

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA” BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
NEFROLOGIE**

TEZĂ DE DOCTORAT

***IMPACTUL VIRUSURILOR HEPATITEI B ȘI C
ASUPRA REZULTATELOR TRANSPLANTULUI
RENAL***

-Rezumat-

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. MIRCESCU GABRIEL

Student-doctorand:

NĂSTASE VASILE

București

2018

Cuprins

INTRODUCERE	1
I.PARTEA GENERALĂ	6
1. CAPITOLUL 1 - EPIDEMIOLOGIA, TRANSMITEREA ȘI ISTORIA NATURALĂ A INFECȚIILOR CU VHB ȘI VHC	6
1.1. Transmiterea și istoria naturală a infecțiilor cu VHB și VHC	7
1.2. Contagiozitate și incubare.....	10
1.3. Infecția cu virusul hepatitei B (VHB)	11
1.3.1. Epidemiologia infecției cu VHB.....	11
1.3.2. Transmiterea infecției cu VHB.....	12
1.3.3. Profilaxia postexpunere.....	14
1.4. Istoria naturală și manifestările clinice ale infecției cu VHB.....	15
1.4.1. Hepatita acută B.....	15
1.4.2. Hepatita cronică B.....	16
1.5. Infecția cu virusul hepatitei C (VHC).....	18
1.5.1. Epidemiologia infecției cu virusul hepatitei C (VHC).....	18
1.5.2. Transmiterea infecției cu VHC.....	19
1.6. Istoria naturală și manifestările clinice ale infecției VHC.....	23
1.6.1. Hepatita acută C.....	23
1.6.2. Hepatita cronică C.....	24
2. CAPITOLUL 2 – STRUCTURĂ, ORGANIZARE ȘI VARIABILITATE GENETICĂ A VHB ȘI VHC	26
2.1. VHB – structură, organizare genomică și replicare.....	26
2.1.1. Structura VHB.....	26
2.1.2. Organizarea genomului VHB.....	27

2.1.3. Replicarea VHB.....	29
2.1.4 Variabilitatea genetică a VHB.....	30
2.2. VHC - structură, organizare genomică și variabilitate genetică.....	32
2.2.1. Structura VHC.....	32
2.2.2. Replicarea VHC.....	36
2.2.3. Variabilitatea genetică a VHC.....	38
3. CAPITOLUL 3 – DIAGNOSTICUL INFECȚIILOR VHB ȘI VHC	41
3.1. Diagnosticul infecției VHB	41
3.1.1. Metoda serologică.....	41
3.1.2. Tehnici de detecție a ADN-ului VHB.....	43
3.1.3. Genotiparea VHB	44
3.2. Diagnosticul infecției VHC.....	45
3.2.1. Teste serologice.....	45
3.2.2. Tehnici moleculare de detecție a ARN VHC.....	47
3.2.3. Genotiparea.....	48
4. CAPITOLUL 4–TERAPIA INFECȚIILOR VHB ȘI VHC	49
4.1. Terapia infecțiilor cronice VHB.....	49
4.1.1. Prevenire prin vaccinare.....	49
4.1.2. Terapia antivirală.....	49
4.1.3. Tratamentul infecției cu VHB la pacienții dializați și transplantați renal	50
4.1.4. Noi strategii de tratament.....	51
4.2. Terapia infecțiilor cronice VHC.....	51
4.2.1. Tratamentul infecțiilor cu VHC la pacienții cu boală cronică de rinich..	53

5. CAPITOLUL 5 – INHIBITORII CALCINEURINEI CA AGENȚI ANTI-VIRALI	55
5.1. Relația VHC – Ciclosporină A.....	55
5.1.1. Ciclosporina A ca imunosupresor	55
5.1.2. CsA ca antiviral în infecția cu VHC.....	55
5.2. Interacțiunea CsA cu interferonul	60
II. CONTRIBUȚII PERSONALE.....	62
6. Introducere	62
7. Ipoteza de lucru	65
8. Studiul I: Influența infecțiilor cu virusurile hepatitei B și C asupra rezultatelor transplantului renal	68
8.1. Introducere	68
8.2. Obiectiv	70
8.3. Material și metode	70
8.3.1. Tip studiu	70
8.3.2. Sursa datelor	71
8.3.3. Pacienți	71
8.3.4. Transplantul renal	71
8.3.5. Compatibilitatea	72
8.3.6. Evaluarea post-transplant a grefei renale	73
8.3.7. Infecția cu virusuri hepatitice	74
8.3.8. Parametrul de evaluare	74
8.3.9. Analiza statistică	74
8.3.10. Etică	75
8.4. Rezultate	76

8.4.1. Caracile pacienților investigați	76
8.4.2. Transplantul renal	82
8.4.3. Evoluția grefei	83
8.4.4. Infecția cu virusuri hepatitice	84
8.4.5. Factorii care pot influența evoluția pacienților transplantați	85
8.4.6. Evoluția pacientului și a grefei	94
8.5. Discuții	100
8.5.1. Rejetul acut	101
8.5.2. Infecția cu VHB, VHC	102
8.5.3. Proteinuria	104
8.5.4. Compatibilitatea HLA	105
8.5.5. Durata tratamentului prin dializă	106
8.5.6. Vârsta	107
8.5.7. Limitele studiului	107
8.6. Concluzii	108
8.7. Recomandări	109
9. Studiul II: Infecția cu virusurile hepatitei B și C la primitorii de transplant renal. Influența HLA	110
9.1. Introducere	110
9.2. Obiectiv	111
9.3. Material și metode	111
9.3.1. Tip studiu	111
9.3.2. Pacienți	111
9.3.3. Parametri	112
9.3.4. Analiza statistică	113

9.3.5. Etică	113
9.4. Rezultate	113
9.4.1. Infecția cu virusurile hepatitelor B și C la donatori sănătoși și la primitori.....	113
9.4.2. Factori asociați cu infecțiile cu VHB și VHC la pacienții primitori de grefe renale	116
9.5. Relația HLA – infecții cu VHB, VHC	119
9.5.1. Relația VHB – HLA	119
9.5.2. Relația VHC – HLA	122
9.6. Discuții	124
9.6.1. Limitele studiului	127
9.7. Concluzii	127
9.8. Recomandări	128
10. Studiul III: Analiza frecvenței alelelor și haplotipurilor HLA estimate (-A*, -B*, -DRB1*)	129
10.1. Introducere	129
10.2. Obiectiv	130
10.3. Material și metode	130
10.3.1. Tip studiu	130
10.3.2. Subiecți	130
10.3.3. Parametri	131
10.3.4. Analiza statistică	132
10.3.5. Etică	132
10.4. Rezultate	132
10.4.1. Analiza frecvențelor alelelor HLA (-A*, -B*, -DRB1*) în România și în alte țări	132

10.4.2.	Analiza frecvenței alelelor HLA (-A*, -B*, -DRB1*) în România la pacienți cu afecțiuni renale aflați pe liste de așteptare a transplantului de rinichi și la donatori sănătoși	135
10.4.3.	Analiza frecvenței haplotipurilor HLA-A*-B*-DRB1* estimate în România, la pacienții cu afecțiuni renale aflați pe liste de așteptare a transplantului de rinichi și la donatori sănătoși	138
10.5.	Discuții	149
10.5.1.	Limitele studiului	151
10.6.	Concluzii	151
11.	CONCLUZII	153
Bibliografie		156
Anexe		175

INTRODUCERE

Înainte de 1970, pacienții care necesitau tratament substitutiv al funcțiilor renale (TSFR) beneficiau de opțiuni terapeutice destul de limitate. Un număr mic de pacienți au beneficiat de dializă în mod regulat deoarece facilitățile pentru această procedură erau limitate. Astfel, în încercarea de a selecta doar pacienții care prezentau ca problemă predominantă din punct de vedere clinic insuficiență renală, toți candidații au fost supuși unei examinări medicale extinse pentru a determina eligibilitatea pentru terapia în curs de desfășurare. La acea vreme, transplantul renal era în perioada de început a dezvoltării drept o opțiune terapeutică viabilă. De asemenea imunologia transplantului și terapia imunosupresoare erau în fază incipientă, iar pentru mulți dintre pacienți diagnosticul de insuficiență renală cronică era asociat condamnării la moarte. [1]

Înainte de descoperirea terapiei imunosupresoare, transplantul renal nu era posibil pentru majoritatea pacienților în stadiu terminal, acest procedeu fiind realizabil cu succes numai la gemenii identici. În 1963, prin introducerea tratamentului combinat azatioprină-steroid, care a devenit elementul esențial al imunosupresiei induse medicamentos, transplantul a cunoscut o nouă etapă, cu rezultate încurajatoare. Chiar dacă această terapie a îmbunătățit considerabil rata de succes a transplantului, complicațiile asociate terapiei cu steroizi și rejețul acut al grefei au persistat.

Odată cu introducerea ciclosporinei, din 1983, transplantul de organe solide a intrat într-o nouă eră, una în care riscul de respingere al grefei a fost mult diminuat. Datorită evoluției terapiilor imunosupresoare din ultima vreme, în prezent, ratele de supraviețuire ale pacientului și ale grefei la un an de la intervenție depășește 90% în majoritatea centrelor de transplant renal.[2]

Supraviețuirea atât a grefei cât și a pacientului la cinci ani de la intervenție sunt de aproape 95% pentru transplantul pre-emptiv, în timp ce la pacienții dializați, rata de supraviețuire este de aproximativ 80%.[1]

Spre deosebire de alte transplanturi de organe solide, transplantul renal este asociat unui risc mai mic de infecție. Cu toate acestea, infecția rămâne o cauză semnificativă a morbidității și a mortalității pacienților cu transplant renal.

PARTE GENERALĂ

1. INFECȚIILE CU VIRUSURILE HEPATITEI B ȘI C ÎN TRANSPLANTUL RENAL

Transplantul renal reprezintă soluția de tratament aleasă pentru o parte dintre pacienții care necesită TSFR. Un număr semnificativ dintre acești pacienți nu beneficiază însă de această șansă, ei fiind tratați prin dializă. În rândul acestora se înregistrează o mortalitate de 70% la 5 ani de la intrarea în programele de dializă.

Îmbunătățirea remarcabilă a ratei de supraviețuire, precum și a menținerii funcțiilor renale pe termen lung prin grefa renală, dar și avantajul de care beneficiază față de dializă în balanța cost-beneficiu, au făcut din transplantul renal soluția de tratament ideală.

În ultimii treizeci de ani, rezultatele unei mai bune imunosupresii, dar și a unei bune selecții a pacienților, au fost reflectate în rata de succes a transplantului renal, tradusă prin păstrarea grefei renale și prin scăderea morbidității și a mortalității în rândul pacienților transplantați.[3-6]

La mulți dintre pacienții ce au primit o greă renală, bolile hepatice cronice rămân o problemă majoră cu numeroase consecințe negative care se răsfrâng asupra ratelor morbidității și mortalității. În aceste cazuri, infecțiile cu VHB și VHC sunt principalele cauze ale afecțiunilor hepatice.[6-8]

Transplantul renal prezintă cel mai mare potențial pentru pacienții cu insuficiență renală în încercarea de restabilire a unei vieți sănătoase și reintegrarea în societate și câmpul muncii. Cei care practică aceste intervenții, precum și cei care au în urmărire pacienți transplantați renal, trebuie să rămână conștienți de posibilele consecințe pe termen lung ale insuficienței cronice anterioare și actuale în decursul a câteva decenii de urmărire clinică după transplantul renal realizat cu succes. [1]

Spre deosebire de alte transplanturi de organe solide, transplantul renal este asociat unui risc mai mic de infecție. Cu toate acestea, infecția rămâne o cauză semnificativă a morbidității și a mortalității pacienților cu transplant renal. Infecțiile asociate complicațiilor chirurgicale, infecțiile cu agenți patogeni asociați asistenței medicale și reactivarea bolii latente pot afecta funcția de greă și rezultatul transplantului. Disfuncția grefei sau rejetul

cronic conduc la creșterea imunosupresiei, crescând riscul de infecție cu virusuri imunomodulatoare precum citomegalovirusul (CMV), herpesvirusul uman (HHV), virusul hepatitei B (VHB), virusul hepatitei C (VHC) și virusul Epstein-Barr (EBV). [1]

Detectarea infecției cronice cu VHB și VHC atât în rândul donatorilor, cât și la cei care au beneficiat de transplant a fost îmbunătățită prin metode noi de laborator pentru a detecta anticorpi, antigene și acizi nucleici specifici virali. [1]

