



RĪGAS STRADIŅA
UNIVERSITĀTE

Anna Popova

ORCID 0000-0002-3916-4040

Imūnglobulīna A nefropātijas
progresijas risks: B šūnu
diferenciācijas un zarnu mikrobioma
nozīme slimības attīstībā

Promocijas darba kopsavilkums zinātnes doktora grāda
“zinātnes doktors (*Ph. D.*)” iegūšanai

Nozaru grupa – medicīnas un veselības zinātnes

Nozare – klīniskā medicīna

Apakšnozare – internā medicīna

Rīga, 2026

Promocijas darbs izstrādāts Rīgas Stradiņa universitātē, Paula Stradiņa Klīniskajā universitātes slimnīcā, Latvijā

Promocijas darba vadītājas:

Dr. med. asociētā profesore **Viktorija Kuzema**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Iekšējīgo slimību katedra, Latvija

Dr. med. profesore **Juta Kroiča**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Bioloģijas un mikrobioloģijas katedra, Latvija

Oficiālie recenzenti:

Dr. med. profesore **Natalja Kurjāne**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Bioloģijas un mikrobioloģijas katedra, Latvija

Dr. med. **Jelīzaveta Sokolovska**,
Latvijas Universitāte, Medicīnas un Dzīvības zinātņu fakultāte

Dr. med. profesors **Ivan Rychlik**,
Kārļa Universitāte (*Univerzita Karlova*), Iekšējīgo slimību katedra, Čehija

Promocijas darbs tiks aizstāvēts klīniskās medicīnas promocijas padomes atklātā sēdē 2026. gada 2. februārī plkst. 11.00 Borisa Tetereva auditorijā, Anniņmuižas bulvārī 26A, Rīgas Stradiņa universitātes Medicīnas izglītības tehnoloģiju centrā

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU tīmekļa vietnē:
<https://www.rsu.lv/promocijas-darbi>



Šis pētījums tika izstrādāts ar Doktora studiju grantu atbalstu



Latvijas Zinātnes padome

Šis pētījums tika izstrādāts ar FLPP atbalstu lzp-2019/1-0139
“Zarnu disbakteriozes un B šūnu mijiedarbības nozīme
imūnglobulīna A nefropātijas patogēnēzē”

Promocijas padomes sekretāre:

Ph. D. asistente **Dana Kigitoviča**

Satura rādītājs

Darbā izmantotie saīsinājumi	4
Ievads	5
Darba mērķis.....	6
Darba uzdevumi.....	6
Darba hipotēzes	6
Darba novitāte.....	6
1. Materiāli un metodes	8
1.1. Pacientu raksturojums	8
1.2. Klīniskie laboratorijas testi	9
1.3. IgA+ plazmablastu diferenciācijas analīze	9
1.4. Zarnu mikrobioma analīze	10
1.5. Statistiskā analīze	11
2. Rezultāti.....	13
2.1. Nieru dzīvildze un ar to saistītie klīniskie un histoloģiskie riska faktori.....	13
2.2. Prognoze par nieru funkcijas pasliktināšanos, izmantojot Cox regresiju un starptautisko IgAN prognozes kalkulatoru	17
2.3. B šūnu aktivācijas ceļi IgAN pacientiem	18
2.4. Zarnu mikrobioma raksturojums IgAN pacientiem	22
3. Diskusija.....	27
Secinājumi	37
Priekšlikumi	38
Publikāciju, ziņojumu un patentu saraksts par promocijas darba tēmu.....	39
Literatūras un avotu saraksts	41
Pateicības	46

Darbā izmantotie saīsinājumi

aGFĀ	aprēķinātais glomerulārās filtrācijas ātrums
ACEI	angiotensīnu konvertējošā enzīma inhibitori
ARB	angiotensīna II receptoru blokatori
ASC	antivielas sekretējošās šūnas
C	pusmēneši
DAS	diastoliskais asinsspiediens
DN	dubulti negatīvās
DNS	dezoksiribonukleīnskābe
E	endokapilāra infiltrācija
EDTA	etilēndiamīntetraetiķskābe
FDR	viltus atklājumu līmenis
Gd-IgA1	galaktozes deficīta IgA1
HC	veselie kontroles grupas dalībnieki
HNS	hroniska nieru slimība
ICC	iekšklases korelācijas koeficients
IgAN	imūnglobulīna A nefropātija
IlgANPT	Starptautiskais IgAN prognozes kalkulators
ĶMI	ķermeņa masas indekss
LPS	lipopolisaharīdi
M	mezangija hipercelularitāte
NP	neprogresējošā slimības gaita
P	progresējošā slimības gaita
PBMC	perifēro asiņu mononukleārās šūnas
S	segmentāla skleroze
SAS	sistoliskais asinsspiediens
T	intersticiāla fibroze / tubulāra atrofija
TLR	<i>Toll</i> tipa receptori
TNM	termināla nieru mazspēja
Tregs	regulatorās T-šūnas
UPCR	urīna proteīna un kreatinīna attiecība

Ievads

Francijas patoloģs Dr. Žans Beržē (*Jean Berger*) kopā ar kolēģi Dr. Nikolu Hinglē (*Nicole Hinglais*) 1968. gadā pirmoreiz aprakstīja imūnglobulīna A nefropātiju (IgAN) kā nieru slimību, ko raksturo glomerulāri “starpkapilāru IgA-IgG depozīti” (Berger & Hinglais, 1968). Nieru histoloģiskajā izmeklēšanā atklāj dominējošus IgA glomerulārus depozītus, izmantojot imūnfluorescenci; bieži vien tos pavada mezangija šūnu proliferācija un mezangija matricas palielināšanās. IgAN ir biežākais glomerulonefrīta veids daudzās valstīs un joprojām nozīmīgs hroniskas nieru slimības (HNS) un terminālas nieru mazspējas cēlonis (Rajasekaran et al., 2021). Ģeogrāfiskās izplatības atšķirības un ģenētiski determinētas galaktozes deficīta IgA1 (Gd-IgA1) īpašības uzsver vides un ģenētikas iespējamās ietekmes nozīmi IgAN attīstībā (Du et al., 2023).

IgAN klīniski var izpausties dažādi: epizodiska makrohēmaturija, izmaiņas urīna analīzēs, nefrītiskais sindroms, nefrotiskais sindroms un strauji progresējošs glomerulonefrīts. Klīniskā gaita var būt dažāda, bet vidēji 30–40 % pacientu attīstās termināla nieru mazspēja 20–30 gadu laikā pēc diagnozes noteikšanas, kā arī slimība var recidivēt nieres transplantātā (Lai et al., 2016). Tā kā slimības prognoze atšķiras atkarībā no tās izpausmēm, 2019. gadā tika izstrādāts Starptautiskais IgAN prognozes kalkulators (IIgANPT). Tas integrē klīniskus datus, histopatoloģiskas izmeklēšanas rezultātus, biopsijas brīdī saņemtu ārstēšanu, lai ģenerētu individuālu slimības progresijas risku un veicinātu kopīgu lēmumu pieņemšanu (Barbour et al., 2019). IIgANPT validācija notika dažādās etniskajās grupās, atklājot atšķirīgus rezultātus. Līdz 2021. gadam tas bija validēts tikai neeiropiešu kohortās: Ķīnas-Argentīnas (Zhang et al., 2020) un Korejas kohortās (Hwang et al., 2021).

Saskaņā ar pierādījumiem IgAN tiek uzskatīta par dažādu patogēno faktoru kombinācijas rezultātu, nevis konkrētas cēloņsakarības izpausmi. Palielināta cirkulējoša polimēra Gd-IgA1 klātbūtne un O-glikāna specifisko antivielu ražošana veicina IgA1 saturošu imūnkompleksu veidošanos. Šo kompleksu nogulsnešanās mezangijā izraisa iekaisumu un noved pie glomerulu bojājuma (Yeo et al., 2018). B šūnām ir centrālā nozīme patoģenēzē, jo ražo gan Gd-IgA1, gan antivielas pret tām (Scionti et al., 2022). Tomēr pastāv būtiskas nepilnības izpētē par B šūnu aktivācijas un diferenciācijas ceļiem, kas izraisa patogēno IgA antivielu sekrēciju IgAN gadījumā. Atsevišķos pētījumos ir aprakstīti B šūnu aktivācijas aspekti, tostarp regulējošo B šūnu skaita samazināšanās (Wang et al., 2014), samazināta plazmablastu un nepārslēgto B šūnu proporcija, ilgdzīvojošo plazmas šūnu skaita palielināšanās perifērajā asinsritē (Sendic et al., 2021) un *Toll* tipa receptora 7 (TLR) ekspresijas palielināšanās cirkulējošās B šūnās (Zheng et al., 2020). Tomēr B šūnu aktivācijas ceļu izpēte joprojām ir nepilnīga un nav iekļauta vispārējā IgAN etiopatogēnēzes mehānismā.

Aizvien vairāk pierādījumu liecina par nozīmīgu saikni starp zarnu gļotādas sistēmu un IgAN. Genoma pētījumos ir identificētas vairākas IgAN riska alēles, kas korelē ar imūno reakciju pret zarnu patogēniem, IgA sintēzi zarnās, zarnu epitēlija barjeras integritāti un iekaisīgām zarnu slimībām (Rehnberg et al., 2021). Interesanti, ka vienā šķērsriezuma pētījumā atklātas zarnu mikrobiotas profila variācijas indivīdiem ar progresējošu IgAN (Kirylyuk et al., 2014). Lai gan zarnu jutība pret dažādiem gļotādas antigēniem ir dokumentēta IgAN gadījumā, pašlaik nav nekādu pierādījumu, kas apstiprinātu noteiktas diētas klīnisko efektivitāti (Pei & Guo, 2025). Tomēr ir pierādīta mērķa atbrīvošanas budesonīda iedarbība, kas atbrīvo aktīvo zāļu vielu distālajā līkumainajā zarnā, īpaši mērķējot uz Peijera plātnītēm, kur galvenokārt tiek ražots IgA un jo īpaši Gd-IgA1 (Barratt, Lafayette, Kristensen et al., 2023).

Darba mērķis

Pētījums veikts, lai novērtētu slimības progresijas risku pacientiem ar IgAN, analizētu B šūnu diferenciāciju un zarnu mikrobiomu kā iespējamus faktorus slimības patoģenēzē.

Darba uzdevumi

Promocijas darba mērķa sasniegšanai izvirzīti šādi uzdevumi:

1. Novērtēt IgAN pacientu nieru dzīvildzi, nosakot 50 % nieru funkcijas samazināšanos vai terminālās nieru mazspējas attīstības risku piecu gadu laikā.
2. Salīdzināt iegūtos nieru dzīvildzes rādītājus ar aprēķinātu riska prognozi, izmantojot Starptautisko IgAN prognozes kalkulatoru (IIgANPT).
3. Analizēt B-šūnu diferenciācijas izmaiņas IgAN pacientu grupā.
4. Raksturot un salīdzināt zarnu mikrobioma sastāvu un funkcionālos ceļus pacientiem ar IgAN un veseliem kontroles indivīdiem.

Darba hipotēzes

1. IIgANPT precīzi atspoguļo nieru funkcijas pasliktināšanās risku pacientiem ar IgAN, un to var lietot Latvijas populācijā.
2. Izmaiņas B-šūnu diferenciācijas procesos un zarnu mikrobioma sastāvā var veicināt IgAN attīstību.

Darba novitāte

Pašlaik IgAN diagnozes noteikšanai ir nepieciešama nieru biopsija un materiāla mikroskopija, izmantojot imūnfluorescences metodi. Latvijā šīs slimības diagnostika ir pieejama kopš 2013. gada, un šajā darbā ir apkopoti dati par glomerulonefrīta gaitu, klīniskajām izpausmēm vai prognozi, kas būtu specifiski Latvijas iedzīvotājiem. Ir labi zināms, ka IgAN izplatība un klīniskā izpausme atšķiras atkarībā no reģiona un etniskās piederības.

Pēc IIgANPT izstrādes un publikācijas tas tika validēts dažādās valstīs, un mēs novērtējām tā piemērojamību Latvijas pacientu kohortā.

Mehānismi, kas ir atbildīgi par mezangiālo IgA1 nogulsņēšanos un turpmāko nieru bojājumu, joprojām nav pilnībā izprasti. Meklējot iespējamās patoģenēzes faktorus, mūsu pētījumu grupa atklāja iepriekš nezināmu B šūnu aktivācijas ceļu, kas ir pastiprināts pacientiem ar IgAN. Tas ir saistīts ar patogēno IgA sekrēciju – IgA ekspresējošo plazmablastu diferenciāciju caur CD21+ B šūnu starpproduktu, kam trūkst klasiskā atmiņas B šūnu marķiera CD27. IgA+CD27-CD21+ B šūnu biežums korelē ar lipopolisaharīda (LPS) līmeni serumā, kas liecina par gļotādas iesaistīšanos to aktivācijā. Šis ceļš paver iespējas turpmākai izpētei, lai identificētu biomarkierus un terapeitiskos mērķus IgAN ārstēšanā. Šos atklājumus var integrēt IgAN daudzfaktoru patoģenēzes modelī.

Saskaņā ar iepriekšējiem pētījumiem par zarnu mikrobioma izmaiņām IgAN pacientiem nav konstatētas konsekvantas nozīmīgas atšķirības konkrētu baktēriju daudzumā. Mūsu pētījumā sviestskābes (butirāta) ražojošās baktērijas (*Butyrococcus* un *Agathobacter rectalis*) bija mazāk izplatītas IgAN pacientiem nekā veseliem kontroles grupas dalībniekiem, kā arī bija samazināta sulfohinovozes degradācijas I ceļa aktivitāte, kurā šīs baktērijas ir iesaistītas. Šie rezultāti liecina par potenciālu virzienu turpmākai izpētei, piemēram, intervences pētījumam, lai novērtētu butirāta kā uztura bagātinātāja ietekmi uz IgAN norisi.

Pētot mikrobioma funkcionālos ceļus, mēs novērojām palielinātu nukleozīdu (adenozīna, guanozīna un inozīna) biosintēzi IgAN pacientiem, kas liecina par iespējamu saikni ar zarnu iekaisumu un intestinālās barjeras disfunkciju. Gd-IgA1 veidoja ievērojamu daļu no novērotajām metabolisma ceļu variācijām. Jāatzīmē, ka iepriekšējos pētījumos nav analizētas vielmāiņas ceļu atšķirības IgAN pacientiem ar progresējošu un neprogresējošu slimības gaitu. Mūsu pētījumā ceļi, kas bija bagātīgi pacientiem ar progresējošu nieru funkcijas pasliktināšanos, bija saistīti ar baktēriju fosfolipīdu sintēzi, kas liecina par adaptācijas procesu, lai uzlabotu baktēriju izdzīvošanu.

1. Materiāli un metodes

1.1. Pacientu raksturojums

Šis pētījums sastāv no trim daļām: pirmā (retrospektīvais kohortas pētījums) ir vērsta uz nieru dzīvildzes analīzi un tās prognozi; otrā (gadījumu-kontroles pētījums) ir vērsta uz B šūnu diferenciācijas ceļiem; trešajā (šķērsgriezuma pētījums ar prospektīvu kohortas komponenti) pētīta zarnu mikrobioma īpašības pacientiem ar IgAN. Pētījumā tika iekļauti pieaugušie cilvēki ar histoloģiski apstiprinātu IgAN diagnozi, kas tika atlasīti no nieru biopsijas reģistra Paula Stradiņa Klīniskajā universitātes slimnīcā Latvijā. Šis ir vienīgais nieru slimību centrs Latvijā, kas apstiprina IgAN diagnozi pieaugušajiem, tādēļ IgAN pacientu kohorta ir reprezentatīva Latvijas pieaugušajiem ar IgAN. Nieru paraugu patohistoloģiskā izmeklēšana tika veikta, izmantojot gaismas mikroskopiju, imūnfluorescenci un elektronmikroskopiju. Nieru biopsijas rezultāti tika analizēti saskaņā ar Oksfordas klasifikāciju (MEST-C skala): mezangiālā hipercelularitāte (M), endokapilārā infiltrācija (E), segmentālā skleroze (S), intersticiālā fibroze / tubulārā atrofija (T) un pusemēnešu esamība (C) (Trimarchi et al., 2017). Lēmumu par biopsijas veikšanu, kā arī ārstēšanas taktiku pieņēma ārstējošais ārsts, pamatojoties uz konkrētām indikācijām – nieru darbības traucējumiem vai izmaiņām urīna analīzē.

Nieru dzīvildze un IIgANPT validācija (Barbour et al., 2019) tika pētīta pieaugušajiem, kuriem no 2013. gada līdz 2019. gada 1. novembrim tika diagnosticēta IgAN. Nieru dzīvildze tika definēta kā glomerulārās filtrācijas ātrums (GFR) $> 15 \text{ ml/min./1,73 m}^2$ piecu gadu laikā pēc biopsijas. Prognozētais risks tika definēts kā risks aGFĀ samazināties par 50 % vai attīstīties terminālai nieru mazspējai, un to aprēķināja, izmantojot IIgANPT. Novēroto risku aprēķināja pēc Cox regresijas modeļa, ņemot vērā tos pašus parametrus, kas ir IIgANPT.

Lai pētītu zarnu mikrobioma īpašības un IgA+ B šūnu diferenciācijas mehānismus, no 2020. gada janvāra līdz 2022. gada decembrim tika iekļauti IgAN pacienti, kā arī pēc vecuma un dzimuma atbilstoši veseli brīvprātīgie. Veselajiem kontrolgrupas dalībniekiem (HC) bija vecumam atbilstoša nieru funkcija un netika konstatētas izmaiņas urīna analīzēs. Abu grupu dalībnieku izslēgšanas kritēriji bija grūtniecība, cukura diabēts, smaga orgānu disfunkcija, akūtas sirds un asinsvadu slimības, aknu slimības, zināmas akūtas vai hroniskas autoimūnas vai infekcijas slimības, imūndeficīts, ļaundabīgi audzēji, pārmērīga alkohola lietošana. Visi dalībnieki parakstīja informētās piekrišanas veidlapu par brīvprātīgu dalību pētījumā.

Līdz 2024. gada martam tika pārskatītas medicīniskās kartes, lai aprēķinātu aGFĀ samazināšanos novērošanas periodā. Pacienti ar progresējošo slimības gaitu tika definēti kā pacienti ar aGFĀ samazināšanos par vairāk nekā $5 \text{ ml/min./1,73 m}^2/\text{gadā}$, savukārt pacienti ar

neprogresējošo slimības gaitu bija tie, kuru aGFĀ samazinājums bija 5 ml/min./1,73 m²/gadā vai mazāks.

Ētikas komitejas atļauja. Retrospektīvie un prospektīvie pētījumi tika apstiprināti Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas Klīniskās pētniecības ētikas komitejā (apstiprinājuma Nr. 100118-10L un Nr. 191219-6L).

1.2. Klīniskie laboratorijas testi

Seruma kreatinīns, albumīns un kopējais holesterīns tika mērīts ar *Atellica CH* (Siemens Healthineers, Erlangen, Vācija). aGFĀ tika aprēķināts, izmantojot 2009. gada CKD-EPI kreatinīna formulu (datu analīzē pirms 2021. gada) un 2021. gada vienādojumu. Seruma IgA tika mērīts ar *Atellica NEPH 630* (Siemens Healthineers, Erlangen, Vācija). Proteinūrija tika noteikta pēc proteīna un kreatinīna attiecības (UPCR). Proteinūrijas novērtēšana tika veikta ar *Cobas Integra 400 Plus* (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Vācija). Eritrocītu skaits urīnā tika noteikts ar automatizētu urīna izmeklēšanas sistēmu *Atellica 1500* (Siemens Healthineers, Erlangen, Vācija). Pilna asins aina tika noteikta, izmantojot ar etilēndiamīntetraetiķskābi (EDTA) apstrādātus perifēros asins paraugus, izmantojot šūnu analīzes sistēmu *UniCel DxH* (Beckman Coulter, Miami, FL, ASV). Gd-IgA1 līmeni serumā mērīja, izmantojot ELISA komplektu (*Gd-IgA1 Assay Kit-IBL 30111694*, IBL International GmbH, Vācija), saskaņā ar ražotāja norādījumiem. Paraugi tika atšķaidīti 200 reizes ar piegādāto EIA buferu, lai iegūtu biomarkiera līmeni mērījumu diapazonā 1,56–100 ng/ml. LPS līmeni serumā noteica ar ELISA (*MyBioSource MBS702450*, San Diego, CA, ASV).

