

RĪGAS STRADIŅA UNIVERSITĀTE

Ieva Ziedīņa

**POLIOMAS BK VĪRUSA INFEKCIJA PACIENTIEM
AR NIERES TRANSPLANTĀTU**

(SPECIALITĀTE – NEFROLOĢIJA)

Promocijas darba kopsavilkums

Darba zinātniskie vadītāji:

Habilitētais medicīnas zinātņu doktors, profesors R. Rozentāls

Habilitētā bioloģijas zinātņu doktore S. Čapenko

Darba zinātniskās konsultantes:

Medicīnas zinātņu doktore, asoc. profesore I. Folkmane

Medicīnas zinātņu doktore, docente A. Krūmiņa

Rīga 2010

Promocijas darbs veikts:

Rīgas Stradiņa Universitātē, Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas Latvijas Transplantācijas centrā sadarbojoties ar slimnīcas citoloģijas laboratoriju, Patoloģijas institūtu un Rīgas Stradiņa Universitātes Augusta Kirhenšteina Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūta onkovirusoloģijas nodaļu.

Darbs izpildīts ar ESF projekta „Atbalsts doktorantiem studiju programmas apguvei un zinātniskā grāda ieguvei Rīgas Stradiņa universitātē” Nr. 2009/ 0147/ 1DP/ 1.1.2.1.2/ 09/ IPIA/ VIAA/ 009 atbalstu.

Darba vadītāji:

Dr. habil. med., prof. R. Rozentāls

Dr. habil. biol. S. Čapenko

Zinātniskie konsultanti:

Dr. med., asoc. prof. I. Folkmane

Dr. med., docente A. Krūmiņa

Oficiālie recenzenti:

Dr. habil. med., prof. D. Gardovska, Rīgas Stradiņa Universitātē

Dr. habil. biol., prof. P.Pumpēns, Latvijas Universitātē

Dr.med. T. Rainiene, Vilņas Universitātē slimnīca, Santariškiu klinikas

Ar promocijas darbu var iepazīties Rīgas Stradiņa Universitātes bibliotēkā.

Promocijas darba aizstāvēšana notiks Rīgas Stradiņa Universitātes Internās medicīnas Promocijas padomes sēdē 2011.gada 13. jūnijā plkst.15:00, Rīgas Stradiņa Universitātē, Dzirciema ielā 16, Rīgā.

Padomes sekretāre:

Prof. M.Eglīte

IEVADS

Nieres transplantācija (NT) tiek uzskatīta par efektīvāko terminālās nieru mazspējas ārstēšanas metodi. Tomēr pēdējā desmitgadē no mirušiem donoriem iegūtu nieres transplantātu dzīvildze ilgtermiņā nav uzlabojusies, lai gan transplantoloģijas jomā vērojami nozīmīgi sasniegumi. Transplantātu funkcijas pasliktināšanos un bojāeju var noteikt gan imunoloģiski, gan neimunoloģiski faktori. Lietojot aizvien spēcīgākus imūnsupresīvos medikamentus, ir panākts, ka ievērojami samazinājies akūtas atgrūšanas jeb tremes epizožu skaits, bet ir palielinājies infekciozo komplikāciju biežums pēc nieres transplantācijas. Viena no šādām infekcijām, kas kļūst aizvien izplatītāka, ir poliomas BK vīrusa (BKV) infekcija.

60 – 90% cilvēku ar BKV inficējas bērnībā, un pēc primāras infekcijas, kas parasti ir asimptomātiska, vīruss latentī persistē organismā. Aktīva BKV infekcija pēc nieres transplantācijas pārsvarā gadījumu attīstās, reaktivējoties latentī persistējošai BKV infekcijai recipienta organismā vai arī primāri inficējot recipientu ar transplantēto orgānu. Ir zināms, ka aktīvas BKV infekcijas rezultātā rodas pārmaiņas nieres transplantātā, ko sauc par poliomas BK vīrusa nefropātiju (BKVN). BKVN ir viena no infekciozām komplikācijām, kas sastopama biežāk un padara pacientu ārstēšanu pēc nieres transplantācijas sarežģītāku, jo rada progresējošu nieres transplantātu funkcijas pasliktināšanos. Tā skar 1 – 10% nieres transplantātu recipientu un vidēji pusei no tiem rodas neatgriezeniskas pārmaiņas transplantātā, kuru dēļ tas priekšlaikus iet bojā. Lai novērstu BKVN attīstību, aktuāls ir jautājums par aktīvas BKV infekcijas diagnostiku un skrīningu – kādus izmeklējumus un cik bieži vēlams veikt. Turklāt katrā transplantācijas centrā skrīninga shēma var atšķirties, ņemot vērā transplantācijas centrā lietotās imūnsupresijas shēmas un izmeklējumu pieejamību un izmaksas. Joprojām atklāts ir jautājums par optimālāko BKVN terapijas taktiku. Pierādīts, ka, jo agrīnākā stadijā BKVN sāk ārstēt, jo rezultāti ir labāki un BKVN var pat norimt. Tomēr no literatūras datiem tiek secināts, ka izmēģināto pretvīrusu medikamentu efektivitāte ir apšaubāma, tāpēc BKVN ārstēšanā tiek lietotas dažādas imūnsupresijas reducēšanas shēmas, kuru efektivitāte ir atšķirīga.

Ņemot vērā iepriekš minēto, lai uzlabotu nieres transplantācijas rezultātus pacientiem ar poliomas BK vīrusa infekciju, tika nolemts izpētīt poliomas BK vīrusa infekcijas un ar to saistītās nefropātijas attīstību.

DARBA AKTUALITĀTE

Pēdējā desmitgadē pēc spēcīgu imūnsupresīvo medikamentu ieviešanas praksē nierēs transplantātu zudumu nosaka infekciozās komplikācijas un pacientu nāve ar funkcionējošu transplantātu kardiovaskulāro vai maligno komplikāciju dēļ. Efektīvāka infekciju novēršana kļūst par vienu no galvenajiem uzdevumiem transplantoloģijā.

Latvijas Transplantācijas centrā katru gadu tiek veiktas 70 – 79 nierēs transplantācijas (vidēji 31 nierēs transplantācijas uz 1 miljonu iedzīvotāju). Imūnsupresīvā terapijā tiek lietoti modernākie medikamenti līdzīgi kā citās Eiropas Savienības valstīs, un ar infekciju slimību izraisītām komplikācijām centra ārsti saskaras ikdienas praksē. Agrāk aktuālā citomegalovīrusa infekcija ir retāk sastopama, jo Latvijā kopš 2006. gada tās profilaksei valsts kompensējamo zāļu sarakstā ir iekļauts un tiek lietots valganciklovirs. Taču līdz šim nav veikti pētījumi par BKV infekcijas un tās radīto sarežģītumu sastopamības biežumu pacientiem pēc nierēs transplantācijas. Ņemot vērā iepriekšējo gadu sekmīgo sadarbību ar A.Kirhenšteina Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūta onkovirusoloģijas nodaļu β-herpesvīrusu infekcijas izpētē un norādes, ka β-herpesvīrusi ar savu imunomodulējošo darbību var provocēt citu infekciju attīstību, tika nolemts arī šī pētījuma ietvaros pacientiem monitorēt β-herpesvīrusu infekcijas un izvērtēt to ietekmi uz transplantācijas rezultātiem saistībā ar BKV infekciju.

Herpesvīrusu dzimtas β-herpesvīrusu ģintī ietilpst citomegalovīruss (CMV), herpesvīruss 6 (HHV-6) un herpesvīruss 7 (HHV-7). Šie herpesvīrusi bieži reaktivējas pēc orgānu transplantācijas un var izpausties daudzveidīgi – no drudža līdz smagam orgānu bojājumam. CMV ietekme uz nierēs transplantātu ir zināma, bet HHV-6 un HHV-7 ietekme komplikāciju attīstību kontekstā vēl tiek pētīta.

Plānojot prospektīvo pētījumu 2007. gadā, tika nolemts vispirms veikt retrospektīvu iepriekšējos divos gados transplantēto pacientu datu analīzi. Pirmajā gadā pēc transplantācijas pacientiem samērā bieži, vidēji 15 % gadījumu, tika novērota urostāzes attīstība transplantātā urīnvada stenozes dēļ, kā arī visai agrīna hroniskas transplantāta disfunkcijas izpausme, kas ir raksturīga poliomas BK vīrusa nefropātijas klīniskā pazīme, tādejādi pieņemot, ka arī Latvijā BKV infekcija varētu būt komplikācija pacientiem ar nierēs transplantātu.

DARBA MĒRĶIS, UZDEVUMI UN HIPOTĒZES

Darba mērķis

Izpētīt poliomas BK vīrusa infekcijas un ar to saistītās nefropātijas attīstību, lai uzlabotu nieres transplantācijas rezultātus.

Darba uzdevumi

1. Noteikt aktīvas poliomas BK vīrusa infekcijas biežumu, salīdzinot dažādas diagnostikas metodes.
2. Noteikt poliomas BK vīrusa nefropātijas biežumu, riska faktorus un ietekmi uz nieres transplantācijas rezultātiem.
3. Analizēt poliomas BK vīrusa un β -herpesvīrusu (CMV, HHV-6 un HHV-7) biežumu un mijiedarbību nieres transplantātu donoriem un recipientiem un to ietekmi uz nieres transplantācijas rezultātiem.
4. Analizēt imūnsupresīvās terapijas ietekmi uz poliomas BK vīrusa aktivāciju un poliomas BK vīrusa nefropātijas attīstību.
5. Retrospektīvi analizēt transplantācijas rezultātus pacientiem, kam netika veikta poliomas BK vīrusa un β -herpesvīrusu infekciju regulāra monitorēšana.

Darba hipotēzes

1. Aktīva poliomas BK vīrusa infekcija ir nieres transplantācijas komplikācija, kas veicina poliomas BK vīrusa nefropātijas attīstību, pasliktina nieres transplantātu funkciju un ir par iemeslu transplantātu zudumam.
2. Aktīva β -herpesvīrusu infekcija veicina poliomas BK vīrusa infekcijas reaktivāciju.
3. Dziļāka uzturošā imūnsupresija veicina poliomas BK vīrusa reaktivāciju un poliomas BK vīrusa nefropātijas attīstību.
4. Aktīvas poliomas BK vīrusa infekcijas monitorēšana un terapija palīdz saglabāt nieres transplantātu funkciju un uzlabo pacientu dzīves kvalitāti.

DARBA NOVITĀTE

1. Pirmo reizi analizēta vienlaicīgas aktīvas poliomas BK vīrusa un β -herpesvīrusu infekcijas sastopamības biežums *de novo* operētiem nieres transplantātu recipientiem.
2. Atklāta poliomas BK vīrusa un β -herpesvīrusu mijiedarbība un diagnosticēts, iespējams, jauns β - herpesvīrusu netiešais efekts – poliomas BK vīrusa reaktivācijas veicināšana.
3. Noteikta vienlaicīgas poliomas BK vīrusa un β -herpesvīrusu infekcijas ietekme uz nieres transplantācijas rezultātiem un konstatēts, ka šāda vīrusu infekciju kombinācija negatīvi ietekmē nieres transplantāta funkciju otrajā pusgadā pēc transplantācijas un vienlaicīga HHV-6 un BKV infekcija pat veicina transplantātu bojāeju.
4. Ieteikts medicīnas terminoloģijā latviešu valodā lietot vārdu maldinātājšūnas (angl. *Decoy cells*), lai apzīmētu epitēlijšūnas ar palielinātiem kodoliem, kuros ir lieli bazofili matstikla tipa intranukleāri poliomas BK vīrusu ieslēgumi.

MATERIĀLS UN METODES

Pētījums izstrādāts RSU, P. Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas Latvijas Transplantācijas centrā sadarbojoties ar slimnīcas citoloģijas laboratoriju, Patoloģijas institūtu un Rīgas Stradiņa Universitātes Augusta Kirhenšteina Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūta onkovirusoloģijas nodaļu.

Pētījuma populācija

Pētījumā kopumā iekļauts 181 pacients pēc nieres transplantācijas. Pētījums sastāvēja no retrospektīvās daļas un prospektīvās daļas.

Pētījuma retrospektīvajā daļā tika analizēts 131 nieres transplantātu recipients, kam nieres transplantācijas operācija no mīruša donora tika izdarīta 2005. un 2006. gadā (1. tab.).

1. tabula. Retrospektīvās daļas pacientu dati

Pacienti	Rādītājs
Pacientu skaits (n)	131
Vecums (gadi)	46,4 ± 12,1 (18 – 75)
Dzimums (vīrieši/sievietes)	71/60 (54,2 % / 45,8 %)
Ķermeņa masas indekss (kg/m ²)	24,6 ± 4,5
Pamatdiagnoze:	
Hronisks glomerulonefrīts	56 (40,9 %)
Hronisks intersticiāls nefrīts	20 (15,6 %)
Diabētiska nefropātija	18 (13,1 %)
Nieru policistoze	21 (15,3 %)
Hipertensīva nefropātija	8 (5,8 %)
Sistēmas sarkanās vilkēdes nefrīts	4 (2,9 %)
Neprecizēta hroniska nieru slimība	6 (4,2 %)
Nieres transplantācijas operācija:	
Pirmreizēja	103 (78 %)
Atkārtota	28 (22 %)

Pētījuma prospektīvajā daļā tika iesaistīti pirmie 50 pacienti, kuriem nieres transplantācija veikta 2007. gadā un kuru datu analīze tika veikta prospektīvi, līdztekus vīrusu infekciju diagnostikai (2. tab.).

2. tabula. Prospektīvās daļas recipientu dati

Pacienti	Rādītājs
Pacientu skaits (n)	50
Vecums (gadi)	46,2 ± 13,8 (22 – 72)
Dzimums (vīrieši/sievietes)	26/24 (52 % / 48 %)
Ķermeņa masas indekss (kg/m ²)	24,9 ± 5,01
Pamatdiagnoze:	
Hronisks glomerulonefrīts	18 (36 %)
Hronisks intersticiāls nefrīts	13 (26 %)
Diabētiska nefropātija	6 (12 %)
Nieru policistoze	7 (14 %)
Hipertensīva nefropātija	4 (8 %)
Sistēmas sarkanās vilkēdes nefrīts	1 (2 %)
Neprecizēta hroniska nieru slimība	1 (2 %)
Nieres transplantācijas operācija:	
Pirmreizēja	41 (82 %)
Atkārtota	9 (18 %)

Darba prospektīvā daļa ilga vienu gadu, kura laikā pacienti tika izmeklēti un vīrusu infekciju diagnostika viņiem tika veikta pirms nieres transplantācijas

operācijas, divas nedēļas pēc operācijas un turpmāk ik trīs mēnešus pirmo gadu pēc operācijas, t.i., 3., 6., 9. un 12. mēnesī pēc nieres transplantācijas. Papildus tika veikta pacientu dzīvildzes un transplantāta funkcijas datu analīze divus pēc operācijas.

Prospektīvās daļas 50 slimniekiem nieres transplantācija tika veikta no 30 mirušiem donoriem. No 20 donoriem tika izmantotas abas nieres, bet no 10 donoriem – viena niere. Asins paraugi pētījuma ietvaros tika iegūti no 27 donoriem, un tikai šo donoru dati arī tika analizēti (3. tab.).

3. tabula. Nieres transplantātu donoru dati

Donori	Rādītājs
Donoru skaits (n)	27
Vecums (gadi)	45 ± 13 (19-65)
Dzimums (vīrieši/sievietes)	17/10 (63%/37%)
Ķermeņa masas indekss (kg/m ²)	25,6 ± 3,6 (21-38)
Nāves iemesls:	
Galvas trauma	8
Netraumatiska intracerebrāla hemorāģija	19

Pacientu izmeklēšanas metodes

Pacientu izmeklēšanā tika iekļauta anamnēzes ievākšana, fizikālā izmeklēšana, asins hematoloģisko un bioķīmisko rādītāju noteikšana, urīna analīze, nieres transplantāta ultrasonoskopija. Visiem pacientiem nieres transplantācijas operācijas laikā transplantāta urīnvadā tika ievietots stents (*Integral Ureter Stent, Rüsch*), kas tika evakuēts pēc divām nedēļām. Darba prospektīvās daļas recipientiem papildus tika veikti virusoloģiskie izmeklējumi pirms nieres transplantācijas operācijas un divas nedēļas, 3, 6, 9 un 12 mēnešus pēc tās. Integrādā urogrāfija tika veikta pacientiem ar diagnosticētu urostāzi pēc nefrostomas ievietošanas transplantātā. Nieres transplantāta biopsija tika veikta pacientiem ar aizdomām par akūtu tremi vai BKVN. Darba prospektīvās daļas donoriem asins paraugi virusoloģiskiem izmeklējumiem tika ņemti pirms nieru eksplantācijas.

