

La nefropatia associata all'infezione da *polyomavirus* BK dopo trapianto renale

F. Ginevri¹, A. Azzi², G. Botti¹, P. Comoli³

¹ Unità di Nefrologia, Modulo di Assistenza Trapianto Renale, Istituto G. Gaslini, Genova

² Dipartimento di Sanità Pubblica, Università degli Studi, Firenze

³ Laboratorio Sperimentale di Oncoematologia Pediatrica e Trapianto di Midollo Osseo, Fondazione IRCCS Policlinico S. Matteo, Pavia

Polyomavirus BK-associated nephropathy after kidney transplantation

Polyomavirus BK (BKV) infection has been lately recognized as a major cause of renal allograft dysfunction. BKV-related interstitial nephropathy (PVAN) may affect 1-10% of renal allograft recipients, occurring more frequently in the first 6 months after transplantation. Progression to irreversible allograft failure has been observed in up to 45% of all cases; thanks to increased PVAN awareness and improved diagnostic techniques, the rate of graft loss has lowered, more consistently in centres with active screening and intervention programs.

PVAN pathogenesis is characterized by multiple synergizing factors, among which immunodepression plays a key role. PVAN diagnosis requires the evaluation of a renal biopsy showing polyomavirus cytopathic changes and confirming BKV through an ancillary technique such as immunohistochemistry. Given the focal nature of the disease, early diagnosis may be difficult to obtain. Thus, quantification of BKV-DNA in plasma has been suggested as surrogate marker for PVAN.

To date, given the lack of controlled trials, there is no consensus on a "standard" management of PVAN. However, evidence based on reported observations suggests that a step-wise reduction of immunosuppression, preceded by pulsed steroids in case of coexistent acute rejection, may improve outcomes. Additional options may be represented by drugs with antiviral activity, such as cidofovir, leflunomide or quinolones. Application of a pre-emptive treatment based on viremia monitoring has been recently proposed. (G Ital Nefrol 2006; 23: 575-84)

KEY WORDS: Polyomavirus BK, Kidney transplantation, Interstitial nephropathy, Immunosuppression, Preemptive therapy

PAROLE CHIAVE: Polyomavirus BK, Trapianto renale, Nefropatia interstiziale, Immunosoppressione, Terapia pre-sintomatica

Commento Editoriale

L'infezione da polioma BK virus nel trapianto renale è una classica situazione nella quale è importante l'azione sinergica del clinico, dell'anatomo-patologo e del laboratorio. È importante sospettare e diagnosticare tempestivamente la malattia e adottare un approccio terapeutico a largo raggio per contrastare la naturale evoluzione della nefropatia che in quasi la metà dei casi è causa di rigetto cronico e di insufficienza renale terminale.

Introduzione

La morbilità e la mortalità legate alle infezioni sono andate progressivamente aumentando con l'ottimizzazione

dei protocolli di terapia immunosoppressiva per la prevenzione del rigetto dopo trapianto d'organo. Alla progressiva riduzione dell'incidenza del rigetto acuto ha fatto seguito un significativo incremento della patologia infettiva, in particolare delle malattie associate ad infezioni da *virus* latenti rilevanti per l'ospite immunocompromesso, quali il *cytomegalovirus* ed il *virus* di Epstein-Barr (1). In un contesto trapiantologico di elevata immunosoppressione, unita all'alterata immunosorveglianza causata dall'ambiente "allogeneico" in cui le cellule effettrici svolgono la loro funzione, si è, inoltre, verificata la comparsa di nuovi quadri patologici dovuti ad agenti infettivi considerati in passato scarsamente patogeni per l'uomo.

Il *polyomavirus hominis* di tipo 1, conosciuto anche come *virus* BK (BKV) dalle iniziali del paziente dal quale è stato isolato per la prima volta nel 1971, infetta fino al

90% della popolazione. Dopo l'infezione primaria, le cellule epiteliali dei tubuli renali e, più in generale, dell'urotelio costituiscono i *siti* di latenza e riattivazione virale. La patologia da BKV è rara, e per lo più conseguente ad uno stato di immunodeficienza. Il *virus* è stato associato a diverse patologie, tra le quali cistite emorragica, stenosi ureterali, vasculopatie e quadri di *multi-organ failure* (2). Inoltre, casi aneddotici di interessamento renale da BKV sono stati riportati in pazienti con immunodeficienze ereditarie o acquisite, ed in riceventi di trapianti d'organo diversi dal rene. Tuttavia, la nefropatia interstiziale associata all'infezione da BKV (PVAN) è emersa recentemente come causa importante di disfunzione renale dopo trapianto di rene (2, 3).

Questa rassegna riassume le conoscenze acquisite negli ultimi 10 anni in tema di PVAN, ed indica le nuove prospettive diagnostiche e terapeutiche per il miglior approccio clinico al paziente con PVAN.

Cenni epidemiologici

La comparsa della PVAN nel corso dell'ultima decade è ben documentata (2-10). Alcuni studi hanno riportato un aumento graduale nei tassi di prevalenza della PVAN da valori dell'1% nel 1995 a valori del 5% nel 2001 (9, 11), e stime di incidenza successive al 2002-03 si attestano attorno all'8% (7-10).

La maggior parte dei casi di PVAN si presenta entro il primo anno post-trapianto; tuttavia, una quota di casi viene diagnosticata in epoca successiva, tra il secondo ed il quinto anno dal trapianto (5, 12). La perdita del rene trapiantato in seguito a PVAN varia dal 10% all'80% dei casi, ma risulta più bassa nei centri che hanno attivato programmi di sorveglianza e di intervento (7, 9, 10, 12).

Fattori di rischio

Sebbene la patogenesi della PVAN non sia stata del tutto chiarita, sembra che lo sviluppo della malattia richieda l'azione sinergica di molteplici fattori di rischio, tra i quali l'immunosoppressione riveste un ruolo di preminenza (13).

I determinanti di rischio per lo sviluppo di PVAN sono inquadrabili come caratteristiche: a) del paziente; b) dell'organo trapiantato; c) del *virus*.