1.3. IgA+ plazmablastu diferenciācijas analīze

Perifēro asins mononukleāro šūnu (PBMC) izdalīšana un seruma savākšana

Perifērās asinis tika iegūtas no pētījuma dalībniekiem. Serums ar koagulācijas aktivatoru tika iegūts pēc centrifugēšanas un izmantots nekavējoties vai uzglabāts –80 °C temperatūrā. PBMC tika izolētas no heparinizētām asinīm, izmantojot blīvuma gradienta centrifugēšanu ar *Histopaque-1077* (Sigma-Aldrich, St. Louis, ASV). Pēc mazgāšanas ar RPMI-1640 (10 % teļa serums un 1 % penicilīna–streptomicīna) PBMC tika atkārtoti suspendētas saldēšanas vidē (90 % teļa serums un 10 % dimetilsulfoksīds) un pēc tam kriokonservētas. Visas laboratoriskās analīzes tika veiktas Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas (Rīga, Latvija) Apvienotajā laboratorijā.

Perifēro asiņu B šūnu imūnfenotipēšana, izmantojot plūsmas citometriju

Ar antivielām pret CD24, CD27, CD38 un IgD tika noteiktas šādas B šūnu populācijas: pārejas (CD24^{hi}CD38^{hi}), nobriedušās naivās (CD24^{int}CD38^{int}), aktivētās (CD24^{lo}CD38^{lo}) un kopējās atmiņas (CD24^{hi}CD38^{lo}) B šūnas, tostarp pārslēgtas (IgD^{neg}) un nepārslēgtas

(IgDpos), dubultnegatīvās (IgDnegCD27neg) B šūnas, preplazmablasti (CD24loCD38hi) un plazmablasti (CD27posCD38hi). Papildu analizē tika pētīta IgA, CD21, T-bet un Ki-67 ekspresija B šūnu apakšgrupās.

PBMC dzīvotspēja tika noteikta, izmantojot *LIVE/DEAD Fixable Near-IR Dead Cell Stain Kit* (Invitrogen, MA, ASV). Nespecifisku krāsošanu novērsa ar Fc receptoru bloķējošo reaģentu (*Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Vācija*). Šūnas inkubēja ar antivielām 40 minūtes 4 °C temperatūrā, pēc tam, divreiz mazgājot ar plūsmas citometrijas krāsošanas buferi (2 % teļa serums un 2 mM EDTA fosfāta buferšķīdumā), nepiesaistītās antivielas tika noņemtas un šūnas fiksētas ar fosfāta buferšķīdumu, kas saturēja 2 % formaldehīda. Intracelulārai un transkripcijas faktoru krāsošanai šūnas tika fiksētas, izmantojot *Foxp3/Transcription Factor Staining Buffer Set* (00-5523-00, *eBioscience*), un pēc tam inkubētas ar permeabilizācijas buferī atšķaidītām antivielām 50 minūtes 4 °C temperatūrā. Paraugi tika iegūti, izmantojot *Navios EX* plūsmas citometru (*Beckman Coulter, Inc., Brea, CA, ASV*), un analizēti ar *FlowJo* programmatūru (*BD Life Sciences*). Lai noteiktu Gd-IgA1 ekspresiju B šūnās, PBMC tika krāsotas ar *AlexaFluor 488* marķētu monoklonālo antivielu [Gd-IgA1 (KM55), IBL 30117066, *IBL Japan, Gunma, Japāna*], kas tika sagatavota ar *ReadyLabel Antibody Labeling Kit* (R10712, *Invitrogen, Waltham, MA, ASV*) vai ar izotipa kontroli (MAB0061, *R&D Systems, Minneapolis, MN, ASV*) 40 minūtes 37 °C temperatūrā. Lai novērtētu Gd-IgA1 ekspresiju plazmablastos, šūnas tika permeabilizētas, izmantojot *Foxp3/Transcription Factor Staining Buffer Set*, un krāsotas intracelulāri ar anti-Gd-IgA1 antivielu vai izotipa kontroli. Gan anti-Gd-IgA1, gan izotipa kontrole tika izmantota galīgajā koncentrācijā 67 µg/ml.

1.4. Zarnu mikrobioma analīze

Fēču paraugu savākšana, mikrobiālās dezoksiribonukleīnskābes (DNS) izolēšana un DNS bibliotēku sagatavošana. Fēču paraugi tika savākti divās alikvotēs, izmantojot sterilas, bufervielu nesaturošas savākšanas mēģenes. Katrs dalībnieks dokumentēja precīzu parauga savākšanas datumu un laiku. Pēc savākšanas paraugi tika sadalīti alikvotēs kriogēnās uzglabāšanas flakonos un uzglabāti –80 °C temperatūrā līdz analīzes veikšanai. Mikroorganismu DNS tika izolēta, izmantojot MGISP-960 automatizēto paraugu sagatavošanas sistēmu (*MGI Tech Co., Ltd., Wuhan, Ķīna*) un *MagPure Stool DNA LQ Kit* (*Angen Biotech Co., Ltd., Guangzhou, Ķīna*). DNS bibliotēkas sagatavošana tika veikta, izmantojot *MGIEasy Universal DNA Library Prep Kit* (*MGI Tech Co., Ltd., Wuhan, Ķīna*) saskaņā ar ražotāja instrukcijām. Sekvencēšana tika veikta uz *DNBSEQ-G400RS* platformas, izmantojot *DNBSEQ-G400RS* augstas caurlaidības spējas sekvencēšanas komplektu (PE150)

(MGI Tech Co., Ltd., Wuhan, Ķīna), nodrošinot vismaz 20 miljonus 150 bp pāra-gala nolasījumu uz paraugu. DNS daudzums un kvalitāte tika novērtēta, izmantojot *Qubit 2.0* fluorometru (*Thermo Fisher Scientific, Waltham, Masačūsetsa, ASV*) un *Agilent 2100 Bioanalyzer* sistēmu (*Agilent Technologies, Santaklēra, Kalifornija, ASV*).

1.5. Statistiskā analīze

Statistiskā analīze tika veikta, izmantojot *GraphPad Prism 9* (*La Jolla CA, ASV*), *IBM SPSS Statistics 22.0* un *26.0 0* (*IBM Corp., ASV*) un *R-Studio* versiju 4.0.1 (*R Core Team, 2020*): *R*: valoda un vide statistiskai datu apstrādei; *R Foundation for Statistical Computing, Vīne, Austrija*. Datu sadalījumu novērtēja, izmantojot normalitātes testus: Šapiro–Vilka testu un Q–Q grafikus. Normāli sadalītie dati tika izteikti kā vidējais $\pm$ standartnovirze (SD). Dati, kas nav normāli sadalīti, tika attēloti kā mediāna un starpkvartiļu diapazons. Normāli sadalītiem datiem tika izmantots neatkarīgu paraugu t-tests, savukārt datiem, kas neatbilda normālsadalījumam – Manna–Vitnija U tests. Korelācijas statistiskā nozīmīguma novērtēšanai tika izmantots Spīrmena rangu korelācijas koeficients. Rezultāti tika uzskatīti par statistiski ticamiem, ja $p < 0,05$.

Nieru dzīvildze tika analizēta, izmantojot Kaplana-Meijera metodi, un statistiskie salīdzinājumi tika veikti, izmantojot *log-rank* testu. Epizodes biežums uz vienu pacientu gadā tika aprēķināts divās pacientu grupās piecu gadu periodā: (1) tie, kas iekļauti Kaplana-Meijera analīzē, un (2) *Cox* regresijas modelī.

Lai salīdzinātu pētījuma pacientu datus ar IIgANPT, tika veiktas šādas analīzes:

1. Novērotais risks tika aprēķināts, izmantojot *Cox* regresijas modeli.
2. Iekšklases korelācijas koeficients tika izmantots, lai novērtētu IIgANPT prognožu un *Cox* regresijas rezultātu atbilstības pakāpi.
3. Atšķirības starp prognozēto un novēroto risku tika aprēķinātas un interpretētas šādi: negatīva atšķirība norādīja, ka IIgANPT prognozētais risks bija zemāks par novēroto risku, savukārt pozitīva atšķirība – ka IIgANPT prognozētais risks bija augstāks par novēroto.

Metagenomiskās sekvencēšanas datu kvalitātes novērtēšana tika veikta ar *fastp v0.20.0* (Chen et al., 2018), izmantojot noklusējuma parametrus, saglabājot tikai tos lasījumus, kas pēc apstrādes atbilda ≥ 100 bp garuma prasībām. Dalībnieku genoma lasījumi tika salīdzināti pret *Homo sapiens GRCh38* references genomu ar *Bowtie2 v2.3.5.1* (Langmead & Salzberg, 2012) un izslēdzot kartētos lasījumus. Taksonomiskā klasifikācija tika veikta ar *Kraken2 v2.0.8* (Wood et al., 2019), izmantojot uzticamības parametru 0,1 un balstoties uz Apvienoto cilvēka kuņģa-zarnu trakta genoma (*Unified Human Gastrointestinal Genome*) kolekciju

(Almeida et al., 2021). Funkcionālā profilēšana tika veikta ar HUMAnN 3.0 programmatūru (Beghini et al., 2021).

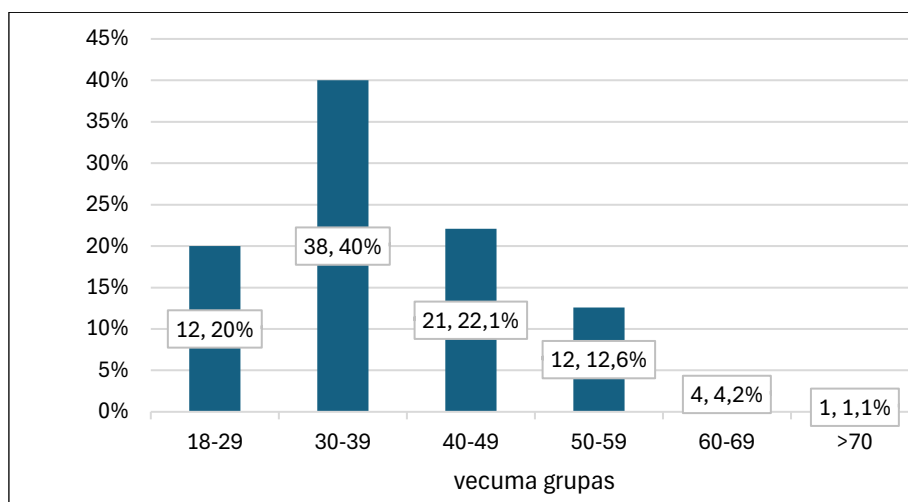
Statistiskā analīze baktēriju ģimenes, ģints un sugas taksonomiskajos līmeņos tika veikta, izmantojot mikrobioma analīzes programmu *phyloseq* v1.48.0 (McMurdie & Holmes, 2013). Sākotnēji tika izslēgti taksoni, kuri netika konstatēti nevienā no paraugiem, kā arī paraugi, kuros nebija neviena no atklātajiem taksoniem. Alfa daudzveidības indeksus aprēķināja, izmantojot *microbiome* v1.26.0 (Lahti & Shetty, 2012–2019) pakotni, un šie rādītāji tika izmantoti kā ievaddati Vilksoksona rangū summas testam (ggpubr v0.6.0 (Kassambara, 2023)) ar Benjamīna–Hohberga p vērtības korekciju. Paraugu un grupu līmeņa taksonu proporciju diagrammas tika izveidotas no proporcionāli transformētiem skaitļiem, izmantojot *MicrobiotaProcess* v1.16.1 (S. Xu et al., 2023) pakotni. Aišsiona attālums tika aprēķināts un vizualizēts galveno komponentu analīzes (PCA) diagrammā taksoniem, kuru izplatība pārsniedza 10 % sliekšni, izmantojot *MicroViz* v0.12.5 (Barnett et al., 2021) pakotni, lai parādītu beta daudzveidības rezultātus.

Nozīmīgo papildu mainīgo noteikšana tika veikta ar kanoniskās korespondences analīzes metodi un PERMANOVA testu, izmantojot *MicroViz* pakotni ar 99 999 permutācijām. Iegūtie nozīmīgie kovariāti tika iekļauti *MaAsLin2* v1.18.0 (Mallick et al., 2021) modeļa formulā. Tika izmantota negatīvās binomiālās analīzes metode ar iepriekš lietotu apgriezto vidējo normalizāciju bieži sastopamo taksonu noteikšanai. Pārējie parametri tika izmantoti pēc noklusējuma, izņemot taksonu izplatības sliekšņa palielināšanu no 10 līdz 33 % gadījuma–kontroles sugu līmeņa testā, lai samazinātu sporādisku rezultātu skaitu. Tā pati analīzes metodika tika piemērota funkcionālo izmaiņu izpētei. *MaAsLin2* noklusējuma viltus atklājumu rādītājs (FDR) ir $< 0,25$, un taksonu līmeņa rezultāti, kas ir zemāki par šo vērtību, mikrobioma pētījumos tiek uzskatīti par statistiski nozīmīgiem, taču vēl prasa turpmāku validāciju (Stewart et al., 2018). Attēli tika sagatavoti, izmantojot *ggplot2* v3.5.1 (Wickham, 2016) vai iepriekš norādītās pakotnes.

2. Rezultāti

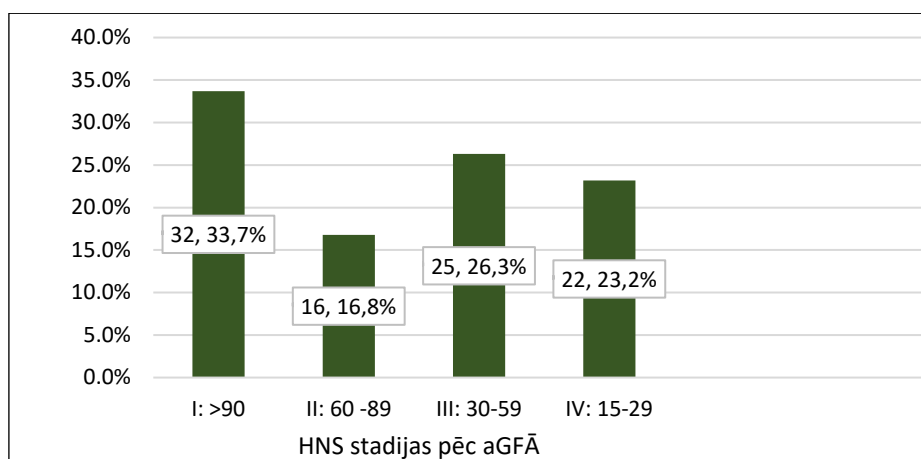
2.1. Nieru dzīvildze un ar to saistītie klīniskie un histoloģiskie riska faktori

No 2013. gada janvāra līdz 2019. gada novembrim 105 cilvēkiem tika noteikta IgAN diagnoze. No tiem 95 (90,5 %) tika iekļauti turpmākajā nieru dzīvildzes analīzē, bet 10 (9,5 %) tika izslēgti, jo biopsijas brīdī viņiem jau bija TNM ($\text{aGF}\bar{\text{A}} < 15 \text{ ml/min./1,73m}^2$). Iekļauto pacientu demogrāfiskās un klīniskās īpašības apkopotas 2.1. tabulā. Visi pacienti bija baltās rases pārstāvji ar vidējo vecumu $38,6 \pm 11,2$ gadi (diapazons: 18–72 gadi). Lielākā daļa pacientu (40 %) bija vecumgrupā no 30 līdz 39 gadiem (2.1. attēls).



2.1. attēls. IgAN pacientu sadalījums vecumgrupās

Nefrītiskais sindroms bija visbiežāk sastopamā IgAN izpausme, novērots 73,4 % pacientu. Tam sekoja kombinēts nefrotiskā un nefrītiskā sindroma veids, kam raksturīga nefrotiska proteinūrija un hematūrija (13,8 %), kā arī asimptomātiska gaita ar izmaiņām urīna analīzēs (11,7 %). Tikai vienam pacientam tika konstatēts nefrotiskais sindroms. Vidējā proteinūrija, mērīta ar UPCR, bija 1,2 g/g, bet $\text{aGF}\bar{\text{A}}$ svārstījās no 16 līdz 130 ml/min./1,73 m², ar vidējo vērtību 56 ml/min./1,73 m². Pacienti tika iedalīti HNS stadijās atkarībā no $\text{aGF}\bar{\text{A}}$ (2.2. attēls). Normāls $\text{aGF}\bar{\text{A}}$ ($> 90 \text{ ml/min./1,73 m}^2$) ar patoloģiskām izmaiņām urīna analīzē tika novērots 32 pacientiem (33,7 %), savukārt 47 pacientiem (49,5 %) bija vidēji smags vai smags nieru funkcijas samazinājums ($\text{aGF}\bar{\text{A}} < 60 \text{ ml/min./1,73 m}^2$).



2.2. attēls. IgAN pacientu sadalījums pēc HNS stadijas

Objektīvi izmeklējot, hipertensija tika konstatēta 56,4 % pacientu (definēta kā SAS ≥ 140 mmHg un/vai DAS ≥ 90 mmHg) un 39,6 % no viņiem biopsijas brīdī lietoja AKEI/ARB. Biežākās histoloģiskās izmaiņas nieru biopsiju materiālā bija mezangija hiper celularitāte (87,4 %) un segmentāla glomeruloskleroze (72,6 %). Dažāda smaguma tubulāra atrofija tika konstatēta 17 pacientiem (17,9 %).

2.1. tabula

Nieru dzīvildzes analīzē iekļauto pacientu demogrāfiskā un klīniskā informācija

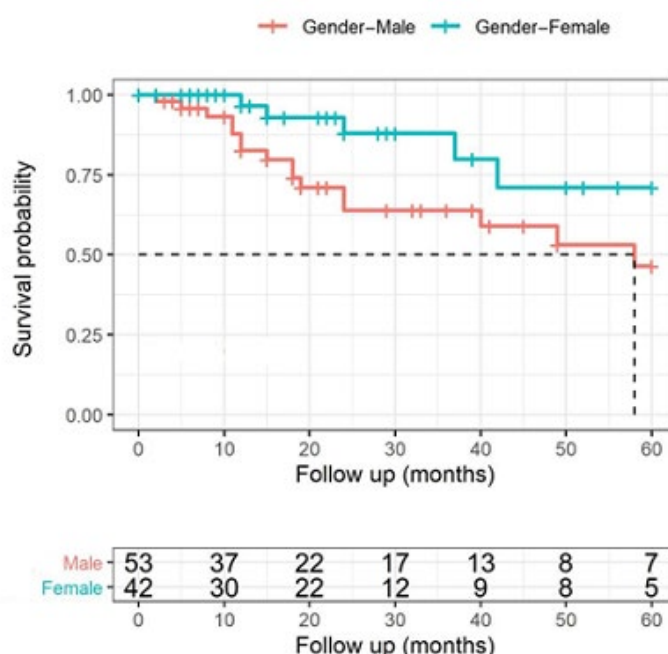
Rādītāji	n (%)
Vīrieši	53 (55,8)
Vecums, gadi	37 (31–45)
SAS, mmHg	135 (120–150)
DAS, mmHg	80 (7,8–93,0)
aGFĀ biopsijas brīdī, ml/min./1,73 m ²	56 (33–98)
Diennakts proteinūrija, g/24 h	1,2 (0,5–2,33)
Oksfordas klasifikācija	
M1	83 (87,4)
E1	3 (3,2)
S1	69 (72,6)
T1	11 (11,6)
T2	6 (6,3)
AKEI vai ARB lietošana biopsijas brīdī	37 (38,9)
Imūnsupresija pirms vai biopsijas brīdī	9 (9,5)
Glomerulāras izpausmes:	
Nefrītiskais sindroms	69 (73,4)
Nefrotiskais sindroms	1 (1,1)
Nefrotiskais and nefrītiskais sindroms	13 (13,8)
Izolēta hematūrija	7 (7,4)
Izolēta proteinūrija	4 (4,3)

Vērtības ir norādītas kā daudzums un proporcionāls sadalījums (%) vai kā mediāna un starpkvartiļu intervāls. SAS – sistoliskais asinsspiediens, DAS – diastoliskais asinsspiediens,

AKEI – angiotensīnu konvertējošā enzīma inhibitori, ARB – angiotensīna II receptoru blokatori.