Boala hepatică, în special cauzată de virusul hepatitei B (VHB) și virusul hepatitei C (VHC), reprezintă în continuare un factor major ce influențează morbiditatea și mortalitatea în rândul supraviețuitorilor de lungă durată ai transplantului renal. Investigarea adecvată a candidatului pentru transplant renal cu hepatită cronică virală presupune evaluarea replicării virale, evaluarea histologiei hepatice și luarea în considerare a terapiei antivirale. De asemenea, infecția cu HCV este implicată în disfuncția grefei post-transplant. [1]

S-a observat că în 20% din cazuri, terapia imunosupresoare administrată pacienților transplantați renal care au fost diagnosticați cu infecție cu VHC crește replicarea virală și determină dispariția anticorpilor anti-VHC. Cu toate acestea, nu există un consens în ceea ce privește influența infecțiilor cu VHB și VHC asupra prognosticului de supraviețuire al grefei și al pacientului.[6, 9, 10]

Infecția cu VHB este un factor de risc major de afectare a funcției hepatice după transplantul renal, din cauza utilizării terapiei imunosupresoare. Odată cu implementarea programelor de vaccinare împotriva VHB, cele mai multe afecțiuni hepatice în transplantul de rinichi apar ca rezultat al infecțiilor cu VHC.[9, 11, 12]

Medicina modernă, în încercarea sa de a oferi pacienților șanse cât mai mari de succes, a propus colaborarea interdisciplinară pentru evaluarea și tratarea afecțiunilor în mod personalizat în funcție de specificul pacientului. Acest model de colaborare multidisciplinară se regăsește cu succes în transplantul renal. Echipe mixte, ce acoperă o plajă largă de specialități precum urologia, nefrologia, cardiologia, gastroenterologia, imagistica, imunologia, anatomia patologică s-au dovedit eficiente în dobândirea succesului atât în pregătirea pre-transplant, cât și post-transplant astfel încât pacienții să beneficieze de condiții optime succesului transplantului și toleranței grefei renale.

2. TERAPIA INFECȚIILOR VHB ȘI VHC LA PACIENȚII CU BOALĂ CRONICĂ DE RINICHI

Infecția cu VHB este frecventă la persoanele cu boală renală în stadiu terminal, inclusiv în rândul pacienților ce au beneficiat de o grefa renală. În cazul acestor pacienți, terapia antivirală cu analogi nucleozidici necesită ajustarea dozelor și trebuie utilizată cu precauție, iar supravegherea trebuie să fie riguroasă. Deteriorarea neașteptată a funcției renale pe durata tratamentului antiviral poate necesita schimbarea dozelor terapeutice sau chiar a tratamentului.

În cazul pacienților transplantați renal care prezintă infecție cu VHB, terapiile bazate pe utilizarea de IFN sunt nerecomandate datorită riscului de respingere a grefei renale la care este supus pacientul. Pentru a avea un răspuns terapeutic bun, pacienților ce urmează a fi transplantați și care prezintă AgHBs pozitiv li se recomandă administrarea NA în scop profilactic, pentru a preîntâmpina o posibilă reactivare a VHB. [13]

Pacienții cu boală renală severă ($eRFG < 30 \text{ mL/min/1,73m}^2$) și cei ce necesită hemodializă, prezintă un răspuns echivoc la tratamentul cu antivirale cu acțiune directă. Sofosbuvirul, utilizat în multe regimuri, prin eficacitatea sa și datele de siguranță deficitare, nu este sprijinit spre a fi utilizat în cazul acestor pacienți.

Chiar dacă ultimele studii dau fezabile tratamentele în care se administrează Ombitasvir/Paritaprevir/Ritonavir și Dasabuvir, nevoia unei terapii care să ducă la un răspuns viral susținut rămâne nesatisfăcută, fapt pentru care se caută în continuare noi terapii. [14, 15]

La pacienții cu insuficiență renală, importanța ajustării dozelor atât de IFN-PEG cât și a ribavirinei este importantă. IFN-PEG $\alpha 2a$ se elimină prin ficat, iar $\alpha 2b$ prin rinichi. Astfel, la pacienții hemodializați poate să apară fenomenul de acumulare a IFN-PEG $\alpha 2b$, dar acest lucru nu a fost încă raportat clinic. [14, 16, 17]

În cazul persoanelor cu boală renală severă, inclusiv în cazul celor hemodializați, se recomandă administrarea de IFN-PEG $\alpha 2a$ într-o singură doză de 135pg pe săptămână. Deasemenea, pentru a evita evenimentele adverse legate de anemie, se recomandă scăderea dozei de ribavirină. La persoanele cu insuficiență renală cronică - hemodializați, ribavirina poate fi administrată zilnic sau la doua zile în doză de 200mg. În urma procesului de hemodializă, nivelul ribavirinei din plasmă se înjumătățește. [14]

3. INHIBITORII CALCINEURINEI CA AGENȚI ANTI-VIRALI

Acțiunea imunosupresoarea CsA este ferm stabilită fiind utilizată pentru a preveni și trata boala grefă contra gazdă în transplantul medular și pentru a preveni respingerea grefelor renale, hepatice sau de inimă. [18]

În plus față de inhibarea căii calcineurina/NFAT, studii recente au sugerat că CsA are un efect antiviral în infecțiile cu HCV. Acest efect a fost atribuit inhibării ciclofilinei B (CYP-B), o țintă celulară a CsA, care reglează funcția ARN polimerazei NS5B, care este esențială pentru replicarea eficientă a genomului VHC. [19]

Efectul antiviral al CsA și al derivaților acesteia a fost legat de capacitatea de a interacționa cu CyP, care, la rândul lor, au fost recunoscute drept co-factori celulari esențiali ai HCV. [20] Cele mai frecvente CYP sunt CyPA și CyPB, și ambele, dar mai ales CyPB, s-au dovedit a juca un rol în reducerea replicării virale.

Un set de proteine HCV nestructurale (NS2, NS5A, NS5B) se corelează cu CyP și au fost identificate ca ținte pentru co-factori CyP. NS5A și NS5B sunt integrate în complexul de replicare virală (RC) și prezintă afinitate pentru CyPA și CyPB. Astfel, replicarea virală este dependentă de CyP, o vulnerabilitate ce poate constitui un avantaj al inhibitorilor de CyP. CsA, împreună cu derivatele sale mai noi - Debio-025, NIM 811 și SCY-635 - sunt recunoscute drept inhibitori ai CyP.

Datorită capacității sale de a modula răspunsul IFN, proteina NS5A prezintă un interes major pentru cercetatori. [21] O regiune de 40 de aminoacizi din NS5A – regiune de determinare a sensibilității la interferon (ISDR - *interferon sensitivity-determining region*) - induce rezistența la terapia cu IFN. [22, 23] S-a presupus că o anumită secvență a ISDR ar putea prezice rezistența HCV la terapia cu IFN. Un factor esențial în estimarea răspunsului la tratament ar putea fi numărul de mutații NS5A/ISDR. [22]

Alisporvir (Debio-025), cea mai nouă moleculă antivirală din clasa inhibitorilor CYP, este lipsit de acțiune imunosupresoare datorită lipsei interacțiunii sale cu calcineurina, dar se leagă la CyPD având un efect antiviral dovedit.[25]

SCY-635 este un alt agent non-imunosupresor derivat al CsA, cu proprietăți antivirale. *In vitro*, utilizarea SCY-635 a demonstrat o activitate sinergică cu IFN- α -2b sau ribavirină, în timp ce efectul citotoxic a fost absent. [26]

PARTE SPECIALĂ

4. Ipoteze și obiective generale

Transplantul renal are avantaje majore atât pentru pacienți cât și pentru societate, asigurând o calitate mai bună a vieții și o supraviețuire mai îndelungată cu costuri financiare și sociale mai mici, comparativ cu dializa.[27]

În procesul de evaluare pre-transplant, candidații fac obiectul unei evaluări extinse pentru a identifica factorii cu potențial negativ asupra rezultatelor. Acest lucru se întâmplă la nivelul comisiilor reunite în cadrul fiecărui program de transplant prin discutarea și analizarea modului de selecție al candidaților din punct de vedere medical, astfel încât aceștia să fie adecvați înscrierii pe listele de așteptare. Tot în cadrul acestor comisii se discută despre posibilitatea identificării și tratării tuturor problemelor medicale coexistente care pot crește ratele de morbiditate și mortalitate sau care pot să apară ca urmare a procedurii chirurgicale și pot avea un impact negativ asupra evoluției post-transplant.

Un aspect ce poate avea efect negativ pentru transplant îl constituie problemele de natură socială ale pacientului, cum ar fi restricțiile financiare și de mobilitate sau un model de neconformitate. Acestea constituie elemente ce trebuiesc evaluate și analizate în paralel cu statusul medical al acestuia.

O serie de afecțiuni sunt în măsură să compromită funcția renală indiferent de categoria de vârstă la care apar. Cele mai frecvente cauze ale bolii renale ce conduc la transplant renal sunt următoarele: diabetul - 31%; glomerulonefrita cronică - 28%; rinichi polichistic - 12%; nefroscleroza (hipertensivă) - 9%; lupus eritematos sistemic - 3%; nefrită interstițială - 3%.

Printre condițiile de comorbiditate preexistente la pacienții cu afecțiuni renale post-transplant, un loc important îl ocupă afecțiunile hepatice reprezentate de infecțiile cu VHB și VHC.

La pacienții transplantați, multe dintre cauzele specifice infecției pot fi corelate cu vârsta grefei. Cele mai multe infecții oportuniste apar după prima lună post-transplant până la un an, dar astfel de infecții sunt în mod obișnuit frecvente între lunile 1 și 6, când imunosupresia este maximă. Această perioadă este una critică deoarece o serie de factori infecțioși precum VHB și VHC se pot dezvolta pe fondul unui sistem imun slăbit.[28]

Infecția cu virusul hepatitei B este o cauză cunoscută a morbidității și a mortalității în rândul beneficiarilor unui transplant renal. Deși numeroase studii au raportat impactul VHB asupra pacienților și rezultatului grefei în transplantul renal, rolul în patogeneză este încă neclar.[29, 30]

Infecția cu VHB reprezintă o cauză majoră a morbidității în întreaga lume. În ciuda disponibilității încă de la începutul anilor 1980 a unui vaccin, VHB rămâne o cauză majoră a hepatitei cronice, a cirozei și a carcinomului hepatocelular.

Infecția cu virusul hepatitei C este cauza principală a bolii hepatice după transplantul renal. Majoritatea pacienților dializați au fost seroconverși la ARN pozitiv făcând ca încărcarea virală să crească în timpul terapiei imunosupresoare. Riscul de a dezvolta boli hepatice cronice este legat de constatările histopatologice, durata și severitatea bolii, imunosupresie și perioada de transplant. În plus, infecția cu virusul hepatitei C poate fi un factor asociat cu apariția post-transplant a diabetului și a proteinuriei.[31]

În ultimele decenii, îmbunătățirea rezultatelor transplantului renal a fost rezultatul înțelegerii unei imunosupresii mai bune, al conservării organelor și al selecției pacienților. Performanțele obținute în domeniul transplantului de organe solide printr-o înțelegere și îmbunătățire a medicației imunosupresoare administrate beneficiarilor de transplant ar putea fi completată de o altă etapă, una ce ar putea fi reprezentată de tratarea individualizată a pacienților ce pot fi propuși transplantului. Aceasta trebuie să aibă în vedere maximizarea șanselor de succes ale transplantului încă din perioada pre-transplant.

În mod particular, s-ar putea elabora modele de abordare în ceea ce privește pacienții propuși unui transplant renal. Pentru acest lucru ar trebui avute în vedere afecțiunile cu evoluțiile lor asociate atât procesului de transplant cât și comorbidităților. Cei mai importanți sunt factorii de natură imunologică ce pot avea ecou atât de la organul transplantat, de la primitor, cât și din modul de pregătire pre-transplant și îngrijire post-transplant.

Analizarea fiecărui individ în funcție de informațiile clinice și paraclinice, cât mai ales de istoricul său și evoluția în diverse afecțiuni suferite, poate fi cheia unui model de predicție în evoluția post-transplant atât a grefei renale cât mai ales a pacientului și comorbidităților lui analizate și tratate în mod specific de la individ la individ.

Analiza co-morbidităților și a datelor clinice și paraclinice poate permite realizarea unui model de predicție a evoluției post-transplant, având drept scop particularizarea abordării fiecărui caz.