Tra i fattori legati alle caratteristiche del paziente, è stato documentato un aumentato del rischio di PVAN in soggetti di sesso maschile, di età avanzata, e di razza caucasica (9), con diabete (4). Dagli studi compiuti su casistiche pediatriche è emerso come la sieronegatività al momento del trapianto sia associata ad un aumentato rischio di infezione attiva da BKV e, conseguentemente, di PVAN, imputabile al mancato controllo, da parte di un sistema immunitario *naïve*, del *virus* eventualmente riattivato dall'organo

trapiantato (10-14). Tuttavia, la presenza di anticorpi neutralizzanti BKV non è risultata in grado di proteggere i pazienti dalla riattivazione virale e dallo sviluppo di PVAN, come documentato dall'alta incidenza di PVAN in casistiche di soggetti adulti sieropositivi (1, 2, 7). Infine, è recentemente emerso il possibile ruolo patogenetico di una alterata immunosorveglianza T cellulare BKV-specifica nella progressione da infezione attiva a PVAN. In particolare, nei pazienti con PVAN è stata dimostrata una ridotta/assente frequenza di cellule specifiche per BKV, la cui comparsa, in seguito a riduzione della terapia immunosoppressiva, permette di ottenere *clearance* virale e miglioramento/stabilizzazione della funzione renale (15, 16).

Il coinvolgimento di fattori legati all'organo trapiantato è suggerito dalle sporadiche osservazioni di PVAN interessanti i reni nativi di pazienti che ricevono un trapianto di organo diverso dal rene. In particolare, la presenza di incompatibilità HLA, o di lesioni tissutali del *graft* conseguenti alla procedura trapiantologica *per se* (danno tubulare ischemico e posizionamento di *stent* ureterale), o a complicanze del trapianto come il rigetto acuto, potrebbero contribuire a creare un microambiente permissivo alla replicazione virale, anche se il ruolo dei singoli fattori nello sviluppo di PVAN è controverso (5, 9, 13, 17, 18).

Alcune caratteristiche legate al *virus* possono contribuire nel determinare lo sviluppo di PVAN in soggetti con infezione attiva. Mutazioni della sequenza genomica che codifica per proteine virali possono determinare un mancato riconoscimento di epitopi immunologicamente rilevanti da parte del sistema immunitario (*immune escape*), mentre riarrangiamenti della regione di controllo non codificante (NCCR) di BKV potrebbero favorire un incremento della replicazione virale (16, 19, 20).

Sebbene risulti evidente come la PVAN sia una malattia multifattoriale, la presenza di intensa immunosoppressione rappresenta il maggior fattore di rischio per il suo sviluppo (7, 21, 22). La comparsa di PVAN ha coinciso con l'impiego di protocolli di triplice immunosoppressione, e con l'uso diffuso di farmaci immunosoppressivi quali tacrolimus e micofenolato mofetile (MMF) (2, 3, 21). In linea con queste osservazioni, in un recente studio randomizzato, il regime immunosoppressivo maggiormente associato ad una aumentata replicazione virale è risultata la combinazione di tacrolimus, MMF e steroide (18). Tuttavia, è probabile che sia lo stato globale di eccessiva immunosoppressione, piuttosto che l'uso di singoli farmaci, a determinare l'aumento del rischio, come suggerito dalla osservazione di casi di PVAN in pazienti trattati con regimi immunosoppressivi che non prevedevano l'impiego di tacrolimus o MMF (2, 11, 22). A supporto di questa ipotesi, la riduzione dei livelli di inibitori delle calcineurine o la riduzione/sospensione dell'MMF hanno consentito di prevenire lo sviluppo di PVAN (18, 23), o di stabilizzare la funzione renale in pazienti con PVAN in atto (24, 25).

Test di verifica

1) Qual è l'incidenza attuale della PVAN?

- a. 20%
- b. 1-2%
- c. 1-10%
- d. 15%
- e. >15%.

2) In quale periodo post-trapianto si verifica la maggior incidenza di riattivazione dell'infezione da BKV?

- a. Nel primo mese
- b. Nei primi 6 mesi
- c. Tra 6 e 12 mesi
- d. Oltre i 12 mesi
- e. Oltre 24 mesi.

3) Qual è il fattore di rischio più significativo per l'insorgenza di PVAN?

- a. Sierologia negativa nel ricevente
- b. Sierologia positiva nel donatore
- c. Mutazioni del genoma virale
- d. Intensa immunosoppressione
- e. Utilizzo di preparati antilinfocitari nel regime immunosoppressivo.

La risposta corretta alle domande sarà disponibile sul sito internet www.sin-italy.org/gin e in questo numero del giornale cartaceo dopo il Notiziario SIN

Monitoraggio dell'infezione da BKV

Poiché la presenza di replicazione virale è il fattore comune a tutti i riceventi di trapianto renale che sviluppano PVAN (6, 7, 10, 25), il monitoraggio dell'infezione da BKV è uno strumento fondamentale per identificare i pazienti a rischio di PVAN (13). Lo *screening* virologico permette, infatti, di anticipare l'intervento terapeutico alle fasi precoci della malattia, con conseguente miglioramento dell'*outcome* (7, 8, 18, 23-26). Inoltre, dato l'alto valore predittivo negativo, in caso di assenza di replicazione virale è possibile escludere la diagnosi di PVAN (7, 27, 28). Infine, accompagnandosi la risoluzione del quadro clinico ad una riduzione o scomparsa del *virus* (29), una analisi quantitativa della carica virale costituisce un utile strumento per il monitoraggio della risposta al trattamento.

Screening su urina

I *test di screening* descritti per identificare la presenza di replicazione virale a livello urinario comprendono la citologia (ricerca di *decoy cells*, ovvero cellule di sfaldamento dei tubuli renali contenenti inclusioni virali, su sedimento urinario), la quantificazione del DNA virale o dell'mRNA per la proteina capsidica VP1, o la ricerca di particelle vira-

li mediante microscopia elettronica (6, 7, 21, 25). Non esistono studi controllati di comparazione tra le varie metodiche, il cui uso dipende dall'esperienza dei singoli centri. I risultati riportati da studi prospettici hanno mostrato come la positività della citologia urinaria o della ricerca del DNA di BKV preceda di alcune settimane sia la viremia che la comparsa di PVAN istologicamente documentata (7, 18).

Al fine di identificare precocemente i pazienti a rischio di PVAN, lo *screening* urinario andrebbe effettuato almeno ogni 3 mesi nel primo anno, ogni 6 mesi nel secondo anno, ed annualmente fino al quinto anno post-trapianto (13).