Vidējais novērošanas periods bija 18 mēneši (no 0 līdz 60 mēnešiem). Šajā pētījumā kopējā vidējā nieru dzīvildze novērošanas periodā (60 mēneši) netika sasniegta, taču trešā kvartile (Q3) bija 24 mēneši. No 95 analizētiem pacientiem 14 (14,7 %) pacientiem attīstījās TNM, kas atbilst slimības incidences rādītājam 0,11 epizodes uz pacientu gadā. Dzimums, MEST-T rādītājs un DAS tika identificēti kā nozīmīgi riska faktori samazinātai nieru dzīvildzei, savukārt SAS uzrādīja robežvērtību statistiski nozīmīgai saistībai ($p = 0,059$).

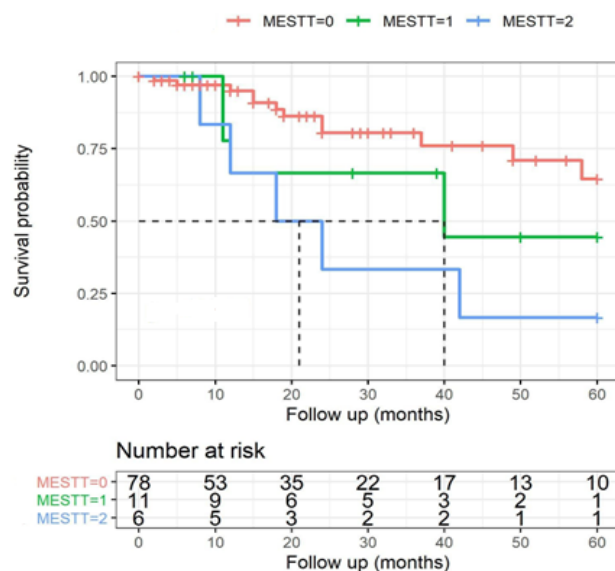
Sievietēm bija ilgāks nieru dzīvildzes laiks (vairāk nekā 60 mēneši) salīdzinājumā ar vīriešiem (58 mēneši). Lai novērtētu nieru dzīvildzes sadalījuma atšķirības starp dzimumiem, tika veikts *log-rank* tests; $\chi^2(1) = 4,03$, $p = 0,045$ (2.3. attēls).



2.3. attēls. Nieru dzīvildzes rādītāji pēc dzimuma kategorijas

Vīriešiem novērošanas periodā bija sliktāki nieru dzīvildzes rādītāji nekā sievietēm; * $p = 0,045$

Nieru dzīvildzes analīze, pamatojoties uz MEST punktu skaitu, parādīja, ka pacientiem ar T0 punktu skaitu bija ilgāka vidējā nieru dzīvildze visā novērošanas periodā (60 mēneši) salīdzinājumā ar pacientiem ar T1 (40 mēneši) un T2 (18 mēneši). Tika novērota statistiski nozīmīga atšķirība nieru dzīvildzes sadalījumā starp T0 un T1 rādītājiem ($\chi^2(2) = 9,09$, $p = 0,01$; 2.4. attēls). T1 rādītājs arī liecināja par tendenci uz labāku nieru izdzīvotību salīdzinājumā ar T2 rādītāju (χ^2 tendencēm = 8,80, $p = 0,003$).

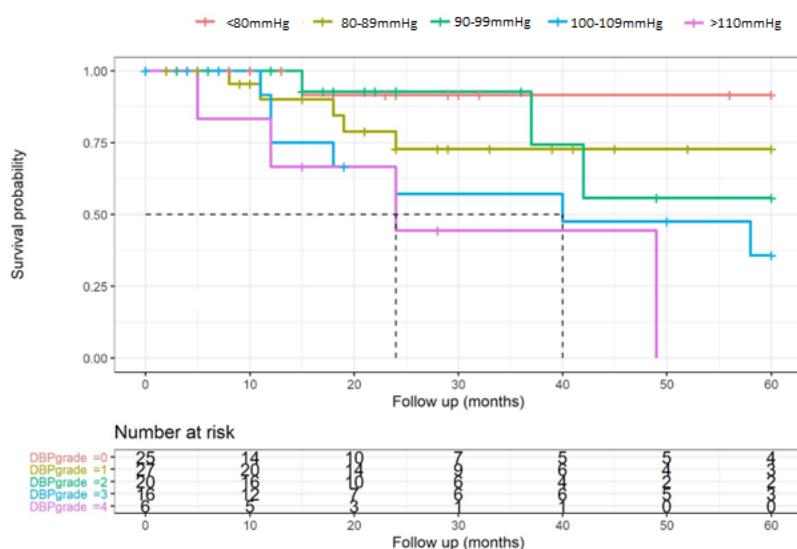


2.4. attēls. Kumulatīvie nieru dzīvildzes rādītāji pēc tubulārās atrofijas / intersticiālās fibrozes

Pacientiem ar MEST T2 ir sliktāka prognoze salīdzinājumā ar pacientiem ar T1 un T0; *p = 0,01

Dalībniekiem ar DAS, zemāku par 99 mmHg, vidējā nieru dzīvildze bija ilgāka – 60 mēneši – salīdzinājumā ar dalībniekiem ar DAS 100–109 mmHg (40 mēneši) un DAS virs 110 mmHg (24 mēneši). Tika novērota statistiski ticama atšķirība nieru dzīvildzes sadalījumā starp DAS kategorijām ($\chi^2(4) = 11,46$, $p = 0,022$; 2.5. attēls), kas apstiprina saistību starp augstāku asinsspiedienu un sliktāku nieru izdzīvotību (χ^2 tendencei = 9,21, $p = 0,002$).

Šajā pētījumā pacienta vecums, proteinūrija, AKEI/ARB lietošana biopsijas laikā, imūnsupresijas lietošana biopsijas laikā vai pirms tās, kā arī MEST M, E un S rādītāji nozīmīgi neietekmēja nieru izdzīvotību.



2.5. attēls. Kumulatīvie nieru dzīvildzes rādītāji pēc diastoliskā asinsspiediena kategorijām

Nieru dzīvildze ir labāka pacientiem ar zemāku DAS, *p = 0,022

DAS 0. pakāpe: < 80 mmHg; 1. pakāpe: 80–89 mmHg; 2. pakāpe: 90–99 mmHg, 3. pakāpe: 100–109 mmHg, 4. pakāpe: > 110 mmHg

2.2. Prognoze par nieru funkcijas pasliktināšanos, izmantojot Cox regresiju un starptautisko IgAN prognozes kalkulatoru

Koksa (Cox) regresijas analīzē tika iekļauti 68 pacienti, no kuriem 37 bija vīrieši. Pacientu vidējais vecums bija $39,1 \pm 12,0$ gadi (diapazons: 18–72 gadi). No analīzes tika izslēgti 27 pacienti, kuriem trūka nepieciešamo datu (galvenokārt 24 stundu proteinūrijas), kas vajadzīgi prognozes aprēķināšanai ar IgANPT (23 pacienti), kā arī sekundārie IgAN gadījumi (4 pacienti), kas saistīti ar IgA vaskulītu vai aknu slimību. Vidējais novērošanas ilgums piecu gadu garumā bija 21,5 mēneši (diapazons: 0–60 mēneši). Notikumu biežums (aGFā samazināšanās par 50 % vai progresija līdz TNM) bija 0,15 epizodes uz pacientu gadā.

Riska koeficientu (HR) analīze atklāja, ka DAS, MEST-E un MEST-T bija saistīti ar risku aGFā samazināties par 50 % vai attīstīties TNM (2.2. tabula). Katra nākamā DAS pakāpes palielināšanās bija saistīta ar 6 % riska pieaugumu. Turklāt risks palielinājās četrkārt, pārejot no E0 uz E1 MEST-E punktu skaitā, un vairāk nekā divkārtējās par katru MEST-T punkta palielināšanos. Pretēji tam vecums uzrādīja aizsargājošu efektu, samazinot risku par 5 % par katru papildu gadu.

2.2. tabula

Dažādu klīnisko rādītāju riska koeficienti pacientiem ar IgAN

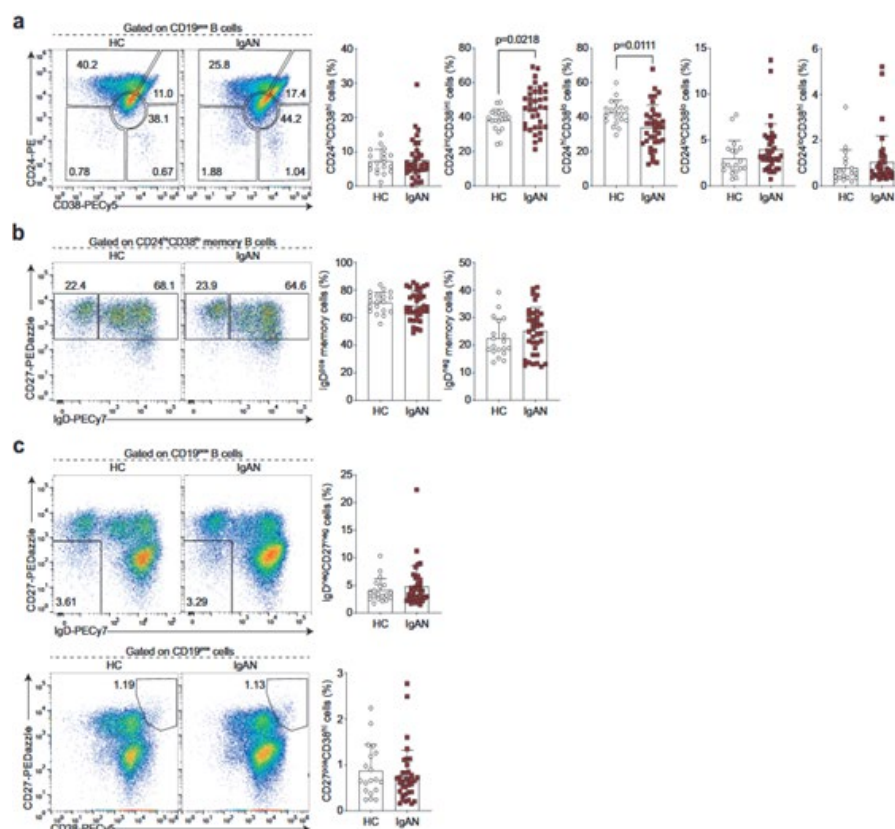
Riska faktori	Riska koeficients	Riska faktori
Vecums	0,95 (0,91–0,99)	0,023
SAS	0,99 (0,96–1,03)	0,683
DAS	1,06 (1,00–1,12)	0,04
MEST E	4,12 (0,83–20,47)	0,084
MEST T	2,52 (1,38–4,62)	0,003

Turpmākajā analīzē tika salīdzināti novērotie un prognozētie piecu gadu riski, izmantojot IgANPT. Iekšklases korelācijas koeficients (ICC) norādīja uz vidēju uzticamības līmeni starp prognozēto un novēroto risku, ar vidējo ICC 0,70 (95 % ticamības intervāls: 0,52–0,82; $F(67,67) = 3,38$, $p = 0,001$). Lielākā daļa atšķirību starp prognozētajiem un novērotajiem datiem bija diapazonā no 0 līdz 10 % ($n = 33$), ar vidējo atšķirību 2,54 %, kas liecina par uzticamību IgANPT. Lai gan 23 pacientiem IgANPT novērtēja risku zemāk nekā mūsu aprēķināto, 45 pacientiem tas piešķīra līdzīgu vai nedaudz augstāku risku. Maksimālās negatīvās un pozitīvās atšķirības sasniedza attiecīgi 77,35 % un 59,84 %. Šo noviržu tuvāka izpēte neatklāja nekādas īpašas pazīmes slimības gaitā vai nieru histoloģijas izmeklējumos.

2.3. B šūnu aktivācijas ceļi IgAN pacientiem

Lai izpētītu B šūnu aktivācijas ceļus un to, kā perifēro B šūnu sastāvs var ietekmēt pacientus ar IgAN, pētījumā tika iesaistīti 36 pacienti ar IgAN un 19 veseli cilvēki. Dalībnieki abās grupās bija līdzīga dzimuma un vecuma, un abām grupām bija normāls leukocītu un limfocītu skaits. Kā sagaidams, IgAN pacientiem bija augstāks seruma kreatinīna līmenis un zemāks aGFĀ nekā kontroles grupai. IgAN pacienti atbilstoši aGFĀ pārstāvēja visas četras hroniskas nieru slimības stadijas (no I līdz IV). Vidējā proteinūrija pacientiem ar IgAN bija 0,48g/g (starpkvartīļu intervāls: 0,26–1,35); 11 pacientiem bija vidēji smagas pakāpes proteinūrija (1–3 g/g), tikai vienam pacientam tika novērota nefrotiska līmeņa proteinūrija (> 3g/g). Saskaņā ar Oksfordas IgAN klasifikāciju bieži sastopama bija sekundāra glomeruloskleroze (69,4 %). Tubulārā atrofija vai pusmēnešu veidošanās < 25 % glomerulu tika novēroti tikai retos gadījumos. Ķermeņa masas indekss (ĶMI) starp IgAN pacientiem un veselajiem kontrolgrupas dalībniekiem būtiski neatšķīrās.

B šūnu imūnfenotipēšana, balstoties uz CD24, CD27, CD38 un IgD ekspresiju, ļāva identificēt pārejas (CD24^{hi}CD38^{hi}), nobriedušas naivās (CD24^{int}CD38^{int}), aktivētās (CD24^{lo}CD38^{lo}) un kopējās atmiņas (CD24^{hi}CD38^{lo}) B šūnas, pārslēgtas (IgD[–]) un nepārslēgtas (IgD⁺) apakšgrupas, dubultnegatīvās (IgD[–]CD27[–]) B šūnas, preplazmablastus (CD24^{lo}CD38^{hi}) un plazmablastus (CD27^{pos}CD38^{hi}). IgAN pacientiem novērojām ievērojamu nobriedušo naivo B šūnu skaita pieaugumu ar vienlaicīgu kopējo atmiņas B šūnu samazinājumu (2.6.a attēls). Pārslēgto un nepārslēgto atmiņas B šūnu biežums bija līdzīgs (2.6.b attēls). Kopējais IgD[–]CD27[–]B šūnu, pazīstamas kā dubultnegatīvās (DN) vai atipiskās atmiņas B šūnas, kuras nesen bija aprakstītas kā autoantivielu ražojošo plazmablastu priekšteči, skaits bija līdzīgs plazmablastu skaitam gan IgAN pacientiem, gan veselajiem kontroles grupas dalībniekiem (2.6.c attēls).



2.6. attēls. IgAN saistītās izmaiņas perifēro B šūnu sastāvā

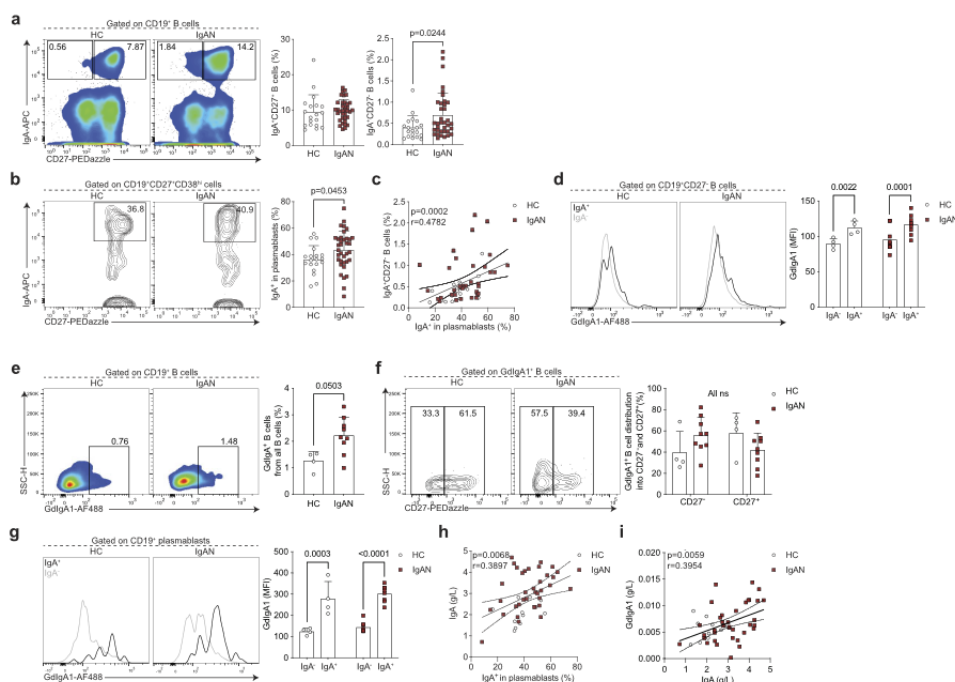
Plūsmas citometrijas grafiki un stabiņu diagrammas, kas parāda (a) pārejas (CD24^{hi}CD38^{hi}), nobriedušas (CD24^{int}CD38^{int}), atmiņas (CD24^{hi}CD38^{lo}), aktivētās (CD24^{lo}CD38^{lo}) B šūnas un preplazmablastus (CD24^{lo}CD38^{hi}); (b) atmiņas B šūnu sadalījums apakšgrupās: IgD⁺ nepārslēgtas un IgD⁻ pārslēgtas; (c) kopējo dubultnegatīvo (DN; IgD⁻CD27⁻) B šūnu un plazmablastu (CD27⁺CD38^{hi}) biežums IgAN pacientiem un veselajiem kontrolgrupas dalībniekiem.

Dati ir izteikti kā vidējais $\pm$ SD, un katrs punkts attēlo vienu pētījuma dalībnieku

Šūnu diferenciacijas ceļš, kas noved pie IgA ražojošo B šūnu veidošanās IgAN gadījumā, nav zināms. Mēs vēlējamies noskaidrot, vai IgAN pacientiem var konstatēt izmaiņas IgA ekspresējošo B šūnu aktivācijas un diferenciacijas ceļos. IgA ekspresējošo klasisko atmiņas (CD27⁺) B šūnu biežums bija līdzīgs IgAN pacientiem un veselajiem kontrolgrupas dalībniekiem (2.7.a attēls). Tomēr novērojām, ka papildus CD27 ekspresējošajām B šūnām pastāvēja neliela B šūnu populācija bez CD27 ekspresijas, kas īpaši bija izteikta IgAN pacientiem (2.7.a attēls). Tika novērots būtiski augstāks pārslēgto antivielas sekrējošo šūnu (ASC) biežums IgAN pacientiem salīdzinājumā ar kontroles grupu (2.7.b attēls). Ņemot vērā lineāro saistību starp IgA ekspresējošajiem plazmablastiem un IgA ekspresējošajām CD27⁻ B šūnām, mēs konstatējām korelāciju starp šīm divām apakšgrupām (2.7.c attēls).