De aceea, scopurile **Studiului I** au fost:

- 1) Evaluarea prevalenței infecțiilor cu VHB și VHC la donatorii de rinichi și la primitorii de grefe renale;
- 2) Evaluarea efectelor infecțiilor cu VHB și VHC asupra rezultatelor transplantului renal.

În **Studiul al II-lea**, am evaluat relația dintre frecvențele alelelor HLA și infecțiile cu virusurile hepatitice VHB și VHC.

Studiul al III-lea a avut ca obiective:

- descrierea frecvenței alelelor HLA (-A*, -B*, -DRB1*) într-un eșantion reprezentativ pentru România și a relațiilor dintre aceste alele și afecțiunile rinichiului care impun transplant renal;
- descrierea frecvenței haplotipurilor estimate într-un eșantion reprezentativ pentru populația României;
- identificarea haplotipurilor estimate susceptibile să favorizeze afecțiunile rinichiului.

5. Metodologia cercetării

În realizarea studiului retrospectiv de cohortă unicentric (Institutul Clinic „Fundeni”), au fost investigați pacienții transplantați în perioada 1 ianuarie 2008 - 31 decembrie 2012 și urmăriți până la 31 ianuarie 2013. Perioada totală de observație a fost de 1535 pacienți-ani (mediană 42, q1 30; q3 58).

Au fost incluși în studiu 5.052 donatorii potențiali de organe (de măduvă osoasă sau de rinichi – vii înrudiți cu primitorii sau în moarte cerebrală) testați în Centrul de Imunologie și Virusologie din Institutul Clinic „Fundeni” între anii 2008-2016.

Datele au fost obținute din evidențele Centrului de Urologie și Transplant Renal „Fundeni”, ale Centrului de Imunologie și Virusologie din Institutul Clinic „Fundeni” și ale Registrul Renal Român.

S-au urmărit o serie de parametri precum terapia imunosupresoare, funcția grefei renale la diferite intervale de timp (eRFG, proteinurie), compatibilitatea donator-primitor (sistemul HLA, anticorpi anti-HLA (PRA), compatibilitate directă (cross-match)), infecția cu virusuri hepatice, haplotipuri estimate.

Pentru analizele statistice au fost utilizate programele Analyse-it 4.81 și IMB SPSS Statistic versiunea 2.0, iar pentru estimarea haplotipurilor s-a utilizat programul PHASE.

Variabilele continue sunt prezentate ca medie și deviație standard sau mediană și cuartile 1 și 3, în funcție de distribuție (normalitatea distribuției a fost evaluată cu testul Shapiro-Wilk), iar cele nominale ca procente.

Comparațiile între grupurile investigate au fost evaluate cu ANOVA sau Kruskal-Wallis pentru variabilele continue, conform distribuției, respectiv cu χ^2 pentru variabilele nominale.

Rata incidenței a fost calculată ca număr evenimente la 1000 bolnavi-ani. Pentru identificarea determinanților evoluției, au fost folosite metoda Kaplan Meier și modele de regresie logistică Cox.

Valori mai mici de 0,05 al p au fost considerate semnificative.

Studiul a fost aprobat de Comisia de Etică a Cercetării Științifice din Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila” București.

La înrolarea în studiu, toți pacienții au completat un formular standardizat de consimțământ informat. Acest formular a fost completat și semnat de pacient în prezența reprezentantului studiului, după prezentarea broșurii informative cu privire la colectarea, stocarea și prelucrarea datelor cu caracter personal și a broșurii investigatorului. Formularele au fost avizate de Comisia de Etică a Cercetării Științifice (C.E.C.S.) din Universitatea de Medicină și Farmacie “Carol Davila” – București.

6. Rezultate

6.1. Caracteristicile pacienților investigați

Tabel VI.1. Caracteristicile pacienților investigați

		Toți	Deces sau inițiere dializă		Sig.
			Da	Nu	
Număr		434	61	373	-
Vârstă (ani)	Mediană (q1; q2)	37 (29-46)	35 (28;45)	38 (29;47)	p=0,3
Gen (%)	Feminin	165 (38%)	15%	85%	p=0,6
	Masculin	269 (62%)	13%	87%	
Boala renală primară (%)	• Glomerulonefrite	203 (47%)	11%	89%	p=0,4
	• Nefropatie diabetică	27 (6%)	22%	78%	
	• HTA și boli vasculare	3 (1%)	0%	100%	
	• Nefropatii tubulo-interstițiale	9 (2%)	11%	89%	
	• Altele	64 (15%)	19%	81%	
	• Necunoscute	128 (29%)	15%	85%	
Tratament anterior de substituție a funcțiilor renale (%)	• Hemodializă	398 (71%)	13%	87%	p=0,5
	• Dializă peritoneală	43 (10%)	19%	81%	
	• Transplant pre-emptiv	82 (19%)	15%	85%	
Timp așteptare TxR	luni (n=228)	17,0 (8;45,5)	18,0 (10; 48)	16,50 (7; 45,5)	p=0,2
Timp petrecut în dializă	NA	85 (20%)	14%	86%	p=0,05
	≤ 6 luni	73 (21%)	6%	95%	
	> 6 luni	276 (79%)	16%	84%	
Tip donator	Donator viu (%)	272 (64%)	14%	86%	p=0,9
	Donator moarte cerebrală (%)	161 (36%)	14%	86%	

		Toți	Deces sau inițiere dializă		Sig.
			Da	Nu	
Compatibilitate HLA (%)	• 33%	106 (24%)	26%	75%	p=0,009
	• 50%	158 (36%)	11%	89%	
	• 67%	140 (32%)	10%	90%	
	• 83%	19 (4%)	11%	89%	
	• 100%	11 (3%)	0%	100%	
Rejet acut (D/N, %)		131 (30%)	34%	66%	p<0,0001
eRFG la 3 luni de la TxR ≥60mL/min	Da	182 (42%)	13%	87%	p=0,5
	Nu	252 (52%)	15%	85%	
Proteinurie (mg/zi) la 3 luni de la TxR	0	142 (33%)	7%	93%	p<0,001
	<0,15g/zi	50 (11%)	39%	61%	
	0,15-0,5g/zi	121 (28%)	20%	80%	
	0,5-1,5g/zi	28 (7%)	29%	71%	
	1,5-3,0g/zi	85 (20%)	32%	68%	
	>3,0g/zi	7 (2%)	33%	67%	
Infecții cu virusuri hepatitice	• Fără VH	335 (77%)	11%	89%	p<0,0001
	• VHB	57 (13%)	19%	81%	
	• VHC	29 (7%)	21%	79%	
	• VHB și VHC	13 (3%)	54%	46%	
Evoluție (D/N %)	• Deces	15 (3%)			
	• Inițiere dializă	46 (11%)			
	• Deces sau inițiere dializă	61 (14%)			
	• Fără deces/inițiere dializă	312 (2%)			

6.2. Transplantul renal

6.2.1. Compatibilitatea alelelor HLA

Gradul de compatibilitate al alelelor HLA-A, HLA-B și HLA-DRB1 la subiecții investigați a variat. Cei mai mulți au avut compatibilități de 33, 50 și 67% (24, 36, respectiv 32%), compatibilitățile de 83 și 100% fiind rare (4, respectiv 3%) (**Tabelul VI.1., Figura 6.1.**).

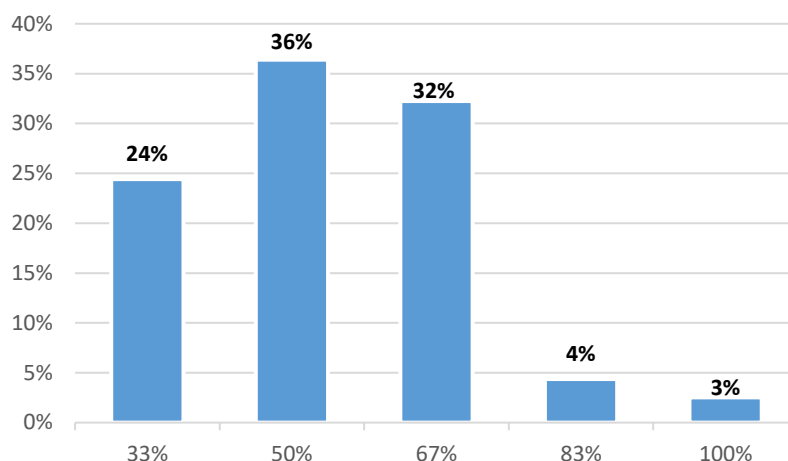


Figura 6.1. Distribuția pacienților în funcție de gradul de compatibilitate HLA (N=434)

6.2.2. Tipul donatorului

Grefele de la donatori vii au rezultate mai bune decât cele de la donatori cadavru. În lotul nostru, cele mai multe grefe au provenit de la donatori vii, obținerea acordului de recoltare de organe de la donatorii aflați în moarte cerebrală fiind încă o problemă la nivel național, astfel că raportul *greafă renală provenită de la donator viu/donator în moarte cerebrală* este de 1,7/1 (**Tabelul VI.1., Figura 6.2.**).

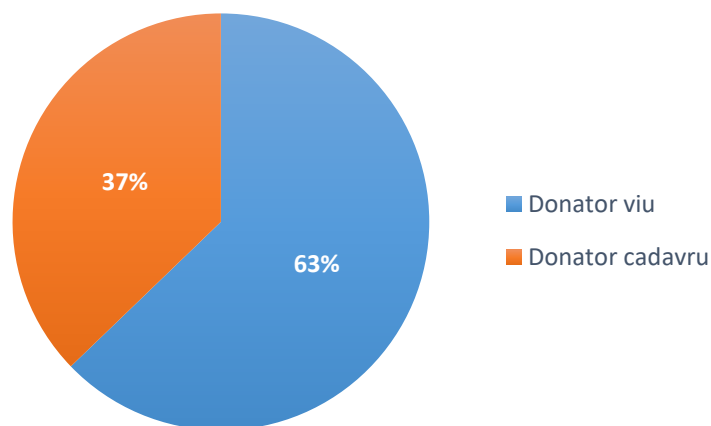


Figura 6.2. Distribuția pacienților în funcție de tipul donatorului (N=434)

Cu toate acestea, în perioada studiată, în Centru de Transplant Renal „Fundeni” s-au prelevat și transplantat 161 de grefe renale provenite de la donatori în moarte cerebrală.

6.3. Evoluția grefei

6.3.1. Proteinuria

Proteinuria a fost asociată cu leziuni ale grefei și este un predictor al pierderii acesteia. De asemenea, a fost asociată cu un risc mai mare de evenimente cardio-vasculare și de mortalitate.[32] Proteinuria a fost observată la 3 luni în 36% din cazuri (**Figura 6.3.**).

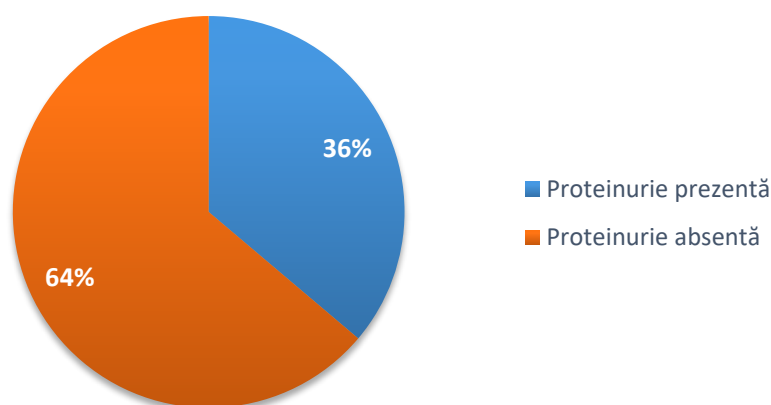


Figura 6.3. Frecvența proteinuriei la pacienții investigați (N=434)

6.3.2. eRFG

Rata estimată a filtrării glomerulare (eRFG) determinată la 3 luni după transplant este considerată, în general, un predictor bun al supraviețuirii grefei și a pacientului.[33]

eRFG mediană la trei luni post-transplant renal a fost 55,5 (37; 72,3mL/min). Valori mai mici de 60mL/min au fost înregistrate la 58% dintre subiecți (**Tabelul VI.1., Figura 6.4.**).

