

**Název: Borna disease virus (BDV), detekce cirkulujících imunokomplexů (CIC)
v séru pacientů s psychickými poruchami**

Obsah

Teoretická část

1. Úvod

- 1.1. Infekční onemocnění a psychické poruchy
- 1.2. Zoonózy a psychické poruchy

2. Borna disease Virus (BDV) - jeho vliv na vznik a průběh psychických poruch

3. Historie bornavirové infekce

4. Charakteristika Borna disease viru

- 4.1. Kmeny BDV
- 4.2. Fyzikální a chemické vlastnosti BDV
- 4.3. Genom BDV a jeho organizace
- 4.4. Rozpoznání viru hostitelskou buňkou a reprodukční cyklus BDV
- 4.5. Šíření BDV v CNS a organismu
- 4.6. Imunitní odpověď u infekce BDV

5. Výskyt a šíření bornavirové infekce u zvířat

- 5.1. Geografické rozložení výskytu BDV
- 5.2. Výskyt a průkaz BDV u zvířat

6. Průběh BDV infekce

- 6.1. Průběh bornavirové infekce u zvířat
- 6.2. Průběh bornavirové infekce u lidí

7. Způsoby přenosu bornavirové infekce, šíření bornavirové infekce v centrální nervové soustavě

8. Mechanismus působení Borna disease viru v centrální nervové soustavě

9. Výskyt infekce BDV v centrální nervové soustavě, viro-psycho-imunologický model

10. Stanovení pozitivivity BDV u lidí

11. Výskyt BDV infekce u psychiatrických pacientů

11.1. Faktory ovlivňující míru positivity BDV

11.2. Laboratorní průkaz BDV infekce, popis používaných laboratorních metod

12. Výskyt infekce BDV u lidí, výskyt infekce BDV u pacientů s psychickými poruchami

12.1. Sérologické studie sledující pozitivitu infekce BDV u pacientů s psychickými a neurologickými poruchami, detekce BDV Ab

12.2. Detekce BDV antigenů a BDV RNA v periferní krvi (v mononukleárech) u pacientů s neuropsychiatrickými onemocněními

12.3. Detekce BDV Ag a CIC v séru

12.4. Detekce anti-BDV protilátek, BDV antigenů a BDV RNA v mozkomíšním moku

12.5. Detekce BDV antigenů a BDV RNA v lidské mozkové tkáni

13. Pozitivita BDV infekce u pacientů se závislostí na psychoaktivních látkách

13.1. Abusus psychoaktivních látek a změny v imunitním systému

13.2. Pozitivita BDV infekce u pacientů se závislostí na psychoaktivních látkách

14. Profylaxe a terapie bornavirové infekce

14.1. Historie terapie bornavirové infekce

14.2. Využití amantadin-sulfátu v terapii bornavirové infekce

14.3. Charakteristika amantadinu, amantadin v terapii BDV infekce u pacientů s psychickými poruchami

15. Souhrn teoretické části

Praktická část

1. Úvod a cíl práce

2. Detekce BDV CIC (cirkulujících imunokomplexů) v séru pacientů s afektivními a psychotickými poruchami – pilotní studie

- Úvod
- Hypotéza
- Výběr souboru (vstupní a výstupní kritéria)
- Metodika, Statistické metody
- Výsledky
- Závěr

3. Detekce BDV CIC (cirkulujících imunokomplexů) v séru pacientů s afektivními a psychotickými poruchami

- Úvod
- Hypotéza
- Výběr souboru (vstupní a výstupní kritéria)
- Metodika, Statistické metody
- Výsledky
- Závěr

4. Detekce BDV CIC (cirkulujících imunokomplexů) v séru pacientů se závislostí na psychoaktivních látkách

- Úvod
- Hypotéza
- Výběr souboru (vstupní a výstupní kritéria)
- Metodika, Statistické metody
- Výsledky
- Závěr

5. Diskuze a závěr

6. Význam práce pro další klinickou praxi

7. Poděkování

8. Literatura

9. Použité přílohy (obrázky 3, 4 a 5, anamnestické dotazníky, psychiatrické škály)

1. Úvod

Práce vznikla za podpory a spolupráce prof. Hanse Ludwiga z Free University v Berlíně a Dr. Liv Bode z Institutu Roberta Kocha v Berlíně, Německo, kde se výzkumem Borna disease viru (BDV) dlouhodobě zabývají. Laboratorní část (vyšetření vzorků na pozitivitu BDV infekce u pacientů z našich souborů) provedla RNDr. Hana Kabíčková, Klinlab s.r.o., Ústřední vojenská nemocnice v Praze.

Studie, která vyšetřovala BDV pozitivitu u psychiatrických pacientů v České republice, započala v roce 2001 v rámci epidemiologické studie. Původně se mělo vyšetřování positivity BDV infekce zúčastnit více psychiatrických zařízení, k čemuž nakonec nedošlo. Jedná se o jedinou ucelenou práci týkající se této problematiky u psychiatrické populace v České republice.

1.1. Infekční onemocnění a psychické poruchy

Etiologie psychických poruch je multifaktoriální, jedná se o velmi heterogenní skupinu onemocnění. Určitou roli hrají genetické faktory, výchovné působení, působení stresu, užívání psychoaktivních látek aj. Změny provázející psychické poruchy jsou vysvětlovány změnami v neurotransmitterových systémech.

Infekční onemocnění mohou ovlivňovat psychický stav nemocného. Jednak se může jednat o změny psychického stavu jako následek celkového působení infekce, např. změny afektivity, deliria u septických stavů. V druhém případě infekční agens přímo ovlivňuje centrální nervovou soustavu a následně se rozvíjí změny psychického stavu, např. změny při meningoencefalitidách či encefalitidách.

1.2. Zoonózy a psychické poruchy

Zoonózy jsou infekční onemocnění přenositelná ze zvířete na člověka. Mezi zoonózy, u kterých je popisována souvislost s psychickými poruchami patří toxoplazmóza (způsobená prvokem *Toxoplasma gondii*), borelióza (způsobená spirochetou *Borrelia burgdorferi*) a onemocnění způsobené Borna disease virem (BDV). Všechna výše uvedená infekční agens po nějaké době od nákazy postihují centrální nervovou soustavu (CNS).

Lymeská borelióza: Pokročilejší stádia lymeské boreliózy jsou charakterizována psychickými a neurologickými příznaky zejména v pozdních stádiích infekčního onemocnění. Řada studií popisuje vyšší výskyt protilátek (Ab) proti borreliím v séru psychiatrických pacientů ve srovnání se zdravými jedinci. Kazuistiky

popisují zlepšení nebo úplnou úpravu psychického stavu po přeléčení antibiotiky (Hájek a kol. 2002, Pašková a Hájek 2001). V České republice se problematikou borreliové infekce a psychických poruch zabýval MUDr. Hájek z Psychiatrického centra Praha a prof. MUDr. Libiger z Psychiatrické kliniky v Hradci Králové.

Toxoplazmóza: Jedná se o infekční onemocnění postihující velkou část populace. Pro přenos nákazy je rozhodujícím článkem kočka. Pokud dojde k nákaze v průběhu gravidity, může dojít buď k těžkému poškození, předčasnému porodu nebo úmrtí plodu. V dospělém věku je toxoplazmóza spojena s psychickými příznaky. V řadě studií je popisována vyšší pozitivita toxoplazmových protilátek u schizofreniků ve srovnání se zdravými jedinci a je spojována s větším kognitivním postižením (Alvarado-Esquirol a kol. 2006, Holub a kol. 2006). Problematikou toxoplazmové infekce u schizofrenie se v České republice zabývá MUDr. David Holub ve spolupráci s Psychiatrickým centrem v Praze.

2. Borna disease Virus (BDV) - jeho vliv na vznik a průběh psychických poruch

3. Historie bornavirové infekce

Zájem o infekci Borna disease virem (BDV) se objevuje ve vlnách, toto onemocnění je známé zejména z veterinární medicíny. V posledních letech opět narůstá zájem o výzkum Borna disease viru u onemocnění, které je tímto virovým agens způsobováno u zvířat a lidí. Je to jedna z nejdéle dokumentovaných virových infekcí postihujících domácí zvířata, zejména koně a ostatní teplokrevné živočichy včetně člověka.

První zmínky o tomto onemocnění se objevily v Německu, postupně je bornavirová infekce popisována i v ostatních státech Evropy a nyní je výzkum tohoto onemocnění celosvětový (Durrwald a Ludwig 1997, Ludwig a Bode 2000).

Nejstarší zpráva popisující bornavirovou infekci se objevila v roce 1660, kdy byly popsány změny chování u koní. První popis klinických příznaků (kdy se pravděpodobně jednalo o onemocnění způsobené Borna virem) se datuje do roku 1767, kdy Johann Baptist von Sind popisuje ve své knize „Der im Feld und auf der Reise geschwind heilende Pferdeartz“ onemocnění koní postihující jejich mozek. Ve stejné době se objevují obdobné zmínky i ve veterinární literatuře o koních (Durrwald a Ludwig 1997, Ludwig a Bode 2000).

Další zmínky se objevují v 18. století (1716), kdy byla vydána kniha popisující infekční onemocnění hospodářských zvířat, která trpěla bolestmi hlavy, melancholií, ospalostí a agitovaností. V průběhu 18. století se objevuje větší množství zpráv týkajících se zánětlivého onemocnění mozku, které postihovalo koně a ovce. Od počátku 20. století se dostává do popředí spíše ekonomický význam bornavirové infekce. Jsou popisovány epidemie této infekce postihující hospodářská zvířata a vojenské koně. Virus byl v roce 1970 pojmenován podle malého městečka Borna poblíž Lipska v Německu, v okolí kterého vypukla prudká epidemie tohoto virového onemocnění postihující hospodářská zvířata (byli tehdy postiženi zejména vojenští koně) (Durrwald a Ludwig 1997, Ludwig a Bode 2000).

V roce 1823 byla popsána epidemie infekce, která zahubila dvě třetiny koní v oblasti poblíž Stuttgartu. Další zmínky se objevují i v následujících letech. Výskyt onemocnění kolísal v souvislosti s ročním obdobím, nejvíce případů nakažených zvířat se objevovalo na jaře a intenzita choroby se v jednotlivých letech lišila. Někdy mělo onemocnění mírnější průběh a nakažená zvířata přežila (Durrwald a Ludwig 1997, Ludwig a Bode 2000).

Během let mělo bornavirové onemocnění řadu označení a názvů, jako encephalitis a myelitis enzootica equi, encephalomyelitis enzootica, meningitis cerebrospinalis enzootica, meningitis subacuta cerebrospinalis, polioencephalomyelitis non purulenta a mnoho dalších.

První spolehlivý popis této nemoci se objevil v roce 1879, kdy Dinter zmiňuje subakutní meningitidu u koní (Durrwald a Ludwig 1997, Ludwig a Bode 2000).

Na konci 19. století se rozšířily epidemie tohoto infekčního onemocnění v Německu: Sasko, oblast okolo Lipska, zejména okolí městečka Borna. V této době někteří veterináři ve svých zprávách začínají používat označení „Borna´sche Krankheit“ (Borna disease). V naprosté většině je však stále používáno jiné pojmenování, a to cerebrospinalmyelitis epidemica. Označení Borna disease bylo oficiálně přijato vědeckou veřejností až v druhé polovině 20. století (Durrwald a Ludwig 1997, Ludwig a Bode 2000).

První zprávy o výskytu onemocnění způsobeném bornavirovou infekcí u ovcí se objevily na konci 19. století. Hans Frohbose z Lipska poprvé úspěšně přenesl infekci z nemocných ovcí na králíky a morčata.

Od konce 19. století se vědci pokoušeli objevit původce tohoto onemocnění. Patologii bornavirové infekce podrobně propracovali na počátku 20. století němečtí

vědci - Hermann Dexler, Kurt Degen a Ernst Joest. Popsali intersticiální meningoencefalitidu a myelitidu u nemocných koní. V roce 1909 Joest a jeho žák Degen popsali dobře známá intranukleární tělíška (Joest-Degenova intranukleární tělíška) v neuronech hippokampu (Durrwald a Ludwig 1997, Ludwig a Bode 2000).

Ve 20. a 30. letech 20. století se otevírá nová oblast výzkumu bornavirové infekce kolem Wilhelma Zwicka. V této době byla poprvé úspěšně přenesena infekce z koní na králíky intracerebrální inokulací do mozku. Infekční agens bylo opakovaně pasážováno na králících a znovu úspěšně přeneseno na koně. Objevují první důkazy, že se jedná o infekční onemocnění a za původce onemocnění byl považován virus (Zwick, Siefried, 1925). V následujících letech byly izolovány a popsány jednotlivé virové kmeny (Durrwald a Ludwig 1997, Ludwig a Bode 2000).

První vrchol výzkumu bornavirové infekce se datuje do období 20.-30. let 20. století. Velký počet zpráv o této infekci se objevuje i v jiných (neněmeckých) evropských zemích. Paralelně s prací Zwicka a kol. prováděli experimenty s Borna virem Nicolau a Galloway ve Francii. Hlavní výzkum probíhal v té době v Německu, Velké Británii a Francii. Infekce byla úspěšně přenesena na krysy, morčata, králíky, kuřata a laboratorní myši. V roce 1927 Hahn a Ernst popsali u skotu ecefalitidu podobnou bornavirové infekci. Ve stejnou dobu prokázali přítomnost Borna Disease viru u vysoké zvěře. Zwick prokázal přítomnost Borna viru u skotu.

V léčbě bornavirové infekce se objevily pokusy o aktivní imunizaci. Byly použity jak mrtvé, tak i živé vakcíny získané ze suspenzí mozku nemocných zvířat (Durrwald a Ludwig 1997, Ludwig a Bode 2000).

Již ve 20.-30. letech 20. století se objevují první teoretická srovnání „bornanské“ nemoci a určitá podobnost s onemocněními u lidí (Seifried, Spatz, Pette, Kornyej).

Během 2. světové války celkově upadá výzkum BDV infekce, zájem se obnovuje až zase v 50. letech 20. století. V popředí je spíše ekonomický dopad tohoto onemocnění, protože vedlo k vysokým ztrátám hlavně koní, ale i ostatních hospodářských zvířat. V této době se začíná uvažovat i o možné perzistentní infekci centrální nervové soustavy (CNS). Je zjištěno, že přítomnost Borna viru v mozkové tkáni nemusí nezbytně vést ke vzniku onemocnění.

Úspěšně byla přenesena infekce na kočky a kozy v 60. letech 20. století (Ihlenbug) (Durrwald a Ludwig 1997, Ludwig a Bode 2000).

V 50. a 60. letech 20. století se výzkum soustřeďuje do Německa, ale celkově dochází k poklesu výskytu BDV onemocnění ve zvířecí populaci, což zčásti vedlo ke

snížení vědeckého zájmu. V roce 1954 byl poprvé izolován virový antigen, který byl do konce 60. let používán jako marker infekce a s jeho pomocí mohla být infekce i monitorována.

Od roku 1968 Ludwig a Paulsen začali užívat imunofluorescenční testy, což vedlo k rychlému rozvoji na poli diagnostiky a monitorace bornavirové infekce.

V 70. letech minulého století opět narůstá zájem virologů o toto infekční onemocnění. V této době se podařilo vypěstovat Borna disease virus na tkáňových kulturách *in vitro* (Ludwig, Danner, Mayer, Becht) (Durrwald a Ludwig 1997, Ludwig a Bode 2000).

Řada experimentálně nakažených zvířat touto infekcí nezemřela, proto byly popsány i jiné formy průběhu tohoto onemocnění. Tento základní výzkum vedl k myšlence, že bornavirová infekce může vést ke změnám v chování živočichů a dále může způsobovat i kognitivní dysfunkce, což bylo i později potvrzeno experimenty na savcích – tanách obecných.

V roce 1977 Ludwig a Thein popsali přítomnost oligoklonálních protilátek v séru přirozeně infikovaných koní. Tyto prokázané protilátky byly podobné protilátkám detekovaným v séru pacientů s roztroušenou sklerózou a sklerózující panencefalitidou. Byla prokázána přítomnost IgG protilátek v mozkomíšním moku.

V roce 1976 byly poprvé detekovány protilátky proti Borna disease viru u člověka. Jednalo se o pacienta trpícího epilepsií a psychickou poruchou (v té době šlo o nepublikovaná data, Ludwig tento náález zveřejnil o několik let později). O 10 let později, v roce 1985, publikoval Rott a kol. práce o přítomnosti specifických protilátek proti BDV u pacientů s psychickými poruchami (Durrwald a Ludwig 1997, Ludwig a Bode 2000, Rott a kol. 1985).

Na počátku 80. let 20. století se výzkum zaměřil na oblast patogeneze a imunopatogeneze této infekční choroby. Objevují se první zmínky o možné souvislosti obezity a virové infekce.

Na konci 80. let minulého století byly prováděny rozsáhlé sérologické studie, jak u zvířat, tak i u pacientů s psychiatrickými diagnózami, u lidí nakažených HIV virem, u pacientů s roztroušenou sklerózou a u pacientů s chronickými parazitárními krevními onemocněními. Nižší výskyt infekce Borna disease virem byl prokázán i u zdravých jedinců (Durrwald a Ludwig 1997, Ludwig a Bode 2000).

RNA tohoto viru byla izolována a podrobně popsána (nesegmentovaná, jednořetězcová s negativní polaritou) v 90. letech 20. století (Lipkin). Dalším

výzkumem bylo zjištěno, že struktura RNA je velmi podobná RNA zástupců řádu Mononegavirales. Tento řád zahrnuje např. marburgský virus, virus vztekliny, spalniček, psinky a další viry s nesegmentovanou RNA s negativní polaritou z čeledi Filoviridae, Rhabdoviridae a Paramyxoviridae (Durrwald a Ludwig 1997, Ludwig a Bode 2000).

Výsledky výzkumů z 80. a 90. let uvádějí, že bornavirová infekce je celosvětově rozšířená.

Od 80. let postupně narůstá počet důkazů svědčící pro přítomnost této infekce v lidské populaci. Byla prokázána vyšší pozitivita antivirových protilátek u psychiatrických pacientů. Dále byla prokázána přítomnost virových antigenů a nukleové kyseliny v séru pacientů s manickou poruchou. Byl izolován Borna virus ze séra pacientů trpících depresivními poruchami (122 Bode a kol. 1996). Tyto nálezy vedly k úvahám o možné souvislosti mezi bornavirovou infekcí a afektivními poruchami. Další výzkum probíhal ve Spojených státech a Japonsku (Durrwald a Ludwig 1997, Ludwig a Bode 2000).

V 80. letech 20. století byla prokázána pozitivita antivirových protilátek v séru, mozkové tkáni a v mozkomíšním moku u pacientů s neuropsychiatrickými poruchami a u zdravých jedinců (Ludwig a kol. 1988, Amsterdam a kol. 1985). Jsou publikovány zprávy, které předpokládají, že Borna virus může způsobovat persistentní infekci centrální nervové soustavy, což bylo demonstrováno na experimentálně nakažených zvířatech. Je popisována vysoká afinita BDV k limbickému systému (Durrwald a Ludwig 1997, Ludwig a Bode 2000, Ludwig a Bode 1997).

V 90. letech 20. století byla podrobně popsána struktura viru. Byla izolována a popsána RNA viru ve Spojených státech amerických (Lipkin 1994). Virus byl zařazen do nově vytvořené čeledi, která byla nazvána Bornaviridae, řádu Mononegavirales. Toto označení bylo oficiálně přijato vědeckou veřejností v roce 1996 na Mezinárodním virologickém kongrese v Jeruzalémě (Durrwald a Ludwig 1997, Ludwig a Bode 2000).

Zájem o výzkum tohoto viru přetrvává až do současnosti. Výzkum je nyní již celosvětový vzhledem k celosvětovému rozšíření této infekce. Jedná se o infekční agens, které způsobuje onemocnění řady teplokrevných živočichů. Předpokládá se určitý vliv BDV na etiologii a průběh neuropsychiatrických onemocnění (Durrwald a Ludwig 1997, Ludwig a Bode 2000).

26.1. 2008 se konalo první mezinárodní sympozium v Berlíně věnované výhradně infekci Borna disease virem jak u zvířat, tak i u lidí (přehled historie studia BDV viz tabulka 1.).

Tabulka 1. Historie studia bornavirové infekce

Období (rok, století)	Charakteristika
1660	Nejstarší psaná zpráva popisující onemocnění a změny chování u koní
1716	Vydána kniha popisující výskyt infekčního onemocnění u hospodářských zvířat
1767	První popis klinických příznaků (onemocnění koní postihující mozek)
1823	Popis velké epidemie postihující koně v okolí Stuttgartu
1879	První spolehlivý popis infekčního onemocnění (subakutní meningitida postihující koně)
1909	Popis přítomnosti intranukleárních tělísek v neuronech hippocampu (Joest, Degen)
20.-30. léta 20. století	Zjištění původce onemocnění, izolace a popsání virových kmenů (Zwick, Siefried, Nicolau, Galloway)
50.-60. léta 20. století	Izolace virového antigenu, užití positivity antigenu jako markeru infekce
70. léta 20. století	Kultivace Borna disease viru <i>in vivo</i> (Ludwig, Danner)
1976	První detekce antivirových protilátek u člověka (Ludwig)
80. léta 20. století	Detekce antivirových protilátek u zvířat i lidí (Ludwig)
1985	Detekce specifických protilátek v séru pacientů s psychickými poruchami (Rott a kol.)
90. léta 20. století	Popis struktury viru, izolace a popis virové RNA (Lipkin)
1996	Oficiální přijetí nové čeledi virů a její pojmenování na Mezinárodním virologickém kongrese v Jeruzalémě (Bornaviridae)
2008	1. mezinárodní BDV sympozium, Berlín

4. Charakteristika BDV

Borna disease virus (BDV) patří do skupiny obalených RNA virů. Jádro tohoto viru obsahuje nesegmentovanou ribonukleovou kyselinu (RNA) s negativní polaritou.

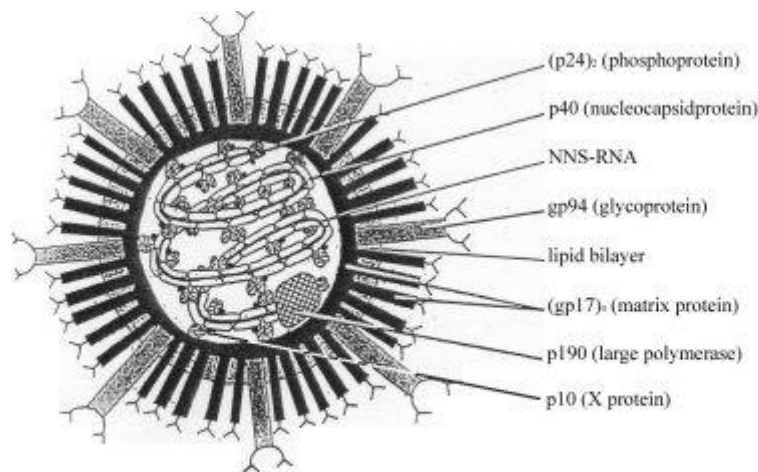
BDV je jediný zástupce nově vytvořené čeledi Bornaviridae. Struktura genomu tohoto viru je velmi podobná zástupcům patřícím do řádu Mononegavirales. Do tohoto řádu patří další čeledi jako Rhabdoviridae, Paramyxoviridae a Filoviridae. Tyto viry

jsou původci řady onemocnění lidí a zvířat, jedná se o viry způsobující např. vzteklinu, spalničky, psinku.

BDV je jediný zástupce čeledi Bornaviridae, od ostatních zástupců řádu se liší schopností replikace a transkripce svého genomu v jádru nakažené buňky. BDV je jediný RNA virus způsobující onemocnění zvířat a lidí s touto vlastností (podrobnější schéma BDV viz obrázek 1) (de la Torre a kol. 1994, Briese a kol. 1992).

BDV je původce onemocnění teplokrevných živočichů (savců (včetně člověka) a ptáků). Může způsobovat akutní, subakutní a chronickou formu infekce (Durrwald a kol. 1997, Ludwig a Bode 2000, Dietrich a kol. 1998, Solbrig a kol. 2003).

Obrázek 1. Borna disease virus a jeho složení



p24 (fosfoproteid P) - fosfoprotein

p40 (nukleoprotein N) - nukleoprotein

NNS RNA - nesegmentovaná jednovláknová RNA s negativní polaritou

gp94 (glycoprotein) - membránový glykoprotein

gp18 (matrix protein)

p190 (large polymerase) - polymeráza (transkriptáza) nezbytná k vytvoření doplňkového vlákna RNA s pozitivní polaritou

p10 (X protein)

4.1. Kmeny BDV

Kmeny BDV způsobují onemocnění zvířat i lidí. Virové kmeny používané v laboratorních podmínkách mají téměř identickou strukturu (přibližně v 94%). Původně byly izolovány dva odlišné virové kmeny: kmen V a Hessen-80. Virový kmen V byl izolován Zwickem a jeho spolupracovníky, dále byl tento kmen pasážován přes laboratorní zvířata (králíky a krysy a dále tkáňové kultury). Zatímco druhý virový kmen Hessen-80 (kmen He-80) má poněkud nejasnou historii. Pravděpodobně se tento kmen

liši pasážováním (počtem, méně pasážován na králících a více na krysách a tkáňových kulturách). I přes rozdílný původ, rozdílnou kultivaci tyto dva virové kmeny mají stejnou organizaci genomu a překvapivě úzký genetický vztah (mají shodnou strukturu RNA více než v 95%) (Ludwig a Bode 2000, Schwemmler a kol. 1999, Hornig a kol. 2003, Binz a kol. 1994).

V 90. letech 20. století se objevuje tvrzení, kdy je detekování BDV vysvětlováno možnou laboratorní kontaminací. Tuto teorii podporovaly některé práce popisující velmi podobnou strukturu kmenů užívaných v laboratořích (Staehele a Schwemmler 2000, Planz a kol. 2000, Schwemmler a kol. 1999). V posledních letech však toto zpochybnění nebylo prokázáno a potvrzeno.

V roce 1996 byla publikována práce japonských autorů, kteří vyšetřovali RNA BDV viru u lidí a u koní, byla prokázána vysoká podobnost (shoda). Byl vysloven předpoklad o spojení BDV infekce u lidí a zvířat (Kishi a kol. 1996).

Velikost virových částic se pohybuje mezi 50 až 90 nm; tyto virové částice byly izolovány z tkáňových kultur a představují infekční jednotku (Ludwig a Bode 2000).

4.2. Fyzikální a chemické vlastnosti BDV

Infekčnost BDV je poškozena *in vitro* zvýšenou teplotou, a to při teplotě 56 stupňů působící po 3 dny nebo teplotou 37 °C a působící po dobu 5 dní. Dále dochází k vymizení infekčnosti při změnách pH (při pH pod 5,0 a nad 12,0). BDV může být zničen působením organických rozpouštědel, detergenty a ultrafialovým zářením. K rychlému snížení infekčnosti může dojít dezinfekčními prostředky obsahujícími chlór nebo formaldehyd (Ludwig a Bode 2000).

4.3. Genom BDV a jeho organizace

Borna disease virus obsahuje genom o velikosti 8,9 kb; můžeme ho rozdělit na tři základní genové struktury (části); první část (transkripční jednotka) kóduje pouze jeden nukleoprotein p40 (N). Druhá část kóduje protein X p10 a fosfoprotein p24 (P). Třetí jednotka kóduje matrix protein gp18 (M), membránový glykoprotein gp94 (G) (obal viru) a virovou polymerázu (large polymerase p190 L). Genom tohoto viru je tvořen RNA s negativní polaritou o molekulární hmotnosti 3×10^6 Da (de la Torre a kol. 1994).

4.4. Rozpoznání viru hostitelskou buňkou a reprodukční cyklus BDV:

Borna disease virus obsahuje povrchový glykoprotein (GP) p56 o molekulové hmotnosti 56 kDa. Glykosylací se GP p56 mění na polypeptid gp84 o molekulové hmotnosti 84 kDa. Dalším procesem, na kterém se podílí buněčná polymeráza, vzniká polypeptid gp43, který je identický s terminální částí polypeptidu gp84. Oba polypeptidy - gp43 a gp84 - hrají důležitou roli v procesu rozpoznání viru a jeho navázání na receptor hostitelské buňky. Rozpoznání a navázání je nezbytné pro vstup viru do buňky. Jedná se o endocytózu (Perez a kol. 2001). Tato fáze, při které virus prostupuje buněčnou membránu a dostává se do hostitelské buňky, se nazývá penetrace viru. Uvnitř buňky se virus vyskytuje ve fagocytární vakuole (fagosomu), zde se působením enzymů postupně zbaví svých povrchových struktur, tzv. fáze svlékání virionu. Po této fázi zůstává obnažená virová nukleová kyselina, která proniká do cytoplazmy a dále do jádra hostitelské buňky (Přecechtěl a Votava 1995). Borna disease virus se replikuje v jádrech hostitelských buněk, čímž se odlišuje od ostatních zástupců řádu Mononegavirales. Jinak je replikace BDV velmi podobná replikačnímu cyklu ostatních zástupců z řádu Mononegavirales. (Jordan a Lipkin 2001, Pyper a kol. 1998, Cubitt a kol. 1994, Duchala a kol. 1989).

Jádro Borna viru obsahuje jednovláknovou RNA s negativní polaritou, k níž je komplemetární mRNA. Nukleová kyselina je jednak nositelem genetické informace pro tvorbu sebe samé a ostatních virových makromolekul a jednak je nositelem infekčnosti, tj. schopnosti vyjádřit tuto informaci v hostitelské buňce.

Během dalších fází reprodukčního cyklu viru dochází k vytvoření doplňkového vlákna RNA s kladnou polaritou (mRNA). Tato syntéza probíhá za pomoci vlastní virové RNA polymerázy (transkriptázy) (Přecechtěl a Votava 1995, Perez a kol. 2003, Briese a kol. 1992, de la Torre a kol. 1994).

4.5. Šíření BDV v CNS a organismu

Šíření bornavirové infekce v centrální nervové soustavě bylo poměrně přesně popsáno na experimentálních zvířecích modelech. K vytvoření těchto modelů se nejčastěji využívají krysy, méně často ptáci a primáti.

BDV se v raných fázích infekce při intranasální infekci šíří dál axonální a transsynaptickou cestou (antero- nebo retrográdně) směrem k CNS. Typy neurotransmiterových receptorů a interakce virových proteinů s nimi moduluje šíření infekce. BDV je neurotropní virus s vysokou afinitou k limbickému systému. Při

intranasální inokulaci jsou jako první postiženy BDV infekcí olfaktorické struktury, limbický systém včetně hippocampu. Později jsou infekcí zasaženy další mozkové struktury - hypothalamus a thalamus, dále se BDV šíří do neokortexu, mozečku (cerebelárních jader), Purkyňových buněk a sítnice. V pozdních stádiích BDV infekce dochází k šíření BDV i mimo CNS, kdy je nejprve postižena periferní nervová tkáň a poté se BDV rozšiřuje i do ostatních tkání a orgánů.

Šíření BDV je ovlivněno místem vstupu infekce, druhem nakaženého jedince a stavem jeho imunitního systému. Při dobře funkční imunitní odpovědi organismu se BDV infekce většinou lokalizuje pouze na CNS (Gonzales-Dunia a kol. 1997, 2000, Gosztonyi a Ludwig 1995, Bode a Ludwig 2000, Taieb a kol. 2001, Carbone a kol. 1987, Gosztoniy a kol. 1984). V experimentech na zvířatech byly rozdíly v šíření BDV a stavu imunity prokázány. U kryš s normálně funkčním imunitním systémem došlo k rozšíření virové infekce pouze do centrální, periferní a autonomní nervové soustavy na rozdíl od kryš s nedostatečně funkční imunitou, kde došlo k rozšíření BDV infekce i do ostatních orgánů mimo nervovou soustavu. Vytvořené neutralizační protilátky mají pravděpodobně vliv na omezení či spíše zabraňují šíření BDV infekce mimo nervovou soustavu, ale nemají vliv na šíření v neuronálních tkáních (Stitz a kol. 1998). Byla popsána přítomnost BDV RNA v ostatních orgánech, nejen v centrální nervové soustavě a periferní krvi. 12 měsíců po experimentální nákaze BDV infekcí u kryš byla RNA viru detekována v srdeční, ledvinné, jaterní, plicní tkáni a v močovém měchýři (Enbergs a kol. 2001).

Jako první při vstupu BDV infekce do CNS jsou postiženy neurony a v menší míře astrocyty (Ovanesov a kol. 2008).

Infekce BDV často vede ke vzniku perzistentní infekce centrální nervové soustavy. V experimentech na laboratorních zvířatech bylo zjištěno, že perzistentní BDV infekce vede k destrukci synaptických spojů a k redukci počtu kortikálních neuronů (Gonzales-Dunia a kol. 2000, Morales a kol. 1988).

Borna disease virus je možné detekovat v mozkové tkáni a mozkomíšním moku již třetí den po nákaze zvířete tímto virem intracerebrální nebo intranasální cestou.

4.6. Imunitní odpověď u infekce Borna disease virem

Po nákaze BDV infekcí následuje inkubační období, které se pohybuje v rozmezí od několika málo týdnů až do několika měsíců, většinou se pohybuje v rozmezí 2-3 měsíců. Toto období může být zkráceno na 4-8 týdnů u experimentálně

nakažených zvířat, pokud se jedná o intracerebrální inokulaci. Po inkubačním období, které je klinicky němé, dochází k rozvoji onemocnění s klinickými příznaky. Délka virového onemocnění s klinickými příznaky je běžně popisována mezi 1-3 týdny (Rischt a kol. 2000, Furrer a kol. 2001).

V akutní fázi BDV infekce je rozhodující buněčná imunita. Buněčná imunita je zprostředkována T-lymfocyty typu CD8+, které jsou zodpovědné za destrukci virem infikovaných mozkových buněk. Po infekci lze detekovat lymfocytární infiltraci v mozkové kůře a hipokampu, která je způsobena lymfocyty CD8+ , CD4+ a makrofágy. Akutní fáze infekce je provázena klinickým obrazem s neurologickou symptomatikou, pod obrazem akutní encefalitidy. V chování nakažených jedinců se projevuje jednak neurologickou symptomatikou, jednak stavy neklidu a excitace.

Lymfocyty typu CD4+ (tzv. Pomahači, helpers) podporují tvorbu antivirových protilátek (Furrer a kol. 2001, Stitz a kol. 1993, Ludwig a kol. 1993).

V akutní fázi onemocnění se vytvářejí protilátky proti nukleoproteinu (p40) a fosfoproteidu (p24). Tyto protilátky nemají neutralizující funkci a je možné je detekovat již po 2. týdnu infekce.

V chronické fázi onemocnění se vytvářejí neutralizující protilátky proti glykosylovaným proteinům: proteinu matrix (gp18) a glykoproteinu gp94. V mozku nakažených zvířat a v plazmatických buňkách v periferii se objevují cca 30 dní od infekce.

U experimentálně infikovaných krys je možné detekovat BDV RNA v periferní krvi 30. až 50. den po nákaze, neutralizující protilátky se objevují mezi 60. až 100. dnem. Detekce neutralizujících protilátek a další výzkum by mohly vést k vytvoření vakcíny. Ačkoli protilátky neprocházejí hematoencefalickou bariérou (HEB), jejich výskyt v periferii je zajištěn T-lymfocyty, které HEB mohou prostupovat (Furrer a kol. 2001). Chronická fáze BDV infekce je charakterizovaná rozdílným klinickým obrazem od akutní fáze. V této fázi se u nakažených jedinců rozvíjí spíše apatie, somnolence, poruchy kognitivní funkcí (poruchy paměti, soustředění, postiženo je učení se novým věcem).

Po imunizaci laboratorních zvířat podáním virových glykoproteinů nebo nukleoproteinem lze získat monoklonální protilátky. Některé z takto získaných protilátek mohou mít neutralizační charakter. Pokud byly neutralizační protilátky u experimentálních zvířat podány profylakticky, tzn. před nákazou BDV, pak během sledovaného období (28 dní) nedošlo k rozvoji BDV infekce (Furrer a kol. 2001).

Tvorba protilátek závisí na imunitním stavu infikovaného jedince, protilátky proti BDV hrají důležitou roli v omezení šíření BDV infekce v organismu a i v následné eliminaci infekce (Furrer a kol. 2001).

Pokud byl u laboratorních zvířat odstraněn brzlík (thymus) a nedošlo k rozvinutí buněčné imunity, BDV infekce se po organismu šířila, ale zvířata byla bez klinických příznaků BDV infekce (Herzog a kol. 1985).

5. Výskyt a šíření infekce u zvířat

5.1. Geografické rozložení výskytu BDV

BDV infekce je rozšířena celosvětově. Původně se jednalo o infekční onemocnění postihující koně, ale v následujících letech byla tato virová infekce prokázána i u ostatních zvířat (například ovce, skot, psi, kočky, pštrosi...). Vždy se jednalo o průkaz bornavirové infekce u teplokrevných živočichů, do současnosti neexistují žádná data, která by prokazovala přítomnost Borna disease viru u jiných živočišných druhů kromě teplokrevných živočichů (tzn. savců včetně člověka a ptáků).

Geografické rozložení výskytu BDV infekce je dosud neznámé. Výskyt přirozené BDV infekce je uváděn pouze ve střední Evropě, Severní Americe, v některých částech Asie (Japonsko, Izrael...). Nicméně se předpokládá celosvětové rozšíření tohoto virového onemocnění. Je pravděpodobné, že v řadě regionů, kde výskyt tohoto onemocnění není popisován, nejsou používány dostatečně citlivé (event. vhodné) laboratorní metody nezbytné k průkazu přítomnosti Borna disease viru. Dalším důvodem je častý asymptomatický průběh BDV infekce (Hatalski a kol. 1997, Carbone 2001, Taieb a kol. 2001, Durrwald a kol. 1997, Ludwig a Bode 1997, 2000).

5.2. Výskyt a průkaz Borna disease viru u zvířat

Jako přírodní rezervoár BDV infekce jsou považována hospodářská, domácí zvířata a divoce žijící živočichové (Ludwig a Bode 2000), z volně žijících hlavně ptáci. Ve Švédsku byla prokázána pozitivita BDV Ag p24 a p40 v trusu divokých kachen a kavek. Jedná se o první průkaz positivity BDV u divoce žijících ptáků (Berg a kol. 2001).

Studie prováděné na koních a ovcích zpočátku předpokládaly vysokou mortalitu u tohoto onemocnění, postupem času byly tyto předpoklady dalšími sledováními vyloučeny. Bylo prokázáno, že většina živočichů může mít asymptomatickou formu

BDV infekce, kdy se jedná o perzistentní infekci bez klinické manifestace. V literatuře se objevují studie týkající se v naprosté většině hospodářských zvířat, vzhledem k vysokému ekonomickému významu tohoto onemocnění (Bode a Ludwig 2000).

Koně a ovce: Nejvyšší výskyt přirozené infekce je popisován u koní a ovcí. Endemický výskyt BDV infekce u koní se týká oblastí v Evropě, zejména střední (Německo, Rakousko, Francie, Itálie) (Bode a Ludwig 2000, Galabru a kol. 2000, Pisoni a kol. 2007), výjimkou je výskyt v Izraeli (Teplitsky a kol. 2003). Objevují se i zmínky o výskytu BDV infekce ve Švýcarsku a Lichenštejnsku (Caplazi a kol. 1999), ale i v USA (Richt a kol. 2000).