Tālāk gribējām noskaidrot, vai IgA ekspresējošās B šūnas patiešām ekspresē Gd-IgA1. Atklājām, ka IgA⁺CD27⁻ B šūnas vienlaikus ekspresēja Gd-IgA1 (2.7.d attēls). Savukārt IgAN pacientiem lielākā daļa no visām Gd-IgA1⁺ B šūnām bija CD27⁻ šūnas (2.7.e un f attēls). IgA⁺ plazmablasti arī ekspresēja augstu Gd-IgA1 līmeni (2.7.g attēls). Noslēgumā, apliecinot IgA ekspresējošo plazmablastu potenciālo funkcionālo lomu patoģenēzē, mēs konstatējām

korelāciju starp IgA+ plazmablastiem un cirkulējošo IgA līmeni (2.7.h attēls). Tomēr, neskatoties uz korelāciju starp IgA un Gd-IgA1, neatradām saistību starp IgA+ plazmablastiem un seruma Gd-IgA1 līmeni (2.7.i attēls).



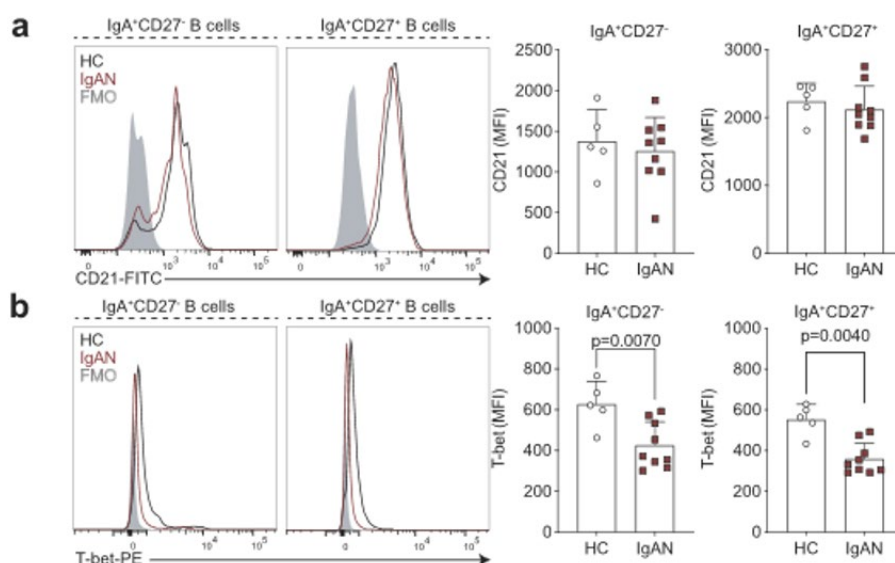
2.7. attēls. IgA+CD27– B šūnu un IgA+ plazmablastu pastiprināta diferenciācija IgAN pacientiem

Plūsmas citometrijas diagrammas, kas attēlo: (a) IgA+CD27+ un IgA+CD27– B šūnu biežumu; (b) IgA+ plazmablastu biežumu; (c) lineārās regresijas analīzi starp IgA+CD27– B šūnām un IgA+ plazmablastiem; (d) Gd-IgA1 vidējo fluorescences intensitāti IgA+ un IgA– CD19+CD27– B šūnās; (e) Gd-IgA1+ B šūnu biežumu; (f) Gd-IgA1+ B šūnu sadalījumu CD27– un CD27+ apakšgrupās; (g) Gd-IgA1 vidējo fluorescences intensitāti IgA+ un IgA– plazmablastos; (h, i) lineārās regresijas analīzi starp (h) seruma IgA līmeni un IgA+ plazmablastiem un (i) seruma Gd-IgA1 un seruma IgA līmeni IgAN pacientiem un HC. Dati ir izteikti kā vidējie ± standarta novirze.

CD27– atipiskas atmiņas B šūnas tiek sadalītas divas apakšgrupās – DN1 un DN2 šūnas. DN1 šūnas tiek definētas pēc CD21 un CXCR5 ekspresijas, savukārt DN2 B šūnas neizpauž CD21 un CXCR5, bet ekspresē CD11c un transkripcijas līmenī tiek regulētas ar T-bet. Pamatojoties uz transkripcijas pazīmēm, šīs divas B šūnu apakšgrupas veidojas no dažādiem aktivācijas ceļiem (Jenks et al., 2018). Kamēr DN2 B šūnas veidojas, pateicoties ektrafolikulārai B šūnu aktivācijai, DN1 B šūnas pārstāv klasisko atmiņas B šūnu priekštečus, kas nesen izveidojušās no ģerminatīvajiem centriem (un vēl nav sasniegušas CD27 ekspresiju).

Jāatzīmē, ka ģerminatīvie centri ir anatomiskas struktūras, kas ļauj B šūnām attīstīties un pilnveidoties (afinitātes nobriešana), nodrošinot augstas afinitātes antivielu ražošanu. Izpratne par to, caur kuru ceļu B šūnas tiek aktivētas, var palīdzēt noskaidrot faktorus, kas regulē atbildes reakciju (piem., ar T šūnu palīdzību), vai šo šūnu nodalījuma īpašības (piem., ilgmūžību) (Elsner & Shlomchik, 2020).

Atklājām, ka IgA⁺CD27⁺ B šūnas bija fenotipiski CD21^{hi} T-bet^{lo}, kas atbilst DN1 fenotipam (2.8.a un b attēls), liecinot, ka tās patiešām var būt IgA⁺CD27⁺ klasisko atmiņas B šūnu priekšteči.

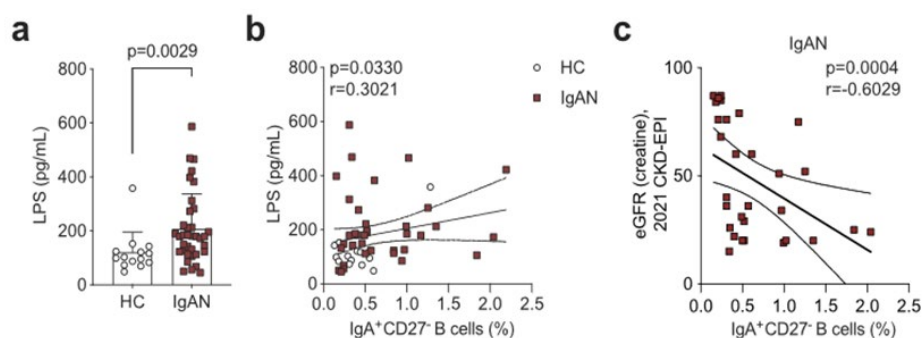


2.8. attēls. IgA⁺CD27⁻ B šūnas fenotipiski CD21^{hi}T-bet^{lo}

Plūsmas citometrijas histogrammas un stabīndiagrammas, kas parāda CD21 (a) un T-bet (b) fluorescences intensitāti IgA⁺CD27⁻ un IgA⁺CD27⁺ B šūnās.

Mēs vēlējāmies izpētīt arī gļotādas un nieru saistību IgAN kontekstā un noskaidrot, vai iepriekš aprakstītās izmaiņas gļotādas virsmās ir saistītas ar DN1 B šūnu diferenciācijas ceļu. LPS ir zināms ne tikai kā faktors, kas ietekmē B šūnu pārslēgšanu uz IgA (Cerutti, 2008), bet to izmanto arī kā disbiozes un zarnu sienas caurlaidības marķieri (Mohr et al., 2022). Serumā LPS līmenis IgAN pacientiem bija ievērojami paaugstināts salīdzinājumā ar veselajiem kontroles dalībniekiem (2.9.a attēls). Turklāt atklājām, ka IgA ekspresējošās CD27⁻ B šūnas korelē ar serumā noteikto LPS līmeni (2.9.b attēls). Tas liecina, ka LPS var tieši veicināt šo šūnu izplatību vai šūnu pārslēgšanu vai arī novērotā korelācija var būt saistīta ar to, ka gan paaugstināts LPS, gan IgA⁺CD27⁻ B šūnu līmenis ir gļotādas disbiozes un pavājinātas barjeras funkcijas sekas, kas veicina IgA ekspresējošo plazmablastu diferenciāciju.

Noslēgumā mēs izvērtējām saistību starp IgA⁺CD27⁻ B šūnu izplatību un IgAN klīniskajām pazīmēm. Pacientiem ar samazinātu nieru funkciju (aGFĀ < 90 ml/min.) tika konstatēta negatīva korelācija starp aGFĀ un IgA⁺CD27⁻ B šūnu biežumu (2.9.c attēls).



2.9. attēls. Seruma lipopolisaharīdu korelācija ar IgA+CD27⁻ B šūnu izplatību

(a) LPS līmenis serumā IgAN pacientiem un HC; (b) lineārās regresijas analīze starp LPS serumā un IgA+CD27⁻ B šūnām IgAN pacientiem un HC; (c) lineārās regresijas analīze starp aGFĀ un IgA+CD27⁻ B šūnām IgAN pacientiem. Dati ir vidējie $\pm$ standarta novirze, katrs punkts attēlo pētījuma dalībnieku

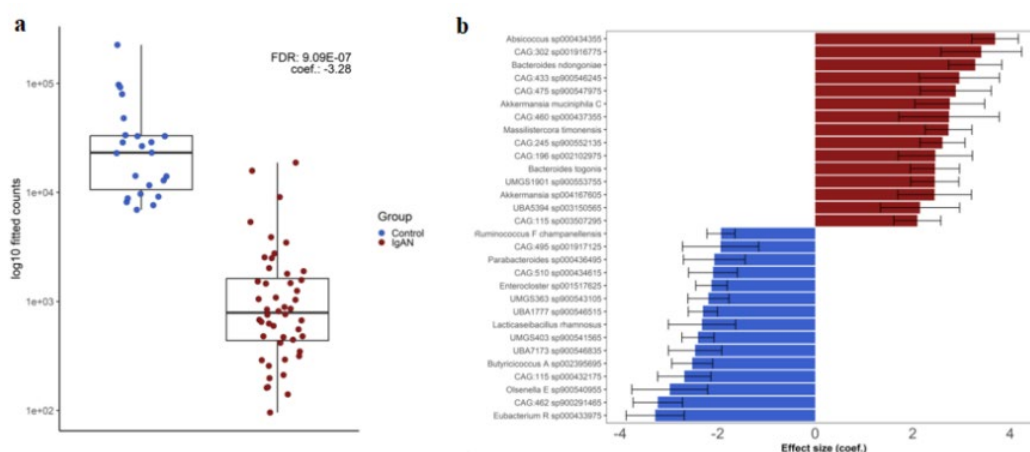
2.4. Zarnu mikrobioma raksturojums IgAN pacientiem

Pētījuma daļā par zarnu mikrobiomu tika iekļauti 48 pacienti ar IgAN un 23 veseli kontroles grupas dalībnieki. Dalībnieku dzimuma un vecuma sadalījums bija līdzīgs: vairāk nekā 60 % bija vīrieši ar vecuma intervālu no 22 līdz 65 gadiem. Abās grupās bija līdzīgs vidējais KMI – 26 kg/m². Kā bija sagaidāms, seruma kreatinīna līmenis IgAN pacientiem bija augstāks nekā kontroles grupā. IgAN pacientu sadalījums pēc HNS stadijām bija vienmērīgs, visbiežāk novērojot HNS I stadiju (33,3 %). Saskaņā ar Oksfordas klasifikāciju apmēram 70 % pacientu biopsijas materiālā konstatēta mezangijs hipercelularitāte (M1) un segmentāla glomeruloskleroze (S1). Vidējais UPCR bija 0,349 g/g, kas atbilda vieglai proteinūrijai. Turklāt Gd-IgA1 līmenis IgAN pacientiem bija nozīmīgi augstāks nekā veseliem indivīdiem ($p = 0,02$).

Lai izvērtētu ar IgAN saistītās izmaiņas zarnu mikrobioma sastāvā, mēs salīdzinājām fēču paraugu sekvenčēšanas rezultātus IgAN pacientiem ($n = 48$) un veseliem kontroles grupas dalībniekiem ($n = 23$). Statistiski ticamas atšķirības alfa-daudzveidības rādītājos, izmantojot vairākus biežāk lietotos indeksus, starp abām grupām netika konstatētas. Tāpat nebija būtisku starpparaugu atšķirību mikroorganismu kopējā sastāvā starp gadījuma un kontroles grupas indivīdiem.

Prevotella bija visizplatītākā ģints gan IgAN pacientiem (7,57 %), gan veseliem cilvēkiem (9,27 %). Tāpat starp biežāk sastopamajām ģintīm bija arī *Faecalibacterium* (IgAN = 6,71 %, HC = 8,11 %) un *Blautia* (IgAN = 6,73 %, HC = 7,02 %). Jāatzīmē, ka *Bacteroides* un *Bifidobacterium* bija biežāk sastopami IgAN pacientiem nekā kontroles grupā (attiecīgi IgAN = 4,99 % un 2,84 %, HC = 4,56 % un 1,85 %). Trīs visizplatītākās sugas abās grupās bija *Prevotella* sp00900557255 (IgAN = 2,95 %, HC = 4,34 %), *Fusicatenibacter saccharivorans* (IgAN = 2,53 %, kontrole = 2,58 %) un *Phocaeicola dorei* (IgAN = 2,51 %, kontrole = 2,28 %).

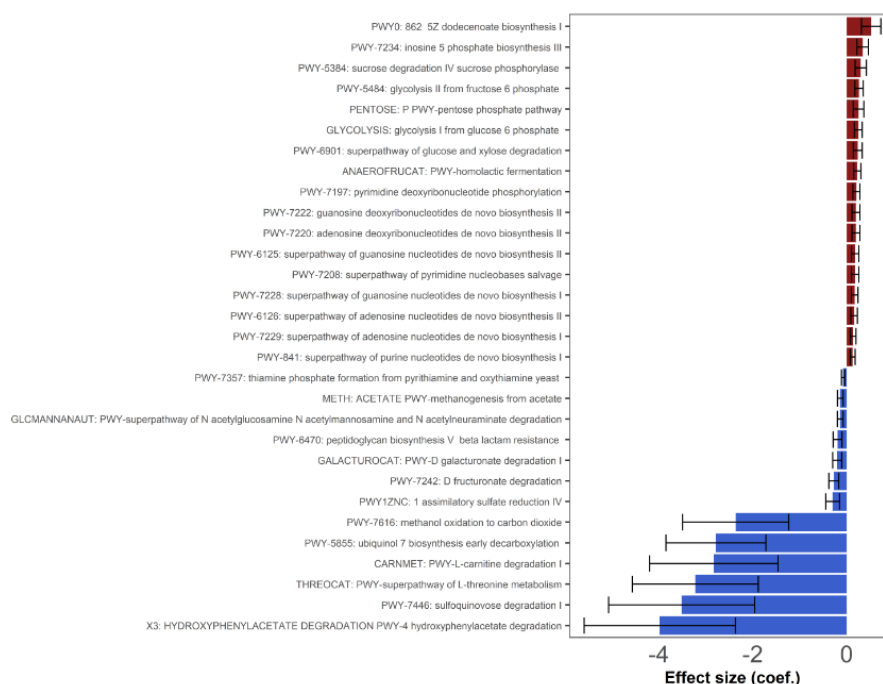
Diferenciālā īpatsvara analizē (*differential abundance analysis*) sugu līmenī konstatēja 371 diferenciāli sastopamu taksonu ($FDR < 0,25$) IgAN pacientiem un veselām kontroles grupas dalībniekiem. No tiem biežāk sastopami bija *Absicoccus* sp000434355 (koef. = 3,69, $FDR = 3,53E-13$), *Bacteroides ndongoniae* (koef. = 3,28, $FDR = 4,59E-08$) un *Akkermansia muciniphila* C (koef. = 2,76, $FDR = 1,66E-03$), savukārt mazāk izplatīti IgAN pacientiem bija *Eubacterium* R sp000433975 (koef. = -3,28, $FDR = 9,09E-07$), CAG:462 sp900291465 (koef. = -3,23, $FDR = 4,90E-09$), *Olsenella* E sp900540955 (koef. = -2,98, $FDR = 1,75E-03$) un *Butyrivibrio* A sp002395695 (koef. = -2,52, $FDR = 5,00E-08$) (2.10.a un b attēls).



2.10. attēls. Zarnu mikrobioma izmaiņas IgAN pacientiem un veselām indivīdiem

- (a) *Eubacterium* R sp000433975 relatīvā izplatība kontroles grupas dalībniekiem (zils) un IgAN pacientiem (sarkans). Kastveida diagrammas parāda mediānu, 25. un 75. procentili un izņēmuma vērtības.
- (b) Stabiņdiagramma, kas attēlo ietekmes lielumu (logFC) 20 sugām ar vislielāko izplatības atšķirību starp kontroles grupas dalībniekiem un IgAN pacientiem. Pozitīvs koeficients (sarkans) attēlo taksonus ar palielinātu sastopamību IgAN pacientiem, bet negatīvs koeficients (zils) attēlo taksonus kontroles grupas pacientiem

Analīze, izvērtējot *MetaCyc* metabolisma ceļus, atklāja 34 būtiski atšķirīgus zarnu mikrobioma funkcionālos ceļus starp IgAN pacientiem un veselajiem kontroles grupas dalībniekiem. HC dalībniekiem visvairāk bija pārstāvēts 4-hidroksifenilacetāta noārdīšanās ceļš (koef. = -3,97, $FDR = 1,00E-01$), kam sekoja lipopolisaharīdu biosintēzes ceļš (koef. = -3,53, $FDR = 2,24E-01$) un sulfohinovozes degradācijas I ceļš (koef. = -3,51, $FDR = 1,43E-01$). Savukārt IgAN pacientiem izteiktāki bija vairāki ar nukleotīdu un nukleozīdu biosintēzi saistīti ceļi, tostarp adenoziņa, guanoziņa, inoziņa un pirimidīna biosintēze, kā arī glikolīze no glikozes-6-fosfāta (2.11. attēls).



2.11. attēls. Vielmaiņas diferenciālie signāļceļi IgAN pacientiem un veselīgiem indivīdiem

Ietekmes lielums tiek atspoguļots kā koeficients ar pozitīvām vērtībām ceļiem, kas biežāk sastopami IgAN pacientiem, bet negatīvās vērtības atbilst ceļiem, kas vairāk izplatīti kontroles grupas dalībniekiem

Pārsteidzoši, ka Gd-IgA1 visvairāk no citiem faktoriem ietekmēja metabolisma ceļu variācijas (PERMANOVA $R^2 = 0,061$, $p = 0,001$). Šī ietekme bija lielāka nekā aGFĀ ($R^2 = 0,039$, $p = 0,015$) vai KMI ($R^2 = 0,036$, $p = 0,02$).

