevykazuje systémové projevy virové infekce [3,4,19]. Hladiny sérového kreatininu v době diagnózy mohou být normální i zvýšené [21].

Diagnóza

Pro úspěšný terapeutický zásah je vhodné, aby byla diagnóza stanovena co nejdříve. Časná stadia progresu onemocnění jsou na rozdíl od konečných stadií onemocnění (viz histologické rozdělení) plně reverzibilní [19,26].

Diagnóza BKV infekce je založena na dokumentaci cytopatických efektů (tzv. „decoy cells“ v moči), přítomnosti viru (v moči, séru či renální tkáni), sledování protivirové imunity (BKV-specifické protilátky) a na histologických nálezech [3].

Definitivní diagnóza je obecně stanovena potvrzením přítomnosti BK virových inkluzí v tubulárních nebo glomerulárních buňkách epitelu v biopsii [26–28].

Histologie. Typickým histologickým nálezem BKV nefritidy jsou tubulointersticiální změny s rozptýlenou zánětlivou infiltrací buněk, lýzou, atrofií a nekrózou tubulárního epitelu, stejně jako s expanzí a fibrózou intersticia. V několika případech byly pozorovány změny v oblasti glomerulů, především v epitelu Bowmanova pouzdra [4,13]. Infikované buňky mají jádro zvětšené bazofilními inkluzemi, vzniklými na podkladě seskupení nově vzniklých virionů [27]. Nejčastěji je diagnóza BKN potvrzována pomocí imunohistochemie [19]. K imunohistochemickému průkazu je používáno protilátek proti large T antigenu kmene SV40, který identifikuje všechny polyomavirové kmeny díky zkřížené reaktivitě SV40 s BKV a JCV [27]. BKVN musí být rozlišena od ostatních polyomavirových infekcí, ale především od akutní celulární rejekce [26]. Z morfologického a molekulárního hlediska je zánětlivá infiltrace u akutní celulární rejekce a PVAN prakticky nerozlišitelná [27]. Průkaz převahy CD20 pozitivních lym-

focytů (B-lymfocyty) v renální histologii může předpovídat BK infekci [3].

BKVN může být přítomna s různými histologickými nálezy a v různých stadiích. Byly proto definovány 3 histologické stupně BKVN: A, B a C (tab. 1). Tyto stupně velmi dobře korelují s hodnotami viremie [29].

Cytologie moči – „decoy cells“.

Všichni pacienti s BKVN vylučují v moči tzv. „decoy cells“. Detekce „decoy cells“ v moči má 100% senzitivu, ale pozitivní prediktivní hodnotu jen okolo 28–30% [26]. Přítomnost „decoy cells“ vypovídá o přítomnosti BKV v uroepitelu, nepotvrzuje ale BKVN [3]. Přestože i nález jedině „decoy cell“ prokazuje aktivaci polyomavirové infekce, je pro rozlišení decoy pozitivní/decoy negativní stanoveno množství 10 a více „decoy cells“ u tzv. liquid based cytology [19].

Elektronová mikroskopie moči.

Ustálenou metodou, pomocí které lze zjistit přítomnost volných virionů v moči, je elektronová mikroskopie s využitím negativního barvení. U BKVN je tato metoda používána jen zřídka a volné viriony bývají nacházeny u „decoy cells“ pozitivních příjemců transplantovaných ledvin [19].

Sérologie. Předchozí setkání s virem je možno prokázat jako přítomnost specifických IgG protilátek v oběhu. Detekci a stupeň zvýšení IgM lze využít jako diagnostický ukazatel u akutní BKVN. Jedinci s BKVN mají zvýšenou viremii a snížené specifické IgG, pacienti ve fázi rekonvalescence mají naopak vysoké specifické IgG [3].

PCR. Cenným nástrojem detekce BKV DNA v plazmě či moči je PCR (polymerázová řetězová reakce). Zjišťovaná viremie a virurie jsou údaje, které dobře korelují se stavem štěpu [26]. Přítomnost/nepřítomnost viru lze potvrdit pomocí standardního PCR. Pro dosažení vyšší senzitivity lze použít tzv. nested PCR. Informace, zda virus je, nebo není přítomen, není vždy dostačující, někdy je třeba znát i přesný počet jeho kopií, proto k detekci viru používáme i metody kvantitativního stanovení [19,20,30,31].