Studie prováděné v Německu a Francii ukazovaly pozitivitu BDV u koní v rozmezí od 20% do 50%. Retrospektivně prováděná studie v Německu v letech mezi 1977-1990 prokázala pozitivitu Ab v séru u koní ve 41%, v 61% v mozkomíšním moku (Grabner a kol. 1991).

Kao a kol. v roce 1993 publikovali výsledky studie, ve které prokázali přítomnost Ab v séru a v mozkomíšním moku koní. Jednalo se o první průkaz přítomnosti BDV u koní v USA (Kao a kol. 1993).

Ve Švédsku byla popsána pozitivita BDV Ab v séru u jezdeckých koní ve 24,5% u klinicky zdravých a 57,7% u zvířat s neurologickou symptomatickou. Pozitivita BDV RNA byla detekována ve 28,6% (Berg a kol. 1999).

Další studie byla prováděna v Číně, kde prokázali přítomnost Ab ve 20% u vyšetřených koní a ve 25% u vyšetřených ovcí. Pozitivita Ab nebyla detekována u skotu (Hagiwara a kol. 2001).

V roce 2003 byla v Izraeli publikovaná studie prokazující pozitivitu BDV Ab ve 23% u koní a zvažující možné spojení vyšší positivity v souvislosti na migraci ptáků, které považovali za zdroj infekce (přenosu infekce) (Teplitsky a kol. 2003).

Ovce: Infekce u ovcí byla popisována ve shodných lokalitách jako u koní, výjimkou je vysoká pozitivita v 50% v Japonsku. Klinický průběh infekce u ovcí bývá mírnější ve srovnání s koňmi (Bode a Ludwig 2000).

Skot: Méně často se BDV infekce vyskytuje u skotu, nebyl popsán endemický výskyt. Caplazi a kol. v roce 1994 publikovali práci popisující pozitivitu BDV infekce u skotu. Jednalo se o první průkaz této virové infekce u skotu (Caplazi a kol. 1994). Watanabe a kol. v roce 2006 popsali první pozitivní průkaz BDV protilátek u skotu v Japonsku (Watanabe a kol. 2006).

Kočky: BDV poměrně často postihuje kočky, první výskyt infekce byl popsán v roce 1974. Řada studií u nich potvrzuje pozitivitu BDV infekce. Ve Švédsku v roce 1993 vyšetřili 24 koček s neurologickou symptomatikou, ve 44% byla prokázána pozitivita BDV Ab, v Německu bylo vyšetřeno 173 kočičích sér s pozitivitou protilátek proti BDV v 7%, 24 koček s nespecifickými neurologickými příznaky mělo pozitivní nález ve 13% (Lundgren a kol. 1993).

Ve Velké Británii také prokázali pozitivitu BDV v mozkové tkáni koček s neurologickými symptomy (Reeves a kol. 1998).

Berg a kol. 1998 ve Švédsku popsali pozitivitu bornavirové infekce a několik forem průběhu tohoto virového onemocnění u koček (Berg a kol. 1998).

Psi: Ojediněle byla infekce popsána i u psů. Zpočátku se jednalo o experimentální nákazu, později byly popsány u případy přirozené infekce, poprvé v roce 1994 ve Švédsku. Weissenbock a kol. popsali pozitivitu BDV infekce u psa, který zemřel na nehnisavou meningoencefalitidu (Weissenbock a kol. 1998).

Ostatní savci: V dalších studiích prováděných ve Francii byla detekována BDV RNA v mozkové tkáni a v periferní krvi u řady savců (koně, lišky a skot). Jednalo se o první detekce BDV ve Francii (Dauphin a kol. 2001).

Ptáci: Z ptáků se objevují zmínky o přirozené infekci u pštrosů, první popis je z roku 1993, kdy byla popsána pozitivita bornavirové infekce na pštrosí farmě. Někteří ptáci byli postiženi klinickou formou onemocnění s neurologickými příznaky (zejména se jednalo o paraparetické postižení a vyšší mortalitu mladých jedinců) (Weisman a kol. 1994).

Ve Švédsku byla prokázána pozitivita BDV Ag p24 a p40 v trusu divokých kachen a kavek (Berg a kol. 2001).

Pravděpodobně významným rezervoárem této zoonózy jsou i volně žijící živočichové (jeleni, srnci, ptáci...), ale u těchto živočichů chybějí rozsáhlejší studie.

Velký význam, nejen ekonomický, má pro člověka pozitivita u domácích a hospodářských zvířat vzhledem k blízkému soužití s lidmi a možnému přenosu virové infekce.

Experimentálně byla BDV infekce přenesena na králíky, krysy, kuřata a opice (primáti).

Dalším přirozeným hostitelem tohoto viru je i člověk. Přehled studií a nálezů BDV infekce u zvířat viz tabulka 2.

Tabulka 2. Příklady studií prokazující pozitivitu bornavirové infekce u zvířat

Autor, rok	Země	Živočišný druh	Průkaz pozitivity (Ag, Ab, RNA...)	Pozitivita
Grabner a kol. 1977-1990	Německo	Koně	Ab v séru Ab v mozkomíš. Moku	41% 61%
Kao a kol. 1993	USA	Koně	Ab v séru Ab v mokomíš. Moku	Pozitivní nález
Lundgren a kol. 1993	Švédsko	Kočky s neurolog. příznaky	Ab v séru	44%
Bode a kol. 1993	Německo	Kočky Kočky s neurolog. př.		7% 13%
Weismann a kol. 1993		pštrosi	Ab v séru	Pozitivní nález
Weissenbock a kol. 1994	Švédsko	Pes	První průkaz pozitivity BDV infekce	
Caplazi a kol. 1994	Švýcarsko	Skot	První průkaz pozitivity BDV infekce	
Berg a kol. 1998	Švédsko	Kočky		Pozitivní nález, popsán atyp. obraz
Reeves a kol. 1998	Velká Británie	Kočky	Ab	Pozitivní nález
Berg a kol. 1999	Švédsko	Koně	Ab, RNA	24-57%
Khan a kol. 2000	Bangladéš	Koně	Ab	23%
Hagiwara a kol. 2001	Čína	Koně Ovce Skot	Ab, Ag	20% 25% 0%
Berg a kol. 2001	Švédsko	Kachny, kavky	Ag	Pozitivní nález
Dauphin a kol. 2001	Francie	Koně, lišky, skot	RNA	Pozitivní nález
Teplitsky a kol. 2003	Izrael	Koně	Ab	23%
Watanabe a kol. 2006	Japonsko	Koně, psi, kočky	Ab	10,9%, 20,7%
Pisoni a kol. 2007	Itálie	Koně	Ag, Ab, CIC	23,4%

6. Průběh bornavirové infekce

6.1. Průběh bornavirové infekce u zvířat

Průběh BDV infekce je dobře popsán u zvířat. První zmínky o různých formách bornavirové infekce se objevují již v 17. století. Infekce Borna disease virem může probíhat akutně, subakutně, chronicky a asymptomaticky. Toto onemocnění u zvířat může mít několik forem průběhu, což záleží na věku nakaženého zvířete, jeho celkové odolnosti vůči infekci (na stavu jeho imunitního systému). Na formě průběhu může podílet i druh zvířete, masivnost infekce, místo vstupu BDV do organismu.

Po nákaze bornavirovou infekcí následuje inkubační období, které se pohybuje v rozmezí od několika málo týdnů až do několika měsíců. Inkubační doba bornavirové infekce se většinou pohybuje v rozmezí 2-3 měsíců. Toto období může být zkráceno na 4-8 týdnů u experimentálně nakažených zvířat, pokud se jedná o intracerebrální inokulaci. Po inkubačním období, které je klinicky němé, dochází k rozvoji onemocnění s klinickými příznaky. Délka virového onemocnění s klinickými příznaky je běžně popisována mezi 1-3 týdny. Mortalita bornavirové infekce (encefalomyelitidy) je u jednotlivých druhů živočichů různá. U koní je uváděna mortalita mezi 60-95% a u ovcí více než 50%. U zvířat, která přežijí klinicky manifestovanou formu bornavirové infekce, je popisováno trvalé reziduální neurologické postižení.

Na vzniku klinických příznaků nemá vliv pouze samotný Borna disease virus, ale symptomatika je způsobena i imunitní odpovědí infikovaného hostitele. Hlavní roli zde hraje imunitní reakce způsobená T-buňkami (zejména typy CD4+ a CD8+). U experimentálně nakažených laboratorních zvířat byla i popsána atrofie mozku, která vedla ke vzniku demence (Stitz a kol. 1993, Durrwald a kol. 1997, Ludwig a Bode 2000, Ludwig a Bode 1997).

Formy průběhu bornavirové infekce

Průběh BDV infekce je možné rozdělit podle dvou základních kritérií: podle klinického obrazu (asymptomatická, s neurologickými příznaky, s poruchami nálady a chování, letální) a podle rychlosti průběhu infekce (akutní, subakutní, chronická).

1. **Asymptomatická forma:** nejčastější forma BDV infekce, kdy u nakaženého jedince chybí klinické příznaky infekčního onemocnění. Jedná se o perzistentní

infekci, tzn. že BDV přežívá v buňkách nakaženého jedince, kde dochází k replikaci viru. Nedochozí k poškození a zániku infikované buňky. Virus a hostitelská buňka jsou v určité rovnováze. Pozitivita infekce Borna disease virem je prokazatelná pouze laboratorně.

2. **Forma s neurologickými příznaky:** Průběh je charakterizovaný neurologickou symptomatikou. Experimentálně byly popsány rozdíly mezi místem výskytu a replikace Borna disease viru mezi asymptomatickou formou a formou s neurologickými příznaky. U experimentálně nakažených zvířat byl prokázán vyšší výskyt a intenzivnější replikace viru zejména v Purkyňových buňkách mozečku. U zvířat s asymptomatickým průběhem onemocnění, kde byla zjištěna přítomnost viru zejména v kortexu a hippocampu (Watanabe a kol. 2001). Klinicky se projevuje různými způsoby postižení nervového systému jak centrální tak i periferní nervové soustavy. Je popisován výskyt svalových křečí, svalových fascikulací, bolestí hlavy, poruchy chůze, rovnováhy, obtížné polykání, tortikolis, změny kožní citlivosti ve smyslu hyperstézie a hypostézie a řada dalších (Ludwig a Bode 2000, Katz a kol. 1998).
3. **Forma s poruchami nálady a chování:** U zvířat se tato forma projevuje zvýšenou aktivitou až agitovaností, agresivitou nebo naopak skleslostí, ospalostí, apatií, sociálním stažením (tento stav je možné přirovnat depresi). Objevují se změny chuti k jídlu s následnými změnami hmotnosti. Je popisováno abnormní jídelní chování (např. u koní požívání stravy pro kočky). U některých zvířat jsou popisovány i změny v oblasti sexuální. Řada studií popisuje i poruchy kognitivních funkcí (změny ve schopnosti se učit novým věcem) (Ludwig a Bode 2000, Salvatore a kol. 1997, Bode a kol. 1994, Dietrich a kol. 2000, Hornig a kol. 2003, Berg a kol. 1999, Richt a Rott 2001, Dittrich a kol. 1989, Narayan a kol. 1983, Hirano a kol. 1983). U experimentálně nakažených zvířat jsou popisovány změny v oblasti sociálního chování (Lancaster a kol. 2007).
4. **Letální forma:** Nejméně častá forma bornavirové infekce je letální. Nakažený jedinec umírá na komplikace nehnisavé encefalomyelitidy (Ludwig a Bode 2000, Salvatore a kol. 1997, Bode a kol. 1994, Solbrig a kol. 2003, Dietrich a

kol. 2000, Hornig a kol. 2003, Berg a kol. 1999, Richt a Rott 2001, Narayan a kol. 1983). Přehled průběhových forem BDV infekce viz tabulka 3.

Tabulka 3. Průběh bornavirové infekce u zvířat

Forma průběhu BDV infekce	Charakteristika, klinické příznaky
Asymptomatická forma	Průběh bez přítomnosti klinických příznaků, možný pouze laboratorní průkaz přítomnosti infekce (nejčastější forma)
Forma s neurologickými příznaky	Neurologické příznaky (poruchy rovnováhy, chůze, křeče, poruchy polykání, bolesti hlavy...)
Forma s poruchami nálady a chování	Změny nálady v oblasti nálady a chování, poruchy kognitivních funkcí
Letální forma	Letální průběh onemocnění způsobený nehnisavou encefalomyelitidou)

Druhou možností popisu průběhu BDV infekce je dělení podle „rychlosti“ průběhu infekce na akutní, subakutní a chronický.

1. **Akutní průběh:** Onemocnění probíhá pod obrazem nehnisavé encefalomyelitidy s horečkami, s výrazným zhoršením somatického stavu postiženého jedince. Často je přítomna neurologická symptomatika. Virové onemocnění má často smrtelný průběh.
2. **Subakutní průběh:** V klinickém obraze dominuje neurologické postižení a změny v chování. Tato forma může mít smrtelný průběh, ale v podstatně menší míře než forma akutní.
3. **Chronický průběh:** Je charakterizovaný dlouhodobějšími změnami nálady, chování, objevuje se i postižení kognitivních funkcí. Tato forma může trvat s určitými výkyvy léta, v naprosté většině se nejedná o smrtelné onemocnění (Ludwig a Bode 2000, Solbrig a kol. 2003). Přehled forem průběhu BDV infekce viz tabulka 4.

Tabulka 4. Formy průběhu bornavirové infekce

Forma průběhu	Charakteristika průběhu
Akutní	Nehnisavá encefalomyelitida s alterací celkového stavu a s neurologickou symptomatikou, často letální
Subakutní	Neurologická symptomatika, poruchy chování, méně často letální
Chronická	Poruchy nálady, chování a kognitivních funkcí trvající léta, výkyvy v průběhu, vzácně letální

6.2. Průběh bornavirové infekce u lidí

Výzkum BDV infekce a jejích souvislosti je dlouhodobý. Existuje řada studií, které se touto problematikou zabývají. Větší část publikovaných prací je však věnována virologickému výzkumu, výsledkům z experimentů na zvířatech. Do současnosti chybí jasný průkaz souvislosti BDV a psychických poruch a chybí průkaz příčinné souvislosti. Chybí odpověď na otázku, zda je první infekce BDV a až následně se rozvíjí psychické onemocnění anebo vlivem psychické poruchy dojde k nákaze nebo aktivaci BDV infekce.

BDV infekce patří do skupiny tzv. zoonóz. Zoonózu lze definovat jako infekční (v tomto případě virové) onemocnění přenesené z obratlovce na člověka.

U lidí jsou popsány dvě formy průběhu BDV infekce, a to forma asymptomatická a forma s poruchami nálady a chování.

Za nejčastější formu BDV infekce je asymptomatický průběh onemocnění, tzn. přítomnost BDV je možné prokázat pouze laboratorní cestou, ale nejsou přítomné klinické příznaky. Jedná se o tzv. perzistentní infekci.

Jako druhá forma průběhu bornavirové infekce je předpokládána forma s poruchami chování a nálady. V tomto případě je BDV infekce spojována s psychickými poruchami. Pravděpodobně se jedná o subklinickou BDV encefalitidu, která může být v některých případech spouštěcím faktorem části psychických poruch. BDV infekce může ovlivňovat vznik a modulovat průběh psychických poruch. Lze předpokládat, že BDV by mohl mít roli tzv. spouštěče psychických poruch u vulnerabilních jedinců.

Perzistentní BDV infekce je spojována s rekurentním průběhem psychiatrických onemocnění (Rybakowski a kol. 2001). U lidí nebyla popsána forma s neurologickými

příznaky a letální forma tohoto onemocnění (Ludwig a Bode 2000). Průběh BDV infekce u lidí viz tabulka 5.

Tabulka 5. Průběh bornavirové infekce u lidí

Forma průběhu BDV infekce	Charakteristika, klinické příznaky
Asymptomatická forma	Průběh bez přítomnosti klinických příznaků, laboratorní průkaz přítomnosti infekce
Forma s poruchami nálady a chování	Vliv na vznik a průběh psychických poruch
Forma s neurologickými příznaky	Nebyla u lidí popsána
Letální forma	Nebyla u lidí popsána

7. Způsoby přenosu bornavirové infekce, šíření bornavirové infekce v centrální nervové soustavě

Přenos BDV infekce

Přenos BDV je možný přímý a nepřímý.

Přímý přenos je způsoben kontaktem s nakaženým jedincem (savcem, ptákem nebo člověkem). Přenos virové nákazy je možný slinami, nosními nebo spojivkovými sekrety anebo mlékem nakaženého jedince.

Nepřímý přenos je zprostředkován kontaminovanou potravou a vodou.

Vstupní bránou virové infekce je nejčastěji nosní sliznice, jako další místo vstupu je uváděn gastrointestinální trakt.

Za přirozený rezervoár bornavirové infekce považujeme zejména hlodavce, volně žijící ptáky, domácí a hospodářská zvířata, a to zejména s asymptomatickou formou tohoto onemocnění (Taieb a kol. 2001).

Způsoby přenosu BDV infekce

1. **Mezizvířecí přenos:** Je velmi častý. Je způsoben buď přímo kontaktem s infekčními sekrety nebo nepřímo kontaminovanou potravou a vodou.
2. **Přenos ze zvířete na člověka:** Pro tuto formu přenosu svědčí výsledky studií popisující vyšší pozitivitu bornavirové infekce (antivirových protilátek a virových antigenů) u lidí pracujících na pštroší farmě. U pštrošů byl prokázán vysoký výskyt BDV infekce projevující se neurologickými příznaky a vyšší mortalitou nakažených jedinců. Lidé s pozitivním nálezem byli bez klinických příznaků virového onemocnění. Pozitivita BDV pracovníků, kteří

byli v častém styku s infikovanými pštrosy byla zjištěna ve 46% ve srovnání s pozitivitou v 10% u neexponovaných jedinců. Jako kontrolní soubor byli vyšetřeni dobrovolní dárci krve (Weisman a kol. 1994). Některé studie tuto formu přenosu naopak nepodporují. Khan a kol. v roce 2000 publikovali práci prokazující pozitivitu anti-BDV protilátek ve 23% u koní, ale u pracovníků, kteří se o tato zvířata starali, nebyla pozitivita prokázána (Khan a kol. 2000).

3. **Mezilidský přenos.** Jedná se o stejný mechanismus jako u ostatních teplokrevných živočichů. Pro tuto formu přenosu svědčí výsledky studií popisující vyšší pozitivitu bornavirové infekce u rodinných příslušníků psychiatrických pacientů s pozitivním nálezem. Byla prokázána vyšší pozitivita BDV u zdravotnického personálu pracujícího v psychiatrických zařízeních (Chen a kol 1999).
4. **Vertikální přenos:** Byl popsán u zvířat. Objevily se práce, které popsaly vertikální přenos u koní a laboratorních myší. V Japonsku studie potvrdila vertikální přenos bornavirové infekce u laboratorních myší. Borna disease virem byly infikovány dospělé samice, infekce byla přenesena intraperitoneálně. 10. den těhotenství byla negativní vyšetření prokazující pozitivitu BDV antigenů, 14. den gestace byla již infekce laboratorně zjištěna. Sedmý den po narození byla u novorozených myší prokázána pozitivita BDV RNA v mozkové tkáni, dále byl pozitivní nález ve všech plodech a placentách (Okamoto a kol. 2003). Hagiwara a kol., 2000, v Japonsku popsali a publikovali první zprávu o možném vertikálním přenosu BDV infekce u koní. Jednalo se o březí klisnu, která byla utracena pro suspektní infekční onemocnění. V klinickém obraze dominovala zejména neurologická symptomatika - ataxie, paréza, snížení chuti k jídlu, horečky. V mozkové tkáni klisny i plodu byla prokázána přítomnost BDV RNA (Hagiwara a kol. 2000).
5. **Přenos krevní cestou:** Ojediněle se objevují i zmínky o možném přenosu BDV infekce krví. K této úvaze vedlo prokázání přítomnosti BDV RNA v periferní krvi u jedinců nakažených buď experimentálně nebo přirozenou cestou (Solbrig a kol. 2003, Vahlenkamp a kol. 2000).

6. **Sexuální přenos:** Přenos pohlavním stykem podporují výsledky italské studie, která prokázala vyšší pozitivitu BDV infekce u sexuálně aktivních klisen ve srovnání s neaktivními (pozitivita BDV ve 42% vs ve 13%) (Pisoni a kol. 2007). Způsoby přenosu BDV infekce viz tabulka 6.

Tabulka 6. Způsoby přenosu bornavirové infekce

Forma přenosu BDV infekce	Charakteristika přenosu
Přenos mezi zvířaty	Kontaktem s infekčními sekrety (sliny, nosní a spojivkový sekret, mateřské mléko), vstupní brána infekce nosní sliznice a zažívací trakt
Přenos ze zvířete na člověka	Kontaktem s infekčními sekrety (sliny, nosní a spojivkový sekret), vstupní brána infekce nosní sliznice a zažívací trakt
Mezilidský přenos	Kontaktem s infekčními sekrety (sliny, nosní a spojivkový sekret), vstupní brána infekce nosní sliznice a zažívací trakt
Vertikální přenos	Transplacentární přenos (koně, experimentálně nakažená laboratorní zvířata - myši)
Přenos krví	Zvažována možnost přenosu BDV infekce kontaktem s infikovanou krví
Sexuální přenos	Rozdíly v pozitivitě BDV u sexuálně aktivních a neaktivních klisen

8. Mechanismus působení BDV v centrální nervové soustavě, viro-psycho-imunologický model

BDV může velmi často vytvářet perzistentní formu infekce, která je charakterizována přežíváním viru ve specifických buňkách nakaženého jedince. Jsou popisovány tři typy perzistentní infekce: pomalá, chronická a latentní infekce. Během latentní infekce je obtížná detekce virové infekce. K její reaktivaci může dojít působením řady podnětů: superinfekcí jiným infekčním agens, působením psychického stresu, úrazem, vlivy, které vedou k imunosupresi infikovaného jedince (např. HIV, imunosupresivní léčba...) (Boldogh a kol. 1996).

Mechanismus působení BDV v CNS je popisován přímý a nepřímý.

Přímý mechanismus: BDV během šíření v CNS má vysokou afinitu k limbickému systému a virové antigeny (proteiny) přímo působí na receptory a tím ovlivňují neurotransmisi. Nelze zcela vyloučit i přímý vliv virových struktur na tyto systémy.

U laboratorních zvířat (krysy), která byla experimentálně nakažena bornavirovou infekcí, byly zjištěny abnormální hladiny neurotransmiterů včetně serotoninu a noradrenalinu, což vede k podpoření možnosti podílu bornavirové infekce na etiologii psychických poruch (Carbone a kol. 2001, Tomonaga a kol. 2001). Experimentálně je dále popisováno ovlivnění glutamátergních receptorů v hipokampu (Stitz a kol. 1998), působení na dopaminergní systém (snížení počtu D2 a D3 receptorů ve striatu) a další ovlivnění i serotonergního a noradrenergního systému (Solbrig a kol. 2003) a interference virových proteinů i s non-NMDA glutamátergními receptory (Gosztonyi a Ludwig 2001).

Ovlivnění dopaminergní neurotransmise v CNS a změny v ní podporují možné propojení (souvislost) mezi BDV infekcí a lidskými neuropsychiatrickými poruchami, které jsou spojeny s dysfunkcí dopaminergního systému (schizofrenie, závislosti na psychoaktivních látkách a extrapyramidové poruchy) (Solbrig 2010).

Nepřímý mechanismus: Rozvoj klinického obrazu BDV infekce odpovídá rozvoji zánětlivé reakce, tzn. že závisí na imunitní odpovědi (a stavu imunitního systému) infikovaného jedince. Dochází ke zvýšené produkci cytokinů a řady dalších zánětlivých působků. Vlivem rozvíjejícího se zánětu a reakce organismu na něj dochází k destrukci neuronů i glií a nepřímou cestou k dalšímu ovlivnění neurotransmitterových systémů (Dietrich a kol. 1998, Salvatore a kol. 1997, Lewis a kol. 1998).

V experimentálních podmínkách byla prokázána na počátku BDV infekce výrazná aktivace mikroglíí, která předcházela poškození a následně ztrátě neuronů v hippokampu. U takto nakažených zvířat vedlo poškození ke změnám v oblasti chování a v oblasti kognitivních funkcí (Ovanesov a kol. 2008).

V období latentní infekce BDV přežívá v astrocytech, ve kterých dochází ke změnám v glutamátergním transportu vlivem této infekce (zhoršení schopnosti zpětného vychytávání glutamátu) (Billaud a kol. 2000, Schneemann a kol. 1994, Volmer a kol. 2007, Carbone a kol. 1989).

V posledních letech se objevují teorie o třetím možném mechanismu působení BDV ve spojitosti s psychickými poruchami. Virové infekce mohou ovlivňovat lidský genom. Kolem 8% lidské genetické výbavy pochází z virů, kdy dochází k asimilaci virových sekvencí do lidského genomu. Po nákaze BDV dochází k integraci části viru do genomu mozkových buněk. Tyto změny nebývají dědičné, ale mohou vést k mutacím, které ovlivňují mozkové funkce a mohou přispívat k rozvoji psychických poruch (Feschotte 2010).

Mechanismus působení BDV v CNS viz tabulka 7.

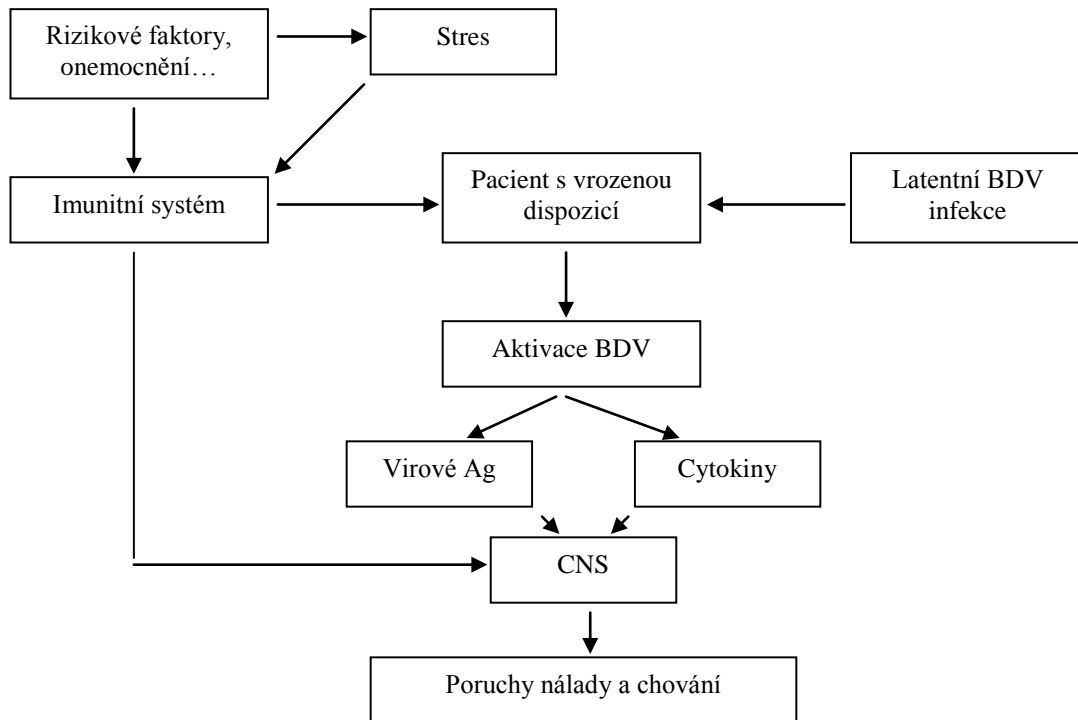
Tabulka 7. Mechanismus působení BDV v CNS

Mechanismus působení	Charakteristika
Přímý	Působení virových antigenů na receptory (glutamatergní, D2 a D3 receptory), serotonergní a noradrenergní systém
Nepřímý	Změny způsobené imunitní reakcí organismu a rozvojem zánětu v CNS
Ovlivnění genomu	Asimilace BDV sekvencí do genomu mozkových buněk, mutace, zvýšení rizika rozvoje psychických poruch

K propojení a vysvětlení BDV infekce a jejího vlivu na vznik a průběh psychických poruch je používán tzv. **viro-psycho-imunologický model** (viz obrázek 2) (Dietrich a kol. 1998).

Je předpokládána určitá genetická dispozice, která může způsobovat jak alteraci neuroendokrinních a humorálních funkcí, tak i dispozici k rozvoji psychické poruchy. Takto disponovaný jedinec s perzistentní (perzistující), latentní BDV infekcí CNS je vystaven působení stresu nebo dalším faktorům, které vedou ke změnám v imunitním systému. Dojde k aktivaci do té doby latentní formy BDV infekce a k přímému a nepřímému působení BDV na neurotransmitterové systémy CNS, což může vést k rozvoji nebo modulaci průběhu fáze psychického onemocnění s vyšší pravděpodobností než u jedinců bez průkazu BDV infekce. Dále je s BDV pozitivitou v některých studiích spojováno vyšší riziko delšího trvání fáze psychické poruchy a horší odpovědi na psychofarmakologickou léčbu. Perzistentní BDV infekce je také spojována s horší psychopatologií a s periodicitou psychických poruch. Na rozvoji ataky se podílejí změny způsobené BDV, vrozená dispozice a působení stresu (Dietrich a kol. 1998, Salvatore a kol. 1997). Studie prokazující vyšší prevalenci virových Ab u mladších pacientů podporuje teorii, že BDV funguje jako jakýsi iniciátor (spouštěč) psychické poruchy (Bechter a kol. 1992). Perzistenci BDV u lidí potvrzují práce prokazující pozitivitu BDV RNA v krvi i po řadě měsíců pro proběhlé atace psychické poruchy (Planz a kol. 1998). Výše uvedené imunitní změny mohou vést k aktivaci i ostatních infekčních onemocnění (Bode a kol. 2005).

Obrázek 2. Viro-psycho-imunologický model



10. Stanovení pozitivivity BDV u lidí

Průkaz přítomnosti BDV v organismu lze provádět z řady materiálů. Je možné stanovení z periferní krve, séra, mozkomíšního moku a mozkové tkáně. Je možné detekovat virové antigeny (Ag), cirkulující imunokomplexy (CIC), protilátky (Ab) a virovou RNA (Bode a kol. 2001, Bode a Ludwig 2003).

Existuje řada laboratorních metod, které jsou užívány ke stanovení pozitivivity BDV infekce. Metody mají různou výpovědní hodnotu, svá určitá omezení, specifitu, senzitivitu a samozřejmě i riziko falešné pozitivivity. Ke stanovení Ab a Ag v séru byla nejprve užívána imunofluorence (IFA, immunofluorescence assay), dále ELISA a Western blot (Bode a kol. 2001, Rott a kol. 1985). Průlom v diagnostice BDV infekce znamenal zavedení stanovení virových Ag a CIC v séru. Jejich pozitivita odpovídá fázi virémie (aktivované virové infekce) a je vyšší zejména v akutních fázích psychických poruch, a to i v případech, kdy byl negativní nález samotných protilátek (Bode a kol. 2001, Bode a Ludwig 2003).

Dále je možný průkaz virové RNA v séru a ostatních tkáních (CNS) pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR); pozitivita virové RNA však nemusí odpovídat

aktivní infekci. Zároveň negativní nález nemusí vylučovat přítomnost BDV infekce, při nízké replikaci viru může být detekce BDV RNA neúspěšná (Fukuda a kol. 2001, Mizutani a kol. 1998, Planz a kol. 1998, Salvatore a kol. 1997).

Průkaz samotných protilátek v séru odpovídá buď latentní formě nebo skutečnosti, že pozitivní jedinec se v minulosti s BDV setkal.

Průkaz virových Ag (antigenémie) odpovídá akutní fázi onemocnění, v tomto období ještě nejsou vytvořené protilátky. V další fázi dochází k tvorbě protilátek proti Ag, vazba Ab a Ag a vzniku CIC. V tomto období opět nemusíme v séru prokázat přítomnost Ab, protože jsou vázány v CIC.

V 80. letech 20. století studie používaly ke stanovení přítomnosti BDV Ab imunofluorescenční metody (immunofluorescence assay). Od roku 1993 se používají již přesnější sérologické metody (Western immunoblot assay) (Taieb 2001).

Bode a kol. vyšetřili séra psychiatrických pacientů a k detekci BDV infekce použili metodu ELISA. Stanovení Ab pomocí IFA prokázalo výrazně nižší pozitivitu než vyšetření stejných vzorků pomocí ELISA na přítomnost Ag a CIC (Bode a kol. 2001, Bode a Ludwig 2003).

11. Výskyt BDV infekce u psychiatrických pacientů

11.1. Faktory ovlivňující míru positivity BDV infekce

Prevalence BDV infekce se v publikovaných studiích pohybuje ve velmi širokém rozmezí, od nulového průkazu BDV až po výsledky, které uvádějí pozitivitu ve vysokém procentu (až 90-100%). Tyto výrazné rozdíly jsou vysvětleny řadou faktorů.

Laboratorní stanovení: Důležitou roli hraje užití laboratorní metody, i to, co je bráno jako pozitivní průkaz BDV (Ag, Ab, CIC nebo RNA) (viz. výše).

Charakteristiky souboru: Pozitivitu BDV ovlivňuje výběr souboru (výběr pacientů, diagnóz). Je prokazována výrazně vyšší pozitivita u pacientů v akutní fázi psychické poruchy ve srovnání s pacienty ambulantními (v remisi), celkově je prokazována vyšší pozitivita u afektivních poruch (depresivní poruchy a bipolární afektivní poruchy). Pozitivita a míra positivity BDV infekce koreluje s tíží psychopatologie psychického onemocnění. Např. pacienti s těžkou depresivní fází mají vyšší pozitivitu Ag a CIC než pacienti s mírnou fází. Jsou studie prokazující korelaci vyšší positivity (titrů) CIC a Ag při dlouhodobém průběhu psychické poruchy.

Dalším důležitým faktorem může být i věk vyšetřovaných pacientů. Některé studie prokazují vyšší výskyt BDV infekce u dětí a mladších jedinců, s věkem pozitivita BDV infekce klesala (Patti a kol. 2008, Scholbach a kol. 2008).

Lokalita: Je sice předpokládán celosvětový výskyt BDV, ale jsou oblasti s vyšším výskytem infekce (viz. období epidemií u zvířat) a oblasti, kde výskyt BDV nebyl prokázán. Vyšší výskyt BDV je popisován zejména ve střední Evropě (Bode a kol. 2001, Bode a Ludwig 2003).

Sezónní výskyt: Nelze zcela vyloučit i vliv období, kdy bylo vyšetření na BDV pozitivitu provedeno. U infekčních onemocnění bývá popisován sezónní výskyt (vyšší výskyt v jarních měsících s poklesem v dalších ročních období). Studie, které by tuto souvislost potvrzovaly, však v současnosti chybí.

Vzhledem k různorodosti studií nebylo do současnosti provést rozsáhlejší metaanalýzu týkající se positivity BDV infekce u lidí (Chalmers a kol. 2005).

11.2. Laboratorní průkaz BDV infekce, popis používaných laboratorních metod

Existuje několik možností průkazu bornavirové infekce. Patří k nim především:

1. **Izolace a průkaz cirkulujících imunokomplexů (CIC)**, CIC jsou precipitovány roztokem polyetylenglykolu v alkalickém borátovém pufru nebo izolovány afinitní chromatografií. Pak následuje separace pomocí elektroforézy v gradientovém polyakrylamidovém gelu s dodecylsulfátem sodným (SDS-PAGE) a průkaz BDV-specifických antigenů pomocí králičího hyperimunního séra.
2. **Molekulárně biologické metody** prokazují specifický úsek RNA BD viru. Nejběžnější je metoda polymerázové řetězové reakce po předchozí převedení RNA na DNA reverzní transkriptázou (RT-PCR). Jako primery jsou užívány části molekuly RNA viru, zodpovědné za tvorbu specifických antigenů p24 a p40. Po proběhnutí amplifikační reakce je příslušná sekvence prokazována po elektroforéze a obarvení ethidium bromidem, který se specificky váže na DNA.
3. **Průkaz cirkulujících imunokomplexů, BDV specifických antigenů či anti-BDV protilátek metodou ELISA.** Tento postup zvolila laboratoř Institutu Roberta Kocha v Berlíně a byl užit i pro vzorky krve našich pacientů. Jako biologický materiál je užíváno sérum či citrátová plazma. Pracoviště při vývoji ELISA metod k průkazu všech tří uvedených analytů vycházelo z následujících zásad:

- všechny tři testy užívají stejnou pevnou fázi, tj. mikrotitrační destičku;
- ve všech případech je aplikováno 100 µl séra či citrátové plazmy;
- užívá se stejný typ pufri;
- první dva kroky analýzy, tj. vazba protilátky proti myššímu IgG a následující vazba myší monoklonální protilátky proti BDV antigenům p40 a p24, jsou rovněž ve všech třech případech společné;
- konečně značka, vázaná na poslední přidaný imunoglobulin, je ve všech případech stejná – je jí enzym alkalická fosfatáza; stejná je tedy i detekce pomocí substrátu alkalické fosfatázy, *p*-nitrofenylfosfátu.