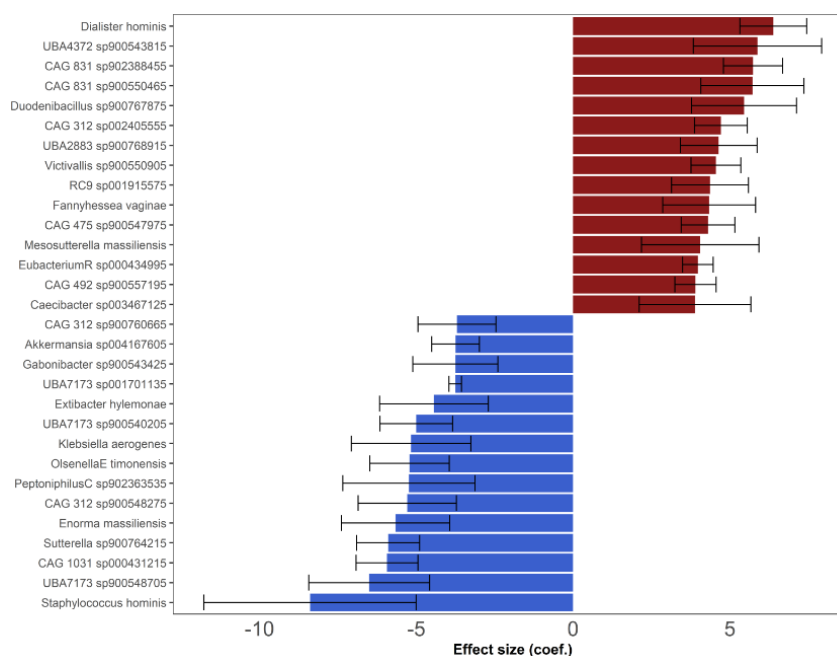
Tālāk centāmies izvērtēt potenciālās atšķirības zarnu mikrobioma sastāvā, koncentrējoties tikai uz IgAN pacientu grupu. Pacienti tika sadalīti divās grupās pēc slimības progresijas: 23 pacienti ar progresējošo slimības gaitu (P), kuriem aGFĀ samazinājums bija > 5 ml/min./gadā, bet 23 pacienti – ar neprogresējošo slimības gaitu (NP). Diviem pacientiem trūka aGFĀ rezultāta novērošanas periodā, un tie tika izslēgti no turpmākās analīzes. Vidējais novērošanas laiks bija 24 mēneši (laika intervāls: 2–43 mēneši), vidējais aGFĀ samazinājums – 5,8 ml/min./gadā (no aGFĀ kritiena 30 ml/min./gadā līdz nieru funkcijas uzlabojumam par 9 ml/min./gadā). Starp abām grupām nebija statistiski ticamu atšķirību alfa daudzveidības rādītājos. Tomēr PERMANOVA tests ($R^2 = 0,03$; $p = 0,04$) norādīja uz izmaiņām beta daudzveidības grupēšanā ar ievērojami lielāku dispersiju pacientiem P grupā. Lai gan *Prevotella*, *Faecalibacterium* un *Blautia* bija visizplatītākās ģintis abās grupās, to relatīvā secība atšķīrās. Progresējošās gaitas pacientiem visizplatītākā bija *Prevotella* (9,48 %), kam sekoja *Blautia* (6,50 %) un *Faecalibacterium* (6,12 %), savukārt neprogresējošās gaitas pacientiem visizplatītākā bija *Faecalibacterium* (7,33 %).

Sugu līmenī pacientiem ar P visizplatītākā bija *Prevotella sp00900557255*, kā arī bieži sastopami *Phocaeicola dorei* un *Fusicatenibacter saccharivorans*. Pacientiem ar NP visbiežāk

sastopamā suga bija *Agathobacter rectalis* (2,67 %), kam sekoja *Fusicatenibacter saccharivorans* (2,18 %) un *Phocaeicola dorei* (2,02 %).

Diferenciālā īpatsvara analīze sugu līmenī, salīdzinot abu grupu pacientu zarnu mikrobioma sastāvu, atklāja statistiski nozīmīgas atšķirības 455 taksonos. *Staphylococcus hominis* (koef. = -8,39, FDR = 5,31E-02) un *UBA7173 sp900548705* (koef. = -6,50, FDR = 4,18E-03) bija ievērojami izplatītāki pacientiem bez progresējošas slimības, savukārt *Dialister hominis* (koef. = 6,38, FDR = 1,85E-08) bija ievērojami izplatītāks pacientiem ar progresējošo slimības gaitu (2.12. attēls).

No 455 ar slimības progresiju saistītajiem taksoniem 69 (9 %) parādīja atšķirīgu izplatību arī, salīdzinot kontroles grupu ar IgAN pacientiem (piemēram, *Akkermansia sp004167605*, *Dialister hominis*).

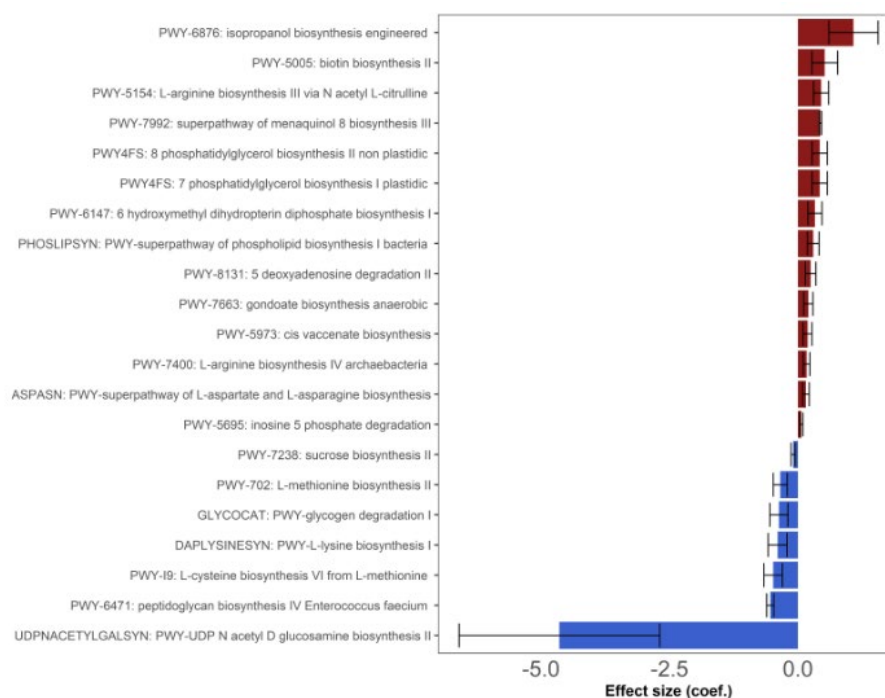


2.12. attēls. Stabiņdiagramma, kurā attēlots ietekmes lielums (logFC) 20 visvairāk atšķirīgajām sugām starp IgAN pacientiem ar progresējošo un neprogresējošo slimības gaitu

Pozitīvs koeficients (sarkans) attēlo taksonus ar palielinātu sastopamību pacientiem ar P, bet negatīvs koeficients (zils) attēlo taksonus ar palielinātu sastopamību NP grupā

Diferenciālā mikrobiālo signālceļu analīze starp pacientiem ar progresējošo un neprogresējošo gaitu atklāja 21 vielmaiņas ceļu, no tiem N-acetil-D-glikozamīna biosintēzes II ceļš (koef. = -4,64, FDR = 1,27E-01) bija visvairāk sastopams pacientiem ar NP. Pacientiem ar progresējošo gaitu aktīvāka bija izopropanola biosintēze (koef. = 1,08, FDR = 1,67E-01), kam sekoja biotīna biosintēze II (koef. = 0,52, FDR = 2,28E-01) un fosfolipīdu biosintēze (2.13. attēls). Salīdzinot abas grupas, Gd-IgA1 atbildēja par lielāko daļu novērotās metabolisma ceļu variācijas (PERMANOVA $R^2 = 0,06$, $p = 0,018$), un šī ietekme bija nozīmīgāka, nekā salīdzinot HC ar IgAN pacientiem. Turklāt IgAN pacientu seruma Gd-IgA1 līmenis bija

nozīmīgi saistīts ar 88 metabolisma ceļiem, no kuriem 57 bija pozitīvi saistīti, piemēram, fosfolipīdu pārveidošanās raugā (koef. = 1,97; FDR = 1,17E-01), bet 31 bija negatīvi saistīts, piemēram, UDP-N-acetilglikozamīna atvasināto O-antigēna veidojošo bloku biosintēzes superceļš (koef. = -0,69; FDR = 4,33E-29) un kreatinīna noārdīšanās I (koef. = -0,67; FDR = 3,03E-54).



2.13. attēls. Diferenciālā *MetaCyc* mikrobiālo vielmaiņas signālceļu analīze

Ietekmes lielums tiek izteikts kā koeficients ar pozitīvām vērtībām (sarkans) ceļiem, kas izplatīti IgAN pacientiem ar progresējošo gaitu, un negatīvām vērtībām (zils) ceļiem, kas nav saistīti ar slimības progresiju

3. Diskusija

Šis darbs sniedz pierādījumus par riska faktoriem nieru dzīvildzei piecu gadu periodā. IgANPT tika validēts uz pētījuma populācijas, un novērotie un prognozētie riski bija līdzīgi, kas norāda, ka šo rīku var efektīvi izmantot arī Latvijas populācijā. Mūsu rezultāti liecina, ka gļotādas imunitātes regulācijas traucējumi veicina naivo B šūnu aktivāciju ģerminatīvajos centros, kā rezultātā veidojas IgA+CD27-CD21+ B šūnas un pēc tam IgA sekretējošie plazmablasti. Lai identificētu iespējamus mehānismus, tika analizēts IgAN pacientu zarnu mikrobioms: pacientiem tika konstatēta sviestskābi ražojošo baktēriju samazināšanās, savukārt funkcionālā profilēšana liecināja par imūnsistēmas aktivizāciju un iekaisumu.

IgAN diagnostika Latvijā kļuva iespējama pēc 2013. gada, uzsākot sadarbību ar Viļņas Patoloģijas centru Lietuvā. Šī sadarbība nodrošināja iespēju veikt nieru biopsiju izmeklējumus, izmantojot imūnfluorescences metodi, kuras laikā IgA depozītu noteikšana biopsijas materiālā apstiprina diagnozi.

IgAN klīniskās un patoloģiskās izpausmes ir ļoti heterogēnas: tās var variēt no asimptomātiskas slimības gaitas ar izmaiņām urīna analīzēs līdz ātri progresējošam glomerulonefrītam. Visās līdz šim aprakstītajās IgAN pacientu kohortās konstatēts vīriešu pārsvars, vidējais pacientu vecums ir ap 40 gadiem. Histoloģiski visbiežāk tika atrasta mezangija hipercelularitāte un segmentāla glomeruloskleroze. Klīniski pacientiem pārsvarā novēroja nefrītisko sindromu ar vieglu vai vidēji smagas pakāpes proteinūriju vai nefrītiski nefrotisko sindromu, kam bieži pievienojas progresējoša glomeruloskleroze. Šie faktori būtiski ietekmē slimības prognozi. Aptuveni 20 % pacientu, kuriem Paula Stradiņa Klīniskajā universitātes slimnīcā tika noteikta IgAN diagnoze, vidēji 11 mēnešu laikā pēc diagnozes apstiprināšanas bija nepieciešama nieru aizstājterapija.

Piecu gadu nieru dzīvildzes rādītājs mūsu pētījuma grupā bija 57 %, savukārt Japānas pētījumā, kurā tika analizēta nieru dzīvildze 30 gadu periodā ($n = 1012$), piecu gadu nieru dzīvildze pārsniedza 90 % (Moriyama et al., 2014). Citā retrospektīvā pētījumā, kurā tika analizēti ilgtermiņa rezultāti IgAN pacientiem četrās kohortās no dažādām valstīm un trim kontinentiem, ziņotie 10 gadu nieru dzīvildzes rādītāji bija 95,7 % Helsinkos (Somija), 87,0 % Sidnejā (Austrālija), 63,9 % Glāzgovā (Apvienotā Karaliste) un 61,6 % Toronto (Kanāda). Savukārt piecu gadu dzīvildzes rādītāji bija 98 % Helsinkos, 95 % Sidnejā un 79 % gan Glāzgovā, gan Toronto (Geddes et al., 2003).

Salīdzinot mūsu datus ar Japānas un starptautisko pētījumu datiem, redzams, ka slimības gaita Latvijas pacientiem šķiet agresīvāka, ar straujāku progresiju līdz TNM. Šo atšķirību varētu skaidrot ar atšķirīgām nieru biopsijas indikācijām dažādās valstīs. Japānā biopsijas tiek veiktas visiem pacientiem ar aizdomām par glomerulonefrītu, savukārt Latvijā urīna analīzes vispārējā

populācijā netiek veiktas regulāri. Līdz ar to daudzi gadījumi netiek diagnosticēti laikus un pacienti pie ārsta bieži nonāk tikai tad, kad parādās klīniski simptomi. Nieru biopsijas Latvijā parasti veic tikai tad, ja konstatē papildu nieru bojājuma pazīmes, piemēram, proteinūriju, hipertensiju vai samazinātu GFĀ. Pacienti ar izolētu hematūriju bieži neveic nieru biopsiju.

Slimības progresija var atšķirties atkarībā no ģeogrāfiskā reģiona, kas norāda uz ģenētisko ietekmi uz slimības gaitu. Genoma pētījumos līdz šim identificēti vairāk nekā 30 riska lokusi, kas var veicināt IgAN attīstību, ietekmējot gļotādas iedzimto imunitāti, imūno šūnu proliferāciju, Gd-IgA1 ražošanu, autoantivielu veidošanos pret Gd-IgA1 un komplementa sistēmas aktivāciju (Xu et al., 2023). Ģenētiskais riska faktors, kas iegūts, apvienojot datus no vairākiem riska lokusiem, ir visaugstākais Āzijas, vidējs Eiropas un viszemākais Āfrikas iedzīvotāju vidū, kas atspoguļo arī globālās atšķirības IgAN izplatībā. Interesanti, ka šis rādītājs atklājis negaidīti augstu IgAN saistītas nieru mazspējas biežumu Ziemeļeiropā (Kiryluk et al., 2013). Papildus ģenētiskajai predispozīcijai pierādījumi liecina arī par traucētu gļotādas imūnreakciju uz antigēniem, kas IgAN gadījumā var būt saistīta ar zarnu caurlaidības izmaiņām. Uztura paradumi, kas atšķiras starp dzimumiem un etniskajām grupām, var tālāk ietekmēt slimības attīstību un prognozi.

Līdz 2019. gadam nebija klīniski apstiprināts rīks IgAN prognozes noteikšanai. Lēmumi par ārstēšanu tika pieņemti, balstoties uz pacienta klīniskām un histoloģiskām pazīmēm. Tomēr, kā norādīts autoru publikācijā, klīniskie pētījumi parādīja, ka 33 % pacientu, kuri neatbilda klīniskās ārstēšanas kritērijiem, bet kuriem bija augsti MEST rādītāji, nesaņēma ārstēšanu un piedzīvoja nieru funkcijas pasliktināšanos, savukārt vairāk nekā 75 % pacientu ar zema riska, neprogresējošu slimību tika ārstēti nevajadzīgi. Pētījumā “Jaunā starptautiskā riska prognozes kalkulatora novērtēšana IgAN gadījumā” tika iekļauti pacienti no daudznacionālām pieaugušo kohortām ar biopsijā apstiprinātu IgAN, tostarp no Oksfordas, Ziemeļamerikas un VALIGA pētījumiem. VALIGA pētījumā piedalījās pacienti no 53 centriem 13 valstīs; tajā bija pārstāvēts viens centrs no Baltijas valstīm (Tartu, Igaunija), divi centri no Skandināvijas (Zviedrija), kā arī vairāki centri no Itālijas. Šāds dalībnieku sadalījums varētu norādīt uz pētījuma populācijas neviendabīgumu (Barbour et al., 2019; Coppo et al., 2014). Ņemot vērā, ka IgAN gaita var būtiski atšķirties dažādos ģeogrāfiskajos reģionos un ka Latvijas iedzīvotāji var atšķirties no Centrāleiropas un Dienvideiropas populācijām, bija svarīgi izpētīt slimības gaitu tieši Latvijas pacientu vidū.

Mūsu pētījuma mērķis bija analizēt faktiskos nieru dzīvildzes rādītājus un validēt IIgANPT rīku mūsu pētījuma populācijā. Līdz šim tas bija pirmais Eiropas pētījums, kurā tika salīdzināti prognozētie un novērotie nieru slimības progresijas riski, kopš IIgANPT kļuva pieejams tiešsaistē. Līdzīgas analīzes vēlāk tika veiktas Grieķijas, Norvēģijas un Francijas

populācijās (Bon et al., 2023; Haaskjold et al., 2023; Papasotiriou et al., 2022). Analīze atklāja, ka statistiski nozīmīgi nieru izdzīvotību ietekmējošie faktori bija dzimums, MEST-T rādītājs un diastoliskais asinsspiediens. Pacientiem ar T0 izmaiņām vidējais nieru dzīvildzes laiks pārsniedza piecus gadus, savukārt pacientiem ar T1 tas bija 40 mēneši, bet pacientiem ar T2 – visīsākais, tikai 18 mēneši. STOP-IgAN pētījums un tā sekundārā analīze arī apliecināja, ka T rādītāji, kuri nav atkarīgi no vecuma, ir saistīti ar zemāku GFĀ un sliktākiem nieru dzīvildzes rezultātiem (Coppo et al., 2020; Schimpf et al., 2018).

Iepriekšējie pētījumi liecina, ka hipertensijas izplatība IgAN pacientiem nieru biopsijas brīdī var svārstīties no 19 līdz 53 % (Nagy et al., 2005). Lielā daudzcentru pētījumā Ķīnā tika konstatēta hipertensijas sastopamība 63,3 % no 1055 IgAN pacientiem (Zheng et al., 2018). Mūsu pētījuma grupā hipertensija tika reģistrēta 57,3 % pacientu ($n = 59$), definējot to kā palielinātu asinsspiedienu $\geq 140/90$ mmHg, tomēr tikai 22 pacienti biopsijas brīdī lietoja AKEI vai ARB. Šo mazo pacientu skaitu, kas saņēma terapiju, var skaidrot ar novēlotu nosūtīšanu pie nefrologa pacientiem bez citiem klīniskajiem simptomiem, kā arī ar piesardzību, izrakstot šos medikamentus pacientiem ar samazinātu GFĀ. Mūsu pētījumā asinsspiediens izrādījās nozīmīgs nieru dzīvildzes prognostisks faktors – pacientiem ar zemāku asinsspiedienu bija lielāka nieru dzīvildze. Zheng et al. atbalsta intensīvas AS kontroles ($< 130/80$ mmHg) priekšrocības pacientiem ar proteinūriju ≥ 1 g/d (Zheng et al., 2018). Turklāt, ja pacientam ir proteinūrija, kas pārsniedz 0,5 g/d, ieteicams uzsākt terapiju ar AKEI vai ARB neatkarīgi no hipertensijas klātbūtnes (Kidney Disease: Improving Global Outcomes Glomerular Diseases Work, 2021).

Dzimums ietekmēja nieru izdzīvotību: sievietēm tā bija ilgāka nekā vīriešiem, pastāvēja atšķirības starp prognozētajiem un novērotajiem datiem – sievietēm prognozētie un novērotie riski bija līdzīgāki nekā vīriešiem. IgAN gadījumā vīriešu prognoze parasti ir sliktāka, galvenokārt tāpēc, ka diagnozes noteikšanas brīdī vīriešu pacientiem biežāk ir sliktāki klīniskie un patoloģiskie rādītāji: zemāks aGFĀ, lielāka proteinūrija, augstāka hipertensijas, hipertrigliceridēmijas un hiperurikēmijas prevalence, smagākas histopatoloģiskas izmaiņas, tostarp segmentāla skleroze un tubulārā atrofija / intersticiālā fibroze, kā arī augstāka globālās glomeruloskleroze proporcija (Deng et al., 2018).

