

Charakterystyka i znaczenie zakażenia *Torque teno virus* u biorców przeszczepów narządów.

Streszczenie

Słowa kluczowe: Torque teno virus, TTV, kompetencja immunologiczna, biomarker

Wstęp

Transplantacja narządów jest skuteczną formą terapii stosowaną u pacjentów ze schyłkową niewydolnością narządów własnych, poprawiającą jakość życia oraz przedłużającą przeżycie biorców. W pierwszych dekadach istnienia i rozwoju transplantologii główną przyczyną uszkodzenia i utraty przeszczepów było ostre odrzucanie. Dzięki wprowadzeniu do poprzyszczepiennej terapii immunosupresyjnej cyklosporyny A, częstość wstępowania epizodów ciężkiego, opornego na terapię ostrego odrzucania komórkowego istotnie zmalała, a średni czas przeżycia przeszczepów uległ dalszemu wydłużeniu, wzrosła także wyraźnie liczba wykonywanych transplantacji. Wraz z wprowadzaniem nowych, coraz silniejszych leków immunosupresyjnych stosowanych zarówno w ramach terapii indukcyjnej, podstawowej, jak i w terapii odrzucania, ujawniła się tendencja do narastania powikłań infekcyjnych które, obok nowotworów złośliwych i chorób układu krążenia, stanowią obecnie jedną z głównych przyczyn chorobowości i śmiertelności biorców przeszczepów narządowych. Zderzenie dwóch podstawowych grup zagrożeń: odrzucania, odzwierciedlającego niewystarczającą siłę immunosupresji i infekcji, stanowiących powikłanie jej stosowania uwypukla konieczność znalezienia sposobu definiowania optymalnego stopnia osłabienia aktywności układu odpornościowego. Słowo „optymalny” oznacza w tym kontekście najwyższy poziom kompetencji immunologicznej biorcy, przy którym nie dochodzi do uruchomienia procesów odrzucania.

W ostatnich latach formułowana jest teza, iż *Torque teno virus* (TTV), wirus występujący u większości osób z populacji ogólnej, mógłby pełnić rolę parametru, służącego określaniu i monitorowaniu poziomu immunokompetencji u chorych leczonych immunosupresyjnie, w tym biorców przeszczepów narządowych. Tezę tę oparto na obserwacji, iż wśród osób w stanie immunosupresji występowanie wirerii jest jeszcze częstsze, a jej poziom wyższy niż u osób immunokompetentnych.

Cele badania

1. określenie rozpowszechnienia i poziomu wirerii TTV wśród biorców przeszczepionych narządów i u osób immunokompetentnych.
2. określenie związku między poziomem wirerii TTV, a:
 - płcią i wiekiem wśród osób immunokompetentnych i biorców przeszczepów narządowych,
 - czasem po transplantacji,
 - poszczególnymi formami terapii immunosupresyjnej,
 - występowaniem zakażeń CMV, BKV i EBV,
 - częstością występowania ostrego/aktywnego odrzucania przeszczepu.

Materiał i metody

Badanie miało charakter prospektywny, obserwacyjny, bez randomizacji. Rekrutacja pacjentów i pobrania próbek krwi do badania prowadzone były od maja 2019 do stycznia 2020 roku. Poza wynikami oznaczeń wirerii w pobranych próbkach krwi w badaniu analizowano także parametry kliniczne i laboratoryjne, które wybrano z dokumentacji medycznej badanych pacjentów.

Całość badania przeprowadzono w Klinice Medycyny Transplantacyjnej, Nefrologii i Chorób Wewnętrznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Projekt badania został pozytywnie zaopiniowany przez Komisję Bioetyczną działającą przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym, nr KB/50/2019.

Grupę badaną stanowiło 135 biorców przeszczepów narządowych, a grupę kontrolną - 53 zdrowych ochotników. Wśród biorców przeszczepów narządowych, 63% stanowili mężczyźni, mediana wieku w grupie badanej wynosiła 55,0 lat (zakres 19,0-84,0 lat). Największą kohortę stanowili biorcy nerki, drugą co do wielkości – biorcy wątroby (odpowiednio 70% i 19%). Czas od transplantacji do dnia, w którym pobrano krew na oznaczenie wirerii TTV wynosił 2,7 roku (mediana 0-38,0 lat). Grupa kontrolna w 30% utworzona była z mężczyzn, mediana wieku wyniosła 37,0 lat (zakres 23,0-62,0 lat).