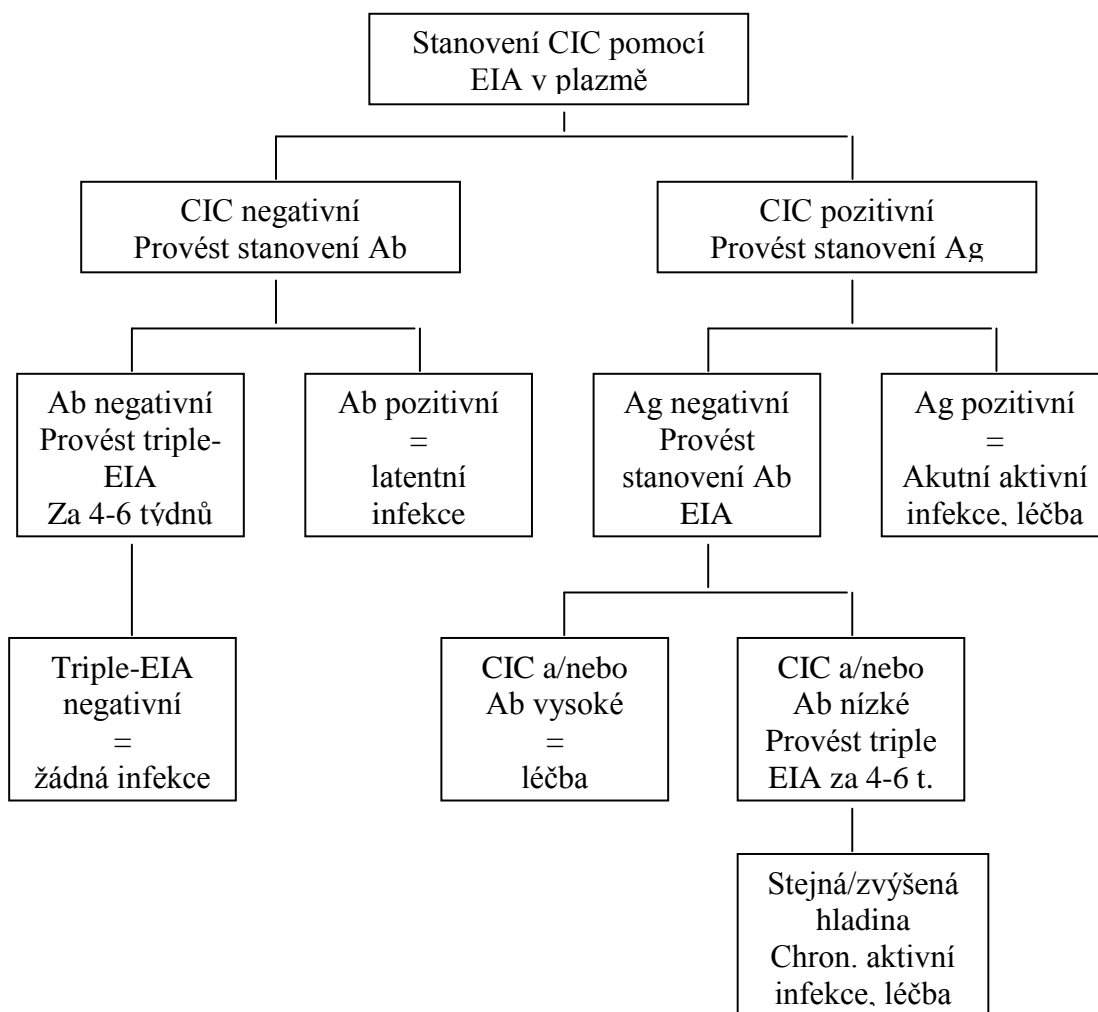
Principy detekce CIC, antigenů BDV i protilátek proti nim jsou schematicky znázorněny na obr. 3, 4 a 5 (viz přílohy BDV Ab, Ag a CIC).

Cílem laboratorní diagnostiky je několik následujících bodů a zodpovězení následujících otázek:

- Je pacient infikovaný BDV?
- Je BDV infekce aktivní?
- Jak je infekce intenzivní, silná (podle hladin Ag a CIC)?
- Je vhodná léčba virové infekce?

Obrázek 3. Diagnostika BDV infekce pomocí triple-EIA (Upraveno podle Bode a kol. 2005)

Tento diagram ukazuje diagnostiku BDV infekce v krvi pomocí EIA, jak monitorovat Ab, Ag a CIC, jak detekovat pozitivní jedince a další postupy, jak v diagnostice tak v další léčbě.



12. Výskyt infekce Borna disease virem u lidí, výskyt infekce Borna disease virem u pacientů s psychickými poruchami

K objevení a průkazu bornavirové infekce u lidí přispělo několik následujících bodů. Za úplný počátek bychom mohli počítat experimentální nákazu primátů. Další výzkumná zjištění se týkala již přímo detekce bornavirové infekce u lidí (Carbone a kol. 2001).

Infekce Borna disease virem začala být spojována s řadou různých onemocnění, jednalo se o pacienty s onemocněními schizofrenního okruhu, s afektivními poruchami a s dalšími neuropsychiatrickými poruchami (zejména s těmi, kde jsou nějakým

způsobem postiženy dopaminový a monoaminový systémy). Dále byli sledováni a vyšetřováni pacienti s problematikou závislosti na návykových látkách (zejména se jednalo o drogové závislosti) a řada dalších onemocnění (Bode a kol. 1988, 1993, 1992, 2001, 2003, Lipkin a kol. 2001, Planz a kol. 1999).

Jako první byly detekovány antivirové protilátky v séru několika psychiatrických pacientů a u poměrně vyššího počtu pacientů s různými onemocněními. Dalším důležitým krokem byl průkaz virových antigenů v periferních mononukleárech a nález bornavirových proteinů a nukleové kyseliny u pacientů s afektivními poruchami. Výzkum pokračoval průkazem bornavirové infekce u pacientů s onemocněním schizofrenního okruhu v Německu a Japonsku. Dále byla přítomnost tohoto infekčního agens prokázána v lidské mozkové tkáni, kde se jednalo o RNA viru a specifický virový antigen a zjištěna přítomnost virových antigenů v mozkomíšním moku u depresivních jedinců. Opakovanými vyšetřeními na přítomnost virových antigenů a virové RNA byla prokázána perzistentní forma bornavirové infekce u lidí (Planz a kol. 1998, Richt a kol. 1993).

V následujících kapitolách je popsán výskyt BDV infekce u lidí, zejména psychiatrických pacientů. Některé studie však stanovovaly pozitivitu BDV i u neurologických onemocnění (epilepsie, roztroušená skleróza aj.). Je obtížné jasně rozdělit kapitoly podle detekce na stanovení protilátek, antigenů, CIC a RNA viru, protože řada studií ke stanovení positivity užívala různé metody a jejich kombinace (samotné Ab, Ab a RNA, RNA a Ag, Ag a CIC...) v různých materiálech (v séru, mozkomíšním moku a mozkové tkáni).

- Sérologické studie sledující pozitivitu infekce BDV u pacientů s psychickými a neurologickými poruchami, detekce BDV Ab
- Detekce BDV antigenů a BDV RNA v periferní krvi (v mononukleárech) u pacientů s neuropsychiatrickými onemocněními
- Detekce BDV Ag a CIC (cirkulujících imunokomplexů) v séru
- Detekce anti-BDV protilátek, BDV antigenů a BDV RNA v mozkomíšním moku
- Detekce BDV antigenů a BDV RNA v lidské mozkové tkáni

Vliv BDV infekce na psychické poruchy u lidí

Je popisován vyšší výskyt positivity BDV Ag a CIC u pacientů v akutním stavu (s aktuálně přítomnými depresivními příznaky).

Intenzita a doba antigenémie a CIC koreluje s intenzitou psychopatologie, pacienti s těžší psychopatií měli vyšší a dlouhodobější hladiny Ag a CIC (Bode a kol. 2005).

Byla popsána korelace aktivace BDV infekce a vyšších hladin stresových hormonů u pacientů s depresí (Deuschle a kol. 2003).

Je předpokládáno, že BDV infekce může částečně ovlivňovat intenzitu, frekvenci a dobu (délku trvání) psychických potíží. Pro relaps psychických poruch je rizikové přetrvávání reziduálních příznaků, tzn. že nebylo dosaženo plné remise. Předpokládá se, že na přítomnosti reziduálních příznaků se může podílet perzistentní BDV infekce. I perzistentní forma je spojena s mírnými změnami v oblasti CNS. Nejvíce údajů potvrzujících výše uvedené body je k dispozici u afektivních (zejména depresivních) poruch. Podobné údaje byly publikovány i u pacientů s obsedantně kompulsivní poruchou. U dalších diagnostických skupin nejsou k dispozici takto ucelenější data a důkazy (Bode a kol. 2005).

12.1. Sérologické studie sledující pozitivitu infekce BDV u pacientů s psychickými a neurologickými poruchami, detekce BDV Ab

V letech 1985 až 1993 byly prováděny séroepidemiologické studie v Německu a v USA, které ukazovaly zvýšenou prevalenci BDV Ab u pacientů s psychickými poruchami (zejména se jednalo o afektivní a psychotické poruchy). Jedná se o protilátky proti komplexu solubilních antigenů p24 a p40. Tyto antivirové protilátky je možné stanovovat při užití následujících metod: nepřímá imunofluorescence, western blot, ELISA a modifikovaná ELISA (Rott a kol. 1985, Bode a kol. 2001).

Rott a kol., v roce 1985 uvedli výsledky studie prováděné v Německu, USA a Japonsku. Bylo vyšetřeno více než 5000 pacientů s neurologickými a psychiatrickými poruchami na přítomnosti protilátek proti BDV. Pozitivita byla prokázána v rozmezí od 4 do 7% v závislosti na původu vyšetřených pacientů a na složení souboru s ohledem na diagnózu (Rott a kol. 1985, Rott a kol. 1991, Amsterdam a kol. 1985).

Bode a kol. publikovali v roce 1992 výsledky rozsáhlé studie. Do této studie bylo zařazeno 3000 jedinců ze tří kontinentů - Evropa, Severní Amerika (USA) a Afrika. Jednalo se o pacienty s chronickými neuropsychiatrickými onemocněními a

kontrolní soubor zdravých jedinců. Séra těchto jedinců byla vyšetřena na přítomnost protilátek proti BDV. Jako laboratorní metody byly použity imunofluorescence a imunoprecipitace. Pozitivní séra byla dále vyšetřena na přítomnost BDV Ag. Byla prokázána signifikantně vyšší prevalence BDV infekce v sérech neuropsychiatrických pacientů, pozitivita se pohybovala mezi 13-14% ve srovnání s pozitivitou ve 2% u kontrolního souboru. Poněkud překvapující byl průkaz 2x až 4x vyšší frekvence pozitivita BDV infekce v séru dětí ve srovnání s dospělými (Bode a kol. 1992).

Bode a kol. v roce 1993 vyšetřili 70 psychiatrických pacientů, pozitivita antivirových protilátek byla zjištěna ve 20%. U pacientů s těžkou depresivní poruchou byla detekována signifikantně vyšší pozitivita (ve 30%) ve srovnání s pacienty s dystymií (v 8%) (Bode a kol. 1993).

Ve studii prováděné v roce 1993 v USA bylo vyšetřeno 138 pacientů s afektivními poruchami a 117 zdravých dobrovolníků. Byla prokázána pozitivita antivirových protilátek v 6,5 % u psychiatrických pacientů, pozitivní nález byl vyšší u pacientů s bipolární afektivní poruchou. U zdravých jedinců z kontrolního souboru byly protilátky detekovány v 0,9% (Fu a kol. 1993).

Některé studie prováděly zobrazovací vyšetření mozku u séropozitivních psychiatrických pacientů. Bechter a kol. v roce 1994 popsali vyšší výskyt mozkových lézí v bílé hmotě (pomocí magnetické rezonance) u pacientů s pozitivním nálezem antivirových protilátek ve srovnání se zdravými jedinci. Rozdíly u těchto dvou skupin nebyly však statisticky významné (Bechter a kol. 1994).

Další studie zjišťovaly pozitivitu antivirových protilátek v séru u schizofreniků.

Ve vyšetřeném vzorku 90 pacientů s touto diagnózou byla zjištěna pozitivita Ab ve 14,4%. Nebyla popsána žádná souvislost mezi BDV pozitivitou, typem schizofrenního onemocnění, demografickými charakteristikami a medikací. Byla zjištěna určitá souvislost mezi pozitivitou BDV infekce a neurologickým postižením pouze u části pacientů (u 46 pacientů). Ve skupině 64 pacientů byla popsána určitá souvislost mezi pozitivitou antivirových protilátek a přítomností negativní symptomatiky (vyšší pozitivita BDV u pacientů s negativními příznaky onemocnění). U 15 pacientů s negativní symptomatikou byla prokázána pozitivita v 5 případech, u 49 pacientů bez negativní symptomatiky pozitivita ve 4 případech. U pacientů byla provedena magnetická rezonance, na které byl popsán zvětšený objem putamen, naopak zmenšený objem jiných mozkových struktur (amygdala, hipokampus) ve srovnání se

zdravými jedinci. Poškození hippocampu Borna disease virem by mohlo vést k prefrontální dopaminergní hypoaktivitě (Waltrip a kol. 1995, Waltrip a kol. 1997).

Další japonská studie prokázala souvislost vyšší positivity BDV Ab u schizofrenních pacientů s převahou negativní symptomatiky (Iwahashi a kol. 1998).

V další studii bylo vyšetřeno 132 rodinných příslušníků u pacientů se schizofrenním onemocněním a 82 zaměstnanců pracujících v psychiatrických zařízeních, kteří byli v kontaktu s pacienty. U obou těchto skupin byla zjištěna vyšší pozitivita antivirových protilátek ve srovnání s kontrolním souborem zdravých jedinců, kteří nebyli v kontaktu s psychiatrickými pacienty. Tento výsledek studie podporuje předpokládaný mezilidský přenos BDV infekce (Chen a kol., 1999).

Práce některých autorů ukazují souvislost mezi pozitivitou antivirových protilátek a nedávným vznikem psychického onemocnění, určitou roli může hrát i věk pacienta. Bechter a kol. v roce 1992 publikoval studii, ve které popisují signifikantně vyšší prevalenci antivirových protilátek ve skupině pacientů mladších než 50 let (Bechter a kol. 1992). Rybakowski a kol. v roce 2001 vyšetřili 816 psychiatrických pacientů z psychiatrických oddělení v Polsku. Byla zjišťována psychiatrická diagnóza, doba trvání tohoto onemocnění. Nedávný vznik psychického onemocnění byl určen dobou trvání 1 rok a méně. Byli detekovány protilátky proti antigenům p24 a p40 u 17 pacientů (2%). 49 pacientů splňovalo kritéria časného vniku onemocnění, pozitivita protilátek byla prokázána u 5 z nich (10,2%), u pacientů onemocněním trvajícím více než jeden rok byla pozitivita v 1,6%. Prevalence Ab u pacientů s nedávným vznikem onemocnění byla signifikantně vyšší (Rybakowski a kol. 2001).

V Japonsku vyšetřili 3476 vzorků psychiatrických pacientů, pacientů s neurologickými onemocněními, HIV, opakovanými transfúzemi a krevních dárců na přítomnost BDV Ab. BDV Ab byly detekovány ve 3,08% u pacientů se schizofrenií, 3,59% u pacientů s afektivními poruchami, v 1,09% u zdravých jedinců a ve 4,55% u pacientů s opakovanými transfúzemi. Statisticky signifikantní byla vyšší pozitivita u pacientů se schizofrenií, afektivními poruchami a u mladších pacientů (do 59 let) (Yamaguchi a kol. 1999).

Objevují se i studie, které zvažují vliv BDV infekce na neurologická onemocnění. V některých případech byla zvýšena pozitivita BDV infekce u neurologických pacientů ve srovnání s chirurgickými. Prudlo a kol. v roce 2002 v Německu publikovali výsledky studie, ve které bylo vyšetřeno sérum od 200 pacientů

s amyotrofickou laterální sklerózou (ALS) na přítomnost protilátek proti BDV, pozitivita byla prokázána pouze ve 3%. Jako kontrolní (srovnávací) soubor byli vyšetřeni chirurgičtí pacienti ze stejného regionu, pozitivita byla zjištěna v 1,5%. Tyto výsledky vedly k závěru, že BDV pravděpodobně nemá žádný vliv na toto neurologické onemocnění (Prudlo a kol. 2002).

Studie prováděná v Číně detekovala pozitivitu antivirových protilátek v séru u pacientů se schizofrenií a u zdravých jedinců. Bylo vyšetřeno 116 psychiatrických pacientů, pozitivita antivirových protilátek byla prokázána v 8,6%, zatímco pozitivita v séru zdravých jedinců byla nulová (Yang a kol., 2003).

V další japonské studii vyšetřili 32 pacientů se schizofrenií, pozitivita anti-BDV protilátek byla zjištěna ve 21,9%, 33 pacientů s afektivními poruchami, pozitivita v 27,3% a 25 zdravých jedinců, pozitivita v 0%. Nebyly zjištěny signifikantní rozdíly v pozitivitě u schizofrenních pacientů s pozitivní a s negativní symptomatikou, ani v pozitivitě u pacientů s unipolárními a bipolárními afektivními poruchami (Terayama a kol., 2003).

Existuje řada studií, které neprokazují vyšší pozitivitu BDV Ab u pacientů s psychickými poruchami. Selten a kol. v roce 2000 vyšetřili sérum 29 schizofrenních pacientů a 26 zdravých jedinců, byla zjišťována přítomnost antivirových protilátek pomocí imunofluorescence a BDV RNA pomocí PCR. U těchto jedinců nebyla prokázána vyšší pozitivita ve srovnání se zdravými kontrolami (Selten a kol. 2000). V další studii vyšetřili 299 vzorků pacientů s psychickými poruchami pomocí WB, výsledek byl negativní (Tsuji a kol. 2000).

Matsunaga a kol. vyšetřili na přítomnost protilátek proti BDV séra psychiatrických pacientů a zdravých jedinců pomocí metody RIA. Mezi těmito dvěma skupinami nebyl prokázán signifikantní rozdíl ve výskytu BDV infekce (Matsunaga a kol. 2008).

V Rakousku vyšetřili pozitivitu BDV Ab u pacientů s panickou poruchou, pozitivita byla prokázána u 4/55 a u 2/34 u zdravého souboru, rozdíl mezi oběma soubory nebyl signifikantní (Nowotny a Winhaber 1997). Přehled sérologických studií viz tabulka 8.

Tabulka 8. Sérologické studie u psychiatrických pacientů od roku 1991

Autoři	Země	Metoda	Psychiatrické diagnózy	Počet vyšetřených	Procento pozitivních
Rott a kol. 1985	Německo, USA, Japonsko	IF	Neuropsychiatr. poruchy	Celkem vyšetřeno 5000 jedinců	4-7%
Bode a kol. 1992	Evropa, USA, Afrika	IF	Neuropsychiatr. poruchy Zdravé kontroly	Celkem vyšetřeno 3000 jedinců	13-14% 2%
Bode a kol. 1993	Německo	IF	Afektivní poruchy	71	2-4%
Bode a kol. 1993	Německo	IF	Psychiatrické poruchy Těžké depres. poruchy Dysthymie	70 ? ?	20% více než 30% 8%
Fu a kol. 1993	USA	WB	Depresivní poruchy Zdravé kontroly	138 117	6,5% 0,9%
Waltrip a kol. 1995	USA	WB	Schizofrenici Zdravé kontroly	90 20	14,4% 0%
Kishi a kol. 1995	Japonsko	WB	Psychiatrickí pacienti	60	30%
Kishi a kol. 1995	Japonsko	WB	Dárci krve	100	1%
Sauder a kol. 1996	Německo	WB	Psychotické poruchy Úzkostné a osobnostní poruchy Poruchy nálady Kontrolní soubor	114 54 52 203	14% 14,8% 11,5% 1,4%
Kubo a kol. 1997	Japonsko	IF	Schizofrenie Poruchy nálady Zdravé kontroly	179 123 70	1,6% 0% 0%
Waltrip a kol. 1997	USA	WB	Schizofrenici s neg. příznaky Schizofrenici bez neg. přízn.	15 49	33,3% 8,2%
Iwahashi a kol. 1998	Japonsko	WB	Schizofrenici Zdravé kontroly	67 26	44,8% 0%
Nowotny a Windhaber 1997	Rakousko	?	Panická porucha Zdravé kontroly	55 34	7,3% 5,9%
Chen a kol. 1999	Taiwan	WB	Schizofrenici Rodinní příslušníci Zdravotníci Zdravé kontroly	314 132 82 274	12,1% 12,1% 9,8% 2,9%
Tsuji a kol. 2000	Japonsko	WB	Schizofrenici Zdraví jedinci	229 229	0% 0%
Selten a kol. 2000	Nizozemí	IF PCR	Schizofrenici Zdraví jedinci	29 26	0% 0%

Rybakowski a kol. 2001	Polsko	ECLIA	Psychiatr. pac. Doba onem. 1 rok a méně Ostatní pacienti (více než 1 rok)	816 49 767	2% 10,2% 1,6%
Prudlo a kol. 2002	Německo	WB	Pacienti s ALS Chirurgičtí pacienti	200 200	3% 1,5%
Yang a kol. 2003	Čína	WB	Schizofrenici Zdravé kontroly	116 ?	8,6% 0%
Terayama a kol. 2003	Japonsko	WB	Schizofrenici Afektivní poruchy Zdravé kontroly	32 33 25	21,9% 27,3% 4%
Yamaguchi a kol. 1999	Japonsko	ECLIA	Schizofrenici Afekt. poruchy Ostatní onem. Zdravé kontroly	845 (26) 251 (9) 663 (0) 917 (10)	3,08% 3,59% 0% 1,09%
Matsunaga a kol. 2005	Japonsko	RIA WB	Psychiatrickí pacienti	171 (11 při užití WB, 19 při užití RIA)	6,4 a 11,1%
Matsunaga a kol. 2008	Japonsko	RIA	Psychiatrickí pacienti Zdravé kontroly	304 378	Bez signifikantní ho rozdílu mezi skupinami

12.2. Detekce BDV antigenů a BDV RNA v periferní krvi (v mononukleárech) u pacientů s neuropsychiatrickými onemocněními

V diagnostice BDV infekce je možné využít detekce virových antigenů-p24 a p40 metodou ELISA. Antigeny jsou přítomné v periferní krvi již v akutní fázi virového onemocnění. Jejich pozitivní nález v naprosté většině případů koreluje s fázemi psychického onemocnění (Bode a kol. 2001, Bode a Ludwig 2003, Bode a kol. 2005).

K vyšetření pozitivitu virové RNA se používá polymerázová řetězová reakce (PCR - polymerase chain reaction). BDV RNA byla poprvé detekována u 4 ze 6 psychiatrických pacientů (Bode a kol. 1995). Nicméně detekce BDV RNA není doporučována k diagnostice bornavirové infekce. Není tak spolehlivá jako stanovení virových Ag. Důvodem je nízká replikace tohoto viru. Řada studií ukazuje nedostatečnou korelaci mezi pozitivitou BDV Ab (pomocí IF) a pozitivitou RNA (Bode a kol. 2005).

V průběhu let bylo zjištěn vysoký rozdíl v pozitivitě BDV infekce podle použité laboratorní metody a podle toho, zda jsou stanovovány protilátky, antigeny, cirkulující imunokomplexy nebo RNA viru.

Bode a kol. vyšetřili 70 psychiatrických pacientů, pozitivita BDV Ab byla pomocí IFA prokázána ve 20%, ale u stejných vzorků pacientů byla prokázána pozitivita BDV Ag v rozmezí 40-50% (Bode a kol. 1994).

V další studii prováděné v Japonsku byla zjištěna vyšší pozitivita antivirových protilátek a virové RNA u 67 pacientů se schizofrenií ve srovnání s nulovou pozitivitou u kontrolního souboru. Jako kontrolní soubor byli vyšetřeni zaměstnanci toho samého psychiatrického oddělení. Nebyla zjištěna žádná souvislost mezi pozitivitou BDV infekce a věkem pacientů, věkem, ve kterém došlo ke vzniku schizofrenního onemocnění, době hospitalizace, anamnézou krevní transfúze, rodinné anamnézy ohledně psychických poruch, psychofarmakologickou medikací a mezi kontaktem se zvířaty. Pozitivita BDV infekce byla však spojována s přítomností negativní symptomatiky (Iwahashi a kol., 1997).

V další studii byla prezentována kazuistika 67-leté ženy s depresivní fází v rámci bipolární afektivní poruchy, u které byla zjištěna pozitivita BDV antigenů a RNA. Pacientka byla léčena amantadinem, po deseti dnech došlo ke zlepšení psychického stavu a v následujících týdnech došlo i k vymizení positivity BDV antigenů a RNA (Bode a kol. 1997, Taieb a kol. 2001).

Byly referovány další případy pacientů s psychickými poruchami, kdy byla popsána souvislost mezi klinickým obrazem a pozitivitou BDV antigenů a RNA. Jednalo se o pacienty s depresivní poruchou, kdy došlo při zlepšení depresivní symptomatiky k vymizení positivity BDV infekce (Bode a kol. 1997, Taieb a kol. 2001).

Studie prováděná v Německu sledovala pozitivitu virových antigenů v séru psychiatrických pacientů. Bylo vyšetřeno 78 hospitalizovaných pacientů. Byla prokázána vyšší pozitivita BDV Ag u pacientů s těžkou depresivní fází, s periodickou depresivní poruchou a bipolární afektivní poruchou ve srovnání s ostatními psychiatrickými diagnózami. Celková pozitivita u psychiatrických pacientů byla vyšší ve srovnání s pozitivitou u zdravých jedinců. Počet předchozích depresivních fází, klinické příznaky jako únava, slabost, poruchy koncentrace byly přímo úměrné hladině BDV Ag v séru (Ferszt a kol., 1999).

Kim a kol, 1999, Jižní Korea, vyšetřili 81 psychiatrických pacientů (s afektivními poruchami a schizofrenií); u této skupiny nebyla prokázána přítomnost BDV RNA v séru (Kim a kol. 1999).

Další japonská studie naopak prokázala vyšší pozitivitu BDV RNA u psychiatrických pacientů ve 36,7% ve srovnání s dárci krve 4,7% (Kishi a kol. 1995).

Studie v Číně udává pozitivitu BDV RNA ve 14% u pacientů se schizofrenií, ve srovnání s pozitivitou v 1,4% u zdravých jedinců, dále byla zjištěna signifikantně vyšší pozitivita u zaměstnanců psychiatrických oddělení, a to v 15% (Chen a kol., 1999).

V Brazílii prokázali pozitivitu BDV RNA ve 33,3% u pacientů s psychickými poruchami (poruchy nálady a psychotické poruchy) ve srovnání s pozitivitou ve 13,3% u kontrolního souboru zdravých jedinců (Miranda a kol. 2005).

Nicméně existuje řada studií, které neprokázali vyšší pozitivitu BDV infekce u pacientů s psychickými poruchami. Poměrně nízká prevalence BDV RNA je popisována v Japonsku, což potvrzují následující studie:

Iwata a kol., 1998, detekovali přítomnost BDV RNA u pacientů se schizofrenií ve 4%, u pacientů s afektivními poruchami ve 4%, ve srovnání s pozitivitou ve 2% u kontrolního souboru (Iwata a kol. 1998).

Bachmann a kol. neprokázali vyšší pozitivitu BDV RNA u pacientů s HIV infekcí a neurologickými příznaky ve srovnání s HIV pozitivními pacienty bez neurologické symptomatiky (Bachmann a kol. 1999).

Vahlenkamp a kol. v roce 2000 vyšetřili 27 psychiatrických pacientů, pozitivita BDV RNA byla zjištěna v 10 případech, u 13 zdravých jedinců, pozitivita byla zjištěna ve 2 případech. Překvapivě byla u některých jedinců popsána pozitivita pouze BDV RNA se současným negativním nálezem antivirových protilátek (Vahlenkamp a kol. 2000).

Tsuji a kol., 2000, vyšetřili 229 vzorků krve psychiatrických pacientů (jednalo se o schizofreniky) na přítomnost BDV RNA a anti-BDV Ab. Všechny vzorky měly negativní nález, co se týče antivirových protilátek, pozitivita BDV RNA byla prokázána v 1,8% u schizofrenních pacientů ve srovnání s pozitivitou v 0,6% u kontrolního souboru (Tsuji a kol. 2000).

V další studii byla pozitivita BDV RNA zjištěna pouze u 2% u pacientů s afektivními poruchami, protilátky byly detekovány ve 2% u pacientů s afektivními poruchami a v 9% u schizofreniků (Fukuda a kol. 2001).

Kim a kol. v roce publikovali práci, kdy vyšetřili 62 pacientů se schizofrenií na přítomnost BDV RNA. Nebyla prokázána žádná pozitivita (Kim a kol. 2003).

Nunes a kol. stanovili pozitivitu BDV RNA pomocí PCR u psychiatrických pacientů (schizofrenie, schizoafektivní poruchy), u jejich příbuzných s psychickými a bez psychických poruch a u zdravých jedinců. Pozitivita BDV RNA byla detekována ve 44,4% u psychiatrických pacientů, v 50% u příbuzných bez psychické poruchy, ve 37,5% u příbuzných s psychickou poruchou a ve 14,8% u zdravých kontrol (Nunes a kol. 2008).

Li a kol. vyšetřovali pozitivitu BDV RNA v PBMCs u neurologických pacientů, bylo vyšetřeno 65 pacientů s diagnózami virové encefalitidy, roztroušené sklerózy, syndromem Guillain-Barre a s onemocněním periferní nervové soustavy. Pozitivita BDV RNA byla prokázána pouze u 6 ze 40 pacientů s virovou encefalidou, o ostatních pacientů nebyla přítomnost virové RNA prokázána (Li a kol. 2009).

V roce 2009 Na a kol publikovali studii, ve které nebyla prokázána vyšší pozitivita BDV RNA u psychiatrických pacientů ve srovnání s kontrolním souborem. Byli vyšetřeni pacienti s depresivní, bipolární poruchou a schizofrenií (Na kol. 2009).

Přehled studií detekujících BDV RNA viz tabulka 9.

Tabulka 9. Detekce BDV RNA pomocí PCR u psychiatr. pacientů od roku 1995

Autoři	Země	Psychiatrické diagnózy	Počet vyšetřených	Procento pozitivních
Bode a kol. 1995	Německo	Deprese OCD Org. afekt. poruchy Panické poruchy Krevní dárci	3 1 1 1 10	66% 100% 100% 0% 0%
Kishi a kol. 1995	Japonsko	Psychiatr. pacienti	60	36,7%
Kishi a kol. 1995	Japonsko	Krevní dárci	172	4,7%
Igata a kol. 1996	Japonsko	Schizofrenici Depresivní poruchy Krevní dárci	49 6 36	10,2% 16,7% 0%
Sauder a kol. 1996	Německo	Psychiatr. pac. Schizofrenici Zdravé kontroly	26 11 23	50% 63,6% 0%
Kubo a kol. 1997	Japonsko	Psychiatr. pac. Zdravé kontroly	106 12	0,2% 0%
Richt a kol. 1997	Německo, USA	Schizofrenici	26	0%
Iwahashi a kol. 1997	Japonsko	Schizofrenici Zdravé kontroly	67 26	8,9% 0%
Lieb a kol. 1997	Německo	Psychiatr. pacienti	159	0%
Iwata a kol. 1998	Japonsko	Psychiatr. pac. Schizofrenie Afekt. poruchy Krevní dárci	126 77 49 84	4% 4% 4% 2%
Kim a kol. 1999	Jižní Korea	Psychiatr. pac.	81	0%
Chen a kol. 1999	Taiwan	Schizofrenici Zdravé kontroly Zdravotníci	74 ? 45	14% 1,4% 15%
Vahlenkamp a kol. 2000	Německo	Psychiatr. pac. Zdraví jedinci	27 13	37% 15,4%
Tsuji a kol. 2000	Japonsko	Schizofrenie Zdraví jedinci	229 ?	1,8% 0,6%
Fukuda a kol. 2001	Japonsko	Afektivní poruchy	45	2%
Kim a kol. 2003	Korea	Schizofrenie	62	0%
Miranda a kol. 2005, 2006	Brazílie	Psychózy a afekt. poruchy Zdraví jedinci	30 30	33,3% 13,3%

Nunes a kol. 2008	Brazílie	Schizofrenie a schizoaf. porucha	27	44,4%
		Příbuzní s psychiatr. onem.	24	37,5%
		Příbuzní bez psychiatr. onem.	20	50%
		Zdraví jedinci	27	14,8%
Li a kol. 2009	Japonsko	Neurologičtí pacienti	65	13,85%
		Virová encefalitis	40	22,5%
		Roztroušená skleróza	9	0
		Guilain-Barre sy	7	0
		Periferní postižení	9	0
Na kol. 2009	Korea	Psychiatrickí pacienti	198	0%
		Zdravé kontroly	60	0%

12.3. Detekce BDV Ag a CIC (cirkulujících imunokomplexů) v séru

Cirkulující imunokomplexy (CIC) a antigeny (Ag) nacházíme v séru nakažených jedinců v akutní fázi virémie a svědčí pro replikaci viru. Pozitivita CIC přetrvává po dobu týdnů až měsíců. V akutní fázi infekce jsou nejprve v plazmě přítomné virové Ag, na které se váží vytvořené monoklonální protilátky a tím dojde k vytvoření CIC. Tvorba CIC vysvětluje v některých případech vymizení nebo snížení hladin protilátek, protože ty jsou vázány v komplexu s antigeny (Bode a Ludwig 2003, Bode a kol 2001).

CIC byly objeveny v roce 2001, jejich detekce v séru je považována za nejvýhodnější a průlomovou v diagnostice BDV infekce. CIC je možné prokázat i u lidí bez klinických příznaků. Incidence positivity BDV CIC je přibližně 10x vyšší než pozitivita stanovená detekcí protilátek pomocí imunofluorescence. Absence protilátek v séru a RNA v PBMC buňkách nevylučuje přítomnost infekce. Jak bylo již řečeno, Ab mohou být vázány v CIC a RNA může být přítomna pouze v malém počtu buněk (Bode a kol. 2005).

Stanovení positivity BDV CIC jsme použili i my při vyšetření našich souborů psychiatrických pacientů a kontrolního souboru zdravých jedinců.

Pozitivita CIC u zdravých (nebo asymptomatických) jedinců se pohybuje v rozmezí kolem 20-30%. U pacientů s akutní depresí byla prokázána výrazně vyšší pozitivita BDV CIC v 50%, u pacientů s bipolární afektivní poruchou až v 90%. Závažnější psychopatologie korelovala s vyššími hladinami Ag v plazmě. Doba a míra (hladina) positivity Ag a CIC korelovala s dlouhým trváním psychické poruchy (Bode a kol. 2001, Bode a Ludwig 2003, Bode a kol. 2005).

V roce 2005 byla provedena rozsáhlá studie, která detekovala přítomnost BDV CIC v séru dětí v Německu a Itálii. Jednalo se o děti ve věku 0-18 let, které byly hospitalizované pro nějaké onemocnění a o děti zdravé. U dětí byla prokázána pozitivita CIC v 60% (2x vyšší než u dospělých). Vyšší pozitivita byla prokázána u mladších dětí (ve věku 1-3 roky v Německu pozitivita CIC v 85% a v Itálii ve věku 1-5 let pozitivita CIC v 75%) (Bode, Scholbach a kol. 2005).

V rozmezí let 2001-2006 bylo vyšetřeno 1588 vzorků sér italské populace na pozitivitu BDV CIC, Ag a Ab. Pozitivita alespoň jednoho markeru infekce byla prokázána u 37,2%, CIC pozitivita u 35,2%. Vyšší pozitivita CIC byla detekována u žen (38%) ve srovnání s muži (29,4%). Současná pozitivita Ag u CIC pozitivních jedinců byla u 1,3% a současná pozitivita Ab u 3%. Pozitivita BDV infekce klesala s věkem, nejvyšší byla u dětí ve věku 0-5 let (89%) (Patti a kol. 2008)

Stejná studie byla provedena u italských a německých dětí ve věku 0-18 let. Pozitivita alespoň jednoho markeru byla prokázána u 59%. Autoři zmiňují možnost ovlivnění vývoje centrální nervové soustavy Borna disease virem u dětí v raném věku (Patti a kol. 2008, Scholbach a kol. 2008).

Flower a kol. vyšetřili pozitivitu BDV infekce (Ag, Ab, CIC) u několika skupin (psychiatrickí pacienti bez deprese, s depresí, těhotné ženy, krevní dárce a pacienti po opakovaných transfúzích). Překvapivým výsledkem byla vyšší pozitivita BDV infekce u pacientů s opakovaným transfúzem v anamnéze, pozitivita BDV korelovala v vyšších hodnotami jaterních testů – GMT (gama-glutamyl-transferázy) a ALT (alaninaminotransferáza). Uspokojivé vysvětlení této souvislosti nebylo prezentováno (Flower a kol. 2008).

12.4. Detekce anti-BDV protilátek, BDV antigenů a BDV RNA v mozkomíšním moku

Bylo provedeno několik studií zjišťujících pozitivitu antigenů, protilátek a RNA v mozkomíšním moku u pacientů s psychickými poruchami. Počet studií používající k detekci BDV infekce vyšetření mozkomíšního moku není příliš vysoký. Hlavním důvodem je odběr materiálu k vyšetření pomocí lumbální punkce. Přítomnost BDV proteinů v mozkomíšním mozku u pacientů s rekurentní depresivní poruchou potvrdila replikaci BDV v lidském mozku (Deuschle a kol. 1998).

Studie z roku 1995 vyšetřila 38 psychiatrických pacientů, u kterých byla prokázána pozitivita BDV infekce v séru. U pacientů s pozitivním nálezem BDV Ag byl

vyšetřen mozkomíšni mok. V mozkomíšním moku byla prokázána pozitivita antivirových protilátek v rozmezí 10,5- 29%. Nález positivity BDV Ab v mozkomíšním moku koreloval s vyšším titrem Ab v séru (Bechter a kol., 1995).

V některých studiích nebyla pozitivita BDV infekce v mozkomíšním moku prokázána. Bylo vyšetřeno 48 pacientů se schizofrenním onemocněním, u kterých se nepodařilo detekovat virovou RNA (Sierra-Honigmann a kol., 1995).

Přítomnost BDV Ab a BDV Ag byla vyšetřena v mozkomíšním moku u 128 pacientů s psychickými poruchami (depresivní poruchy, bipolární afektivní poruchy a schizofrenie) a u 102 pacientů s neurologickými onemocněními. Pozitivita BDV byla zjištěna pouze u pacientů s rekurentní depresivní poruchou (9,4%) a u pacientů s roztroušenou sklerózou (10,5%), u pacientů s ostatními onemocněními byl nález negativní. Bohužel nejsou k dispozici výsledky vyšetření positivity BDV infekce v séru těchto pacientů (Deuschle a kol., 1998). Studie stanovující BDV RNA a Ag v mozkomíšním moku viz tabulka 10.

Tabulka 10. Detekce BDV RNA a BDV Ag v mozkomíšním moku u pacientů s neuropsychiatrickými poruchami

Autoři	Země	Diagnózy	Počet vyšetřených	Procento pozitivních
Bechter a kol. 1995	Německo	Psychiatr. pacienti s pozitiv. nálezem BDV v séru	38	10,5-29%
Siera-Honigmann a kol. 1995	USA	Schizofrenici	48	0%
Deuschle a kol. 1998	Německo	Psychiatři pacienti Neurologická onemocnění	128/32 depresivní 102/19 s RS	9,4% u depresivních pacientů 10,5% pacientů s RS

12.5. Detekce BDV antigenů a BDV RNA v lidské mozkové tkáni

Řada studií prokazuje přítomnost BDV infekce v mozkové tkáni *postmortem*. Většina vyšetření byla prováděna z tkáně mozku, které byly získány z tzv. mozkových bank. Poprvé byla prokázána pozitivita BDV antigenů a BDV RNA v mozkové tkáni u 4 pacientů, kteří měli pozitivní anamnézu ohledně poruch paměti a depresivních poruch. Naopak pozitivita BDV infekce nebyla prokázána v mozkové tkáni u 7 pacientů a

Alzheimerovou chorobou a u 2 pacientů s negativní anamnézou ohledně neuropsychiatrických onemocnění (de la Torre a kol. 1996).

V další studii byly vyšetřeny vzorky mozkové tkáně získané po smrti od 75 jedinců ze Severní Ameriky a Evropy (jednalo se o pacienty s anamnézou schizofrenie, bipolární afektivní poruchy, depresivní poruchy, jiného psychotického onemocnění, Alzheimerovy choroby, Parkinsonovy choroby, roztroušené sklerózy); výsledky byly srovnány s kontrolním souborem pacientů s negativní neuropsychiatrickou anamnézou. Pozitivita BDV RNA byla zjištěna v 11 případech (9 pacientů se schizofrenií v 53%, 2 pacienti s bipolární afektivní poruchou ve 40%) (Salvatore a kol., 1997).