Nieres transplantāta funkcija tika novērtēta pēc kreatinīna līmeņa asinīs, kas noteikts ar asins bioķīmisko analizatoru *Abbott Spectrum Series II* (Abbott, ASV), kvantitatīvai substanču noteikšanai plazmā izmantojot gaismas absorbcijas pakāpes noteikšanu dažāda garuma viļņiem, vai pēc glomerulārās filtrācijas ātruma (GFĀ). GFĀ tika aprēķināts pēc Kokrofta un Golta formulas:

$(140 - \text{vecums}) \times \text{ķermeņa masa (kg)}$

0,81 x seruma kreatinīns ($\mu\text{mol/l}$)

Sievietēm iegūtais rezultāts jāreizina ar 0,85.

Urostāzes diagnostika transplantātā veikta ar ultrasonoskopijas metodi, izmantojot LOGIQ P5 aparātu (*General Electric*) ar pusloka zondi 11 MHz frekvencē.

Transplantāta urīnvada stenozes diagnostika veikta ar antegrādās urogrāfijas metodi, 50 ml 350 mg/ml *Omnipaque* kontrastvielas atšķaidot ar 0,9 % NaCl šķīduma līdz 120 ml, ievadot to caur nefrostomu nieres transplantāta blīdīņā un sekojot tās plūsmai uz urīnpūsli rentgena ekrānā.

CMV IgM un IgG antivielu diagnostika pirms transplantācijas veikta donoriem un recipientiem ar automātisko analizatoru *Architect* (*Abbott*, ASV), izmantojot hromatogrāfijas metodi.

Maldinātājšūnu diagnostikai izmantota urīna citoloģiskā izmeklēšana. Urīna paraugi pēc centrifugēšanas tika krāsoti ar Leišmaņa-azūrs II eozīns metodi. Par maldinātājšūnām tika uzskatītas epitēlijšūnas ar homogēniem, amorfiem, matstikla tipa intranukleāriem vīrusu ieslēgumiem kodola centrālajā daļā un nelielu sabiezēta hromatīna gredzenu pie kodola ārējās malas.

Vīrusu infekciju diagnostika

BKV, CMV, HHV-6 un HHV-7 infekciju diagnostikai asins no perifērās vēnas tika ņemtas asins stobriņā ar antikoagulantu (EDTA), un BKV infekcijas diagnostikai papildus tika ņemta rīta urīna strūklas vidējā porcija sterilā urīna trauciņā.

Lai diagnosticētu vīrusu infekcijas ar molekulārām metodēm, veikta dezoksiribonukleīnskābju (DNS) izdalīšana un vīrusu genomu sekvenču diagnostika.

Kopējā DNS ekstrahēta no šūnām brīvas plazmas, perifēro asiņu leukocītiem un urīna. Lai iegūtu no šūnām brīvu plazmu, visas asinis centrifugētas 15 minūtes ar ātrumu 1200–1400 apgriezieni/minūtē, pēc tam, lai nogulsnetu šūnas un šūnu detritu, – +4 °C temperatūrā 15 minūtes ar ātrumu 9000 apgriezieni/minūtē. Lai iegūtu perifēro asiņu leukocītu DNS, eritrocīti tika lizēti ar *ammonium carbonate-chloride*, asiņu paraugs centrifugēts 10 minūtes ar ātrumu 1200–1400 apgriezieni/minūtē un atdalīts sediments ar leukocītiem (angl. *resuspended*). Urīns tika centrifugēts 15 minūtes ar ātrumu 3000 apgriezieni/minūtē,

un nogulsnes, samaisītas ar 200 µl virspusē esošā šķīduma (angl. *supernatant*), tika izmantotas DNS izdalīšanai. Šūnas tika lizētas ar lizējošo šķīdumu, kas sastāvēja no 80 µl proteināzes K bufera, 20 µl 20 % SDS (angl. *Sodium Dodecyl Sulfate*) šķīduma, 15 µl proteināzes K (10 mg/ml) un 385 µl dejonizēta ūdens (kopējais tilpums 500 µl). DNS izolēšanai no šūnām brīvas plazmas (200 µl) un no urīna (200 µl, tikai BKV) izmantoja *QIAamp DNA Blood mini kit* (*Qiagen GmgH*, Vācija) saskaņā ar ražotāja instrukciju. Izolēto nukleīnskābju daudzums un tīrība tika noteikti spektrofotometriski. β-globīna polimerāzes ķēdes reakcija (PĶR) tika izmantota, lai noteiktu izdalīto DNS paraugu kvalitāti. Nosakot no plazmas izdalīto DNS kvalitāti, negatīvs β-globīna PĶR rezultāts liecina par to, ka DNS paraugā nav šūnu piemaisījuma, kas ir būtiski pārbaudot vīrusa reaktivāciju. Vīrusa DNS klātbūtne perifēro asiņu šūnās, precīzāk – leikocītos, liecina par latentu persistējošu vīrusu infekciju.

Vīrusu genomu secību klātbūtnes konstatēšanai asins plazmas DNS un urīna DNS tika izmantota polimerāzes ķēdes reakcija (PĶR) ar iekšējo praimēšanu (angl. *nested polymerase chain reaction (nPCR)*). CMV genoma secību noteikšanai izmantoti praimeru pāri un protokols, ko aprakstījis *Studahl et al.*, HHV-6 noteikšanai – *Secchiero et al.*, HHV-7 – *Berneman et al.* un BKV noteikšanai – *Li et al.* DNS amplifikācijas produkti tika analizēti ar 1,7 % agarozes gēla elektroforēzi un vizualizēti UV gaismā krāsojot, ar *ethidium bromide*.

Aktīvas vīrusu infekcijas marķieri bija vīrusu genomu secību klātbūtne DNS, kas izdalīta no šūnām brīvas plazmas (virēmija) vai urīna (virūrija). Latenti persistentas vīrusu infekcijas marķieris bija vīrusu genomu secību klātbūtne DNS, kas izdalīta no perifēro asiņu leikocītiem.

Poliomas BK vīrusa nefropātija

BKV nefropātijas diagnoze tika noteikta, ja pacientam bija persistējoša BK virēmija, t.i. tā diagnosticēta vismaz divas reizes pēc kārtas ar triju mēnešu intervālu, un tam sekojoša nieres transplantāta funkcijas pasliktināšanās un/vai atrastas BKVN raksturīgās pazīmes nieres transplantāta punkcijas biopsijas materiālā.

Nieres transplantāta punkcijas biopsija

Pacients guļ uz muguras. Biopsijas mērķēšanai un kontrolei tiek izmantota ultrasonoskopija. Ultrasonoskopijas kontrolē pirms biopsijas atzīmē dūriena vietu. Veic ādas apstrādi ar antiseptisku šķīdumu un ādu dūriena vietā infiltrē 5 ml 2 % lidokaīna šķīdumu. Biopsiju veic ar G18 automātisko adatu (*Tru-Core, Angiotech*), adatas virzībai sekojot ultrasonoskopiski. Iegūto biopātā gabaliņu fiksē 10 %

formālīnā. Ja iegūtais gabaliņš ir neliels, veic otru dūrienu. Pēc biopsijas pacients astoņas stundas ievēro gultas režīmu. Nieres transplantāta biopātāu izmeklēšanai izmantota gaismas mikroskopijas metode, lietojot hematoksilīna-eoziņa un PAS krāsojumus.

Imūnsupresīvā terapija

Šajā pētījumā iekļautie pacienti saņēma četrkāršu imūnsupresīvo terapiju: indukcijas imūnsupresiju ar monoklonālām vai poliklonālām antivielām un trīskāršu uzturošo imūnsupresiju, kas sastāvēja no glikokortikoīdiem, antiproliferatīviem medikamentiem un kalcineirīna inhibitoriem.

Indukcijas imūnsupresija tika sāкта nieres transplantācijas operācijas laikā, un tai tika izmantots viens no medikamentiem, kas satur monoklonālās antivielas pret interleikīna-2 receptoriem, t. i., basiliximab (*Simulect, Novartis*) 20 mg i/v operācijas dienā un ceturtajā pēcoperācijas dienā vai daclizumab (*Zenapax, F.Hoffmann-La Roche*) 1 mg/kg i/v operācijas dienā un 15. pēcoperācijas dienā, vai poliklonālo antivielu preparāts anti-T limfocītu globulīns (ATG) (*ATG, Fresenius Biotech*) 1,5 – 3 mg/kg i/v pirmās 3 – 5 dienas pēc operācijas.

Uzturošajā imūnsupresijā pacienti sākumā saņēma metilprednizolonu (*Solu-Medrol, Pfizer*) devā 500 mg i/v operācijas dienā, kas pakāpeniski reducēta piecu dienu laikā, tad prednizolonu (*Prednisolon, Gedeon Richter*) 0,5 mg/kg dienā p/o, un arī tā deva tika pakāpeniski reducēta, lai apmēram pēc mēneša vidējā deva būtu 20 mg dienā un pēc sešiem mēnešiem – 5 – 10 mg dienā. Antiproliferatīvo medikamentu un kalcineirīna inhibitoru lietošana uzturošajā imūnsupresijā tika uzsākta pirmajā pēcoperācijas dienā. No antiproliferatīvajiem medikamentiem pacienti saņēma mikofenolāta mofetilu (*Cell-cept, F.Hoffmann-La Roche*) vai mikofenolskābi (*Myfortic, Novartis*), kura sākuma deva bija vidēji 2 g dienā p/o, vai azatioprīnu (*Imuran, GlaxoSmithKline*), kura sākuma deva bija 100 – 150 mg dienā p/o atkarībā no kopējā leukocītu skaita asinīs. No kalcineirīna inhibitoriem pacienti saņēma ciklosporīnu A (*Sandimmun Neoral, Novartis* vai *Ciclosporin Sandoz, Sandoz* vai *Equoral, IVAX Pharmaceuticals*), sākuma devā vidēji 3 – 4 mg/kg dienā p/o, un tā deva tika koriģēta atbilstoši tā līmenim asinīs: 150 – 200 ng/ml pirmos trīs mēnešus pēc transplantācijas un 100 – 200 ng/ml turpmāk. Otrs kalcineirīna inhibitors, ko saņēma daži pacienti pēc smagas akūtas tremes kupēšanas, ir takrolims (*Prograf, Astellas*). Tā sākuma devā 0,1 mg/kg dienā p/o, un arī tā deva tika koriģēta atbilstoši tā līmenim asinīs: 5 – 10 ng/ml pirmos trīs mēnešus pēc transplantācijas un 4 – 8 ng/ml turpmāk. Daži pacienti, kam pētījumā laikā attīstījās smagas kalcineirīna inhibitoru blaknes, uzturošajā imūnsupresijā saņēma mTOR inhibitoru grupas medikamentu sirolimu (*Rapamune, Wyeth*)

sākuma devā 2 mg dienā p/o, koriģējot tā devu atbilstoši līmenim asinīs: 5 – 10 ng/ml. Ciklosporīna A, takrolīma un sirolīma koncentrācija asinīs tika mērīta ar automātisko analizatoru *Architect* (Abbott, ASV), izmantojot hromatogrāfijas metodi.

Visi pacienti, kam transplantāta punkcijas biopsijā tika pierādīta akūta treme, terapijā saņēma 500 mg metilprednizolona i/v 3 – 5 dienas pēc kārtas, un, ja treme bija steroīdu rezistenta, tās terapija tika turpināta ar ATG 1,5 – 3 mg/kg dienā i/v 10 – 14 dienas.

Pacientiem, kam pētījuma laikā divos mērījumos pēc kārtas tika diagnosticēta BK virēmija un/vai nieres transplantāta biopsijā atrastas BKVN raksturīgās citopātiskās izmaiņas, uzturošā imūnsupresija tika reducēta. 2007. - 2008.gadā nebija publicētas šobrīd pieejamās vadlīnijas par imūnsupresijas reducēšanas shēmām, tāpēc Latvijas Transplantācijas centrā imūnsupresija tika reducēta piesardzīgi. Mikofenolāta mofetila (MMF) deva tika samazināta par 500 mg dienā vai MMF nomainīts uz azatioprīnu, vai arī ciklosporīna A (Cs A) deva tika samazināta par 50 mg dienā vai takrolīma deva samazināta par 1 – 2 mg dienā.

Antivirālā profilakse

Recipienti, kam bija risks attīstīties aktīvai CMV infekcijai, 3 mēnešus pēc operācijas saņēma valganciklovīru (*Valcyte, F.Hoffmann-La Roche*) 900 mg vai 450 mg dienā p/o atkarībā no nieres transplantāta funkcijas un kopējā leikocītu skaita asinsainā. Tika pieņemts, ka risks aktīvas CMV infekcijai attīstībai pastāv šādos gadījumos.

- Donoram vai recipientam nieres transplantācijas operācijas dienā bija pozitīvas CMV IgM antivielas.
- Donoram bija pozitīvas CMV IgG, un recipientam – negatīvas CMV IgG antivielas.
- Donoram un recipientam bija pozitīvas CMV IgG antivielas, un recipients bija saņēmis papildu metilprednizolona kursu akūtas tremes kupēšanai vai ATG indukcijas imūnsupresijai vai tremes kupēšanai.

Datu ieguve un statistiskā analīze

Ievākto datu saglabāšanai izmantota programma *Microsoft Excel 2003*, darba teksta un tabulu noformēšanai – programma *Microsoft Word 2003*, datu statistiskajai analīzei – programma *SPSS 16.0 for Windows*.

Grupu raksturošanai lietotas vispārpieņemtās aprakstošās statistikas metodes. Grupu rādītāji izteikti kā vidējais aritmētiskais lielums (angl. *mean*) ±

standarta novirze (angl. *standart deviation, SD*) vai skaitliskos lielumos un procentos. Iegūtie dati atbilstoši tika salīdzināti ar *t-test (Independent Samples T-test)* vai Fišera eksakto testu (*Fisher's Exact test*). Lai salīdzinātu uzturošās imūnsupresijas devas, tika izmantots *two way ANOVA (General Linear Model, Univariate)* tests. Atšķirība uzskatīta par statistiski ticamu, ja $p < 0,05$.

Darba gaitā tika analizēta varbūtību attiecība (angl. *Odds Ratio; OR*), kas ir viena notikuma iestāšanās varbūtība vienā grupā pret šā paša notikuma iestāšanās varbūtību otrā grupā. Ticamības intervāls (angl. *Confidence Interval, CI*) noteikts 95 %. Rezultāti tika uzskatīti par statistiski ticamiem, ja $p < 0,05$.

Transplantātu un pacientu dzīvildze tika analizēta ar *Kaplan-Meier surveillance* testu. Divu grupu salīdzināšanai tika izmantots *Log Rank (Mantel-Cox)* kritērijs. Dati tika cenzēti (angl. *censored*) brīdī, kad pacients bija sasniedzis pētāmā perioda beigas.

REZULTĀTI

Prospektīvās pētījuma daļas datu analīze

1. Aktīvas BKV infekcijas sastopamības biežums

Vīrusu diagnostika visus 12 mēnešus tika veikta 46 no 50 pētījumā iekļautajiem pacientiem, jo divi pacienti gāja bojā pirmo triju pētījuma mēnešu laikā (viens akūta pankreatīta ar sekojošu zarnu perforāciju un akūta peritonīta dēļ, otrs plaušu artērijas trombembolijas dēļ), vienai pacientei bija primāri nefunkcionējošs transplantāts un vienai pacientei nācās veikt transplantektomiju nierēs artēriju trombozes dēļ.

Kopumā aktīva BKV infekcija pirmā gada laikā pēc nierēs transplantācijas tika diagnosticēta 16 no 46 (35 %) pacientiem.

BK virūrija urīna citoloģiskajā izmeklēšanā, t.i. maldinātājšūnas urīnā, tika atklāta 13 no 46 (28 %) pacientiem. Savukārt, izmantojot PQR, BK virūrija diagnosticēta 16 (35 %) pacientiem, bet BK virēmija – 13 (28 %) pacientiem. Ne vienmēr BK virūrija un virēmija diagnosticēta vienlaikus. Vairumā gadījumu vispirms atrasta BK virūrija, nākamajā pārbaudē – virūrija un virēmija, un pēc terapijas modifikācijas vispirms izzuda BK virēmija un pēc tam – virūrija. Visvairāk BK virēmijas un virūrijas gadījumu atklāts sešus un deviņus mēnešus pēc NT, bet tie nebija vieni un tie paši pacienti abos laika periodos (4. tab.).

4. tabula. BK virēmija un virūrīja pirmā gada laikā pēc nieru transplantācijas

	2 nedēļas pēc NT	3 mēnešus pēc NT	6 mēnešus pēc NT	9 mēnešus pēc NT	12 mēnešus pēc NT
Maldinātāj- šūnas	–	7/46 (15 %)	8/46 (17 %)	4/46 (9 %)	4/46 (9 %)
BK virūrīja	3/50 (6 %)	12/46 (26 %)	15/46 (33 %)	15/46 (33 %)	13/46 (28 %)
BK virēmija	3/50 (6 %)	8/46 (17 %)	9/46 (20 %)	9/46 (20 %)	5/46 (11 %)
Virēmija un virūrīja	3/50 (6 %)	7/46 (15 %)	8/46 (17 %)	9/46 (20 %)	5/46 (11 %)

Pārsvārā gadījumu pacientiem, kam ar PĶR tika atklāta BK virēmija ar šo pašu metodi tika atrasta arī BK virūrīja, tomēr vienai pacientei trīs un sešus mēnešus pēc NT konstatēta tikai BK virēmija un devītajā mēnesī parādījās arī BK virūrīja.