Test aggiuntivi

Il *test di screening* sulle urine è determinante per escludere la presenza di PVAN, data la sua alta sensibilità, ma la sua positività ha un valore predittivo basso, pari a circa il 20%, in quanto possono esistere quadri di replicazione virale transitoria, autolimitante (PVAN possibile, Fig. 1) (5, 7). Sono, quindi, necessari *test* aggiuntivi al fine di confermare il sospetto di PVAN (PVAN presunta, Fig. 1) e indirizzare all'esecuzione della biopsia renale, che al momento è considerata l'unico strumento idoneo a porre diagnosi di certezza (11). La presenza di BKV DNA nel plasma valutata mediante PCR quantitativa correla in modo significativo con la presenza di danno renale (sensibilità del 100%, predittività positiva 83%), e rappresenta, quindi, il *test* aggiuntivo di riferimento (7). A questo proposito, sono stati identificati valori soglia di BKV DNA plasmatico (≥ 10.000 copie/mL) che, se persistenti, sono altamente indicativi di una PVAN in atto (2, 7, 11). Tuttavia, data la variabilità tra le metodiche di PCR quantitativa attualmente in uso presso i vari centri, è necessario effettuare una validazione interna del valore che costituisce la soglia del rischio per ogni singolo centro.

Quando utilizzata per monitorare il corso della PVAN, la PCR quantitativa su plasma andrebbe effettuata ogni 2-4 settimane, fino alla riduzione al di sotto dei livelli soglia, o, meglio, fino alla negativizzazione (11).

Diagnosi di PVAN

La diagnosi di PVAN viene effettuata attraverso l'analisi della biopsia renale, con dimostrazione di alterazioni citologiche *virus*-indotte e la conferma della presenza di BKV mediante tecniche di immunoistochimica o ibridizzazione *in situ* (PVAN accertata, Fig. 1). Data la natura focale dell'interessamento renale in corso di PVAN, e, di conseguenza, la possibilità di errore nel campionamento tissutale, il mancato riscontro di un quadro istologico attribuibile ad una complicanza da BKV non esclude con certezza la presenza di PVAN. Ne consegue che, nei soggetti ad alto rischio, ovvero in presenza di persistente significativa replicazione virale plasmatica (PVAN presunta), debba essere

Nefropatia da polyomavirus BK

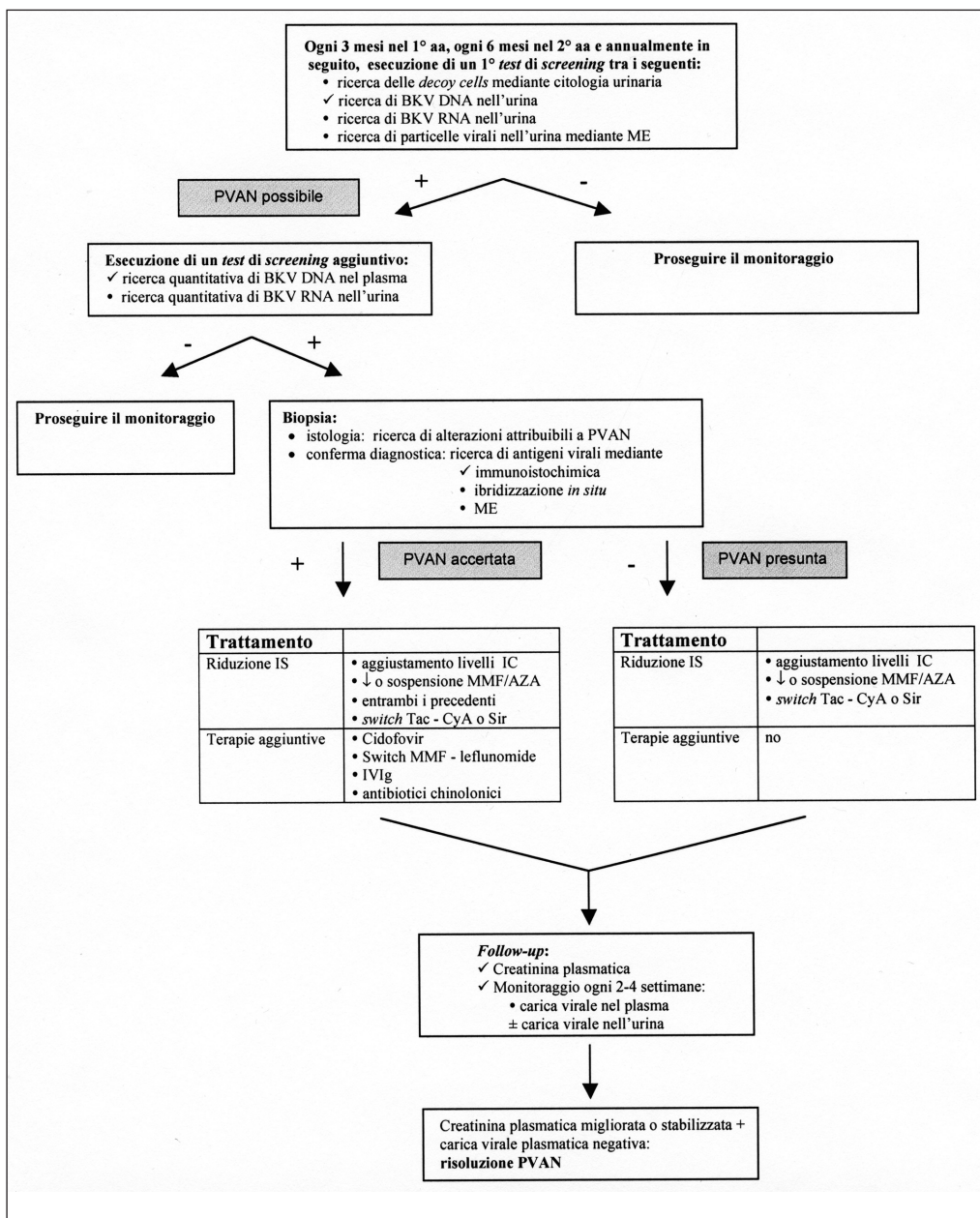


Fig. 1 - Programma di monitoraggio e trattamento della nefropatia da BKV suggerito dall'evidenza clinica disponibile.

La modalità di screening attiva presso l'Unità di Nefrologia dell'Istituto G. Gaslini di Genova è indicata dal simbolo ✓ accanto alle singole voci.

Abbreviazioni: ME: microscopia elettronica; IS: immunosoppressione; IC: inibitori delle calcineurine; MMF: micofenolato mofetile; AZA: azatioprina; Tac: tacrolimus; CyA: ciclosporina; Sir: sirolimus; IVIg: immunoglobuline endovena.

considerata l'opportunità di una seconda biopsia nel breve-medio termine.

Quadro istopatologico

La diagnosi di PVAN in microscopia ottica si basa sulla identificazione delle alterazioni citopatiche indotte dal *virus* a livello delle cellule dell'epitelio tubulare renale (27-29). Queste alterazioni, che sono il risultato di due eventi strettamente correlati quali l'accumulo di particelle virali neofornate nel nucleo cellulare e la successiva lisi cellulare *virus*-indotta, si associano spesso a necrosi

dell'epitelio tubulare e conseguente danno tubulare acuto (4-6, 8, 28).