Ve studii prováděné v Japonsku byla prokázána pozitivita BDV RNA v mozkové tkáni u 3 pacientů z 9 se schizofrenií, u 2 ze 31 jedinců z kontrolního souboru a v 1 případě ze 6 u pacientů s Parkinsonovou chorobou (Haga a kol., 1997).

V Německu byla prokázána pozitivita BDV-RNA ve 3 případech u pacientů s psychiatrickou diagnózou (celkový počet 86), nebyla prokázána u kontrolního souboru (celkový počet 52), u pacientů s Alzheimerovou chorobou a u pacientů s epilepsií (celkový počet 16). U pacientů s vysokou pozitivitou BDV RNA byla popsána degenerace v oblasti hipokampu (Czygan a kol., 1999).

V Japonsku zjišťovali přítomnost BDV RNA a Ag v mozkové tkáni ve 12 různých oblastech v mozku. Byli vyšetřeni 4 schizofrenici a 2 zdraví jedinci, pozitivita byla prokázána ve 4 mozkových oblastech u 2 pacientů se schizofrenií s pozitivním nálezem BDV infekce v séru. Jednalo se o pacienty s nedávným vznikem onemocnění (2 roky) (Nakamura a kol. 2000).

Hofer a kol. vyšetřili 106 vzorků z hipokampů, které byly odstraněny pacientům s epilepsií na přítomnost BDV RNA pomocí PCR. V žádném ze vzorků nebyla prokázána přítomnost BDV infekce (Hofer a kol. 2006).

Přehled studií stanovujících BDV RNA , Ag a Ab v mozkové tkáni viz tabulka 11.

Tabulka 11. Detekce BDV RNA, Ag, a Ab v mozkové tkáni u pacientů s neuropsychiatrickými onemocněními

Autoři	Země	Diagnózy	Počet vyšetřených	Počet pozitivních
De la Tore a kol. 1996		Depresivní poruchy, Alzheimerova demence...	36	4
Salvatore a kol. 1997	USA, Evropa	Schizofrenie Afektivní poruchy Neurologická onemocnění	75	Schizofrenie 9/11 53% Afektivní poruchy 2/5 40% Neurologická onemocnění 0
Haga a kol. 1997	Japonsko	Schizofrenie Parkinsonova choroba Zdraví jedinci	9 6 31	3 1 2
Czygan a kol. 1999	Německo	Psychiatr. dg. Alzheimer. choroba Epilepsie Zdraví jedinci	86 16 52	3 0 0 0
Nakamura a kol. 2000	Japonsko	Schizofrenie Zdraví jedinci	4 2	2 0
Hofer a kol. 2006	Německo	Epilepsie	106	0

13. Pozitivita BDV infekce u pacientů se závislostí na psychoaktivních látkách

13.1. Abusus psychoaktivních látek a změny v imunitním systému

Abusus alkoholových a nealkoholových psychoaktivních látek je spojeno s velmi širokým spektrem somatických poškození. Pacienti jsou vystaveni vyššímu riziku infekčních onemocnění a i horšímu průběhu těchto onemocnění díky postižení imunitního systému.

Akutní i chronický abusus alkoholu postihuje imunitní systém. Toto postižení se projevuje několika způsoby: pacienti jsou náchylnější k infekcím, mají horší průběh díky postižené imunitní odpovědi, mají vyšší riziko rozvoje nádorových onemocnění. Určitý podíl na těchto změnách kromě samotného abusu má malnutrice a deficit řady vitamínů. Abusus alkoholu postihuje negativním způsobem imunitu na několika

úrovních. Dochází ke snížení schopnosti fagocytózy makrofágů a porušení funkce neutrofilů. Dochází ke změnám v produkci některých zánětlivých cytokinů, k inhibici proliferace T lymfocytů, snížení počtu B-lymfocytů, NK-buněk, je zvýšená produkce volných radikálů (Szabo 1997, Brown a kol. 2006). Díky těmto změnám jsou pacienti náchylnější k řadě infekčních onemocnění, např. bakteriální plicní záněty, virová onemocnění, tuberkulóza, infekční onemocnění postihující zvířata (listeriόza), mají vyšší riziko nákazy a průběh HIV infekce, horší průběh onemocnění s vyšší mortalitou. Po úrazech a operacích mají vyšší riziko zánětlivých komplikací (Szabo 1997, Brown a kol. 2006). Někteří autoři naopak popisují pozitivní efekt malých dávek alkoholu na imunitní systém (Romeo a kol. 2007).

Podobné nálezy týkající se poškození funkce imunitního systému jsou k dispozici i u pacientů užívající nealkoholové psychoaktivní látky, jako je heroin a ostatní opiáty, kokain (Inabo 2005), metamfetamin (Inabo 2005, Yu a kol. 2002) a kanabinoidy (Inabo 2005, Pacifi a kol. 2003). U těchto pacientů je popisován vyšší výskyt a horší průběh virových onemocnění včetně infekce HIV a virových hepatitid, vyšší výskyt bakteriálních infekcí (streptokokové, stafylokokové, pneumokokové infekce...) (Inabo 2005).

13.2. Pozitivita BDV infekce u pacientů se závislostí na psychoaktivních látkách

BDV infekce a její aktivace je spojována se změnami v oblasti imunitního systému působením řady vlivů (podrobněji viz výše). Abusus (zejména chronický, ale i akutní) alkoholových a nealkoholových psychoaktivních látek negativně ovlivňuje funkci imunitního systému ve více úrovních (buněčná a humorální imunita) a je spojen s vyšším výskytem infekčních onemocnění, jejich horším průběhem a vyšší mortalitou na tyto komplikace. Navzdory těmto faktům není do současnosti dostupná žádná ucelenější studie, která by detekovala pozitivitu u závislých pacientů.

14. Profylaxe a terapie bornavirové infekce

14.1. Historie terapie bornavirové infekce

V minulosti byly popisovány dva základní postupy, jak se vypořádat s bornavirovým onemocněním, a to hygienická opatření a vakcinace. Během epidemií BDV onemocnění u hospodářských zvířat se uplatňovala separace postižených jedinců a tím se zabraňovalo nebo alespoň zpomalovalo šíření infekce. Zároveň mělo určitý efekt

zlepšení hygienických podmínek. Tato opatření byla však pouze preventivní, ale nevedla k eliminaci nebo kauzální léčbě bornavirového onemocnění (Ludwig a Bode 2000).

Druhým postupem, který byl v historii léčby BDV infekce používán, byla vakcinace. K očkování byly zkoušeny suspenze obsahující živé viry získané od nemocných zvířat, které byly aplikovány subkutánně. Veškeré pokusy o aktivní imunizaci selhaly a očkování se ukázalo jako neúčinné. Do současnosti nemáme k dispozici účinnou očkovací látku proti BDV infekci (Ludwig a Bode 2000).

Zlom v léčbě bornavirové infekce přinesla antivirová terapie. Výzkumy ve Francii ve 20. letech 20. století popisovaly částečný efekt v léčbě BDV infekce při použití hexametyléntetraminu (hexaminu). Léčba tímto preparátem byla dále vyzkoušena i v Německu. Ačkoli efekt této virostatické léčby nebyl sice výrazný, ale znamenal pokrok ve vývoji terapie bornavirové infekce (Ludwig a Bode 2000).

V terapii bornavirové infekce byla vyzkoušena řada virostaticů, ale většina z nich bez výraznějšího efektu na replikaci viru.

Byl zkoušen ribavirin, u kterého bylo prokázáno snížení replikace a transkripce BDV *in vitro*. Virostatický efekt ribavirinu nebyl prokázán *in vivo* (Jordan a kol 1999).

Další studie popisují experimentální podávání interferonů alfa a beta u laboratorních zvířat nakažených BDV. Byl prokázán vliv na replikaci viru *in vitro* i *in vivo*. Interferon alfa i beta inhibuje replikaci virové RNA u perzistentně nakažených hospitelských buněk (Hallensleben a kol. 1999, Staeheli a kol. 2001).

Dalším, experimentálně vyzkoušeným způsobem je terapie BDV infekce filtrací mozkomíšního moku. Tento způsob terapie je i využíván v léčbě některých neurologických onemocnění (např. Guillain-Barré syndrom). V roce 1999 publikoval Bechter a kol. kazuistiku pacienta se schizofrenií, rezistentního na standardní léčbu. U tohoto pacienta byla prokázána pozitivita BDV infekce v séru a v mozkomíšním moku. Po filtraci mozkomíšního moku došlo ke zlepšení psychického stavu pacienta, pacient byl nadále dlouhodobě kompenzovaný i bez nutnosti medikace. O několik let později stejný kolektiv autorů publikoval další 2 kazuistiky. V prvním případě se jednalo o ženu s těžkou depresivní poruchou nedostatečně odpovídající na psychofarmakologickou léčbu. Po sérii filtrací došlo postupně k úplné úpravě stavu a výrazné redukci medikace. Ve druhém případě se jednalo o ženu s periodickou depresivní poruchou, po této léčbě

opět došlo ke zlepšení depresivní symptomatiky a redukci medikace (Bechter a kol. 2000).

Stitz a kol. v roce 1989 publikovali práci popisující léčbu perzistentní BDV infekce u krys pomocí imunosupresiva cyklosporinu A. Vycházeli z toho, že akutní neurologické příznaky a smrt u infikovaných jedinců jsou následkem T-lymfocyty způsobené imunopatologické reakce v mozku. Terapií cyklosporinem byla tato imunitní reakce potlačena a u léčených jedinců nedošlo po infekci k tvorbě specifických protilátek. U zvířat léčených imunosupresivní terapií nebyl popsán průběh onemocnění s neurologickými příznaky ani letální zakončení onemocnění (Stitz a kol. 1989). Přehled možností léčby BDV infekce v minulosti viz tabulka 12.

Tabulka 12. Způsoby léčby bornavirové infekce

Způsob terapie	Efekt terapie
Hygienická opatření	Zlepšení hygienických podmínek, separace nemocných jedinců (prevence, zpomalení šíření infekce)
Vakcinace	Použití vakcín obsahujících živé viry, vakcinace neúčinná
Hexamethylentetramin	První antivirový preparát s mírným účinkem na BDV infekci
Ribavirin	<i>In vitro</i> inhibice replikace viru a transkripce RNA, <i>in vivo</i> se terapie neosvědčila
Interferony alfa a beta	Určitý vliv na replikaci a transkripci virové RNA <i>in vivo</i> a <i>in vitro</i> , v terapii nevyužíván, pouze experimentálně
Amantadin-sulfát	Inhibice replikace RNA <i>in vivo</i> a <i>in vitro</i> , prokázán efekt v terapii BDV infekce u lidí
Filtrace mozkomíšního moku	Experimentální způsob léčby, prokázán efekt kazuisticky u pacientů s rezistentními formami depresivní poruchy a schizofrenie
Cyklosporin A	Experimentální způsob léčby u krys s perzistentní bornavirovou infekcí

14.2. Využití amantadin-sulfátu v terapii bornavirové infekce

V současné době je k léčbě bornavirové infekce využíváno virostatikum amantadin, u kterého byl popsán virostatický efekt na replikaci BDV *in vitro* a *in vivo*. Tato látka je po chemické stránce příbuzná výše zmiňovanému hexaminu. V řadě studií byl prokázán virostatický efekt *in vitro* ale i *in vivo*, zejména u virových kmenů získaných od infikovaných koní a lidí. Některé práce tento efekt neprokázaly, jedná se

zejména o laboratorní kmeny, které byly k antivirovému působení amantadinu necitlivé (Ludwig a Bode 2000).

Amantadin-sulfát je preparát, který je využíván v léčbě Parkinsonovy choroby (Pinter a kol. 1999, Muller a kol. 1995, Brenner a kol. 1988, 1989), dále v profylaktickém podávání a v léčbě chřipky typu A a B (Kandel a kol. 2001, Tokimatsu a kol. 2000, Moltano a kol. 2000). Byl zkoušen i v jiných indikacích, jako je léčba odvykacího stavu při závislosti na kokainu (Kampman a kol. 2000) nebo léčba apatie a únavy u roztroušené sklerózy (Branas a kol. 2000).

Další možností využití tohoto preparátu je léčba chronické formy hepatitidy C rezistentní na terapii interferonem (Adinolfi a kol. 2003, Ullerich a kol. 2002, Tauber a kol. 2001). Ojedinele byl amantadin byl vyzkoušen v léčbě dětí s poruchami chování, kdy došlo ke zlepšení klinického stavu (King a kol. 2001). Byl i vyzkoušen v terapii sexuálních dysfunkcí u schizofrenních pacientů léčených antipsychotiky (Valevski a kol. 1998). Přehled využití amantadinu viz tabulka 13.

Tabulka 13: Terapeutické využití amantadinu

Diagnostická skupina	Efekt amantadinu
Chřipky typu A a B	Využití v profylaxi a léčbě chřipkového onemocnění
Parkinsonova choroba	Zlepšení motorického postižení
Závislost na kokainu	Zmírnění odvykacích příznaků
Chronická hepatitida typu C	Terapie chronické hepatitidy typu C rezistentní na léčbu interferonem
Poruchy chování u dětí	Ovlivnění impulsivity a agresivního chování
Sexuální dysfunkce	Léčba sexuálních dysfunkcí u schizofreniků léčených antipsychotiky
BDV infekce	Léčba BDV infekce u lidí i zvířat

14.3. Charakteristika amantadinu, amantadin v terapii BDV infekce u pacientů s psychickými poruchami

V literatuře je popsáno i spontánní vymizení BDV infekce bez nutnosti virostatické terapie.

U amantadinu je popisován slabý antidepresivní efekt, který je vysvětlován působením na neurotransmiterové systémy. Je obtížné zjistit, který z mnoha mechanismů působení amantadinu v CNS je rozhodující pro antidepresivní a virostatické působení. Jedná se o látku, která působí na dopaminergní, noradrenergní a serotonergní systémy v CNS. Amantadin je nekompetitivní antagonist pro NMDA

(N-metyl-D-aspartát) typ glutamátových receptorů, dále se také váže na sigma receptory a na nikotinový typ acetylcholinových receptorů, může zvyšovat hladiny beta-endorfinu a beta-lipotropinu (Lieb a kol.). Antidepresivní působení amantadinu bylo zkoumáno ve studii v roce 1971. Amantadin byl srovnáván s placebem a amitriptylinem u pacientů s depresí. Amantadin byl účinnější než placebo a méně účinný než amitriptylin (Vale a kol. 1971). Léčba amantadinem je pacienty všeobecně dobře snášena, nebyly prokázány výraznější nebo závažnější nežádoucí účinky tohoto preparátu (Bode a kol. 2005).

Poprvé byl vyzkoušen v léčbě depresivní fáze u pacientky s bipolární afektivní poruchou s pozitivním nálezem BDV infekce (pozitivita BDV Ag a BDV RNA) v roce 1991. Při terapii došlo k úpravě nálady a několik týdnů po přeléčení virostatikem i k vymizení pozitivivity infekce (Bode a kol. 1997).

Ferszt a kol. v roce 1999 publikovali studii, kde bylo 30 pacientů s depresivní poruchou léčeno amantadinem po dobu 8-12 týdnů. Byla měřena hloubka deprese, sledována pozitivita virových antigenů. U pacientů odpovídajících na virostatickou terapii korelovala úprava psychického stavu s vymizením antigenémie. U pacientů s nedostatečnou odpovědí pokles antigenémie byl méně výrazný (Ferszt a kol. 1999, Huber a kol. 1999).

Dietrich a kol. 2000 podávali amantadin jako antidepresivní a virostatickou medikaci 16 pacientům s lehkou depresivní poruchou. U všech pacientů byla prokázána pozitivita bornavirové infekce. Během terapie došlo k vymizení depresivní symptomatiky a zlepšení kapacity paměti (Dietrich a kol. 2000).

Dietrich a kol. podávali amantadin v dávce 100-300mg denně 25 depresivním pacientům s diagnózou depresivní a bipolární afektivní poruchy. Jednalo se o farmakorezistentní pacienty. U pacientů s augmentací amantadinem došlo k rychlejší úpravě depresivní symptomatiky měřené HAM-D (Hamiltonovou škálou pro depresi). Rychlejší úprava byla popsána u pacientů s bipolární poruchou bez přesmyku do mánie. Úprava psychického stavu korelovala s poklesem aktivity BDV infekce měřené detekcí Ab a Ag v séru (Dietrich a kol. 2000).

Na Mezinárodním BDV sympoziu v Berlíně v roce 2008 byly prezentovány první výsledky dvojité zaslepené, placebem kontrolované studie hodnotící efekt amantadinu na depresivní symptomatiku u BDV pozitivních pacientů. Druhá prezentace popisovala účinnost amantadinu u pacientů s manickou fází bipolární afektivní poruchy. V prezentacích nebyly konkrétní výsledky uvedeny, bylo naznačeno, že se však účinnost amantadinu potvrdila. Na konkrétní data si budeme muset tedy počkat až na

publikaci (Dietrich a kol. v tisku). Přehled studií využívajících amantadin v léčbě BDV infekce viz tabulka 14.

Tabulka 14. Studie využívající amantadin v terapii BDV infekce u pacientů s psychickými poruchami

Autor a rok	Země	Diagnostická skupina	Efekt
Bode a kol. 1991	Německo	Pacientka s depresivní fází v rámci bipolární afekt. poruchy	Vymizení depresivní symptomatiky a pozitivity BDV
Bode a kol. 1997	Německo	Pacientka s depresivní fází v rámci bipolární afekt. poruchy	Vymizení depresivní symptomatiky a pozitivity BDV
Ferszt a kol. 1999	Německo	30 pacientů s farmakorezistentní depresivní poruchou	Korelace úpravy psychického stavu a vymizení pozitivity BDV infekce
Dietrich a kol. 2000	Německo	16 pacientů s lehkou depresivní poruchou	Vymizení depresivní symptomatiky a zlepšení kapacity paměti
Dietrich a kol.	Německo		
Dietrich a kol. (prezentace dat v roce 2008)	Německo	2-tě zaslepená, placebem kontrolovaná studie u pac. s depresí Léčba manické fáze	Výsledky nejsou zatím k dispozici

15. Souhrn teoretické části

Etiologie psychických poruch je multifaktoriální. Za jeden z možných faktorů podílejících se na vzniku a průběhu psychických poruch jsou považována infekční onemocnění. S psychickými poruchami jsou spojovány zejména zoonotické infekce s vysokou afinitou k centrální nervové soustavě a schopností vytvářet perzistentní formu infekce, jako je infekce *Toxoplazmou gondii*, *Borrelii burgdorferi* nebo Borna disease virem.

Všechna tato infekční onemocnění jsou dlouhodobě spojována s psychickými poruchami a existuje řada studií, která se touto problematikou podrobněji zabývala.

Ke spojení BDV infekce s psychickými poruchami vedly některé formy průběhu u nemocných zvířat, kde byl klinický obraz BDV infekce provázen změnami chování nakaženého zvířete. Tyto změny určitým způsobem připomínaly psychické poruchy u lidí, což vedlo k dalšímu výzkumu v této oblasti.

Latentní forma BDV perzistentní (perzistující) infekce je charakterizována přežíváním viru v buňkách nakaženého jedince a chybějící nebo velmi nízkou replikací viru. V tomto stádiu je velmi obtížná detekce infekce.

Spojení BDV s psychickými poruchami je vysvětlováno tzv. viro-psycho-imunologickým modelem. U predisponovaného jedince pro vznik psychické poruchy (pozitivní psychiatrická anamnéza) s latentní formou BDV infekce dojde k její aktivaci působením řady faktorů na imunitní systém. Mechanismus účinku Borna disease viru v CNS je dvojitý: přímý a nepřímý. Přímý účinek je způsoben přímou vazbou virových antigenů na neurotransmitterové receptory. Nepřímý účinek je vyvolán působením interleukinů a ostatních faktorů vznikajících při zánětu, které následně ovlivňují neurotransmitterové systémy.

Výskyt BDV infekce je celosvětový. Její pozitivita se však pohybuje v širokém rozmezí, od nulové nebo velmi nízké positivity až po vysoký výskyt BDV infekce u pacientů s psychickými poruchami ve srovnání se zdravými jedinci. Toto široké rozpětí je vysvětlováno více faktory. Roli hraje použitá laboratorní metoda, vyšetřený materiál a způsob detekce BDV infekce (při stanovení CIC a Ag je popisována výrazně vyšší pozitivita ve srovnání se stanovením Ab nebo RNA). Výsledky se liší podle vyšetřovaného souboru (diagnostické zastoupení, věk, pacienti v akutním stavu nebo ve stádiu remise...) a podle lokality (jsou oblasti s vyšším výskytem BDV infekce jako např. střední Evropa). V roce 2005 Chalmers publikoval souhrnný článek týkající se positivity BDV infekce u lidí. Pro nesourodou metodiku studií BDV infekce nebylo možné provést metaanalýzu.

Při detekci BDV infekce je možné využít řadu laboratorních metod a materiálů. Lze detekovat virové antigeny, protilátky, cirkulující imunokomplexy a RNA viru v krvi, mozkomíšním moku a mozkové tkáni. V současné době je pro stanovení diagnózy BDV infekce doporučováno využití detekce BDV Ag a CIC pomocí metody ELISA, jejíž autorem jsou prof. Hanns Ludwig a dr. Liv Bode z Německa.

BDV infekce je v některých případech spojována s těžší psychopatologií pacientů, s vyšší frekvencí atak psychického onemocnění, delším trváním fáze psychické poruchy a přetrváváním reziduálních příznaků. Některé studie popisují i nedostatečnou odpověď na farmakoterapii a vyšší výskyt farmakorezistence.

Nejvíce dat o BDV pozitivitě u psychických poruch se týká pacientů s afektivními poruchami (depresivní a bipolární afektivní poruchy). Řada studií zkoumala pacienty s psychotickými poruchami (onemocnění schizofrenního okruhu), s obsedantně

kompulsivní poruchou nebo se jednalo o smíšené soubory pacientů s různými psychiatrickými diagnózami. Menší počet prací stanovoval pozitivitu BDV infekce u jiným diagnostických skupin pacientů: neurologické diagnózy (epilepsie, roztroušená skleróza, amyotrofická laterální skleróza, Parkinsonova choroba...), chirurgičtí pacienti po operačních zákrocích, pacienti s postižením imunitního systému (HIV pozitivní, stav po imunosupresní medikaci, s malignitami...), děti, pacienti s demencí a řada dalších.

Stále nezodpovězenou otázkou je, jaký a jak velký podíl má BDV infekce na vznik a průběh psychických poruch. Je první přítomnost latentní infekce, která při aktivaci působením stresu nebo jiných faktorů u predisponovaného jedince podpoří vznik nové epizody psychické poruchy, ovlivní její délku trvání a zhorší psychopatologii? Anebo je první psychická porucha, během které dochází k ovlivnění imunitního systému (i vlivem stresu, který pro nemocného může psychické onemocnění znamenat)? Na základě těchto imunitních změn, se jedinec s psychickou poruchou buď snáze nakazí BDV infekcí nebo dojde sekundárně k aktivaci do té doby latentní infekce.

Amantadin je považován za nejvýhodnější virostatikum k léčbě bornavirové infekce. Preparát má prokázanou účinnost *in vivo* i *in vitro* a při léčbě je velmi dobře pacienty tolerovaný. Nejprve byly publikována kazuistická sdělení popisující léčbu amantadinem u psychiatrických pacientů a v souvislosti s virostatickou léčbou došlo ke zlepšení psychického stavu. Dále byly provedeny otevřené a placebem kontrolované studie u farmakorezistentních pacientů s diagnózou depresivní poruchy. Byla popsáno zlepšení psychického stavu u pacientů užívajících amantadin v kombinaci s antidepressivní medikací. Toto zlepšení bylo provázeno poklesem positivity BDV infekce. V posledních letech byly provedeny dvojité, placebem kontrolované studie, ale výsledky zatím nebyly publikovány.

Cílem naší praktické části práce bylo detekovat výskyt BDV infekce v populaci psychiatrických pacientů a srovnat pozitivitu BDV CIC se zdravými jedinci bez psychických poruch (dárci krve). V dalších souborech byla navíc zjišťována souvislost této infekce s dalšími charakteristikami.

Praktická část

1. Úvod a cíl práce

2. Detekce BDV CIC (cirkulujících imunokomplexů) v séru pacientů s afektivními a psychotickými poruchami – pilotní studie

- Úvod
- Hypotéza
- Výběr souboru (vstupní a výstupní kritéria)
- Metodika, Statistické metody
- Výsledky
- Závěr

3. Detekce BDV CIC (cirkulujících imunokomplexů) v séru pacientů s afektivními a psychotickými poruchami

- Úvod
- Hypotéza
- Výběr souboru (vstupní a výstupní kritéria)
- Metodika, Statistické metody
- Výsledky
- Závěr

4. Detekce BDV CIC (cirkulujících imunokomplexů) v séru pacientů se závislostí na psychoaktivních látkách

- Úvod
- Hypotéza
- Výběr souboru (vstupní a výstupní kritéria)
- Metodika, Statistické metody
- Výsledky
- Závěr

1. Úvod a cíl práce

V České republice nebyla dosud přítomnost BDV infekce u psychiatrických pacientů sledována, což nás vedlo k provedení studie, která by alespoň částečně zmapovala výskyt BDV infekce u této populace a srovnala s výskytem BDV infekce u kontrolního souboru zdravých jedinců.

Primárním cílem naší práce bylo vyšetření souboru psychiatrických pacientů hospitalizovaných na Psychiatrické klinice Fakultní nemocnice v Plzni, detekce positivity infekce Borna disease virem (cirkulujících imunokomplexů (CIC) v séru) u těchto pacientů a srovnání BDV CIC positivity se souborem zdravých jedinců (dárci krve). Sekundárním cílem bylo stanovení souvislosti BDV CIC positivity s dalšími charakteristikami: s psychopatologií měřenou psychiatrickými škálami, dalšími anamnestickými a demografickými údaji (pohlaví, věk, diagnóza, počet atak psychické poruchy, infekční onemocnění v anamnéze a v době odběru, kontakt se zvířaty, somatický stav pacientů) a dynamiky positivity BDV infekce během hospitalizace pacientů.

Anamnestické, demografické a ostatní údaje byly zjištěny na základě vyšetření pacientů a z jejich zdravotnické dokumentace.

Studie stanovující pozitivitu BDV cirkulujících imunokomplexů u psychiatrických pacientů vznikla za spolupráce s RNDr. Hanou Kabíčkovou, Klinlab, s.r.o., Ústřední vojenská nemocnice Praha-Střešovice, která provedla laboratorní stanovení přítomnosti BDV CIC v séru psychiatrických pacientů a v séru kontrolního souboru dárců krve.

Laboratorní metoda ELISA použitá ke stanovení BDV CIC byla poskytnuta dr. Liv Bode, Robert Koch Institute, Berlin, a prof. dr. Hanns Ludwigem, Free University of Berlin, Německo, kteří jsou autoři této metody.

Studie byla schválena Lokální etickou komisí Fakultní nemocnice v Plzni pod registračním číslem 303/2001.

Statistické zpracování výsledků

Statistické zpracování výsledků studie provedl RNDr. Ing. František Šetrná, oddělení zdravotního účtování a statistiky Fakultní nemocnice v Plzni.

Většina dat v této studii jsou ordinální data. U veličin s větším počtem možných hodnot byly pro testy veličin použity neparametrické, pořadové testy, tj. pořadové

korelace (Spearmanův a Kendallův test) pro testy závislostí, Wilcoxonův test pro porovnání středních hodnot. U veličin s menším počtem možných hodnot byly pro testování závislostí použity kontingenční tabulky s následujícím chí kvadrát testem. Vzhledem k nepříliš velkým počtům měření byly použity komprimace na čtyřpolní tabulky vhodným sloučením vedlejších hodnot. Pokud výsledné četnosti nevyhovovaly použití chí kvadrát testu, byly významnosti výsledných čtyřpolních tabulek přepočteny exaktním Fischerovým testem.

Praktická část práce se skládá ze 3 částí (3 různých vyšetřených souborů).

První soubor byl vyšetřen jako pilotní. Do studie byli zařazeni pacienti s psychickými poruchami (afektivní poruchy, onemocnění schizofrenního okruhu) hospitalizovaní na Psychiatrické klinice v letech 2001-2003. Pacienti byli jednorázově během hospitalizace vyšetřeni na pozitivitu BDV cirkulujících imunokomplexů (CIC). Pozitivita BDV u psychiatrických pacientů byla srovnána s kontrolním souborem zdravých jedinců (dárců krve). Dále byla sledována souvislost BDV CIC positivity s ostatními demografickými a anamnestickými charakteristikami vyšetřovaných pacientů (věk, pohlaví, rodinná anamnéza ohledně neuropsychiatrické zátěže, počet atak psychického onemocnění, kontakt se zvířaty, přítomnost infekčního onemocnění).

Druhý soubor: Do studie byli zařazeni pacienti se stejnými diagnózami jako v souboru prvním (afektivní poruchy, onemocnění schizofrenního okruhu). Jednalo se o pacienty hospitalizované na psychiatrické klinice v letech 2007-2008. Pacienti byli vyšetřeni na pozitivitu BDV CIC na počátku hospitalizace v den 0, pak v den 28 a 56. Ve stejných intervalech byla hodnocena aktuální psychopatologie pomocí psychiatrických škál. Byla sledována pozitivita BDV, psychopatologie, dynamika positivity BDV CIC v průběhu času. Pozitivita BDV u psychiatrických pacientů byla srovnána s kontrolním souborem zdravých jedinců. Dále byla sledována souvislost BDV CIC positivity s ostatními demografickými a anamnestickými charakteristikami vyšetřovaných pacientů (věk, pohlaví, rodinná anamnéza ohledně neuropsychiatrické zátěže, počet atak psychického onemocnění, kontakt se zvířaty, přítomnost infekčního onemocnění v anamnéze a v době odběru krve na BDV).

Třetí soubor: Do studie byli zařazeni pacienti s diagnózou závislosti na alkoholových a nealkoholových psychoaktivních látkách hospitalizovaní na

Psychiatrické klinice FN v Plzni v letech 2006-2008. Pacienti byli vyšetřeni na pozitivitu BDV CIC vyšetřeni 2x: na počátku hospitalizace (po přijetí na detoxifikační jednotku, tzn. v době aktivního abusu anebo krátce po abusu psychoaktivních látek). Druhý odběr byl proveden po 8 týdnech hospitalizace (po 8 týdnech abstinence). Pozitivita BDV na počátku hospitalizace a po 8 týdnech abstinence byla srovnána s pozitivitou u kontrolního souboru zdravých jedinců. Dále byla srovnána pozitivita BDV u pacientů se závislostí v době aktivního abusu a po době abstinence. Byla sledována souvislost BDV CIC positivity s ostatními demografickými a anamnestickými charakteristikami vyšetřovaných pacientů (věk, pohlaví, rodinná anamnéza ohledně neuropsychiatrické zátěže, počet let abusu alkoholu nebo ostatních nealkoholových psychoaktivních látek, kontakt se zvířaty, přítomnost infekčního onemocnění v anamnéze a v době odběru krve na přítomnost BDV).

2. Název: Detekce BDV CIC v séru pacientů s afektivními a psychotickými poruchami – pilotní studie

Úvod: V rámci pilotní studie byli vyšetřeni pacienti hospitalizovaní na Psychiatrické klinice Fakultní nemocnice v Plzni v letech 2001-2003. Pacienti byli vyšetřeni v průběhu hospitalizace. Vyšetření na pozitivitu BDV CIC nebyla prováděna ve stejném období hospitalizace.

Hypotéza

- U pacientů s psychickými poruchami je vyšší pozitivita infekce Borna disease virem (BDV) ve srovnání se zdravými jedinci.

Cíle studie

Primární cíle

- Stanovení positivity (virových CIC) infekce BDV v séru pomocí imunochemické metody ELISA u pacientů s psychickými poruchami hospitalizovaných na Psychiatrické klinice Fakultní nemocnice v Plzni
- Stanovení positivity infekce BDV u kontrolního souboru zdravých jedinců, tzn. jedinců bez psychické poruchy (dárci krve)

Sekundární cíle

- Srovnání celkové positivity infekce BDV u pacientů s psychickými poruchami a positivity u kontrolního souboru zdravých jedinců
- Stanovení positivity infekce BDV a její souvislosti s pohlavím, věkem, rodinnou anamnézou ohledně neuropsychiatrické zátěže
- Stanovení positivity infekce BDV a její souvislosti s počtem atak psychického onemocnění
- Stanovení positivity infekce BDV a její souvislosti s kontaktem se zvířaty
- Srovnání positivity infekce BDV a její souvislosti s diagnózou (F 2 psychotické poruchy, F 3 afektivní poruchy)

Výběr a charakteristika souboru

Skupina A

- Do studie byli zařazeni pacienti trpící psychickými poruchami ze skupin afektivních poruch F 3 (depressivní porucha středního až těžkého stupně, s psychotickými příznaky nebo bez nich - F 32, rekurentní depressivní porucha - F 33, bipolární afektivní porucha - F 31), pacienti s onemocněním schizofrenního okruhu F 2 (akutní psychotické poruchy - F 23, schizofrenie - F 20, schizoafektivní poruchy - F 25) splňující diagnostická kritéria podle MKN-10.
- Pacienti hospitalizovaní na Psychiatrické klinice FN v Plzni
- Počet zařazených pacientů: 46

Vstupní kritéria

- Muži a ženy ve věku od 18 let hospitalizovaní na Psychiatrické klinice Fakultní nemocnice v Plzni v letech 2001-2003
- Pacienti trpící psychickou poruchou ze skupiny afektivních poruch F 3 (depressivní porucha středního až těžkého stupně, s psychotickými příznaky nebo bez nich, rekurentní depressivní porucha, bipolární

afektivní porucha nebo ze skupiny onemocnění schizofrenního okruhu F 2 (akutní psychotické poruchy, schizofrenie, schizoafektivní poruchy) diagnostikované dle MKN 10.

- Všichni pacienti, kteří podepsali informovaný souhlas se vstupem do studie.

Kontrolní soubor

Skupina B

- Jako kontrolní skupina byl vyšetřen soubor zdravých jedinců bez psychiatrické diagnózy. Jednalo se o dárce krve z transfúzního oddělení Ústřední vojenské nemocnice Praha-Střešovice.
- Počet vyšetřených zdravých jedinců: 126

Vylučovací kritéria

- Do studie nebyli zařazeni pacienti, kteří nepodepsali informovaný souhlas se vstupem do studie
- Do studie nebyli zařazeni pacienti s jinou psychiatrickou diagnózou než je uvedeno ve vstupních kritériích
- Pacienti s anamnézou maligního onemocnění, s anamnézou: chemoterapie nebo aktinoterapie
- Pacienti s prokázaným a klinicky manifestním imunodeficitem
- Pacienti užívající medikaci s imunosupresivním účinkem

Metodika

Pacienti, kteří byli zařazeni do studie byli v průběhu hospitalizace vyšetřeni na pozitivitu BDV infekce (CIC) a v dobu odběru byl s nimi vyplněn anamnestický dotazník (viz. níže).

Vyšetření na pozitivitu infekce BDV - laboratorní metody

Od všech účastníků studie (psychiatřiční pacienti a dárce krve) byly odebrány vzorky venózní krve o objemu 4ml (citrátová krev). Do 6 hodin po odběru byla

oddělena plazma odstředěním, rozdělena na 2 alikvoty o objemu 0,5ml, zmražena a uložena při -80 stupních do dalšího zpracování.

Séra psychiatrických pacientů a dárců krve byla vyšetřena na pozitivitu BDV CIC pomocí ELISA metody. Při laboratorním zpracování a vyšetření vzorků byla použita promývačka MRW Dynex a k odečtení výsledků ELISA reader MUREX MRX. Použitou laboratorní metodu vytvořila Dr. Liv Bode z Institutu Roberta Kocha v Berlíně a prof. Hanns Ludwig z Free Univerzity v Berlíně, kteří nám tuto metodu pro naši studii poskytli. K detekci BDV CIC se využívají specifické monoklonální protilátky, které se vážou na antigenní část CIC. Autoři metody nám pro naši studii poskytly monoklonální protilátky W1 a Kfu2. Protilátková část je vizualizována pomocí enzymatické reakce (alkalická fosfatáza). Vzorky byly testovány v titru 20 a v tomto titru byly hodnoceny jako pozitivní (sérum s titrem 20 a více) a negativní. Tato metoda je semikvantitativní, hladiny BDV CIC jsou hodnoceny v následujících hladinách (rozmezích): 0 (negativní), ? (sporný výsledek), (+) (hraničně pozitivní), + až ++++ (jasně pozitivní nález).

Při vyšetření pilotního souboru jsme použili pouze hodnocení pozitivní ((+) až ++++) nebo negativní nález BDV infekce (0, ?).

Laboratorní stanovení BDV CIC u obou souborů provedla RNDr. Hana Kabíčková, Oddělení molekulární biologie a parazitologie, Klinlab s.r.o., Ústřední vojenská nemocnice, Praha.

Ostatní zjišťované údaje:

V den odběru byl s pacienty vyplněn anamnestický dotazník (přesné znění viz přílohy) a byly zjišťovány další údaje, které mohou ovlivňovat nebo mít souvislost s pozitivitou BDV infekce.

- **Anamnestický dotazník** (rodinná a osobní anamnéza) – podrobněji viz dotazník
- **Rodinná anamnéza** (neuropsychiatrická zátěž v rodině, abusus návykových látek v rodině)
- **Osobní anamnéza** (somatická onemocnění, infekční onemocnění - borrelióza, CMV, EBV, hepatitidy, TBC, operace, alergie...)
- **Kontakt se zvířaty** (chovatelství, domácí „mazlíčci“, hospodářská zvířata, práce v zemědělství...), typ zvířete, doba trvání kontaktu

- **Psychiatrická anamnéza** (od kdy psychiatricky léčen, diagnóza, počet hospitalizací, pokud možno počet fází onemocnění a doba, kdy proběhly, poslední fáze - doba trvání)

Charakteristiky vyšetřeného souboru A (psychiatřiční pacienti)

- **Počet zařazených pacientů, zastoupení pohlaví:** Do studie bylo zařazeno a vyšetřeno 46 pacientů, 17 mužů a 29 žen, hospitalizovaných na Psychiatrické klinice FN v Plzni v letech 2001-2003.
- **Věk souboru:** 19-76 let, průměrný věk 44,35 roku (směrodatná odchylka = 15,82), medián 45 let.
- **Počet atak psychických poruch:** od 1 do 15, průměrný počet atak 4,182 (směrodatná odchylka = 3,919), medián 3 ataky.
- **Rodinná anamnéza ohledně neuropsychiatrické zátěže:** Údaje byly získány u 44 pacientů, 2 pacienti neuvedli.

Tabulka 1. Rodinná anamnéza ohledně neuropsychiatrické zátěže

	Pozitivní RA počet (%)	Negativní RA počet (%)
Rodinná anamnéza (RA)	10 (22,73%)	34 (77,27%)

- **Diagnostické složení vyšetřeného souboru:**

Tabulka 2. Diagnostické složení vyšetřeného souboru

Diagnóza	Celkový počet (%)	Počet mužů	Počet žen
Depresivní porucha	29 (63%)	7	22
Bipolární afektivní porucha	7 (15,22%)	3	4
Onemocnění schizofrenního okruhu	10 (21,74%)	7	3

- **Kontakt se zvířetem:** Údaje byly získány u 44 pacientů, 2 pacienti neuvedli.