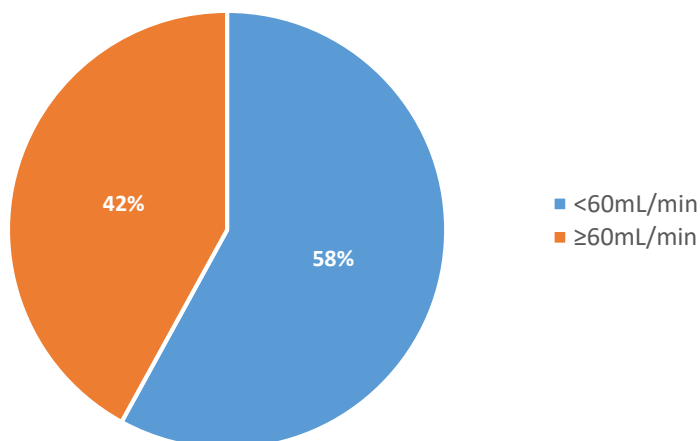


Figura 6.4. Distribuția pacienților investigați în funcție de eRFG la 3 luni după transplantare (N=434)

6.3.3. Rejet acut

Rejetul acut este asociat supraviețuirea redusă a grefei. Poate să apară în mai puțin de trei luni de la momentul transplantului (respingere acută timpurie) sau după trei luni de transplant (respingere acută târzie) și este favorabil influențat de intensificarea imunosupresiei.

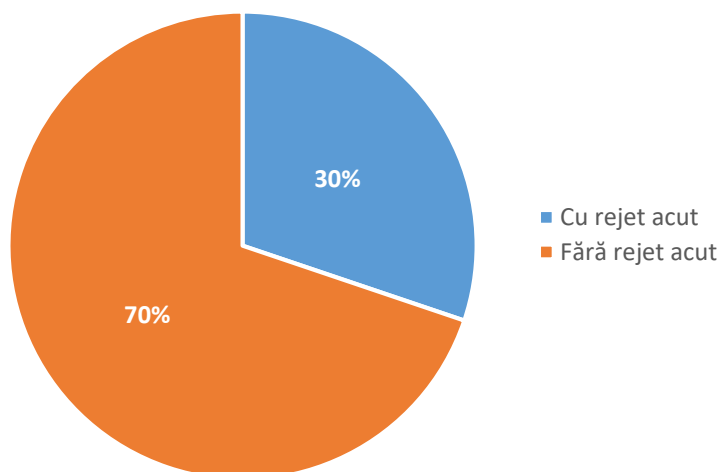


Figura 6.5. Frecvența rejecției acute la pacienții investigați (N=434)

La lotul studiat, rejecția acută a fost observată la 30% dintre subiecți. În majoritatea cazurilor, grefele renale și-au reluat funcția, dar în 34% de cazuri, funcția grefei a fost ireversibil pierdută (**Tabelul VI.1., Figura 6.5.**).

6.4. Infecția cu virusuri hepatice

Din cei 434 subiecți evaluați, 23% au avut infecții cu unul sau cu ambele virusuri, cei mai mulți cu VHB (13%), 7% cu VHC și 3% cu ambele virusuri (**Tabelul VI.1., Figura 6.6.**).

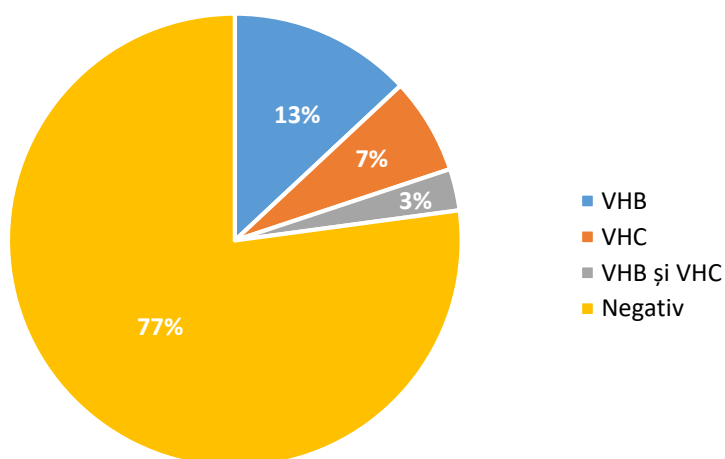


Figura 6.6. Frecvența infecțiilor cu virusuri hepatice (N=434)

6.5. Factorii care pot influența evoluția pacienților transplantați

6.5.1. Vârsta la transplantare

Vârsta înaintată poate influența nefavorabil rezultatele transplantului, mai ales prin acumularea de co-morbidități la primitor .

În cohorta observată, majoritatea pacienților au aparținut grupei de vârstă 30-39 ani și nu au existat diferențe semnificative între vârstele la momentul transplantului ale pacienților din loturile investigate (**Tabelul VI.1.**).

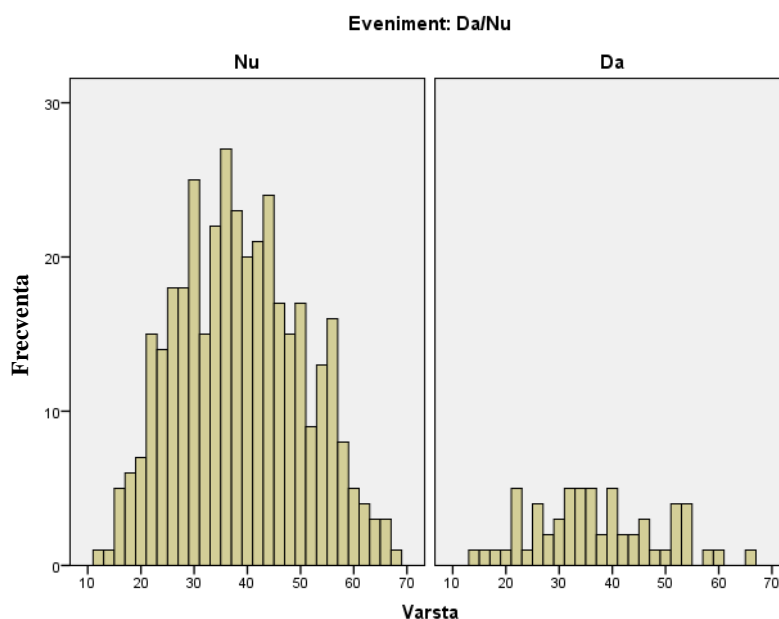


Figura 6.7. Distribuția rejecției în funcție de vârstă

Cei mai mulți pacienți care au cunoscut rejecția greșii renale s-au regăsit în grupa de vârstă 30-39 ani. Aceștia au fost urmați de pacienții cu vârstă cuprinsă între 20 și 29 ani, 40-49 ani și 50-59 ani. În rândul pacienților cu vârstă mai mică de 20 ani s-au înregistrat 4 cazuri de rejecție al greșii renale, iar cele mai puține cazuri de evenimente ce au însemnat pierderea funcției renale s-au întâlnit în rândul pacienților cu vârstă de peste 60 ani. (**Figura 6.7.**)

Cele mai multe cazuri de rejecție al greșii renale s-au înregistrat în rândul pacienților cu vârste cuprinse între 28 ani (q_1) și 45 ani (q_3) cu o medie de 36,48 ani. Vârsta mediană pentru grupul pacienților transplantați la care s-a înregistrat rejecția renală sau decesul a fost de 35 ani, spre deosebire de vârsta mediană pentru grupul în care transplantul renal a fost un succes (38 ani). (**Figura 6.8.**)

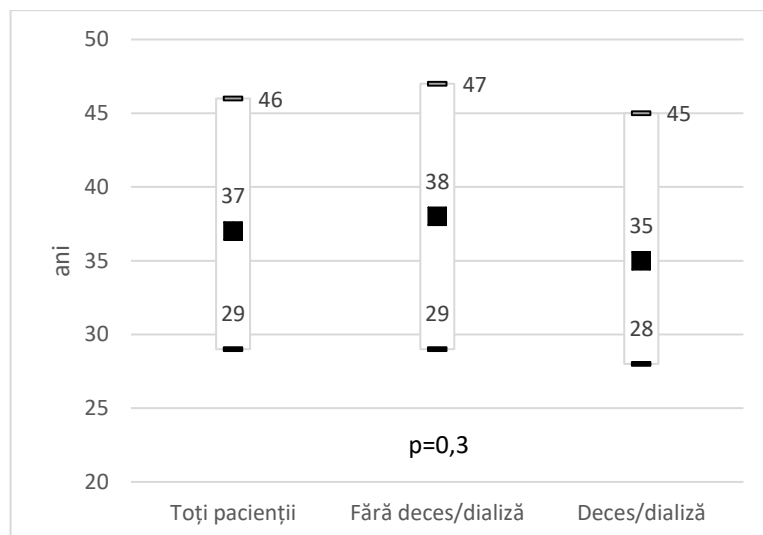


Figura 6.8. Vârsta mediană (ani) în funcție de evenimentul analizat (deces/pierderea grefei)

6.5.2. Durata tratamentului substitutiv renal înainte de transplant

Acumularea de co-morbidități specifice metodei de tratament substitutiv renal înainte de transplant și riscul de aloimunizare sunt proporționale cu durata expunerii și pot influența negativ supraviețuirea pacientului și a grefei.[34]

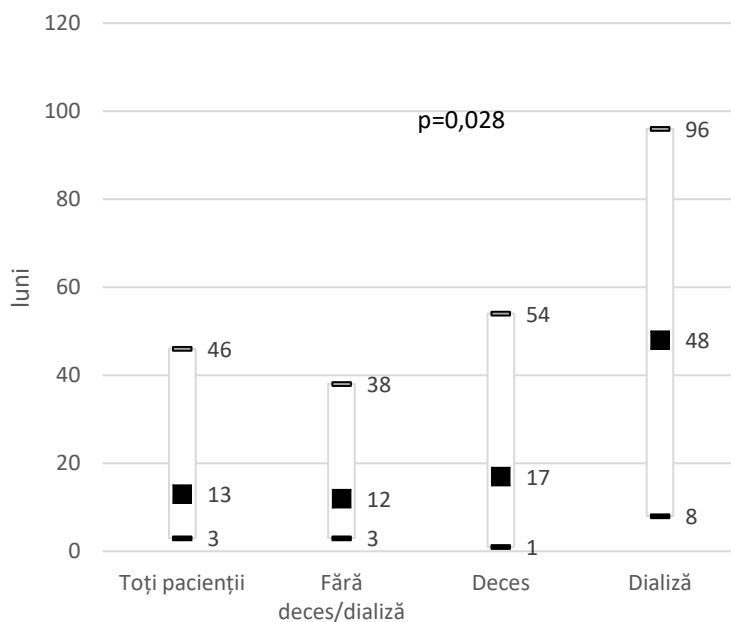


Figura 6.9. Durata mediană (q1; q3) a tratamentului prin dializă anterior transplantului în funcție de evoluție (n=349)

Astfel, pacienții cu evoluție favorabilă au avut cea mai mică durată mediană de tratament prin dializă (12 luni, iar cei care au pierdut grefa cea mai lungă (48 luni), în timp de aceia care au decedat au avut o perioadă intermediară (17 luni). Asemănător, pacienții cu evoluție nefavorabilă (deces/pierderea grefei) au avut mai frecvent durate mai mari de 6 luni ale tratamentului prin dializă (**Tabelul VI.1., Figura 6.9., Figura 6.10.**).

Incidența rejetului grefei renale înregistrată la pacienții care au beneficiat de dializă mai mult de 6 luni este de 16,3%. Aceasta prezintă o valoare semnificativă statistic mai mare față de incidența rejetului în rândul pacienților cu mai puțin de 6 luni petrecute în programul de dializă (16% vs. 6%; $p=0,045$).

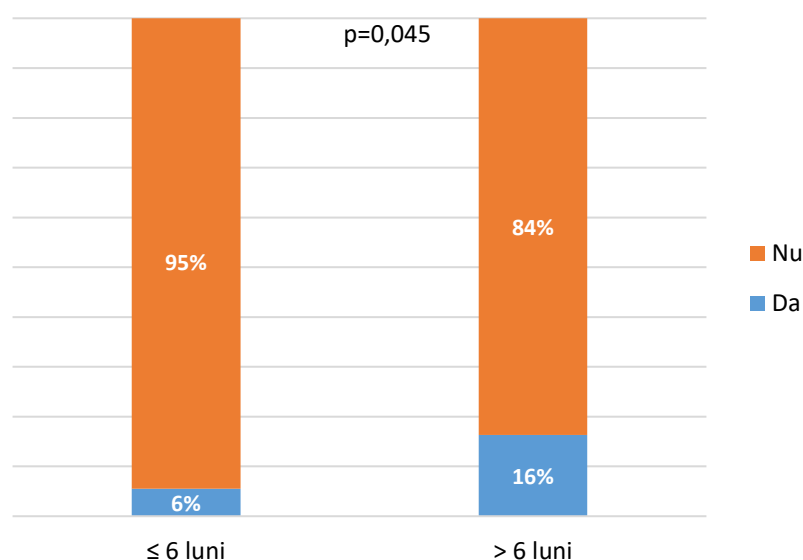


Figura 6.10. Procentul pacienților cu evoluție nefavorabilă (deces/dializă) în funcție de durata tratamentului prin dializă anterior transplantului (n=349)

6.5.3. Compatibilitate HLA

Cea mai mare incidență a decesului/dializei a fost observată la pacienții cu o compatibilitate pentru grupul de alele HLA-A*, HLA-B* și HLA-DRB1* de 33% (26%), urmată de cea observată la un nivel de compatibilitate de 50 și 67% (11, respectiv 10%).