Il danno cellulare da BKV, che può inizialmente interessare pochi nefroni, si accompagna ad infiltrato infiammatorio, atrofia tubulare e fibrosi (4-6, 8, 28). In base alla presenza e all'estensione delle diverse alterazioni istologiche, la PVAN viene classificata in 3 quadri (A, B, C) che rispecchiano gli stadi di progressione della malattia (Tab. I) (11, 29). La PVAN di tipo A si caratterizza per la presenza di alterazioni citopatiche *virus*-indotte, nel contesto di un parenchima normale. Nella PVAN di tipo B, le alterazioni citopatiche si associano a diversi gradi di infiltrato infiammatorio, atrofia tubulare e fibrosi interstiziale. Nella PVAN

di tipo C, che rappresenta lo stadio terminale della patologia, si osserva diffusa atrofia tubulare e fibrosi.

Le alterazioni descritte non sono patognomoniche di PVAN, e una conferma della diagnosi deve essere ottenuta mediante tecniche atte ad identificare l'agente responsabile. L'analisi immunoistochimica con anticorpi monoclonali diretti verso proteine virali quali l'antigene *large T* di SV40, che presenta una forte omologia con BKV, è la tecnica impiegata più di frequente, ma sono state utilizzate anche l'ibridazione *in situ* o la microscopia elettronica (4-6, 28).

La risoluzione di una PVAN dopo intervento terapeutico viene diagnosticata sulla base della scomparsa delle alterazioni citopatiche e del *virus* dal tessuto renale.

Rigetto in corso di PVAN: diagnosi

La possibilità di distinguere i segni di un rigetto acuto nel quadro istologico di una PVAN in atto ha importanti implicazioni cliniche.

Sebbene di raro riscontro in corso di PVAN, la presenza di endarterite, necrosi fibrinoide vascolare e glomerulite (Banff tipo II e III), così come depositi della frazione C4d del complemento lungo i capillari peritubulari, sono considerati segni inequivocabili di rigetto acuto concomitante (28, 30, 31). Al contrario, la diagnosi di rigetto acuto tubulo-interstiziale (Banff tipo I) in presenza di PVAN presenta notevoli difficoltà, poiché basata sul solo riscontro di tubulite, caratteristica peculiare anche della PVAN di tipo B, dove rappresenta la risposta immune indotta dal *virus*. La dimostrazione di un infiltrato linfocitario, con tubulite ed aumentata espressione tubulare di molecole HLA di classe II, in aree dove non siano evidenziabili la presenza e/o la replicazione di BKV, è suggestivo di rigetto acuto di tipo I secondo Banff (11, 28, 31).

Test di verifica

4) Quale tra i seguenti *test* correla in modo significativo con la presenza di PVAN?

- Ricerca *decoy cells* urinarie
- Ricerca BKV DNA su urina
- Ricerca BKV DNA su sangue periferico
- Ricerca BKV urinario mediante microscopia elettronica
- Ricerca BKV DNA su urina con PCR quantitativa.

5) Quale accertamento è necessario per una diagnosi di certezza di PVAN?

- Ricerca *decoy cells* urinarie + analisi quantitativa BKV RNA su urina
- Analisi istologica + dimostrazione BKV su tessuto
- Analisi quantitativa BKV DNA su sangue periferico
- Ricerca *decoy cells* urinarie + analisi quantitativa BKV DNA su sangue periferico
- Analisi quantitativa di BKV RNA su sangue periferico.

6) Da cosa è caratterizzata la PVAN di tipo A?

- Aree focali di alterazioni citopatiche *virus*-indotte
- Diffuso infiltrato infiammatorio + alterazioni citopatiche focali
- Infiltrato infiammatorio focale + atrofia tubulare
- Alterazioni citopatiche interessanti >50% del *core* biotico
- Quadro concomitante di rigetto cellulare acuto.

La risposta corretta alle domande sarà disponibile sul sito internet www.sin-italy.org/gin e in questo numero del giornale cartaceo dopo il Notiziario SIN

Trattamento della PVAN

Poiché a tutt'oggi non esistono farmaci antivirali con attività specifica verso BKV, la riduzione della terapia immunosoppressiva, eventualmente in associazione ad altri presidi terapeutici quali il farmaco antivirale cidofovir (32), le immunoglobuline endovena (33), il farmaco immunosoppressore leflunomide (34) o gli antibiotici chinolonici (35), costituisce il cardine del trattamento della PVAN (7, 9, 11). È da sottolineare come, in assenza di studi clinici controllati, e data l'eterogeneità delle casistiche segnalate in letteratura, non esista ad oggi un consenso unanime sulla strategia da utilizzare nel trattamento della PVAN.

Trattamento della PVAN accertata

L'analisi delle casistiche storiche ha mostrato come l'intervento terapeutico in presenza di lesioni renali estese (PVAN B3 o C) si associ ad una elevata incidenza di perdita del trapianto (9, 26). Al contrario, il trattamento della PVAN in fase precoce di malattia, permesso da programmi di monitoraggio e dall'ottimizzazione delle tecniche diagnostiche, sembra poter prevenire la progressione del danno renale, risultando in un significativo miglioramento della prognosi (7, 8, 24, 26).

Modifiche della terapia immunosoppressiva

La riduzione dell'intensità della terapia immunosoppressiva di mantenimento è attualmente la strategia terapeutica di prima scelta nel trattamento della PVAN conclamata (2, 9, 11). Tuttavia, vi è molta eterogeneità negli approcci utilizzati e nei risultati clinici riportati in letteratura. Sebbene non validate da studi controllati, tre modalità di intervento vengono attualmente impiegate nel trattamento della PVAN: riduzione, sospensione o sostituzione di componenti del regime immunosoppressivo di mantenimento (Tab. II).

La riduzione della posologia degli inibitori delle calcineurine, spesso in associazione alla riduzione del terzo

Nefropatia da polyomavirus BK

TABELLA I - ALTERAZIONI ISTOPATOLOGICHE IN CORSO DI PVAN

Stadio PVAN	Caratteristiche istologiche
A	Alterazioni citopatiche modeste (tubuli interessati: <25%); infiltrato infiammatorio, atrofia tubulare e fibrosi interstiziale assenti o minimi.
B	Alterazioni citopatiche da modeste a severe (tubuli interessati: 25%->50%) e aree focali di infiltrato infiammatorio, atrofia tubulare e fibrosi interstiziale. B1: infiltrato infiammatorio, atrofia tubulare e fibrosi interstiziale <25%. B2: infiltrato infiammatorio, atrofia tubulare e fibrosi interstiziale 25-50%. B3: infiltrato infiammatorio, atrofia tubulare e fibrosi interstiziale >50%.
C	Scarse alterazioni citopatiche in parenchima renale cicatriziale. Estesa atrofia tubulare, con infiltrato infiammatorio e fibrosi interstiziale.