Tabulka 3. Kontakt se zvířaty

	Ano počet (%)	Ne počet (%)

Kontakt se zvířetem	30 (68,18%)	14 (31,82%)
----------------------------	-------------	-------------

Charakteristiky vyšetřeného souboru B (kontrolní soubor - dárce krve)

- **Počet vyšetřených jedinců, zastoupení pohlaví:** V kontrolním souboru bylo vyšetřeno 126 dárců krve, 97 mužů a 29 žen
- **Věk souboru:** 25-69 let, průměrný věk 40,31 roku (směrodatná odchylka = 11,32), medián 37 let.

Výsledky a metody statistického zpracování:

Při vyšetření pilotního souboru psychiatrických pacientů nebyla potvrzena hypotéza, že u pacientů s psychickými poruchami je vyšší pozitivita infekce Borna disease virem (BDV) ve srovnání se zdravými jedinci.

Primární cíle

Pozitivita (virových CIC) infekce BDV v séru u pacientů s psychickými poruchami

Pozitivita BDV byla prokázána u 12 pacientů (26,1%).

Tabulka 4. Rozložení positivity BDV podle diagnóz a pohlaví

Diagnóza	Počet vyšetřených			Počet pozitivních		
	celkem	muži	ženy	celkem	muži	ženy
Depresivní porucha	29	7	22	8	2	6
Bipolární afektivní porucha	7	3	4	2	0	2
Onemocnění schizofrenního okruhu	10	7	3	2	1	1

Pozitivita BDV CIC u kontrolního souboru zdravých jedinců (dárce krve)

- Pozitivita BDV byla prokázána u 47 jedinců (37,3 %) (celkový počet 126).

Sekundární cíle

Srovnání celkové positivity infekce BDV u pacientů s psychickými poruchami a positivity u kontrolního souboru zdravých jedinců

Pozitivita BDV u psychiatrických pacientů byla prokázána u 26,1%, u kontrolního souboru zdravých jedinců ve 37,3%. Rozdíl mezi soubory nebyl statisticky významný (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,222$).

Věk srovnávaných souborů se statisticky významně nelišil, lišil se zastoupením pohlaví, ale v žádném vyšetřovaném souboru nebyla prokázána souvislost mezi pozitivitou BDV infekce a pohlavím.

Souvislost BDV positivity s pohlavím

Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou a pohlavím (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,243$).

Souvislost BDV positivity s věkem

S rostoucím věkem pacientů klesala pozitivita BDV infekce, výsledek se blíží statistické významnosti (užitá statistická metoda: Kruskal Wallisův test, $p=0,072$).

Souvislost BDV positivity s rodinnou anamnézou ohledně neuropsychiatrické zátěže

Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou a pozitivní rodinnou anamnézou (užitá statistická metoda: kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,557$).

Souvislost BDV positivity s diagnózou

Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou a diagnózou (afektivní poruchy a onemocnění schizofrenního okruhu) (užitá statistická metoda: kontingenční tabulky, chi-kvadrát test, $p=0,883$).

Souvislost BDV positivity s počtem atak psychického onemocnění

Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou a počtem atak psychické poruchy (užitá statistická metoda: Kruskal Wallisův test, $p=0,635$).

Souvislost BDV positivity s kontaktem se zvířaty

Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou a kontaktem se zvířaty (užitá statistická metoda: kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,895$).

Tabulka 5. Souvislost BDV positivity s následujícími parametry

Srovnávaný parametr	Hladina statistické významnosti p=	Použitá statistická metoda
Pohlaví	0,243	kontingenční tabulky, chi-kvadrát test
Věk	0,072	Kruskal Wallisův test
Rodinná anamnéza	0,557	kontingenční tabulky, chi-kvadrát test
Diagnóza	0,883	kontingenční tabulky, chi-kvadrát test
Počet atak onemocnění	0,635	Kruskal Wallisův test
Kontakt se zvířaty	0,895	kontingenční tabulky, chi-kvadrát test

Závěr

- Při vyšetření pilotního souboru psychiatrických pacientů nebyla potvrzena hypotéza, že u pacientů s psychickými poruchami je vyšší pozitivita infekce Borna disease virem (BDV) ve srovnání se zdravými jedinci.
- U pacientů s psychickými poruchami hospitalizovanými na Psychiatrické klinice jsme prokázali pozitivitu BDV CIC v séru u 12 pacientů (26,1%) (celkový počet vyšetřených pacientů: 46). U kontrolního souboru zdravých jedinců (dárců krve) byla pozitivita BDV CIC prokázána u 47 jedinců (37,3 %) (celkový počet 126).
- Nebyl prokázán statisticky významný rozdíl v pozitivitě BDV CIC u pacientů s psychickými poruchami a kontrolním souborem.
- V našem souboru pacientů s psychickými poruchami nebyla prokázána statisticky významná souvislost positivity BDV infekce a diagnózy (afektivní poruchy, onemocnění schizofrenního okruhu), rodinné anamnézy. Nebyla prokázána souvislost s počtem atak psychické poruchy.
- Nebyla prokázána souvislost BDV positivity a kontaktem se zvířaty.
- Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi pozitivitou BDV a pohlavím.

- Souvislost s věkem vyšetřených psychiatrických pacientů se blíží statistické významnosti. BDV pozitivita byla častější u mladších pacientů, s rostoucím věkem pozitivita BDV klesala.

3. Název: Detekce BDV CIC (cirkulujících imunokomplexů) v séru pacientů s afektivními a psychotickými poruchami

Úvod: V této části studie byli vyšetřeni na pozitivitu BDV pacienti hospitalizovaní na Psychiatrické klinice Fakultní nemocnice v Plzni. Odběry na BDV byly prováděny opakovaně v pevně stanovených intervalech a ve stejných intervalech byla hodnocena tíže psychopatologie pomocí psychiatrických hodnotících škál.

Hypotéza

- U pacientů s psychickými poruchami je vyšší pozitivita infekce Borna disease virem (BDV) (CIC) ve srovnání se zdravými jedinci.
- Pozitivita BDV závisí na fázi psychického onemocnění. Snížení BDV CIC positivity koreluje se zlepšením psychického stavu.

Cíle studie

Primární cíle

- Stanovení positivity (virových CIC) infekce BDV v séru pomocí imunochemické metody ELISA u pacientů s psychickými poruchami, hospitalizovaných na Psychiatrické klinice Fakultní nemocnice v Plzni v letech 2007-2008
- Stanovení positivity BDV na počátku hospitalizace – v den 0, v den 28 a 56
- Měření tíže psychopatologie pomocí škál (CGI, CGI-I, MADRS, SDS, BPRS)
- Stanovení positivity infekce BDV u kontrolního souboru zdravých jedinců, tzn. jedinců bez psychické poruchy (dárci krve)

Sekundární cíle

- Srovnání celkové positivity infekce BDV u pacientů s psychickými poruchami a positivity u kontrolního souboru zdravých jedinců
- Stanovení positivity infekce BDV a její souvislosti s tíží psychopatologie měřené výše uvedenými škálami
- Stanovení míry positivity infekce BDV a její souvislosti s tíží psychopatologie

- Stanovení positivity infekce BDV a její souvislosti s pohlavím, věkem, rodinnou anamnézou ohledně neuropsychiatrické zátěže
- Stanovení positivity infekce BDV a její souvislosti s prodělaným infekčním onemocněním před vyšetřením BDV positivity
- Stanovení positivity infekce BDV a její souvislosti s počtem prodělaných fází psychického onemocnění
- Stanovení positivity infekce BDV a její souvislosti s kontaktem se zvířaty
- Srovnání positivity infekce BDV a její souvislosti s diagnózou (F 2 psychotické poruchy, F 3 afektivní poruchy)

Výběr a charakteristika souboru

Skupina A

- Do studie byli zařazeni pacienti trpící psychickými poruchami ze skupin afektivních poruch F 3 (depresivní porucha středního až těžkého stupně, s psychotickými příznaky nebo bez nich - F 32, rekurentní depresivní porucha - F 33, bipolární afektivní porucha - F 31), pacienti s onemocněním schizofrenního okruhu F 2 (akutní psychotické poruchy - F 23, schizofrenie - F 20, schizoafektivní poruchy - F 25) splňující diagnostická kritéria podle MKN-10.
- Pacienti hospitalizovaní na Psychiatrické klinice FN v Plzni v letech 2007-2008
- Pacienti ze skupiny A byli vyšetřeni v den 0, 28, 56
- Počet zařazených pacientů: 39

Vstupní kritéria

- Muži a ženy ve věku od 18 let hospitalizovaní na Psychiatrické klinice Fakultní nemocnice v Plzni od roku 2007-2008
- Pacienti trpící psychickou poruchou ze skupiny afektivních poruch F 3 (depresivní porucha středního až těžkého stupně, s psychotickými příznaky nebo bez nich, rekurentní depresivní porucha, bipolární afektivní porucha nebo ze skupiny onemocnění schizofrenního okruhu F 2 (akutní psychotické poruchy, schizofrenie, schizoafektivní poruchy) diagnostikované dle MKN 10.
- Všichni pacienti, kteří podepsali informovaný souhlas se vstupem do studie.

Kontrolní soubor

Skupina B

- Jako kontrolní skupina byl vyšetřen soubor zdravých jedinců bez psychiatrické diagnózy. Jednalo se o dárce krve z transfúzního oddělení Ústřední vojenské nemocnice Praha-Střešovice.
- Počet vyšetřených zdravých jedinců: 126

Vylučovací kritéria

- Do studie nebyli zařazeni pacienti, kteří nepodepsali informovaný souhlas se vstupem do studie
- Do studie nebyli zařazeni pacienti s jinou psychiatrickou diagnózou než je uvedeno ve vstupních kritériích
- Pacienti s anamnézou maligního onemocnění, s anamnézou: chemoterapie nebo aktinoterapie
- Pacienti s prokázaným a klinicky manifestním imunodeficitem
- Pacienti užívající medikaci s imunosupresivním účinkem

Metodika

Pacienti, kteří byli zařazeni do studie, byli na počátku hospitalizace, a pak v pravidelných intervalech (v den 28 a 56), vyšetřeni na pozitivitu BDV infekce (CIC). Ve stejných obdobích byl hodnocen jejich psychický stav, psychopatologie byla měřena pomocí škál (viz níže).

Interval náběrů BDV CIC byl v naší studii 4 týdny, tato doba je dostačující k detekci změn hladin cirkulujících imunokomplexů. Druhým důvodem bylo, že po 4 týdnech lze již očekávat i výraznější změny psychopatologie.

Hodnocení psychopatologie a použité škály:

- **Všichni zařazení pacienti:** CGI (globální klinický dojem), CGI-I (globální klinický dojem-zlepšení).
- **Pacienti s depresivní poruchou nebo depresivní fází v rámci bipolární afektivní poruchy:** MADRS (stupnice Montgomery a Asbergové pro posuzování deprese), SDS (Zungova sebesuzovací stupnice deprese)
- **Pacienti s manickou fází v rámci bipolární afektivní poruchy:** YMRS (Youngova škála pro posuzování mánie)
- **Pacienti s psychotickými poruchami:** PANSS (škála pro hodnocení pozitivních a negativních příznaků)

Vyšetření na pozitivitu infekce BDV

Od všech účastníků studie (psychiatrickí pacienti a dárce krve) byly odebrány vzorky venózní krve o objemu 4ml (citrátová krev). Do 6 hodin po odběru byla oddělena plazma odstředěním, rozdělena na 2 alikvoty o objemu 0,5ml, zmrazena a uložena při -80 stupních do dalšího zpracování.

Séra psychiatrických pacientů a dárců krve byla vyšetřena na pozitivitu BDV CIC pomocí ELISA metody. Při laboratorním zpracování a vyšetření vzorků byla použita promývačka MRW Dynex a k odečtení výsledků ELISA reader MUREX MRX. Použitou laboratorní metodu vytvořila Dr. Liv Bode z Institutu Roberta Kocha v Berlíně a prof. Hanns Ludwig z Free Univerzity v Berlíně, kteří nám tuto metodu pro naši studii poskytli. K detekci BDV CIC se využívají specifické monoklonální protilátky, které se vážou na antigenní část CIC. Autoři metody nám pro naši studii poskytly monoklonální protilátky W1 a Kfu2. Protilátková část je vizualizována pomocí enzymatické reakce (alkalická fosfatáza). Vzorky byly testovány v titru 20 a v tomto titru byly hodnoceny jako pozitivní (sérum s titrem 20 a více) a negativní. Tato metoda je semikvantitativní, hladiny BDV CIC jsou hodnoceny v následujících hladinách (rozmezích): 0 (negativní), ? (sporný výsledek), (+) (hraničně pozitivní), + až ++++ (jasně pozitivní nález).

Laboratorní stanovení BDV CIC u obou souborů provedla RNDr. Hana Kabíčková, Oddělení molekulární biologie a parazitologie, Klinlab s.r.o., Ústřední vojenská nemocnice, Praha.

Ostatní zjišťované údaje:

V den 0 byl s pacienty vyplněn anamnestický dotazník (přesné znění viz přílohy) a byly zjišťovány další údaje.

- **Anamnestický dotazník** (rodinná a osobní anamnéza) – podrobněji viz. dotazník
- **Rodinná anamnéza** (neuropsychiatrická zátěž v rodině, abusus návykových látek v rodině)
- **Osobní anamnéza** (somatická onemocnění, infekční onemocnění-borrelióza, CMV, EBV, hepatitidy, TBC, operace, alergie...)
- **Medikace** (v době odběru)
- **Kontakt se zvířaty** (chovatelství, domácí „mazlíčci“, hospodářská zvířata, práce v zemědělství...), typ zvířete, doba trvání kontaktu
- **Prodělaná viróza či jiné infekční onemocnění** v posledních 2-4 týdnech před odběrem
- **Psychiatrická anamnéza** (od kdy psychiatricky léčen, diagnóza, počet hospitalizací, pokud možno počet fází onemocnění a doba, kdy proběhly, poslední fáze - doba trvání)
- **Zhodnocení psychopatologie pomocí škál** (pacienti s depresivní poruchou: CGI, CGI-I, SDS, MADRS, pacienti s bipolární afektivní poruchou, depresivní fáze: stejné škály jako u depresivní poruchy, manická fáze: CGI, CGI-I, YMRS, pacienti s psychotickou poruchou: CGI, CGI-I, PANSS) v den 0, 28 a 56

Tabulka 1. Časový plán studie

Návštěva	1.	2.	3.
Den/měsíc	1. den (den 0) (počátek hosp.)	Den 28 1 měsíc	Den 56 2 měsíce
Jméno pacienta (iniciály)	X		
Informovaný souhlas	X		
Vstupní a výstupní kritéria	X		
Pohlaví	X		
Věk	X		
Diagnóza	X		
Anamnestický dotazník (RA, OA)	X		
Laboratorní vyšetření na BDV (CIC)	X	X	X
CGI	X	X	X
CGI-I		X	X
MADRS	X	X	X
SDS	X	X	X
PANSS	X	X	X
Infekční onemocnění v posledních 2-4 týdnech	X	X	X

Tolerance kontrol (návštěv):

Návštěva 1: 0-1 den

Návštěva 2: +/- 3 dny

Návštěva 3: +/- 1 týden

Charakteristiky vyšetřeného souboru A

- **Počet vyšetřených jedinců, zastoupení pohlaví:** V souboru bylo vyšetřeno v den 0: 39 pacientů, 13 mužů a 26 žen, v den 28: 26 pacientů, 11 mužů a 15 žen a v den 56: 17 pacientů, 10 mužů a 7 žen.

Tabulka 2. Počet vyšetřených pacientů a rozdělení podle pohlaví

Den	Celkový počet (%)	Počet mužů	Počet žen
Den 0	39 (100%)	13	26
Den 28	26 (66,67%)	11	15
Den 56	17 (43,59%)	10	7

- **Věk souboru:** v den 0: 22-61 let, průměrný věk 42,59 roku (směrodatná odchylka = 10,86), median 44 let .
- **Počet atak psychického onemocnění:** od 1 do 20 atak, průměrný počet 2,667 roku (směrodatná odchylka = 2,977), median 37 let.

- **Rodinná anamnéza ohledně neuropsychiatrické zátěže:** Údaje byly získány u 38 pacientů, 1 pacient je neuváděn.

Tabulka 3. Rodinná anamnéza - neuropsychiatrická zátěž

	Pozitivní RA počet (%)	Negativní RA počet (%)
Rodinná anamnéza (RA)	19 (50%)	19 (50%)

- **Diagnostické složení vyšetřené souboru:** Rozdělení do diagnostických skupin bylo provedeno do 2 hlavních skupin: afektivní poruchy a psychotická onemocnění (onemocnění schizofrenního okruhu).
- V souboru bylo 29 pacientů s afektivními poruchami, z toho 3 s diagnózou bipolární afektivní porucha a 10 pacientů s psychotickým onemocněním.

Tabulka 4. Zastoupení diagnóz v souboru

Diagnóza	Celkový počet (%)	Počet mužů	Počet žen
Afektivní poruchy	29 (74,4%)	10	19
Psychotické poruchy	10 (25,6%)	3	7

- **Viróza nebo jiné infekční onemocnění v době odběru v den 0, 28 a 56**

Tabulka 5. Infekční onemocnění v době odběru

Infekční onemocnění/ viróza	Den	Ano počet (%)	Ne počet (%)
	Den 0	6 (15,4%)	33 (84,6%)
	Den 28	2 (7,7%)	24 (92,3%)
	Den 56	2 (11,8%)	15 (88,2%)

- **Kontakt se zvířetem:** Údaje byly získány u 37 pacientů, 2 pacienti je neuváděli.

Tabulka 6. Kontakt se zvířaty

	Ano počet (%)	Ne počet (%)
Kontakt se zvířetem	25 (67,6%)	12 (32,4%)

Charakteristiky kontrolního souboru (dárci krve)

- **Počet vyšetřených jedinců, zastoupení pohlaví:** V kontrolním souboru bylo vyšetřeno 126 dárců krve, 97 mužů a 29 žen
- **Věk souboru:** 25 - 69 let, průměrný věk 40,31 roku (směrodatná odchylka = 11,32), medián 37 let.

Výsledky a metody statistického zpracování

Při vyšetření souboru pacientů s psychickými poruchami byla potvrzena hypotéza, že pozitivita infekce Borna disease virem (BDV) (CIC) je vyšší ve srovnání se zdravými jedinci.

Byla částečně potvrzena i druhá část hypotézy, tj. že pozitivita BDV závisí na fázi psychického onemocnění. Vyšší hladiny BDV CIC (vyšší míra positivity BDV CIC) byla spojena s horší psychopatologií pacientů na počátku hospitalizace, ale při zlepšování psychického stavu pozitivita BDV neklesala.

Primární cíle

Stanovení positivity (virových CIC) infekce BDV v séru u pacientů s psychickými poruchami

- U pacientů s psychickými poruchami jsme prokázali pozitivitu BDV CIC v séru během hospitalizace u 26 pacientů (66,7%) (celkový počet vyšetřených pacientů: 39). V den 0 (na počátku hospitalizace byla prokázána pozitivita u 19 pacientů (48%), v den 28 u 14 pacientů (53,85%, celkový počet vyšetřených pacientů: 26), v den 56 u 9 pacientů (52,94%, celkový počet vyšetřených pacientů: 17).

Tabulka 7. Stanovení positivity BDV na počátku hospitalizace – v den 0, v den 28 a 56

Den	Celkový počet	Počet pozitivních (%)	Počet mužů	Počet pozitivních mužů	Počet žen	Počet pozitivních žen
Den 0	39	19 (48,72%)	13	5	26	14
Den 28	26	14 (53,85%)	11	4	15	10
Den 56	17	9 (52,94%)	10	4	7	5

Tabulka 8. Hladina BDV CIC u psychiatrických pacientů v den 0, 28 a 56 a u kontrolního souboru (dárců krve)

Hladina a BDV CIC	Psychiatrickí pacienti									Dárci krve		
	Den 0 (n=39)			Den 28 (n=26)			Den 56 (n=17)			(n=126)		
	No (%)	No ženy	No muži	No (%)	No ženy	No muži	No (%)	No ženy	No muži	No (%)	No ženy	No muži
pozitivní	19 (48)	14	5	14 (53,85)	10	4	9 (52,94)	6	3	47 (37,3)	10	37
+	12	9	3	6	5	1	4	2	2	44 (34,9)	9	35
++	4	2	2	4	2	2	3	2	1	3 (2,4)	1	2
+++	3	3	0	4	2	2	2	1	1	0	0	0
++++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
negativní	20	12	8	12	5	7	8	2	6	79	19	60

Tabulka 9. Hladiny BDV CIC u psychiatrických pacientů v den 0, den 28 a 56

Číslo pacienta	Pohlaví	BDV den 0	BDV den 28	BDV den 56
1	žena	xxx	nenabráno	nenabráno
2	žena	x	nenabráno	nenabráno
3	žena	negativní	nenabráno	nenabráno
4	žena	negativní	nenabráno	nenabráno
5	žena	x	nenabráno	nenabráno
6	žena	xxx	xxx	nenabráno
7	muž	negativní	negativní	negativní
8	žena	negativní	negativní	negativní
9	žena	negativní	nenabráno	nenabráno
10	žena	negativní	negativní	nenabráno
11	muž	x	negativní	negativní
12	muž	negativní	negativní	negativní
13	žena	negativní	nenabráno	nenabráno
14	žena	x	negativní	negativní
15	muž	negativní	negativní	negativní
16	muž	negativní	negativní	negativní
17	muž	xx	xx	xxx
18	muž	negativní	negativní	negativní
19	muž	x	negativní	x
20	žena	xx	negativní	xx
21	žena	x	x	x
22	žena	negativní	x	x
23	žena	negativní	xx	xx
24	muž	negativní	nenabráno	nenabráno
25	žena	negativní	nenabráno	nenabráno
26	žena	negativní	xx	nenabráno
27	žena	negativní	x	nenabráno
28	muž	negativní	xxx	nenabráno
29	žena	negativní	x	nenabráno
30	muž	negativní	x	x
31	muž	xx	xxx	xx
32	muž	x	nenabráno	nenabráno
33	žena	x	xx	nenabráno
34	žena	x	x	nenabráno
35	žena	xx	xxx	xxx
36	žena	x	X?	nenabráno
37	žena	x	nenabráno	nenabráno
38	žena	xxx	nenabráno	nenabráno
39	žena	(x)	nenabráno	nenabráno

Měření tíže psychopatologie pomocí škál (CGI, CGI-I, MADRS, SDS, PANSS)

Tabulka 10. CGI v den 0, 28 a 56

	Minimum	Maximum	průměr	Směrodatná odchylka	Medián
CGI v den 0	1	6	4,666667	1,324532	5
CGI v den 28	1	6	3,423077	1,677452	3
CGI v den 56	1	6	2,529412	1,545867	2

Tabulka 11. CGI-I v den 28 a 56

	Minimum	Maximum	průměr	Směrodatná odchylka	Medián
CGI-I v den 28	2	6	3	1,264911	3
CGI-I v den 56	2	6	3,176471	1,467791	3

Tabulka 12. MADRS v den 0, 28 a 56

	Minimum	Maximum	průměr	Směrodatná odchylka	Medián
MADRS v den 0	6	43	22,89286	11,24587	23,5
MADRS v den 28	2	44	17,42105	11,94113	16
MADRS v den 56	3	35	14,72727	11,10037	12

Tabulka 13. SDS v den 0, 28 a 56

	Minimum	Maximum	průměr	Směrodatná odchylka	Medián
SDS v den 0	10	55	34,00	11,43	34,5
SDS v den 28	5	48	30,63	11,98	32
SDS v den 56	11	45	28,55	11,25	28

Tabulka 14. PANSS v den 0, 28 a 56

	Minimum	Maximum	průměr	Směrodatná odchylka	Medián
PANSS v den 0	65	106	85,4	13,88204	83
PANSS v den 28	46	152	79	37,6404	68,5
PANSS v den 56	37	75	63,6	16,02498	73

Pozitivita infekce BDV u kontrolního souboru zdravých jedinců (dárci krve)

- **Počet vyšetřených jedinců, zastoupení pohlaví:** V kontrolním souboru bylo vyšetřeno 126 dárců krve, 97 mužů a 29 žen
- **Věk souboru:** 25 - 69 let, průměrný věk 40,31 roku (směrodatná odchylka = 11,32), medián 37 let
- Pozitivita BDV byla prokázána u 47 jedinců (37,3 %) (celkový počet 126).

Sekundární cíle

Srovnání celkové positivity infekce BDV u pacientů s psychickými poruchami a positivity u kontrolního souboru zdravých jedinců

- **Srovnání charakteristik souboru pacientů a kontrolního souboru:** průměrný věk obou souborů se statisticky významně nelišil (použitá statistická metoda: Wilcoxonův test nepárový, $p=0,16$). Oba soubory se statisticky významně lišily v zastoupení pohlaví, nicméně pohlaví a pozitivita BDV spolu nesouvisely (použitá statistická metoda: kontingenční tabulky, chi-kvadrát test, $p=0,001$).
- **Srovnání positivity BDV u psychiatrických pacientů se zdravými jedinci:** V souboru pacientů s psychickými poruchami byla prokázána statisticky významně vyšší pozitivita BDV infekce ve srovnání s kontrolním souborem (použitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,004$, komprimace kvantitativní $p=0,001$).
- U pacientů s psychickými poruchami byla statisticky významně vyšší míra (hladina) positivity BDV infekce (častější pozitivita ++ a +++) ve srovnání s kontrolním souborem (použité statistické metody: Fischerův exaktní test pro čtyřpolní tabulky, kontingenční tabulky $p=0,01$).

Stanovení positivity infekce BDV a její souvislosti s tíží psychopatologie měřené výše uvedenými škálami (hodnocení pouze BDV pozitivní x negativní, bez ohledu na míru (hladinu) positivity BDV)

Pozitivita BDV infekce a CGI

Den 0: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 0 a CGI u celého souboru psychiatrických pacientů (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,513$, komprimace kvant. $p=0,129$).

Den 28: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 28 a CGI u celého souboru psychiatrických pacientů (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi kvadrát test $p=0,232$, komprimace kvant. $p=0,495$).

Den 56: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 56 a CGI u celého souboru psychiatrických pacientů (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,707$, komprimace kvant. $p=0,402$).

Nebyla prokázána statistiky významná souvislost mezi BDV pozitivitou a CGI ani při rozdělení souboru podle diagnóz (afektivní poruchy a schizofrenní onemocnění) ve dnech 0, 28 a 56.

Afektivní poruchy:

Den 0: (použitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,437$, komprimace kvant. $p=0,098$).

Den 28: (použitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,463$ komprimace kvant. $p=0,457$)

Den 56: (použitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,37$, komprimace kvant. neprovedeno pro málo měření)

Schizofrenní onemocnění:

Den 0: (použitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,399$, komprimace kvant. neprovedeno pro málo měření)

Den 28: (použitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,392$, komprimace kvant. neprovedeno pro málo měření)

Den 56: (použitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,172$, komprimace kvant. neprovedeno pro málo měření)

Pozitivita BDV infekce a CGI-I

Den 28: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 28 a CGI-I (užitá statistická metoda pořadová korelace, Spearmanův test, $p=0,543$, Kendallův test $p=0,559$).

Den 56: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 56 a CGI-I (užitá statistická metoda pořadová korelace, Spearmanův test, $p=0,236$, Kendallův test $p=0,249$).

Nebyla prokázána statisticky významná souvislost ani při srovnání positivity BDV infekce v den 0 (na počátku hospitalizace) rychlosti úpravy psychického stavu měřené pomocí CGI-I (v den 28 a v den 56).

Pozitivita BDV infekce a MADRS

Den 0: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 0 a MADRS (užitá statistická metoda pořadová korelace, Spearmanův test, $p=0,313$, Kendallův test $p=0,323$).

Den 28: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 28 a MADRS (užitá statistická metoda pořadová korelace, Spearmanův test, $p=0,142$, Kendallův test $p=0,14$).

Den 56: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 56 a MADRS (užitá statistická metoda pořadová korelace, Spearmanův test, $p=0,852$, Kendallův test $p=0,876$).

Pozitivita BDV infekce a SDS

Den 0: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 0 a SDS (užitá statistická metoda pořadová korelace, Spearmanův test, $p=0,9$, Kendallův test $p=0,89$).

Den 28: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 28 a SDS (užitá statistická metoda pořadová korelace, Spearmanův test, $p=0,68$, Kendallův test $p=0,677$).

Den 56: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 56 a SDS (užitá statistická metoda pořadová korelace, Spearmanův test, $p=0,914$, Kendallův test $p=0,815$).

Pozitivita BDV infekce a PANSS

Den 0: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 0 a PANSS (užitá statistická metoda pořadová korelace, Spearmanův test, $p=0,709$, Kendallův test $p=0,72$).

Den 28: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 28 a PANSS (užitá statistická metoda pořadová korelace, Spearmanův test, $p=1,0$, Kendallův test $p=0,851$).

Den 56: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 56 a PANSS (užitá statistická metoda pořadová korelace, Spearmanův test, $p=0,683$, Kendallův test $p=0,624$).

Tabulka 15. Pozitivita BDV infekce a psychopatologie

Škála	Den	Hladina statistické významnosti (p)	Použitá statistická metoda
CGI	Den 0	0,513	kontingenční tabulky
		0,129	komprimace kvant
	Den 28	0,232	kontingenční tabulky
		0,495	komprimace kvant
	Den 56	0,707	kontingenční tabulky
		0,402	komprimace kvant
CGI-I	Den 0	neměřeno	
	Den 28	0,543	Spearmanův test
		0,559	Kendallův test
	Den 56	0,236	Spearmanův test
		0,249	Kendallův test
	MADRS	Den 0	0,313
0,323			Kendallův test
Den 28		0,142	Spearmanův test
		0,14	Kendallův test
Den 56		0,852	Spearmanův test
		0,876	Kendallův test
SDS	Den 0	0,9	Spearmanův test
		0,89	Kendallův test
	Den 28	0,68	Spearmanův test
		0,677	Kendallův test
	Den 56	0,914	Spearmanův test
		0,815	Kendallův test
PANSS	Den 0	0,709	Spearmanův test
		0,72	Kendallův test
	Den 28	1,0	Spearmanův test
		0,851	Kendallův test
	Den 56	0,683	Spearmanův test
		0,624	Kendallův test

Stanovení míry (hladiny) positivity infekce BDV a její souvislosti s tíží psychopatologie

Míra positivity BDV infekce a CGI

Den 0: U pacientů s těžší psychopatií měřenou pomocí CGI na počátku hospitalizace byla prokázána statisticky významně vyšší míra positivity BDV infekce (pozitivita ++ a +++).

Pacienti s hodnotami CGI 5-6 (zcela zřetelně až silně vyjádřené známky nemoci) měli statisticky významně vyšší míru positivity BDV (++) ve srovnání s pacienty s hodnotami CGI 1-4 (normální, hraničně, mírně až středně nemocen) (použitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,839$, komprimace kvant. $p=0,021$, exaktní Fisherův test $p=0,03$). Míra (hladina) positivity BDV korelovala z tíží psychopatologie.

Při dalších měřeních ve dnech 28 a 56 již tato souvislost nebyla nalezena.

Den 28: Nebyla nalezena souvislost mezi mírou positivity BDV a tíží psychopatologie měřené pomocí CGI, nicméně se výsledek blížil statistické významnosti (použitá statistická metoda: kontingenční tabulky $p=0,079$, komprimace kvant. $p=0,186$).

Den 56: Nebyla nalezena souvislost mezi mírou positivity BDV a tíží psychopatologie měřené pomocí CGI (použitá statistická metoda: kontingenční tabulky $p=0,825$, komprimace kvant. $p=0,402$).

Souvislost BDV positivity s pohlavím

Den 0: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 0 a pohlavím (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,428$, komprimace kvant. $p=0,365$).

Den 28: Den 0: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 28 a pohlavím (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,242$). Při použití komprimace kvant. $p=0,08$, hodnota se blíží statistické významnosti, ženy byly častěji BDV pozitivní ve srovnání s muži.

Den 56: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 56 a pohlavím (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,602$, komprimace kvant. $p=0,201$).

Souvislost BDV positivity s věkem

Den 0: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 0 a věkem (užitá statistická metoda pořadová korelace, Spearmanův test, $p=0,472$, Kendallův test $p=0,49$).

Den 28: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 28 a věkem (užitá statistická metoda pořadová korelace, Spearmanův test, $p=0,104$, Kendallův test $p=0,123$).

Den 56: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 28 a věkem (užitá statistická metoda pořadová korelace, Spearmanův test, $p=0,491$, Kendallův test $p=0,51$).

Souvislost BDV positivity s rodinnou anamnézou ohledně neuropsychiatrické zátěže

Den 0: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 0 a rodinnou anamnézou (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,232$, komprimace kvant. $p=0,516$).

Den 28: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 28 a rodinnou anamnézou (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,731$, komprimace kvant. $p=0,386$).

Den 56: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 56 a rodinnou anamnézou (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,333$, komprimace kvant. $p=0,771$).

Souvislost BDV positivity s prodělaným infekčním onemocněním před vyšetřením BDV positivity

Den 0: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 0 a prodělaným infekčním onemocněním v době odběru (užitá statistická metoda pořadová korelace, Spearmanův test, $p=0,981$, Kendallův test $p=0,981$, kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,838$, komprimace kvant. $p=0,929$).

Den 28: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 28 a počtem prodělaných atak (užitá statistická metoda pořadová korelace, Spearmanův test, $p=0,51$, Kendallův test $p=0,513$, kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,429$, komprimace kvant. neprovedeno pro málo měření).

Den 56: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 56 a počtem prodělaných atak (užitá statistická metoda pořadová korelace, Spearmanův test, $p=0,803$, Kendallův test $p=0,805$, kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,718$, komprimace kvant. neprovedeno pro málo měření).

Souvislost BDV positivity s počtem prodělaných fází (atak) psychického onemocnění

Den 0: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 0 a počtem prodělaných atak (užitá statistická metoda pořadová korelace, Spearmanův test, $p=0,916$, Kendallův test $p=0,932$).

Den 28: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 28 a počtem prodělaných atak (užitá statistická metoda pořadová korelace, Spearmanův test, $p=0,517$, Kendallův test $p=0,544$).

Den 56: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 56 a počtem prodělaných atak (užitá statistická metoda pořadová korelace, Spearmanův test, $p=0,164$, Kendallův test $p=0,138$).

Souvislost BDV positivity s kontaktem se zvířaty

Den 0: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 0 a kontaktem se zvířaty (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,505$, komprimace kvant. $p=0,367$).

Den 28: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 28 a kontaktem se zvířaty (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,398$, komprimace kvant. $p=0,152$).

Den 56: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 56 a kontaktem se zvířaty (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,376$, komprimace kvant. neprovedeno pro málo měření).

Souvislost BDV positivity s diagnózou (F 2 psychotické poruchy, F 3 afektivní poruchy)

Den 0: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 0 a diagnózou (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,765$, komprimace kvant. $p=0,257$).

Den 28: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 28 a diagnózou (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,822$, komprimace kvant. $p=0,653$).

Den 56: Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 56 a diagnózou (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,12$, komprimace kvant. $p=0,402$).

Tabulka 16. Pozitivita BDV a ostatní sledované charakteristiky

Srovnávaný parametr	Den	Hladina statistické významnosti (p)	Použitá statistická metoda
Pohlaví	Den 0	0,428	kontingenční tabulky
		0,365	komprimace kvant
	Den 28	0,242	kontingenční tabulky
		0,08	komprimace kvant
	Den 56	0,602	kontingenční tabulky
		0,201	komprimace kvant
Věk	Den 0	0,472	Spearmanův test
		0,49	Kendallův test
	Den 28	0,104	Spearmanův test
		0,123	Kendallův test
	Den 56	0,491	Spearmanův test
		0,51	Kendallův test
Diagnóza	Den 0	0,765	kontingenční tabulky
		0,257	komprimace kvant
	Den 28	0,822	kontingenční tabulky
		0,653	komprimace kvant
	Den 56	0,12	kontingenční tabulky
		0,402	komprimace kvant
Rodinná anamnéza	Den 0	0,232	kontingenční tabulky
		0,516	komprimace kvant
	Den 28	0,731	kontingenční tabulky
		0,386	komprimace kvant
	Den 56	0,333	kontingenční tabulky
		0,771	komprimace kvant
Infekce v době odběru	Den 0	0,981	Spearmanův test
		0,981	Kendallův test
		0,838	kontingenční tabulky
		0,929	komprimace kvant
	Den 28	0,51	Spearmanův test
		0,513	Kendallův test
		0,429	kontingenční tabulky
		neprovedeno	komprimace kvant
	Den 56	0,803	Spearmanův test
		0,805	Kendallův test
		0,718	kontingenční tabulky

		neprovedeno	komprimace kvant
Počet atak psychické poruchy	Den 0	0,916	Spearmanův test
		0,932	Kendallův test
	Den 28	0,517	Spearmanův test
		0,544	Kendallův test
	Den 56	0,164	Spearmanův test
		0,138	Kendallův test
Kontakt se zvířaty	Den 0	0,505	kontingenční tabulky
		0,367	komprimace kvant
	Den 28	0,398	kontingenční tabulky
		0,152	komprimace kvant
	Den 56	0,376	kontingenční tabulky
		neprovedeno	komprimace kvant

Závěr

- Při vyšetření souboru pacientů s psychickými poruchami byla potvrzena hypotéza, že pozitivita infekce Borna disease virem (BDV) (CIC) je vyšší ve srovnání se zdravými jedinci.
- Byla částečně potvrzena i druhá část hypotézy, tj. že pozitivita BDV závisí na fázi psychického onemocnění. Vyšší hladiny BDV CIC (vyšší míra positivity BDV CIC) byla spojena s horší psychopatologií pacientů na počátku hospitalizace, ale při zlepšování psychického stavu pozitivita BDV neklesala. Statistické významnosti se blížil výsledek i v den 28, ale nikoli v den 56. Tento výsledek lze zčásti vysvětlit poklesem celkové psychopatologie v průběhu hospitalizace a snížením rozptylu hodnot CGI.
- U pacientů s psychickými poruchami jsme prokázali pozitivitu BDV CIC v séru během hospitalizace u 26 pacientů (66,7%) (celkový počet vyšetřených pacientů: 39). V den 0 (na počátku hospitalizace byla prokázána pozitivita u 19 pacientů (48%), v den 28 u 14 pacientů (53,85%, celkový počet vyšetřených pacientů: 26), v den 56 u 9 pacientů (52,94%, celkový počet vyšetřených pacientů: 17). U kontrolního souboru zdravých jedinců (dárců krve) byla pozitivita BDV CIC prokázána u 47 jedinců (37,3 %) (celkový počet vyšetřených jedinců: 126).
- U pacientů s psychickými poruchami byla prokázána signifikantně (statisticky významně) vyšší pozitivita BDV CIC ve srovnání s kontrolním souborem dárců krve. Vyšší hladina BDV CIC byla spojena s těžší psychopatologií měřené

pomocí CGI na počátku hospitalizace, tato souvislost nebyla již prokázána v dalších náběrech (v den 28 a 56).

