Anti Sitomegalovirus antikorları immun monitorleme ve kalp transplantasyonunda sitomegalovirus hastalığı riski. Int Immunopharmacol. 2009;9(6):649-52.

Immune monitoring of anti cytomegalovirus antibodies and risk of cytomegalovirus disease in heart transplantation

Dr. Murat Başkurt

Bu çalışmada kalp transplantasyonu (KT) sonrası sitomegalovirus (CMV) hastalığı riski taşıyan hastaları anti-CMV antikorlarını kantitatif değerlendirmesi ile belirleyebilmek amaçlanmıştır. Yatak başı spesifik anti CMV antikorlarını monitorize etmek KT alıcılarında CMV hastalığı yüksek riskli grubu belirlemede bir araç olabilir.

Antiviral profilaktik tedaviye rağmen, KT sonrası CMV enfeksiyonu halen e önemli enfektif komplikasyondur, hastaların %7-35'ini etkiler. Akut enfeksiyon, geç başlangıçlı primer CMV hastalığı, gansiklovire dirençli hastalık, allogreft vaskuler hastalıkta bu mikro organizmanın potansiyel rolü endişe edilecek konulardandır. Diğer yandan CMV enfeksiyonu fırsatçı enfeksiyonlar ve malignensiler açısından predispozan olabilir. Tüm bu komplikasyonlar CMV'den korunmak için daha iyi strateji gerekliliğini gösteriyor.
KT da IgG hipogamaglobulinemisi immunsupresyonun markerı olarak son zamanlarda belirlendi ve hipogammaglobulinemik hastalarda ciddi enfeksiyonlar rapor edildi. KT sonrası IgG monitorizasyonunun enfeksiyon riski altındaki hastaları saptamak için kullanışlı olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada amacımız; kantitatif anti CMV antikor değerlendirilmesinin KT sonrası CMV hastalığı geliştirme riski yüksek olan hastaları belirleyebilmede kullanılabilirliğini araştırmaktır.

Hastalar ve metodlar:
Madrid devlet hastanesine Kasım 2002'den Eylül 2002'ye kadar başvuran 75 KT alıcısını prospektif olarak inceledik. Hastalar çalışmaya farklı zamanlarda alındılar. Dolayısıyla, hastalar arasında takip süresi değişkenlik gösterdi. Nakil sonrası düzenli aralıklarda klinik değerlendirme ve labaratuar testleri yapıldı. KT etiyolojisi; iskemik KMP (n=37, %49,3), dilate KMP (n=13, %17,3), kapak hastalıkları (n=10, %13,3) ve diğer (n=15 %20). Primer immun yetersizlik öyküsü protein kaybettiren nefropati ve enteropatisi olanlar çalışmaya dahil edilmedi.
Alıcıların CMV IgG serolojileri trans öncesi çalışıldı. (nakil bekleme listesine alınma zamanında) Vericilerin CMV serolojisi ise operasyon öncesi sevk eden hastanede yapıldı ve hastanemizde de konfirme edildi. CMV enfeksiyonu tanısı kültürde yada antijenemide virüsün saptanması yada izolasyonu ile konuldu. CMV hastalığı tanısı ise bu mikroorganizmaya atfedilen semptom veya bulguların olması ve viral sendromun ve CMV fokal hastalığının olması ile konuldu.
Tüm hastalar indüksiyon tedavisi olarak 2 doz IL2 reseptör antagonisti daklizumab aldılar. İdame immunsupresyon mikofenolat mofetil, prednizon ve yan etki profiline göre ya siklosporin yada takrolimus ile yapıldı.
Erken post-op dönemde iv gansiklovir evrensel profilaksi protokolüne göre uygulandı (5mg /kg bid. 14 gün). Gansiklovir doz ayarlaması kreatinin düzeyine göre yapıldı. Yüksek riskli KT alıcıları (D+ / R- serostatü) CMV hiperIg + iv. Gansiklovir, ardından oral valgansiklovir, 3 aya kadara aldılar. CMV Ig grubundaki anti CMV antikor konsantrasyonu Paul Ehrlich Institute'a göre 50 ünite idi (PEI/ml) . CMV Ig şu şekilde uygulandı: 150mg /kg nakil sonrası 24 saat ve 100mg/kg 2 7 14, 22, 35, 56 ve 77.günlerde.
Ciddi enfeksiyon geliştiren hipogamaglobulinemili hastalara (iv antimikrobiyal tedavi gerektiren enfeksiyöz epizotlar)iv havuzlanmış insan Ig (IVIG %5 pastörize) infüzyonu 400mg/kg /devir verildi ve normal IgG (>700mg/dl) düzeyleri elde edilmesi amacıyla 3 haftada 1 tekrar edildi.
Rejeksiyon epizodları Uluslararası Kalp Akciğer Nakil Topluluğu'na göre ilk 3 ayda > 3A yada ISHLT evre 2 olarak belirlendi. Rejeksiyon tanısı endomyokardiyal biyopsi ile konuldu ve 3 gün iv metilprednizon bolusları (200-500mg / gün) yada 3 ardışık günde po 100mg takiben gittikce azalan dozlarda verildi. Diğer potansiyel risk faktörleri de değerlendirildi.