TABELLA II - TRATTAMENTO DELLA PVAN MEDIANTE MODIFICA DEL REGIME IMMUNOSOPPRESSIVO DI MANTENIMENTO

Strategia	Farmaco	Livelli	Commenti
Riduzione	Tac	<i>trough level</i> ≤6 ng/mL	Spesso in combinazione con riduzione dell'MMF
	CyA	<i>trough level</i> 100-150 ng/mL	Spesso in combinazione con riduzione dell'MMF
	MMF	dose: 0.5-1 g/die	Spesso in combinazione con riduzione di Tac/CyA
Sostituzione	Tac → CyA	<i>trough level</i> 100-150 ng/mL	
	Tac → Sir	<i>Trough level</i> in base al protocollo immunosoppressivo impiegato	In pazienti con tossicità da IC
	MMF → Lef	<i>trough level</i> 50-100 µg/mL	In combinazione con riduzione di Tac (<i>trough level</i> 4-6 ng/mL)
Sospensione	MMF/AZA		<ul style="list-style-type: none"> • Pazienti mantenuti in duplice terapia • Pazienti trattati per PVAN presunta • Come opzione successiva, in pazienti non responsivi ad altre strategie di riduzione di IS
	Tac o CyA		Pazienti in duplice terapia Sir/steroide o in triplice Sir/aza/steroide o Sir/MMF/steroide

Abbreviazioni: Tac: tacrolimus; *trough level*: concentrazione ematica allo "steady state"; MMF: micofenolato mofetile; CyA: ciclosporina; Sir: sirolimus; Lef: leflunomide; IC: inibitori delle calcineurine; AZA: azatioprina; IS: immunosoppressione.

farmaco nei regimi di triplice immunosoppressione, rappresenta l'intervento terapeutico più estesamente utilizzato (4, 7-9, 26, 37). Sulla base dell'evidenza clinica riportata a tutt'oggi, i *target* di *through levels* consigliati sono < 6 ng/mL per il tacrolimus, e 100-150 ng/mL per la ciclosporina, mentre il dosaggio dell'MMF e dell'azatioprina andrebbero ridotti al di sotto di 1 g/die e 100 mg/die, rispettivamente (11). È evidente come, vista la sensibilità individuale ai diversi farmaci, questi livelli siano indicativi, e possano essere ulteriormente modulati nei singoli pazienti. La possibilità di sostituire il tacrolimus o la ciclosporina con il sirolimus può essere considerata in caso di concomitante nefrotossicità (7, 38). Recen-

temente, in pazienti con PVAN che ricevevano un regime di mantenimento a base di tacrolimus, micofenolato e steroide, la sostituzione dell'MMF con la leflunomide, un farmaco con attività immunosoppressiva inferiore al micofenolato, e con dimostrata attività antivirale *in vitro*, ha permesso di ottenere la *clearance* virale e una stabilizzazione della funzione renale (34, 39).

La sospensione dell'MMF o dell'azatioprina rappresenta un'alternativa alla riduzione degli inibitori delle calcineurine, o un'ulteriore intervento terapeutico in caso di mancata risposta alla modulazione del tacrolimus o della ciclosporina (11). In particolare, se dopo un primo intervento terapeutico non si assiste ad una stabilizzazione della funzione

renale e ad una sensibile riduzione della carica virale, è consigliabile una rivalutazione biotica, e, in caso di assenza di rigetto acuto, una ulteriore riduzione della terapia immunosoppressiva. In alcuni casi, la sospensione del micofenolato è stata associata ad uno *switch* tacrolimus → ciclosporina, nel tentativo di minimizzare l'immunosoppressione (7, 38).

In seguito alla riduzione della terapia immunosoppressiva, sono stati descritti episodi di rigetto acuto in circa un quarto dei pazienti. Questi episodi si sono dimostrati sensibili alla terapia steroidea, senza che quest'ultima abbia determinato una recidiva di PVAN (4, 7, 33, 36).

Altri presidi terapeutici

Il rischio di rigetto legato alla riduzione della terapia immunosoppressiva, che ne limita sia l'applicazione che l'efficacia, ha portato alla sperimentazione clinica di farmaci con potenziale attività antivirale. Tuttavia, va detto che, ad oggi, i farmaci con attività inibitoria verso BKV dimostrata *in vitro*, come il cidofovir o la leflunomide, hanno evidenziato un basso indice di selettività, e la loro efficacia clinica, suggerita da alcuni studi preliminari non controllati, è dibattuta.

Il cidofovir, farmaco antivirale utilizzato nel trattamento delle complicanze da *cytomegalovirus* (CMV), sarebbe controindicato in pazienti con alterata funzione renale in quanto nefrotossico. Tuttavia, la sua selettiva concentrazione a livello delle cellule tubulari ne permette la somministrazione ad un dosaggio inferiore a quello utilizzato nel trattamento della retinite da CMV (0.25-1 mg/kg ogni 2 settimane, per 2-4 dosi eventualmente ripetibili) senza significativa tossicità renale (32), ed è stato quindi proposto come terapia aggiuntiva in pazienti con PVAN resistente alla riduzione dell'immunosoppressione (10, 32, 37, 38, 40-43). Il farmaco immunosoppressivo leflunomide, come il cidofovir, è stato utilizzato in aggiunta alla riduzione della terapia immunosoppressiva in un numero limitato di pazienti con PVAN, ottenendo in alcuni casi la stabilizzazione della funzione renale (34, 39, 43). Nella casistica più numerosa ad oggi segnalata, il farmaco è stato somministrato ad un dosaggio di 40 mg/die (dose di attacco pari a 100 mg/die per 5 giorni), modulandone la posologia per ottenere una concentrazione ematica di 50-100 µg/mL, livello associato ad un controllo della replicazione virale *in vitro* (39). Tra i presidi terapeutici impiegati nel trattamento della PVAN, vi sono anche le preparazioni di immunoglobuline endovena (IVIg) (33, 37, 44). Tuttavia, si è già detto come la presenza di anticorpi neutralizzanti non prevenga lo sviluppo di PVAN nei soggetti sieropositivi. Recentemente, il trattamento con antibiotici fluorochinoloni, capaci di inibire *in vitro* l'attività elicastica del *polyomavirus* SV40, è stato utilizzato in 10 pazienti con PVAN refrattaria alla riduzione dell'immunosoppressione, con significativa riduzione della carica virale nel 70% dei casi

(35). Ogni trattamento farmacologico della PVAN è stato associato ad una riduzione dell'immunosoppressione: studi clinici controllati si rendono, quindi, necessari per stabilire il ruolo dei diversi agenti terapeutici nel trattamento della malattia.