- Nebyla prokázána žádná souvislost mezi BDV CIC pozitivitou a pohlavím, věkem pacientů. Nebyla prokázána souvislost s pozitivní rodinnou anamnézou ohledně neuropsychiatrické zátěže.
- Pozitivita BDV CIC v séru nesouvisela s prodělaným infekčním onemocněním v době před nebo při odběru krve.
- Pozitivita BDV infekce nekorelovala s počtem prodělaných fází psychické poruchy, nesouvisela s konkrétním diagnostickým okruhem (afektivní poruchy, onemocnění schizofrenního okruhu).
- Nebyla nalezena signifikantní korelace BDV CIC a kontaktu se zvířaty.

4. Název: Detekce BDV CIC (cirkulujících imunokomplexů) v séru pacientů se závislostí na psychoaktivních látkách

Úvod: Chronický abusus psychoaktivních látek je spojován s ovlivněním imunitního systému. Pacienti se závislostí vzhledem k postižení imunity (přímo psychoaktivní látkou a nepřímo jejich životním stylem) mají častější výskyt řady infekčních onemocnění s těžším průběhem. U pacientů se závislostí předpokládáme vlivem změn v oblasti imunity vyšší riziko nákazy a aktivace latentní BDV infekce v době aktivního abusu a pokles pozitivitu BDV po době abstinence. Do studie jsme zařadili pacienty se závislostí na psychoaktivních látkách na počátku hospitalizace na detoxifikační jednotce. Pacienti byli na počátku hospitalizace vyšetřeni na pozitivitu BDV CIC, vyšetření bylo zopakováno u těchto pacientů na konci odvykací léčby po 8 týdnech abstinence.

Hypotéza:

- Pacienti s probíhající (aktivní) závislostí na psychoaktivních látkách (pacienti aktivně užívající psychoaktivní látky) mají vyšší pozitivitu BDV (CIC) ve srovnání se zdravými jedinci.
- Pozitivita BDV je vyšší v době aktivního užívání psychoaktivních látek a klesá při abstinenci.

Cíle studie:

Primární cíle

- Stanovení positivity (virových CIC) infekce BDV v séru pomocí imunochemické metody ELISA u pacientů se závislostí na psychoaktivních látkách hospitalizovaných na Psychiatrické klinice FN v Plzni v letech 2006-2008
- Stanovení positivity BDV na počátku hospitalizace – v den 0 (v době aktivního abusu – soubor A), v den 56 (po 2 měsících abstinence – soubor B)
- Stanovení positivity infekce BDV u kontrolního souboru zdravých jedinců, tzn. jedinců bez psychické poruchy (dárci krve – soubor C)

Sekundární cíle

- Srovnání positivity BDV infekce u souboru A (neabstinující pacienti) a u kontrolního souboru zdravých jedinců (dárců krve)
- Srovnání positivity BDV infekce u souboru B (abstinující pacienti po dobu 2 měsíců) a u kontrolního souboru zdravých jedinců (dárců krve)
- Srovnání positivity BDV infekce u souboru A a souboru B (tzn. změna positivity BDV infekce během abstinence)
- Stanovení positivity infekce BDV a její souvislosti s pohlavím, věkem, rodinnou anamnézou ohledně neuropsychiatrické zátěže
- Stanovení positivity infekce BDV a její souvislosti s prodělaným infekčním onemocněním před vyšetřením BDV positivity a v souvislosti s proděláním jiného infekčního onemocnění v anamnéze (chronické hepatitidy, HIV, TBC, borrelióza, mononukleóza...)
- Stanovení positivity infekce BDV a její souvislosti s délkou závislosti
- Stanovení positivity infekce BDV a její souvislosti s kontaktem se zvířaty
- Stanovení positivity infekce BDV a její souvislosti s diagnózou (s typem závislosti)
- Stanovení positivity infekce BDV a její souvislosti s laboratorním vyšetřením (elevace jaterních testů). Elevace jaterních testů je spojena s jaterním poškozením.
- Stanovení positivity BDV infekce a její souvislosti s předčasným ukončením odvykací léčby

Výběr (charakteristika) souboru:

Soubor A:

- Pacienti přijatí k hospitalizaci na detoxifikační jednotku Psychiatrické kliniky FN v Plzni s diagnózou závislosti na psychoaktivních látkách podle MKN 10
- Pacienti s plánovanou další odvykací léčbou (7 týdnů) na oddělení B Psychiatrické kliniky FN v Plzni
- Počet zařazených pacientů: 41

Soubor B:

- Pacienti ze souboru A po 8 týdnech abstinence, pokračující v odvykací léčbě na oddělení B Psychiatrické kliniky FN v Plzni
- Počet zařazených pacientů: 28

Soubor C (kontrolní soubor):

- Zdraví jedinci bez anamnézy závislosti na psychoaktivních látkách (dárce krve)
- Počet vyšetřených zdravých jedinců: 126

Soubor A:**Vstupní kritéria:**

- Muži a ženy ve věku nad 18 let
- Pacienti hospitalizovaní na detoxifikační jednotce Psychiatrické kliniky FN v Plzni
- Pacienti s diagnózou závislosti na psychoaktivních látkách dle MKN 10 (F 10.2 závislost na alkoholu, F 11.2 závislost na opiátech, F12.2 závislost na kanabinoidech, F 13.2 závislost na BZD, F 14.2 a F 15.2 závislost na psychostimulancích (pervitin, kokain), F 19.2 závislost na více psychoaktivních látkách)
- Pacienti, kteří podepsali informovaný souhlas

Vylučovací kritéria:

- Jiné duševní onemocnění (jiné než související se současnou diagnózou závislosti na psychoaktivních látkách) dle MKN 10
- Pacienti, kteří nepodepsali informovaný souhlas
- Pacienti s maligním onemocněním
- Pacienti s anamnézou prodělané chemoterapie, aktinoterapie
- Pacienti s prokázaným, klinicky manifestním imunodeficitem
- Pacienti užívající medikaci s imunosupresivním účinkem

Soubor B:**Vstupní kritéria:**

- Muži a ženy ve věku nad 18 let
- Pacienti s anamnézou závislosti na psychoaktivních látkách dle MKN 10 (zastoupení diagnóz viz soubor A)
- Pacienti ze souboru A abstinující, pokračující v odvykací léčbě na odd. B Psychiatrické kliniky FN v Plzni

- Pacienti abstinující od návykových látek minimálně po dobu 2 měsíců (abstinence ověřena a potvrzena během hospitalizace toxikologickým vyšetřením moči, laboratorními náběry, dechovými a krevními testy na přítomnost alkoholu...)
4. Pacienti, kteří podepsali informovaný souhlas

Vylučovací kritéria:

- Jiné duševní onemocnění (jiné než související se současnou dg. závislosti na psychoaktivních látkách) dle MKN 10
- Pacienti s maligním onemocněním
- Pacienti s anamnézou prodělané chemoterapie, aktinoterapie
- Pacienti s prokázaným, klinicky manifestním imunodeficitem
- Pacienti s porušením abstinence v průběhu sledovaného období 8 týdnů

Metodika:

Pacienti, kteří byli zařazeni do studie, byli na počátku hospitalizace, tzn. v době nástupu na detoxifikační jednotku a aktivního abusu psychoaktivních látek, vyšetřeni na pozitivitu BDV infekce (CIC). Pozitivita BDV infekce byla vyšetřena u stejného souboru pacientů na konci odvykací léčby v den 56, po 2 měsících abstinence, ve stejném intervalu bylo provedeno laboratorní vyšetření jaterních testů.

Tento interval byl zvolen z tohoto důvodu, že doba 8 týdnů je již dostačující pro detekci změn laboratorních parametrů (jak BDV CIC, tak i hodnot jaterních testů). Jako marker stavu jaterní tkáně byla použita hodnota GMT (gama-glutamyl-transferázy), elevace GMT je typická pro toxické poškození jaterní tkáně.

Laboratorní metody

Od všech účastníků studie (psychiatrickí pacienti a dárce krve) byly odebrány vzorky venózní krve o objemu 4ml (citrátová krev). Do 6 hodin po odběru byla oddělena plazma odstředěním, rozdělena na 2 alikvoty o objemu 0,5ml, zmrazena a uložena při -80 stupních do dalšího zpracování.

Séra psychiatrických pacientů a dárců krve byla vyšetřena na pozitivitu BDV CIC pomocí ELISA metody. Při laboratorním zpracování a vyšetření vzorků byla použita promývačka MRW Dynex a k odečtení výsledků ELISA reader MUREX MRX. Použitou laboratorní metodu vytvořila Dr. Liv Bode z Institutu Roberta Kocho v Berlíně a prof. Hanns Ludwig z Free Univerzity v Berlíně, kteří nám tuto metodu pro naši studii

poskytli. K detekci BDV CIC se využívají specifické monoklonální protilátky, které se vážou na antigenní část CIC. Autoři metody nám pro naši studii poskytly monoklonální protilátky W1 a Kfu2. Protilátková část je vizualizována pomocí enzymatické reakce (alkalická fosfatáza). Vzoroky byly testovány v titru 20 a v tomto titru byly hodnoceny jako pozitivní (séra s titrem 20 a více) a negativní. Tato metoda je semikvantitativní, hladiny BDV CIC jsou hodnoceny v následujících hladinách (rozmezích): 0 (negativní), ? (sporný výsledek), (+) (hraničně pozitivní), + až ++++ (jasně pozitivní nález).

Laboratorní stanovení BDV CIC u obou souborů provedla RNDr. Hana Kabíčková, Oddělení molekulární biologie a parazitologie, Klinlab s.r.o., Ústřední vojenská nemocnice, Praha.

Anamnestický dotazník

- **Vyšetření na pozitivitu infekce BDV (fáze virémie)** – cirkulující imunokomplexy (CIC) pomocí metody ELISA (vyšetření provedla RNDr. Hana Kabíčková, KlinLab s.r.o., Ústřední vojenská nemocnice Praha ve spolupráci s Institutem R. Kocha, Berlín)
- **Laboratorní vyšetření** – laboratorní screening (krevní obraz (KO + diff)), jaterní testy (JT) (AST, ALT, GMT, brb-bilirubin), TBC (tuberkulóza), RRR (rychlá reaginová reakce), u pacientů s drogovou závislostí panel hepatitid (A, B, C), s jejich souhlasem protilátky proti HIV
- **Anamnestický dotazník** (rodinná a osobní anamnéza) – podrobněji viz. dotazník
- **Rodinná anamnéza** (neuropsychiatrická zátěž v rodině, abusus v rodině)
- **Osobní anamnéza** (somatická onemocnění, infekční onemocnění - borrelióza, CMV, EBV, hepatitidy, TBC, psychiatrická onemocnění...)
- Medikace v době odběru
- **Kontakt se zvířaty** (chovatelství, domácí „mazlíčci“, hospodářská zvířata, práce v zemědělství...), typ zvířete a doba kontaktu
- Prodělaná viróza či jiné infekční onemocnění v posledních 2-4 týdnech
- **Návyková anamnéza** (doba závislosti, délka užívání, frekvence, způsob aplikace, dávky, dávka návykové látky za 1 týden (alkohol dle jednotek,

drogy dávka v gramech) (podrobněji viz dotazník), poslední dávka návykové látky před přijetím

- Doba abstinence
- Kontrolní náběry u abstinujících KO+diff, JT

Tabulka 1. Časový plán studie

Návštěva	1	2
Den	0(1)	56
Informovaný souhlas	X	
Vstupní a výstupní kritéria	X	
Rodinná anamnéza	X	
Osobní anamnéza	X	
Infekční anamnéza	X	
Návyková anamnéza	X	
Infekční onemocnění v posledních 2-4 t.	X	X
Kontakt se zvířaty	X	
Laboratorní vyšetření (KO+diff, JT, hepatitidy, HIV)	X	
Laboratorní vyšetření (KO+diff, JT)		X
Laboratorní vyšetření (BDV CIC)	X	X

Tolerance návštěvy:

Kontrola 1 (0-1 den)

Kontrola 2 (7 dní)

Charakteristiky vyšetřeného souboru A

- **Počet vyšetřených jedinců, zastoupení pohlaví:** V souboru bylo vyšetřeno 41 pacientů přijatých pro diagnózu závislosti, 18 mužů a 23 žen.
- **Věk souboru:** 19-62 let, průměrný věk 36,29 roku (směrodatná odchylka = 12,06), medián 35 let.
- **Doba trvání závislosti:** od 2 do 15 let, průměrná doba 6,317 roku (směrodatná odchylka = 3,595), medián 5 let.
- **Rodinná anamnéza ohledně neuropsychiatrické zátěže:** Údaje byly získány u 40 pacientů, 1 pacient je nevedl.

Tabulka 2. Rodinná anamnéza ohledně neuropsychiatrické zátěže

	Pozitivní RA počet (%)	Negativní RA počet (%)
Rodinná anamnéza (RA)	22 (55%)	18 (45%)

- **Diagnostické složení vyšetřeného souboru:** Rozdělení do diagnostických skupin bylo provedeno podle hlavní psychoaktivní látky, kterou pacient užíval.

Tabulka 3. Diagnostické složení souboru

Diagnóza		Celkový počet (%)	Počet mužů	Počet žen
F 10.2		24 (58,54%)	10	14
Ostatní psychoakt. látky	celkem	17 (41,46%)	8	9
	F 11.2	3	3	0
	F 13.2	2	0	2
	F 15.2	5	3	2
	F 19.2	7	1	6

F 10.2 závislost na alkoholu

F 11.2 závislost na opiátech

F 13.2 závislost na hypnoticích

F 15.2 závislost na pervitinu

F 19.2 závislost na více psychoaktivních látkách

- **Laboratorní vyšetření** (jako hodnota svědčící pro poškození jater byla užitá hodnota GMT v séru (gama-glutamyltransferáza). Hodnoty GMT od 0,18 do 23,07 μ kat/l, průměr 3,21 μ kat/l, směrodatná odchylka 5,586, median 0,59 μ kat/l.
- **Anamnéza infekčního onemocnění** (jednalo se o hepatitidy C a B)

Tabulka 4. Anamnéza infekčního onemocnění v anamnéze

	Ano počet (%)	Ne počet (%)
Anamnéza inf. onem.	5 (12,2%)	36 (87,8%)

- **Viróza nebo jiné infekční onemocnění v době odběru**

Tabulka 5. Infekční onemocnění v době odběru na vyšetření BDV

	Ano počet (%)	Ne počet (%)
Viróza	5 (12,2%)	36 (87,8%)

- **Kontakt se zvířetem:** Údaje byly získány u 40 pacientů, 1 pacient je neuvedl.

Tabulka 6. Kontakty se zvířaty

	Ano počet (%)	Ne počet (%)
Kontakt se zvířetem	37 (92,5%)	3 (7,5%)

Charakteristiky vyšetřeného souboru B

Do tohoto souboru byli zařazeni pacienti ze souboru A, kteří pokračovali v odvykací léčbě.

- **Počet vyšetřených jedinců, zastoupení pohlaví:** V souboru bylo vyšetřeno 28 pacientů (68,29%) 18 žen a 10 mužů, 13 pacientů (31,71%) předčasně ukončilo léčbu.
- **Laboratorní vyšetření** (jako hodnota svědčící pro poškození jater byla užitá hodnota GMT v séru (gama-glutamyltransferáza). Hodnoty GMT od 0,11 do 3,13 μ kat/l, průměr 0,682 μ kat/l, směrodatná odchylka 0,755, median 0,345 μ kat/l.
- **Viróza nebo jiné infekční onemocnění v den odběru:** Údaje byly získány u 26 pacientů, 2 pacienti je nevedli.

Tabulka 7. Infekční onemocnění v době odběru na vyšetření pozitivitu BDV

	Ano počet (%)	Ne počet (%)
Viróza	2 (7,69%)	24 (92,31%)

Charakteristiky kontrolního souboru (dárci krve)

Počet vyšetřených jedinců, zastoupení pohlaví: V kontrolním souboru bylo vyšetřeno 126 dárců krve, 97 mužů a 29 žen

Věk souboru: 25 - 69 let, průměrný věk 40,31 roku (směrodatná odchylka = 11,32), medián 37 let.

Výsledky a metody statistického zpracování

Při vyšetření souboru pacientů s probíhající (aktivní) závislostí na psychoaktivních látkách (pacienti aktivně užívající psychoaktivní látky) nebyla

potvrzena hypotéza, že mají vyšší pozitivitu BDV (CIC) ve srovnání se zdravými jedinci.

Nebyla potvrzena ani druhá část hypotézy, že pozitivita BDV klesá při abstinenci. Naopak pacienti po 8 týdnech abstinence měli nález vyšší BDV CIC positivity ve srovnání s vyšetřením na počátku. Tento rozdíl však nebyl statisticky signifikantní.

Primární cíle

Pozitivita BDV CIC v séru u pacientů se závislostí na psychoaktivních látkách

- Den 0 (na počátku hospitalizace, v době aktivního abusu) byla prokázána u 15 pacientů (36,6%) (celkový počet 41 pacientů).
- Den 56 (po 2 měsících abstinence) byla prokázána u 12 pacientů (42,9%) (celkový počet pacientů 28).

Pozitivita BDV CIC v séru u kontrolního souboru zdravých jedinců (dárci krve)

Pozitivita BDV byla prokázána u 47 jedinců (37,3 %) (celkový počet 126).

podrobnější údaje o pozitivitě BDV CIC u obou souborů viz. tabulka č. 8.

Tabulka č 8. Hladina BDV CIC u závislých pacientů v den 0 a den 56 a u kontrolního souboru (dárců krve)

Hladina BDV CIC	Psychiatři (závislí) pacienti						Dárci krve		
	Den 0 (n=41)			Den 56 (n=28)			(n=126)		
	No (%)	No ženy	No muži	No (%)	No ženy	No muži	No (%)	No ženy	No muži
pozitivní	15 (36,6)	8	7	12 (42,9)	6	6	47 (37,3)	10	37
+	11 (26,8)	6	5	9 (32,1)	3	6	44 (34,9)	9	35
++	3 (7,3)	1	2	3 (10,7)	3	0	3 (2,4)	1	2
+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0
++++	1 (2,4)	1	0	0	0	0	0	0	0
negativní	26 (63,4)	15	11	16 (57,1)	12	4	79	19	60

Sekundární cíle

Srovnání positivity BDV u souboru závislých pacientů v den 0 a kontrolního souboru

Pozitivita BDV u pacientů se závislostí na počátku hospitalizace (neabstinujících) (soubor A) byla prokázána u 36,6%, u kontrolního souboru zdravých jedinců ve 37,3%. Rozdíl mezi soubory nebyl statisticky významný (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,179$).

Věk srovnávaných souborů a zastoupení pohlaví se statisticky významně lišily, ale proto byla provedena adjustace na věk a pohlaví. Zde se statisticky významný rozdíl mezi těmito 2 soubory neprokázal (věk $p=0,302$, pohlaví $p=0,498$, použité statistické metody vícerozměrné kontingenční tabulky, chi-kvadrát test).

Srovnání positivity BDV u závislých pacientů v den 56 a kontrolního souboru

- Pozitivita BDV u pacientů se závislostí po 2 měsících abstinence (soubor B) byla prokázána u 42,9% ve srovnání s kontrolním souborem. Rozdíl mezi soubory nebyl statisticky významný (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,223$).

Srovnání positivity BDV u závislých pacientů v den 0 a v den 56

- Pozitivita BDV infekce v den 0 (na počátku detoxifikace) byla prokázána v 36,6% a v den 56 (po 8 týdnech abstinence) v 42,9%, rozdíl mezi těmito 2 soubory nebyl statisticky významný (nedošlo ke změně positivity vlivem abstinence) (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test, test dobré shody (homogeneity), $p=0,779$).

Monitorovali jsme změny hladin BDV CIC u pacientů, kteří absolvovali oba odběry, jak na počátku tak i na konci hospitalizace.

- U 3 pacientů jsme zjistili snížení hladin BDV CIC (2 pacienti byli v den 0 BDV CIC pozitivní a v den 56 negativní, u 1 pacienta došlo k poklesu ze střední na mírnou pozitivitu (z ++ na +)).
- U 6 BDV CIC pozitivních pacientů jsme nezaznamenali žádnou změnu v hladinách BDV CIC
- U 5 pacientů bylo prokázáno zvýšení BDV CIC hladin (4 pacienti byli v den 0 negativní a v den 56 se stali pozitivními, u 1 pacienta došlo k navýšení již přítomné positivity).

Souvislost BDV positivity s pohlavím

Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 0 a pohlavím (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,706$).

V den 56 byla prokázána statisticky významně vyšší pozitivita BDV u mužů (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,045$).

Souvislost BDV positivity s věkem

BDV pozitivita v den 0 klesala s rostoucím věkem pacientů, výsledek se blíží statistické významnosti (použitá statistická metoda Kruskal Wallisův test, $p=0,064$).

Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 56 a věkem (užitá statistická metoda Kruskal Wallisův test, $p=0,958$).

Souvislost BDV positivity s diagnózou (s typem závislosti: alkohol vs ostatní psychoaktivní látky)

Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 0 a diagnózou (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,468$).

Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 56 a diagnózou (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,557$).

Souvislost BDV positivity s laboratorním vyšetřením (poškozením jater, elevace jaterních testů)

V den 0 byla pozitivita BDV spojena s nižšími hodnotami GMT v séru na hladině statistické významnosti (užitá statistická metoda Kruskal Wallisův test, $p=0,027$, modifikovaný Wilcoxonův (Mann-Whitneyův) test, $p=0,088$). U pacientů s nižšími hodnotami GMT byla častěji nalezena pozitivita BDV.

Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 56 a hodnotou GMT v den 56 (užitá statistická metoda Kruskal Wallisův test, $p=0,268$).

Souvislost BDV positivity s rodinnou anamnézou ohledně neuropsychiatrické zátěže

Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 0 a RA (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,713$).

Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 56 a RA (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,241$).

Souvislost BDV positivity s prodělaným infekčním onemocněním v době vyšetření BDV positivity

Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 0 a infekcí v době odběru (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,825$).

Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 56 a infekcí v době odběru (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,452$).

Souvislost BDV positivity s proděláním jiného infekčního onemocnění v anamnéze (chronické hepatitidy, HIV...)

Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 0 a infekčním onemocněním (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,692$).

Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 56 a infekčním onemocněním (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test, $p=0,813$).

Souvislost BDV positivity s délkou závislosti

Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 0 a délkou závislosti (užitá statistická metoda Kruskal Wallisův test, $p=0,918$).

Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 56 a délkou závislosti (užitá statistická metoda Kruskal Wallisův test, $p=0,436$).

Souvislost BDV positivity s kontaktem se zvířaty

Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 0 a kontaktem se zvířaty (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,611$).

Nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi BDV pozitivitou v den 56 a kontaktem se zvířaty (užitá statistická metoda kontingenční tabulky, chi-kvadrát test $p=0,446$).

Souvislost BDV positivity s následujícími parametry

V následující tabulce jsou uvedeny výsledky statistického zpracování ohledně souvislosti positivity BDV infekce s dalšími zjišťovanými parametry.

Tabulka 9. Souvislost BDV positivity s následujícími parametry

Srovnávaný parametr	Den	Hladina statistické významnosti (p)	Použitá statistická metoda
Pohlaví	Den 0	0,706	Kontingenční tabulky
	Den 56	0,045	kontingenční tabulky
Věk	Den 0	0,064	Kruskal Wallisův test
	Den 56	0,958	Kruskal Wallisův test
Diagnóza	Den 0	0,468	kontingenční tabulky
	Den 56	0,557	kontingenční tabulky
Hodnota GMT	Den 0	0,027	Kruskal Wallisův test
	Den 56	0,268	Kruskal Wallisův test
Rodinná anamnéza	Den 0	0,713	kontingenční tabulky
	Den 56	0,241	kontingenční tabulky
Infekce v době odběru	Den 0	0,825	kontingenční tabulky
	Den 56	0,452	kontingenční tabulky
Infekce v anamnéze	Den 0	0,692	kontingenční tabulky
	Den 56	0,813	kontingenční tabulky
Délka závislosti	Den 0	0,918	Kruskal Wallisův test
	Den 56	0,436	Kruskal Wallisův test
Kontakt se zvířaty	Den 0	0,611	kontingenční tabulky
	Den 56	0,446	kontingenční tabulky

Souvislost BDV positivity a předčasného ukončení hospitalizace

U pacientů, kteří předčasně ukončili odvykací léčbu a neabsolvovali vyšetření v den 56, jsme sledovali souvislost s BDV CIC pozitivitou. Nebyla nalezena statisticky významná souvislost mezi pozitivitou BDV CIC v den 0 a předčasným ukončením odvykací léčby ($p=0.645$, použitá statistická metoda: kontingenční tabulky, chi-kvadrát test).

Závěr

- Při vyšetření souboru pacientů s probíhající (aktivní) závislostí na psychoaktivních látkách (pacienti aktivně užívající psychoaktivní látky) nebyla potvrzena hypotéza, že mají vyšší pozitivitu BDV (CIC) ve srovnání se zdravými jedinci.

- Nebyla potvrzena ani druhá část hypotézy, že pozitivita BDV klesá při abstinenci. Naopak pacienti po 8 týdnech abstinence měli nález vyšší BDV CIC positivity ve srovnání s vyšetřením na počátku. Tento rozdíl však nebyl statisticky signifikantní.
- U pacientů se závislostí na psychoaktivních látkách jsme na počátku hospitalizace (v době aktivního abusu) jsme prokázali pozitivitu BDV CIC v séru u 15 pacientů (36,6%) (celkový počet vyšetřených pacientů: 41). Po 2 měsících abstinence byla BDV CIC pozitivita prokázána u 12 pacientů (42,9%) (celkový počet vyšetřených pacientů: 28). U kontrolního souboru zdravých jedinců (dárců krve) byla pozitivita BDV CIC prokázána u 47 jedinců (37,3 %) (celkový počet vyšetřených jedinců: 126).
- Nebyl prokázán statisticky významný rozdíl v pozitivitě BDV CIC u pacientů na počátku hospitalizace a kontrolním souborem ani mezi pacienty na konci hospitalizace (abstinující pacienti) a kontrolním souborem. Nebyl prokázán pokles BDV positivity během 2 měsíců abstinence (rozdíl mezi pozitivitou BDV u pacientů aktivně závislých a u pacientů 8 týdnů abstinujících nebyl významný).
- V našem souboru závislých pacientů nebyla prokázána statisticky významná souvislost positivity BDV infekce a diagnózy (typu závislosti), rodinné anamnézy, anamnézy infekčního onemocnění v anamnéze a v době odběru. Nebyla prokázána souvislost s délkou závislosti (dobou užívání psychoaktivní látky).
- Nebyla prokázána souvislost BDV positivity a kontaktem se zvířaty.
- Nebyla prokázána souvislost positivity BDV infekce s předčasným ukončením odvykací léčby.
- Byla prokázána statisticky významná souvislost mezi pozitivitou BDV a pohlavím u pacientů po 8 týdnech abstinence. Pozitivita BDV byla častější u mužů.
- Byla nalezena statisticky významná souvislost s věkem vyšetřených pacientů na počátku hospitalizace. BDV pozitivita byla častější u mladších pacientů, s rostoucím věkem pozitivita BDV klesala.

- Byla nalezena statisticky významná souvislost BDV pozitivita a hodnoty jaterních testů (hodnota GMT), vyšší BDV CIC pozitivita byla spojena s nižšími hodnotami GMT na počátku hospitalizace.

5. Diskuze a závěr

Psychické poruchy jsou heterogenní skupina onemocnění, na jejich etiologii se podílí řada faktorů. Jedním z rizikových faktorů ovlivňujících vznik a průběh psychických poruch jsou infekční onemocnění. Cílem naší práce bylo detekovat výskyt infekce Borna disease virem v souborech psychiatrických pacientů, výsledky srovnat se zdravými kontrolami a výsledky z dalších zahraničních studií.

Laboratorní metody

Důležitou roli v diagnostice BDV infekce a její fáze hraje použitá laboratorní metoda. Laboratorní metoda, kterou jsme použili ke stanovení BDV infekce, byla ve všech třech studiích stejná. Stanovili jsme cirkulující imunokomplexy (CIC) pomocí metody ELISA. Laboratorní metodu nám poskytli její autoři prof. Hanns Ludwig z Free University Berlin a dr. Liv Bode z Robert Koch Institut Berlin, Německo. Tato metoda používaná k diagnostice aktivní BDV infekce byla vytvořena v roce 2001. K detekci BDV CIC se využívají specifické monoklonální protilátky typu W1 a Kfu1, které se vážou na antigenní část CIC. Protilátková část je vizualizována pomocí enzymatické reakce (alkalická fosfatáza). Tato metoda je semikvantitativní, hladiny BDV CIC jsou hodnoceny v následujících hladinách (rozmezích): 0 (negativní), ? (sporný výsledek), (+) (hraničně pozitivní), + až ++++ (jasně pozitivní nález) (Bode a kol. 2001).

Při vyšetření prvního pilotního souboru jsme měli k dispozici pouze hodnocení: pozitivní ((+) až ++++) nebo negativní nález BDV infekce (0, ?). U dalších 2 vyšetřených souborů byla pozitivita BDV infekce již hodnocena semikvantitativně, tzn. kromě stanovení pozitivita a negativita infekce, jsme vyšetřili hladinu (míru pozitivita) BDV CIC.

Stanovení BDV CIC znamenalo průlom v diagnostice BDV infekce. Tato metoda je dosud považována za nejvhodnější. Pozitivní nález BDV CIC odpovídá aktivní fázi BDV infekce, tzv. fázi virémie. V úplně rané fázi aktivace infekce a krátce po nákaze BDV jsou pozitivní pouze virové antigeny; pokud je tedy k detekci BDV infekce využito stanovení pouze CIC, bude nález negativní a může nám může uniknout

část pozitivních pacientů. Antigenémie znamená akutní a produktivní fázi BDV infekce. BDV antigeny je možné detekovat pomocí metody ELISA, jejich vyšší pozitivita byla nalezena u pacientů s depresí, intenzita a délka antigenémie korelovala s tíží onemocnění (se symptomatologií) (Bode a kol. 2001, Bode a kol. 2005, Bode a Ludwig 2003). Hlavní nevýhodou detekce samotných Ag je velmi krátká doba jejich samotného výskytu v akutní fázi infekce před tvorbou protilátek a vazbou s nimi (Bode a kol. 2001, Bode a kol. 2005, Bode a Ludwig 2003, Thakur a kol. 2009).

V další fázi infekce dochází k tvorbě protilátek, jejich vazbě s Ag a tvorbě CIC, které jsou detekovatelné po dobu týdnů až měsíců. Další výhodou stanovení BDV CIC ke stanovení diagnózy BDV infekce je jejich vysoká hladina a stabilita. Nález BDV infekce je negativní i v případech positivity samotných protilátek proti BDV. Samotná pozitivita protilátek je pro nás však pouze informací, že se pacient s BDV infekcí někdy setkal, ale nemusí znamenat, že je virus přítomný v těle. Samotný nález protilátek nemusí odpovídat aktivní infekci, tzn. fázi virémie. Vyšetření sér psychiatrických pacientů na pozitivitu BDV Ab pomocí IFA prokázalo výrazně nižší pozitivitu ve srovnání s vyšetřením stejných vzorků na pozitivitu BDV Ag a CIC pomocí metody ELISA. Je popisována 10x vyšší incidence BDV CIC stanovené pomocí metody ELISA ve srovnání s pozitivitou Ab pomocí imunofluorescence (Bode a kol. 2001, Bode a Ludwig 2003, Bode a kol. 2005). Podobného výsledku bylo dosaženo i v roce 1994, kdy pozitivita BDV Ab u psychiatrických pacientů byla prokázána u 20% ve srovnání s pozitivitou BDV Ag ve 40-50% u stejných pacientů (Bode a kol. 1994).

Za ideální pro stanovení akutní fáze BDV infekce považujeme tedy stanovení jak CIC, tak i Ag, které jsme bohužel v naší studii neměli k dispozici. V další plánované studii již budeme stanovovat jak CIC tak i Ag v séru. Pozitivita CIC přetrvává po řadu týdnů někdy až měsíců (Bode a kol. 2001, Bode a Ludwig 2003, Bode a kol. 2005).

K diagnostice BDV infekce je dále některými autory používaná detekce BDV RNA pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR). Stanovení BDV RNA však není v diagnostice BDV infekce považováno za spolehlivé. Pozitivita BDV RNA nemusí vždy odpovídat aktivní BDV infekci a zároveň negativní nález BDV RNA nemusí vylučovat přítomnost BDV v organismu. Negativní nález RNA bývá způsoben nízkou replikací viru, která odpovídá nejčastěji asymptomatické fázi BDV infekce, ale je přítomna i ve fázi aktivace (Fukuda a kol. 2001, Mizutani a kol. 1998, Planz a kol. 1998, Salvatore a kol. 1997). Řada studií ukazuje nedostatečnou korelaci mezi pozitivitou bornavirových protilátek a virové RNA (Bode a kol. 2005). Pozitivní nález

BDV RNA v různých tkáních znamená sice přítomnost viru v těle, ale nemusí odrážet aktivní fázi virové infekce. Tento nález může být pozitivní i v klidové (latentní) fázi (Thakur a kol. 2009).

Dalším důvodem, proč někteří autoři tuto metodu spíše zavrhnou, je možná kontaminace vzorků během laboratorního zpracování, a pak zkreslení výsledků (Wolff a kol. 2006, Thakur a kol. 2009). Pokud jsou však dodrženy mezinárodní bezpečnostní předpisy, ke kontaminaci laboratorních vzorků by nemělo dojít (Nunes a kol. 2008).

Naopak někteří autoři naopak tuto metodu (PCR) v diagnostice BDV infekce upřednostňují oproti námi užití ELISA a detekci BDV CIC. Wolff a kol. v roce 2006 vyšetřili séra psychiatrických pacientů s vysokou pozitivitou BDV CIC (pozitivita byla +++ a více), která byla zjištěna pomocí metody ELISA (vytvořené Bode a kol. v roce 2001). Autoři vyšetřili tyto vzorky na přítomnost BDV RNA pomocí PCR, u žádného z vyšetřených vzorků nebyla prokázána přítomnost BDV RNA. Wolff a kol. vysokou pozitivitu BDV CIC ve vzorcích vysvětlují možnou zkříženou reaktivitou monoklonálních protilátek se složkami plazmy (Wolff a kol. 2006).

Diagnostika BDV infekce byla nejprve prováděna pomocí sérologických metod, jako je IFA, které detekují pozitivitu BDV protilátek. Rott a kol poprvé publikovali studii popisující výskyt BDV protilátek ve velkých souborech, jednalo se o séra psychiatrických pacientů, pozitivita BDV Ab byla prokázána v rozmezí 2-4% (Rott a kol. 1985). Mezi další laboratorní metody, kterou byly a stále jsou užívány k detekci BDV infekce, je stanovení BDV protilátek pomocí western blot (WB). Obě výše uvedené metody (IFA, WB) detekující pouze pozitivitu BDV Ab jsou méně citlivé než v posledních letech užívaná metoda ELISA a nelze je využít k diagnostice akutní fáze infekce. Bode a kol. Vyšetřili séra psychiatrických pacientů i koní pomocí metody ELISA na přítomnost BDV CIC, tyto vzorky byly rovněž vyšetřeny pomocí IFA na přítomnost BDV Ab. Při použití laboratorní metody ELISA byla prokázána výrazně vyšší prevalence BDV infekce než u vzorků vyšetřených pomocí IFA (Bode a kol. 2001, Thakur a kol. 2009).

V následující tabulce jsou uvedeny laboratorní metody, které lze využít k detekci BDV infekce a jejich bližší charakteristika ohledně diagnostického přínosu.

Tabulka 1: Přehled diagnostických laboratorních metod a jejich využití v diagnostice BDV infekce (upraveno podle Thakur a kol. 2009).

Test	Vzorek (materiál)	Dg. parametr	Antigen	Senzitivita	Specifičnost	Průkaz infekce	Průkaz onemocnění
Komplement fixace	sérum	Ab	Nativní	Nízká	Dobrá	Nízký	Špatný
Dvojitá difúze	sérum	Ab	Nativní	Nízká	Dobrá	Nízký	Špatný
IFA	sérum	Ab	Pozměněný fixací	Dobrá	Velmi dobrá	Dobrý	Špatný
	Mozkomíšni mok			Špatná	Velmi dobrá	Velmi dobrý	Špatný
Cell ELISA	sérum	Ab	Pozměněný fixací	Nízká	Dobrá	Nízký	Špatný
ECLISA	sérum	Ab	Rekombinantní	Dobrá	Velmi dobrá	Dobrý	Špatný
Rekombinant. ELISA	sérum	Ab	Rekombinantní	Dobrá	Dobrá	Dobrý	Špatný
Ab ELISA	sérum	Ab	Nativní	Výborná	Výborná	Velmi dobrý	Špatný
Cell Ag ELISA	PBMCs	Ag	Nativní	Nízká	Výborná	Dobrý	Dobrý
Plazma Ag ELISA	sérum	Ag	Nativní	Dobrá	Výborná	Velmi dobrý	Výborný
	Mozkomíšni mok	Ag	Nativní	Nízká	Výborná	Velmi dobrý	
CIC ELISA	sérum	CIC	Nativní	Výborná	Výborná	Výborný	Výborný
WB	sérum	Ab, Ag	Denaturovaný	Nízká	Velmi dobrá	Dobrý	Špatný
	Mozkomíšni mok			Špatná	Velmi dobrá	Velmi dobrý	Velmi dobrý
Průtoková cytometrie	PBMCs	Ag	Mírná fixace	Dobrá	Velmi dobrá	Dobrý	Dobrý
RT-PCR	PBMCs	RNA		Velmi dobrá	Výborná	Velmi dobrý	Špatný
	Mozek	RNA		Dobrá	Výborná	Velmi dobrý	Špatný
	sérum	RNA		Nízká	Výborná	Velmi dobrý	Dobrý
Izolace	PBMCS	virus		Špatná	Výborná	Výborný	Velmi dobrý
	mozek	virus		Špatná	Výborná	Výborný	Velmi dobrý

Detekce BDV CIC v séru pacientů s afektivními a psychotickými poruchami pilotní studie

Hypotéza: U pacientů s psychickými poruchami je vyšší pozitivita infekce Borna disease virem (BDV) ve srovnání se zdravými jedinci.

Pozitivita BDV infekce: Vyšetřili jsme skupinu psychiatrických pacientů s afektivními a psychotickými poruchami během jejich hospitalizace na Psychiatrické klinice FN v Plzni na pozitivitu BDV CIC. Pozitivita BDV byla zjištěna u 26,1% psychiatrických pacientů a 37,3% u kontrolního souboru dárců krve. Rozdíl mezi těmito dvěma skupinami nebyl významný. Nález positivity BDV u kontrolního souboru odpovídá nálezům v dalších studiích, kde je pozitivita BDV CIC u zdravých jedinců udávána v rozmezí 20-40% (Bode a kol. 2001, Patti a kol. 2008).