Humoral bağışıklık çalışmaları:
periferal kan örneklerinde nakil öncesi ve 7, 30, 90, 180. gün ve nakilden 1 yıl sonra immunolojik testler yapıldı. Serum Ig'leri (IgG, A, M) ve IgG altgrupları (IgG1, 2, 3, 4) konsantrasyonları nefelometre ile ölçüldü (Beckman-Coulter-Izasa, Cal. USA).

Kantitatif CMV antikor ölçümü:
Serum örneklerinden insan CMV IgG kantitatif tayini ticari bir indirek enzim immuno essay ile üretici talimatlarına göre yapıldı (Enzygnost-CMV-IgG; Dade Behring, Marburg, Almanya).
Tüm örnekler 1+230 dilüe edildi ve mikrotitrasyon plakasında titre edildi, insan CMV ile enfekte insan fibroblastlarından derive edilmiş inaktive antijen ile kaplandı. Optik yoğunluk SEACSirio S fotometrede 450 nanometrede ilk bir saat içinde ölçüldü. Aktivite alfa metodu ile kantifiye edildi. Sonuçlr titre dilusyonları olarak verildi. Anti CMV doğal logoritmaları titreleri kullanıldı.
Bazal anti CMV antikorları normal sınırları belirlemek için 15 yaş uyumlu sağlıklı kontrol kullanıldı. Ig konsantrasyonları cerrahi girişimden etikeleneceği düşünülerek mekanik dolaşımsal yardımcı ile major kalp cerrahisi olan, immunsupresyonu olmayan 17yaş uyumlu hastayı cerrahi kontrol grubu olarak aldık.

Bulgular:
KT alıcılarının takipteki CMv hastalığı varlığı ya da yokluğuna göre demografik ve klinik özellikleri tablo 1 de verilmiştir.

Tablo 1.

75 kalp transplantasyonu alıcısının demografik ve klinik özellikleri

Clinical parameters	**CMV (*n* = 10)**	**No CMV (*n* = 65)**	***P* value[a]**
Age at transplant, years (SD)	53 (11)	52 (11)	0.79
Sex, male (%)	8 (80%)	49 (75%)	0.55
NYHA class, mean (SD)	3.22 (0.44)	3.62 (0.52)	0.03
Time in waiting list, days (SD)	83 (88)	43 (68)	0.13
Ischemia time, minutes (SD)	228 (37)	205 (59)	0.25
Intubation time, days (SD)	5.44 (12)	2.6 (3.6)	0.17
CMV donor positive/receptor negative (%)	4 (40)	2 (3.08)	0.002
Gancyclovir + CMV-IG prophylaxis (%)	4 (40)	2 (3.08)	0.002
Patients on tacrolimus (%)	6 (60)	34 (52)	0.91
Patients on cyclosporine (%)	4 (40)	25 (38.5)	0.91
Pre-HT creatinine, mg/dl (SD)	1.06 (0.27)	1.21 (0.57)	0.45
7 d creatinine, mg/dl (SD)	1.26 (0.45)	1.31 (0.69)	0.81
7 d cyclosporine plasma levels, ng/mL (SD)	202 (65)	185 (77)	0.73
7 d tacrolimus plasma levels, ng/mL (SD)	9.7 (3.8)	10.7 (6)	0.72
7 d mycophenolate plasma levels µg/mL (SD)	1.26 (0.79)	2.8 (3.5)	0.20
Days in hospital after HT, mean (SD)	34 (18)	36 (24)	0.74
Rejection during follow-up (%)	2 (20)	14 (21,5)	0.63
Non CMV infections during follow-up (%)	7 (70)	7 (20)	0.003