Stanovení počtu kopií virové DNA ve vzorku je založeno na principu metody Real-Time PCR. Real-Time Q-PCR, tedy kvantitativní PCR v reálném čase, je běžně využíváno k detekci míry genové exprese. Účelem je zjistit nebo alespoň odhadnout množství výchozího templátu ve vzorku, tj. specifické mRNA [26]. Poznatky, které položily základ k vývoji Real-Time Q-PCR, byly získány v letech 1991–1992, kdy Higuchi et al vytvořili systém, s jehož pomocí bylo možné zaznamenat produkty PCR bezprostředně po jejich vzniku, po každém jednotlivém cyklu PCR [32].

V roce 2000 Biel et al představili první Q Real-Time PCR assay pro detekci polyomaviru v moči. Za hraniční hodnotu DNA kopií BK viru v moči se dnes považuje 1×10^7 kopií/ml, v plazmě je to 1×10^4 kopií/ml moči. Pozitivní prediktivní hodnota tohoto stanovení pro vznik BKVN je 50% a negativní prediktivní hodnota dosahuje 100%. Objevují se tak případy pacientů, u kterých byl počet virových kopií nižší, než udává stanovená hranice, a kteří rozvinuli BKVN, stejně jako pacientů, kteří tuto hranici mnohonásobně překročili a BKVN nikdy nerozvinuli. Metody stanovení nejsou plně standardizované a každá laboratoř je zavádí sama, stejně jako metody izolace virové DNA.

Viremie i virurie jsou detekovány u velké části pacientů (30–40%) v 1. roce po transplantaci. U většiny z nich však nedochází k rozvoji BKVN (u 35–57% nemocných s BK virurií a 7–29% nemocných s BK viremii).

Alternativní formou detekce je amplifikace mRNA kapsidového proteinu VP1 z moči pacienta, ta reprezentuje aktivní formu replikace lépe než stanovení virové DNA. Z jedné takto provedené studie byly vypočteny pozitivní i negativní prediktivní hodnoty 90% [19].

Monitorace BK specifické celulární imunitní odpovědi. Předpovězaný průběh infekce je možné sledováním rovnováhy mezi virem a specifickou celulární imunitní odpovědí. Pomocí metod interferon- γ enzyme-linked