Veicot urīna citoloģisku izmeklēšanu, BK virūrīja atklāta retāk nekā ar PĶR metodi. Tomēr vairumā gadījumu maldinātājšūnu atrade urīnā sakrita ar BK virūrījas un BK virēmijas atradi, kas noteikta, izmantojot PĶR. Sakritība bija statistiski ticama sešus un deviņus mēnešus pēc NT un gandrīz ticama ($p = 0,05$) 12 mēnešus pēc NT (5. un 6. tab.).

5. tabula. Maldinātājšūnu saistība ar BK virūrīju, kas diagnosticēta ar PĶR

Laiks pēc transplantācijas	Maldinātāj- šūnas	BK virūrīja	<i>Fisher's</i> <i>Exact</i> (p)	<i>Odds Ratio</i> ; 95 % CI
3 mēn.	7 pacientiem	3/7	NS	
6 mēn.	8 pacientiem	6/8	0,01	9,6; 1,65 – 56,55
9 mēn.	4 pacientiem	4/4	0,008	1,3; 1,00 – 1,85
12 mēn.	4 pacientiem	2/4	0,05	13,0; 1,32 – 127,7

6. tabula. Maldinātājšūnu saistība ar BK virēmiju, kas diagnosticēta ar PĶR

Laiks pēc transplantācijas	Maldinātāj- šūnas	BK virēmija	<i>Fisher's</i> <i>Exact</i> (p)	<i>Odds Ratio</i> ; 95 % CI
3 mēn.	7 pacientiem	2/7	NS	
6 mēn.	8 pacientiem	4/8	0,03	6,6; 1,23 – 35,23
9 mēn.	4 pacientiem	3/4	0,02	18,0; 1,59 – 202,9
12 mēn.	4 pacientiem	2/4	0,05	13,0; 1,32 – 127,7

Viena no aktīvas BKV infekcijas klīniskajām izpausmēm ir urīnvada stenoze ar tai sekojošu urostāzi transplantētajā nierē. Šajā pētījumā urostāze tika diagnosticēta pieciem pacientiem un trim no tiem tika diagnosticēta gan BK virēmija, gan BK virūrīja, kā arī pētījuma laikā attīstījās BKVN.

Visiem pacientiem ar ultrasonoskopiski diagnosticētu urostāzi transplantātā tika ievietotas nefrostomas un veikta antegrādā pielogrāfija urīnvada obstrukcijas līmeņa precizēšanai. Visos gadījumos urīnvada stenoze bija attīstījusies distālā urīnvada trešdaļā, un tas ir raksturīgi BKV izraisītai stenozei. Visiem pacientiem tika veikta neoureterocistostomijas operācija.

Urostāze transplantātā biežāk tika diagnosticēta pacientiem ar aktīvu BKV infekciju (3 no 16 jeb 19% pacientu) nekā pacientiem, kam netika diagnosticēta aktīva BKV infekcija (tikai 2 no 30 jeb 7 % pacientu), tomēr atšķirība nebija statistiski ticama ($p = 0,32$). Pētījuma laikā pacientiem ar urostāzi statistiski ticami ($p = 0,04$) biežāk attīstījās BKVN (3 no 5 (60 %) pacientiem vs 4 no 31 (13%) pacienta).

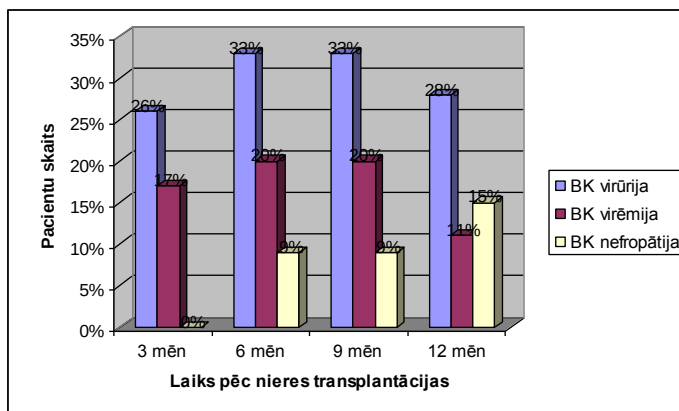
Kopsavilkums

- Pirmā gada laikā pēc nieres transplantācijas aktīva BKV infekcija tika diagnosticēta apmēram vienai trešdaļai jeb 16 no 46 (35%) pacientu.
- Aktīvu BKV infekciju biežāk var diagnosticēt nosakot BKV DNS urīnā vai asins paraugos ar PQR nekā maldinātājšūnas urīna citoloģiskā izmeklēšanā.
- Urīnvada stenoze ir svarīga aktīvas BKV infekcijas izpausme un ir saistīta ar vēlāku BKVN attīstību.

2.1. Poliomas BK vīrusa nefropātijas sastopamības biežums

BKVN diagnosticēta septiņiem no 46 (15 %) pacientiem, kas tika novēroti pilnus 12 mēnešus. BKVN neattīstījās pirmajos trijos pētījuma mēnešos, bet pēc sešiem mēnešiem tika diagnosticēta četriem (9 %) pacientiem ar iepriekš eksistējušu virūriju un virēmiju. Devītajā novērošanas mēnesī jauni BKVN gadījumi netika diagnosticēti. Pēc 12 novērošanas mēnešiem BKVN bija attīstījusies vēl trijiem (6%) pacientiem ar iepriekšējos sešos mēnešos persistējošu BK virēmiju (1.att.)

1.attēls. Ar PĶR diagnosticētas BK virūrijas un virēmijas un BKNV sastopamības biežums



BKNV attīstība statistiski ticami bija saistīta ar BK virūriju un virēmiju, bet ne maldinātājšūnu atradi 3 – 12 mēnešus pēc nieres transplantācijas (7. tab.)

7. tabula. BKNV saistība ar BK virēmijas, virūrijas un maldinātājšūnu atradi

Laiks	Pacienti ar BKNV (n = 7)	Pacienti bez BKNV (n = 39)	Fisher's test (p)
2 nedēļas pēc NT			
BK virēmija	1 (14 %)	2 (5 %)	NS
BK virūrija	1 (14 %)	2 (5 %)	NS
3 mēnešus pēc NT			
BK virēmija	5 (71 %)	3 (7,5 %)	< 0,001
BK virūrija	6 (86 %)	7 (18 %)	< 0,01
Maldinātājšūnas	1 (14 %)	6 (15 %)	NS
6 mēnešus pēc NT			
BK virēmija	5 (71 %)	4 (10 %)	< 0,01
BK virūrija	7 (100 %)	9 (23 %)	< 0,001
Maldinātājšūnas	2 (28 %)	6 (15 %)	NS
9 mēnešus pēc NT			
BK virēmija	5 (71 %)	4 (10 %)	< 0,01
BK virūrija	7 (100 %)	8 (20,5 %)	< 0,001
Maldinātājšūnas	2 (28 %)	2 (5 %)	NS
12 mēnešus pēc NT			
BK virēmija	5 (71 %)	0 (0 %)	< 0,001
BK virūrija	7 (100 %)	6 (15 %)	< 0,001
Maldinātājšūnas	2 (2 %)	2 (5 %)	NS

2.2. Poliomas BK vīrusa nefropātijas riska faktori

Pētījumā tika definēti 18 riska faktori, kas var ietekmēt BKNV attīstību:

- recipienta faktori: vīriešu dzimums, vecums virs 50 gadiem, palielināts ķermeņa masas indekss (KMI), liekais svars vai aptaukošanās, diabētiska nefropātija kā terminālas nieru mazspējas cēlonis;
- transplantāta faktori: donora un recipienta cilvēka leikocītu antigēna (angl. Human Leucocyte Antigen (HLA)) nesaderību skaits, pirmreizēja vai atkārtota transplantācija, transplantāta aukstuma išēmijas laiks, primāra vai atlikta transplantāta funkcija;
- lietotās imūnsupresijas faktori: indukcijas imūnsupresijas medikaments, akūtas tremes esamība un tās terapija, kurā lietots tikai metilprednizolons vai arī lietots ATG, vai uzturošajā imūnsupresijā lietots takrolims, MMF, valganciklovīra lietošana CMV infekcijas profilaksei.

Pēc datu statistiskās apstrādes tika iegūti rezultāti, kas apkopoti 8. tabulā.

8. tabula Iespējamie BKNV attīstības riska faktori

Riska faktors	Ar BKNV (n = 7)	Bez BKNV (n = 39)	(p)	Odds Ratio (CI 95%)
Dzimums (vīr./siev.)	5/2	20/19	0,43	2,3; 0,41 – 13,7
Vecums (gadi)	51,7±15,9	43,6±12,9	0,11	
Pacienti > 50 g. v.	4 (57 %)	12 (31 %)	0,21	3,0; 0,58 – 15,5
KMI > 25 kg/m ²	6 (86 %)	11 (28 %)	0,07	15,2; 1,64 – 141,8
KMI > 30 kg/m ²	2 (28 %)	5 (13 %)	0,29	2,7; 0,41 – 18,0
Diabētiska nefropātija	2 (28 %)	4 (10 %)	0,22	3,5; 0,50 – 24,32
HLA nesaderību skaits	5,4±0,5	4,9±0,8	0,14	
Atkārtota transplantācija	3 (43 %)	6 (15 %)	0,12	4,1; 0,73 – 23,29
Aukstuma išēmija (h)	14±4,3	13±4,8	0,64	
Atlikta funkcija	2 (28 %)	9 (23 %)	1,00	1,3; 0,22 – 8,07
ATG indukcijā	1 (14 %)	2 (5 %)	0,39	3,1; 0,24 – 39,51
Simulect indukcijā	5 (71 %)	23 (59 %)	0,4	3,3; 0,03 – 3,11
Zenapax indukcijā	1 (14 %)	14 (36 %)	0,4	3,0; 0,32 – 28,8
Akūta treme	3 (43 %)	21 (53 %)	0,69	0,6; 0,12 – 3,36
ATG tremes terapijā	1 (14 %)	8 (20 %)	1,00	0,6; 0,68 – 6,15
Takrolims	2 (28 %)	1 (2,5 %)	0,05	15,2; 1,2 – 199,6
MMF	6 (86 %)	37 (95 %)	0,4	0,3; 0,02 – 4,15
Nesaņēma Valcyte	5 (71 %)	12 (31 %)	0,08	5,6; 0,95 – 33,19

Nevienam no analizētajiem riska faktoriem netika atklāta statistiski ticama saistība ar BKNV attīstību, lai gan daži faktori pacientiem ar BKNV novēroti procentuāli biežāk.

BKVN biežāk attīstījās pacientiem, kam uzturošās imūnsupresijas shēmā bija iekļauts takrolims, tomēr statistiskā atšķirība bija gandrīz nozīmīga ($p = 0,05$). Tendence uz biežāku BKNV attīstību bija arī pacientiem ar lieko svaru ($\text{KMI} > 25 \text{ kg/m}^2$) ($p = 0,07$) un pacientiem, kas nesaņēma CMV infekcijas profilaksi ar valganciklovīru ($p = 0,08$), tomēr statistiski ticama atšķirība netika atklāta (11. tab.).

2.3. BKNV ietekme uz nieres transplantātu funkciju un dzīvildzi

Trim (Nr. 13, 27 un 47) no 16 pacientiem, kam pētījuma laikā diagnosticēta aktīva BKV infekcija nieres transplantāta biopsija netika plānota, jo viņiem tika atklāta tikai BK virūrija bez BK virēmijas. Trim (Nr. 3, 22 un 50) pacientiem, kam transplantāta funkcija saglabājas stabila un laba, transplantāta punkcijas biopsija netika piedāvāta. Pārējiem pacientiem diagnozes precizēšanai tika piedāvāta transplantāta biopsija, bet divi (Nr.7 un 30) pacienti no tās atteicās un astoņiem pacientiem biopsija tika veikta (9. tab.).

9. tabula. Nieres transplantāta biopsijas atrade un transplantātu funkcija pēc gada un diviem gadiem pacientiem ar aktīvu BKV infekciju (virūriju un/vai virēmiju).

N. p. k.	BK virūrija	BK virēmija	Biopsija	BKNV pazīmes biopsijā	Diagnosticēta BKNV	Kreatinīns (mmol/l) pēc gada	Kreatinīns (mmol/l) pēc diviem gadiem
3.	ir	ir	neveic	-	nav	0,13	0,13
7.	ir	ir	neveic	-	ir	0,15	0,18
8.	ir	ir	veic	atrod	ir	0,16	0,14
12.	ir	ir	veic	neatrod	nav	0,13	0,12
13.	ir	nav	neveic	-	nav	0,14	0,13
15.	ir	ir	veic	atrod	ir	0,2	HD
18.	ir	ir	veic	neatrod	nav	0,09	0,1
21.	ir	ir	veic	atrod	ir	0,16	0,18
22.	ir	ir	neveic	-	nav	0,11	0,13
24.	ir	ir	veic	neatrod	nav	0,12	0,15
27.	ir	nav	neveic	-	nav	0,13	0,13
30.	ir	ir	neveic	-	ir	0,14	0,17
39.	ir	ir	veic	atrod	ir	0,21	Ex.letalis
43.	ir	ir	veic	atrod	ir	0,34	HD
47.	ir	nav	neveic	-	nav	0,12	0,11
50.	ir	ir	neveic	-	nav	0,13	0,13

HD – hemodialīze, ex.letalis – pacients mirusi ar funkcionējošu transplantātu, pēdējais noteiktais kreatinīns bija 0,24 mmol/l pēc 22 mēn.

Pieciem no astoņiem pacientiem, kam tika izdarīta punkcijas biopsija, iegūtajā materiālā konstatētas BKNV raksturīgās pazīmes – izlocīto kanāliņu epitēlijšūnu distrofija, vietām nekroze, vietām šūnas ar palielinātiem hiperhromiem kodoliem ar vairākiem kodoliņiem.

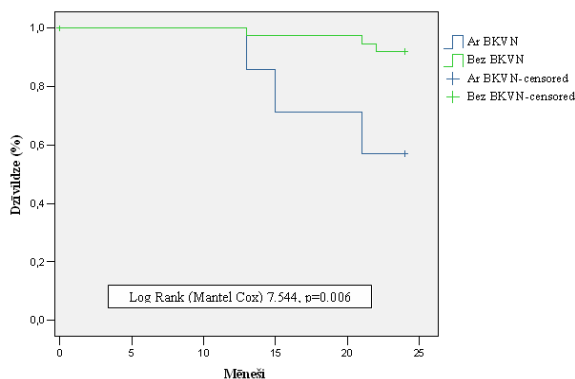
Morfoloģiskā un klīniskā BKNV diagnoze bija statistiski ticami saistīta ($p < 0,001$; OR 3,5; 1,08 – 11,29).

Pacientiem ar BKNV ($n = 7$) nierēs transplantāta funkcija bija ievērojami un statistiski ticami sliktāka nekā pacientiem bez BKNV ($n = 39$) – kreatinīna līmenis asinīs bija attiecīgi $0,19 \pm 0,07$ mmol/l vs $0,12 \pm 0,04$ mmol/l ($p = 0,001$) pēc viena gada un $0,16 \pm 0,02$ mmol/l vs $0,13 \pm 0,03$ mmol/l ($p = 0,01$) pēc diviem gadiem.

Transplantātu dzīvildze

Visiem 46 pacientiem, kas tika novēroti pētījuma laikā un kam tika veikta BKNV infekcijas diagnostika, pētījuma pirmā gada beigās nierēs transplantāti funkcionēja. Viena gada transplantātu dzīvildze bija 92% (46 no 50 pacientiem). Otrā gada laikā pārstāja funkcionēt seši transplantāti, no kuriem divi tika zaudēti BKNV dēļ, viens vēlīnas akūtas tremes un hroniskas transplantāta nefropātijas dēļ un trīs transplantāti gāja bojā ar pacienta nāvi saistītu blakusslimību dēļ, turklāt vienai pacientei iepriekš bija diagnosticēta BKNV. Līdz ar to pēc diviem gadiem nefunkcionēja trīs no septiņiem nierēs transplantātiem ar BKNV un trīs no 39 nierēs transplantātiem bez BKNV (42 % vs 7 %, $p = 0,006$). Divu gadu transplantātu dzīvildze bija 80 % (2. att.).