Una ulteriore area di futuro sviluppo clinico è rappresentata dalla terapia cellulare, strategia già applicata alla prevenzione o trattamento di altre complicanze virali (45). A questo riguardo, è stato dimostrato come sia possibile ottenere *in vitro* linee cellulari specifiche per BKV, e prive di alloreattività, da linfociti T di riceventi pediatrici di trapianto renale con riattivazione virale in atto (46). Il trasferimento adottivo di queste cellule in fase precoce di malattia potrebbe contribuire ad una rapida *clearance* della viremia, atta a prevenire la progressione verso il danno renale irreversibile.

Trattamento della PVAN in presenza di rigetto concomitante

Nel caso di diagnosi di PVAN e rigetto acuto concomitante, la strategia più comunemente impiegata prevede, in una prima fase, il trattamento del rigetto mediante somministrazione di boli di metilprednisolone, seguito dalla riduzione della terapia immunosoppressiva di mantenimento, secondo le indicazioni riportate in precedenza (7, 11, 12).

Trattamento *pre-emptive* della PVAN

È già stato discusso come il trattamento della PVAN in fase precoce di malattia porti ad un miglioramento della prognosi. Come per altre infezioni virali rilevanti nell'ospite trapiantato (47), l'identificazione dei pazienti in fase preclinica di malattia potrebbe consentire l'applicazione di una strategia *pre-emptive* di trattamento, atta ad evitare la progressione verso la PVAN conclamata ed il danno renale in assenza di rischio significativo di rigetto acuto.

Evidenze cliniche hanno dimostrato che il riscontro di BKV DNA nel sangue periferico (viremia), oltrechè correlare con la presenza di malattia in atto, può precedere di alcune settimane l'insorgenza della PVAN (7). Sulla scorta di questa osservazione, è stato recentemente dimostrato come sia possibile prevenire l'insorgenza della PVAN in soggetti con riattivazione da BKV, utilizzando il monitoraggio della viremia come base per l'applicazione di un intervento terapeutico (23, 48). In due studi prospettici, il trattamento *preemptive* mediante riduzione dell'immunosoppressione (sospensione del terzo farmaco e/o riduzione dei valori target di *through level* degli inibitori delle calcineurine) di pazienti con una PVAN presunta (viremia positiva con biopsia renale negativa per PVAN) ha portato alla negativizzazione della carica virale senza rischio significativo di rigetto (23, 48). In particolare, lo studio condotto sulla casistica pediatrica (23) mostra: i) come un monito-

raggio condotto con una frequenza trimestrale nel primo anno, semestrale nel secondo anno, ed in seguito annuale, sia sufficiente ad individuare i pazienti con viremia positiva prima dell'insorgenza di PVAN; ii) come limitati aggiustamenti della terapia immunosoppressiva, personalizzati in base alla situazione clinica individuale, possano fornire un controllo efficace della riattivazione virale in assenza di sviluppo di rigetto.

Ritrapianto dopo perdita del rene in seguito a PVAN

Un problema ancora aperto riguarda l'opportunità di procedere ad un ritrapianto dopo perdita del *graft* in seguito a PVAN. Ad oggi, sono stati descritti 17 casi di ritrapianto, con ricorrenza di PVAN in 2 pazienti (12%), incidenza leggermente maggiore a quella attualmente riportata in caso di trapianto primitivo (1-10%) (2, 11), e perdita del rene in 1 caso (6%) (49-51). In 11 dei 17 pazienti, è stato utilizzato lo stesso regime immunosoppressivo impiegato per il primo trapianto, e in 13 di 17 è stata eseguita nefrectomia del rene trapiantato. Da questi dati, emerge come il ritrapianto non sia controindicato in pazienti con perdita del rene trapiantato in seguito a PVAN. Tuttavia, a causa del numero limitato di casi riportati, le indicazioni sulle modalità dell'avvio al ritrapianto derivano dall'opinione di pochi esperti basata sulla personale esperienza clinica (11, 51).

In particolare, come suggerito da osservazioni riportate dal nostro gruppo (49), al fine di consentire lo sviluppo di una risposta immune in grado di controllare eventuali riattivazioni post-trapianto, sembra opportuno far precedere il ritrapianto da una fase di ridotta/assente immunosoppressione, che dovrebbe portare alla sensibile riduzione/negativizzazione della carica virale plasmatica (11, 51). In quest'ottica, la nefrectomia del primo trapianto, che non rappresenta un pre-requisito per il ritrapianto (49, 50), così come la somministrazione di farmaci antivirali, potrebbero essere indicate laddove non si ottenga una abrogazione della viremia mediante riduzione/sospensione della terapia immunosoppressiva (11). Inoltre, sebbene non esistano chiare indicazioni in proposito, e in >50% dei casi descritti sia stato impiegato lo stesso regime immunosoppressivo utilizzato per il primo trapianto, sembra preferibile, per quanto consentito da una condizione di secondo trapianto, evitare un eccesso di immunosoppressione (11). Infine, in questa particolare *coorte* di pazienti, è cruciale effettuare un monitoraggio frequente della replicazione virale, seguito da un intervento terapeutico precoce in caso di ricorrenza (11, 51).

Test di Verifica

7) Qual è il presidio terapeutico di prima linea nel trattamento della PVAN?

- Farmaci antivirali
- Steroide
- Riduzione dell'immunosoppressione
- Antibiotici chinolonici
- Cidofovir.

8) Quale tra i seguenti farmaci può essere utilizzato nel trattamento della PVAN?

- Cidofovir
- Ganciclovir
- Acyclovir
- Nelfinavir
- Ribavirina.

9) Qual è l'incidenza della ricorrenza di PVAN dopo ritrapianto?

- 50%
- 30%
- 12%
- 5%
- 1-2%.