CMV = Sitomegalovirüs hastalığı; CMV-IG =spesifik anti-CMV intravenöz immunoglobulin; HT = orthotopic kalp nakli; NYHA = New York Heart Association; SD = standard sapma.

[a] Duruma göre Student's *T* test or Fisher's exact testi.

CMV hastalığı 10 hastada gelişti (%13,3). Alıcı ve verici CMV serolojik durumuna göre CMV hastalığı dağılımı şu şekildedir: D+/R- (n=4), D-/R- (n=1), D+/R+ (n=5). Nakil sonrası CMV hastalığı gelişimi ortalama zamanı 3,4 +/- 1,6 (aralık, 2-6ay). D+/R- hastalarda CMV hastalığı D+/R+ hastalara göre belirgin daha geç gelişti (5+/-1,4 ve 2,3 +/- 0,5 ay nakil sonrası, p=0.003). CMV antijenemisi 20den 100den fazla hücreye kadar değişmekteydi. CMV semptomları; viral sendrom (n=5), viral sendrom + sitopeni (n=3), gastrointestinal sendrom + sitopeni (n=1) ve gastrointestinal sendrom (n=1). 10 CMV hastasından 6'sına IVIG ile replasman tedavisi, gösterilmiş hipogamaglobulinemi sonrası CMV hastalığı tanısı konulunca başlandı (332-640mg/l). Takipte 8 hastada asemptomatik CMV antijenemi gelişti. 6'sı D+/R+ idi.
Nakil öncesi CMV hastalığı gelişen hastalarda anti CMV antikor konsantrasyonları ve IgG1 alt grup düzeyleri hastalık olmayanlara göre belirgin daha düşüktü (tablo 2).

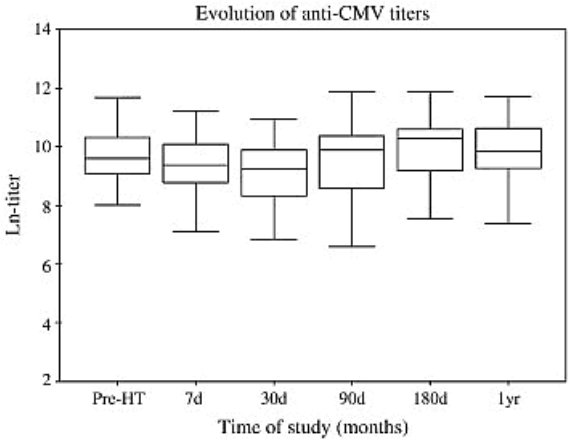
Tablo 2.
75 kalp transplantasyonu alıcısının humoral bağışıklık verileri

Laboratory parameters	**Mean concentration (SD)**		
	CMV (*n* = 10)	**No CMV (*n* = 65)**	***P* value[a]**
Pre-HT IgG, mg/dl	1071 (268)	1118 (314)	0.65
Pre-HT IgG1, mg/dl	614 (174)	726 (229)	0.17
30 d IgG, mg/dl	536 (176)	638 (191)	0.12
30 d IgG1, mg/dl	311 (98)	385 (143)	0.14
Pre-HT Ln-titer anti-CMV antibodies	7.48 (3.40)	9.54 (1.49)	0.005
7 d Ln-titer anti-CMV antibodies	8.99 (1.26)	9.35 (1.14)	0.40
30 d Ln-titer anti-CMV antibodies	8.49 (1.67)	9.17 (1.13)	0.14
90 d Ln-titer anti-CMV antibodies	9.06 (1.94)	9.43 (1.19)	0.44