Šajā pētījumā mēs konstatējām, ka prognozētie un novērotie riski par 50 % GFĀ samazināšanos vai progresiju līdz TNM bija līdzīgi. Turklāt piecu gadu analīze parādīja mērenu atbilstību starp prognozētajiem un faktiskajiem rezultātiem, apstiprinot IIgANPT piemērotību lietošanai Latvijas iedzīvotāju vidū. Citi ārējie prognozes kalkulatora validācijas pētījumi, kas veikti Norvēģijas, Ķīnas un Argentīnas kohortās, kopumā arī parādīja labu rīka atbilstību. Tomēr Ķīnas-argentīniešu kohortā pilnais modelis (ieskaitot rasu) pārvērtēja progresijas risku

trīs gadu periodā (Zhang et al., 2020). Indijas kohortā IgANPT demonstrēja zemāku progresijas risku visās grupās (Bagchi et al., 2022). Mūsdienu daudz kultūru pasaulē, kur etniskās piederības definēšana ir sarežģīta, riska stratifikācija, balstoties uz ģenētiskajām īpašībām, nevis pašdeklarēto etnisko piederību, var nodrošināt precīzāku rezultātu prognozēšanu.

Šī pāreja uz ģenētisko izmeklēšanu saskan ar aktuālajām atziņām par IgAN molekulārajiem un imunoloģiskajiem pamatiem. Pašreizējā IgAN patoģenēzes koncepcija tiek dēvēta par daudzpakāpju hipotēzi (Scionti et al., 2022). Ir panākts nozīmīgs zinātnisks progress, atklājot mehānismus, kas darbojas nierēs un veicina orgānu bojājumu. Tie ietver izpēti par to, kā imūnsistēmas kompleksi, kas satur IgA, saistās ar mezangija šūnām, izraisot šūnu proliferāciju un palielinātu ekstracelulārā matricas komponentu sintēzi, kā arī CD89 lomu audu bojājumu regulācijā (Launay et al., 2000). Tomēr šīs atziņas, visticamāk, nevedīs pie nozīmīgiem terapeitiskiem atklājumiem, jo tās atspoguļo procesus, kas notiek pēc B šūnu tolerances zuduma.

Mūsu rezultāti atklāj izmaiņas B šūnu populācijā IgAN pacientiem, novērojot naivo B šūnu palielināšanos un kopējo atmiņas B šūnu samazināšanos. Līdzīgas B šūnu tendences raksturīgas arī sistēmiskām autoimūnām slimībām, piemēram, sistēmiskajai sklerozei un reimatoīdajam artrītam (Bugatti et al., 2014; Sato et al., 2004). Šis novērojums ir īpaši nozīmīgs, jo IgAN tiek uzskatīta par orgānu specifisku autoimūnu slimību, un dati liecina, ka sistēmiskā imunitāte ir disregulēta papildus iepriekš zināmajām gļotādu imunitātes izmaiņām. Joprojām ir svarīgi noskaidrot, vai sistēmiskās izmaiņas B šūnu populācijā, ko novērojām šajā pētījumā, ir IgAN cēlonis vai ar autoimunitāti saistītā iekaisuma procesa sekas.

Kā patoģēno Gd-IgA1 antivielu avots B šūnas ir daudzsološs mērķis IgAN ārstēšanā, taču B šūnu aktivācijas un diferenciācijas ceļi, kas noved pie patoģēnā IgA ražošanas, vēl nav pietiekami pētīti. Ir svarīgi saprast, kā B šūnas tiek ietekmētas un aktivētas, lai pilnībā izprastu IgAN patoģenēzi, prognozi un ārstēšanu. Šajā pētījumā mēs sniedzam ieskatu IgAN patoģenēzē agrīnajos posmos, atklājot, ka IgA ekspresējošās B šūnas, kurām trūkst klasiskā atmiņas marķiera CD27, bet kuras ekspresē CD21, ir lielākā daudzumā IgAN pacientiem un, šķiet, kalpo kā šūnu priekšteči IgA sekretējošiem plazmablastiem. Mūsu atklājumi liecina, ka šie ASC priekšteči, visticamāk, veidojas ģerminatīvajos centros, norādot uz nepārtrauktu patoģēno šūnu ražošanu. Līdz šim DN1 B šūnas nav aprakstītas kā slimību ietekmējošas šūnas atšķirībā no plaši raksturotās DN2 populācijas. Tādējādi mūsu pētījums var palīdzēt labāk izprast šo B šūnu populāciju. Šis novērojums par paaugstinātu DN1 B šūnu skaitu saskan arī ar ziņojumu par paaugstinātu T folikulāro palīgšūnu biežumu IgAN pacientiem (Zhang et al., 2014).

Mēs atklājām korelāciju starp IgA ekspresējošo plazmablastu CD27⁺ priekštečiem un seruma LPS līmeni, kas norāda uz gļotādu imunitātes iesaisti šo šūnu diferenciācijā. LPS var tieši veicināt klases maiņu aktivētās B šūnās, kā tas bija iepriekš novērots (Xu et al., 2008). Atbalstot tiešās aktivācijas hipotēzi, ir pierādīts, ka IgAN pacientu mandeļu B šūnas LPS stimulācijas laikā ražo palielinātu IgA daudzumu (Liu et al., 2011). Tādējādi LPS var ietekmēt vairākus B šūnu aktivācijas posmus, ne tikai inducējot klases maiņu un IgA ražošanu, bet arī regulējot IgA glikozilāciju. Alternatīvs skaidrojums novērotajai korelācijai starp IgA⁺CD27⁺ B šūnām un LPS varētu būt tāds, ka abi rādītāji ir paaugstināti zarnu iekaisuma dēļ, kas var veicināt IgA⁺CD27⁺ B šūnu veidošanos un palielināt zarnu sienas caurlaidību. Papildinot ideju, ka gļotādas var būt šo IgA ekspresējošo B šūnu izcelsmes vieta, IgAN pacientiem novērots paaugstināts IgA⁺ B šūnu biežums, kuri ekspresē gļotādas marķieri CC ķīmokīna receptoru 9 (CCR9) (Sallustio et al., 2021a). Tonsilektomija, kas IgAN pacientiem var dot zināmu terapeitisku labumu (Hirano et al., 2019), potenciāli var likvidēt vietu, kur šīs B šūnas veidojas vai uz kuru tās migrē (Wu et al., 2013). Tas var arī palīdzēt izskaidrot, kāpēc medikamenti, kas iedarbojas uz B šūnām, IgAN gadījumā nerāda pārliecinošu efektu, neskatoties uz B šūnu centrālo lomu patogēnēzē – gļotādu nišas var saglabāt ievērojamu priekšteču šūnu daļu, kuru terapijas līdzekļi efektīvi neietekmē (Lafayette et al., 2017). Nesenie pierādījumi par budesonīda slimību modificējošo iedarbību IgAN gadījumā vēl vairāk apstiprina gļotādas imunitātes nozīmi imūnpatogēnēzes procesā (Smerud et al., 2011).

Mūsu IgAN pacientu kohortā vīriešu skaits, kā arī vecums un KMI atbilda tam, kas aprakstīts citos ar IgAN saistītos pētījumos. Klīniski pacientiem novērota neliela proteinūrija, tomēr viņu aGFA bija zemāks salīdzinājumā ar citiem pētījumiem, kuros tika analizētas B šūnas IgAN pacientiem (Sallustio et al., 2021b; Wang et al., 2014). Jāatzīmē, ka viens no pētījuma ierobežojumiem ir tāds, ka mūsu kohorta sastāvēja pilnībā no gaišādainajiem Austrumeiropas iedzīvotājiem, līdz ar to B šūnu aktivācijas ceļi vēl jāizpēta ne-eiropiešu populācijās.

Tagad, kad esam identificējuši novirzes B šūnu diferenciācijas ceļos pie IgAN, var izvirzīt turpmākos jautājumus. Galvenie jautājumi joprojām ir par IgA ekspresējošu plazmablastu priekšteču aktivācijas vietu un ilgtermiņa lokalizāciju: vai šīs šūnas veidojas un saglabājas gļotādu audos, kaulu smadzenēs vai abās vietās, un vai šis modelis ir vienmērīgs IgAN pacientiem? Vai ir iespējams identificēt specifiskus mērķus, lai selektīvi mazinātu patogēno IgA⁺CD27⁺ B šūnu diferenciāciju? Kādi antigēni aktivē IgA ekspresējošās B šūnas – uztura vai mikroorganismu komponenti; cik daudzveidīga ir individuāla IgA atbilde vai pacientu starpā?

Lai izpētītu, vai zarnu mikroorganismu sastāvs varētu ietekmēt IgA ekspresējošas B šūnas, mēs analizējām IgAN pacientu zarnu mikrobioma īpatnības. Tas bija neeksperimentāls pētījums, kas neuzrādīja cēloņsakarības starp novērojumiem. Mūsu rezultāti sakrita ar iepriekšējiem pētījumiem par zarnu mikrobiomu Latvijas populācijā, kuros *Prevotella* tika identificēta kā visbiežāk sastopamā ģints un tika novērots līdzīgs mikroorganismu kopienas sastāvs gan IgAN, gan veselās kontroles grupās. Augstā *Prevotella* biežuma iespējamais iemesls ir augsts augu izcelsmes un šķiedrvielām bagātā uztura patēriņš. Interesanti, ka mūsu Latvijas kohortas dati ir līdzīgi datiem no nerietumnieciskām populācijām (Indija, Peru, Tanzānija un Madagaskara) (De Filippis et al., 2019). Savukārt rietumniecisko populāciju, piemēram, Amerikas Savienoto Valstu un Spānijas, kuru uzturā dominē tipisks Rietumu diētas modelis (bagāts ar olbaltumvielām un taukiem, bet nabadzīgs uz augu šķiedrvielām), zarnu mikrobioma sastāvā galvenokārt ir *Bacteroides* un *Ruminococcus*, savukārt *Prevotella* ir retāk izplatīta (Prasoodanan et al., 2021).

Saskaņā ar metaanalīzi par zarnu mikrobioma īpašībām IgAN pacientiem, kurā tika apkopoti 11 šķērsgriezuma pētījumi un analizēti 652 indivīdi, dažādu pētījumu rezultātos netika novērotas konsekvantas nozīmīgas atšķirības noteiktu baktēriju sastopamībā. Piemēram, *Bacteroides* ģints bija relatīvi biežāk izplatīta IgAN pacientiem trijos pētījumos, retāk trijos pētījumos un bez būtiskām atšķirībām četros pētījumos. Līdzīgi nepārliciecināmi pierādījumi tika iegūti par *Streptococcus*, ar paaugstinātu biežumu IgAN pacientiem divos pētījumos, samazinātu vienā pētījumā un bez būtiskām izmaiņām astoņos pētījumos (Han et al., 2022).

Mūsu pētījuma diferenciālā īpatsvara analīze atklāja, ka *Butyrococcus* un *Eubacterium rectale* (*Agathobacter rectalis*) IgAN pacientiem bija mazākā daudzumā nekā veselām kontroles grupas dalībniekiem. Abas šīs baktērijas producē sviestskābi no ogļhidrātiem (Geirnaert et al., 2014). *E. rectale* pārsvarā kolonizē gļotādas slāni, tādējādi palielinot sviestskābes biopieejamību resnās zarnas epitēlija šūnām (El Aidy et al., 2013). Sviestskābe veicina zarnu barjeras funkciju, nostiprinot ciešās šūnu saites, stimulējot mucīna un antimikrobiālo peptīdu veidošanos, kā arī ir būtiska CD4⁺ regulējošo T-šūnu (Treg) diferenciācijai, kas nomāc imūnās atbildes reakcijas (Furusawa et al., 2013; Riviere et al., 2016). Saskaņā ar Yang et al. datiem Treg šūnu skaits IgAN pacientiem ir samazināts (Yang et al., 2015). Turklāt *Agathobacter rectalis* bija visizplatītākā baktērija pacientiem ar neprogresējošu slimības gaitu, kam ir labvēlīga prognoze. Šie rezultāti uzsver iespējamo terapeitisko ieguvumu no sviestskābi saturošiem uztura bagātinātājiem.

Sviestskābi producējošās baktērijas pārsvarā ir lēni augoši anaerobi, un to samazināto daudzumu var ietekmēt urēmiskie toksīni, zarnu gļotādas iekaisums un citu mikrobiālo sugu īpatsvars. IgAN pacientu zarnu mikrobiomā mēs novērojam paaugstinātu mucīnu noārdošo

baktēriju (*Akkermansia muciniphila*) relatīvo daudzumu. Šī gramnegatīvā baktērija ir svarīgs zarnu imūnsistēmas modulators – tā stimulē citokīnu, piemēram, IL-10, izdalīšanos un pastiprina sekretorā IgA produkciju (Rodrigues et al., 2022). Vēl viens nesens pētījums atklāja, ka *Akkermansia muciniphila* spēj atbrīvot glikozilgrupu no IgA1 (deglikozilēt) gan *in vitro*, gan peļu zarnu lūmenā, radot jaunus epitopus, kurus atpazīst autoreaktīvās IgG antivielas IgAN pacientu serumā. Pēc deglikozilēšanas peles zarnās IgA1 izgāja cauri zarnu epitēlijam, nonāca asinsritē un pēc tam izgulsnējās nieru kamoliņos (Gleeson et al., 2024).

Mēs nekonstatējām būtiskas atšķirības zarnu mikroba daudzveidībā starp IgAN pacientiem un veselīgiem indivīdiem. Šie rezultāti liecina, ka IgAN patogēnēzē, iespējams, izšķiroša loma nav pašam mikrobioma sastāvam vai mikrobiālai daudzveidībai, bet gan hipotētiski mikroorganismu kopienas funkcionālajām izmaiņām.

IgAN pacientiem tika konstatēta paaugstināta nukleozīdu (adenozīna, guanozīna un inozīna) biosintēze. Ārpusšūnu adenoīna līmenis pieaug zarnu iekaisuma laikā. Viens no galvenajiem zarnu iekaisuma attīstības veicinošajiem faktoriem ir zarnu barjeras disfunkcija, kas saistīta ar mikrobioma sastāva izmaiņām, baktēriju infiltrāciju, šūnu savienojumu bojājumu, gļotu slāņa zudumu un skābuma palielināšanos. Tas veicina ATP izdalīšanos no bojātajām šūnām, kas tālāk tiek pārveidots par brīdinājuma molekulu – adenoīnu (Stepanova & Aherne, 2024). Adenoīns ir spēcīgs endogēns pretiekaisuma līdzeklis, kas regulē iekaisuma šūnu darbību, saistoties ar specifiskiem receptoriem uz limfocītu virsmas, kavējot Th17 un stimulējot Treg diferenciāciju (Hasko & Cronstein, 2013). Inozīns veidojas adenoīna noārdīšanās procesā, un ir pierādīts, ka tam ir spēcīga pretiekaisuma iedarbība, kas saistīta ar adenoīna receptoru aktivāciju (Gomez & Sitkovsky, 2003). Guanoīns ir būtiska nukleotīdu sastāvdaļa un ir nepieciešams DNS un RNS sintēzei (Balan et al., 2019). Šie procesi ir īpaši svarīgi strauji dalošām šūnām, piemēram, imūnās sistēmas šūnām (limfocītiem un plazmas šūnām), kurām imūnās atbildes laikā nepieciešams liels nukleotīdu daudzums, lai nodrošinātu proliferāciju. Limfocīti un plazmas šūnas aktivācijas un proliferācijas laikā ir ļoti metaboliski aktīvas, jo tās ražo antivielas un veicina imūnās reakcijas. Pieaugošais guanoīns un citu purīna nukleotīdu pieprasījums šajās šūnās ir cieši saistīts ar to lomu imūnās aktivācijas un iekaisuma procesos, jo īpaši tādos apstākļos kā IgAN, kur novērojamas patoloģiskas imūnās atbildes.

Vēl viens ceļš, kas iesaistīts proliferatīvos un iekaisuma procesos, glikolīze no glikozes-6-fosfāta, IgAN pacientiem bija aktīvāks nekā veselīgiem kontroles grupas dalībniekiem. Glikolīze ir centrālais enerģijas ražošanas ceļš, un ir zināms, ka enerģijas pieprasījums pieaug šūnās, kas aktīvi dalās (Ghazi et al., 2019).

4-hidroksifenilacetāta noārdīšanās ceļš bija izteiktāks veselīgiem kontroles grupas dalībniekiem nekā IgAN pacientiem. 4-hidroksifenilacetāts ir gala produkts aromātisko

aminoskābju fermentācijas laikā, īpaši L-tirozīna noārdīšanās ceļā, kuru veic vairākas *Escherichia coli* sugas, rezultātā veidojot piruvātu un sukcinātu (Kim et al., 2025). Paaugstinātu sukcināta veidošanos zarnās veicina olbaltumvielām bagāts uzturs (Tan et al., 2022). Parasti pacientiem ar hronisku nieru slimību tiek ieteikts samazināt olbaltumvielu daudzumu uzturā, kas savukārt var izskaidrot potenciāli lielāku olbaltumvielu patēriņu veseliem indivīdiem.

Vēl viens vielmaiņas ceļš, kas IgAN pacientiem bija samazināts, ir sulfohinovozes noārdīšanās I ceļš. Sulfohinoze ir no augiem iegūts monosaharīds, kas kalpo kā sulfolipīdu polārā grupa fotosintētiskajās membrānās. Šī ceļa galaprodukti ir glicerona fosfāts, kas šūnā nodrošina enerģiju caur glikolīzi no glikozes-6-fosfāta, kā arī 2,3-dihidroksipropāna-1-sulfonāts, ko lielākoties fermentē *E. rectale* (Hanson et al., 2021). Pēc tam tas tiek izvadīts un var tikt tālāk noārdīts ar citu baktēriju starpniecību, kalpojot kā sulfītu avots (Burrichter et al., 2018). Kā minēts iepriekš, mūsu pētījumā *E. rectale* bija mazāk sastopama IgAN pacientiem, kas apstiprina iespējamību, ka sulfohinovozes noārdīšanās šiem pacientiem ir aizkavēta. Līdz šim nav citu IgAN pētījumu, kas demonstrētu šāda signālceļa izmaiņas.

Iepriekšējos pētījumos tika analizēts baktēriju sastāvs IgAN pacientiem ar progresējošo un neprogresējošo slimības gaitu. NP tika definēti kā pacienti, kuriem pēc sešiem mēnešiem bija novērojams > 50 % proteinūrijas samazinājums un stabila nieru funkcija (aGFĀ), salīdzinot ar izejas rādītājiem (De Angelis et al., 2014), tomēr vielmaiņas ceļu atšķirības starp šīm grupām netika pētītas. Mūsu pētījumā slimības progresijas ātrums tika izvērtēts, pamatojoties uz nozīmīgu GFĀ samazinājumu par 5 ml/min./1,73 m²/gadā vidēji 24 mēnešu novērošanas periodā, kas parasti ir neatgriezenisks. Vielmaiņas ceļi, kas biežāk bija sastopami pacientiem ar progresējošo slimības gaitu, bija saistīti ar fosfolipīdu sintēzi, kas ir būtiska baktēriju šūnu membrānas sastāvdaļa. Gramnegatīvām baktērijām šūnu apvalku veido trīs atšķirīgi slāņi: iekšējā membrāna, periplazmatiska telpa ar peptidoglikāna šūnapvalku un ārējā membrāna, kuras iekšējā lapiņa satur fosfolipīdus, bet ārējā lapiņa pārsvarā sastāv no lipopolisaharīdiem (Morris & Mitchell, 2023). Fosfolipīdu sintēze var tikt regulēta, lai palielinātu baktēriju izdzīvošanu, kolonizāciju un konkurētspēju.

Mikrobioma pētījuma daļas galvenais ierobežojums ir nelielais izlases lielums, kas ierobežo iespējas identificēt jaucējfaktorus un noteikt retāk sastopamas mikrobu taksonomiskās vienības. Izmantojot PERMANOVA metodi, lai atlasītu kovariātus diferenciālajai īpatsvara un vielmaiņas ceļu analīzei, mēs atzīstam, ka šī metode neņem vērā iespējamās nemērītos jauktos faktorus. Faktori, kas netika fiksēti mūsu datu kopā, bija, piemēram, uztura paradumi, medikamentu lietošana vai vides ietekmes, kas var ietekmēt mikrobioma sastāvu un funkcijas, līdz ar to arī mūsu rezultātus. Ņemot vērā pārlicecinošos pierādījumus par ar IgAN saistītām

izmaiņām zarnu mikrobioma funkcionālajos ceļos, turpmākie pētījumi varētu gūt labumu no metabolomikas vai metatranskriptomikas datu integrācijas. Papildus tam svarīgs nākotnes pētījumu virziens ir uztura bagātinātāju un probiotiku ietekmes izpēte uz IgAN progresēšanu un imūnās sistēmas šūnu izmaiņām.