2. attēls. Transplantātu dzīvildze pacientiem ar BKNV un bez tās



2.4. BKNV ietekme uz pacientu hospitalizāciju un mirstību

Pētījuma dalībnieki pirmā gada laikā kopumā tika hospitalizēti 80 reizes, ieskaitot pirmo hospitalizācijas reizi, kad tika veikta nieru transplantācijas operācija. 30 bija atkārtotas hospitalizācijas epizodes. 26 no tām bija saistītas ar nieru transplantācijas sarežģījumiem, un četras – ne (akūts koronārs sindroms, akūts holecistīts, prostatas adenomas operācija un divpadsmitpirkstu zarnas čūlas slimības paasinājums).

29 (58%) pacientiem pirmā hospitalizācijas reize bija arī vienīgā. 15(30%) pacienti pirmos 12 mēnešos tika hospitalizēti divas reizes, trīs (6 %) pacienti – trīs reizes un trīs (6%) pacienti – četras reizes.

Atkārtotas hospitalizācijas cēloņi bija šādi.

Pacientiem ar BKNV:

- urostāze nieru transplantātā – četras reizes
- aizdomas par BKNV, biopsijas veikšanai – četras reizes
- infekcija – trīs reizes (divas – urīnceļu infekcija, viena – CMV infekcija)
- akūta treme – divas reizes

Pacientiem bez BKNV:

- akūta treme – trīs reizes
- aizdomas par BKNV, biopsijas veikšanai -trīs reizes
- infekcija – divas reizes (viena - CMV infekcija, viena – operācijas brūces infekcija)
- limfocēle operācijas brūcē – divas reizes
- citi iemesli – trīs reizes (viena – urostāze, viena – toksisks hepatīts, viena – membranoproliferatīva glomerulonefrīta recidīvs transplantātā)

Pacienti ar BKNV ($n = 7$) tika hospitalizēti statistiski ticami biežāk nekā pacienti bez BKNV ($n = 39$), attiecīgi $3,0 \pm 1,1$ epizode vs $1,4 \pm 0,5$ epizodes gada laikā ($p < 0,001$). Tātad pacientiem ar BKNV hospitalizācijas biežums bija viens gadījums uz $5 \pm 3,3$ novērošanas mēnešiem. Turpretī pacientiem bez BKNV – viens gadījums uz $9,6 \pm 3,0$ novērošanas mēnešiem ($p = 0,001$).

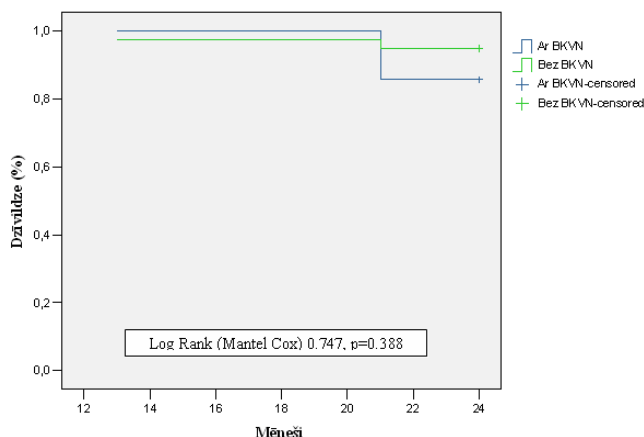
Pacientu dzīvildze

Divi no 50 (4%) pētījumā iekļautiem pacientiem nomira pirmajos trijos pētījuma mēnešos pēc nieru transplantācijas (viens akūta pankreatīta ar sekojošu zarnu perforāciju un akūta peritonīta dēļ, otrs plaušu artērijas trombembolijas dēļ). Viena gada pacientu dzīvildze bija 96% (48 no 50 pacientiem). Tālākā novērošanā netika iekļautas vēl divas pacientes, kas bija zaudējušas nieru transplantātu

pirmajos trijos mēnešos (vienai pacientei primāri nefunkcionējošs transplantāts, otrai – nieres transplantāta artēriju tromboze, infarkti un nekroze ar sekojošu transplantektomiju) un turpināja hemodialīzi.

Līdz ar to pētījumā tika novēroti 46 pacienti, kuri visi arī pētījuma pirmā gada beigās bija dzīvi. Vēl pēc viena gada dzīvi bija 43 pacienti un trīs pacienti bija miruši. Viņu nāves iemesli bija šādi: melanoma ar multiplām metastāzēm, aknu ciroze un koronārā sirds slimība ar akūtu miokarda infarktu. Pacientu nāve pēc 24 mēnešiem statistiski ticami (OR 3.0 [0.96 – 9.3], $p < 0,01$) bija saistīta ar nefunkcionējošu transplantātu pēc 24 mēnešiem, bet nebija saistīta ar BKNV esamību ($p = \text{NS}$). Tikai vienai no mirušajām pacientēm (nāves iemesls – akūts miokarda infarkts) iepriekš bija diagnosticēta BKNV. Divu gadu pacientu dzīvildze bija 90% (45 no 50 pacientiem) (3. att.).

3. attēls. Pacientu dzīvildze ar BKNV un bez tās



Kopsavilkums

- Pirmā gada laikā pēc nieres transplantācijas BKNV attīstījās 15 % pacientu. Tās attīstība nenotiek strauji. Pirmie BKNV gadījumi tika diagnosticēti sešus mēnešus pēc nieres transplantācijas.
- Nozīmīgi BKNV priekšvēstneši ir BK virēmija un virūrija, kas diagnosticēti ar PQR metodi.
- Klīniski diagnosticēta BKNV vairumā gadījumu tiek apstiprināta arī morfoloģiski.
- BKNV ievērojami pasliktina nieres transplantāta funkciju un dzīvildzi, bet neietekmē pacientu dzīvildzi, lai gan pacienti ar BKNV tiek biežāk hospitalizēti un līdz ar to palielinās to ārstēšanas izmaksas.

3.1. BKV un β -herpesvīrusu infekcijas sastopamības biežums nieres transplantātu donoriem

Pētījumā ietvaros tika analizēti 27 nieres transplantātu donoru asins paraugi, lai atklātu latentu persistējošu vai aktīvu vīrusu infekcijas.

Nevienam donoram asinīs netika atklāta aktīva BKV infekcija.

Latenti persistējoša β -herpesvīrusu infekcija tika diagnosticēta 23 (85 %) donoriem: septiņiem (26 %) no tiem – CMV infekcija, pieciem (18,5 %) – HHV-6 infekcija un 19 (70 %) – HHV-7 infekcija. Astoņiem (30 %) donoriem tika atklāta vienlaicīga vairāku vīrusu infekcija: trijiem (11 %) – latentu persistējošu CMV un HHV-7 infekcijas kombinācija, četriem (15 %) – latentu persistējošu HHV-6 un HHV-7 infekcijas kombinācija un vienam (4 %) – visu trīs β -herpesvīrusu latentu infekcija.

Aktīva β -herpesvīrusu infekcija tika atklāta četriem (15 %) donoriem: diviem (7,5 %) no tiem – CMV infekcija un diviem (7,5 %) – HHV-7 infekcija. Nevienam no donoriem nenovēroja šo infekciju klīniskās izpausmes. Abi recipienti, kam tika transplantētas nieres no donoriem ar aktīvu CMV infekciju, saņēma tās profilaksi ar valganciklovīru, un nevienam no viņiem neattīstījās primāra CMV infekcija. Abām recipientēm, kam tika transplantētas nieres no donoriem ar aktīvu HHV-7 infekciju, bija latentu persistējoša HHV-7 infekcija, un vienai trīs mēnešus, otrai sešus mēnešus pēc transplantācijas atklāja aktīvu HHV-7 infekciju, kā arī aktīvu BKV infekciju.

3.2. Aktīvas BKV un β -herpesvīrusu sastopamības biežums un savstarpējā mijiedarbība nieres transplantātu recipientiem

Šajā pētījumā bez BKV infekcijas pacientiem pēc nieres transplantācijas tika monitorētas arī β -herpesvīrusu infekcijas.

Pirms nieres transplantācijas aktīva BKV infekcija netika konstatēta nevienam recipientam, bet 12 (24 %) pacientiem tika diagnosticēta aktīva β -herpesvīrusu infekcija, vienam (2 %) no tiem – HHV-6 infekcija, un 11 (22 %) pacientiem – aktīva HHV-7 infekcija. Dubultas vai jauktas infekcijas netika atrastas. Pirms transplantācijas nevienam no pacientiem nebija šo infekciju klīnisku izpausmju.

Pēc nieres transplantācijas visbiežāk diagnosticēta aktīva HHV-7 infekcija (26 – 37 % gadījumu), vidēji bieži – aktīva CMV infekcija (2 – 26 % gadījumu) un visretāk aktīva HHV-6 infekcija (0 – 13 % gadījumu) (10. tab.).

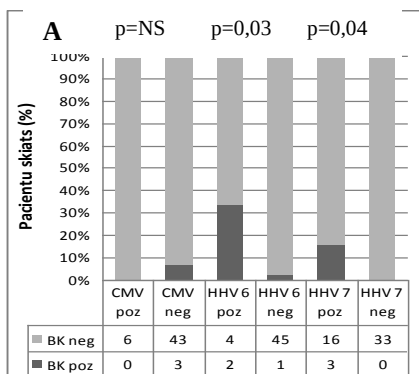
10. tabula. Aktīvu β -herpesvīrusu infekciju sastopamības biežums

Vīrusu infekcija	2 ned. pēc NT	3 mēn. pēc NT	6 mēn. pēc NT	9 mēn. pēc NT	12 mēn. pēc NT
CMV	6/50 (11,5%)	12/46(26%)	12/46(26 %)	6/46 (13%)	1/46 (2 %)
HHV-6	6/50 (11,5%)	6/46 (13%)	5/46 (11%)	5/46 (11%)	0/46 (0 %)
HHV-7	19/50(36,5%)	14/46(30%)	12/46(26%)	17/46(37%)	14/46 (30 %)

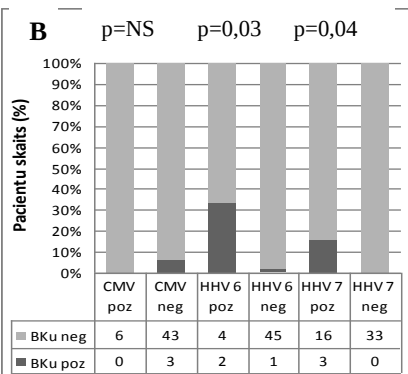
Pētījuma laikā, 2007. un 2008. gadā pirmos 3 mēnešus pēc NT 30 no 50 (60 %) pacientiem saņēma CMV infekcijas profilaksi ar valganciklovīru. 19 (38 %) pacienti saņēma 900 mg valganciklovīra dienā p/o, bet 11 (22 %) pacienti, leikopēnijas vai sliktākas nieres transplantāta funkcijas dēļ, 450 mg valganciklovīra dienā p/o. Aktīva CMV infekcija pirmajos trīs mēnešos attīstījās septiņiem no 29 pacientiem, kas bija novēroti 12 mēnešus un kas saņēma profilaksi ar valganciklovīru, un septiņiem no 17 pacientiem, kas nesaņēma profilaksi (24 % vs 41 %, $p = 0,32$). Tomēr sestajā mēnesī pēc NT jauni aktīvas CMV infekcijas gadījumi tika konstatēti astoņiem no 29 pacientiem, kas saņēma profilaksi pirmajos trijos mēnešos, bet neviens jauns CMV infekcijas gadījums netika atklāts pacientu grupā, kas nesaņēma profilaksi, (28 % vs 0 %, $p = 0,019$). Tādējādi CMV profilakse ar valganciklovīru noteica diezgan augsto aktīvas CMV infekcijas incidenci sešus mēnešus pēc NT.

Aktīvas β -herpesvīrusu infekcijas ietekme uz BKV aktivāciju atšķirās dažādos pētījuma laikos. Aktīva HHV-6 un HHV-7 infekcija divas nedēļas NT bija statistiski ticami saistīta ar BKV aktivāciju attiecīgā laika periodā (4. att.).

4. attēls. Aktīvu β -herpesvīrusu infekciju saistība ar BK virēmiju (A) un virūrīju (B) divas nedēļas pēc transplantācijas



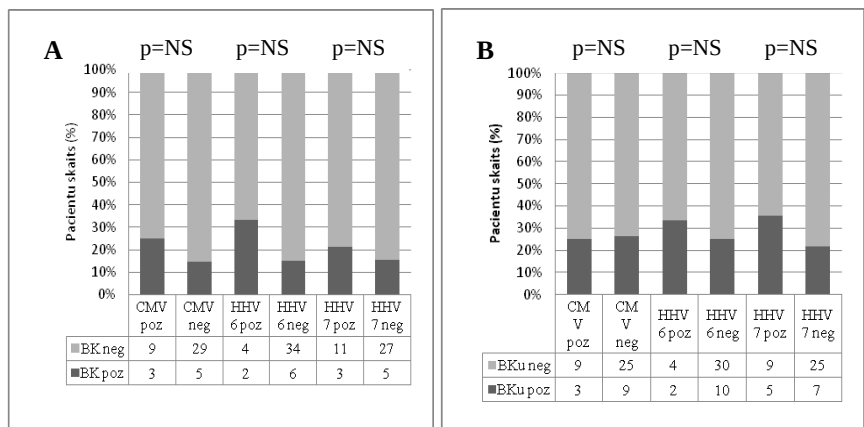
BK – BK virēmija,



BKu – BK virūrīja

Trīs mēnešus pēc transplantācijas netika atklāta nozīmīga aktīvu β-herpesvīrusu ietekme uz BKV aktivāciju (5. att).

5. attēls. Aktīvu β-herpesvīrusu infekciju ietekme uz BK virēmiju (A) un virūriju (B) trīs mēnešus pēc transplantācijas

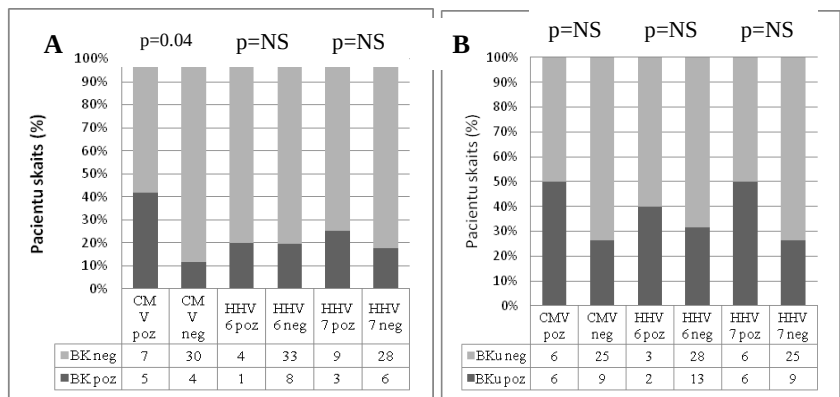


BK – BK virēmija,

BKu – BK virūrija

Sešus mēnešus pēc transplantācijas tikai aktīva CMV infekcija bija statistiski ticami saistīta ar BK virēmiju ($p = 0,04$, OR 5,36; 1,13 – 25,26). Pārējiem β-herpesvīrusiem nebija ietekmes uz BKV aktivāciju šī pētījuma laikā (6.att.).

6. attēls. Aktīvu β-herpesvīrusu infekciju ietekme uz BK virēmiju (A) un virūriju (B) sešus mēnešus pēc transplantācijas

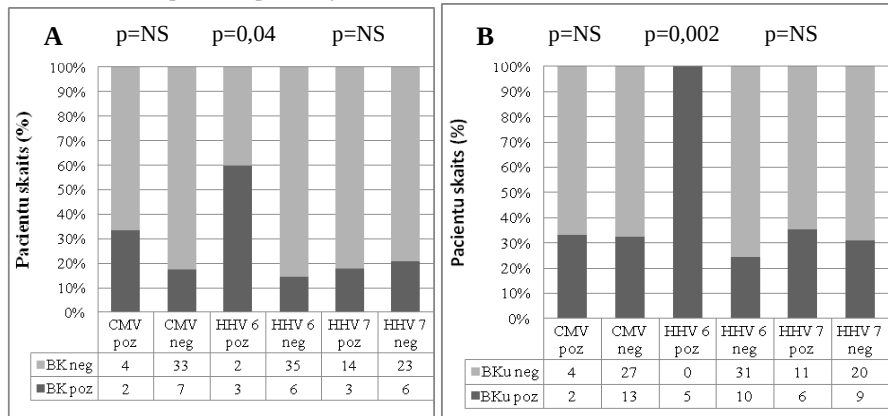


BK – BK virēmija,

BKu – BK virūrija

Savukārt deviņus mēnešus pēc transplantācijas aktīva HHV-6 infekcija bija saistīta gan ar BK virēmiju, gan BK virūriju (7. att.).

