



Katarzyna Czerwińska, Agnieszka Perkowska-Ptasińska, Dominika Dęborska-Materkowska,
Anna Sadowska-Jakubowicz, Magdalena Durlik

Klinika Medycyny Transplantacyjnej, Nefrologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Torque Teno virus — potencjalny biomarker w monitorowaniu kompetencji immunologicznej

Torque Teno virus — a potential biomarker in monitoring immunological competence

ABSTRACT

Infectious complications and rejection processes constitute two major types of post-transplant complications. The gold standard of post-transplant patients' management is to keep recipient's immune system at such optimal level of competence that is low enough to prevent rejection being the same time high enough to protect them from serious infectious complications. Unfortunately, at present, there are no tools that would allow for the precise defining the optimal immunosuppression in individual recipients.

The development of biomarkers that would help determine the state of immunosuppression remains the holy grail of current transplantology. *Torque Teno virus* (TTV) is a highly prevalent, nonpathogenic DNA virus emerging as a promising marker since its levels seem to reflect the level of immune competence of the host. Data collected so far implicate, that TTV may be clinically useful in predicting the risk of both rejection and infectious complications in grafts' recipients.

Forum Nefrol 2019, vol 12, no 2, 87–90

Key words: *Torque Teno virus*, TTV, biomarker, immunological competence

Przeszczepianie narządów to stosowana od kilkadziesiąt lat forma terapii, umożliwiająca przeżycie osobom ze schyłkową niewydolnością narządów własnych. Zapoczątkowane pod koniec lat 70. XX wieku wprowadzanie kolejnych silnych leków immunosupresyjnych pozwoliło na wydłużenie przeżycia przeszczepów narządowych, a tym samym na dynamiczny rozwój transplantologii. Silna immunosupresja, poza hamowaniem procesów odrzucania przeszczepu, jest jednak także źródłem poważnych powikłań doświadczanych przez biorców. Powikłania te stanowią wiodącą przyczynę chorobowości i śmiertelności osób po przeszczepieniu narządowym. Ryzyko wy-

stąpienia powikłań jest ściśle skorelowane ze stopniem upośledzenia układu odpornościowego biorcy, za optymalny uznaje się więc taki schemat terapii immunosupresyjnej, w którym stosuje się najniższe skutecznie zapobiegające odrzucaniu dawki leków. Niestety, współczesna wiedza i dostępne narzędzia diagnostyczne nie pozwalają na obiektywne i precyzyjne definiowanie optymalnej immunosupresji u indywidualnych pacjentów, jak dotąd nie zidentyfikowano bowiem takiego sposobu oceny aktywności układu odpornościowego, który umożliwiłby dokładne określenie ryzyka odrzucania i mógł być tym samym wykorzystany do ustalenia najniższych skutecznych dawek

►► Ryzyko wystąpienia powikłań jest ściśle skorelowane ze stopniem upośledzenia układu odpornościowego biorcy, za optymalny uznaje się więc taki schemat terapii immunosupresyjnej, w którym stosuje się najniższe skutecznie zapobiegające odrzucaniu dawki leków ◀◀

Adres do korespondencji:

dr hab. n. med.
Agnieszka Perkowska-Ptasińska
Klinika Medycyny Transplantacyjnej,
Nefrologii i Chorób Wewnętrznych
ul. Nowogrodzka 59, 02–006 Warszawa
tel.: 22 502 19 56, faks: 22 502 21 26
e-mail: aggape@poczta.onet.pl

▶▶W ostatnich kilku latach ukazały się publikacje dające nadzieję, że funkcję markera pozwalającego na ocenę aktywności układu immunologicznego u biorców przeszczepów narządowych będzie mógł pełnić niedawno odkryty i opisany *Torque Teno virus* (TTV)◀◀