Butirāta aizsargājošā iedarbība ir novērota dažādās nieru slimībās: cisplatīna izraisītā nieru bojājumā (Favero et al., 2024), diabētiskajā nefropātijā (Zhou et al., 2022), ar aptaukošanos saistītajā glomerulopātijā (Shi et al., 2025), kā arī sepses izraisītā nieru bojājuma modelī, kurš tika radīts ar lipopolisaharīdu ievadīšanu. Pēdējā modelī nātrija butirāts izrādīja nefroprotektīvu efektu, modulējot TLR 2/4 signālceļu, lai regulētu β -defensīna 2 ekspresiju, tādējādi samazinot iekaisumu (Dou et al., 2022). Cits iespējamais mehānisms ietver gan piroptozes, gan apoptozes inhibīciju (Tian et al., 2025). Tā kā zarnu baktēriju izcelsmes lipopolisaharīdi veicina IgAN patoģenēzi, stimulējot IgA1 pārprodukciju un hipogalaktozidāciju caur TLR4 aktivāciju (Zhu et al., 2024), un ņemot vērā samazināto butirātu producējošo baktēriju daudzumu IgAN pacientiem, turpmākajos pētījumos būtu jāpēta potenciālie butirāta kā uztura bagātinātāja terapeitiskie ieguvumi IgAN ārstēšanā.

Mēs esam ziņojuši par asociācijām starp specifiskām mikroorganismu taksonomiskām vienībām IgAN pacientiem salīdzinājumā ar veseliem indivīdiem, kā arī saistībā ar nieru funkcijas pasliktināšanos. Tomēr šādas asociācijas nenozīmē cēloņsakarību. Joprojām būtiski ir noteikt, vai šīs mikrobioma izmaiņas ir cēloņfaktors IgAN attīstībā vai arī tās ir slimības procesa sekas. Lai precizētu zarnu mikrobioma izmaiņu lomu slimības patoģenēzē, nepieciešama dzīvnieku modeļu un klīnisko pētījumu kombinācija. Šie pētījumi jāveic, ņemot vērā diētas nozīmīgo ietekmi uz zarnu–nieru asi.

Vai novērotās izmaiņas zarnu mikrobiomā un B šūnās varētu būt HNS sekas? Lai mazinātu iespējamo HNS saistīto efektu, tika izslēgti pacienti, kuri saņēma nieru aizstājterapiju. Attiecībā uz B šūnām – HNS kopumā ir saistīta ar samazinātu atmiņas B šūnu daudzumu un traucētu adaptīvo imunitāti. Tomēr specifisks modelis ar palielinātu naivo B šūnu daudzumu un izmainītu atmiņas šūnu diferenciāciju, kas noved pie Gd-IgA1 sekretējošo plazmablastu veidošanās, ir raksturīgs tieši IgAN. Dažas zarnu mikrobioma izmaiņas patiešām var būt saistītas ar HNS; tomēr Gd- IgA1 bija galvenais faktors, kas izskaidroja lielāko daļu novēroto vielmaiņas ceļu variāciju, kas liek domāt, ka šīs izmaiņas varētu būt raksturīgas tieši IgAN pacientiem. Nākotnes mikrobioma pētījumos būtu jāpiemēro detalizēti iekļaušanas kritēriji, lai mazinātu iespējamo jaucējfaktoru iedarbību, piemēram, iekļaujot tikai HNS pacientus ar eGFR > 60 ml/min.

Mūsu IgAN pētniecības grupa plāno turpināt slimības patoģenēzes izpēti, integrējot B šūnu sastāva analīzi ar īpašu uzsvāru uz iepriekš aprakstītām IgA+CD27⁺ B šūnām un zarnu

mikrobioma funkcionālo ceļu mijiedarbību. Nākamais projekts apvienos plūsmas citometriju, transkriptomiku un konfokālo mikroskopiju ar gļotādām asociētajos limfoīdajos audos – konkrēti Peijera plātnītēs, lai identificētu faktorus, kas veicina izmainītu B šūnu aktivāciju IgAN gadījumā. Tiks izmantotas B šūnu kultūras un *in vitro* Peijera plātnīšu modeļi, lai pētītu, kas nosaka Gd-IgA1+ B šūnu un antivielas sekretējošo šūnu diferenciāciju. Kopumā šī pētījuma mērķis ir aizpildīt būtisku zināšanu trūkumu par B šūnu izcelsmi un diferenciācijas ceļiem, kas iesaistīti IgAN patoģenēzē.

Secinājumi

1. Pacientiem ar IgAN, kuriem ir tādi riska faktori kā vīriešu dzimums, augstāki tubulārās atrofijas / intersticiālās fibrozes rādītāji un paaugstināts diastoliskais asinsspiediens, ir nelabvēlīga prognoze ar nieru funkcijas pasliktināšanos un progresējošu nieru mazspēju piecu gadu periodā.
2. Novērotais un prognozētais risks, izmantojot IIgANPT, bija līdzīgs, kas norāda, ka šo rīku var efektīvi lietot Latvijas populācijā.
3. Glotādas imunitātes disregulācija veicina palielinātu naivo B šūnu aktivāciju ģerminatīvajos centros, kā rezultātā veidojas IgA+CD27-CD21+ B šūnas un turpmāk IgA producējošie plazmablasti.
4. IgAN pacientiem novērojams samazināts sviestskābi producējošo baktēriju daudzums, kas ir būtiski zarnu barjeras funkcijas uzturēšanai. Šo pacientu zarnu mikrobioma funkcionālais profils liecina par imūnās sistēmas aktivāciju un iekaisumu, ko apstiprina paaugstināta aktivitāte dažādos nukleozīdu biosintēzes ceļos.

Priekšlikumi

Lai uzlabotu IgAN diagnostiku, urīna analīze kā skrīninga metode jāveic vismaz vienu reizi pieaugušajiem vecumā no 18 līdz 30 gadiem, kā arī visiem pacientiem ar arteriālo hipertensiju. Pacientiem ar jebkādu proteinūrijas vai hematūrijas pakāpi būtu jāizvērtē nepieciešamība pēc nieru biopsijas un jānodrošina turpmāka novērošana pie ārsta.

Riska izvērtēšana, balstoties uz klīniskajiem faktoriem un IgANPT rezultātiem, jāveic diagnozes noteikšanas brīdī un ik pēc sešiem mēnešiem turpmākās novērošanas laikā. Pacientiem ar augstāku slimības progresijas risku jāuzsāk intensīvākas dzīvesveida izmaiņas, tai skaitā uztura rekomendācijas, kā arī jānodrošina optimāla asinsspiediena kontrole un maksimāli panesama angiotensīna II aktivitāti inhibējošu līdzekļu lietošana.

Publikāciju, ziņojumu un patentu saraksts par promocijas darba tēmu

Publikācijas

1. **Popova, A.**, Racenis, K., Briviba, M., Saksis, R., Saulite, M., Slisere, B., Berga-Svitina, E., Oleinika, K., Saulite, A. J., Seilis, J., Kroica, J., Cerneviskis, H., Petersons, A., Klovins, J., Lejnieks, A., & Kuzema, V. (2025). Reduced butyrate-producing bacteria and altered metabolic pathways in the gut microbiome of immunoglobulin A nephropathy patients. *Sci Rep*, 15(1), 28011. doi: 10.1038/s41598-025-13629-5
2. **Popova, A.**, Slisere, B., Racenis, K., Kuzema, V., Karklins, R., Saulite, M., Seilis, J., Saulite, A. J., Vasilvolfa, A., Vaivode, K., Pjanova, D., Kroica, J., Cerneviskis, H., Lejnieks, A., Petersons, A., Oleinika, K. (2025). IgA class-switched CD27–CD21+ B cells in IgA nephropathy. *Nephrology Dialysis Transplantation*, Volume 40, Issue 3, March 2025, 505–515. doi: 10.1093/ndt/gfae173
3. Saulīte, A. J., **Popova, A.**, Erts, R., Rācenis, K., Kučāne, L., Pētersons, A., Laurinavičius, A., Čerņevskis, H., Kuzema, V. (2021). Renal Survival and Validation of Novel International Immunoglobulin A Nephropathy Prediction Tool in Latvian Population. Preliminary Data. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural. Exact. and Applied Sciences*. 75(5). 379–386. doi: 10.2478/prolas-2021-0055.
4. Kučāne, L., **Popova, A.**, Kuzema, V., Lejnieks, A., Pētersons, A. (2020). Epidemiological, Clinical and Morphological Characteristics of Immunoglobulin A Nephropathy in Latvia. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural. Exact. and Applied Sciences*. 74(4): 227–231. doi: 10.2478/prolas-2020-0036.

Uzstāšanās starptautiskajā zinātniskajā konferencē ar mutisku referātu un publicētas tēzes *Nephrology Dialysis Transplantation* žurnālā

1. **Popova, A.** Halturina, M., Rācenis, K., Saulīte, M., Seilis, J., Saulite, A. J., Petersons, A., Kroiča, J., Cerneviskis, H., Oleinika, K., Šlisere, B., Lejnieks, A., Kuzema, V. (2023). Montreal Cognitive Assessment (MOCA) and Dysmorphic Red Blood Cells in Patients with Immunoglobulin a Nephropathy. *Nephrology Dialysis Transplantation*. vol. 38. no. Suppl.1. 5133. I338–I339. doi: 10.1093/ndt/gfad063c_5133
2. **Popova, A.**, Rācenis, K., Kuzema, V., Saulīte, A. J., Saulīte, M., Broks, R., Oleinika, K., Šlisere, B., Petersons, A., Laurinavičius, A., Cerneviskis, H., Lejnieks, A., Kroiča, J. (2022). Leucine-Rich Alpha-2-Glycoprotein as a Potential Marker of Mesangial Cell Proliferation in Immunoglobulin a Nephropathy. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 37(Supplement_3). i293–i293. doi: 10.1093/ndt/gfac070.019
3. **Popova, A.**, Rācenis, K., Saulite, A. J., Vasilvolfa, A., Pētersons, A., Čerņevskis, H., Kuzema, V. (2021). Bedside Urine Sediment Examination in Immunoglobulin A Nephropathy Patients Performed by Nephrologists. *Nephrology Dialysis Transplantation*. Volume 36. Issue Supplement_1. doi: 10.1093/ndt/gfab104.0077

Uzstāšanās starptautiskajā zinātniskajā konferencē ar mutisku referātu

1. **Popova, A.** Are There Specific Changes in Microbial Composition in Patients with Immunoglobulin A Nephropathy? Rīga Stradiņš University International Research Conference on Medical and Health Care Sciences “Knowledge for Use in Practice”. Abstracts. 26–28 March 2025. 122.
2. **Popova, A.** Gut Microbiome Characteristics in IgA nephropathy patients. XVII Baltic Nephrology Conference. 4 October 2024, Tartu, Estonia.
3. **Popova, A.**, Rācenis, K., Saulīte, M., Seilis, J., Šlisere, B., Oleinika, K., Saulīte, J. A., Kuzema, V., Kroiča, J., Lejnieks, A., Pētersons, A., Čerņevskis, H. (2023). The Role of Microbiome in Pathogenesis of Immunoglobulin A Nephropathy. Rīga Stradiņš University International Research Conference on Medical and Health Care Sciences “Knowledge for Use in Practice”. Abstracts. 27–31 March 2023.

4. Halturina, M., **Popova, A.**, Rācenis, K., Saulīte, M., Pētersons, A., Saulīte, A. J., Seilis, J., Čerņevskis, H., Kroiča, J., Lejnieks, A., Oļeiņika, K., Šlisere, B., Kuzema, V. (2022). Montreal Cognitive Assessment (MoCA) for Cognitive Screening in Patients with IgA Nephropathy compared with a control group. XVI Baltic Nephrology Conference. Abstracts. 6–8 October 2022. 49, Latvia.
5. **Popova, A.**, Rācenis, K., Šlisere, B., Oleinika, K., Vasiļvolfa, A., Saulīte, A. J., Kuzema, V., Kroiča, J., Lejnieks, A., Berga-Švītiņa, E., Pētersons, A., Čerņevskis, H. (2021). Dissecting the interplay between intestinal dysbiosis and B cell function in the pathogenesis of immunoglobulin A nephropathy. Rīga Stradiņš University International Research Conference on Medical and Health Care Sciences “Knowledge for Use in Practice”. Abstracts. 22–26 March 2021. 434.
6. **Popova, A.** IgA nephropathy research in Latvia – national project. XV Baltic Nephrology Conference “UpToDate in Nephrology, Dialysis and Kidney Transplantation”. 12 December 2020, Lithuania.

Tēzes starptautiskās konferencēs

1. Saulīte, M., Matusevica, L., **Popova, A.**, Kuzema, V., Oļeiņika, K., Šlisere, B., Pētersons, A., Kroiča, J., Lejnieks, A., Rācenis, K. 2025. Risk Factors for IgA Nephropathy Progression: Insights beyond Galactose-Deficient IgA1 Levels. Rīga Stradiņš University International Research Conference on Medical and Health Care Sciences “Knowledge for Use in Practice”. Abstracts. 26–28 March 2025. 123.
2. Saulīte, M., Matuseviča, L., **Popova, A.**, Kuzema, V., Oļeiņika, K., Šlisere, B., Pētersons, A., Kroiča, J., Rācenis, K. 2024. The Ambiguous Role of Serum Gd-IgA1 in IgA Nephropathy: An Evaluation of Its Biomarker Potential. XVII Baltic Nephrology Conference. 4 October 2024, Tartu, Estonia.
3. Rācenis, K., Saulīte, A. J., **Popova, A.**, Saulīte, M., Kroiča, J., Petersons, A., Čerņevskis, H., Lejnieks, A., Oļeiņika, K., Šlisere, B., Seilis, J., Kuzema, V. (2022). Sars-COV-2 Vaccination DID Not Affect the Clinical Course of IgA Nephropathy in Latvian Adult Cohort. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 37(Supplement_3). i145–i146. doi: 10.1093/ndt/gfac067.012
4. Halturina, M., **Popova, A.** (2022). Montreal Cognitive Assessment (MoCA) for Cognitive Screening in Patients with IgA Nephropathy. 17th Warsaw International Medical Congress. 06–08 May 2022. 100.
5. **Popova, A.**, Saulīte, A. J., Rācenis, K., Vasiļvolfa, A., Kroiča, J., Pētersons, A., Lejnieks, A., Oleinika, K., Čerņevskis, H., Kuzema, V. (2021). Serum complement C3 and C4 levels: prognostic factors in immunoglobulin A nephropathy. Rīga Stradiņš University International Research Conference on Medical and Health Care Sciences “Knowledge for Use in Practice”. Abstracts. 22–26 March 2021. 524.
6. Šlisere, B., **Popova, A.**, Rācenis, K., Vasiļvolfa, A., Berga-Švītiņa, E., Imša, K., Saulīte, A. J., Kuzema, V., Laurinavicius, A., Lejnieks, A., Kroiča, J., Pētersons, A., Čerņevskis, H., Oleinika, K. (2021). Altered B-cell populations in IgA nephropathy. Rīga Stradiņš University International Research Conference on Medical and Health Care Sciences “Knowledge for Use in Practice”. Abstracts. 22–26 March 2021. 565.
7. Bernšteine, A. J., **Popova, A.**, Kučāne, L., Rācenis, K., Kuzema, V., Pētersons, A. (2020). Immunoglobulin A nephropathy prediction tool validation in Latvian population. XV Baltic Nephrology Conference UpToDate in Nephrology. Dialysis and Kidney Transplantation. Abstracts. 8. Lithuania.
8. Šlisere, B., **Popova, A.**, Rācenis, K., Vasiļvolfa, A., Berga-Švītiņa, E., Kuzema, V., Lejnieks, A., Kroiča, J., Pētersons, A., Čerņevskis, H., Oļeiņika, K. (2020). Characterization of peripheral B-cells in IgA nephropathy. XV Baltic Congress in Laboratory Medicine. Riga. Latvia.
9. Saulīte, A. J., **Popova, A.**, Kučāne, L., Kuzema, V., Pētersons, A. (2020). Kidney survival analysis in immunoglobulin A nephropathy patients. International Scientific Conference of the University of Latvia. 12 March 2020. 171.
10. Babičeva, P., **Popova, A.** (2021). Assessment of dietary habits in patients with immunoglobulin A nephropathy. Warsaw International Medical Congress. 29–30 May 2021. 68.