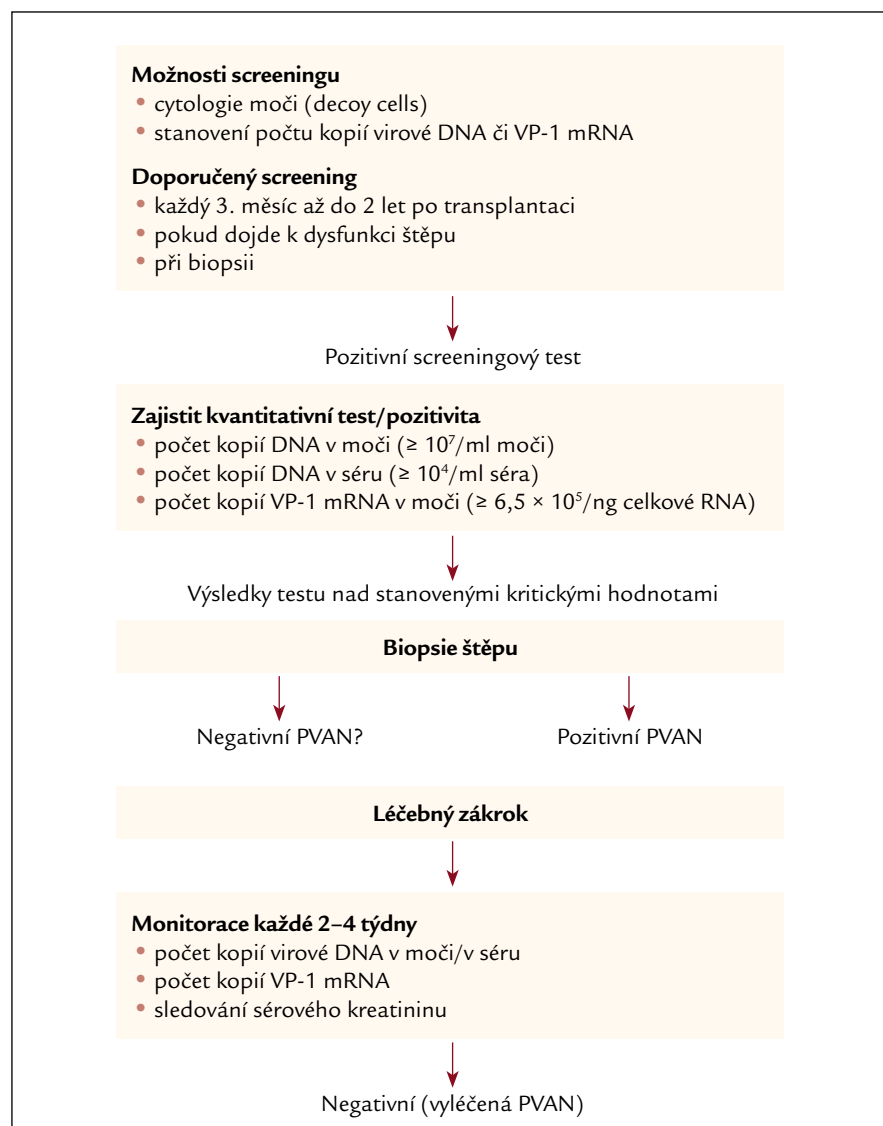


Schéma 1. Polyomavirová replikace: screening a monitorace. Podle [18].

immunosorbent spot (ELISPOT) nebo průtokové cytometrie lze sledovat přítomnost a aktivitu VP1 nebo LT specifických T buněk v periferní krvi. Obnovení specifické imunitní odpovědi proti LT-BKV významně koreluje s vymizením aktivní BKV infekce. Sledování specifické imunitní odpovědi se ukazuje jako možné vodítko pro zhodnocení účinnosti snížení imunosuprese [33,34].

Léčba

Za základní terapeutický krok pro zvládnutí BKVN se obecně považuje snížení imunosuprese. I přes redukci imunosuprese může replikace BKV přetrvávat v renálním štěpu a v konečném důsledku vést k dysfunkci štěpu, či

dokonce jeho ztrátě [12]. Pro pacienty, kteří jsou rok a déle po transplantaci ledviny a u kterých je malé riziko akutní rejekce, může být vhodným terapeutickým zásahem převedení z trojkombinační léčby na dvojkombinační [18]. Efekt snížení imunosuprese se dostaví za déle než 1–3 měsíce, což ale zvyšuje riziko vzniku pozdní akutní rejekce [30]. Jako první krok většina center používá změnu léčby takrolimem za cyklosporin A a redukcí dávek mykofenolát-mofetilu na polovinu. Nové terapeutické možnosti představují antivirová agens jako cidofovir, fluorochinolonová antibiotika a intravenózní podání imunoglobulinů [12,30,35].

Cidofovir, nukleotidový analog cytosinu, je registrován k léčbě CMV reti-

nitidy pacientů s AIDS a bývá úspěšně podáván ve velmi nízkých dávkách i u BKVN. Kontrolované studie ale nebyly provedeny [18].

K prevenci jeho nefrotoxických účinků se doporučuje podávat probenecid, blokující vstup cidofoviru do buňky, a rovněž zajistit vyšší hydrataci [18,35].

Leflunomid je registrován k léčbě revmatoidní artritidy jako tzv. chorobu modifikující lék a byl prokázán i jeho antivirový účinek in vitro. Jeho nejdůležitější účinky jsou připisovány aktivnímu metabolitu A 77 1726. Dosud největší studie, při které byl pacientům s BKVN podáván leflunomid při současném snížení imunosupresivní léčby, byly provedeny pouze u 17 a 12 pacientů. Ke zlepšení funkce štěpu došlo u 66,6%, k vymizení viremie u 42% [30].

Testováno bylo také podání **intra-venózních imunoglobulinů** (IVIG) v kombinaci se snížením imunosuprese. In vitro byla prokázána přítomnost protilátek proti BKV po podání IVIG, ta byla potvrzena i u několika pacientů, ale nevedla k prevenci vzniku PVAN a výsledky studií měly různé výstupy. Jednorocní výsledky spojené s vymizením BKV jen u 50% pacientů, zhoršenou funkcí štěpu u 7 z 8 pacientů a ztrátou štěpu u 12,5% nejsou uspokojující [35].

Replikaci BK in vitro inhibují i **fluorochinolonomá antibiotika**. U 7 z 10 pacientů došlo po podávání gatifloxacinu k signifikantnímu snížení viremie a virurie. Ciprofloxacin, další z fluorochinolonomých antibiotik, prokazatelně snížil BK virurii u pacientů po transplantaci hematopoetických kmenových buněk [35].