▶▶*Torque Teno virus* jest małym, bezotoczkowym wirusem o kulistym, jednoniciowym genomie DNA liczącym 3,8 kb, o ujemnej polarności, z co najmniej czterema ramkami odczytu; występuje we krwi obwodowej (zarówno w osoczu, jak i w jądrzastych komórkach krwi, przede wszystkim limfocytach, w mniejszym stopniu w monocytach i granulocytach), szpiku kostnym, ślinie, kale, śluzie gardła◀◀

▶▶Po pierwotnej infekcji następuje faza przewlekła zakażenia i stabilizacja wirerii, której nie towarzyszą uchwytne objawy kliniczne◀◀

leków immunosupresyjnych. W ostatnich kilku latach ukazały się publikacje dające nadzieję, że funkcję markera pozwalającego na ocenę aktywności układu immunologicznego u biorców przeszczepów narządowych będzie mógł pełnić niedawno odkryty i opisany *Torque Teno virus* (TTV).

Torque Teno virus odkryto w Japonii w 1997 roku w surowicy pacjenta z potransfuzyjnym zapaleniem wątroby o nieznannej etiologii. Określono go wówczas jako TT — od imienia i nazwiska pacjenta, u którego został zidentyfikowany [1]. *Torque Teno virus* początkowo został sklasyfikowany do rodziny *Circoviridae*, rodzaju *Circovirus* [1, 2]. W 2005 roku Międzynarodowy Komitet Taksonomii Wirusów zmienił tę klasyfikację, przypisując TTV do rodziny *Anelloviridae*, rodzaju *Anellovirus* [3]. Dotąd do rodziny *Anelloviridae* zaliczono 29 wirusów.

Torque Teno virus jest małym, bezotoczkowym wirusem o kulistym, jednoniciowym genomie DNA liczącym 3,8 kb, o ujemnej polarności, z co najmniej czterema ramkami odczytu; występuje we krwi obwodowej (zarówno w osoczu, jak i w jądrzastych komórkach krwi, przede wszystkim limfocytach, w mniejszym stopniu w monocytach i granulocytach), szpiku kostnym, ślinie, kale, śluzie gardła [4–6]. Jest to wirus niepatogenny, występujący dość powszechnie w populacji ludzkiej, częstość jego występowania w różnych obszarach geograficznych jest jednak zróżnicowana i wynosi od 5% w Brazylii do ponad 90% w Rosji, Pakistanie i Japonii. Przykładowe zakresy udokumentowanych poziomów wirerii TTV we krwi pełnej wynoszą średnio $2,7 \times 10^6$ kopii/ml wśród zdrowych sportowców czy też 8×10^4 kopii/ml w kohorcie kobiet w ciąży [2, 4]. Przyjmuje się, że w dużej części populacji ogólnej do pierwotnej infekcji dochodzi w okresie okołoporodowym lub we wczesnym dzieciństwie, prawdopodobnie za pośrednictwem mleka matki lub drogą oddechową [7–9]. Możliwość przeniesienia zakażenia przez łożysko nie została dotychczas jednoznacznie wykazana, nie ma także ewidentnych dowodów na występowanie TTV we krwi pępowinowej [4, 10]. Dotychczas zgromadzone dane wskazują, że TTV może być przenoszony drogą płciową, pokarmową, przez preparaty krwiopochodne, a także poprzez przeszczepione narządy [4, 5, 10, 11]. Po pierwotnej infekcji następuje faza przewlekła zakażenia i stabilizacja wirerii, której nie towarzyszą uchwytne objawy kliniczne [5].

Poza organizmem człowieka TTV dość powszechnie występuje w organizmach in-

nych ssaków: psów, kotów, szympansov, świń, osiągając w tej ostatniej grupie częstość występowania rzędu 55–100% [11]. Opisano możliwość przeniesienia zakażenia TTV między ludźmi a przedstawicielami innych gatunków ssaków, wykazując m.in. obecność w surowicy i kale ludzkim genomu wirusa TTV charakterystycznego dla trzody chlewnej [11].