Literatūras un avotu saraksts

1. Bagchi, S., Upadhyay, A. D., Barwad, A., Singh, G., Subbiah, A., Yadav, R. K., Mahajan, S., Bhowmik, D., & Agarwal, S. K. (2022). The International IgA Nephropathy Network Prediction Tool Underestimates Disease Progression in Indian Patients. *Kidney Int Rep*, 7(6), 1210–1218. <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2022.03.016>
2. Balan, M., Chakraborty, S., & Pal, S. (2019). Signaling Molecules in Posttransplantation Cancer. *Clin Lab Med*, 39(1), 171–183. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2018.10.006>
3. Barbour, S. J., Coppo, R., Zhang, H., Liu, Z. H., Suzuki, Y., Matsuzaki, K., Katafuchi, R., Er, L., Espino-Hernandez, G., Kim, S. J., Reich, H. N., Feehally, J., Cattran, D. C., & International Ig, A. N. N. (2019). Evaluating a New International Risk-Prediction Tool in IgA Nephropathy. *JAMA Intern Med*, 179(7), 942–952. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2019.0600>
4. Bon, G., Jullien, P., Masson, I., Sauron, C., Dinic, M., Claisse, G., Pelaez, A., Thibaudin, D., Mohey, H., Alamartine, E., Mariat, C., & Maillard, N. (2023). Validation of the international IgA nephropathy prediction tool in a French cohort beyond 10 years after diagnosis. *Nephrol Dial Transplant*, 38(10), 2257–2265. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfad048>
5. Bugatti, S., Vitolo, B., Caporali, R., Montecucco, C., & Manzo, A. (2014). B cells in rheumatoid arthritis: from pathogenic players to disease biomarkers. *Biomed Res Int*, 2014, 681678. <https://doi.org/10.1155/2014/681678>
6. Burrichter, A., Denger, K., Franchini, P., Huhn, T., Muller, N., Spiteller, D., & Schleheck, D. (2018). Anaerobic Degradation of the Plant Sugar Sulfoquinovose Concomitant With H(2)S Production: Escherichia coli K-12 and Desulfovibrio sp. Strain DF1 as Co-culture Model. *Front Microbiol*, 9, 2792. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02792>
7. Cerutti, A. (2008). The regulation of IgA class switching. *Nat Rev Immunol*, 8(6), 421–434. <https://doi.org/10.1038/nri2322>
8. Coppo, R., D'Arrigo, G., Tripepi, G., Russo, M. L., Roberts, I. S. D., Bellur, S., Cattran, D., Cook, T. H., Feehally, J., Tesar, V., Maixnerova, D., Peruzzi, L., Amore, A., Lundberg, S., Di Palma, A. M., Gesualdo, L., Emma, F., Rollino, C., Praga, M., . . . Group, E.-E. I. W. (2020). Is there long-term value of pathology scoring in immunoglobulin A nephropathy? A validation study of the Oxford Classification for IgA Nephropathy (VALIGA) update. *Nephrol Dial Transplant*, 35(6), 1002–1009. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfy302>
9. Coppo, R., Troyanov, S., Bellur, S., Cattran, D., Cook, H. T., Feehally, J., Roberts, I. S., Morando, L., Camilla, R., Tesar, V., Lunberg, S., Gesualdo, L., Emma, F., Rollino, C., Amore, A., Praga, M., Feriozzi, S., Segoloni, G., Pani, A., . . . Group, V. s. o. t. E.-E. I. W. (2014). Validation of the Oxford classification of IgA nephropathy in cohorts with different presentations and treatments. *Kidney Int*, 86(4), 828–836. <https://doi.org/10.1038/ki.2014.63>
10. De Angelis, M., Montemurno, E., Piccolo, M., Vannini, L., Lauriero, G., Maranzano, V., Gozzi, G., Serrazanetti, D., Dalfino, G., Gobbetti, M., & Gesualdo, L. (2014). Microbiota and metabolome associated with immunoglobulin A nephropathy (IgAN). *PLoS One*, 9(6), e99006. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099006>
11. De Filippis, F., Pasolli, E., Tett, A., Tarallo, S., Naccarati, A., de Angelis, M., Neviani, E., Cocolin, L., Gobbetti, M., Segata, N., & Ercolini, D. (2019). Distinct Genetic and Functional Traits of Human Intestinal Prevotella copri Strains Are Associated with Different Habitual Diets. *Cell Host Microbe*, 25(3), 444–453 e443. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.004>
12. Deng, W., Tan, X., Zhou, Q., Ai, Z., Liu, W., Chen, W., Yu, X., & Yang, Q. (2018). Gender-related differences in clinicopathological characteristics and renal outcomes of Chinese patients with IgA nephropathy. *BMC Nephrol*, 19(1), 31. <https://doi.org/10.1186/s12882-018-0829-1>
13. Dou, X., Yan, D., Ma, Z., Gao, N., & Shan, A. (2022). Sodium butyrate alleviates LPS-induced kidney injury via inhibiting TLR2/4 to regulate rBD2 expression. *J Food Biochem*, 46(7), e14126. <https://doi.org/10.1111/jfbc.14126>

14. El Aidy, S., Van den Abbeele, P., Van de Wiele, T., Louis, P., & Kleerebezem, M. (2013). Intestinal colonization: how key microbial players become established in this dynamic process: microbial metabolic activities and the interplay between the host and microbes. *Bioessays*, 35(10), 913–923. <https://doi.org/10.1002/bies.201300073>
15. Favero, C., Pintor-Chocano, A., Sanz, A., Ortiz, A., & Sanchez-Nino, M. D. (2024). Butyrate promotes kidney resilience through a coordinated kidney protective response in tubular cells. *Biochem Pharmacol*, 224, 116203. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2024.116203>
16. Furusawa, Y., Obata, Y., Fukuda, S., Endo, T. A., Nakato, G., Takahashi, D., Nakanishi, Y., Uetake, C., Kato, K., Kato, T., Takahashi, M., Fukuda, N. N., Murakami, S., Miyauchi, E., Hino, S., Atarashi, K., Onawa, S., Fujimura, Y., Lockett, T., . . . Ohno, H. (2013). Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature*, 504(7480), 446–450. <https://doi.org/10.1038/nature12721>
17. Geddes, C. C., Rauta, V., Gronhagen-Riska, C., Bartosik, L. P., Jardine, A. G., Ibels, L. S., Pei, Y., & Cattran, D. C. (2003). A tricontinental view of IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*, 18(8), 1541–1548. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfg207>
18. Geirnaert, A., Steyaert, A., Eeckhaut, V., Debruyne, B., Arends, J. B., Van Immerseel, F., Boon, N., & Van de Wiele, T. (2014). Butyricicoccus pullicaecorum, a butyrate producer with probiotic potential, is intrinsically tolerant to stomach and small intestine conditions. *Anaerobe*, 30, 70–74. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2014.08.010>
19. Ghazi, S., Polesel, M., & Hall, A. M. (2019). Targeting glycolysis in proliferative kidney diseases. *Am J Physiol Renal Physiol*, 317(6), F1531–F1535. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00460.2019>
20. Gleeson, P. J., Benech, N., Chemouny, J., Metallinou, E., Berthelot, L., da Silva, J., Bex-Coudrat, J., Boedec, E., Canesi, F., Bounaix, C., Morelle, W., Moya-Nilges, M., Kenny, J., O'Mahony, L., Saveanu, L., Arnulf, B., Sannier, A., Daugas, E., Vrtovsni, F., . . . Monteiro, R. C. (2024). The gut microbiota posttranslationally modifies IgA1 in autoimmune glomerulonephritis. *Sci Transl Med*, 16(740), eadl6149. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.adl6149>
21. Gomez, G., & Sitkovsky, M. V. (2003). Differential requirement for A2a and A3 adenosine receptors for the protective effect of inosine in vivo. *Blood*, 102(13), 4472–4478. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-11-3624>
22. Haaskjold, Y. L., Lura, N. G., Bjornekleit, R., Bostad, L., Bostad, L. S., & Knoop, T. (2023). Validation of two IgA nephropathy risk-prediction tools using a cohort with a long follow-up. *Nephrol Dial Transplant*, 38(5), 1183–1191. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfac225>
23. Han, S., Shang, L., Lu, Y., & Wang, Y. (2022). Gut Microbiome Characteristics in IgA Nephropathy: Qualitative and Quantitative Analysis from Observational Studies. *Front Cell Infect Microbiol*, 12, 904401. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.904401>
24. Hanson, B. T., Dimitri Kits, K., Loffler, J., Burrichter, A. G., Fiedler, A., Denger, K., Frommeyer, B., Herbold, C. W., Rattei, T., Karcher, N., Segata, N., Schleheck, D., & Loy, A. (2021). Sulfoquinovose is a select nutrient of prominent bacteria and a source of hydrogen sulfide in the human gut. *ISME J*, 15(9), 2779–2791. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-00968-0>
25. Hasko, G., & Cronstein, B. (2013). Regulation of inflammation by adenosine. *Front Immunol*, 4, 85. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00085>
26. Hirano, K., Matsuzaki, K., Yasuda, T., Nishikawa, M., Yasuda, Y., Koike, K., Maruyama, S., Yokoo, T., Matsuo, S., Kawamura, T., & Suzuki, Y. (2019). Association Between Tonsillectomy and Outcomes in Patients With Immunoglobulin A Nephropathy. *JAMA Netw Open*, 2(5), e194772. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2019.4772>
27. Kidney Disease: Improving Global Outcomes Glomerular Diseases Work, G. (2021). KDIGO 2021 Clinical Practice Guideline for the Management of Glomerular Diseases. *Kidney Int*, 100(4S), S1–S276. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2021.05.021>

28. Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., Li, Q., Shoemaker, B. A., Thiessen, P. A., Yu, B., Zaslavsky, L., Zhang, J., & Bolton, E. E. (2025). PubChem 2025 update. *Nucleic Acids Res*, 53(D1), D1516–D1525. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae1059>
29. Kiryluk, K., Novak, J., & Gharavi, A. G. (2013). Pathogenesis of immunoglobulin A nephropathy: recent insight from genetic studies. *Annu Rev Med*, 64, 339–356. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-041811-142014>
30. Lafayette, R. A., Canetta, P. A., Rovin, B. H., Appel, G. B., Novak, J., Nath, K. A., Sethi, S., Tumlin, J. A., Mehta, K., Hogan, M., Erickson, S., Julian, B. A., Leung, N., Enders, F. T., Brown, R., Knoppova, B., Hall, S., & Fervenza, F. C. (2017). A Randomized, Controlled Trial of Rituximab in IgA Nephropathy with Proteinuria and Renal Dysfunction. *J Am Soc Nephrol*, 28(4), 1306–1313. <https://doi.org/10.1681/ASN.2016060640>
31. Launay, P., Grossetete, B., Arcos-Fajardo, M., Gaudin, E., Torres, S. P., Beaudoin, L., Patey-Mariaud de Serre, N., Lehuen, A., & Monteiro, R. C. (2000). Fcα receptor (CD89) mediates the development of immunoglobulin A (IgA) nephropathy (Berger's disease). Evidence for pathogenic soluble receptor-IgA complexes in patients and CD89 transgenic mice. *J Exp Med*, 191(11), 1999–2009. <https://doi.org/10.1084/jem.191.11.1999>
32. Liu, H., Peng, Y., Liu, F., Xiao, W., Zhang, Y., & Li, W. (2011). Expression of IgA class switching gene in tonsillar mononuclear cells in patients with IgA nephropathy. *Inflamm Res*, 60(9), 869–878. <https://doi.org/10.1007/s00011-011-0347-0>
33. Mohr, A. E., Crawford, M., Jasbi, P., Fessler, S., & Sweazea, K. L. (2022). Lipopolysaccharide and the gut microbiota: considering structural variation. *FEBS Lett*, 596(7), 849–875. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.14328>
34. Moriyama, T., Tanaka, K., Iwasaki, C., Oshima, Y., Ochi, A., Kataoka, H., Itabashi, M., Takei, T., Uchida, K., & Nitta, K. (2014). Prognosis in IgA nephropathy: 30-year analysis of 1,012 patients at a single center in Japan. *PLoS One*, 9(3), e91756. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091756>
35. Morris, K. N., & Mitchell, A. M. (2023). Phosphatidylglycerol Is the Lipid Donor for Synthesis of Phospholipid-Linked Enterobacterial Common Antigen. *J Bacteriol*, 205(1), e0040322. <https://doi.org/10.1128/jb.00403-22>
36. Nagy, J., Kovacs, T., & Wittmann, I. (2005). Renal protection in IgA nephropathy requires strict blood pressure control. *Nephrol Dial Transplant*, 20(8), 1533–1539. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfh920>
37. Papasotiriou, M., Stangou, M., Chlorogiannis, D., Marinaki, S., Xydakis, D., Sampani, E., Lioulios, G., Kapsia, E., Zerbala, S., Koukoulaki, M., Moustakas, G., Fokas, S., Dounousi, E., Duni, A., Papadaki, A., Damianakis, N., Bacharaki, D., Stylianou, K., Gakiopoulou, H., . . . Goumenos, D. S. (2022). Validation of the International IgA Nephropathy Prediction Tool in the Greek Registry of IgA Nephropathy. *Front Med (Lausanne)*, 9, 778464. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.778464>
38. Prasoodanan, P. K. V., Sharma, A. K., Mahajan, S., Dhakan, D. B., Maji, A., Scaria, J., & Sharma, V. K. (2021). Western and non-western gut microbiomes reveal new roles of Prevotella in carbohydrate metabolism and mouth-gut axis. *NPJ Biofilms Microbiomes*, 7(1), 77. <https://doi.org/10.1038/s41522-021-00248-x>
39. Riviere, A., Selak, M., Lantin, D., Leroy, F., & De Vuyst, L. (2016). Bifidobacteria and Butyrate-Producing Colon Bacteria: Importance and Strategies for Their Stimulation in the Human Gut. *Front Microbiol*, 7, 979. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00979>
40. Rodrigues, V. F., Elias-Oliveira, J., Pereira, I. S., Pereira, J. A., Barbosa, S. C., Machado, M. S. G., & Carlos, D. (2022). Akkermansia muciniphila and Gut Immune System: A Good Friendship That Attenuates Inflammatory Bowel Disease, Obesity, and Diabetes. *Front Immunol*, 13, 934695. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.934695>

41. Sallustio, F., Curci, C., Chaoul, N., Fonto, G., Lauriero, G., Picerno, A., Divella, C., Di Leo, V., de Angelis, M., Ben Mkaddem, S., Macchia, L., Gallone, A., Monteiro, R. C., Pesce, F., & Gesualdo, L. (2021a). High levels of gut-homing immunoglobulin A⁺ B lymphocytes support the pathogenic role of intestinal mucosal hyperresponsiveness in immunoglobulin A nephropathy patients. *Nephrol Dial Transplant*, 36(9), 1765. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfaa344>
42. Sallustio, F., Curci, C., Chaoul, N., Fonto, G., Lauriero, G., Picerno, A., Divella, C., Di Leo, V., de Angelis, M., Ben Mkaddem, S., Macchia, L., Gallone, A., Monteiro, R. C., Pesce, F., & Gesualdo, L. (2021b). High levels of gut-homing immunoglobulin A⁺ B lymphocytes support the pathogenic role of intestinal mucosal hyperresponsiveness in immunoglobulin A nephropathy patients. *Nephrol Dial Transplant*, 36(3), 452–464. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfaa264>
43. Sato, S., Fujimoto, M., Hasegawa, M., & Takehara, K. (2004). Altered blood B lymphocyte homeostasis in systemic sclerosis: expanded naive B cells and diminished but activated memory B cells. *Arthritis Rheum*, 50(6), 1918–1927. <https://doi.org/10.1002/art.20274>
44. Schimpf, J. I., Klein, T., Fitzner, C., Eitner, F., Porubsky, S., Hilgers, R. D., Floege, J., Groene, H. J., & Rauen, T. (2018). Renal outcomes of STOP-IgAN trial patients in relation to baseline histology (MEST-C scores). *BMC Nephrol*, 19(1), 328. <https://doi.org/10.1186/s12882-018-1128-6>
45. Scionti, K., Molyneux, K., Selvaskandan, H., Barratt, J., & Cheung, C. K. (2022). New Insights into the Pathogenesis and Treatment Strategies in IgA Nephropathy. *Glomerular Dis*, 2(1), 15–29. <https://doi.org/10.1159/000519973>
46. Shi, Y., Xing, L., Zheng, R., Luo, X., Yue, F., Xiang, X., Qiu, A., Xie, J., Russell, R., & Zhang, D. (2025). Butyrate attenuates high-fat diet-induced glomerulopathy through GPR43-Sirt3 pathway. *Br J Nutr*, 133(1), 1–10. <https://doi.org/10.1017/S0007114524002964>
47. Smerud, H. K., Barany, P., Lindstrom, K., Fernstrom, A., Sandell, A., Pahlsson, P., & Fellstrom, B. (2011). New treatment for IgA nephropathy: enteric budesonide targeted to the ileocecal region ameliorates proteinuria. *Nephrol Dial Transplant*, 26(10), 3237–3242. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfr052>
48. Stepanova, M., & Aherne, C. M. (2024). Adenosine in Intestinal Epithelial Barrier Function. *Cells*, 13(5). <https://doi.org/10.3390/cells13050381>
49. Tan, J., Ni, D., Taitz, J., Pinget, G. V., Read, M., Senior, A., Wali, J. A., Elnour, R., Shanahan, E., Wu, H., Chadban, S. J., Nanan, R., King, N. J. C., Grau, G. E., Simpson, S. J., & Macia, L. (2022). Dietary protein increases T-cell-independent sIgA production through changes in gut microbiota-derived extracellular vesicles. *Nat Commun*, 13(1), 4336. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-31761-y>
50. Tian, X., Yuan, L., & Zeng, Y. (2025). Butyrate attenuates SA-AKI by inhibiting pyroptosis via the STING-GSDMD axis. *Biochem Biophys Res Commun*, 743, 151143. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2024.151143>
51. Wang, Y. Y., Zhang, L., Zhao, P. W., Ma, L., Li, C., Zou, H. B., & Jiang, Y. F. (2014). Functional implications of regulatory B cells in human IgA nephropathy. *Scand J Immunol*, 79(1), 51–60. <https://doi.org/10.1111/sji.12128>
52. Wu, G., Peng, Y. M., Liu, F. Y., Xu, D., & Liu, C. (2013). The role of memory B cell in tonsil and peripheral blood in the clinical progression of IgA nephropathy. *Hum Immunol*, 74(6), 708–712. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2012.10.028>
53. Xu, H., Liew, L. N., Kuo, I. C., Huang, C. H., Goh, D. L., & Chua, K. Y. (2008). The modulatory effects of lipopolysaccharide-stimulated B cells on differential T-cell polarization. *Immunology*, 125(2), 218–228. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2008.02832.x>
54. Xu, L. L., Zhou, X. J., & Zhang, H. (2023). An Update on the Genetics of IgA Nephropathy. *J Clin Med*, 13(1). <https://doi.org/10.3390/jcm13010123>
55. Yang, S., Chen, B., Shi, J., Chen, F., Zhang, J., & Sun, Z. (2015). Analysis of regulatory T cell subsets in the peripheral blood of immunoglobulin A nephropathy (IgAN) patients. *Genet Mol Res*, 14(4), 14088–14092. <https://doi.org/10.4238/2015.October.29.28>

56. Zhang, L., Wang, Y., Shi, X., Zou, H., & Jiang, Y. (2014). A higher frequency of CD4(+)CXCR5(+) T follicular helper cells in patients with newly diagnosed IgA nephropathy. *Immunol Lett*, 158(1-2), 101–108. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2013.12.004>
57. Zhang, Y., Guo, L., Wang, Z., Wang, J., Er, L., Barbour, S. J., Trimarchi, H., Lv, J., & Zhang, H. (2020). External Validation of International Risk-Prediction Models of IgA Nephropathy in an Asian-Caucasian Cohort. *Kidney Int Rep*, 5(10), 1753–1763. <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2020.07.036>
58. Zheng, Y., Wang, Y., Liu, S., Wu, J., Duan, S., Zhu, H., Wu, D., Cai, G., & Chen, X. (2018). Potential Blood Pressure Goals in IgA Nephropathy: Prevalence, Awareness, and Treatment Rates in Chronic Kidney Disease Among Patients with Hypertension in China (PATRIOTIC) Study. *Kidney Blood Press Res*, 43(6), 1786–1795. <https://doi.org/10.1159/000495636>
59. Zhou, T., Xu, H., Cheng, X., He, Y., Ren, Q., Li, D., Xie, Y., Gao, C., Zhang, Y., Sun, X., Xu, Y., & Huang, W. (2022). Sodium Butyrate Attenuates Diabetic Kidney Disease Partially via Histone Butyrylation Modification. *Mediators Inflamm*, 2022, 7643322. <https://doi.org/10.1155/2022/7643322>
60. Zhu, Y., He, H., Sun, W., Wu, J., Xiao, Y., Peng, Y., Hu, P., Jin, M., Liu, P., Zhang, D., Xie, T., Huang, L., He, W., Wei, M., Wang, L., Xu, X., & Tang, Y. (2024). IgA nephropathy: gut microbiome regulates the production of hypoglycosylated IgA1 via the TLR4 signaling pathway. *Nephrol Dial Transplant*, 39(10), 1624–1641. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfae052>

Pateicības

Es izsaku dziļu pateicību saviem zinātniskajiem vadītājiem: asociētajai profesorei **Viktorijai Kuzemai** par nenovērtējamo vadību, laiku un būtisko atbalstu pētījuma un promocijas darba rakstīšanas procesā, kā arī par nešaubīgo ticību man un iespēju apvienot pētniecisko darbu ar klīniskajiem pienākumiem Nefroloģijas nodaļā; un profesorei **Jutai Kroičai** par nenovērtējamo zināšanu sniegumu un konsekventu vadību visā doktorantūras studiju laikā.

Daļa no šī pētījuma tika veikta projekta Nr. LZP-2019/1-0139 “Zarnu disbiozes un B šūnu funkcijas mijiedarbības izpēte imūnglobulīna A nefropātijas patogēnēzē” ietvaros. Esmu pateicīga IgAN projekta grupas kolēģiem, īpaši docentam **Kārlim Rācenim** un docentei **Kristīnei Oļeiņikai**, par projekta koncepcijas izstrādi un īstenošanu, kā arī **Annai Janai Saulītei** par atbalstu datu pārvaldībā. Paldies kolēģiem no Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centra par veiksmīgu sadarbību.

Īpaša pateicība profesoram **Aivaram Pētersonam**, Nefroloģijas centra vadītājam, par iespēju aktīvi iesaistīties zinātniskajos pētījumos un darbā nefroloģijas jomā.