La risposta corretta alle domande sarà disponibile sul sito internet www.sin-italy.org/gin e in questo numero del giornale cartaceo dopo il Notiziario SIN

Conclusioni

Le infezioni virali sono progressivamente emerse come importanti cause di morbilità e di perdita dell'organo trapiantato. Per la gran parte delle complicanze virali che interessano comunemente l'ospite immunocompromesso non esiste terapia farmacologica specifica. Inoltre, la risposta clinica in seguito alla terapia antivirale o alla riduzione della terapia immunosoppressiva, che rappresenta spesso l'unico presidio disponibile, può difettare in tempestività, esitando nella perdita dell'organo. Cruciale, al fine di migliorare i risultati clinici del programma di trapianto d'organo, sarà quindi la possibilità di definire programmi di diagnosi precoce delle infezioni virali e dei quadri patologici ad esse legati, che permettano un intervento terapeutico in fase pre-sintomatica. In quest'ottica, il significativo miglioramento di prognosi della PVAN in tempi recenti è esemplificativo di quanto lo sviluppo e l'applicazione di programmi di monitoraggio virologico possano cambiare la storia clinica delle patologie *virus*-correlate.

Riassunto

L'infezione da *polyomavirus* BK (BKV) è stata recentemente riconosciuta come causa importante di disfunzione

del rene trapiantato. La nefropatia interstiziale associata all'infezione da BKV (PVAN) è stata osservata nell'1-10% dei portatori di trapianto renale, più frequentemente entro i 6 mesi dall'intervento. Nelle casistiche storiche, la progressione della malattia con perdita del rene trapiantato poteva raggiungere un'incidenza del 45%, ma questo dato risulta attualmente in diminuzione grazie all'attivazione di programmi di sorveglianza e di intervento.

Sebbene la PVAN sia considerata una malattia multifattoriale, la presenza di intensa immunosoppressione rappresenta il maggior fattore di rischio per il suo sviluppo. La diagnosi viene effettuata attraverso l'analisi della biopsia renale, con dimostrazione di alterazioni citologiche virus-indotte e la conferma della presenza di BKV mediante tecniche di immunohistochimica o ibridizzazione *in situ*. Data la natura focale dell'interessamento renale, la diagnosi in fase precoce può essere problematica. Tuttavia, la presenza di BKV DNA nel plasma valutata mediante PCR quantitativa correla in modo significativo con la presenza di danno renale, e rappresenta quindi un utile strumento per la diagnosi precoce di PVAN.

In assenza di studi clinici controllati, non esiste ad oggi un consenso unanime sulla strategia da utilizzare nel trattamento della PVAN. Tuttavia, l'evidenza clinica disponibile indica come una graduale riduzione dell'immunosoppressione, preceduta da somministrazione di boli di steroide in caso di rigetto acuto concomitante, possa portare ad un significativo miglioramento della prognosi. Opzioni aggiuntive sono rappresentate dall'uso di farmaci con dimostrata attività antivirale verso BKV *in vitro*, come il cidofovir, la leflunomide o i chinolonici. Recentemente, è stato proposto un trattamento *preemptive* della PVAN basato sul monitoraggio della viremia.

Indirizzo degli Autori:

Dr. Fabrizio Ginevri

Unità Operativa di Nefrologia

Istituto G. Gaslini

Largo Gaslini, 5

16147 Genova

e-mail: fabrizioginevri@ospedale-gaslini.ge.it

Bibliografia

1. Fishman JA, Rubin RH. Infection in organ-transplant recipients. *N Engl J Med* 1998; 338: 1741-51.
2. Hirsch HH, Steiger J. Polyomavirus BK. *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 611-23.
3. Hirsch HH. Polyomavirus BK nephropathy: a (re-)emerging complication in renal transplantation. *Am J Transplant* 2002; 2: 25-30.
4. Randhawa PS, Finkelstein S, Scantlebury V, et al. Human polyoma virus-associated interstitial nephritis in the allograft kidney. *Transplantation* 1999; 67: 103-9.
5. Nickleit V, Hirsch HH, Binet IF, et al. Polyomavirus infection of renal allograft recipients: from latent infection to manifest disease. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1080-9.
6. Drachenberg CB, Beskow CO, Cangro CB, et al. Human polyoma virus in renal allograft biopsies: morphological findings and correlation with urine cytology. *Hum Pathol* 1999; 30: 970-7.
7. Hirsch HH, Knowles W, Dickenmann M, et al. Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal-transplant recipients. *N Engl J Med* 2002; 347: 488-96.
8. Buehrig CK, Lager DJ, Stegall MD, et al. Influence of surveillance renal allograft biopsy on diagnosis and prognosis of polyomavirus-associated nephropathy. *Kidney Int* 2003; 64: 665-73.
9. Ramos E, Drachenberg CB, Papadimitriou JC, et al. Clinical course of polyoma virus nephropathy in 67 renal transplant patients. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 2145-51.
10. Ginevri F, De Santis R, Comoli P, et al. Polyomavirus BK infection in pediatric kidney-allograft recipients: a single-center analysis of incidence, risk factors, and novel therapeutic approaches. *Transplantation* 2003; 75: 1266-70.
11. Hirsch HH, Brennan DC, Drachenberg CB, et al. Polyoma virus-associated nephropathy in renal transplantation: interdisciplinary analysis and recommendations. *Transplantation* 2005; 79: 1277-86.
12. Li RM, Mannon RB, Kleiner D, et al. BK virus and SV40 coinfection in polyomavirus nephropathy. *Transplantation* 2002; 74: 1497-504.
13. Hirsch HH. BK virus: opportunity makes a pathogen. *Clin Infect Dis* 2005; 41: 354-60.
14. Smith JM, McDonald RA, Finn LS, et al. Polyomavirus nephropathy in pediatric kidney transplant recipients. *Am J Transplantation* 2004; 4: 2109-17.
15. Comoli P, Azzi A, Maccario R, et al. Polyomavirus BK-specific immunity after kidney transplantation. *Transplantation* 2004; 78: 1229-32.
16. Comoli P, Binggeli S, Ginevri F, Hirsch HH. Polyomavirus-associated nephropathy: update on BK virus-specific immunity. *Transplant Infect Dis* 2006; 8: 86-94.
17. Awadalla Y, Randhawa P, Ruppert K, et al. HLA Mismatching Increases the Risk of BK Virus Nephropathy in Renal Transplant Recipients. *Am J Transplant* 2004; 4: 1691-6.
18. Brennan DC, Agha I, Bohl DL, et al. Incidence of BK with Tacrolimus Versus Cyclosporine and impact of preemptive immunosuppression reduction. *Am J Transplantation* 2005; 5: 582-94.
19. Randhawa P, Zygmunt D, Shapiro R, et al. Viral regulatory region sequence variations in kidney tissue obtained from patients with BK virus nephropathy. *Kidney Int* 2003; 64: 743-47.
20. Azzi A, De Santis R, Salotti V, et al. BK virus regulatory region sequence deletions in a case of human polyomavirus associated nephropathy (PVAN) after kidney transplantation. *J Clin Virol* 2006; 35: 106-8.
21. Binet I, Nickleit V, Hirsch HH, et al. Polyomavirus disease under new immunosuppressive drugs: a cause of renal graft dysfunction and graft loss. *Transplantation* 1999; 67: 918-22.
22. Hodur DM, Mandelbrot D. Immunosuppression and BKV