Torque Teno virus występuje także dość powszechnie w środowisku naturalnym. Jego DNA zlokalizowano w środowisku szpitalnym: w powietrzu oraz na powierzchniach płaskich. Obecność TTV jest również powszechna w ściekach (38–100%), w wodzie pitnej (5–12%) i w wodach rzecznych, stąd zainteresowanie tym wirusem jako wskaźnikiem wydajności procesu oczyszczania ścieków [5, 11].

Znaczenie kliniczne zakażenia TTV nie zostało dotychczas w pełni zdefiniowane, opisano jednak związek między wiracją TTV a typem i stopniem deficytów immunologicznych. Zainteresowanie TTV uległo ogromnemu wzmocnieniu po ujawnieniu, że liczba jego kopii w krążeniu jest ujemnie skorelowana ze stopniem odporności immunologicznej, co udokumentowano u chorych w stanie posocznicy, u osób z chorobami nowotworowymi, a także w populacji biorców przeszczepów narządowych [5]. W tej ostatniej grupie pacjentów wykazano, że poziom wirerii TTV koreluje z czasem, jak upłynął od transplantacji, a także z typem stosowanej podstawowej immunosupresji, nie jest zaś istotnie zależny od rodzaju przeszczepionego narządu [12]. Wśród biorców przeszczepionych nerek gwałtowny wzrost wirerii TTV rozpoczyna się około 30. dnia po przeszczepieniu, osiągając maksymalny poziom 6,9 log kopii/ml około 90. dnia po zabiegu. Z kolei w populacji biorców przeszczepionej wątroby dynamiczny wzrost poziomu wirerii zaczyna się około 40. dnia po zabiegu, osiągając szczytowe wartości 6,5 log kopii/ml po 80 dniach od transplantacji [12]. Jak już wspomniano, na poziom wirerii istotny wpływ mają także rodzaj oraz siła stosowanej terapii immunosupresyjnej. U biorców leczonych w belataceptem obserwowano 35-krotnie wyższe poziomy wirerii niż u pacjentów, którzy nie otrzymali tego leku. Pacjenci poddani terapii trójlekowej cechowali się dwukrotnie wyższymi poziomami wirerii TTV niż chorzy leczeni schematami jedno- i dwulekowym. Dane pochodzące z badań poświęconych ocenie związku między terapią inhibitorami kalcyneuryny a wielkością wirerii TTV są mniej jednoznaczne. Schiemann i wsp. obserwowali

dwukrotnie wyższe poziomy wirerii TTV u pacjentów po przeszczepieniu nerki przyjmujących takrolimus niż u tych leczonych cyklosporyną. Z kolei w badaniu, które przeprowadzili Maggi i wsp., wyższą liczbę kopii TTV stwierdzano u biorców stosujących cyklosporynę [12, 13].

Dla środowiska transplantologów niezwykle istotna jest obserwacja, że wyższa liczba kopii TTV jest ujemnie skorelowana z ryzykiem odrzucania przeszczepionych narządów [13, 14]. Strassl i wsp. wykazali, że wirerii TTV przekraczająca 1×10^6 kopii/ml wyklucza odrzucanie przeszczepionej nerki z prawdopodobieństwem 94% [15]. Wśród biorców, którzy wytworzyli przeciwciała przeciwko antygenom transplantacyjnym dawcy, odnotowano, że niższy poziom wirerii był skojarzony z występowaniem cech odrzucania humoralnego w biopsji przeszczepu (średnio $4,5 \times 10^5$ kopii/ml vs. $6,6 \times 10^4$ kopii/ml u biorców bez cech odrzucania w biopsji) [13]. Podobne obserwacje poczyniono w populacjach pacjentów po przeszczepieniu płuc i wątroby [14, 16]. Z kolei u biorców szpiku wykazano istnienie korelacji między poziomem wirerii TTV a uznawaną za marker czynnościowej immunosupresji liczbą obwodowych limfocytów T CD8(+)CD57(+) [7]. Badania w grupie biorców allogenicznego szpiku wykazały również, że w okresie pierwszych 100 dni po zabiegu podwyższona wirerii TTV wiązała się ze znacząco wyższym ryzykiem wystąpienia poprzyszczepiennych zakażeń wirusowych [cytomegalowirusem (CMV), wirusem Epsteina-Barr (EBV), poliomawirusami] oraz ostrej choroby „przeszczep przeciwko gospodarzowi” (GVHD, *graft versus host disease*) [17]. Powyższe obserwacje stanowiły podstawę sformułowania tezy, że wirerii TTV może pełnić funkcję zastępczego, pomocniczego markera funkcjonalnej kompetencji immunologicznej [7].