Laboratory parameters	Mean concentration (SD)		
	CMV (*n* = 10)	No CMV (*n* = 65)	*P* value[a]
6 m Ln-titer anti-CMV antibodies	8.90 (2.20)	9.77 (1.56)	0.18
1 yr Ln-titer anti-CMV antibodies	9.73 (1.43)	9.82 (1.30)	0.87

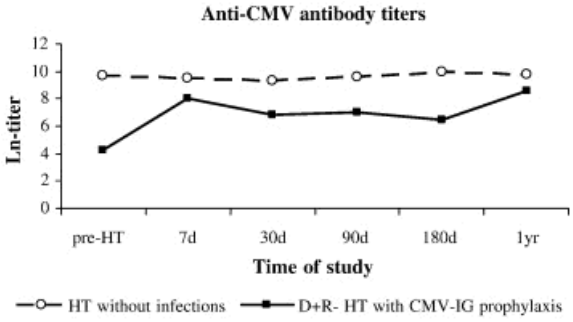
CMV = Sitomegalovirüs hastalığı; Ln = Titrelerin doğal logaritmaları; SD = standart sapma
[a] Student's *T* testi.

Nakilden 1 ay sonra, CMV hastalıklılarda anti CMV antikorları, IgG ve IgG1 serum düzeyleri daha düşüktü (tablo 2). Nakilden 6 ay sonra CMV hastaları anti CMV antikorları daha düşük titredeydi. CMV ve CMV'siz hastalarda diğer humoral bağışıklık parametrelerinin ortalama serum konsantrasyonları arasında fark yoktu (data gösterilmedi). Cox regresyon analizinde bazal düşük anti CMV titreli (<4.26 titrenin doğal logaritması (<5 hc persentili), RH=8.1, %95 CI =1.93- 34.1, p=0.004), bazal düşük IgG1 alt grubu (<484mg /dl, RH=3.82, %95 CI = 1.02-14.24, p=0.04) ve nakil sonrası 1 ayda IgG hipogamaglobulinemili alıcılarda (IgG<500mg/dl, RH=4.49 %95CI = 1.26-15.94, p=0.02) CMV hastalığı için yüksek riskli saptandı. Nakil öncesi anti CMV anti korlarında herbir titrenin Ln sında artış, CMV hastlığı riskinde %24 azalma ile ilişkilendirildi (RH=0.76, %95 CI: 0.60-0.96, p=0.01).
CMV D+/R- serostatü (RH=8.01, %95 CI =1.93-34.1, p=0.004), NewYork kalp birliği klas (RH=10.17, %95 CI= 2.26-45.79, p= 0.0025), bekleme listesindeki süre (RH=8.36, %95CI = 1.86-37.69, p=0.006), iskemi süresi (RH= 7.68, %95CI = 1.82-32.34, p=0.006) yada entübe kalma süresi (RH=8.15, %95 CI = 1.81-36.72, p=0.006) gibi farklı değişkenlere bakıldığında bazal düşük anti CMV titreleri CMV hastalığı geliştirme ilişkilerine korudular.
KT sonrası farklı zamanlarda spesifik anti CMV antikor titreleri açılımı şekil 1' de gösterilmiştir.



Şekil 1. 75 KT alıcısında transplantasyon öncesi ve sonrası anti-CMV titrelerinin seyri.

En düşük anti CMV titreleri nakilden 1 ay sonra saptandı (2 doz CMV-Ig verilmesi sonrası). Ancak, sonraki CMV-Ig dozlarına rağmen D+/R- hastalarda, nakil sonrası 7, 30, 90 ve 180. günde, enfeksiyonsuz nakil alıcılarına göre belirgin daha az anti CMV antikorları vardı (şekil 2). 6 D+/R- alıcıdan 4 ü geç primer CMV hastalığı geliştirdi (nakilden >3 ay sonra).