Oricare dintre grupurile de pacienți care au avut un grad de potrivire HLA mai mare de 33% a înregistrat valori mai mici ale rejetului grefei renale, înalt semnificative ($p=0,009$) (**Figura 6.11.**).

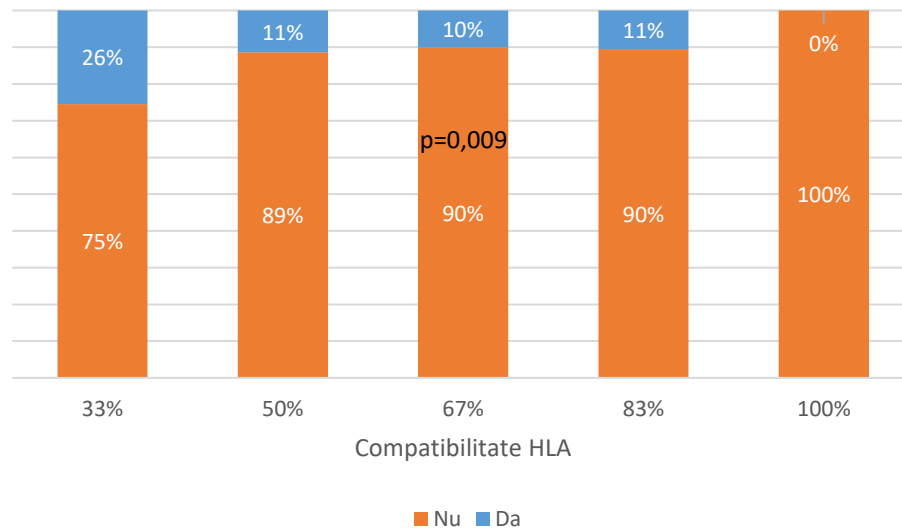


Figura 6.11. Relația dintre evoluția nefavorabilă (deces/dializă) și gradul de compatibilitate HLA (N=434)

6.5.4. Proteinuria

Proteinuria la 3 luni de la transplant a fost puternic asociată cu evoluția nefavorabilă, deces/inițierea dializei (26 vs. 7%; $p < 0,001$) (**Tabelul VI.1.**, **Tabelul VI.2.**). Mai mult, riscul evoluției nefavorabile a fost de 2-4 ori mai mare la cei cu proteinurie, indiferent de nivelul proteinurie. Totuși, procentul mare al celor cu evoluție nefavorabilă dar fără proteinurie sugerează că și alți factori decât proteinuria influențează evoluția (**Figura 6.12.**).

Tabelul VI.2. Relația dintre proteinurie și evoluția pacientului și a grefei

Proteinurie	Deces/inițiere dializă	
	Nu	Da
Absentă	93% (257)	7% (20)
Prezentă	74% (116)	26% (41)
Total	86% (373)	14% (61)
$p < 0,0001$		

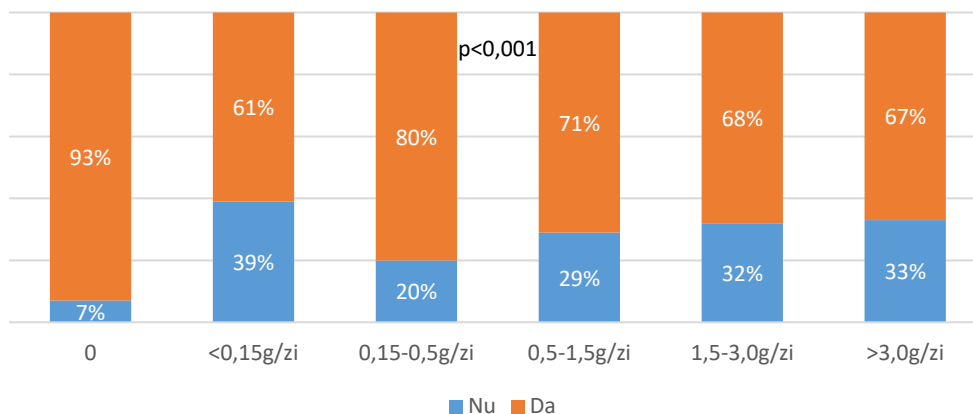


Figura 6.12. Incidența decesului/inițierii dializei în funcție de nivelul proteinuriei

Asocierea proteinuriei cu evoluția nefavorabilă s-a menținut și atunci când decesul și inițierea dializei au fost analizate separat. (Figura 6.13.)

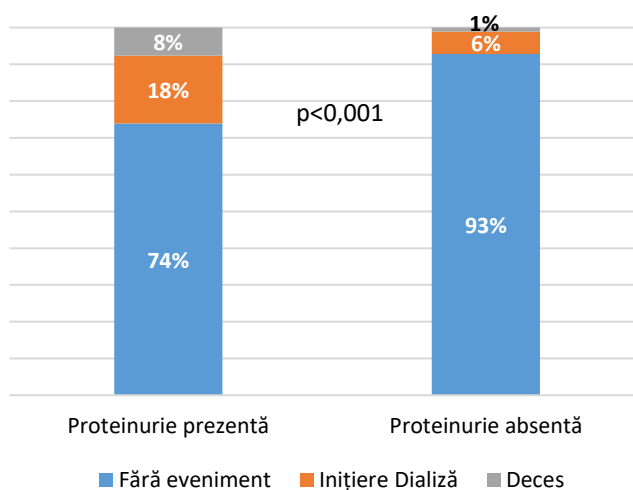


Figura 6.13. Relația dintre proteinuria la 3 luni după TxR și evoluția nefavorabilă (deces/inițiere dializă)

6.5.5. Rejetul acut

Evoluția nefavorabilă (deces/dializă) a fost mai frecventă la pacienții care avuseseră un episod de rejet acut (34 vs. 5%; $p<0,001$) (Tabelul VI.1., Figura 6.14.).

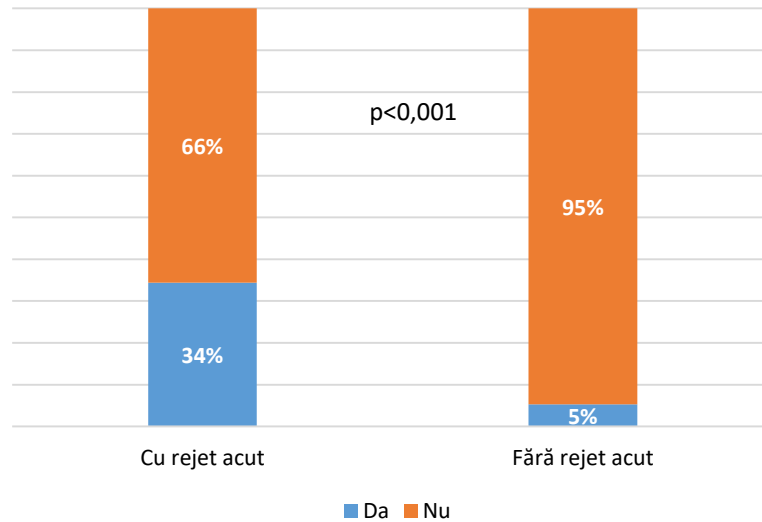


Figura 6.14. Frecvența evoluției nefavorabile (deces/dializă) în funcție de rejetul acut (N=434)

6.5.6. Infecția cu virusuri hepatitice

Infecția cu virusuri hepatitice a fost strâns asociată cu evoluția: decesul/inițierea dializei a fost de două ori, respectiv de cinci ori mai frecvent[la cei infectați cu VHB sau cu VHC, respectiv cu ambele virusuri, decât aceia fără infecții cu virusuri hepatitice.(Figura 6.15.)

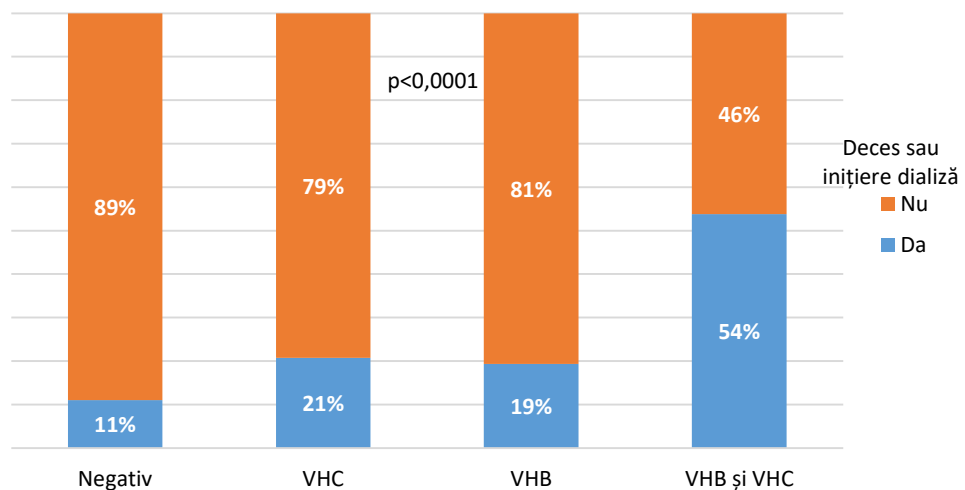


Figura 6.15. Relația dintre deces/inițierea dializei și infecția cu virusuri hepatitice

6.6. Caracteristicile donatorilor și ale primitorilor

Prevalența infecțiilor cu VHB a fost cuprinsă între 5 și 9% la subiecții investigați, numeric mai mică la primitorii transplantați pre-emptiv (6%) și la cei dializați peritoneal (5%) decât la cei hemodializați (9%), dar mai mare decât cea raportată de Institutul Național de Statistică (4%). Totuși, diferențele nu au fost semnificative statistic. Prevalența a fost numeric egală la primitorii de grefă renală și la donatori (8%) (**Tabelul VI.3., Figura 6.16.**).

Tabelul VI.3. Comparație între caracteristicile donatorilor sănătoși și ale primitorilor

	Donatori		Primitori								Sig
			HD		DP		Pre-emptiv		Total TxR		
VHB	Infecție VHB										
	Da	Nu	Da	Nu	Da	Nu	Da	Nu	Da	Nu	
Număr	565	4067	40	234	5	40	12	63	57	337	
% VHB+	12%		15%		11%		16%		14%		p=0,1
Vârsta (mediana; ani)	46,0	46,0	36,0	38,0	37,0	39,0	32,5	35,0	36,0	37,0	p=0,2
q1 (ani)	33,0	35,0	29,8	28,0	28,0	29,5	28,8	29,0	29,0	28,0	
q3 (ani)	56,8	56,0	41,3	48,0	43,0	46,0	42,3	42,5	42,0	46,0	
Gen (feminin; %)	50%	46%	35%	40%	0%	35%	33%	37%	32%	39%	p=0,3
VHC+	Infecție VHC										
	Da	Nu	Da	Nu	Da	Nu	Da	Nu	Da	Nu	
Număr	345	4067	24	234	2	40	4	63	30	337	
% VHC+	8%		9%		5%		6%		8%		p=0,3
Vârsta (mediana; ani)	47,0	46,0	48,5	38,0	40,5	39,0	33,0	35,0	47,0	37,0	p=0,03
q1 (ani)	33,0	35,0	34,0	28,0	33,5	29,5	24,0	29,0	36,3	28,0	
q3 (ani)	57,0	56,0	52,0	48,0	40,5	46,0	42,0	42,5	53,3	46,0	
Gen (feminin; %)	54%	46%	42%	40%	50%	35%	25%	37%	40%	39%	p=0,7
VHB+&VHC+	Infecție VHB&VHC										
	Da	Nu	Da	Nu	Da	Nu	Da	Nu	Da	Nu	
Număr	51	4067	10	234	1	40	2	63	13	337	
% VHB+&VHC+	1%		4%		2%		3%		4%		p=0,7
Vârsta (mediana; ani)	49,0	46,0	33,0	38,0	28,0	39,0	32,0	35,0	33,0	37,0	p=0,001
q1 (ani)	35,5	35,0	28,0	28,0	-	29,5	22,0	29,0	27,0	28,0	
q3 (ani)	57,5	56,0	35,0	48,0	-	46,0	42,0	42,5	36,5	46,0	
Gen (feminin; %)	57%	46%	20%	40%	100%	35%	50%	37%	31%	39%	p=0,7

Prevalența infecțiilor cu VHC a variat între 12 și 16%. Cele mai mari prevalențe au fost la pacienții hemodializați (15%) și, surprinzător, la cei transplantați pre-emptiv (16%); la donatori și la pacienții dializați peritoneal prevalențele au fost similare (12% și 11%). Nici aceste diferențe nu au fost semnificative statistic. La subiecții investigați, prevalența infecției cu VHC a fost substanțial mai mare decât cea raportată de Institutul Național de Statistică (5%) (**Tabelul VI.3., Figura 6.16.**).