Ważnych danych dostarczyły badania poświęcone ocenie zależności między wirerii TTV a wirerii CMV, wirusa będącego bardzo ważną przyczyną chorobowości pacjentów po transplantacjach. Wykazano, że we wczesnym okresie po przeszczepieniu poziom wirerii TTV jest istotnie wyższy u osób z wykrywalnym DNA CMV w porównaniu do tych, w których krwi wirus CMV nie występuje [15, 18]. Wyniki uzyskane w tym i kilku innych analizach wskazują, że podwyższona wirerii TTV stanowi czynnik ryzyka reaktywacji zakażenia CMV u biorców przeszczepów [5, 9, 12]. Strassl i wsp. to kolejna grupa badaczy, którzy podjęli się sprawdzenia, czy TTV może być

traktowany jako czynnik ryzyka wystąpienia różnych form zakażeń u osób po przeszczepieniu nerki [19]. Wykazali oni, iż stan zakażenia bakteryjnego, wirusowego lub grzybiczego był skojarzony z istotnie wyższym poziomem wirerii TTV. Różnice w wirerii TTV między biorcami, u których nie doszło do rozwoju infekcji, a tymi, u których powikłanie to się rozwinęło, były uchwytne już 3 miesiące przed wystąpieniem zakażenia. W cytowanym badaniu negatywna i pozytywna wartość predykcja wirerii TTV powyżej $3,1 \times 10^9$ kopii/ml wyniosła odpowiednio 92% i 17%, a czułość tej metody oceniono na 90%. Uzyskane wyniki stanowiły podstawę sformułowania przez badaczy wniosku, że wirerii TTV może być wykorzystana w praktyce do selekcji biorców wymagających wydłużenia profilaktyki zakażeń, intensyfikacji badań ukierunkowanych na wczesne wykrywanie powikłań infekcyjnych, a także modyfikacji immunosupresji [19]. Źródłem odmiennych wniosków jest badanie Nordéna i wsp., którzy monitorowali wirerii TTV i EBV w grupie 98 biorców przeszczepionych płuc, nie stwierdzając istnienia korelacji między liczbą kopii tych wirusów w krążeniu a ryzykiem wystąpienia różnych form zakażeń wirusowych (m.in. CMV), bakteryjnych, grzybiczych, a także ryzykiem wystąpienia ostrego odrzucania przeszczepu [20].

Wirerii TTV oznacza się najczęściej w krwi pełnej i osoczu. Uważa się, że wirus lokalizuje się przede wszystkim w elementach jądrazstych krwi, głównie w limfocytach i granulocytach, stąd poziom wirerii w próbkach krwi pełnej w porównaniu z osoczem jest wyższy, z różnicą według różnych autorów od nieznacznej ($0,27 \times 10^1$ kopii/ml), aż do stukrotnej [4, 6, 8]. Rozbieżności w ocenie różnic wirerii w próbkach z krwi pełnej i osocza wynikają najpewniej z braku wystandaryzowanego testu do ilościowej oceny wirerii TTV. Opracowanie takiej wystandaryzowanej metody jest niezbędne do tego, by możliwe było przeprowadzenie prospektywnych badań wielośrodkowych, które pozwoliłyby na zdefiniowanie referencyjnych wartości wirerii w zależności od typu narządu przeszczepionego i okresu po transplantacji.