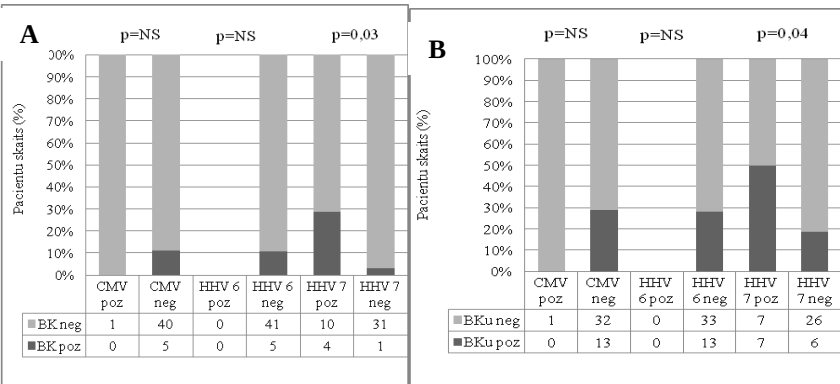
7. attēls. Aktīvu β-herpesvīrusu infekciju ietekme uz BK virēmiju (A) un virūriju (B) deviņus mēnešus pēc transplantācijas



BK – BK virēmija, BKu – BK virūrija

Divpadsmit mēnešus pēc transplantācijas tikai aktīva HHV-7 infekcija bija statistiski ticami saistīta ar BKV aktivāciju (8. att.).

8. attēls. Aktīvu β-herpesvīrusu infekciju ietekme uz BK virēmiju (A) un virūriju (B) 12 mēnešus pēc transplantācijas



BK – BK virēmija, BKu – BK virūrija

Dubulta un jaukta vīrusu infekciju aktivācija pirmo reizi atklāta divas nedēļas pēc nieres transplantācijas. Aktīva BKV infekcija tika diagnosticēta trijiem (6 %) recipientiem. Diviem no šiem recipientiem konstatēta arī vienlaicīga HHV-6 reaktivācija, un visiem trim pacientiem – arī vienlaicīga HHV-7 reaktivācija. Tālākā pētījuma gaitā vienlaicīga BKV un kāda no β-herpesvīrusiem aktivācija (dubulta infekcija) identificēta dažādam pacientu skaitam dažādos laikos pēc transplantācijas. Visbiežāk kombinējās aktīva HHV-7 un BKV infekcija, retāk – aktīva HHV-6 vai CMV ar aktīvu BKV (14. tab.). Jaukta aktīva infekcija, t.i., BKV kombinācijā ar divām vai trim β-herpesvīrusu infekcijām, diagnosticēta retāk nekā dubulta infekcija: trīs mēnešus pēc transplantācijas tikai vienam pacientam (2 %), pēc sešiem mēnešiem trijiem pacientiem (6,5 %) un pēc deviņiem mēnešiem pieciem pacientiem (11 %) (11. tab.).

11. tabula. Aktīva dubulta un jaukta vīrusu infekcija

Vīrusu infekcijas	2 ned. pēc NT	3 mēn. pēc NT	6 mēn. pēc NT	9 mēn. pēc NT	12 mēn. pēc NT
CMV+BKV	0/50 (0 %)	4/46 (9 %)	6/46 (13 %)	2/46 (4 %)	0/46 (0 %)
HHV-6 +BKV	2/50 (4 %)	3/46 (6,5 %)	2/46 (4 %)	5/46 (11 %)	0/46 (0 %)
HHV-7 +BKV	3/50 (6 %)	6/46 (13 %)	6/46 (13 %)	6 (13 %)	7/46 (15 %)
Jaukta	2/50 (4 %)	1/46 (2 %)	3/46 (6,5 %)	5/46 (11 %)	0/46 (0 %)

3.3. Dubultu un jauktu aktīvu vīrusu infekciju ietekme uz nieres transplantātu funkciju.

Pirmajā pusgadā pēc transplantācijas operācijas dubulta un jaukta vīrusu infekcija nepasliktināja nieres transplantāta funkciju, bet pēc deviņiem un 12 mēnešiem BKV un HHV-6 vai HHV-7 aktīvu infekciju kombinācija vai jaukta infekcija, iesaistot arī CMV, statistiski ticami pasliktināja nieres transplantāta funkciju (12. tab.).

12. tabula. Dubultas un jauktas vīrusu infekcijas ietekme uz nierēs transplantāta funkciju

Vīrusu infekcija	Pacienti ar infekciju		Pacienti bez infekcijas		p
	Pacientu skaits	Kreatinīns asinīs	Pacientu skaits	Kreatinīns asinīs	
3 mēnešus pēc NT					
CMV+BKV	4 (9 %)	0,11 ± 0,03	42 (91 %)	0,12 ± 0,03	NS
HHV6+BKV	3 (6,5 %)	0,14 ± 0,05	43 (93,5 %)	0,12 ± 0,03	NS
HHV7+BKV	6 (13 %)	0,13 ± 0,02	40 (87 %)	0,12 ± 0,03	NS
Jaukta	1 (2 %)	0,09	45 (98 %)	0,12 ± 0,03	NS
6 mēnešus pēc NT					
CMV+BKV	6 (13 %)	0,14 ± 0,05	40 (87 %)	0,12 ± 0,03	NS
HHV6+BKV	2 (4 %)	0,16 ± 0,09	44 (96 %)	0,12 ± 0,03	NS
HHV7+BKV	6 (13 %)	0,12 ± 0,03	40 (87 %)	0,12 ± 0,04	NS
Jaukta	3 (6,5 %)	0,11 ± 0,03	43 (93,5 %)	0,12 ± 0,04	NS
9 mēnešus pēc NT					
CMV+BKV	2 (4 %)	0,16 ± 0,06	44 (96 %)	0,12 ± 0,03	NS
HHV6+BKV	5 (11 %)	0,17 ± 0,03	41 (89 %)	0,12 ± 0,03	0,001
HHV7+BKV	6 (13 %)	0,15 ± 0,03	40 (87 %)	0,12 ± 0,03	0,05
Jaukta	5 (11 %)	0,15 ± 0,03	41 (89 %)	0,12 ± 0,03	0,03
12 mēnešus pēc NT					
HHV7+BKV	7 (15 %)	0,17 ± 0,08	39 (85 %)	0,13 ± 0,04	0,04

Pacientiem ar dubultu vīrusu infekciju nierēs transplantāti savu funkciju zaudēja procentuāli biežāk, tomēr atšķirība statistiski ticama bija tikai pacientiem ar aktīvu HHV-6 un BKV infekcijas kombināciju vai bez tās ($p = 0,002$). Pacientu dzīvildzi dubulta aktīva vīrusu infekcija neietekmēja. Jaukta aktīva vīrusu infekcija neietekmēja ne transplantātu, ne pacientu dzīvildzi (13. tab.).

13. tabula. Nierēs transplantātu dzīvildze divus gadus pacientiem ar dubultu vai jauktu vīrusu infekciju.

Infekciju kombi- nācija	Pacientiem ar infekciju		Pacientiem bez infekcijas		Log Rank (Mantel Cox)
	Zaudēti transplantāti	Funkcionējoši transplantāti	Zaudēti transplantāti	Funkcionējoši transplantāti	
CMV+BKV	1 (17 %)	5 (83 %)	5 (12,5 %)	35 (87,5 %)	0,08, $p = 0,7$
HHV-6 +BKV	2 (67 %)	1 (33 %)	4 (9 %)	39 (91 %)	9,39, $p = 0,002$
HHV-7 +BKV	2 (18 %)	9 (82 %)	4 (11 %)	31 (89 %)	0,6, $p = 0,4$
Jaukta	1 (11 %)	8 (89 %)	5 (13 %)	32 (87 %)	0,04, $p = 0,8$

Kopsavilkums

- Donoriem BK virēmija netiek nenovērota. Donoram konstatēta aktīva CMV infekcija recipientam nerada sarežģījumus, ja tiek nozīmēta tās profilaktiska terapija.
- Pacienti pēc nieru transplantācijas visbiežāk sastopama aktīva HHV-7 infekcija, vidēji bieži – aktīva CMV infekcija, bet visretāk – aktīva HHV-6 infekcija.
- Pacienti, kas saņēma CMV profilaksi ar valganciklovīru, CMV infekcija reaktivējās vēlāk nekā pacientiem, kas to nesaņēma.
- Aktīva β -herpesvīrusu un BKV kombinācija pasliktina nieru transplantātu funkciju otrajā pusgadā pēc operācijas un veicina transplantātu bojāeju, bet neietekmē pacientu dzīvildzi.

4.1. Imūnsupresīvās terapijas ietekme uz BKV aktivāciju

Šajā pētījumā iekļautie pacienti saņēma četrkārtu imūnsupresīvo terapiju: indukcijas imūnsupresiju ar monoklonālām vai poliklonālām antivielām un trīskāršu uzturošo imūnsupresiju, kas sastāvēja no glikokortikoidiem, antiproliferatīviem medikamentiem un kalcineirīna inhibitoriem.

Aktīva BKV infekcija 12 mēnešu novērošanas periodā tika diagnosticēta 16 recipientiem, 13 no tiem tika atklāta gan BK virēmija, gan BK virūrija, bet trijiem recipientiem – tikai BK virūrija. Dažādos novērošanas posmos recipientu skaits ar aktīvu BKV infekciju bija atšķirīgs, līdz ar to arī pacientu skaits, kuriem imūnsupresīvā terapija tika koriģēta bija dažāds, tādēļ tās ietekme uz BKV aktivāciju tika analizēta atsevišķi pa novērošanas laika posmiem.

Otrajā nedēļā pēc nieru transplantācijas BKV aktivācija (gan BK virēmija, gan BK virūrija) konstatēta trijiem pacientiem. Imūnsupresīvo medikamentu devas šiem pacientiem bija tikai nedaudz lielākas nekā pacientiem bez BKV aktivācijas, un statistiski ticama to ietekme uz BKV aktivāciju netika novērota. Imūnsupresīvo medikamentu vidējās devas pacientiem ar BKV aktivāciju vai bez tās bija šādas:

- prednizolona deva: $21,6 \pm 5,7$ mg vs $20,6 \pm 3,7$ mg dienā, $p = \text{NS}$,
- MMF deva: 2000 ± 0 mg vs 1902 ± 253 mg dienā, $p = \text{NS}$,

- ciklosporīna A deva: 333 ± 76 mg vs 247 ± 75 mg dienā, $p = \text{NS}$, un līdz ar to ciklosporīna A līmenis asinīs bija 184 ± 13 vs 152 ± 61 ng/ml, $p = \text{NS}$.

Trīs mēnešus pēc transplantācijas BK virēmija diagnosticēta astoņiem pacientiem, un viņi bija saņēmuši nozīmīgi lielākas ciklosporīna A devas šajā laika periodā. Arī vidējais ciklosporīna A līmenis asinīs šiem pacientiem bija lielāks, bet starpība nebija statistiski ticama. Imūnsupresīvo medikamentu vidējās devas pacientiem ar BK virēmiju vai bez tās bija šādas:

- prednizolona deva: $9,6 \pm 1,6$ mg vs $9,8 \pm 1,3$ mg dienā, $p = \text{NS}$,
- MMF deva: 1812 ± 258 mg vs 1720 ± 386 mg dienā, $p = \text{NS}$,
- ciklosporīna A deva: 275 ± 82 mg vs 208 ± 53 mg dienā, $p = 0,01$, bet ciklosporīna A līmenis asinīs bija 157 ± 14 vs 140 ± 32 ng/ml, $p = \text{NS}$.

BK virūrija trīs mēnešus pēc transplantācijas atklāta 12 pacientiem, un arī viņi bija saņēmuši nozīmīgi lielākas ciklosporīna A devas, attiecīgi imūnsupresīvo medikamentu vidējās devas:

- prednizolona deva: $9,7 \pm 1,3$ mg vs $9,8 \pm 1,3$ mg dienā, $p = \text{NS}$,
- MMF deva: 1875 ± 226 mg vs 1686 ± 396 mg dienā, $p = \text{NS}$,
- ciklosporīna A deva: 275 ± 63 mg vs 200 ± 50 mg dienā, $p < 0,001$, bet ciklosporīna A līmenis asinīs bija 153 ± 14 vs 139 ± 34 ng/ml, $p = \text{NS}$.

Sešus mēnešus pēc transplantācijas BK virēmija konstatēta deviņiem pacientiem, un tā bija statistiski ticami saistīta ar lielākām ciklosporīna A devām šajā laikā. Imūnsupresīvo medikamentu vidējās devas pacientiem ar BK virēmiju un bez tās bija šādas:

- prednizolona deva: $6,9 \pm 2,4$ mg vs $6,7 \pm 2,1$ mg dienā, $p = \text{NS}$,
- MMF deva: 1857 ± 243 mg vs 1653 ± 435 mg dienā, $p = \text{NS}$,
- ciklosporīna A deva: $293 \text{ mg} \pm 86$ vs 200 ± 46 mg dienā, $p < 0,001$, bet ciklosporīna A līmenis asinīs bija 145 ± 53 vs 128 ± 33 ng/ml, $p = \text{NS}$.

BK virūrija šajā laika periodā diagnosticēta 15 recipientiem, un viņi bija saņēmuši statistiski ticami lielākas divu imūnsupresīvo medikamentu - MMF un ciklosporīna A devas, attiecīgi:

- prednizolona deva: $6,8 \pm 2,2$ mg vs $6,7 \pm 2,1$ mg dienā, $p = \text{NS}$,
- MMF deva: 1923 ± 187 mg vs 1581 ± 446 mg dienā, $p = 0,01$,
- ciklosporīna A deva: 265 ± 77 mg vs 196 ± 49 mg dienā, $p = 0,001$, bet ciklosporīna A līmenis asinīs bija 139 ± 49 vs 128 ± 31 ng/ml, $p = \text{NS}$.

Deviņus mēnešus pēc transplantācijas BK virēmija atklāta deviņiem pacientiem, bet tai nebija nozīmīgas saistības ar tajā laikā saņemto imūnsupresiju.

Attiecīgi vidējās medikamentu devas pacientiem ar BK virēmiju vai bez tās bija šādas:

- prednizolona deva: $5,5 \pm 3,0$ mg vs $5,1 \pm 2,3$ mg dienā, $p = \text{NS}$,
- MMF deva: 1777 ± 263 mg vs 1634 ± 436 mg dienā, $p = \text{NS}$,
- ciklosporīna A deva: 242 ± 83 mg vs 204 ± 55 mg dienā, $p = \text{NS}$, un līdz ar to ciklosporīna A līmenis asinīs bija 114 ± 40 vs 129 ± 38 ng/ml, $p = \text{NS}$

BK virūrīja šajā laika periodā konstatēta 15 pacientiem un tika novērots, ka viņi bija saņēmuši gandrīz statistiski ticami lielākas MMF un ciklosporīna A devas. Imūnsupresīja pacientiem ar BK virūrīju vai bez tās bija šāda:

- prednizolona deva: $5,7 \pm 3,0$ mg vs $4,9 \pm 2,1$ mg dienā, $p = \text{NS}$,
- MMF deva: 1846 ± 240 mg vs 1584 ± 442 mg dienā, $p = 0,05$,
- ciklosporīna A deva: 250 ± 79 mg vs 194 ± 43 mg dienā, $p = 0,07$, bet ciklosporīna A līmenis asinīs bija 114 ± 40 vs 129 ± 38 ng/ml, $p = \text{NS}$.

Divpadsmit mēnešus pēc transplantācijas BK virēmija persistēja pieciem pacientiem, un viņiem šajā laikā bija statistiski nozīmīgi lielākas prednizolona un ciklosporīna A devas, attiecīgi vidējās medikamentu devas pacientiem ar BK virēmiju un bez tās bija šādas:

- prednizolona deva: $6,5 \pm 2,8$ mg vs $3,5 \pm 2,6$ mg dienā, $p = 0,02$,
- MMF deva: 1750 ± 288 mg vs 1609 ± 438 mg dienā, $p = \text{NS}$,
- ciklosporīna A deva 316 ± 57 mg vs 191 ± 53 mg dienā, $p < 0,001$, bet ciklosporīna A līmenis asinīs bija 102 ± 25 vs 120 ± 30 ng/ml, $p = \text{NS}$.

BK virūrīja šajā laika periodā vēl saglabājās 13 pacientiem, un viņiem tikai ciklosporīna A devas bija statistiski nozīmīgi lielākas nekā pacientiem bez BK virūrījas:

- prednizolona deva: $4,4 \pm 2,9$ mg vs $3,5 \pm 2,6$ mg dienā, $p = \text{NS}$,
- MMF deva: 1791 ± 257 mg vs 1555 ± 462 mg dienā, $p = \text{NS}$,
- ciklosporīna A deva: 236 ± 80 vs 187 ± 49 mg dienā, $p = 0,02$, bet ciklosporīna A līmenis asinīs 109 ± 33 vs 122 ± 28 ng/ml, $p = \text{NS}$.