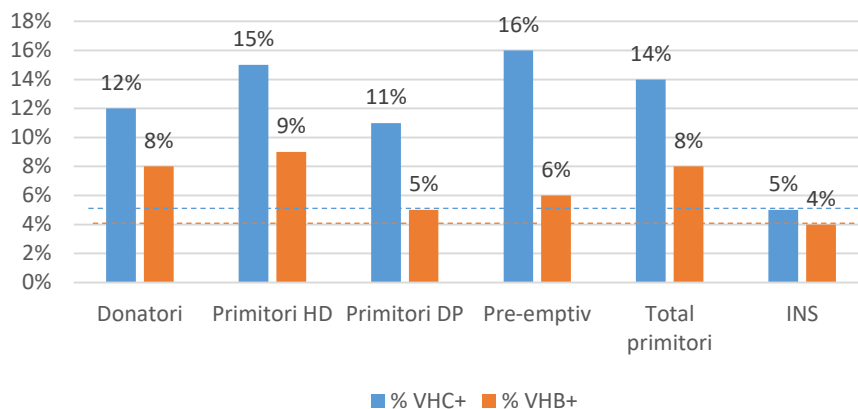


Figura 6.16. Prevalența infecțiilor cu VHB și VHC la subiecții investigați și cea raportată de Institutul Național de Statistică

6.7. Caracteristicile pacienților transplantați

Tabelul VI.4. Caracteristicile pacienților transplantați infectați cu VHB

	Toți	Infecție VHB		Sig
		Da	Nu	
Număr	437	57	337	
Vârstă mediană (ani; q1; q3)	37 (29; 46)	36 (29; 42)	37 (28; 46)	p=0,1
Gen feminin (%)	37,8%	10,9%	79,4%	p=0,1
Boala renală primară (%)				
• Glomerulonefrite	47%	14%	86%	p=0,4
• Nefropatie diabetică	6%	12%	88%	
• HTA și boli vasculare	1%	0%	100%	
• Nefropatii tubulo-interstițiale	2%	14%	86%	
• Altele	14%	11%	89%	
• Necunoscute	30%	18%	82%	
Tratament anterior de substituție a funcțiilor renale (%)				
• Hemodializă	70% (308)	13% (40)	76% (234)	p=0,1
• Dializă peritoneală	11% (48)	10% (5)	83% (40)	
• Transplant pre-emptiv	19% (81)	15% (12)	78% (63)	
Timp în lista de așteptare (luni)				
• ≤6 luni	20%	25%	19%	p=0,8
• >6 luni	80%	75%	81%	

Pacienții transplantați infectați cu VHB nu au particularități care să îi diferențieze de cei neinfecțiați. Tratamentul anterior prin dializă nu pare să crească riscul infecției VHB (Tabelul VI.4).

Tabelul VI.5. Caracteristicile pacienților transplantați infectați cu VHC

	Toți	Infecție VHC		Sig
		Da	Nu	
Număr	437	29	337	-
Vârstă mediană (ani, q1; q3)	37 (29; 46)	47 (36; 53)	37 (28; 46)	p=0,03
Gen feminin (%)	38%	7,3%	79,4%	p=0,005
Boala renală primară (%)				
• Glomerulonefrite	47%	8%	92%	p=0,6
• Nefropatie diabetic	6%	12%	88%	
• HTA și boli vasculare	1%	0%	100%	
• Nefropatii tubulo-interstițiale	2%	14%	86%	
• Altele	14%	11%	89%	
• Necunoscute	30%	6%	94%	
Tratament anterior de substituție a funcțiilor renale (%)				
• Hemodializă	70% (308)	8% (24)	76% (234)	p=0,3
• Dializă peritoneală	11% (48)	4% (2)	83% (40)	
• Transplant pre-emptiv	19% (81)	5% (4)	78% (63)	
Timp în lista de așteptare				
≤6 luni	20%	15%	19%	p=0,8
>6 luni	80%	85%	81%	

6.8. Relația HLA – infecții cu VHB, VHC

6.8.1. Relația VHB – HLA

În analiza uni-variabilă, infecția cu VHB a fost semnificativ asociată cu alelele HLA-A*11; -B*08, -B*13, -B*14, -B*15, -B*18, -B*35, -B*39, -B*44, -B*48, -B*50, -B*51, -B*52; -DRB1*01, -DRB1*07, -DRB1*11 și -DRB1*13 (Tabelul VI.6.).

Tabelul VI.6. Relația VHB - HLA-A*, -B*, -DRB1*

Alela HLA-A	Număr	%	VHB+	VHB-	Sig.
Total	9279	100%	1143	8136	
11	862	9,3	78	784	0,003
Alela HLA-B	Număr	%	VHB+	VHB-	Sig.
Total	9136	100%	1127	8009	
08	774	8,47	193	581	<0,001
13	365	4,00	105	260	<0,001
14	156	1,71	7	149	0,004
15	213	2,33	60	153	<0,001
18	1004	10,99	81	923	<0,001
35	1430	15,65	119	1311	<0,001
39	160	1,75	9	151	0,01

Alela HLA-A	Număr	%	VHB+	VHB-	Sig.
Total	9279	100%	1143	8136	
44	682	7,46	55	627	0,001
48	111	1,21	6	105	0,04
50	111	1,21	22	89	0,02
51	722	7,90	65	657	0,01
52	405	4,43	88	317	<0,001
Alela HLA-DRB1	Număr	%	VHB+	VHB-	Sig.
Total	9027	100%	1138	7889	
01	1308	14,49	129	1179	0,001
07	748	8,29	169	579	0,001
11	1531	16,96	84	1447	<0,001
13	847	9,38	184	663	<0,001

În analiza de regresie logistică, alela HLA-DRB1*11 fost asociată cu scăderea cu 58% a riscului de infecție cu VHB, în timp ce alele HLA-DRB1*13, -DRB1*15 și -DRB1*07, cu o creștere de 1,4-2,6 ori a riscului de infecție cu VHB (**Tabelul VI.6.**).

Tabelul VI.7. Relația dintre alelele HLA (-A*, -B*, -DRB1*) și infecția VHB

Alela HLA	B	SE	Wlad	df	Sig.	Exp(B)	95,0% CI for Exp(B)	
							Inferior	Superior
HLA-DRB1* 11	-0,87	0,13	47,13	1,00	<0,001	0,42	0,33	0,54
HLA-DRB1* 13	0,88	0,11	69,65	1,00	<0,001	2,41	1,96	2,96
HLA-DRB1* 15	0,31	0,13	6,09	1,00	0,01	1,36	1,07	1,75
HLA-DRB1* 07	0,96	0,11	80,04	1,00	<0,001	2,61	2,12	3,22
Constanta	-2,21	0,08	868,36	1,00	<0,001	0,11		
Semnificația statistică a modelului Cox Snell R ² =0,047 p=0,002 Test Hosmer and Lemeshow p=0,316								

6.8.2. Relația VHC – HLA

În analiza uni-variabilă, numai alele HLA-DRB1*01, -DRB1*03, -DRB1*07, -DRB1*11, -DRB1*13 și -DRB1*15 au fost asociate cu infecția cu VHC (**Tabelul VI.8.**).

Tabelul VI.8. Relația VHC - HLA-DRB1*

Alela HLA-DRB1	Număr	%	VHC+	VHC-	Sig.
Total	8571	100%	682	7889	
01	1255	14.64	76.00	1179.00	0.01
03	1115	13.01	70.00	1045.00	0.03
07	612	7.14	33.00	579.00	0.02
11	1708	19.93	261.00	1447.00	<0.001
13	700	8.17	37.00	663.00	0.01
15	612	7.14	27.00	585.00	<0.001

În analiza de regresie logistică, alela HLA DRB1-11 a fost asociată cu o creștere a riscului de infecție cu VHC ($p < 0,001$), în timp ce alela HLA DRB1*15 ar putea fi asociată cu o creștere a riscului de infecție cu VHC ($p = 0,09$). Vârsta s-a dovedit a fi un factor nefavorabil în cazul pacienților mai tineri, infecțiile cu VHC reprezentând un risc mai mare pentru aceștia, decât în cazul celor cu vârste înaintate (**Tabelul VI.9.**).

Tabelul VI.9. Relația dintre alelele HLA (A*, B*, DRB1*) și infecția VHC

Alela HLA	B	SE	Wlad	df	Sig.	Exp(B)	Interval de încredere	
							95,0% Exp(B)	
							Inferior	Superior
HLA DRB1* 11	1.483	0.123	146.36	1	<0.001	4.406	3.465	5.602
HLA DRB1* 15	-0.363	0.214	2.87	1	0.090	0.696	0.457	1.058
Sex	-0.282	0.115	6.03	1	0.014	0.755	0.603	0.945
Vârsta (ani)	-0.008	0.004	3.99	1	0.046	0.992	0.984	1.000
Constant	-2.678	0.216	153.48	1	<0.001	0.069		
Semnificația statistică a modelului Cox Snell $R^2 = 0,041$ $p < 0,001$								
Test Hosmer and Lemeshow $p = 0,6$								

6.9. Analiza frecvențelor alelelor HLA (-A*, -B*, -DRB1*) în România și în alte țări

Alelele HLA A* cu cele mai mari frecvențe au fost **HL-A*02 (30,4%)**, **-A*01 (13,3%)**, **-*24 (12,0%)**; **-A*03 (10,7%)**; **-A*11 (8,5%)**. Frecvența distribuției alelelor HLA-A* observată în România este mai apropiată de cea raportată în țări europene (Polonia, Franța, Croația, Italia), decât în Turcia (**Figura 6.17.**).

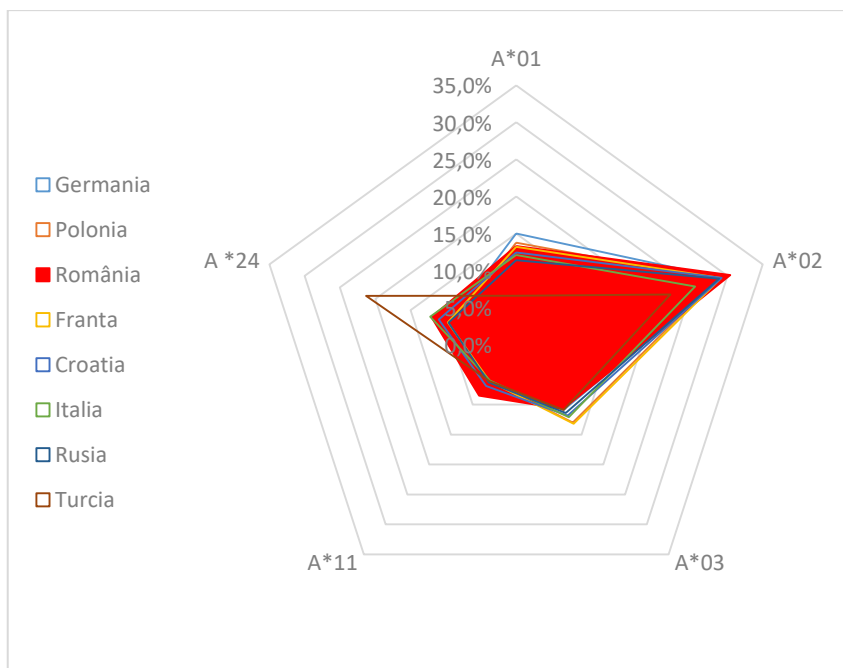


Figura 6.17. Frecvența alelelor HLA-A1* în România și în alte țări

În România, alelele HLA-B* cu cele mai mari frecvențe sunt **B*35 (15,1%)**, **B*18 (12,0%)**, **B*44 (9,0%)** și **B*51 (8,9%)**. Distribuția frecvențelor HLA-B* în România este mai asemănătoare cu cea raportată în Italia (**Figura 6.18.**).