Wirerię TTV oznaczano w próbkach krwi pełnej, wśród biorców przeszczepów z najwyższymi poziomami wirerii oznaczenie wykonywano również w osoczu. Pomiar wykonano metodą PCR w czasie rzeczywistym, zestawem TTV R-GENE® (BioMérieux,

Francja). Dodatkowo, u objętych badaniem biorców, w pobranych próbkach krwi oprócz wiremii TTV oznaczono także wiremie CMV, BKV i EBV.

Uzyskane poziomy wiremii TTV zestawiono z danymi demograficznymi, laboratoryjnymi i klinicznymi biorców.

Wyniki

Badanie własne wykazało większe rozpowszechnienie (97 vs 83%, $p=0,002$) i wyższe poziomy wiremii TTV ($5,2 \log_{10}$ kopii/ml vs $3,5 \log_{10}$ kopii/ml, $p<0,0001$) wśród biorców przeszczepów narządowych niż u osób immunokompetentnych (grupa kontrolna).

Porównanie wiremii we krwi pełnej i w osoczu wykazało wyższe wartości we krwi pełnej (odpowiednio: mediana $5,9 \log_{10}$ kopii/ml, zakres $4,2-8,3 \log_{10}$ kopii/ml vs mediana $5,4 \log_{10}$ kopii/ml, zakres $2,7-8 \log_{10}$ kopii/ml), ($p<0,0001$).

W grupie biorców przeszczepów nie stwierdzono istotnych różnic w wielkości wiremii między kobietami i mężczyznami, w grupie osób immunokompetentnych wiremia u kobiet okazała się natomiast niższa niż u mężczyzn (odpowiednio $3,2 \log_{10}$ kopii/ml; zakres: $0,0-4,9 \log_{10}$ kopii/ml vs $4,0 \log_{10}$ kopii/ml, zakres: $2,1-4,7 \log_{10}$ kopii/ml; $p=0,016$).

Nie stwierdzono istnienia korelacji między wiekiem badanego a wielkością wiremii ani w grupie biorców ($r_s=0,15$; $p=0,07$) ani wśród osób z grupy kontrolnej ($r_s=-0,03$; $p=0,789$).

W grupie biorców przeszczepów, analiza nie wykazała istnienia zależności między liczbą dotychczasowych transplantacji, typu dawcy, aktualnej liczby przeszczepionych narządów ani typu narządu przeszczepionego a wielkością wiremii TTV.

Biorcy leczeni przeciwwirusowo (wangancyklowirem, gancyklowirem, lub acyklowirem) nie różnili się pod względem wiremii TTV od pozostałych pacjentów po przeszczepieniu narządowym. Nie wykazano istnienia zależności między faktem zastosowania bezpośrednio po transplantacji terapii indukcyjnej a późniejszą wiremią TTV. Analiza statystyczna nie ujawniła także istnienia zależności między typem stosowanego schematu podstawowej immunosupresji a wielkością wiremii. Stwierdzono natomiast, iż pacjenci leczeni cyklosporyną wykazywali niższe poziomy wiremii TTV (mediana: $4,8 \log_{10}$ kopii/ml; zakres $2,2-5,9 \log_{10}$ kopii/ml) w porównaniu z biorcami, których schemat immunosupresji nie obejmował tego leku (mediana: $5,2 \log_{10}$ kopii/ml; zakres $1,7-8,3 \log_{10}$ kopii/ml). Ujawnił się ponadto trend ($p=0,07$), aby biorcy leczeni takrolimusem prezentowali wyższe poziomy wiremii ($5,2 \log_{10}$ kopii/ml, zakres $1,7-8,3 \log_{10}$ kopii/ml) niż ci, u których lek ten nie był stosowany ($4,8 \log_{10}$ kopii/ml, zakres $2,2-7,4 \log_{10}$ kopii/ml). Badanie odsłoniło jeszcze jedną zależność między wiremią TTV a stosowaną terapią immunosupresyjną – w podgrupie biorców, którzy w okresie kilku dni poprzedzających oznaczenie TV, byli z powodu ostrego odrzucania leczeni pulsami

metylprednizolonu, liczba kopii tego wirusa była istotnie wyższa (mediana: 6,0 log₁₀kopii/ml; zakres: 3,1-8,2 log₁₀kopii/ml) niż u pozostałych osób z grupy badanej (mediana: 5,0 log₁₀kopii/ml; zakres 1,7-8,3 log₁₀kopii/ml), (p=0,006).