Nefropatia da polyomavirus BK

- Nephropathy. *N Engl J Med* 2002; 347: 2079-80.
23. Ginevri F, Comoli P, Fontana I, et al. Prevention of polyomavirus BK-associated nephropathy in pediatric kidney transplantation by prospective monitoring and pre-emptive immunosuppression reduction. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 704A.
 24. Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Wali R, et al. Improved outcome of polyoma virus allograft nephropathy with early biopsy. *Transplant Proc* 2004; 36: 758-9.
 25. Ding R, Medeiros M, Dadhania D, et al. Noninvasive diagnosis of BK virus nephritis by measurement of messenger RNA for BK virus VP1 in urine. *Transplantation* 2002; 74: 987-94.
 26. Vasudev B, Hariharan S, Hussain S, et al. BK virus nephritis: risk factors, timing, and outcome in renal transplant recipients. *Kidney Int* 2005; 68: 1834-9.
 27. Drachenberg RC, Drachenberg CB, Papadimitriou JC, et al. Morphological spectrum of polyoma virus disease in renal allografts: diagnostic accuracy of urine cytology. *Am J Transplant* 2001; 1: 373-81.
 28. Nicleleit V, Singh HK, Mihatsch MJ. Polyomavirus nephropathy: morphology, pathophysiology, and clinical management. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2003; 12: 599-605.
 29. Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Hirsch HH, et al. Histological patterns of polyomavirus nephropathy: correlation with graft outcome and viral load. *Am J Transplantation* 2004; 4: 2082-92.
 30. Racusen LC, Colvin RB, Solez K, et al. Antibody-mediated rejection criteria - an addition to the Banff 97 classification of renal allograft rejection. *Am J Transplant* 2003; 3: 708-14.
 31. Drachenberg CB, Hirsch HH, Ramos E, Papadimitriou JC. Polyomavirus disease in renal transplantation. Review of pathological findings and diagnostic methods. *Hum Pathol* 2005; 36: 1245-55.
 32. Vats A, Shapiro R, Singh RP, et al. Quantitative viral load monitoring and cidofovir therapy for the management of BK virus-associated nephropathy in children and adults. *Transplantation* 2003; 75: 105-12.
 33. Trofe J, Gaber LW, Stratta RJ, et al. Polyomavirus in kidney and kidney-pancreas transplant recipients. *Transpl Infect Dis* 2003; 5: 21-8.
 34. Williams JW, Javadi B, Kadambi PV, et al. Leflunomide for polyomavirus-type BK nephropathy. *N Engl J Med* 2005; 352: 1157-8.
 35. Chandraker A, Ali S, Drachenberg CB, et al. Use of fluoroquinolones to treat BK infection in renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2004; 4: 587A.
 36. Celik B, Shapiro R, Vats A, Randhawa PS. Polyomavirus allograft nephropathy: sequential assessment of histologic viral load, tubulitis, and graft function following changes in immunosuppression. *Am J Transplant* 2003; 3: 1378-82.
 37. Wadei HM, Rule AD, Lewin M, et al. Kidney transplant function and histological clearance of virus following diagnosis of polyomavirus-associated nephropathy (PVAN). *Am J Transplant* 2006; 6: 1025-32.
 38. Ramos E, Drachenberg CB, Portocarrero M, et al. BK virus nephropathy diagnosis and treatment: experience at the University of Maryland Renal Transplant Program. *Clin Transpl* 2003; 143-53.
 39. Josephson MA, Gillen D, Javadi B, et al. Treatment of renal allograft polyoma BK virus infection with leflunomide. *Transplantation* 2006; 81: 704-10.
 40. Kadambi PV, Josephson MA, Williams J, et al. Treatment of Refractory BK Virus-Associated Nephropathy With Cidofovir. *Am J Transplant* 2003; 3: 186-91.
 41. Kuypers DRJ, Vandooren AK, Lerut E, et al. Adjuvant low-dose cidofovir therapy for BK polyomavirus interstitial nephritis in renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2005; 5: 1997-2004.
 42. Lipshutz GS, Mahanty H, Feng S, et al. BKV in simultaneous pancreas-kidney transplant recipients: a leading cause of renal graft loss in first 2 years post-transplant. *Am J Transplant* 2005; 5: 366-73.
 43. Barri YM, Rice K, Melton L, et al. Improved renal transplant outcome in polyoma viral infection with the combination of low-dose cidofovir and leflunomide. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 699A.
 44. Sener A, House AA, Jevnikar AM, et al. Intravenous immunoglobulin as a treatment for BK virus associated nephropathy: one-year follow-up of renal allograft recipients. *Transplantation* 2006; 81: 117-20.
 45. Comoli P, Locatelli F, Ginevri F, Maccario R. Cellular immunotherapy for viral infections in solid organ transplant recipients. *Curr Opin Organ Transplant* 2002; 7: 314-9.
 46. Comoli P, Basso S, Azzi A, et al. Dendritic cells pulsed with polyomavirus BK antigen induce ex-vivo BKV-specific cytotoxic T cell lines in seropositive healthy individuals and renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 3197-204.
 47. Locatelli F, Percivalle E, Comoli P, et al. Human cytomegalovirus (HCMV) infection in paediatric patients given allogeneic bone marrow transplantation: role of early antiviral treatment for HCMV antigenaemia on patients' outcome. *Br J Haematol* 1994; 88: 64-71.
 48. Brennan DC, Agha I, Bohl DL, et al. Incidence of BK with Tacrolimus Versus Cyclosporine and Impact of Preemptive Immunosuppression Reduction. *Am J Transplantation* 2005; 5: 582-94.
 49. Ginevri F, Pastorino N, De Santis R, et al. Retransplantation after kidney graft loss due to polyoma BK virus nephropathy: successful outcome without original allograft nephrectomy. *Am J Kidney Dis* 2003; 42: 821-5.
 50. Ramos E, Vincenti F, Lu WX, et al. Retransplantation in patients with graft loss caused by polyoma virus nephropathy. *Transplantation* 2004; 77: 131-3.
 51. Hirsch HH, Ramos E. Retransplantation after polyomavirus-associated nephropathy: just do it? *Am J Transplant* 2006; 6: 7-9.