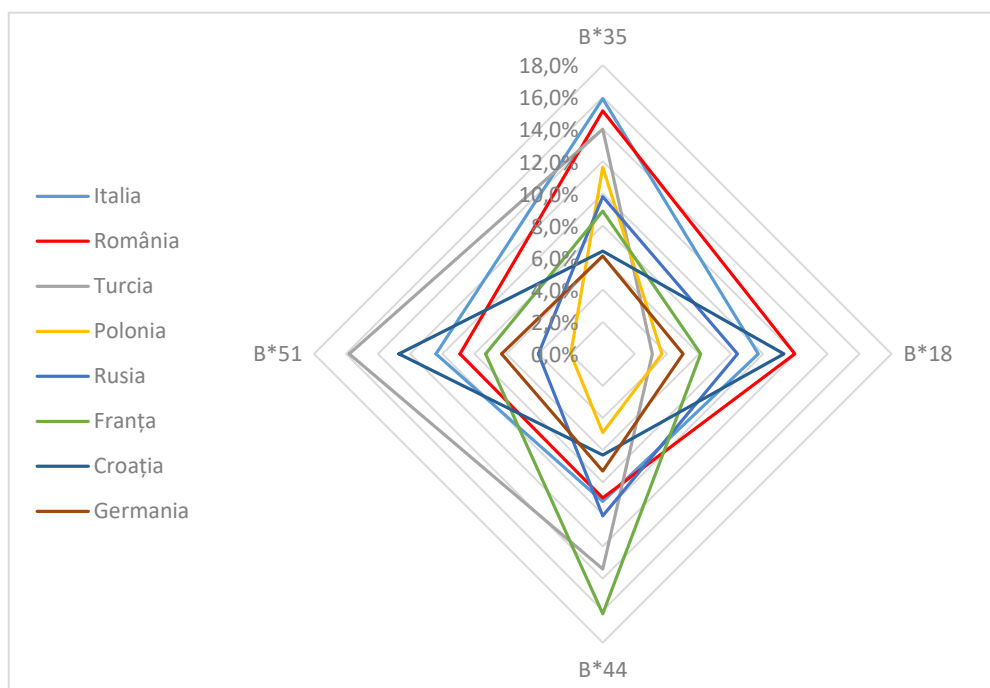


Figura 6.18. Frecvența alelelor HLA-B* în România și în alte țări

În privința alelelor HLA-DRB1*, cele mai mari frecvențe la nivel național sunt cele ale **HLA-DRB1*11 (20,6%), -DRB1*16 (11,5%), -DRB1*03 (10,6%); -DRB1*13 (9,70%); -DRB1*07 (9,5%), -DRB1*01 (9,5%); -DRB1*15 (8,5%); -DRB1*04 (8,3%)**. Frecvențe asemănătoare ale HLA-DRB1* au fost raportate în Italia și Turcia (**Figura 6.19.**).

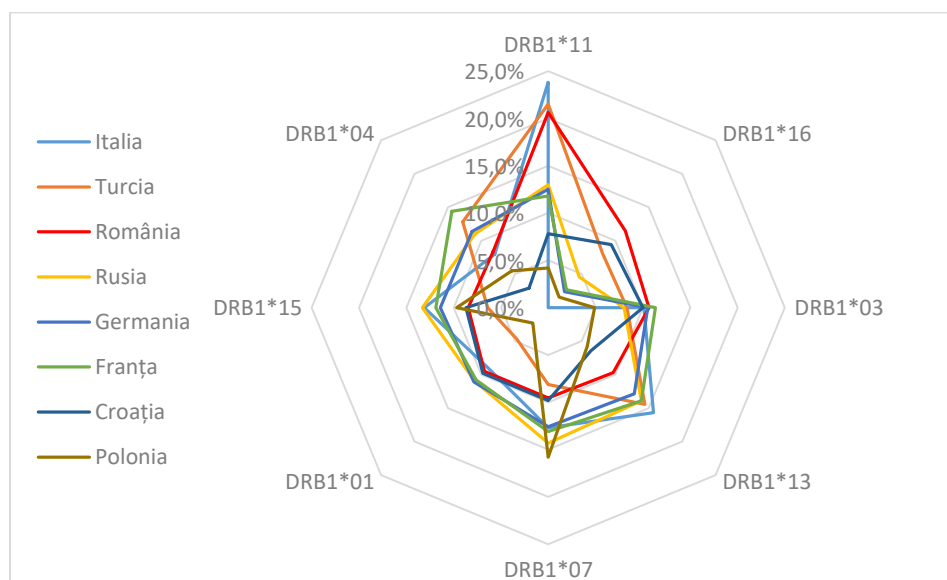


Figura 6.19. Frecvența alelelor HLA-DRB1* în România și în alte țări

6.10. Analiza frecvenței alelelor HLA (-A*, -B*, -DRB1*) în România la pacienți cu afecțiuni renale aflați pe liste de așteptare a transplantului de rinichi și la donatori sănătoși

Din analiza diferenței dintre frecvența de apariție a alelelor HLA –A*, -B* și -DRB1* la pacienți aflați pe lista de așteptare a unui transplant renal, deci având diferite nefropatii, și cea observată la subiecții sănătoși neînrușiți aflați în evidență pentru donarea de organe (măduvă osoasă sau rinichi), deci sănătoși, pot fi identificate alele care favorizează nefropatiile (frecvență semnificativ mai mare la pacienți) și acele care protejează purtătorii de apariția nefropatiilor (donatori sănătoși).

La subiecții investigați, alelele A*03, A*69, B*57, DRB1*01, DRB1*09 și DRB1*07 favorizează apariția nefropatiilor, în timp ce alelele A*24, A*32, B*41 și DRB1*04 au rol protector. Deși diferențele de frecvență au fost semnificative statistic, nu au depășit 1,5%, cu excepția DRB1*07 și DRB1*09, ambele favorizând nefropatiile. Însă, dacă se iau în calcul numărul mare de alele și frecvența de apariție a fiecărei alele în populație, impactul

real al asocierilor dintre anumite alele și afecțiunile rinichiului este probabil prea mic pentru a avea semnificație clinică.

6.11. Analiza frecvenței haplotipurilor HLA-A*-B*-DRB1* estimate în România, la pacienții cu afecțiuni renale aflați pe liste de așteptare a transplantului de rinichi și la donatori sănătoși

Haplotipurile donatorilor și primitorilor din România au fost determinate în ambele eșantioane folosind procedura PHASE. Numărul total de haplotipuri identificate este 1.477 (934 haplotipuri în eșantionul D, 974 în eșantionul P, 431 fiind comune celor două eșantioane). Mai mult de 1000 de haplotipuri au fost identificate exclusiv într-unul dintre eșantioane, dar frecvențele acestor haplotipuri nu sunt mai mari de 0,33%. Faptul că un haplotip nu a fost identificat prin procedura PHASE într-unul dintre eșantioane nu demonstrează că acest haplotip nu apare în ambele populații, iar absența unui haplotip din lista generată de PHASE ar putea avea cauze întâmplătoare, datorate eșantionării sau procedurii probabiliste de reconstrucție a haplotipului prin programul PHASE.

În România, 57 de haplotipuri au frecvențe mai mari de 0,3%, însumând 35,9% și 32,3% din totalul haplotipurilor identificate în eșantionul D, respectiv în eșantionul P. Cele mai frecvente haplotipuri HLA -A*-B*-D, RB1* întâlnite la donatori au fost:

- 2 haplotipuri HLA cu frecvențe apropiate de 3%: (A*02-B*18-DRB1*11), (A*01-B*08-DRB1*03);
- 8 haplotipuri HLA cu frecvențe în intervalul 0,9%-1,2%: (A*02-B*35-DRB1*11), (A*02-B*13-DRB1*07), (A*01-B*40-DRB1*14), (A*24-B*18-DRB1*11), (A*02-B*44-DRB1*16), (A*24-B*35-DRB1*11), (A*02-B*27-DRB1*16), (A*03-B*35-DRB1*01).
- 25 haplotipuri HLA cu frecvențe în intervalul 0,4%-0,8%;
- 22 haplotipuri HLA cu frecvențe în intervalul 0,3%-0,4%.

Frecvențele haplotipurilor HLA-A*-B*-DRB1* estimate prin PHASE au fost comparabile cu frecvențele acelorași haplotipuri din țări precum Italia, Grecia, Croația, Irlanda, Albania, Rusia, Germania (**Figura 6.20.**).

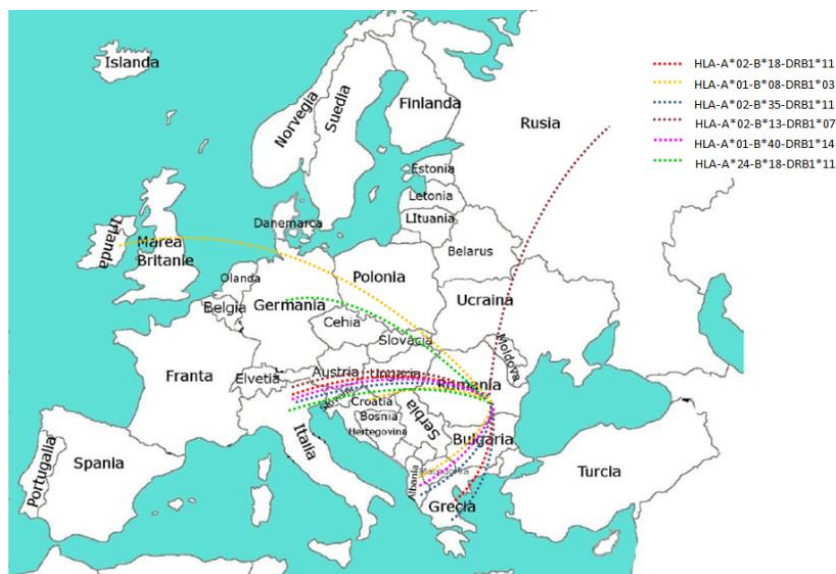


Figura 6.20. Asocierea haplotipurilor comune în România și alte țări europene

În eșantionul pacienților cu afecțiuni renale aflați pe lista de așteptare, 56 haplotipuri au avut frecvența mai mare de 0,3% și au însumat 36,59% și 31,24% din totalul haplotipurilor identificate în eșantioanele P și respectiv D. Cele mai frecvente haplotipuri au fost:

- 2 haplotipuri HLA cu frecvențe apropiate de 3%: (A*01-B*08-DRB1*03), (A*02-B*18-DRB1*11);
- 10 haplotipuri HLA cu frecvențe în intervalul 0,9%-1,3%: (A*24-B*35-DRB1*11), (A*02-B*52-DRB1*15), (A*01-B*40-DRB1*14), (A*02-B*35-DRB1*11), (A*24-B*18-DRB1*11), (A*02-B*51-DRB1*11), (A*11-B*35-DRB1*01), (A*11-B*35-DRB1*11), (A*02-B*51-DRB1*16), (A*02-B*44-DRB1*16);
- 25 haplotipuri HLA cu frecvențe în intervalul 0,4%-0,9%;
- 19 haplotipuri HLA cu frecvențe în intervalul 0,3%-0,4%.