4.2. Imūnsupresīvās terapijas ietekme uz BKNV attīstību

BKNV diagnosticēja 7 no 46 (15%) pacientiem, kuri tika novēroti 12 mēnešus. Šajā pētījumā nenovēroja statistiski ticamu atšķirību BKNV attīstības biežumā pacientiem, kam tika lietoti dažādi indukcijas imūnsupresijas medikamenti. Trīs no 46 (6,5%) pacientiem saņēma poliklonālās antivielas (*ATG-Fresenius*) indukcijas imūnsupresijai, un vienam no viņiem attīstījās BKNV, diviem – neattīstījās (1 no 7 (14 %) vs 2 no 39 (5 %), $p = 0,39$). Monoklonālās antivielas indukcijas imūnsupresijai saņēma 43 pacienti: *Basiliximab* (*Simulect*)

saņēma 28 pacienti, *Daclizumab* (*Zenapax*) – 15 pacienti. BKNV tika novērota pieciem no 28 (18 %) pacientiem *Basiliximab* grupā un vienam no 15 (6%) pacientiem *Daclizumab* grupā ($p = 0,403$).

Uzturošajā imūnsupresijā pacienti saņēma prednizolonu kombinācijā ar vienu no antiproliferatīvajiem medikamentiem un vienu no kalcineirīna inhibitoriem.

Prednizolona deva neietekmēja BKNV attīstību pirmajā pusgadā pēc NT, bet otrajā pusgadā pacienti, kam attīstījās BKNV, bija saņēmuši statistiski ticami lielākas prednizolona devas (14. tab.).

14. tabula. Prednizolona devas pacientiem ar BKNV vai bez tās

		2 ned. pēc NT	3 mēn. pēc NT	6 mēn. pēc NT	9 mēn. pēc NT	12 mēn. pēc NT
Ar BKNV	Pac. skaits (n)	7	7	7	7	5
	Deva	22,1 ± 2,7	9,6 ± 0,9	7,5 ± 2,5	7,1 ± 3,0	5,7 ± 2,7
Bez BKNV	Pac. skaits (n)	39	39	39	38	30
	Deva	20,6 ± 4,2	9,9 ± 1,4	6,6 ± 2,0	4,8 ± 2,2	3,5 ± 5,7
<i>T-test</i> (p)		0,3	0,7	0,3	0,02	0,05

Uzturošajā imūnsupresijā gan pacienti ar BKNV, gan bez BKNV no antiproliferatīvajiem medikamentiem saņēma MMF vai azatioprīnu. Pirmo mēnesi pēc NT visi pacienti saņēma MMF un tā deva lielākajai daļai (86 %) pacientu bija 2 g dienā. Pēc trijiem mēnešiem vienam pacientam leukopēnijas dēļ MMF tika atcelts, un viņam visā turpmākā pētījuma gaitā netika novērota ne BKNV, ne kāda β -herpesvīrusa aktivācija. Pēc pusgada MMF vairs nesaņēma četri pacienti, un diviem (vienam BKNV grupā, otram bez BKNV) no viņiem tas tika aizstāts ar azatioprīnu devā 100 mg dienā. Divi pacienti, kam bija diagnosticēta BKNV, MMF saņēma reducētā devā – 1500 mg dienā. Pēc deviņiem mēnešiem vēl vienai pacientei ar BKNV MMF deva tika reducēta uz 1500 mg dienā. Pirmā gada beigās četri no septiņiem pacientiem ar BKNV saņēma MMF 1500 mg dienā, divi – 2000 mg dienā un viens – azatioprīnu 100 mg dienā. Arī daļai pacientu, kam neattīstījās BKNV, gada laikā tika reducētas MMF devas. Tas tika darīts leukopēnijas vai gastrointestinālo blakņu dēļ. Tomēr bija vērojama tendence, ka pacienti, kam attīstījās BKNV, gada laikā saņēma lielākas MMF devas nekā pacienti, kam neattīstījās BKNV (15. tab.).

15. tabula. MMF devas pacientiem ar BKVN vai bez tās

		2 ned. pēc NT	3 mēn. pēc NT	6 mēn. pēc NT	9 mēn. pēc NT	12 mēn. pēc NT
Ar BKVN	Pac. skaits (n)	7	7	6	6	6
	Deva	1928 ± 188	1857 ± 242	1833 ± 258	1750 ± 418	1666 ± 408
Bez BKVN	Pac. skaits (n)	39	38	36	36	36
	Deva	1890 ± 272	1714 ± 382	1662 ± 433	1650 ± 426	1615 ± 449
<i>T-test (p)</i>		0,7	0,3	0,3	0,6	0,7

Uzturošajā imūnsupresijā no kalcineirīna inhibitoriem pacienti saņēma ciklosporīnu A vai takrolimu. Vairums (96 %) pacientu pirmajā mēnesī saņēma ciklosporīnu A, bet divi pacienti jau divas nedēļas pēc NT tika ārstēti ar takrolimu, jo viņiem iepriekš bija diagnosticēta akūta III pakāpes treme. Pēc trim mēnešiem takrolimu saņēma trīs pacienti, un diviem no viņiem tālākā pētījuma gaitā attīstījās BKVN. Sestajā mēnesī pēc NT vienam pacientam, kam attīstījās BKVN, takrolims tika aizvietots ar ciklosporīnu A, bet viņam atkārtoti attīstījās akūta II pakāpes treme un viņš turpmāk atkal saņēma takrolimu. Takrolima vidējā deva pacientiem ar BKVN bija $3,6 \pm 0,5$ mg dienā, bet pacientam bez BKVN 4 mg dienā ($p = \text{NS}$). Pacienti, kam pētījuma laikā attīstījās BKVN, bija saņēmuši statistiski ticami lielākas ciklosporīna A devas nekā pacienti, kam BKVN neattīstījās (16. tab.).

16. tabula. Ciklosporīna A devas pacientiem ar BKVN vai bez tās

		2 ned. pēc NT	3 mēn. pēc NT	6 mēn. pēc NT	9 mēn. pēc NT	12 mēn. pēc NT
Ar BKVN	Pac. skaits (n)	6	5	6	5	5
	Deva	308 ± 66	310 ± 41	300 ± 44	300 ± 70	270 ± 83
Bez BKVN	Pac. skaits (n)	38	36	35	35	35
	Deva	257 ± 56	205 ± 53	201 ± 52	198 ± 49	191 ± 53
<i>T-test (p)</i>		0,05	<0,001	<0,001	<0,001	0,007

Ciklosporīna A dažādās biopieejamības dēļ, tā līmenis asinīs pacientiem tika regulāri monitorēts. Visā pētījumā laikā ciklosporīna A līmenis asinīs bija atbilstošs Latvijas Transplantācijas centrā pieņemtajai uzturošās imūnsupresijas shēmai. Tomēr jau pirmajos trijos mēnešos pēc NT bija vērojama tendence, ka pacientiem, kam vēlāk attīstījās BKVN, ciklosporīna A līmenis asinīs bijā augstāks nekā pacientiem, kam BKVN neattīstījās. Sākot ar sesto pēctransplantācijas mēnesi, pacientiem ar diagnosticētu BKVN ciklosporīna A līmenis asinīs tika mērķtiecīgi samazināts. Tas redzams 20. tabulā: pacientiem ar BKVN deviņus un 12 mēnešus pēc NT ciklosporīna A līmenis asinīs bija zemāks nekā pacientiem bez BKVN, tomēr starpība nebija statistiski ticama.

17. tabula. Ciklosporīna A līmenis asinīs pacientiem ar BKVN vai bez tās

		2 ned. pēc NT	3 mēn. pēc NT	6 mēn. pēc NT	9 mēn. pēc NT	12 mēn. pēc NT
Ar BKVN	Pac. skaits (n)	6	5	6	5	5
	Deva	188 ± 29	161 ± 13	145 ± 61	103 ± 36	100 ± 18
Bez BKVN	Pac. skaits (n)	38	36	35	35	35
	Deva	159 ± 55	140 ± 32	129 ± 32	129 ± 38	121 ± 31
<i>T-test (p)</i>		0,2	0,1	0,3	0,1	0,1

Diviem pacientiem, kas pētījuma laikā kā trešo uzturošās imūnsupresijas komponentu saņēma sirolimu, BKVN neattīstījās.

Viens pacients no ceturtās pēctransplantācijas nedēļas saņēma divkāršu (prednizolons un MMF) uzturošo imūnsupresiju, un arī viņam BKVN neattīstījās.

Kopsavilkums

- BKV reaktivāciju visos laikos pēc transplantācijas noteica lielāka ciklosporīna A deva, bet otrajā pusgadā pēc transplantācijas ar biežāku BKV aktivāciju bija saistīta arī lielāka MMF un prednizolona deva.
- BKVN attīstību neietekmēja lietotā indukcijas imūnsupresija, bet biežāk BKVN attīstījās pacientiem, kas saņēma lielāku absolūto ciklosporīna A devu visu pirmo pēctransplantācijas gadu neatkarīgi no tā līmeņa asinīs un lielāku prednizolona devu otrajā pusgadā pēc transplantācijas.

Pētījuma retrospektīvās daļas datu analīze

5.1.. Nieres transplantācijas rezultāti pacientiem retrospektīvā grupā

Retrospektīvajā grupā tika iekļauts 131 pieaudzis nierēs transplantāta recipients. Lai iegūtu salīdzināmus rezultātus, arī retrospektīvās grupas pacientu novērošana tika turpināta divus gadus tāpat kā prospektīvās grupas pacientiem,.

Pirmā gada laikā retrospektīvajā grupā pārstāja funkcionēt 16 (12 %) nierēs transplantāti. Septiņi no tiem (5 %) gāja bojā pirmajā mēnesī pēc transplantācijas (viens – nierēs vēnas trombozes dēļ, trīs – smagas III pakāpes vaskulāras tremes dēļ un trīs – primāri nefunkcionējoši). Vēl četri transplantāti tika zaudēti pacienta nāves dēļ (trīs – kardiovaskulāru sarežģītumu dēļ, viens – akūtas hiperkaliēmijas dēļ), trīs – pacientu nepietiekamas līdzestības dēļ (nelietoja nozīmētos imūnsupresīvos medikamentus), viens – ķirurģisku sarežģītumu dēļ un viens – sepses dēļ. Līdz ar to viena gada transplantātu dzīvildze bija 88 %.

Otrā gada laikā tika zaudēti vēl 16 nierēs transplantāti. To bojāejas cēloņi bija šādi: septiņiem – pacientu nāve (divi no tiem bija melanomu metastazēšanās gadījumi), trijiem – smaga vēlīna akūta treme ar paralēli strauji attīstījušos hronisku transplantāta nefropātiju, diviem – tikai strauji attīstījusies hroniska transplantāta nefropātija, diviem – pacienta nepietiekama līdzestība un diviem – infekciozas komplikācijas (viens plaušu tuberkulozes recidīva gadījums, otrs recidivējošs transplantāta pielonefrīts). Līdz ar to divu gadu laikā bija zaudēti 32 nierēs transplantāti un divu gadu transplantātu izdzīvošana bija 76%. Gandrīz puse (7 no 16 (43 %)) transplantātu, kas tika zaudēti otrā gada laikā, bija pacientiem ar atkārtotu nierēs transplantāciju ($p < 0,01$), bet ne lietotajai indukcijas imūnsupresijai, ne atliktajai transplantāta funkcijai nebija ietekmes uz transplantātu dzīvildzi.

Transplantāti, kas netika zaudēti, funkcionēja labi: pēc gada vidējais kreatinīna līmenis asinīs bija $0,15 \pm 0,07$ mmol/l vai attiecīgi GFĀ $57,3 \pm 20,9$ ml/min, un pēc diviem gadiem vidējais kreatinīna līmenis asinīs $0,16 \pm 0,1$ mmol/l vai attiecīgi GFĀ $52,4 \pm 25,1$ ml/min. Gada laikā urostāze bija diagnosticēta 14(12%) pacientiem, bet hroniska transplantāta nefropātija attīstījusies 57 (49 %) pacientu.

Pacientu dzīvildze retrospektīvajā grupā bija laba: kā jau iepriekš minēts, pirmā gada laikā tika zaudēti četri pacienti. Tātad viena gada pacientu dzīvildze bija 96 %. Otrā gada laikā nomira vēl septiņi pacienti, un līdz ar to divu gadu pacientu dzīvildze bija 91 %.

5.2. Prospektīvās un retrospektīvās pacientu grupas salīdzinājums

Pētījuma prospektīvajā un retrospektīvajā daļā iekļauto pacientu dati bija līdzīgi (18. tab.).

18. tabula. Pētījuma prospektīvās un retrospektīvās daļas pacientu grupas dati

	Prospektīvā grupa (n = 50)	Retrospektīvā grupa (n = 131)	<i>Fisher's Exact (p)</i>
Vecums (gadi)	46,2 ± 13,8 (22 – 72)	46,4 ± 12,1 (18 – 75)	NS
Dzimums (vīrieši/ sievietes)	26 / 24 (52 % / 48 %)	71 / 60 (54 % / 45 %)	NS
ĶMI (kg/m ²)	24,9 ± 5,01	24,6 ± 4,5	NS
Pamatdiagnoze:			
Hronisks glomerulonefrīts	18 (36 %)	56 (40,9 %)	NS
Hronisks intersticiāls nefrīts	13 (26 %)	20 (15,2 %)	NS
Diabētiska nefropātija	6 (12 %)	18 (13,7 %)	NS
Nieru policistoze	7 (14 %)	21 (16 %)	NS
Hipertensīva nefropātija	4 (8 %)	8 (6,1 %)	NS
Sistēmas sarkanās vilkēdes nefrīts	1 (2 %)	4 (3,1 %)	NS
Neprecizēta hroniska nieru slimība	1 (2 %)	6 (4,6 %)	NS
Atkārtota transplantācija	9 (18 %)	28 (21,4 %)	NS

Imūnsupresīvā terapija, kas tika nozīmēta abās pētījuma daļās iekļautajiem pacientiem, bija līdzīga. 2005. – 2006. gadā saskaņā ar Transplantācijas centrā pastāvošo imūnsupresijas shēmu, 19 retrospektīvās grupas pacienti nesaņēma indukcijas imūnsupresiju, bet no 2007. gada indukcijas imūnsupresija tika nozīmēta pilnīgi visiem recipientiem, tāpēc arī prospektīvās grupas pacienti procentuāli biežāk saņēma indukcijas imūnsupresiju ar *Zenapax* (19. tab.).

19.tabula. Imūnsupresīvā terapija prospektīvās un retrospektīvās grupas pacientiem

	Prospektīvā grupa (n = 50)	Retrospektīvā grupa (n = 131)	<i>Fisher's Exact (p)</i>
Indukcija ar <i>Simulect</i>	30 (57,7 %)	69 (52,7 %)	NS
Indukcija ar <i>Zenapax</i>	17 (32,7 %)	24 (18,3 %)	0,03
Indukcija ar ATG	3 (6 %)	19 (14,5 %)	NS
Nebija indukcijas	0	19 (14,5 %)	< 0,01
Ciklosporīns	40 (80 %)*	115 (87 %)*	NS
Takrolims	3 (4 %)*	4 (3 %)*	NS
MMF	42 (84 %)*	111 (84 %)*	NS
Azatioprīns	2 (4 %)*	3 (2,3 %)*	NS
Sirolims	2 (4 %)*	8 (6,1 %)*	NS

*Pacientu skaits, kas attiecīgo medikamentu saņem pirmā gada beigās

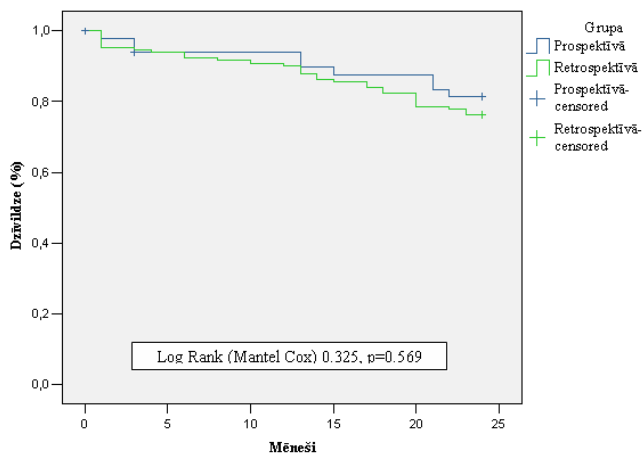
Lai gan indukcijas imūnsupresija abām pētījuma grupām atšķīrās, atlikto transplantāta funkciju gadījumu skaits abās grupās bija vienāds, un pirmajā gadā pēc transplantācijas neatšķīrās arī akūtas tremes biežums. Pirmā gada beigās lielākam skaitam retrospektīvās grupas pacientu bija attīstījušās hroniskas izmaiņas transplantātā, bet atšķirība nebija nozīmīga. Arī transplantāta funkcija retrospektīvās grupas pacientiem bija nedaudz sliktāka, bet ne statistiski ticami (20.tab.).