Przeszczepianie narządów jest metodą z wyboru w terapii osób ze schyłkową niewydolnością własnych narządów. Utrzymanie czynności przeszczepu wymaga jednak trwałego wyhamowania aktywności układu immunologicznego biorcy, czego konsekwencją jest między innymi wysokie ryzyko powikłań infekcyjnych. Zbyt niski poziom immunosupre-

▶▶Znaczenie kliniczne zakażenia TTV nie zostało dotychczas w pełni zdefiniowane, opisano jednak związek między wirerii TTV a typem i stopniem deficytów immunologicznych. Zainteresowanie TTV uległo ogromnemu wzmocnieniu po ujawnieniu, że liczba jego kopii w krążeniu jest ujemnie skorelowana ze stopniem odporności immunologicznej, co udokumentowano u chorych w stanie posocznicy, u osób z chorobami nowotworowymi, a także w populacji biorców przeszczepów narządowych◀◀

▶▶Na poziom wirerii TTV istotny wpływ mają rodzaj oraz siła stosowanej terapii immunosupresyjnej◀◀

▶▶Dla środowiska transplantologów niezwykle istotna jest obserwacja, że wyższy poziom wirerii TTV jest ujemnie skorelowany z ryzykiem odrzucania przeszczepionych narządów◀◀

►► Wykazano, że we wczesnym okresie po przeszczepieniu poziom wirerii TTV jest istotnie wyższy u osób z wykrywalnym DNA CMV w porównaniu do tych, w których krwi wirus CMV nie występuje ◀◀

sji grozi z kolei rozwojem procesu odrzucania przeszczepu. Współcześnie monitorowanie terapii immunosupresyjnej ogranicza się do pomiarów stężeń niektórych leków we krwi obwodowej biorcy. Niestety stężenia tych leków w krążeniu są bardziej przydatne w monitoro-

waniu skutków ich toksyczności niż w ocenie immunokompetencji biorcy. Wirus TTV jest obecnie najbardziej obiecującym spośród potencjalnych markerów służących monitorowaniu kompetencji immunologicznej u osób poddawanych terapii immunosupresyjnej.

STRESZCZENIE

Infekcje i procesy odrzucania to dwa powikłania najczęściej występujące u biorców przeszczepów narządowych. „Złotym standardem” opieki po-transplantacyjnej jest utrzymanie układu odpornościowego biorcy na optymalnym poziomie kompetencji, na tyle niskim, by zapobiec procesowi odrzucenia, a jednocześnie na tyle wysokim, by stanowił ochronę przed groźnymi powikłaniami infekcyjnymi. Współczesna transplantologia nie dysponuje niestety narzędziami, które pozwalałyby na precyzyjne definiowanie optymalnej immunosupresji u poszczególnych chorych, stąd ogromne zapo-

trzebowanie na biomarkery, które byłyby pomocne w obiektywnej ocenie poziomu kompetencji immunologicznej. Funkcją takiego biomarkera będzie być może pełnić *Torque Teno virus* (TTV), występujący powszechnie w populacji, niepatogenny wirus DNA. Dane zgromadzone w ostatnich latach wskazują, że poziom wirerii TTV odzwierciedla aktywność układu immunologicznego, przez co wirus ten może być klinicznie użyteczny w dookreśleniu ryzyka zarówno odrzucenia, jak i powikłań infekcyjnych u biorców przeszczepów.