7. CONCLUZII

1. Cohorta investigată are o serie de particularități, explicate în parte, de frecvența redusă a transplantului renal în România. Față de alte serii publicate:
 - a. primitorii de transplant sunt mai tineri, au într-o proporție mai mare glomerulopatii dar într-una mai mică diabet zaharat, dar au într-o proporție mai mare decât populația generală infecții cu VHB și VHC;
 - b. predomină donatorii vii înrudiți, procentul transplantului pre-emptiv este mare, durata tratamentului prin dializă înainte de transplant este relativ redusă, iar strategia de selecție în funcție de histocompatibilitate relativ laxă, în schimb excluzând bolnavii cu PRA sub 20% și cross-match pozitiv;
 - c. tratamentul de inducție a inclus basiliximab, ciclosporină și metil prednisolon;
2. Supraviețuirea pacientului sau a grefei a fost de 93% la 1 an și de 77% la 5 ani de la transplant, sensibil mai mică decât în alte serii și a avut următorii determinanți independenți:
 - a. episoadele de rejet acut, care au fost mai frecvente decât raportat în alte serii, exprimând posibil gradul relativ redus de compatibilitate HLA, la primitori în mare parte hemodializați;
 - b. co-infecția VHB-HVC, consecință probabilă a prevalenței încă mari a pacienților sero-pozitivi în centrele de dializă din România;
 - c. compatibilitatea HLA redusă explicabilă prin strategia centrului care a avut în vedere preponderența donatorilor vii înrudiți și vârsta tânără a primitorilor;
 - d. durata mare a tratamentului prin dializă anterior transplantului, determinată de adresabilitatea mică a transplantului în România;
 - e. paradoxal, creșterea în vârstă a fost asociată cu rezultate mai bune ale transplantului.
1. Prevalența infecțiilor cu VHB a fost cuprinsă între 5 și 9% la subiecții investigați, mai mică la primitorii transplantați pre-emptiv (6%) și la cei dializați peritoneal (5%) decât la cei hemodializați (9%), dar mai mare decât cea raportată de Institutul Național de Statistică (4%). Totuși, diferențele nu au fost semnificative statistic. Prevalența a fost numeric egală la primitorii de grefă renală și la donatori (8%).

2. Prevalența infecțiilor cu VHC a variat între 12 și 16%. Cele mai mari valori s-au înregistrat la pacienții hemodializați (15%) și, surprinzător, la cei transplantați pre-emptiv (16%). La donatori și la pacienții dializați peritoneal prevalențele au fost similare (12% și 11%), dar aceste diferențe nu au fost semnificative statistic. La subiecții investigați, prevalența infecției cu VHC a fost substanțial mai mare decât cea raportată de Institutul Național de Statistică (5%).
3. Vârsta mediană a donatorilor a fost în general mai mare decât cea a primitorilor, iar vârsta primitorilor VHC+ hemodializați a fost mai mare.
4. A existat o predominanță numerică a femeilor în grupul donatorilor infectați cu virusurile hepatitelor B și C, dar deosebirile distribuției status-ului serologic în funcție de gen au fost ne semnificative.
5. Infecția cu VHB a fost semnificativ asociată cu alelele HLA -A*11, -B*08, -B*13, -B*14, -B*15, -B*18, -B*35, -B*39, -B*44, -B*48, -B*50, -B*51, -B*52 și -DBR1*01, -DBR1*07, -DBR1*11, -DBR1*13.
6. Alela HLA DRB1*11 a fost asociată cu scăderea riscului de infecție cu VHB, în timp ce alelele HLA -DRB*13, -DRB1*15, -DRB1*07, cu o creștere a riscului de infecție cu VHB.
7. În privința infecției cu VHC nu s-au observat corelații între alelele HLA clasa I luate în studiu, în schimb alelele HLA clasa II au reprezentat corelație semnificativă statistic cu infecțiile VHC.
8. Alelele HLA -DRB1*01, -DRB1*03, -DRB1*07, -DRB1*11, -DRB1*13, -DRB1*15 au fost asociate semnificativ cu infecția cu VHC.
9. Alela HLA -DRB1*11 a fost asociată cu o creștere a riscului de infecție cu VHC ($p < 0,001$), în timp ce alela HLA -DRB1*15 ar putea fi asociată cu o creștere a riscului de infecție cu VHC ($p = 0,09$).
10. Vârsta s-a dovedit a fi un factor nefavorabil în cazul pacienților mai tineri, infecțiile cu VHC reprezentând un risc mai mare pentru aceștia, decât în cazul celor cu vârste înaintate.
11. Este necesară determinarea evoluțiilor bolilor hepatice cronice cauzate de VHB și VHC pentru a stabili dacă asocierea cu alelele HLA se menține, ca predictor al infecțiilor cu VHB și VHC.
12. Crearea unei baze de date care să conțină haplotipuri determinate atât pentru pacienți cât și pentru donatori, ar putea fi utilă în dezvoltarea unui algoritm asemănător OptiMatch sau HapLogic care să faciliteze alegerea perechilor

donator-primitor, eliminând cazurile de rejet al grefei sau deces al pacienților post-transplant puse pe seama nepotrivirii HLA. Prin acest algoritm s-ar putea scurta mult timpul de așteptare pe listă, precum și prioritizarea acelor pacienți cu haplotipuri mai puțin frecvente.

13. Frecvența distribuției alelelor observată în România (**HLA-A*02 (30,4%); -A*01 (13,3%); -*24 (12,0%); -A*03 (10,7%); -A*11 (8,5%); -B*35 (15,1%); -B*18 (12,0%); -B*44 (9,0%); -B*51 (8,9%); -DRB1*11 (20,6%); -DRB1*16 (11,5%); -DRB1*03 (10,6%); -DRB1*13 (9,70%); -DRB1*07 (9,5%); -DRB1*01 (9,5%); -DRB1*15 (8,5%); -DRB1*04 (83%)**) este apropiată de cea raportată în țări precum Polonia, Franța, Croația, Italia și Turcia.
14. În ciuda impactului scăzut asupra dezvoltării nefropatiilor, unele alele HLA au prezentat un rol favorizant în apariția acestor afecțiuni (HLA-A*03, -A*69, -B*57, -DRB1*01, -DRB1*09 și -DRB1*07), iar altele au avut o funcție de protecție în evoluția afecțiunilor renale (HLA-A*24, -A*32, -B*41 și -DRB1*04).
15. Frecvențele haplotipurilor HLA-A*-B*-DRB1* estimate prin PHASE au fost comparabile cu frecvențele aceluiași haplotipuri din țări precum Italia, Grecia, Croația, Irlanda, Albania, Rusia, Germania.
16. Probabilitatea de a găsi perechi de donori – primitori pentru transplantul de rinichi pe baza haplotipurilor HLA este mică, mai ales dacă donatorii sunt neînrușiți. Astfel, un algoritm de selecție bazat pe o bază de date formată din haplotipuri determinate sau estimate poate crește șansele unor pacienți cu haplotipuri HLA rare.

BIBLIOGRAFIE

1. Danovitch, G., *Handbook of kidney Transplantation 5th edition: Options for Patients with End-Stage Renal Disease*. 2010: p. pp.1-390.
2. Bradley H Collins, et al., *Renal Transplantation*. Medscape, 2015.
3. Diethelm, A.G., et al., *Progress in renal transplantation. A single center study of 3359 patients over 25 years*. *Ann Surg*, 1995. **221**(5): p. 446-57; discussion 457-8.
4. Starzl, T.E., et al., *The use of cyclosporin A and prednisone in cadaver kidney transplantation*. *Surg Gynecol Obstet*, 1980. **151**(1): p. 17-26.
5. Rao, K.V. and R.C. Andersen, *Long-term results and complications in renal transplant recipients. Observations in the second decade*. *Transplantation*, 1988. **45**(1): p. 45-52.
6. Mathurin, P., et al., *Impact of hepatitis B and C virus on kidney transplantation outcome*. *Hepatology*, 1999. **29**(1): p. 257-63.
7. Conway, M., et al., *Prevalence of antibodies to hepatitis C in dialysis patients and transplant recipients with possible routes of transmission*. *Nephrol Dial Transplant*, 1992. **7**(12): p. 1226-9.
8. Genesca, J., et al., *Hepatitis C virus infection in renal transplant recipients: epidemiology, clinical impact, serological confirmation and viral replication*. *J Hepatol*, 1995. **22**(3): p. 272-7.
9. Chan, T.M., et al., *Pilot study of pegylated interferon-alpha 2a in dialysis patients with chronic hepatitis C virus infection*. *Nephrology (Carlton)*, 2007. **12**(1): p. 11-7.
10. Marcellin, P., et al., *Redevelopment of hepatitis B surface antigen after renal transplantation*. *Gastroenterology*, 1991. **100**(5 Pt 1): p. 1432-4.
11. Parfrey, P.S., et al., *Chronic hepatitis in end-stage renal disease: comparison of HBsAg-negative and HBsAg-positive patients*. *Kidney Int*, 1985. **28**(6): p. 959-67.
12. McCrudden, E.A., et al., *Hepatitis C virus infection detected by antibody tests and the polymerase chain reaction as a cause of liver dysfunction in renal transplant recipients*. *J Med Virol*, 1994. **42**(2): p. 158-63.
13. OMS, *Guidelines for the prevention, care and treatment of persons with chronic hepatitis B infection*. Guidelines 2015.
14. *EASL recommendations on treatment of hepatitis C 2014*. *J Hepatol*, 2014. **61**(2): p. 373-95.
15. Deterding, K., et al., *Delayed versus immediate treatment for patients with acute hepatitis C: a randomised controlled non-inferiority trial*. *Lancet Infect Dis*, 2013. **13**(6): p. 497-506.
16. Kanchana, T.P., et al., *Liver transplantation for patients on methadone maintenance*. *Liver Transpl*, 2002. **8**(9): p. 778-82.
17. Liu, L.U., et al., *Survival and risk of recidivism in methadone-dependent patients undergoing liver transplantation*. *Am J Transplant*, 2003. **3**(10): p. 1273-7.
18. *Neoral® [package insert]*. East Hanover, NJ: Novartis Pharmaceuticals Corporation, 2013.
19. Liu, J.P., et al., *Cyclosporin A inhibits hepatitis C virus replication and restores interferon-alpha expression in hepatocytes*. *Transpl Infect Dis*, 2011. **13**(1): p. 24-32.
20. Liow, J.S., et al., *Effect of a P-glycoprotein inhibitor, Cyclosporin A, on the disposition in rodent brain and blood of the 5-HT1A receptor radioligand, [11C](R)-(-)-RWAY*. *Synapse*, 2007. **61**(2): p. 96-105.

21. Gale, M., Jr., et al., *Control of PKR protein kinase by hepatitis C virus nonstructural 5A protein: molecular mechanisms of kinase regulation*. Mol Cell Biol, 1998. **18**(9): p. 5208-18.
22. Taguchi, T., et al., *Hepatitis C virus NS5A protein interacts with 2',5'-oligoadenylate synthetase and inhibits antiviral activity of IFN in an IFN sensitivity-determining region-independent manner*. J Gen Virol, 2004. **85**(Pt 4): p. 959-69.
23. Gale, M.J., Jr., et al., *Evidence that hepatitis C virus resistance to interferon is mediated through repression of the PKR protein kinase by the nonstructural 5A protein*. Virology, 1997. **230**(2): p. 217-27.
24. Schiappa, D.A., et al., *Relationship of hepatitis C genotype 1 NS5A sequence mutations to early phase viral kinetics and interferon effectiveness*. J Infect Dis, 2002. **185**(7): p. 868-77.
25. Quarato, G., et al., *The cyclophilin inhibitor alisporivir prevents hepatitis C virus-mediated mitochondrial dysfunction*. Hepatology, 2012. **55**(5): p. 1333-43.
26. Hopkins, S., et al., *89 SAFETY, PLASMA PHARMACOKINETICS, AND ANTI-VIRAL ACTIVITY OF SCY-635 IN ADULT PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C VIRUS INFECTION*. Journal of Hepatology. **50**: p. S36.
27. Tonelli, M., et al., *Systematic review: kidney transplantation compared with dialysis in clinically relevant outcomes*. Am J Transplant, 2011. **11**(10): p. 2093-109.
28. Karuthu, S. and E.A. Blumberg, *Common infections in kidney transplant recipients*. Clin J Am Soc Nephrol, 2012. **7**(12): p. 2058-70.
29. Matas, A.J., et al., *OPTN/SRTR 2013 Annual Data Report: Kidney*. American Journal of Transplantation, 2015. **15**(S2): p. 1-34.
30. Hart, A., et al., *OPTN/SRTR 2015 Annual Data Report: Kidney*. Am J Transplant, 2017. **17 Suppl 1**: p. 21-116.
31. Romero, E., et al., *Hepatitis C Virus Infection After Renal Transplantation*. Transplantation Proceedings. **40**(9): p. 2933-2935.
32. Knoll, G.A., *Proteinuria in Kidney Transplant Recipients: Prevalence, Prognosis, and Evidence-Based Management*. American Journal of Kidney Diseases. **54**(6): p. 1131-1144.
33. Santos, J. and L.S. Martins, *Estimating glomerular filtration rate in kidney transplantation: Still searching for the best marker*. World J Nephrol, 2015. **4**(3): p. 345-53.
34. Ushigome, H., et al., *Kidney transplantation for patients on long-term hemodialysis*. Transplant Proc, 2008. **40**(7): p. 2297-8.