20. tabula. Klīniskie transplantācijas rezultāti prospektīvās un retrospektīvās grupas pacientiem

	Prospektīvā grupa (n = 50)	Retrospektīvā grupa (n = 131)	<i>Fisher's Exact (p)</i>
Atlikta funkcija	11 (22 %)	22 (16,8 %)	NS
Akūta treme gada laikā	24 (48 %)	68 (52 %)	NS
Steroīdu rezistenta treme	9 (18 %)	16 (12,2 %)	NS
Urostāze	5 (10 %)	14 (12 %)	NS
Hroniska transplantāta nefropātija	19 (38 %)	57 (43 %)	NS
Kreatinīns asinīs (mmol/l) pēc viena gada	0,13 ± 0,05	0,15 ± 0,07	NS
GFĀ (ml/min) pēc viena gada	63,6 ± 20,5	57,3 ± 20,9	NS
Kreatinīns asinīs (mmol/l) pēc diviem gadiem	0,13 ± 0,03	0,16 ± 0,1	NS
GFĀ (ml/min) pēc diviem gadiem	63,0 ± 17,3	52,4 ± 25,1	NS

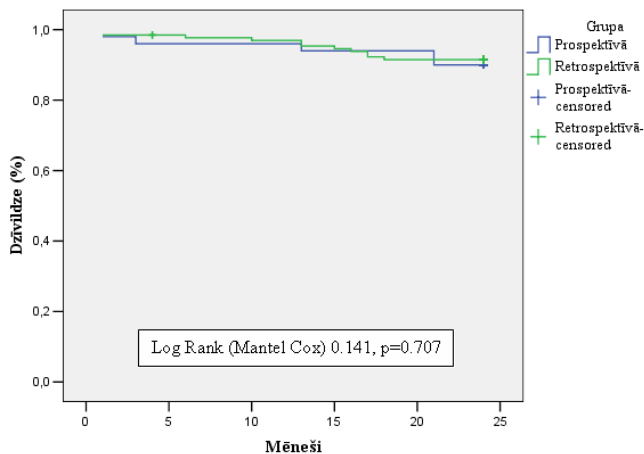
Prospektīvajā un retrospektīvajā pētījuma grupā nierēs transplantātu viena gada dzīvildze bija attiecīgi 92 % un 88 %, bet divu gadu – 80 % un 76 %, ($p = \text{NS}$) (9. att.).

9. attēls. Transplantātu dzīvildze pētījuma prospektīvajā un retrospektīvajā grupā



Pacientu viena gada dzīvildze bija 96 % abās grupās, bet divu gadu – 90% prospektīvajā un 91 % retrospektīvajā pētījuma grupā ($p = \text{NS}$) (10. att.).

10. attēls. Pacientu dzīvildze pētījuma prospektīvajā un retrospektīvajā grupā



Kopsavilkums

- Prospektīvās un retrospektīvās grupas pacientiem demogrāfiskie dati un klīniskie transplantācijas rezultāti statistiski ticami neatšķīrās, lai gan prospektīvajā grupā vairāk pacientu saņēma indukcijas imūnsupresiju.
- Transplantātu funkcija un dzīvildze retrospektīvajā grupā bija sliktāka nekā prospektīvajā grupā, lai gan ne statistiski ticami, bet pacientu dzīvildze abās grupās bija vienāda.
- Regulāra aktīvas BKV un β -herpesvīrusu infekciju monitorēšana palīdz izvēlēties piemērotāku uzturošo imūnsupresiju un uzlabot nieres transplantātu funkciju un dzīvildzi.

DISKUSIJA

BK vīrusa infekcija pēc nieres transplantācijas ir kļuvusi par daudzu pētnieku intereses objektu, jo laikus nediagnosticējot un neārstējot to, attīstās BKVN un tai seko nieres transplantāta disfunkcija un zudums. Turklāt aktīva BKV infekcija vairumā gadījumu attīstās pirmā gada laikā pēc transplantācijas un, tai progresējot, nieres transplantāts nākamajos pāris gados iet bojā. Pētījumi desmit gadu garumā ir parādījuši, ka BKVN attīstību un transplantātu bojāeju ir iespējams novērst, ja aktīva BKV infekcija tiek diagnosticēta agrīni un ārstēta.

Šajā pētījumā aktīva BKV infekcija ar PQR metodi tika diagnosticēta 16 no 46 (35%) pacientiem, kam tā mērķtiecīgi un regulāri pirmo pēctransplantācijas gadu tika meklēta. BK virūrija ir pirmā aktīvas vīrusu replikācijas pazīme. Virūrija citoloģiskajā izmeklēšanā tika diagnosticēta 13 no 46 (28 %) pacientiem, bet ar PQR metodi – visiem 16 pacientiem. Tendence, ka ar citoloģiskajām metodēm tiek diagnosticēts mazāk virūrijas gadījumu nekā ar molekulārajām metodēm, sakrīt ar citu autoru datiem, jo vīrusa genoma DNS noteikšana urīnā ir jutīgāka metode nekā maldinātājšūnu diagnostika. Pētījumos tiek ziņots, ka maldinātājšūnas urīnā var atrast 12 – 16 % nieres transplantātu recipientu, bet virūrijas sastopamības biežums, nosakot to ar PQR, vidēji ir 30 – 35 % . Šajā pētījumā maldinātājšūnas, iespējams, tika diagnosticētas nedaudz biežāk, jo tās tika mērķtiecīgi meklētas un atbilde tika traktēta kā pozitīva, ja tika atrastas arī tikai pāris maldinātājšūnas, bet citu autoru darbos par pozitīvu tika uzskatīta atrade vismaz ar 10 maldinātājšūnām preparātā. Turpinoties aktīvai BKV infekcijai, virūrijai pievienojas virēmija. Virēmija ar PQR metodi gada laikā tika diagnosticēta kopumā 13 no 46 (28%) pacientiem. Līdzīgu BK virēmijas sastopamību – 10 – 30 % – diagnosticējuši arī citi pētnieki. Pastāv uzskats, ka 50 % pacientu, kam virēmija attīstīsies pirmā gada laikā, tā tiek diagnosticēta jau pirmajos trijos pēctransplantācijas mēnešos. Šajā pētījumā astoņiem no 13 pacientiem (61 %), kam tika diagnosticēta virēmija, tā jau

bija trešajā pēctransplantācijas mēnesī, un tas norāda uz tādu pašu BKV infekcijas attīstības gaitu kā citos transplantācijas centros.

2006. gada beigās, plānojot šī pētījuma prospektīvo daļu, bija atklāts jautājums par BKV infekcijas transmisiju no donora recipientam līdzīgi, kā tas ir CMV infekcijas gadījumā. Pirms tam *Bohl et al.* publicētā pētījumā, izmantojot ELISA metodi, antivielas pret poliomas BK vīrusu tika diagnosticētas 67 % nierēs donoru. Poliomas BK vīrusa infekcija attīstījās 46 % recipientu, kas bija saņēmuši nieres transplantātu no BK seropozitīva donora, un 15 % recipientu, kas bija saņēmuši nieres transplantātu no BK seronegatīva donora ($p = 0,007$). Turklāt sešiem no 20 recipientu pāriem, kuros abiem recipientiem, kas bija saņēmuši allotransplantātus no viena un tā paša donora, saskaņoti attīstījās BKV infekcija un tika atrastas vienas un tās pašas vīrusa genoma sekvences urīnā un asinīs. Tas norādīja uz iespējamo BKV infekcijas izcelsmi no donora. Tāpēc arī šajā pētījumā tika nolemts testēt donoru asins plazmas paraugus, meklējot BKV DNS genoma sekvences. Tomēr nevienam no 27 pētījuma ietvaros pārbaudītajiem donoriem BK virēmija netika konstatēta. Tas norāda uz BKV pētnieku vidū vairāk atbalstīto hipotēzi, ka BKV latentī persistē nieru epitēlijšūnās un reaktivējas tikai spēcīgas imūnsupresijas apstākļos. Šajā pētījumā tika novēroti trīs recipientu pāri, kuros abiem pacientiem, kas bija saņēmuši transplantātus no viena donora, vienlaikus diagnosticēja aktīvu BKV infekciju. Tomēr tikai vienam recipientam no katra pāra attīstījās BKVN: pirmajā pārī vienam pacientam BK virūrija neprogresēja par BK virēmiju, otrajā pārī vienam pacientam BK virēmija pastāvēja mazāk nekā trīs mēnešus un transplantāts funkcionēja labi, un trešajā pārī viens pacients nomira trešajā pēctransplantācijas mēnesī plaušu trombembolijas dēļ. Šis novērojums savukārt apliecina, ka aktīvas BKV infekcijas un BKVN attīstību nenosaka tikai donora faktori.

Līdz šim atklātie BK virūrijas, virēmijas un BKVN attīstības riska faktori ir dažādi. Par galveno riska faktoru tiek minēta pārāk intensīva imūnsupresija. Šajā pētījumā neizdevās konstatēt kādu statistiski ticami nozīmīgu riska faktoru. BKVN biežāk attīstījās pacientiem, kam uzturošās imūnsupresijas shēmā bija iekļauts takrolims ($p = 0,05$, OR 15,2), pacientiem, kam bija liekais svars ($p = 0,07$, OR 15,2), un tiem, kas nesaņēma CMV infekcijas profilaksi ar valganciklovīru ($p = 0,08$, OR 5,6). Citu autoru darbos par BKVN riska faktoru ir minēta atsevišķu imūnsupresijas medikamentu (takrolima vai MMF) vai to iekļaušana imūnsupresijas shēmās, bet šajā pētījumā palielināts ĶMI varētu pastarpināti norādīt uz intensīvāku imūnsupresiju, jo līdz ar to tiek nozīmētas lielākas kalcineirīna inhibitoru devas. Savukārt nesaņemtā CMV infekcijas profilakse ar valganciklovīru kā riska faktors BKVN attīstībai būtu saistāms ar CMV infekcijas netiešajiem efektiem uz nieres transplantātu un recipientu, tā imunomodulējošo

iedarbību. Tas apstiprinās arī pētījuma sadaļā par β -herpesvīrusu un BKV mijiedarbību: sestajā pēctransplantācijas mēnesī aktīva CMV infekcija bija statistiski ticami saistīta ar BK virēmiju, respektīvi, CMV, mainot saimnieka imūno atbildes reakciju, provocē BKV infekcijas reaktivāciju. Līdzīga iedarbība uz BKV reaktivāciju varētu būt abiem pārējiem β -herpesvīrusiem, HHV-6 un HHV-7. Tie vairojoties recipienta T limfocītos, samazina recipienta cellulārās imunitātes spēju kontrolēt BKV replikāciju un veicina BKV reaktivāciju. Iespējams, tāpēc pētījuma otrajā nedēļā aktīva HHV-6 un HHV-7 infekcija bija saistīta ar aktīvu BKV infekciju ($p = 0,03$ HHV-6 infekcijai un $p = 0,04$ aktīvai HHV-7), devītajā mēnesī aktīva HHV-6 – ar BK virēmiju ($p = 0,04$) un BK virūrīju ($p = 0,002$) un 12. mēnesī aktīva HHV-7 infekcija – ar BK virēmiju ($p = 0,03$) un BK virūrīju ($p = 0,04$). Šajā pētījumā tika novērots, ka aktīvas β -herpesvīrusu un BKV infekcijas kombinācija otrajā pusgadā pēc transplantācijas ievērojami pasliktina transplantātu funkciju un HHV-6 un BKV vienlaicīga infekcija veicina nieres transplantātu bojāeju ($p = 0,002$). Šādi dati iepriekš nav novēroti un publicēti.

Poliomas BK vīrusa nefropātija tiek diagnosticēta 1 – 10 % nieres transplantātu recipientu. Par šādu incidenci ziņoja pētnieki, kad BKVN diagnoze tika balstīta tikai uz morfoloģisko atradi. Tā kā BKVN raksturīgs fokāls bojājums un negatīva biopsijas atrade neizslēdz BKVN esamību, kopš 2005. gada tiek lietota „ticamas” BKVN diagnoze, kā to ieteica H. H. Hiršs (*H. H. Hirsch*) ar līdzautoriem žurnālā *Transplantation* publicētajās rekomendācijās. „Ticamas” BKVN diagnozi nosaka, balstoties uz atkārtotas vai ilgstošas (angl. *sustained*) virēmijas atradi, turklāt par ilgstošu dažos pētījumos tiek dēvēta trīs mēnešus, dažos – vienu mēnesi pastāvoša virēmija. Šajā pētījumā BKVN diagnozi noteicām septiņiem no 46 (15%) pacientiem, kuriem visiem bija klīniskās un laboratoriskās pazīmes, ko varētu definēt arī kā „ticamu” BKVN, un pieciem no viņiem, t.i., 10 %, BKVN raksturīgās pazīmes bija atrastas arī morfoloģiski. Tātad šajā pētījumā morfoloģiski apstiprinātā BKVN incidence sakrīt ar citu autoru datiem. Četriem no septiņiem pacientiem BKVN diagnoze tika noteikta sešus mēnešus pēc transplantācijas, un trijiem no septiņiem pacientiem – 12 mēnešus, t.i., vidēji astoņus ar pusi mēnešus pēc transplantācijas. Šajā pētījumā vidējais kreatinīna līmenis serumā, diagnosticējot BKVN, bija 0,18 (0,14 – 0,24) mmol/l. Citi autori ziņo gan par lielāku kreatinīna līmeni serumā, gan par mazāku. Piemēram, *Weiss et al.* 2008. gadā publicētajā pētījumā, kurā tika iekļauti pacienti, kam transplantācija veikta 21.gadsimta sākumā, biopsijā pierādīta BKVN tika atklāta 35 no 917 (3,8%) pacientiem vidēji 15 mēnešus pēc transplantācijas un viņiem vidējais seruma kreatinīns BKVN diagnosticēšanas brīdī bija 2,5 mg/dl. Savukārt *Faquer et al.* darbā, kurā BKVN tika diagnosticēta vidēji sešus mēnešus pēc nieres

transplantācijas, vidējais kreatinīna līmenis serumā bija 189 (92 – 265) $\mu\text{mol/l}$, kas saskan ar promocijas darba pētījuma rezultātiem.

Sekmīgi izārstēt BKNV, kad tā jau ir izpaudusies ar transplantāta disfunkciju, izdodas 25 – 50% gadījumu atkarībā no bojājuma pakāpes. Turklāt transplantāta disfunkcija ar paaugstinātu seruma kreatinīnu var būt arī akūtas tremes izpausme, bet terapija abos gadījumos ir pretēja: akūtas tremes gadījumā imūnsupresija ir jāpalielina, bet BKNV – jāsamazina. Lai BKNV nediagnosticētu tikai tad, kad ir pasliktnājusies transplantāta funkcija, jāveic BKNV priekšvēstneša – aktīvas BKNV infekcijas skrīnings. Rekomendētās aktīvas BKNV infekcijas skrīninga shēmas ir dažādas. No šajā pētījumā lietotas aktīvas BKNV infekcijas monitorēšanas shēmas var secināt, ka noteikt BK virūriju un virēmiju reizi trijos mēnešos ir pārāk reti, jo tikai pieciem no 13 (38 %) pacientiem pirms virēmijas tika diagnosticēta virūrija, bet astoņiem no 13 (62%) pacientiem virēmija un virūrija tika diagnosticēta vienlaikus. Iespējams, ja virūrija tiktu noteikta reizi mēnesī, pacientus, kam ir risks attīstīties virēmijai, varētu identificēt agrāk, jo, kā novērots citos pētījumos virūrija parādās vidēji četras nedēļas pirms virēmijas. No nelietderīgas asins analīžu veikšanas var izvairīties, skrīnējot urīna paraugus, jo virūrija gandrīz vienmēr pastāv pirms virēmijas.

Optimālākā BKNV terapijas taktika joprojām ir atklāts jautājums. Tomēr pēdējos gados vairums pētnieku pievienojas uzskatam, ka BKNV ārstēšana ar uzturošās imūnsupresijas reducēšanu ir jāsāk pirms morfoloģisko izmaiņu attīstības, tātad diagnosticējot "ticamu" BKNV. Līdzīgi kā CMV infekcijas gadījumā, šāda terapijas taktika tiek saukta par preemtīvo terapiju: regulāri tiek monitorēta vīrusa DNS parādīšanās plazmā, un, to diagnosticējot, CMV infekcijas gadījumā tiek nozīmēts pretvīrusu medikaments, bet BKNV infekcijas gadījumā tiek uzsākta imūnsupresijas reducēšana. Par preemtīvās terapijas veiksmīgu lietošanu ir ziņojuši vairāki autori. Preemtīvā terapija ir arī ekonomiski pamatota, jo nauda, kas tiek iztērēta virusoloģisko analīžu veikšanai, pēc tam tiek ietaupīta, nozīmējot reducētas uzturošās imūnsupresijas medikamentu devas. Tas tika apstiprināts arī *Smith et al.* veiktajā pētījumā. Promocijas darba pētījuma laikā diviem pacientiem ar „ticamu” BKNV tika veikta imūnsupresijas reducēšana (abiem reducētas prednizolona devas, vienam – MMF deva, otram – takrolīma deva), bet abiem pacientiem transplantāta funkcija turpināja pasliktnāties (kreatinīna līmenis asinīs BKNV diagnosticēšanas brīdī bija 0,14 un 0,15 mmol/l , pēc diviem gadiem – 0,17 un 0,18 mmol/l). Tomēr arī šajā pētījumā astoņiem no 13 (61%) pacientiem, kam bija diagnosticēta BK virēmija, pēc imūnsupresijas reducēšanas gada beigās BK virēmija bija izzudusi.