Şekil 2. Enfeksiyon olmayan (n=39) KT alıcıları ile D+/R– grubunun (*n* = 6): karşılaştırma için ortalama anti-CMV antikorlarının Student's *T* test *p* değerleri: Pre-HT: $p < 0.001$; 7 gün: $p = 0.002$; 30 gün: $p < 0.001$; 90 gün: $p < 0.001$; 180 gün: $p < 0.001$; 1 yıl: $p = 0.08$. CMV-IG KT sonrası 2.günden 77.güne kadar uygulanmıştır.

CMV hastalığı geliştiren 5 D+/R+ alıcıdan 3 ünde nakil sonrası 1. ayda hipogamaglobulinemi, 1 hastada da bazal ve 7.

günde normal total IgG olmasına rağmen IgG1 düzeyinde düşüş saptandı. Bu hastalarda nakil öncesi ve sonrası farklı zamanlarda anti CMV titreleri, enfeksiyonsuz alıcılardan farklı değildi.

Sonuç:
KT sonrası 1. ayda spesifik ELISA anti CMV titresi ve nefelometrik IgG ve IgG1 konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon gözlendi (Pearson korelasyonları 0.30, p:0.02,0.35, p:0.01). CMV hastalıklı D+/R- ya da D+/R+ hastaların hiçbirinde belirgin korelasyon görülmedi. Asemptomatik antijenemili hastalar, nakil sonrası 1. ayda, alıcı enfeksiyonsuzlara göre daha düşük CMV antikor titreleri gözlendi.

Tartışma:
KT da anti CMV antikorları ve CMV hastalığı gelişimi arasındaki ilişki daha önce çalışılmamıştır. KT öncesi immunkompetans değerlendirmede anti CMV titrelerinin CMV hastalığı geliştirmede farklı klinik değişkenlerle karşılaştırıldığında düşük anti CMV titrelerinin bağımsız rölatif zarar gösterdiğini saptadık. Ayrıca, nakil sonrası CMV Ig verilmesine rağmen D+/R- alıcılarda azalmış anti CMV titreleri gözlemledik. Bu gözlem en azından bir parça geç başlangıçlı primer CMV hastalığı (%66) görülen bu hastalara bir açıklama getirebilir.
D+/R+, nakil öncesi ve sonrası normal anti CMV antikor titresi gösteren hastalarda saptanacak diğer humoral immunite ve fonksiyonel anti CMV hücresel defektleri bu kişilerde CMV hastalığı gelişimine açıklık getirebilir. Bu hastaların bazılarında IgG hipogamaglobulinemi ya da düşük IgG1 düzeyleri saptandı. Ek olarak, D+/R- ve D+/R+ CMV hastalarında nakilden 1 ay sonra (CMV hastalığı gelişiminden önce) korelasyon eksikliği gözlendi. CMV glikoproteinleri üstündeki antikor bağlanma yerine karşı reaktivite; T- hücre bağımlı olan IgG1 alt grupta saptandı. Enteresan olarak, düşük bazal IgG1 konsantrasyonları daha yüksek CMV hastalığı riski ile ilişkiliydi.
CMV hastalığı gelişiminde nakil sonrası IgG konsantrasyonlarının prediktif değeri önceden yapılmış çalışmalarda saptanan bu hastalarda IgG hipogamaglobulinemi enfeksiyon gelişimi için risk faktörü olduğu ile uyuşmaktadır.
D+/R- alıcılarda CMV hastalığı riskini belirlemek için seri CMV antikor ölçümlerinin potansiyel rolü prospektif daha geniş sayılı hasta ve olaylarda daha iyi belirlenecektir. Yüksek riskli alıcılarda anti CMV proflaksisinin optimal süre ve tipi hala belirlenememiştir. Bu hastaların daha yüksek doz proflaktik CMV Ig ya da hipogamaglobulinemi mevcut ise IVIG ile replasman tedavisinden yarar görüp görmeyecekleri gelecekteki çalışmalarda araştırılmalıdır.