Nízký výskyt nebo negativní nález BDV infekce prokázala řada studií v různých oblastech (Selten a kol. 2000, Tsuji a kol. 2000, Nowotny a Winhaber 1997, Iwata a kol. 1998, Vahlenkamp a kol. 2000). Srovnání positivity BDV infekce mezi jednotlivými studii je složité s ohledem na různorodost použitých laboratorních metod, jejich senzitivitu a specifiku, stanovovaný infekční parametr, vyšetřovaný materiál a charakteristiky vyšetřovaného souboru. Podle použité laboratorní metody může být dosaženo výrazně odlišných výsledků (viz výše).

Selten a kol. v roce 2000 vyšetřili pacienty se schizofrenií a zdravé jedince napřítomnost antivirových protilátek pomocí imunofluorescence a BDV RNA pomocí PCR. U těchto jedinců nebyla prokázána vyšší pozitivita ve srovnání se zdravými kontrolami (Selten a kol. 2000). V další studii byla vyšetřena přítomnost BDV Ab u psychiatrických pacientů pomocí WB s negativním výsledkem (Tsuji a kol. 2000). Matsunaga a kol. vyšetřili na přítomnost protilátek proti BDV séra psychiatrických pacientů a zdravých jedinců pomocí metody RIA. Mezi těmito dvěma skupinami nebyl prokázán signifikantní rozdíl ve výskytu BDV infekce (Matsunaga a kol. 2008). Další studie využívaly detekci BDV RNA pomocí PCR. Nízký výskyt BDV RNA u schizofreniků detekovali Tsuji a kol. (pozitivita 1,8%), u afektivních poruch Fukuda a kol. (pozitivita ve 2%) (Fukuda a kol. 2001, Tsuji a kol. 2000). Nulová pozitivita BDV RNA byla popsána u schizofreniků (Kim a kol. 2003), u pacientů s afektivními poruchami (Na kol. 2009). Studie prokazující nízkou nebo nulovou pozitivitu BDV CIC (s výjimkou 2 souborů naší studie, kde jsme neprokázali vyšší BDV CIC pozitivitu ve srovnání s kontrolním souborem) nejsou k dispozici.

Nízkou pozitivitu BDV CIC u našeho souboru psychiatrických pacientů by mohla vysvětlovat nejednotná doba odběru vzorků. Někteří pacienti byli na počátku hospitalizace, jiní v jejím průběhu a někteří již před propuštěním. Soubor byl různorodý co do diagnostického složení, ale zejména co do psychopatologie (od závažné psychopatologie až po pacienty v již subkompenzovaném nebo téměř kompenzovaném stavu). Toto tvrzení však nepodporuje výsledek naší druhé studie, kde u pacientů vyšetřovaných na pozitivitu BDV CIC po 2 měsících (kdy většina z nich byla již ve zlepšeném psychickém stavu) byla pozitivita BDV detekována v 52,94%.

Dalším možným vysvětlením může být chybění průkazu samotných Ag. Pacienti s akutní BDV infekcí, kde ještě nedošlo k tvorbě protilátek a následně CIC, mohou mít pozitivní pouze Ag a při použití detekce CIC bude nález negativní.

Zvažovali jsme i eventualitu, že v našich oblastech je výskyt BDV infekce všeobecně nízký. Nízký výskyt nebo negativní nález BDV infekce prokázala řada studií v různých oblastech, např. v Japonsku (Selten a kol. 2000, Tsuji a kol. 2000, Nowotny a Winhaber 1997, Iwata a kol. 1998, Vahlenkamp a kol. 2000).

My jsme ale předpokládali spíše vyšší výskyt BDV s ohledem na geografickou blízkost oblastí s vysokým výskytem (zejména Německo) (Bode a kol. 2001, Bode a Ludwig 2003, Patti a kol. 2008), což nakonec potvrdily výsledky našeho druhého souboru psychiatrických pacientů. Dále by mohl hrát roli sezónní výskyt BDV, který byl v minulosti popsán u zvířat, ale u lidí nebyl zkoumán. Sezónní výskyt je typický pro řadu jiných infekčních onemocnění, včetně chřipkových epidemií. U zvířat byl popsán vyšší výskyt BDV infekce zejména v jarních měsících, ale v našem pilotním souboru psychiatrických pacientů byly prováděny odběry na BDV v průběhu celého roku. Dále výskyt BDV infekce u zvířat kolísal v letech, kdy byla popsána období s epidemiemi BDV infekce, která se střídala s obdobími s nízkým nebo nulovým výskytem akutní BDV infekce (Durrwald a Ludwig 1997, Ludwig a Bode 2000).

Souvislost výskytu BDV infekce s dalšími anamnestickými a demografickými faktory:

Pohlaví: Nebyla nalezena významná souvislost BDV CIC positivity a pohlaví. Jedna studie uvádí vyšší výskyt BDV CIC u žen ve srovnání s muži (Patti a kol. 2008).

Diagnóza: Nebyla nalezena významná souvislost BDV CIC positivity a diagnózy. Nejvíce dat máme k dispozici u pacientů s afektivními poruchami a onemocněním schizofrenního okruhu.

Počet atak onemocnění: Nebyla nalezena významná souvislost BDV CIC pozitivita a počtem prodělaných atak psychické poruchy. Jsou studie, které popisují souvislost BDV infekce s periodickým výskytem psychických poruch tzn. s vyšším počtem atak onemocnění (Ferszt a kol. 1999).

Rodinná anamnéza: Nebyla nalezena významná souvislost BDV CIC pozitivita a rodinné anamnézy ohledně neuropsychiatrické zátěže. Viro-psycho-imunologický model předpokládá, že ke vzniku fáze psychické poruchy dochází při kombinaci tří faktorů: genetické dispozice, latentní BDV infekce a změn imunitního systému, které vedou k aktivaci BDV infekce (Dietrich a kol. 1998).

Kontakt se zvířaty: Nebyla nalezena významná souvislost BDV CIC pozitivita s kontaktem se zvířaty. Domácí i volně žijící zvířata jsou rezervoárem BDV infekce a kontaktem s nimi vzrůstá riziko nákazy. Některé studie popisují vyšší výskyt BDV infekce u lidí, kteří byli v kontaktu s infikovanými zvířaty. Weisman a kol. popisují signifikantně vyšší pozitivitu BDV protilátek (ve 46%) u lidí, kteří pracovali na pštroší farmě a byli v kontaktu s těmito infikovanými ptáky, ve srovnání s pozitivitou v 10% u kontrolního souboru. Byla prokázána silná korelace mezi intenzitou kontaktu s pštrosy a frekvencí BDV pozitivita (Weisman a kol. 1994).

Takahashi a kol. prokázali signifikantně vyšší séropozitivitu BDV (v rozmezí od 2,6 do 14,8%) u dárců krve z oblastí s vyšší koncentrací koňských farem, ve srovnání s pozitivitou v 1% BDV Ab u dárců z ostatních oblastí (Takahashi a kol. 1997). Tyto studie a nálezy podporují možnost přenosu BDV infekce mezi zvířaty a lidmi.

Na rozdíl od těchto nálezů jsou však studie, které vyšší pozitivitu BDV infekce u lidí, kteří jsou v kontaktu s infikovanými zvířaty, neprokázaly. Khan a kol. publikovali studii v roce 2000 z Bangladéše. Pozitivita BDV Ab byla detekována mezi 25-30% procenty u koní, avšak u pracovníků starajících se o těchto koně nebyla v žádném případě pozitivita BDV Ab prokázána (Khan a kol. 2000).

Thomas a kol. stanovovali pozitivitu BDV Ab u lidí, kteří žili nebo pracovali na farmách. U lidí žijících nebo pracujících na farmách s hospodářskými zvířaty byla prokázána vyšší pozitivita BDV Ab ve srovnání s ostatními farmami. Ale intenzita (vystavení se) kontaktu se zvířaty nebyla spojena s nárůstem pozitivita BDV infekce (Thomas a kol. 2005).

Možným vysvětlením tohoto našeho negativního nálezu může být, že naše oblasti není endemická pro výskyt BDV infekce. Nemáme dosud k dispozici žádná data ohledně pozitivita BDV infekce u zvířat v České republice. My jsme však předpokládali

možnost vyššího výskytu BDV infekce i v našich regionech, vzhledem k údajům z okolních zemí, zejména Německa. Střední Evropa je považována za endemickou oblast pro BDV infekci. Řada evropských studií potvrzuje vyšší výskyt BDV u zvířat, zejména u koní a ovcí v Německu a Itálii (Bode a kol. 2001, Pisoni a kol. 2007). Data ohledně positivity BDV u jiných druhů zvířat (psi, kočky, ptáci...) jsou velmi ojedinělá anebo zcela chybějící.

Věk: S rostoucím věkem pacientů klesala pozitivita BDV infekce, výsledek se blížil statistické významnosti ($p=0,072$). U mladších pacientů byl častější nálezn BDV infekce. Vyšší výskyt BDV infekce u mladších jedinců prokázala řada studií. Studie z roku 1992 prokázala 2-4x vyšší frekvenci BDV positivity u dětí ve srovnání s dospělými jedinci (Bode a kol. 1992). V roce 2005 a 2008 bylo publikováno několik studií popisujících vyšší výskyt BDV CIC u dětí a mladších jedinců v Německu a Itálii. V italské studii byla pozitivita BDV CIC nalezena v 57%. Prevalence BDV infekce byla nejvyšší ve třetím roce života. V dalších letech života pozitivita BDV CIC klesala do 15. roku života a v 15 letech byl popsáno další zvýšení výskytu BDV infekce (Patti a kol. 2008, Patti a kol. 2008). Scholbach a kol. prokázali shodné výsledky s italskými autory, detekovali signifikantně vyšší hladiny BDV Ag a CIC u dětí. BDV pozitivita byla vyšší ve dvou věkových intervalech (obdobích), první vrchol positivity BDV byl v 6 měsících a druhý v rozmezí 2-3 let dítěte. Vysoký výskyt BDV infekce v 6 měsících nepřímo podporuje možnost vertikálního přenosu BDV infekce. Druhý vrchol mezi 2.-3. rokem života dítěte se spíše přiklání z jinému způsobu přenosu BDV infekce. Děti v tomto věku mohou být snáze v kontaktu se sektery (slinami) zvířat (olíznutí psem, kočkou na obličej), mají jiné hygienické návyky (olizování různých předmětů) a jinou citlivost a zralost imunitního systému, tudíž i jinou schopnost se bránit infekčním onemocněním ve srovnání s dospělými jedinci (Scholbach a kol. 2005, 2008).

Vyšší výskyt BDV Ab u pacientů pod 59 let prokázali v japonské studii (Yamaguchi a kol. 1999) a u pacientů pod 50 let (Bechter a kol. 1992).

Detekce BDV CIC (cirkulujících imunokomplexů) v séru pacientů s afektivními a psychotickými poruchami

Na základě výsledků pilotního souboru jsme provedli druhou studii s jiným designem. **Hypotéza:** U pacientů s psychickými poruchami je vyšší pozitivita infekce Borna disease virem (BDV) (CIC) ve srovnání se zdravými jedinci. Pozitivita

BDV závisí na fázi psychického onemocnění. Při zlepšení psychického stavu pozitivita BDV klesá.

Pacienti byli vyšetřeni na pozitivitu BDV CIC opakovaně, v pevně stanovených termínech: v den 0 (počátek hospitalizace), den 28 a den 56. Ve stejnou dobu byl hodnocen jejich psychický stav pomocí psychiatrických škál.

Dále jsme získali další data ohledně neuropsychiatrické zátěže v rodině pacienta, infekce v době odběru, která by mohla znamenat změny v imunitním systému a zvyšovat riziko aktivace latentní BDV infekce. Byla zaznamenávána diagnóza pacienta, počet prodělaných atak psychické poruchy. U pacientů s periodickým průběhem psychické poruchy byl předpokládán vyšší výskyt BDV infekce, který by mohl tento průběh onemocnění podporovat, včetně vyššího rizika nákazy BDV infekce během hospitalizací a kontaktem s dalšími BDV pozitivními pacienty (Chen a kol. 1999).

Kontakt se zvířaty je spojen s vyšším rizikem nákazy, přenosu BDV infekce. Ale nejedná se o jedinou cestu nákazy.

Pozitivita BDV infekce: Prokázali jsme pozitivitu BDV CIC u 48,7% v den 0, u 53,85% v den 28 a u 52,94% v den 56 v souboru pacientů s psychickými poruchami ve srovnání s pozitivitou v 37,3 % u kontrolního souboru dárců krve. Rozdíl v pozitivitě BDV infekce v den 0, 28 a 56 nebyl statisticky signifikantní. Nižší pozitivita BDV CIC v den 0 ve srovnání s dalšími dny může být částečně vysvětlena pozitivitou samotných BDV Ag v akutní fázi, kdy není ještě dostatečná tvorba protilátek a nedochází k tvorbě cirkulujících imunokomplexů. Pacienti s pozitivitou pouze Ag mají v případě průkazu BDV CIC negativní výsledek.

Rozdíl v pozitivitě BDV infekce u psychiatrických pacientů byl statisticky významně vyšší než u kontrolního souboru dárců krve. Prokázali jsme statisticky významně vyšší míru positivity (vyšší hladiny) BDV CIC v séru (++ a +++) u pacientů s psychickými poruchami ve srovnání se zdravými jedinci.

Předpokládali jsme vyšší výskyt BDV infekce v našich oblastech vzhledem k vysokému výskytu BDV infekce ve střední Evropě, která je považována za endemickou oblast. Tento předpoklad jsme ve druhé části studie potvrdili. Máme však k dispozici pouze velmi malý počet studií, které k detekci BDV infekce užili stanovení positivity CIC. Bode a kol. prokázali pozitivitu BDV CIC v 90% u pacientů s afektivními poruchami (Bode a kol. 2001). Ostatní studie využívající stejnou laboratorní metodu vyšetřovaly soubory, které nebyly tvořeny psychiatrickými pacienty.

Jednalo se o dospělou nebo dětskou populaci v Německu a Itálii. U dospělých jedinců se pozitivita BDV CIC pohybovala v rozmezí 20-40%, u dětí je pozitivita BDV infekce výrazně vyšší (Bode a kol. 2001, Patti a kol. 2008, Scholbach a Bode 2005, Scholbach a kol. 2008).

Řada studií používající k detekci BDV infekce stanovení protilátek v séru prokázala vyšší pozitivitu u psychiatrických pacientů ve srovnání se zdravými kontrolami. Bode a kol. vyšetřili 3000 vzorků a prokázali pozitivitu ve 13-14% u neuropsychiatrických pacientů ve srovnání se 2% u kontrolního souboru (Bode a kol. 1992). Waltrip a kol. prokázali pozitivitu ve 14,4% u schizofreniků a v 0% u kontrol (Waltrip a kol. 1995), Iwahashi a kol. ve 44,8% u schizofreniků a rovněž v 0% u kontrol (Iwahashi a kol. 1998), Terayama a kol. ve 22% u schizofreniků, ve 27% u afektivních poruch a ve 4% u kontrol (Terayama a kol. 2003). Jiní autoři použili k detekci stanovení BDV RNA pomocí PCR prokázali signifikantně vyšší pozitivitu BDV u psychiatrických pacientů ve srovnání s kontrolami. Miranda a kol. prokázali pozitivitu BDV RNA ve 33,3% a ve 13,3% u kontrol (Miranda a kol. 2005, 2006), Nunes a kol. detekovali BDV RNA ve 44,4% u pacientů se schizofrenií a schizoafektivními poruchami ve 14,8% u zdravých kontrol (Nunes a kol. 2008).

Pozitivita BDV infekce a psychopatologie: Dále jsme sledovali souvislost BDV infekce a tíže psychopatologie, která byla měřená pomocí psychiatrických škál (použité škály viz níže). Pozitivita BDV CIC (ve smyslu negativní vs pozitivní nález) nekorelovala s tíží psychického stavu. Míra (hladina) BDV CIC positivity však byla významně vyšší u pacientů s těžší psychopatií na počátku hospitalizace měřené pomocí CGI než u pacientů s lehčí psychopatií. Pacienti s CGI 1-4 měli významně nižší hladiny BDV CIC v séru ve srovnání s pacienty s CGI 5-6.

Tento významný výsledek je možné vysvětlit předpokladem, že pacienti s těžší psychopatií mají větší změny imunity, které vedou k vyšší aktivaci BDV infekce. Druhým faktorem, který jsme v této studii nehodnotili, může být i vliv stresu. Působení stresu vede ke změnám v imunitním systému a dochází k aktivaci latentní BDV infekce. Otázkou je, zda těžší psychopatologie znamená pro pacienta vždy vyšší stres. Pacienti mohou být stresováni samotným faktem hospitalizace a řadou dalších faktorů, které mohou se zhoršením psychického stavu souviset.

Tento výsledek naší druhé studie potvrdil závěry řady dalších studií, zejména německých. Souvislost BDV positivity a psychopatologie potvrzuje pouze několik studií. Jedna z prvních studií, která prokázala vyšší pozitivitu BDV Ab u pacientů

s těžkou depresí ve srovnání s nižší pozitivitou u pacientů s dystymií, byla publikována v roce 1993. Bode a kol. vyšetřili 70 psychiatrických pacientů na pozitivitu BDV Ab, pozitivita BDV Ab byla prokázána výrazně častěji u pacientů s depresí (ve 30%) ve srovnání s nižší pozitivitou (8%) u pacientů s lehčí psychopatií (dystymií) (Bode a kol. 1993). Další studie v následujících letech tyto výsledky potvrdily. Ferszt a kol. v roce 1999 prokázali vyšší hladiny BDV Ag u pacientů s afektivními poruchami, vyšší hladiny Ag pozitivně korelovaly s vyšším počtem fází depresivní poruchy a s psychopatií (Ferszt a kol. 1999). Signifikantně vyšší hladiny BDV CIC a Ag byly nalezeny u pacientů v akutním stavu a s delším trváním fáze depresivní poruchy (pozitivita v 80%) ve srovnání s nižší pozitivitou u pacientů s mírnější psychopatií (pozitivita v 11%) (Bode a kol. 2001, Bode a Ludwig 2003). Některé studie nacházely vyšší pozitivitu BDV infekce u schizofrenních pacientů s negativní symptomatikou ve srovnání s pozitivními příznaky (Waltrip a kol. 1995, 1997, Iwahashi a kol. 1998).

Vyšší míra positivity BDV infekce a její souvislost s tíží psychopatie se blížila významnosti v den 28, ale v den 56 již nalezena nebyla. V den 28 a zejména v den 56 docházelo u pacientů ke zlepšení psychického stavu a byl snížen rozptyl psychopatie měřené pomocí CGI.

Nebyla nalezena (potvrzena) souvislost mezi hladinou BDV CIC a poklesem psychopatie. Hladiny CIC BDV nekorelovaly s poklesem psychopatie. Pro tento výsledek nemáme jednoznačné vysvětlení, ačkoli změny hladin BDV CIC lze pozorovat v krátkých časových intervalech (např. již v týdenních intervalech). Samotná pozitivita BDV CIC však může přetrvávat dlouhodoběji (týdny až měsíce) (Bode a kol. 2001, 2005, Bode a Ludwig 2003).

Výběr škál k hodnocení psychopatie

Všechny užité škály v naší studii jsou celosvětově užívané, jak v běžné praxi, tak i ve výzkumu. Se všemi škálami pracujeme dlouhodobě a máme dobrou zkušenost v jejich administraci.

CGI (Clinical Global Impression) - tato škála hodnotí tíží psychopatie, je užívaná u všech skupin pacientů, což je výhodné i pro další statistické zpracování, kdy nedochází ke štěpení souboru na řadu dalších skupin. Tato škála je jednoduchá a má dobrou výpovědní hodnotu.

CGI-I (Clinical Global Impression - Improvement) - tato škála je užívaná k hodnocení změny psychického stavu od poslední kontroly.

Hodnocení depresivní symptomatiky

K hodnocení (měření) depresivní symptomatiky jsme užili škálu objektivní, prováděnou lékařem MADRS (Montomery Asbergové Depression Rating Scale) a sebehodnotící škálu SDS (Zung Self-Rating Scale for depression).

MADRS je objektivní škála velmi často užívána k hodnocení deprese, je určena pro pacienty hospitalizované a ambulantní s různou intenzitou potíží.

SDS je sebehodnotící škála hodnocená lékařem pro měření depresivní symptomatiky. Byla užita proto, že subjektivní prožívání se může lišit od našeho hodnocení (objektivního). Její nevýhodou je použití pouze pro pacienty s lehkou a středně těžkou depresivní fází. Není vhodná pro pacienty s těžkou depresivní fází a s fází s psychotickými příznaky.

Hodnocení manické symptomatiky

K hodnocení manické symptomatiky jsme užili objektivní, lékařem hodnocenou škálu **YMRS (Young Mania Rating Scale)**, která je široce využívána.

Hodnocení psychotické symptomatiky

PANSS (Positive and Negative symptoms Scale): jedná se o škálu, která se užívá velmi často k měření negativní, pozitivní, afektivní a celkové symptomatiky u psychotických pacientů.

Souvislost výskytu BDV infekce s jinými faktory:

Pohlaví: V den 28 se statistické významnosti blížil nález vyšší BDV CIC pozitivitu u žen. V jiných dnech nebyla žádná souvislost BDV infekce s pohlavím nalezena. V našem vzorku psychiatrických pacientů bylo však více žen ve srovnání s muži. Pouze jedna studie uvádí vyšší výskyt BDV CIC u žen ve srovnání s muži (Patti a kol. 2008). Pro tento výsledek však nemáme vysvětlení, může se jednat o náhodně zjištěnou souvislost bez klinického dopadu.

Ostatní anamnestické parametry: Neprokázali jsme žádnou další souvislost s pozitivitou BDV CIC a ostatními sledovanými parametry: věkem, diagnózou, počtem prodělaných atak psychické poruchy, rodinnou anamnézou ohledně neuropsychiatrické zátěže, infekčním onemocněním v období odběru krve na BDV a kontaktem se zvířaty.

Detekce BDV CIC (cirkulujících imunokomplexů) v séru pacientů se závislostí na psychoaktivních látkách

Třetí studie probíhala ve stejné době jako druhá. Byla prováděna u pacientů se závislostí na alkoholu a nealkoholových psychoaktivních látkách. Tato skupina pacientů byla vybrána s ohledem na nedostatek údajů ohledně BDV positivity u této skupiny pacientů. Druhým důvodem bylo, že u pacientů s abusem návykových látek jsou popisovány změny imunitním systémem, což vede k vyššímu výskytu řady infekčních onemocnění, jejich horšímu průběhu a vyšší mortalitě (Szabo 1997, Brown a kol. 2006, Inabo 2005, Yu a kol. 2002). U pacientů se závislostí na psychoaktivních látkách je popisován vysoký výskyt afektivních a úzkostných poruch ve srovnání s běžnou populací. Abusus a vysazení návykových látek je velmi často spojeno se stresem (Nunes a Levin 2004, Torrens a kol. 2005). Borna disease virus způsobuje dysfunkci řady neuromediátorových systémů, zejména dopaminergního, což vede k jeho možnému propojení s duševními poruchami z oblasti závislosti (Solbrig 2010).

Hypotéza: Pacienti s probíhající (aktivní) závislostí na psychoaktivních látkách (pacienti aktivně užívající psychoaktivní látky) mají vyšší pozitivitu BDV (CIC) ve srovnání se zdravými jedinci. Pozitivita BDV je vyšší v době aktivního užívání psychoaktivních látek a klesá při abstinenci.

Pozitivita BDV infekce: Pacienti byli vyšetřeni na BDV CIC pozitivitu na počátku hospitalizace na detoxifikační jednotce a po 8 týdnech abstinence, na konci krátkodobé odvykací léčby. Ve stejnou dobu byly prováděny další laboratorní náběry. Pozitivita BDV byla zjištěna u 36,6% pacientů v den 0, u 42,9% v den 56 (po 8 týdnech abstinence) a 37,3% u kontrolního souboru dárců krve.

Překvapivě jsme neprokázali vyšší BDV CIC pozitivitu u závislých pacientů ve srovnání se zdravými jedinci. Nedošlo ani k předpokládanému snížení positivity během 8 týdnů abstinence. Došlo naopak k mírnému zvýšení positivity BDV CIC na konci odvykací léčby, ale toto zvýšení nebylo statisticky významné. BDV CIC pozitivita na počátku hospitalizace na detoxifikační jednotce nesouvisela s předčasným ukončením léčby (reverz, porušení léčebného režimu). Naše výsledky nemůžeme srovnat s dalšími studii, protože BDV infekce u závislých pacientů nebyla sledována anebo v současné době nejsou dostupné žádné ucelené studie, které by se touto problematikou zabývaly. Pouze jedna studie zmínila negativní pozitivitu BDV infekce u pacientů s HIV infekcí a

anamnézou i.v. aplikace návykových látek v Japonsku (Auwanit a kol. 1996). Je třeba vyšetření většího souboru závislých pacientů k potvrzení našich výsledků.

Ke stanovení BDV CIC positivity jsme použili výše zmíněnou ELISA metodu, která prokazuje vyšší výskyt BDV infekce ve srovnání s jinými laboratorními metodami. Tato metoda je vhodná pro detekci aktivní fázi virové infekce, tzn. přítomnost Borna disease viru v organismu (Bode a kol. 2001, Bode a Ludwig 2003, Thakur a kol. 2009).

Za určitou limitaci studie považujeme, že byla stanována pouze pozitivita CIC. Druhým markerem aktivní BDV infekce je i Ag pozitivita. Druhou možností může být, že imunitní poškození u závislých pacientů není takového typu, aby vedlo k vyššímu riziku BDV infekce a k její aktivaci. Třetím vysvětlením nízké positivity BDV CIC u závislých pacientů může být snížená schopnost tvorby protilátek (jako následek poškození imunitního systému dlouhodobým abusem) a následně snížená tvorba CIC.

Souvislost výskytu BDV infekce s dalšími anamnestickými a demografickými faktory:

Věk: Prokázali jsme vyšší BDV CIC pozitivitu u mladších pacientů (s rostoucím věkem souboru pozitivita BDV CIC klesala). Tento nálezn odpovídá výsledkům řady studií, kdy byla prokázána vyšší pozitivita BDV infekce u mladších pacientů (Patti a kol. 2008, Scholbach a Bode 2005, Scholbach a kol. 2008)..

Pohlaví: Neprokázali jsme významnou souvislost mezi BDV CIC pozitivitou a pohlavím vyšetřovaných pacientů.

Poškození jaterní tkáně: Sledovali jsme souvislost mezi BDV CIC pozitivitou a poškozením jaterní tkáně, které bylo charakterizováno hodnotou GMT (gama-glutamyltransferázou). Elevace GMT je typická pro toxické poškození jaterní tkáně zejména při abusu alkoholu. Pouze jedna studie popisuje souvislost positivity BDV CIC a elevace jaterních testů (elevace hladin GMT) (Flower a kol. 2008). Flower a kol. prokázali pozitivní korelaci mezi pozitivitou BDV infekce (antigenémií) a zvýšenými hodnotami jaterních enzymů ALT a GMT u pacientů po opakovaných krevních transfúziích. Autoři nedokázali spolehlivě vysvětlit tuto souvislost. Předpokládají, že vyšší hodnoty jaterních enzymů jsou spojeny s celkovým zhoršením stavu organismu, jeho oslabením, které by mohlo vést k aktivaci bornavirové infekce (Flower a kol. 2008). V naší studii jsme však prokázali výsledek opačný. Vyšší BDV CIC pozitivita byla spojena s nižšími hodnotami GMT, tzn. s menším jaterním poškozením na počátku

hospitalizace v den 0. Tato souvislost nebyla potvrzena v den 56, což může být způsobeno i menším rozptylem hodnot GMT po 8 týdnech abstinence. U pacientů během hospitalizace došlo k poklesu hodnot GMT. Zatím nedokážeme tento výsledek uspokojivě vysvětlit. Jedno z možných vysvětlení může být, že mladší pacienti měli méně poškozenou jaterní tkáň kvůli kratší době abusu psychoaktivních látek, ale tato souvislost nebyla prokázána. Nižší věk byl v této studii spojen s vyšší BDV CIC pozitivitou.

Diagnóza: Sledovali jsme souvislost BDV CIC infekce s diagnózou. Pacienti byli rozděleni na dvě skupiny; závislost na alkoholu a ostatních psychoaktivních látkách. Rozdělení na skupiny podle typu nealkoholových návykových látek jsme neprovedli pro malý počet pacientů. Druhým důvodem bylo vysoké procento pacientů se škodlivým užíváním jiných psychoaktivních látek než byla jejich základní. Nebyla nalezena souvislost mezi BDV CIC pozitivitou a typem návykové látky zneužívané pacientem.

Doba abusu: Dlouhodobější abusus návykových látek vede k výraznějšímu poškození imunitního systému, proto jsme hledali souvislost mezi BDV CIC pozitivitou a délkou závislosti (doba abusu byla uváděna v letech). Nebyla nalezena významná souvislost mezi délkou závislosti v letech a BDV CIC pozitivitou. Překvapivě delší doba užívání psychoaktivních látek byla uváděna skupinou pacientů se závislostí na nealkoholových psychoaktivních látkách ve srovnání s pacienty s abusem alkoholu. Tento údaj byl zjišťován dotazy u pacientů, jejich rodinných příslušníků a pomocí zdravotnické dokumentace. Možným vysvětlením je, že abusus alkoholu je jak pacienty, tak jejich okolím poměrně dlouho tolerovaný a není považovaný za problematický ve srovnání s abusem např. pervitinu či heroínu.

Rodinná anamnéza: U pacientů byla odebírána rodinná anamnéza ohledně psychiatrické zátěže (psychické poruchy, abusus návykových látek, závislost na nich). Viro-psycho-imunologický model předpokládá, že ke vzniku psychické poruchy vede kombinace genetické dispozice, latentní virové infekce a ovlivnění imunitního systému. U pacientů s pozitivní rodinnou anamnézou lze předpokládat genetickou dispozici pro psychické onemocnění (Dietrich a kol. 1998). V našem souboru jsme neprokázali významnou souvislost BDV CIC positivity a rodinné anamnézy.

Anamnéza infekčních onemocnění: Abusus alkoholu a ostatních nealkoholových psychoaktivních látek ovlivňuje jak buněčnou tak humorální složku imunity a vede u postiženého jedince ke snížené obranyschopnosti ohledně virovým,

bakteriálním i protozoálním infekcím. U těchto pacientů je popisován vyšší výskyt řady infekčních onemocnění s horším průběhem a vyšší mortalitou ve srovnání se zdravými jedinci. Tyto komplikace jsou způsobeny přímým ovlivněním imunitního systému a nepřímým, které je způsobeno rizikovým chováním, nedostatečným příjmem potravy a karencí vitamínů (Inabo 2005, Szabo 1996).

U pacientů v našem souboru jsme zjišťovali anamnézu infekčních onemocnění a přítomnost infekce v období před a v době odběru krve na pozitivitu BDV. Infekce jiným infekčním agens může vést k ovlivnění imunitního systému a následně k aktivaci do té doby latentní BVC infekce. Neprokázali jsme souvislost vyšší BDV CIC positivity a přítomnosti infekčního onemocnění (v našem souboru se jednalo hlavně o hepatitis C a B), ačkoli jiná infekce zvyšuje riziko reaktivace perzistentní latentní BDV infekce a může vést ke zvýšení positivity. V našem souboru byl však výskyt ostatních infekčních onemocnění velmi nízký.

Infekční onemocnění v době odběru: Souvislost BDV CIC positivity nebyla zjištěna ani s přítomností infekčního onemocnění v období odběru krve na BDV, které může rovněž znamenat vyšší riziko aktivace latentní BDV infekce (Boldogh a kol. 1996, Dietrich a kol. 1998, Bode a kol. 2005, Deuschle a kol. 2003). Cotto a kol. stanovovali pozitivitu BDV infekce (BDV RNA pomocí PCR) u dvou skupin pacientů (pacientů s HIV infekcí a pacientů užívajících imunosupresiva). Prokázali signifikantně vyšší pozitivitu BDV RNA u pacientů s HIV infekcí ve srovnání s druhou skupinou imunosuprimovaných pacientů a zdravými kontrolami (Cotto a kol. 2003). Signifikantně vyšší výskyt BDV Ab byl prokázán v japonské studii u HIV pozitivních pacientů a u pacientů s dalšími sexuálně přenosnými infekčními chorobami ve srovnání se zdravými jedinci (Auwanit a kol. 1996).

Kontakt se zvířaty: Nebyla prokázána souvislost positivity BDV infekce a kontaktu se zvířaty. Pacienti se závislostí na psychoaktivních látkách byli velmi často v 90,2% v kontaktu se zvířaty (jednalo se zejména o domácí mazlíčky-kočky a psy), ale ne v kontaktu s hospodářskými zvířaty, u kterých je prokazován vyšší výskyt BDV infekce. V současnosti nemáme žádná data o výskytu BDV infekce u domácích zvířat v České republice.

6. Význam práce pro klinickou praxi

V první studii jsme neprokázali vyšší pozitivitu BDV CIC u psychiatrických pacientů. Ve druhé studii byla detekována významně vyšší BDV CIC pozitivita ve srovnání s kontrolním souborem. Vyšší hladiny BDV CIC korelovaly s těžší psychopatologií zejména na počátku hospitalizace.

Překvapivým výsledkem byla pro nás třetí studie, kde jsme neprokázali vyšší BDV CIC pozitivitu u pacientů se závislostí na psychoaktivních látkách ve srovnání se zdravými jedinci. Nedošlo ani k předpokládanému poklesu BDV CIC positivity během dvouměsíční abstinence.

Z dalších sledovaných parametrů byla nalezena souvislost mezi vyšší BDV CIC pozitivitou a nižším věkem a mezi nižšími hladinami hodnot GMT.

- Za důležitý a významný výsledek považujeme průkaz vyšší positivity a vyšších hladin BDV CIC u psychiatrických pacientů a u těžší psychopatologie v České republice. Jedná se zatím o jedinou studii obdobného zaměření. Potvrdili jsme alespoň částečně předpoklad vyššího výskytu této infekce u nás. Pokračujeme v dalším vyšetřování a rozšiřování souboru psychiatrických i závislých pacientů se sledováním dalších parametrů.
- Rozdílnost výsledků našich dvou souborů psychiatrických pacientů (z let 2001-2003 a 2006-2008) nedokážeme zcela spolehlivě vysvětlit. Výsledek může být ovlivněn i možným sezónním výskytem bornavirové infekce.
- Jedná se u nás o ojedinělou studii tohoto zaměření, která může přispět k rozšíření znalostí o etiologii, patofyziologii a následně i léčebných možnostích u psychických poruch. Další výsledky mohou přispět k potvrzení jednoho z mnoha etiologických faktorů psychických poruch a rozšíření léčebných možností u některých skupin pacientů.
- Při potvrzení vyššího výskytu BDV infekce v populaci psychiatrických pacientů a její souvislosti s průběhem psychické poruchy je jako léčebný postup zvažováno v kombinaci s psychofarmakoterapií podávání virostatik. V některých studiích byl s pozitivním efektem využit v léčbě bornavirové infekce amantadin u farmakorezistentních pacientů. Vzhledem k jeho vlivu mimo jiné na dopaminergní systém je jeho užití omezeno na pacienty s depresivními poruchami.

- Ve druhé části naší práce jsme potvrdili výsledky dosažené německými autory, tj. prokázali jsme vyšší pozitivitu u souboru psychiatrických pacientů a souvislost míry positivity BDV infekce s tíží psychopatologie. Dosud nezodpovězenou otázkou zůstává, zda intenzivnější (masivnější) bornavirová infekce přispívá k závažnější psychopatologii u infikovaných pacientů. Nebo zda závažnější psychopatologie je pro nemocného více stresující a stres vede k aktivaci do té doby latentní bornavirové infekce.
- V současné době pokračujeme v dalším vyšetřování positivity BDV infekce u pacientů s afektivními a psychotickými poruchami a u pacientů se závislostí na psychoaktivních látkách. Všichni pacienti jsou kromě škál hodnotících psychopatologii hodnoceni škálami pro vnímání stresu (PSS-10 Percieved stress scale) a hodnocení léčby (SOS-10 Schwartzova škála hodnocení terapie). Cílem naší další práce je zhodnocení souvislosti subjektivně vnímaného stresu a tíže psychopatologie, korelace stresu a positivity BDV infekce. U dalších vyšetření bychom měli mít k dispozici již vyšetření na přítomnost BDV CIC a Ag, tj. možnost kompletního záchytu aktivní fáze bornavirové infekce.

7. Poděkování

Za pomoc a spolupráci při této práci bych ráda poděkovala:

Doc. MUDr. Jiřímu Beranovi, CSc., Psychiatrická klinika Fakultní nemocnice v Plzni, který byl školitelem.

RNDr. Haně Kabičkové, Oddělení molekulární biologie a parazitologie, Klinlab s.r.o., Ústřední vojenská nemocnice Praha, která provedla vyšetření na BDV CIC pozitivitu v séru závislých pacientů a u kontrolního souboru dárců krve.

Dr. Liv Bode, Institut Roberta Kocha, Berlín Německo, Dr. Hanns Ludwig, Free Univerzita Berlín, Německo, kteří vytvořili laboratorní metodu na stanovení BDV CIC v séru a poskytli ji k potřebám naší studie.

Svému kolegovi MUDr. Luboši Janů, Ph.D. za pomoc s tvorbou metodiky.

RNDr. Ing. Františku Šefrnovi, který provedl statistické zpracování výsledků.

Ústavu klinické biochemie a hematologie, Fakultní nemocnice v Plzni, kde bylo prováděno zpracování a skladování krevních vzorků.

8. Literatura:

Adinolfi LE, Utili R, Tonziello A, Ruggiero G. Effects of alpha interferon induction plus ribavirin with or without amantadine in the treatment of interferon non-responsive chronic hepatitis C: a randomised trial. *Gut*. 2003; 52(5): 701-705.

Alvarado-Esquivel C, Alanis-Qinones OP, Arreola-Valenzuela MA, Rodríguez-Briones A, Piedra-Nevarez LJ, Duran-Morales E, Estrada-Martínez S, Martínez-García SA, Liesenfeld O. Seroepidemiology of *Toxoplasma Gondii* infection in psychiatric inpatients in a northern Mexican city. *BMC Infectious Diseases*. 2006; 6: 178-184.

Amsterdam JD, Winokur A, Dyson W, Herzog S, Gonzales S, Rott R, Koprowski H. Borna disease virus. A possible etiologic factor in human affective disorders? *Archives of General Psychiatry*. 1985; 42(11): 1093-1096.

Auwanit W, Ayuthaya PI, Nakaya T, Fujiwara S, Kurata T, Yamanishi K, Ikuta K. Unusually high seroprevalence of Borna disease virus in clade E human immunodeficiency virus type 1-infected patients with sexually transmitted diseases in Thailand. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 1996; 3(5): 590-593.

Bachmann S, Caplazi P, Fischer M, Ehrensperger F, Cone WR. Lack of association between Borna disease virus infection and neurological disorders among HIV-infected individuals. *Journal of Neurovirology*. 1999; 5(2): 190-195.