Pro přesnější evaluaci a popis účinku těchto léků jsou potřeba další randomizované studie s větším počtem pacientů a pokud možno s vyloučením současného snížení imunosupresivní léčby [35].

Screening

Vhodnější strategií, než je léčba již potvrzeného BKVN, je prevence jeho

rozvoje. Takovou prevencí je screening BKV infekce v počátečním stadiu. Zdá se, že nejvhodnějším prostředkem screeningu BKV infekce je monitorace hodnot BKV DNA nebo mRNA v moči a séru [28].

Retransplantace u pacientů po ztrátě štěpu na podkladě BKVN

U pacientů, u kterých došlo k selhání štěpu na podkladě BKVN, není retransplantace kontraindikována. Je známo, že k reaktivaci BKV dochází asi u 15% retransplantovaných.

Před retransplantací se doporučuje potvrdit absenci polyomavirové replikace, po retransplantaci zvýšit frekvenci screeningu virurie a viremie [8,28,36].

Závěr

Infekce polyoma BK viru představuje vzácnou, nicméně významnou komplikaci transplantací ledvin. V současné době známe postupy, jak její nepříznivý prognostický význam omezit. Patří mezi ně především prospektivní monitorace virové replikace a včasná redukce imunosupresivní terapie. Je možno předpokládat, že BK polyomavirus není posledním z „nových“ patogenů, se kterými se u imunokompromitovaných pacientů setkáme.

Literatura

- Gardner SD, Field AM, Coleman DV et al. New human papovavirus (B.K.) isolated from urine after renal transplantation. *Lancet* 1971; 1: 1253–1257.
- Markowitz RB, Dynan WS. Binding of cellular proteins to the regulatory region of BK virus DNA. *J Virol* 1988; 62: 3388–3398.
- Hariharan S. BK virus nephritis after renal transplantation. *Kidney Int* 2006; 69: 655–662.
- Randhawa P, Brennan DC. BK virus infection in transplant recipients: an overview and update. *Am J Transplant* 2006; 6: 2000–2005.
- Gardner SD, MacKenzie EF, Smith C et al. Prospective study of the human polyomaviruses BK and JC and cytomegalovirus in renal transplant recipients. *J Clin Pathol* 1984; 37: 578–586.
- Ramos E, Vincenti F, Lu WX et al. Retransplantation in patients with graft loss caused by polyoma virus nephropathy. *Transplantation* 2004; 77: 131–133.

- Allander T, Andreasson K, Gupta S et al. Identification of a third human polyomavirus. *J Virol* 2007; 81: 4130–4136.
- Herman J, Van Ranst M, Snoeck R et al. Polyomavirus infection in pediatric renal transplant recipients: evaluation using a quantitative real-time PCR technique. *Pediatr Transplant* 2004; 8: 485–492.
- Howley PM, Khoury G, Byrne JC et al. Physical map of the BK virus genome. *J Virol* 1975; 16: 959–973.
- Ramos E, Drachenberg CB, Papadimitriou JC et al. Clinical course of polyoma virus nephropathy in 67 renal transplant patients. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 2145–2151.
- Hirsch HH. BK virus: opportunity makes a pathogen. *Clin Infect Dis* 2005; 41: 354–360.
- Dugan AS, Eash S, Atwood WJ. Update on BK virus entry and intracellular trafficking. *Transpl Infect Dis* 2006; 8: 62–67.
- Moriyama T, Marquez JP, Wakatsuki T et al. Caveolar endocytosis is critical for BK virus infection of human renal proximal tubular epithelial cells. *J Virol* 2007; 81: 8552–8562.
- Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Wali R et al. BK polyoma virus allograft nephropathy: ultrastructural features from viral cell entry to lysis. *Am J Transplant* 2003; 3: 1383–1392.
- Eash S, Atwood WJ. Involvement of cytoskeletal components in BK virus infectious entry. *J Virol* 2005; 79: 11734–11741.
- Dolei A, Pietropaolo V, Gomes E et al. Polyomavirus persistence in lymphocytes: prevalence in lymphocytes from blood donors and healthy personnel of a blood transfusion centre. *J Gen Virol* 2000; 81: 1967–1973.
- Griffin MD KH, Larson TS et al. Influence of recipient age and donor gender on polyomavirus-associated nephropathy rate in recent kidney transplant recipients. *Abstract WTC 06L1868*, 2006.
- Hirsch HH, Brennan DC, Drachenberg CB et al. Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: interdisciplinary analyses and recommendations. *Transplantation* 2005; 79: 1277–1286.
- Nickeleit V, Mihatsch MJ. Polyomavirus nephropathy in native kidneys and renal allografts: an update on an escalating threat. *Transpl Int* 2006; 19: 960–973.
- Bohl DL, Storch GA, Ryschkewitsch C et al. Donor origin of BK virus in renal transplantation and role of HLA C7 in susceptibility to sustained BK viremia. *Am J Transplant* 2005; 5: 2213–2221.
- Vasudev B, Hariharan S, Hussain SA et al. BK virus nephritis: risk factors, timing, and outcome in renal transplant recipients. *Kidney Int* 2005; 68: 1834–1839.