U wszystkich objętych badaniem biorców jednocześnie z wiramią TTV (w tej samej próbie krwi) oceniono wiramię CMV, BKV i EBV, za wynik dodatni uznając poziom ≥ 1000 kopii/ml (zgodnie z algorytmem stosowanym w praktyce klinicznej). Badanie wykazało wyższą wiramię TTV u osób replikujących CMV w porównaniu z tymi, u których nie stwierdzono znamiennej dla zakażenia liczby kopii (mediana: 6,10 log₁₀kopii/ml, zakres: 4,98-7,45 log₁₀kopii/ml vs (mediana: 5,10 log₁₀kopii/ml, zakres: 1,70-8,31 log₁₀kopii/ml), p=0,04. Nie stwierdzono istnienia zależności między wiramią TTV a jednoczesnym zakażeniem BKV ani EBV.

Nie potwierdzono istnienia zależności pomiędzy przyczyną hospitalizacji, w trakcie której oznaczano wiramię TTV a poziomem wiramii TTV. Wśród oznaczeń laboratoryjnych określonych równoległe do pomiaru wiramii TTV, parametrem, który wykazał ujemną korelację z tą wiramią była liczba limfocytów we krwi obwodowej ($r_s = -0,29$, p=0,0006). Analiza ujawniła także istnienie korelacji między wiramią TTV a wiekiem biorcy w chwili transplantacji ($r_s = 0,22$, p=0,01).

W celu wyodrębnienia grupy czynników mających niezależny wpływ na wiramię TTV przeprowadzono analizę wielowymiarową. Wybrany model objął 4 parametry spośród tych analizowanych w podejściu jednowymiarowym: czas między transplantacją a pobraniem krwi na badanie wiramii TTV, wystąpienie stanu zapalnego w okresie 2-6 miesięcy poprzedzających to pobranie, liczbę limfocytów we krwi obwodowej oraz wiek biorcy w momencie przeszczepienia. Czynnikiem najsilniej wpływającym na wiramię TTV okazał się być czas między przeszczepieniem a pobraniem krwi na oznaczenie wiramii TTV. Wykonane analizy wykazały, iż wiramia TTV dość gwałtownie wzrasta w okresie bezpośrednio po przeszczepieniu, osiągając maksymalny poziom mniej więcej w 3 miesiącu po zabiegu, a następnie stopniowo się obniża. Analiza wielowymiarowa wykazała także istotną, odwrotną zależność między limfocytozą a wiramią TTV. Stwierdzono ponadto, iż z wyższą wiramią TTV wiążą się także: starszy wiek biorcy oraz wystąpienie stanu zapalnego w okresie 2-6 miesięcy poprzedzających to oznaczenie

W analizie wielowymiarowej podjęto także kwestię wartości rokowniczej wiramii TTV u biorców przeszczepów. Wykazano, iż wzrost wiramii TTV wiąże się z podwyższonym ryzykiem wystąpienia w okresie kolejnych 6 miesięcy (rozpoznawanego w oparciu o dane kliniczne i/lub laboratoryjne) stanu zapalnego.

W badanej grupie, w całym okresie objętym analizą (od 6 miesięcy przed, do 6 miesięcy po poraniu próbki krwi na oznaczenie TTV) liczba stwierdzonych epizodów ostrego/aktywnego odrzucania wyniosła jedynie 7. W związku z powyższym analiza związku między wiremią TTV a ryzykiem wystąpienia odrzucania przeszczepu nie dała miarodajnych wyników.

Wnioski

1. TTV jest rozpowszechniony w populacji, częstość jego występowania jest wyższa u biorców przeszczepów narządowych (97%) niż u osób immunokompetentnych (83%).
2. Wiremia TTV nie zależy od wieku. Wśród osób immunokompetentnych wiremia TTV jest niższa u kobiet. Wśród biorców przeszczepów poziom wiremii jest taki sam u obu
3. Czynnikiem najsilniej wpływającym na poziom wiremii TTV po transplantacji jest czas po transplantacji. Wiremia TTV dynamicznie wzrasta w okresie bezpośrednio po przeszczepieniu, osiągając maksymalny poziom mniej więcej w 3 miesiącu po zabiegu, a następnie stopniowo się obniża.
4. Stosowanie pulsów metylprednizolonu podwyższa wiremę TTV. Leczenie cyklosporyną wiąże się z obniżeniem wiremii TTV.
5. Wśród biorców przeszczepów z wyższymi poziomami TTV częściej występuje zakażenie CMV. Nie stwierdzono istnienia zależności między wiremią TTV a jednoczesnym zakażeniem BKV ani EBV.
6. Nie udało się określić zależności między wiremią TTV a wystąpieniem ostrego/aktywnego odrzucania – liczba przypadków odrzucania w badanej grupie biorców była zbyt mała.