Bechter K, Bauer K, Estler HC, Herzog S, Schuttler R, Rott R. Expanded nuclear magnetic resonance studies in Borna disease virus seropositive psychiatric patients and control probands. *Nervenarzt*. 1994; 65(3): 169-174.

Bechter K, Herzog S, Behr W, Schuttler R. Investigations of cerebrospinal fluid in Borna disease virus seropositive psychiatric patients. *European Psychiatry*. 1995; 10: 250-258.

Bechter K, Herzog S, Schreiner V, Brinkmeier H, Aulkemeyer P, Weber F, Wollinsky KH, Schuttler R. Borna disease virus-related therapy-resistant depression improved after cerebrospinal fluid filtration. *Journal of Psychiatric Research*. 2000; 34(6): 393-396.

Bechter K, Schuttler R, Herzog S. Borna disease virus, possible causal agent in psychiatric and neurologic disorders in two family letter. *Psychiatry Res*. 1992; 42: 291-294.

Berg AL, Berg M. A variant form of feline Borna disease. *Journal of Comparative Pathology*. 1998; 119(3): 323-331.

Berg AL, Dorries R, Berg M. Borna disease virus infection in racing horses with behavioral and movement disorders. *Archives of Virology*. 1999; 144(3): 547-559.

Berg M, Johansson M, Montell H, Berg AL. Wild birds as possible natural reservoir of Borna disease virus. *Epidemiology and Infection*. 2001; 127(1): 173-178.

- Billaud JN, Ly C, Phillips TR, Torre JC. Borna Disease Virus Persistence Causes Inhibition of Glutamate Uptake by Feline Primary Cortical Astrocytes. *Journal of Virology*. 2000; 74(22): 10438-10446.
- Binz T, Lebelt J, Niemann H, Hagenau K. Sequence analyses of the p24 gene of Borna disease virus in naturally infected horse, donkey and sheep. *Virus Research*. 1994; 34(3): 281-289.
- Bode L, Dietrich D E, Detlef E, Stoyloff R, Emrich HM, Ludwig H. Amantadine and human Borna disease virus in vitro and in vivo in an infected patient with bipolar depression. *Lancet*. 1997; 349 (9046): 178-179.
- Bode L, Durrwald R, Rantam FA, Ferszt R, Ludwig H. First isolates of infectious human Borna disease virus from patients with mood disorders. *Molecular Psychiatry*. 1996; 1: 200-212.
- Bode L, Ferszt R, Czech G. Borna disease virus infection and affective disorders in man. *Archives of Virology-Supplementum*. 1993; 7: 159-167.
- Bode L, Ludwig H. Borna disease virus infection, a human mental-health risk. *Clinical Microbiology Reviews*. 2003; 16 (3): 534-545.
- Bode L, Dietrich DE, Ludwig H: Borna Disease Virus: Impact on Mood and Cognition. *Biology of Depression*, Edited by Julio Licinio, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA, Weinheim. 2005; ISBN: 3-527-30785-0, 583-615.
- Bode L, Reckwald P, Severus WE, Stoyloff R, Ferszt R, Dietrich DE, Ludwig H. Borna disease virus-specific circulating immune complexes, antigenemia, and free antibodies-the key marker triplet determining infection and prevailing in severe mood disorders. *Molecular Psychiatry*. 2001; 6(4): 481-491.
- Bode L, Riegel S, Lange W, Ludwig H. Human infections of Borna disease virus: seroprevalence in patients with chronic diseases and healthy individuals. *Journal of Medical Virology*. 1992; 36(4): 309-315.
- Bode L, Scholbach T, Patti AM, Vetterlein M, Ludwig H. Borna disease virus infection in early childhood, a potential risk for developing brains. *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 15th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Copenhagen, Denmark, April 2-5, 2005*, abstract No 1133-60.
- Bode L, Stienbach F, Ludwig H. A novel marker for Borna disease virus infection. *Lancet*. 1994; 343 (8892): 297-298).
- Boldogh I, Albrecht T, Porter DD. Persistent infection. *Medical Microbiology*. University of Texas Medical Branch at Galveston 0-9631172-1-11996.
- Branas P, Jordan R, Fry-Smith A, Burls A, Hyde C. Treatment for fatigue in multiple sclerosis: a rapid and systematic review. *Health Technology Assessment (Rockville, Md)* 2000; 4(27): 1-61.

- Brenner M, Haass A, Jacobi P, Schimrigk K. Amantadine sulphate in treating Parkinson's disease: clinical effects, psychometric tests and serum concentrations. *Journal of Neurology*. 1989; 236(3): 153-156.
- Brenner M, Haass A, Jacobi P, Schimrigk K. Intravenous and oral treatment with amantadine sulphate in Parkinson disease. *Nervenarzt*. 1988; 59(3): 180-184.
- Briese T, de la Torre JC, Lewis A, Ludwig H, Lipkin WI. Borna disease virus, a negative-strand RNA virus, transcribes in the nucleus of infected cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992; 89: 11486-11489.
- Brown LAS, Cook RT, Jerrells TR, Kolls JK, Nagy LE, Szabo G, Wands JR, Kovacs EJ. Acute and Chronic Alcohol Abuse Modulate Immunity. *Alcohol Clin Exp Res*. 2006; 30(9): 1624-1631.
- Caplazi P, Melzer K, Goetzmann R, Rohner-Cotti A, Bracher V, Zlinszky K, Ehrensperger F. Borna disease in Switzerland and in the principality of Liechtenstein. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*. 1999; 141(11): 521-527.
- Caplazi P, Waldvogel A, Stitz L, Braun U, Ehrensperger F. Borna disease in naturally infected cattle. *Journal of Comparative Pathology*. 1994; 111(1): 65-72.
- Carbone KM. Borna disease virus and human disease. *Clinical Microbiology Reviews*. 2001; 14(3): 513-527).
- Carbone KM, Duchala CS, Griffin JW, Kincaid AL, Narayan O. Pathogenesis of Borna disease in rats: evidence that intra-axonal spread is the major route for virus dissemination and the determinant for disease incubation. *Journal of Virology*. 1987; 61(11): 3431-3440.
- Carbone KM, Rubin SA, Nishino Y, Pletnikov MV. Borna disease virus-induced neurobehavioral disease pathogenesis. *Current Opinion in Microbiology*. 2001; 4(4): 467-475.
- Chalmers RM, Thomas DR, Salmon RL. Borna disease virus and the evidence for human pathogenicity: a systematic review. *Q J Med*. 2005; 98: 255-274.
- Chen Ch, Chiu YL, Shaw CK, Tsai MT, Hwang AL, Hsiao KJ: Detection of Borna disease virus RNA from peripheral blood cells in schizophrenic patients and mental health workers. *Molecular Psychiatry*. 1999; 4(6): 566-571.
- Cubitt B, Oldstone C, Valcarcel J, de la Torre JC. RNA splicing contributes to the generation of mature mRNAs of Borna disease virus, a non-segment negative strand RNA virus. *Virus Research*. 1994; 34(1): 69-79.

Czygan M, Hallensleben W, Hofer M, Pollak S, Sauder Ch, Bilzer T, Blumcke I, Riederer P, Bogerts B, Falkai P, Schwarz MJ, Masliah E, Staeheli P, Hufert FT, Lieb K. Borna Disease Virus in Human Brains with a Rare Form of Hippocampal Degeneration but not in Brains with Common Neuropsychiatric Disorders. *Journal of Infectious Diseases*. 1999; 180: 1695-1699.

Dauphin G, Legay V, Sailleau C, Smondack S, Hammoumi S, Zientara S. Evidence of Borna disease virus genome detection in French domestic animals and in foxes (*Vulpes vulpes*). *Journal of General Virology*. 2001; 82(Pt9): 2199-2204.

Deuschle M, Bode L, Heuser I, Schmider J, Ludwig H. Borna disease virus protein in cerebrospinal fluid of patients with recurrent depression and multiple sclerosis. *Lancet*. 1998; 352 (9143): 1828-1829.

Deusche M, Bode L, Schnitzler P, Meyding-Lamadé U, Plesch A, Ludwig H, Hamann B, Heuser I. Hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) system activity in depression and infection with Borna disease virus and *Chlamydia pneumoniae*. *Mol Psychiatry*. 2003; 8: 469-470.

Dietrich DE, Bode L, Spannhuth CW, Lau T, Huber TJ, Brodhun B, Ludwig H, Emrich HM. Amantadine in depressive patients with Borna disease virus (BDV) infection: an open trial. *Bipolar Disorders*. 2000; 2: 65-70.

Dietrich DE, Kleinschmidt A, Hauser U, Schneider U, Spannhuth CW, Kipp K, Huber TJ, Wieringa BM, Emrich HM, Johannes S. Word recognition memory before and after successful treatment of depression. *Pharmacopsychiatry*. 2000; 33(6): 221-228.

Dietrich DE, Schedlowski M, Bode L, Ludwig H, Emrich HM. A viro-immunological disease-model of a subtype affective disorder. *Pharmacopsychiatry*. 1998; 31: 77-82.

Dittrich W, Bode L, Ludwig H, Kao M, Schneider K. Learning deficiencies in Borna disease virus-infected but clinically healthy rats. *Biological Psychiatry*. 1989; 26(8): 818-828.

Duchala CS, Carbone KM, Narayan O. Preliminary studies on the biology of Borna disease virus. *Journal of General Virology*. 1989; 70(Pt 12): 3507-3511.

Durrwald R, Ludwig H. Borna Disease Virus (BDV), a (Zoonotic?) Worldwide Pathogen. A Review of the History of the Disease and the Virus Infection with Comprehensive Bibliography. *Journal of Veterinary Medicine*. 1997; 44(3): 147-184.

Enbergs HK, Vahlenkamp TW, Kipar A, Mille, H. Experimental infection of mice with Borna disease virus (BDV): replication and distribution of the virus after intracerebral infection. *Journal of Neurovirology*. 2001; 7(3): 272-273.

Ferszt R, Kuhl KP, Bode L, Severus EW, Winzer B, Berghofer A, Beelitz G, Brodhun B, Muller-Oerlinghausen B, Ludwig H. Amantadine revisited: an open trial of amantadinesulfate treatment in chronically depressed patients with Borna disease virus infection. *Pharmacopsychiatry*. 1999; 32(4): 142-147.

Ferszt R, Severus E, Bode L, Brehm M, Kuehl KP, Berzewski H, Ludwig H. Activated Borna disease virus in affective disorders. *Pharmacopsychiatry*. 1999; 32(3): 93-98.

Feschotte C: Borna virus enters the genome. *Nature* 2010, 463:39-40.

Flower RLP, Kamhieh S, Mclean L, Bode L, Ludwig, H, Ward ChM. Human Borna disease virus infection in Australia: Serological markers of infection in multi-transfused patients. *APMIS*. 2008; 116(Suppl. 124): 89–93.

Fu ZF, Amsterdam JD, Kao M, Shankar V, Koprowski H, Dietzschold B. Detection of Borna disease virus-reactive antibodies from patients with affective disorders by western immunoblot technique. *Journal of Affective Disorders*. 1993; 27(1): 61-68.

Fukuda K, Takahashi K, Iwata Y, Mori N, Gonda K, Ogawa T, Osonoe K, Sato M, Ogata S, Horimoto T, Sawada T, Tashiro M, Yamaguchi K, Niwa S, Shigeta S. Immunological and PCR analyses for Borna disease virus in psychiatric patients and blood donors in Japan. *Journal of Clinical Microbiology*. 2001; 39(2): 419-429.

Furrer E, Bilzer T, Stitz L, Planz O. Neutralizing antibodies in persistent borna disease virus infection: prophylactic effect of gp94-specific monoclonal antibodies in preventing encephalitis. *Journal of Virology*. 2001; 75(2): 943-951.

Furrer E, Bilzer T, Stitz L, Planz O. High-Dose Borna Disease Virus Infection Induces a Nucleoprotein-Specific Cytotoxic T Lymphocyte Response and Prevention of Immunopathology. *Journal of Virology*. 2001; 75(23): 11700-11708

Galabru J, Saron MF, Berg M, Berg AL, Herzog S, Labie J, Zientara S. Borna disease virus antibodies in French horses. *Vet Rec*. 2000; 147(25): 721-722.

Gonzales-Dunia D, Sauder C, de la Torre JC. Borna disease virus and brain. *Brain Res Bull*. 1997; 44: 647-664.

Gonzalez-Dunia D, Watanabe M, Syan S, Mallory M, Masliah E, de la Torre JC. Synaptic pathology in Borna disease virus persistent infection. *Journal of Virology*. 2000; 74(8): 3441-3448.

Gosztonyi G, Ludwig H. Borna disease of horses. An immunohistological and virological study of naturally infected animals. *Acta Neuropathologica*. 1984; 64(3): 213-221.

Gosztonyi G, Ludwig H. Interactions of viral proteins with neurotransmitter receptors may protect or destroy neurons. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2001; 253: 121-144.

Grabner A, Fischer A. Symptomatology and diagnosis of Borna encephalitis of horses. A case analysis of the last 13 years. *Tierärztliche Praxis*. 1991; 68-73.

Haga S, Motoi Y, Ikeda K. Borna disease virus and neuropsychiatric disorders. *Lancet*. 1997; 350 (9077): 592-593.

- Hagiwara K, Asakawa M, Liao L, Jiang W, Yan S, Chai J, Oku Y, Ikuta K, Ito M. Seroprevalence of Borna disease virus in domestic animals in Xinjiang, China. *Veterinary Microbiology*. 2001; 80(4): 383-389.
- Hagiwara K, Kamitani W, Takamura S, Taniyama H, Nakaya T, Tanaka H, Kirisawa R, Iwai H, Ikuta K. Detection of Borna disease virus in a pregnant mare and her fetus. *Veterinary Microbiology*. 2000; 72(3-4): 207-216.
- Hájek T, Pašková B, Janovská D, Bahbouh R, Hájek P, Libiger J, Höschl C. Higher Prevalence of Antibodies to *Borrelia burgdorferi* in Psychiatric Patients Than in Healthy Subjects. *Am J Psychiatry*. 2002; 159: 297-301.
- Hallensleben W, Staeheli P. Inhibition of Borna disease virus multiplication by interferon: cell line differences in susceptibility. *Archives of Virology*. 1999; 144(6): 1209-1216.
- Hatalski CG, Lewis AJ, Lipkin WI. Borna Disease. *Emer Infect Dis*. 1997; 3(2): 129-135.
- Herzog S, Wonigeit K, Frese K, Hedrich HJ, Rott R. Effect of Borna Disease Virus Infection on Athymic Rats. *J Gen Virol*. 1985; 66: 503-508.
- Hirano N, Kao M, Ludwig H. Persistent, tolerant or subacute infection in Borna disease virus-infected rats. *Journal of General Virology*. 1983; 64(Pt 7): 1521-1530.
- Hofer MJ, Schindler AR, Ehrensperger F, Staeheli P, Pagenstecher A. Absence of Borna disease virus in the CNS of epilepsy patients. *Journal of Clinical Virology*. 2006; 36: 84-85.
- Holub D, Motlová L, Rodriguez M, Preiss M, Čermák J, Libiger J. *Toxoplasma gondii* u schizofrenie. *Psychiatrie*. 2006; 10(2): 81-87.
- Hornig M, Briese T, Lipkin WI. Borna disease virus. *Journal of Neurovirology*. 2003; 9(2): 259-273.
- Huber TJ, Dietrich DE, Emrich HM. Possible use of amantadine in depression. *Pharmacopsychiatry*. 1999; 32(2): 47-55.
- Inabo HI. The relationship between drug abuse and microbial infection. *African Journal of Biotechnology*. 2005; 4(13): 1588-1590.
- Iwahashi K, Watanabe M, Nakanuta K, Sušáku H, Nakaya T, Nakanuta Y, Takahashi H, Ikuta K. Borna disease virus infection and negative syndromes in Japanese schizophrenia patients. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*. 1998; 52: 119.
- Iwata Y, Takahashi K, Peng X, Fukuda K, Ohno K, Ogawa T, Gonda K, Mori N, Niwa S, Shigeta S. Detection and sequence analysis of Borna disease virus p24 RNA from peripheral blood mononuclear cells of patients with mood disorders or schizophrenia and of blood donors. *Journal of Virology*. 1998; 72(12): 10044-10049.

Jordan I, Briese T, Averett DR, Lipkin WI. Inhibition of Borna disease virus replication by ribavirin. *Journal of Virology*. 1999; 73(9): 7903-7906.

Jordan I, Lipkin WI. Borna disease virus. *Reviews in Medical Virology*. 2001; 11(1): 37-57.

Kampman KM, Volpicelli JR, Alterman AI, Cornish J, O'Brien CP. Amantadine in the treatment of cocaine-dependent patients with severe withdrawal symptoms. *American Journal of Psychiatry*. 2000; 157(12): 2052-2054.

Kandel R, Hartshorn KL. Prophylaxis and Treatment of Influenza Virus Infection. *Biodrugs*. 2001; 15(5): 303-323.

Kao M, Hamir AN, Rupprecht CE, Fu ZF, Shankar V, Koprowski H, Dietzschold B. Detection of antibodies against Borna disease virus in sera and cerebrospinal fluid of horses in the USA. *Veterinary Record*. 1993; 132(10): 241-244.

Katz JB, Alstad D, Jenny AL, Carbone KM, Rubin SA, Waltrip RW 2nd. Clinical, serologic, and histopathologic characterization of experimental Borna disease in ponies. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 1998; 10(4): 338-343.

Khan MA, Yamaguchi K, Miyata H, Kazi A, Kamahora T, Hino S. Prevalence of Anti-Borna Disease Virus Antibody in Horses and Their Caretakers in Bangladesh. *Yonago Acta Medica*. 2000; 43: 59-67.

Kim YK, Kim SH, Han CS, Lee HJ, Kim HS, Yoon SC, Kim DJ, Song KJ, Maes M, Song JW. Borna disease virus and deficit schizophrenia. *Acta Neuropsychiatrica*. 2003; 15: 262-265.

Kim YK, Kim SH, Choi SH, KoYH, Kim L, Lee MS, Suh KY, Kwak DI, Song KJ, Lee YJ, Yanagihara R, Song JW. Failure to demonstrate Borna disease virus genome in peripheral blood mononuclear cells from psychiatric patients in Korea. *Journal of Neurovirology*. 1999; 5(2): 196-199.

King BH, Wright DM, Snape M, Dourish CT. Case series: amantadine open-label treatment of impulsive and aggressive behavior in hospitalized children with developmental disabilities. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*. 2001; 40(6): 654-657.

Kishi M, Arimura Y, Ikuta K, Shoya Y, Lai PK, Kakinuma M. Sequence Variability of Borna Disease Virus Open Reading Frame II Found in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells. *Journal of Virology*. 1996; 70(1): 635-639.

Kishi M, Nakaya T, Nakanuta Y, Kakinuma M, Takahashi TA, Sekiguchi S, Uchikawa M, Tadokoro K, Ikeda K, Ikuta K. Prevalence of Borna disease virus RNA in peripheral blood mononuclear cells from blood donors. *Med Microbiol Immunol*. 1995; 184:135-138.

- Lancaster K, Dietz DM, Moran TH, Pletnikov MV. Abnormal social behaviors in young and adult rats neonatally infected with Borna disease virus. *Behav Brain Res.* 2007; 176(1): 141-148.
- Lewis AJ. Borna disease virus: Molecular characterization and modulation of immunopathology. *Dissertation Abstracts International: Section B: the Sciences and Engineering.* 1998: 59(6-B).
- Li Q, Wang Z, Zhu D, Xu M, Chen X, Peng D, Iwata Y, Xie P. Detection and analysis of Borna disease virus in Chinese patients with neurologic disorders. *European Journal of Neurology.* 2009; 16: 399-403.
- Lieb K, Hallensleben W, Czygan M, Stitz L, Staeheli P. No Borna disease virus-specific RNA detected in blood from psychiatric patients in different regions of Germany. *Lancet.* 1997; 350 (9083): 1002.
- Lieb K, Hufert FT, Bechter K, Bauer J, Kornhuber J. Depression, Borna disease, and amantadine. *Lancet.* 1997; 349 (9056): 958.
- Lipkin WI, Hornig M, Briese T. Borna disease virus and neuropsychiatric disease-a reappraisal. *Trends in Microbiology.* 2001; 9(7): 295-298.
- Ludwig H, Bode L. Borna disease virus: new aspects on infection, disease, diagnosis and epidemiology. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 2000; 19(1): 259-288.
- Ludwig H, Bode L. The Neuropathogenesis of Borna Disease Virus Infections. *Intervirology.* 1997; 40: 185-197.
- Ludwig H, Furuya K, Bode L, Klein N, Durrwald R, Lee DS. Biology and neurobiology of Borna disease viruses (BDV), defined by antibodies, neutralizability and their pathogenic potential. *Archives of Virology-Supplementum.* 1993; 7: 111-133.
- Lundgren AL, Czech G, Bode L, Ludwig H. Natural Borna disease in domestic animals others than horses and sheep. *Zentralbl Veterinarmed B.* 1993; 40(4): 298-303.
- Matsunaga H, Tanaka S, Fukumori A, Tomonaga K, Ikuta K, Amino N, Takeda M. Isotype analysis of human anti-Borna disease virus antibodies in Japanese psychiatric and general population. *Journal of Clinical Virology.* 2008; 43(3): 317-322.
- Miranda HC, Nunes SOV, Calvo ES, Suzart S, Ivano EN, Watanabe MAE. Detection of Borna Disease Virus p24 RNA in peripheral blood cells from Brazilian mood and psychotic disorder patients. *Journal of Affective Disorders.* 2005; 90(1): 43-47.
- Mizutani T, Ogino M, Nishino Y, Kimura T, Inagaki H, Hayasaka D, Kariwa H, Takashima I. Single-step reverse transcriptase-polymerase chain reaction for detection of Borna disease virus RNA in vitro and in vivo. *Japanese Journal of Veterinary Research.* 1999; 46(4): 165-169.

- Mizutani T, Ogino M, Nishino Y, Kimura T, Kariwa H, Tsujimura K, Inagaki H, Takashima I. A single-tube RT-PCR method for the detection of Borna disease viral genomic RNA. *Japanese Journal of Veterinary Research*. 1998; 46(2-3): 73-81.
- Moltalto NJ, Gum KD, Ashley JV. Updated treatment of influenza A and B. *American Family Physician*. 2000; 62(11): 2467-2476.
- Morales JA, Herzog S, Kompter C, Frese K, Rott R. Axonal transport of Borna disease virus along olfactory pathways in spontaneously and experimentally infected rats. *Medical Microbiology and Immunology*. 1988; 177(2): 51-68.
- Muller T, Kuhn W, Quack G, Przuntek H. Intravenous application of amantadine and antiparkinsonian efficacy in Parkinsonian patients. *Journal of Neural Transmission*. 1995; Supp 46: 407-413.
- Na KS, Tae SH, Song JW, Kim YK: Failure to detect Borna disease virus antibody and RNA from peripheral blood mononuclear cells of psychiatric patients. *Psychiatry Invest* 2009, 6:306-312.
- Nakamura Y, Takahashi H, Shoya Y, Nakaya T, Watanabe M, Tomonaga K, Iwahashi K, Ameno K, Momiyama N, Taniyama H, Sata T, Kurata T, de la Torre JC, Ikuta K. Isolation of Borna disease virus from human brain tissue. *Journal of Virology*. 2000; 74(10): 4601-4611.
- Narayan O, Herzog S, Frese K, Scheefers H, Rott R. Pathogenesis of borna disease in rats: immune-mediated viral ophthalmoencephalopathy causing blindness and behavioral abnormalities. *Journal of Infectious Diseases*. 1983; 148(2): 305-315.
- Nowotny N, Windhaber J. Borna disease virus and neuropsychiatric disorders. *Lancet*. 1997; 350(9077): 593.
- Nunes EV, Levin FR. Treatment of Depression in Patients With Alcohol or Other Drug Dependence - A Meta-analysis. *JAMA*. 2004;291(15):1887-1896.
- Nunes SOV, Itano EN, Amarante MK, Reiche EMV, Miranda HC, de Oliveria CEC, Matsuo T, Vargas HO, Watanabe MAE. RNA from Borna disease virus in patients with schizophrenia, schizoaffective patients, and their biological relatives. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 2008; 22: 314-320.
- Okamoto M, Hagiwara K, Kamitani W, Sako T, Hirayama K, Kirisawa R, Tsuji M, Ishihara C, Iwai H, Kobayashi T, Tomonaga K, Ikuta K, Taniyama H. Experimental vertical transmission of Borna disease virus in the mouse. *Archives of Virology*. 2003; 148: 1557-1568.
- Ovanesov MV, Moldovan K, Smith K, Vogel MW, Pletnikov MV. Persistent Borna Disease Virus (BDV) infection activates microglia prior to detectable loss of granule cells in the hippocampus. *Journal of Neuroinflammation*. 2008; 5: 16.
- Pacifici R, Zuccaro P, Pichini S et al. Modulation of the Immune System in Cannabis Users. *JAMA*. 2003; 289(15): 1929-1931.

- Pašková B, Hájek T. Lymeská borelióza a duševní poruchy (Lyme Disease and Mental Disorders). *Psychiatrie*. 2001; 5(1): 27-31.
- Patti AM, Vulcano A, Candelori E, Donfrancesco R, Ludwig H, Bode L. Borna disease virus infection in Italian children. A potential risk for the developing brain? *APMIS*. 2008; 116(Suppl. 124): 70-73.
- Patti AM, Vulcano A, Candelori E, Ludwig H, Bode L. Borna disease virus infection in the population of Latium (Italy). *APMIS*. 2008; 116(Suppl. 124): 74-76.
- Patti AM, Vulcano A, Candelori E, Travali S. Serological evidence of Borna disease virus infection in children, cats and horses in Sicily (Italy). *APMIS*. 2008; 116(Suppl. 124): 77-79.
- Perez M, Sanches A, Cubitt B, Rosario D, de la Torre JC. A reverse genetics system for Borna disease virus. *Journal of General Virology*. 2003; 84: 3099-3104.
- Perez M, Watanabe M, Whitt MA, de la Torre JC. N-terminal domain of Borna disease virus G (p56) protein is sufficient for virus receptor recognition and cell entry. *Journal of Virology*. 2001; 75(15): 7078-7085.
- Pinter MM, Birk M, Helscher RJ, Binder H. Short-term effect of amantadine sulphate on motor performance and reaction time in patients with idiopathic Parkinson's disease. *Journal of Neural Transmission*. 1999; 106(7-8): 711-724.
- Pisoni G, Nativi D, Bronzo V, Codazza D. Sero-epidemiological study of Borna Disease Virus infection in the Italian equine population. *Veterinary Research Communications*; 2007; 31(Suppl. 1): 245-248.
- Planz O, Pleschka S, Wolff T. Borna disease virus: a unique pathogen and its interaction with intracellular signaling pathways. *Cellular Microbiology*. 2009; 11(6), 872-879.
- Planz O, Rentzsch C, Batra A, Winkler T, Buttner M, Rziha HJ. Pathogenesis of Borna disease virus: granulocyte fractions of psychiatric patients harbor infectious virus in the absence of viral antibodies. *J Virol*. 1999; 73: 6251-6256.
- Planz O, Rentzsch Ch, Batra A, Rziha HJ, Stitz L. Persistence of Borna disease virus-specific nucleic acid in blood of psychiatric patient. *Lancet*. 1998; 352 (9128): 623.
- Planz O, Rziha HJ, Stitz L. Genetic relationship of Borna disease virus isolates. *Virus Genes*. 2003; 26(1): 25-30.
- Prudlo J, Fischer A, Lapple M, Muller A, Neubert K, Gericke ChA, Ludolph AC, Grasser F, Sauder A. Seroprevalence of Borna disease virus antibodies is not increased in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neurology*. 2002; 249: 1462-1463.
- Přecechtěl F, Votava M. *Lékařská mikrobiologie*. 1995; 197-227.

- Pyper JM, Clements JE, Zinc MC. The nucleolus in the site of Borna disease virus RNA transcription and replication. *Journal of Virology*. 1998; 72(9): 7697-7702.
- Reeves NA, Helps CR, Gunn-Moore DA, Blundell C, Finnemore PL, Pearson GR, Harbour DA. Natural Borna disease virus infection in cats in the United Kingdom. *Veterinary Record*. 1998; 143(19): 523-526.
- Richt JA, Grabner A, Herzog S. Borna disease in horses. *Veterinary Clinics of North America-Equine practise*. 2000; 16(3): 579-595.
- Richt JA, Grabner A, Herzog S. Borna disease in horses. *Veterinary Clinics of North America-Equine practise*. 2000; 16(3): 579-595.
- Richt JA, Herzog S, Pyper J, Clements JE, Narayan O, Bechter K, Rott R. Borna disease virus: nature of the etiologic agent and significance of infection in man. *Archives of Virology-Supplementum*. 1993; 7: 101-109.
- Richt JA, Rott R. Borna disease virus: a mystery as an emerging zoonotic pathogen. *Veterinary Journal*. 2001; 161(1): 24-40.
- Romeo R, Warnberg J, Nova E, Diaz LE, Gomez-Martinez S, Marcos A. Moderate alcohol consumption and the immune system: A review. *British Journal of Nutrition*. 2007; 98(1): 147.
- Rott R, Herzog S, Bechter K, Frese K. Borna disease, a possible hazard for man? *Archives of Virology*. 1991; 118(3-4): 143-149.
- Rott R, Herzog S, Fleischer B, Winokur A, Amsterdam J, Dyson W, Koprowski H. Detection of serum antibodies to Borna disease virus in patients with psychiatric disorders. *Science*. 1985; 228(4700): 755-756.
- Rybakowski F, Sawada T, Yamaguchi K. Borna disease virus-reactive antibodies and recent-onset psychiatric disorders. *European Psychiatry*. 2001; 16(3): 191-192.
- Salvatore M, Morzunov S, Schwemmle M, Lipkin WI. Borna disease virus in brains of North American and European people with schizophrenia and bipolar disorder. *Lancet*. 1997; 349(9068): 1813-1814.
- Schneemann A, Schneider PA, Kim S, Lipkin WI. Identification of Signal Sequences That Control Transcription of Borna Disease Virus, a Nonsegment, Negative-Strand RNA Virus. *Journal of Virology*. 1994; 68(10): 6514-6522.
- Scholbach T, Bode L. Borna disease virus infection in young children. *APMIS*. 2008; 116(Suppl. 124): 83-88.
- Schwemmle M, Jehle Ch, Formella S, Staeheli, P. Sequence similarities between human bornavirus isolates and laboratory strains question human origin. *Lancet*. 1999; 354(9194): 1973-1974.

- Selten JP, van Vliet K, Pleyte W, Herzog S, Hoek HW, van Loon AM. Borna disease virus and schizophrenia in Surinamese immigrants to the Netherlands. *Medical Microbiology and Immunology*. 2000; 189(2): 55-57.
- Sierra-Honigmann AM, Carbone KM, Yolken RH. Polymerase chain reaction (PCR) search for viral nucleic acid sequences in schizophrenia. *British Journal of Psychiatry*. 1995; 166: 55-60.
- Solbrig MV: Animal models of CNS viral disease: Examples from Borna disease virus models. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases* 2010, 2010:1-6.
- Solbrig MV, Koob GF. Neuropharmacological sequelae of persistent CNS viral infections: lessons from Borna Disease Virus. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2003; 74 (4): 777-787.
- Staheli P, Sauder C, Hausmann J, Ehrensperger F, Schwemmler M. Epidemiology of Borna disease virus. *J Gen Virol*. 2000; 81: 2123–2135.
- Staheli P, Schwemmler M. Human bornaviruses and laboratory strains. *Lancet*. 2000; 355 (9213): 1463.
- Staheli P, Sentandreu M, Pagenstecher A, Hausmann J, Alpha/beta interferon promotes transcription and inhibits replication of Borna disease virus in persistently infected cells. *Journal of Virology*. 2001; 75(17): 8216-8223.
- Stitz L, Bilzer T, Richt JA, Rott R. Pathogenesis of Borna disease. *Archives of Virology-Supplementum*. 1993; 7: 135-151.
- Stitz L, Noske K, Planz O, Furrer E, Lipkin WI, Bilzer T. A functional role for neutralizing antibodies in Borna disease: influence of virus tropism outside the central nervous system. *Journal of Virology*. 1998; 72 (11): 8884-8892.
- Stitz L, Soeder D, Deschl U, Frese K, Rott R. Inhibition of immune-mediated meningoencephalitis in persistently Borna disease virus-infected rats by cyclosporine A. *The Journal of Immunology*. 1989; 143(12): 4250-4256.
- Szabo G. Alcohol's Contribution to Compromised Immunity. *Alcohol Health & Research World*. 1997; 21(1): 30-41.
- Taieb O, Baleyte JM, Mazet P, Fillet AM. Borna disease virus and psychiatry. *European Psychiatry*. 2001; 16(1): 3-10.
- Teplitsky V, Pitlik S, Richt JA, Herzog S, Meir R, Marcus S, Sulkes J, Weisman Y. Increased prevalence of Borna disease virus ELISA and immunofluorescence in horses from farms situated along the paths of migratory birds. *Israel Journal of Medicine*. 2003; 56: 2-3.
- Terayama H, Nishimo Y, Kishi M, Ikuta K, Itoh M, Iwahashi K. Detection of anti-Borna Disease Virus (BDV) antibodies from patients with schizophrenia and mood disorders in Japan. *Psychiatry Research*. 2003; 120(2): 201-206.

- Teuber G, Berg T, Naumann U, Raedle J, Brinkmann S, Hopf U, Zeuzem S. Randomized, placebo-controlled, double-blind trial with interferon-alpha with and without amantadine sulphate in primary interferon-alpha nonresponders with chronic hepatitis C. *Journal of Viral Hepatitis*. 2001; 8(4): 276-283.
- Thakur R, Sarma S, Sarma B. Role of Borna disease virus in neuropsychiatric illnesses: are we inching closer? *Indian J Med Microbiol*. 2009; 27(3):191-201.
- Thomas DR, Chalmers RM, Crook B, Stagg S, Thomas HV, Lewis G, Salmon RL, Caul EO, Morgan KL, Coleman TJ, Morgan-Capner P, Sillist M, Kench SM, Meadows D, Softley P: Borna disease virus and mental health: a cross-sectional study. *Q J Med* 2005, 98:247-254.
- Tokimatsu I, Nasu M. Anti-influenza A viral drug-amantadine. *Nippon Rinsho-Japanese Journal of Clinical Medicine*. 2000; 58(11): 2288-2292.
- Tomonaga K, Kobayashi T, Ikuta K. The neuropathogenesis of Borna disease virus infection. *Nippon Rinsho-Japanese Journal of Clinical Medicine*. 2001; 59(8): 1605-1613.
- de la Torre JC. Molecular biology of Borna disease virus: prototype of a new group of animal viruses. *J Virol*. 1994; 68: 7669–7675.
- de la Torre JC, Gonzalez-Dunia D, Cubitt B, Mallory M, Mueller-Lantsch N, Grasser F. Detection of Borna disease virus antigen and RNA in human autopsy brain samples from neuropsychiatric patients. *Virology*. 1996; 223:272-82.
- Torrens M, Fonseca F, Mateu G, Farré M. Efficacy of antidepressants in substance use disorders with and without comorbid depression. A systematic review and meta-analysis. *Drug Alcohol Depend*. 2005. 4;78(1): 1-22.
- Trapp BD, Griffin JW, Duchala CS, Naryan O, Carbone KM. Astrocytes and Schwann cells are virus-host cells in the nervous system of rats with Borna disease. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1989; 48(6): 631-44.
- Tsuji K, Toyomasu K, Imamura Y, Maeda H, Toyoda T. No association of Borna disease virus with psychiatric disorders among patients in northern Kyushu, Japan. *Journal of Medical Virology*. 2000; 61(3): 336-340.
- Ullerich H, Avenhaus W, Poremba C, Domschke W, Menzel J. High-dose interferon alpha 2a with ribavirin and amantadine in naive chronic hepatitis C patients-results of a randomized, prospective, pilot study. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 2002; 16(12): 2107-2114.
- Vahlenkamp TW, Enbergs HK, Muller H. Experimental and natural borna disease virus infections: presence of viral RNA in cells of the peripheral blood. *Veterinary Microbiology*. 2000; 76(3): 229-244.
- Vale S, Espejel MA, Dominguez JC. Amantadine in depression. *Lancet*. 1971; 21: 437.

- Valevski A, Modai I, Zbarski E, Zemishlany Z, Weizman A. Effect of amantadine on sexual dysfunction in neuroleptic-treated male schizophrenic patients. *Clinical Neuropharmacology*. 1998; 21(6): 355-357.
- Volmer R, Prat ChMA, Masson G, Garenne A, Gonzales-Dunia D. Borna Disease Virus Infection Impairs Synaptic Plasticity. *Journal of Virology*. 2007; 81(16): 8833-8837.
- Waltrip RW 2nd, Buchanan RW, Carpenter WT Jr, Kirkpatrick B, Summerfelt A, Breier A, Rubin SA, Carbone KM. Borna disease virus and the deficit syndrome of schizophrenia. *Schizophrenia Research*. 1997; 23(3): 253-257.
- Waltrip RW 2nd, Buchanan RW, Summerfelt A, Breier A, Carpenter WT Jr, Bryant NL, Rubin SA, Carbone KM. Borna disease virus and schizophrenia. *Psychiatry Research*. 1995; 56(1): 33-44.
- Watanabe M, Lee BJ, Kamitani W, Kobayashi T, Taniyama H, Tomonaga K, Ikuta K. Neurological diseases and viral dynamics in the brains of neonatally borna disease virus-infected gerbils. *Virology*. 2001; 282(1): 65-76.
- Watanabe Y, Yanai H, Ohtaki N, Ikuta K, Tomonaga K. Prevalence of Borna disease virus in healthy black cattle in Kyushu. *J Vet Med Sci*. 2006; 68(2): 171-174.
- Weissenbock H, Nowotny N, Caplazi P, Kolodziejek J, Ehrensperger F. Borna disease in dog with lethal meningoencephalitis. *Journal of Clinical Microbiology*. 1998; 36(7): 2127-2130.
- Weisman Y, Huminer D, Malkinson M, Meir R, Kliche S, Lipkin WI, Pitlik S. Borna disease virus antibodies among workers exposed to infected ostriches. *Lancet*. 1994; 344 (8931): 1232-1233.
- Wolff T, Heins G, Pauli G, Burger R, Kurth R. Failure to detect Borna disease virus antigen and RNA in human blood. *Journal of Clinical Virology*. 2006; 36(4): 309-311.
- Yamaguchi K, Sawada T, Naraki T, Igata-YI R, Shiraki H, Horii Y, Ishii T, Ikeda K, Asou N, Okabe H, Mochizuki M, Takahashi K, Yamada S, Kubo K, Yashiki S, Waltrip II RW, Carnone KM. Detection of Borna Disease-Reactive Antibodies from Patients with Psychiatric Disorders and from Horses by Electrochemiluminescence Immunoassay. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 1999; 6(5): 696-700.
- Yang AY, Zhang FM, Li JH, Li GM, Ma PL, Gu HX, Ikuta K. Detection of Borna disease virus-p24 specific antibody in the sera of schizophrenic patients of China by means of Western-blot. *Chinese Journal of Experimental and Clinical Virology*. 2003; 17(1): 85-87.