Pētījumu rezultāti par BKNV infekcijas ietekmi uz nieru transplantātu dzīvildzi ir dažādi. Vecākos pētījumos transplantātu dzīvildze bija sliktāka,

piemēram, 1999. gadā publicētā *Binett et al.* pētījumā – 20 % un *Randhawa et al.* pētījumā – 37 %, bet, uzlabojoties aktīvas BKV infekcijas un BKVN diagnostikas stratēģijai, ir uzlabojusies arī transplantātu dzīvildze, piemēram, 2008. gadā *Weiss et al.* pētījumā transplantātu viena gada dzīvildze pēc BKVN diagnosticēšanas bija 72,4 %, bet 2010. gadā *Hardinger et al.* pētījumā piecu gadu transplantātu dzīvildze pacientiem ar BK virēmiju – 83 %. Promocijas darba pētījumā prospektīvajā grupā kopējā viena gada transplantātu dzīvildze bija 92 %, tika zaudēti četri no 50 transplantātiem, taču neviens no tiem netika zaudēts BKVN dēļ. Tomēr kopējā divu gadu transplantātu dzīvildze bija 80%, jo transplantāti ar BKVN tika zaudēti šajā laikā. Ja atsevišķi izdala pacientus, kam kaut reizi bija diagnosticēta BK virēmija ($n = 13$) un BKVN ($n = 7$), otrā gada laikā divi no viņiem zaudēja transplantātu BKVN dēļ, bet viena pacients ar BKVN mira ar funkcionējošu transplantātu. Līdz ar to šajā pētījumā divu gadu transplantātu dzīvildze bija 10 no 13 (77 %) pacientiem ar BK virēmiju un četriem no septiņiem (57 %) pacientiem ar BKVN. Mūsu pētījumā transplantātu zudums bija lielāks, iespējams, mazāk agresīvas imūnsupresijas mazināšanas dēļ, piemēram, MMF deva tika mazināta no 2 g dienā uz 1,5 g, nevis 1 g dienā kā citos pētījumos, vai arī pārāk vēlu sāktas imūnsupresijas mazināšanas dēļ. Tā tika uzsākta, ja BK virēmija bija diagnosticēta vismaz divas reizes ar trīs mēnešu intervālu vai biopātātā tika atrastas BKVN raksturīgās citopātiskās izmaiņas. Uz to, ka šajā pētījumā imūnsupresijas reducēšana bija pārāk saudzīga, norāda rezultātu līdzība ar *Ramos et al.* 2002. gadā publicētā pētījuma datiem. Tajā pēc BKVN diagnostikas 52 no 67 pacientiem tika reducēta imūnsupresija, bet 15 no 67 tā netika mainīta un vidēji pēc 12,6 novērošanas mēnešiem transplantātu zudums bija astoņi no 52 (15 %) grupā, kam tika reducēta imūnsupresija, un trīs no 15 (20 %) grupā, kam netika mainīta imūnsupresija ($p = 0,07$). Šie dati sakrīt ar mūsu pētījuma retrospektīvās grupas datiem, kurā, nemonitorējot aktīvas vīrusu infekcijas un nemainot imūnsupresiju, transplantātu zudums pēc viena un divu gadu novērošanas bija attiecīgi 12% un 24%.

Savukārt pacientu dzīvildzi BKV infekcija neietekmē, tāpēc tikai retajā pētījumā par to tiek ziņots. Mūsu pētījumā kopējā viena gada pacientu dzīvildze bija 96 % un divu gadu – 90 %. Izdalot atsevišķi, pacientiem ar BKVN divu gadu dzīvildze statistiski ticami neatšķīrās no pacientiem bez BKVN, respektīvi, tā bija 86 % un 95 % ($p = 0,38$). *Hardinger et al.* pētījumā piecu gadu kopējā pacientu dzīvildze bija 91 %, bet salīdzinot grupas ar BK virēmiju vai bez tās, pacientiem ar BK virēmiju dzīvildze bija sliktāka – 73 % vs 92 % ($p = 0,04$).

Tāpat kā jebkurai citai, arī mūsu pētījumam bija nepilnības. Tās galvenokārt bija saistītas izmeklēšanas metodēm, kas 2007. un 2008. gadā Latvijā nebija pieejamas. Pirmkārt, BK virūrija un virēmija tika diagnosticēta kvalitatīvi,

nevis kvantitatīvi, bet arī citiem autoriem nav vienota viedokļa par to, cik liela vīrusu slodze asinīs un urīnā ir saistīta ar BKVN attīstību. Otrkārt, nieres transplantātu biopātos gaismas mikroskopijā atrastās citopātiskās izmaiņas netika apstiprinātas imūnhistokīmiski. Treškārt, imūnsupresijas reducēšana notika individuāli, bet jāatzīmē, ka tā bija mūsu pirmā pieredze BKV infekcijas izraisītu komplikāciju diagnostikā un terapijā.

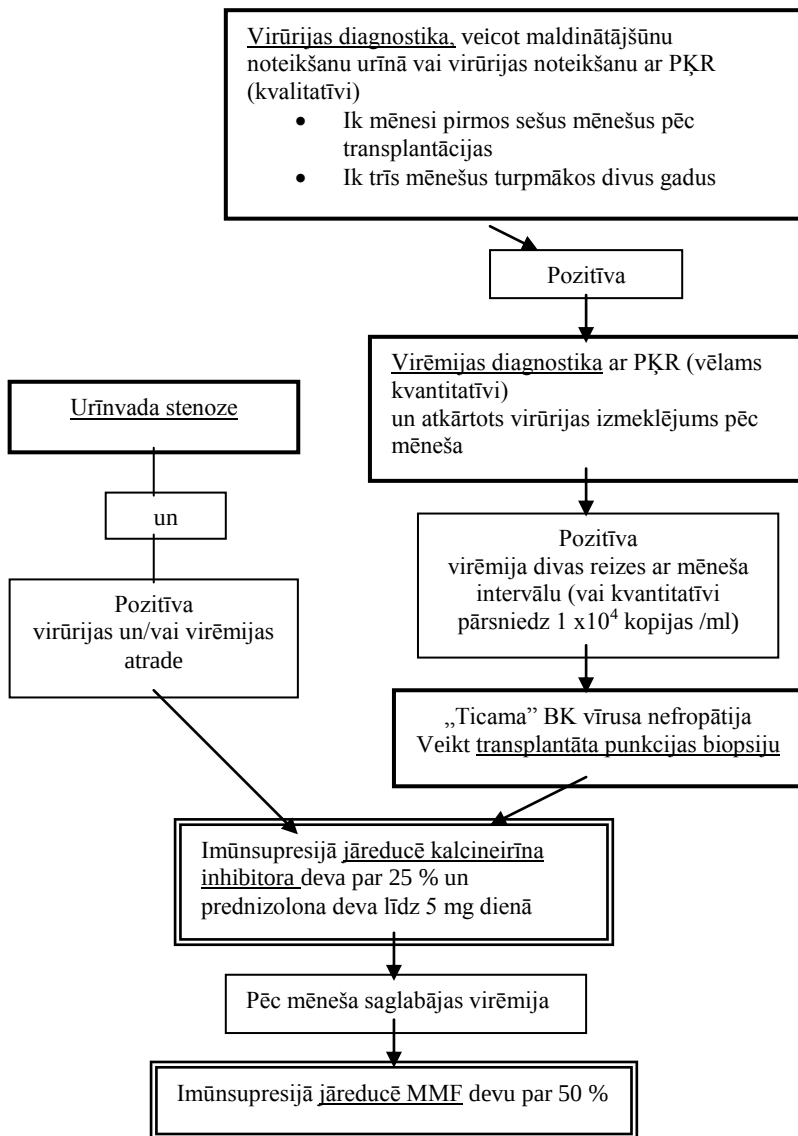
SECINĀJUMI

1. Aktīva poliomas BK vīrusa infekcija pirmajā gadā pēc nieres transplantācijas tika atklāta 35 % pacientu. Veicot urīna citoloģisku izmeklēšanu, BK virūrija atklāta retāk nekā ar polimerāzes ķēdes reakcijas metodi.
2. Poliomas BK vīrusa nefropātija pirmajā gadā pēc nieres transplantācijas diagnosticēta 15 % pacientu. Šiem pacientiem tika novērota ievērojami sliktāka transplantātu funkcija un īsāka transplantātu dzīvildze. Gandrīz puse (42 %) transplantātu ar BK vīrusa nefropātiju tika zaudēti otrajā gadā pēc operācijas, un pacientiem bija jāatsāk dialīze.
3. Aktīva poliomas BK vīrusa infekcija
 - nieru donoriem asinīs netika diagnosticēta;
 - recipientiem vienlaicīgi ar aktīvu β -herpesvīrusu infekciju ir sastopama vidēji 17 % gadījumu, un tā negatīvi ietekmē transplantāta funkciju.
4. Indukcijas imūnsupresija neietekmēja poliomas BK vīrusa aktivāciju un poliomas BK vīrusa nefropātijas attīstību. No uzturošās imūnsupresijas medikamentiem lielākai absolūtai ciklosporīna A devai pirmā gadā garumā bija nozīme poliomas BK vīrusa aktivācijā un poliomas BK vīrusa nefropātijas attīstībā. Otrajā pusgadā pēc transplantācijas lielāka MMF deva sekmēja poliomas BK vīrusa aktivāciju un lielāka prednizolona deva – poliomas BK vīrusa nefropātijas attīstību.
5. Retrospektīvās grupās pacientiem, kam netika regulāri monitorētas aktīvas BK vīrusa un β -herpesvīrusu infekcijas, novērota sliktāka transplantātu funkcija un dzīvildze. Veicot regulāru aktīvas BKV un β -herpesvīrusu infekciju diagnostiku un izvēloties piemērotāku uzturošo imūnsupresiju, uzlabojas nieres transplantātu funkcija un dzīvildze, un līdz ar to paaugstinās pacientu dzīves kvalitāte.

PRAKTISKĀS REKOMENDĀCIJAS

- Aktīva BK vīrusa infekcija jāuzskata par aktuālu pēctransplantācijas komplikāciju izraisītāju, un pirmos divus gadus pēc nieres transplantācijas tās skrīnings jāveic visiem pacientiem.
- Par pirmo skrīninga metodi jāizvēlas BK virūrijas diagnostiku citoloģiskajā izmeklēšanā vai vīrusa DNS noteikšanu urīnā ar polimerāzes ķēdes reakciju reizi mēnesī pirmos sešus mēnešus pēc transplantācijas un turpmāk reizi trijos mēnešos līdz otrā pēctransplantācijas gada beigām. Ja virūrijas atrade ir pozitīva, pēc mēneša jāveic vīrusa DNS noteikšana urīnā un plazmā (vēlams kvantitatīva).
- „Ticamas” BK vīrusa nefropātijas diagnoze nosakāma, ja virēmija divos mērījumos ar viena mēneša intervālu ir pozitīva (vai kvantitatīvi pārsniedz 1×10^4 kopijas/ml). Diagnosticējot „ticamu” BK vīrusa nefropātiju, jāveic transplantāta punkcijas biopsija, ņemot divus nieres audu paraugus no dažādām transplantāta vietām, un jāsāk imūnsupresijas reducēšana pēc shēmas neatkarīgi no tā, vai biopsijā apstiprinās poliomas BK vīrusa nefropātijas diagnoze.
- Imūnsupresijas reducēšana „ticamas” BKVN diagnozes gadījumā jāsāk ar kalcineirīna inhibitoru devas reducēšanu par 25 % neatkarīgi no to līmeņa asinīs un prednizolona devas samazināšanu līdz 5 mg dienā. Ja virēmija saglabājas vēl pēc viena mēneša, MMF deva jāreducē par 50 %.
- Pacienti ar diagnosticētu urīnvada stenozi un vienu pozitīvu virūrijas vai virēmijas atradi ar polimerāzes ķēdes reakcijas metodi jāsāk imūnsupresijas reducēšana pēc iepriekš minētās shēmas (11. att.).

11. attēls. Aktīvas BK infekcijas skrīninga un terapijas shēma



PROMOCIJAS DARBU ATSPoguĻOJOŠĀS PUBLIKĀCIJAS

- Ziedina I, Folkmane I, Chapenko S, Murovska M, Sultanova A, Jushinskis J, Rozental R. Reactivation of BK Virus in the Early Period After Kidney Transplantation. *Transplantation Proceedings* 2009, 41: 766-768.
- Chapenko S, Folkmane I, Ziedina I, Chistyakovs M, Rozentals R, Krumina A, Murovska M. Association of HHV-6 and HHV-7 reactivation with the development of chronic allograft nephropathy. *Journal of Clinical Virology* 2009; 46(1): 29-32
- Ziediņa I., Čapenko S., Folkmane I., Murovska M., Čistjakovs M., Jušinskis J., Rozentāls R. Herpesvīrusu, parvovīrusa B19 un poliomas BK vīrusa infekcija nieres transplantātu donoriem *Rīgas Stradiņa universitātes Zinātniskie raksti* 2009: 22-27.
- Ziediņa I., Čapenko S., Folkmane I., Sultanova A., Murovska M., Jušinskis J., Rozentāls R. Poliomas-BK vīrusa un beta-herpesvīrusu reaktivācija pēc nieres transplantācijas. *Rīgas Stradiņa universitātes Zinātniskie raksti* 2008: 81-86.
- Ziediņa I., Čapenko S., Folkmane I., Sultanova A., Murovska M., Rozentāls R. Poliomas-BK vīrusa un citomegalovīrusa vienlaicīga infekcija pacientiem ar hronisku transplantāta nefropātiju. *Rīgas Stradiņa universitātes Zinātniskie raksti* 2007: 39-43.

ZIŅOJUMI PAR DARBA REZULTĀTIEM

- Ziedina I, Folkmane I, Chapenko S, Murovska M, Sultanova A, Jushinskis J, Rozental R. Polyoma BK virus in kidney transplant recipients. *Final programme & abstract book of the 10th Baltic Nephrology Conference*, 2010, O, Abstract book: 2.
- Ziedina I, Chapenko S, Folkmane I, Jushinskis J, Murovska M, Rozental R. Co-infection of Polyoma BK virus and β -herpesviruses in Kidney Transplant Recipients. *Abstracts of the Scandinavian Transplantation Society XXV Congress*, 2010, O-30, Abstract book: 54.

- Ziedina I, Chapenko S, Folkmane I, Jushinskis J, Suhorukov V, Murovska M, Rozental R. Association of induction immunosuppression with viral infections and kidney graft function. *Abstracts of 9th International Conference on New Trends in Immunosuppression & Immunotherapy* 2010, P-86, Abstract book: 47.
- Ziediņa I., Folkmane I., Čapenko S., Murovska M., Jušinskis J., Rozentāls R. Herpesvīrusu, parvovīrusa B19 un poliomas BK vīrusa infekcija nierēs transplantātu donoriem. *RSU Zinātniskā konference* 2009, Tēzes 92. lpp.
- Folkmane I, Chapenko S, Kozireva S, Ziedina I, Rozentals R, Murovska M. Prevalence of blood-borne viral infection among renal transplant donors. *Abstracts of 5th ETCO meeting. Organs, Tissues & Cells* 2009, 12(1): 61.
- Ziedina I, Folkmane I, Chapenko S, Murovska M, Sultanova A, Jushinskis J, Rozental R. Reactivation of BK Virus in Early Period After Kidney Transplantation. *The Scandinavian Transplantation Society XXIV congress*, 2008, P-43, Abstract book: 72.
- Folkmane I, Ziedina I, Rozental R, Chapenko S, Murovska M. Impact of early beta-herpesviruses infection activation on chronic allograft nephropathy development. *Clinical Virology annual Meeting* 2008, P5-08, Abstract book: 40.
- Ziediņa I., Folkmane I., Čapenko S., Murovska M., Sultanova A., Jušinskis J., Rozentāls R.. Poliomas BK vīrusa un beta-herpesvīrusu reaktivācija agrīnā periodā pēc nierēs transplantācijas. *RSU Zinātniskā konference* 2008, Tēzes 122. lpp.
- Ziedina I, Chapenko S, Folkmane I, Sultanova A, Murovska M, Rozental R. Co-infection of Poliovirus-BK and Cytomegalovirus in Renal Transplant Recipients with Chronic allograft Nephropathy. *RSU Zinātniskā konference* 2007, Tēzes 168. lpp.