22. Brennan DC, Agha I, Bohl DL et al. Incidence of BK with tacrolimus versus cyclosporine and impact of preemptive immunosuppression reduction. *Am J Transplant* 2005; 5: 582–594.
23. Hirsch HH, Knowles W, Dickenmann M et al. Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal-transplant recipients. *N Engl J Med* 2002; 347: 488–496.
24. Park SB, Kwak JH, Lee KT et al. Polyoma virus-associated nephropathy and concurrent cytomegalovirus infection in the kidney transplant recipients. *Transplant Proc* 2006; 38: 2059–2061.
25. Comoli P, Binggeli S, Ginevri F et al. Polyomavirus-associated nephropathy: update on BK virus-specific immunity. *Transpl Infect Dis* 2006; 8: 86–94.
26. Schwartz SE, Twining LM. BK virus infection in kidney transplantation: a case for early intervention. *Prog Transplant* 2006; 16: 133–137.
27. Drachenberg CB, Papadimitriou JC. Polyomavirus-associated nephropathy: update in diagnosis. *Transpl Infect Dis* 2006; 8: 68–75.
28. Ramos E, Hirsch HH. Polyomavirus-associated nephropathy: updates on a persisting challenge. *Transpl Infect Dis* 2006; 8: 59–61.
29. Hirsch HH, DC, Ramos E et al. BK viremia level strongly correlates with the extent/pattern of viral nephropathy. Abstract WTC06L 1168, 2006.
30. Faguer S, Hirsch HH, Kamar N et al. Leflunomide treatment for polyomavirus BK-associated nephropathy after kidney transplantation. *Transpl Int* 2007; 20: 962–969.
31. Haškovec C. Kvantitativní reverzně transkriptázová PCR. Manuál ke kurzu RT-PCR. Duben 2003.
32. Higuchi R, Fockler C, Dollinger G et al. Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reactions. *Biotechnology (N Y)* 1993; 11: 1026–1030.
33. Prosser SE, Orentas RJ, Jurgens L et al. Recovery of BK virus large T-antigen-specific cellular immune response correlates with resolution of bk virus nephritis. *Transplantation* 2008; 85: 185–192.
34. Binggeli S, Egli A, Dickenmann M et al. BKV replication and cellular immune responses in renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2006; 6: 2218–2220.
35. Trofe J, Hirsch HH, Ramos E. Polyomavirus-associated nephropathy: update of clinical management in kidney transplant patients. *Transpl Infect Dis* 2006; 8: 76–85.
36. Mindlova M, Boucek P, Saudek F et al. Kidney retransplantation following graft loss to polyoma virus-associated nephropathy: an effective treatment option in simultaneous pancreas and kidney transplant recipients. *Transpl Int* 2007; 21: 353–356.

Mgr. Eva Novotná

www.ikem.cz

e-mail: eva.novotna@ikem.cz

Doručeno do redakce: 3. 3. 2008

Přijato po recenzi: 6. 4. 2008

Oznámení schůzí

Slavnostní seminář Endokrinologického ústavu k 20. výročí založení obezitologické jednotky Endokrinologického ústavu

Seminář se koná 21. listopadu 2008 ve 13.00 hod v posluchárně kláštera Římské unie sv. Voršily, Národní tř. 8, Praha 1.

Program:

- V. Hainer:* K čemu přispělo založení obezitologické jednotky před 20 lety?
- V. Štich:* Vliv hypokalorické diety na metabolické a endokrinní charakteristiky tukové tkáně
- R. Braunerová:* Prevalence obezity v České republice
- P. Hlavatý:* Úloha n-3 mastných kyselin v redukčním režimu
- H. Zamrazilová:* Eating Inventory a kardiometabolická rizika
- M. Wagenknecht:* Jak se daří psychologii na obezitologii?
- M. Kunešová:* Závěr – současný stav a perspektivy