Forum Nefrol 2019, tom 12, nr 2, 87–90

Słowa kluczowe: *Torque Teno virus*, TTV, biomarker, kompetencja immunologiczna

Piśmiennictwo

1. Nishizawa T., Okamoto H., Konishi K. i wsp. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1997; 241: 92–97.
2. Vasilyev E.V., Trofimov D.Y., Tonevitsky A.G. i wsp. Torque Teno Virus (TTV) distribution in healthy Russian population. *Viol. J.* 2009; 6: 134.
3. Fauquet C.M., Fargette D. International Committee on Taxonomy of Viruses and the 3,142 unassigned species. *Viol. J.* 2005; 16; 2: 64.
4. Tyschik E.A., Shcherbakova S.M., Ibragimov R.R. i wsp. Transplacental transmission of torque teno virus. *Viol. J.* 2017; 14: 92.
5. Focosi D., Antonelli G., Pistello M. i wsp. Torquetenovirus: the human virome from bench to bedside. *Clin. Microbiol. Infect.* 2016; 22: 589–593.
6. Kosulin K., Kernbichler S., Pichler H. i wsp. Post-transplant replication of Torque Teno virus in granulocytes front microbiol. *Front. Microbiol.* 2018; 9: 2956.
7. Focosi D., Macera L., Boggi U. i wsp. Short-term kinetics of torque teno virus viraemia after induction immunosuppression confirm T lymphocytes as the main replication-competent cells. *J. Gen. Virol.* 2015; 96: 115–117.
8. Kullifaj D., Durgueil-Larivière B., Meynier F. i wsp. Development of a standardized real time PCR for Torque teno viruses (TTV) viral load detection and quantification: A new tool for immune monitoring. *J. Clin. Virol.* 2018; 105: 118–127.
9. Haloschan M., Bettesch R., Görzer I. i wsp. TTV DNA plasma load and its association with age, gender, and HCMV IgG serostatus in healthy adults. *Age (Dordr).* 2014; 36: 9716.
10. Tyschik E.A., Rasskazova A.S., Degtyareva A.V. i wsp. Torque teno virus dynamics during the first year of life. *Viol. J.* 2018; 15: 96.
11. Ssemadaali M.A., Effertz K., Singh P. i wsp. Identification of heterologous Torque Teno Viruses in humans and swine. *Sci. Rep.* 2016; 6: 26655.
12. Maggi F., Focosi D., Stätzu M. i wsp. Early post-transplant torquetenovirus viremia predicts cytomegalovirus reactivations in solid organ transplant recipients. *Sci. Rep.* 2018; 8: 15490.
13. Schiemann M., Puchhammer-Stöckl E., Eskandary F. i wsp. Torque Teno virus load — inverse association with antibody-mediated rejection after kidney transplantation. *Transplantation* 2017; 101: 360–367.
14. Ruiz P., Martínez-Picola M., Santana M. i wsp. Torque Teno virus is associated with the state of immune suppression early after liver transplantation. *Liver Transpl.* 2019; 25: 302–310.
15. Strassi R., Doberer K., Rasoul-Rockenschaub S. i wsp. Torque Teno virus for risk stratification of acute biopsy-proven alloreactivity in kidney transplant recipients. *J. Infect. Dis.* 2019 [Epub ahead of print].
16. Jaksch P., Kundi M., Görzer I. i wsp. Torque Teno virus as a novel biomarker targeting the efficacy of immunosuppression after lung transplantation. *J. Infect. Dis.* 2018; 218: 1922–1928.
17. Gilles R., Herling M., Holtick U. i wsp. Dynamics of Torque Teno virus viremia could predict risk of complications after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Med. Microbiol. Immunol.* 2017; 206: 355–362.
18. Wohlfarth P., Leiner M., Schoergenhofer C. i wsp. Torquetenovirus dynamics and immune marker properties in patients following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a prospective longitudinal study. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2018; 24: 194–199.
19. Strassi R., Schiemann M., Doberer K. i wsp. Quantification of Torque Teno virus viremia as a prospective biomarker for infectious disease in kidney allograft recipients. *J. Infect. Dis.* 2018; 218: 1191–1999.
20. Nordén R., Magnusson J., Lundin A. i wsp. Quantification of Torque Teno virus and Epstein-Barr virus is of limited value for predicting the net state of immunosuppression after lung transplantation. *Open Forum Infect. Dis.* 2018; 5: ofy050.